

# UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE CENTRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA

# DISSERTAÇÃO Área de concentração em Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas

# DESENVOLVIMENTO DE UM PROTOCOLO PARA CRIOCONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE JATOBÁ: CONTROLE DE PATOGÉNOS E CINÉTICA DE CONGELAMENTO

DANIELLE CURVÊLO DE FARIAS

Campina Grande – Paraíba Outubro de 2003

# DANIELLE CURVÊLO DE FARIAS

# DESENVOLVIMENTO DE UM PROTOCOLO PARA CRIOCONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE JATOBÁ: CONTROLE DE PATOGÉNOS E CINÉTICA DE CONGELAMENTO

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola da Universidade Federal de Campina Grande, em cumprimento às exigências para obtenção do grau de Mestre.

# Orientadores:

Prof. Dr. Mario Eduardo Rangel Moreira Cavalcanti Mata

Prof. Dr. Egberto Araújo

Campina Grande- PB Outubro /2003



F224d Farias, Danielle Curvelo de

> Desenvolvimento de um protocolo para crioconservacao de sementes de jatoba : controle de patogenos e cinetica de congelamento / Danielle Curvelo de Farias. - Campina Grande, 2003. 88 f. : il.

Dissertacao (Mestrado em Engenharia Agricola) -Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciencias e Tecnologia.

1. Jatoba - 2. Produtos Agricolas - 3. Engenharia Agricola 4. Dissertacao I. Mata, Mario Eduardo Rangel Moreira Cavalcanti, Dr. II. Araujo, Egberto, Dr. III. Universidade Federal de Campina Grande - Campina Grande (PB) IV. Título

CDU 582.736.2(043)



# UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA



# PARECER FINAL DO JULGAMENTO DA DISSERTAÇÃO DA MESTRANDA

# **DANIELLE CURVELO DE FARIAS**

DESENVOLVIMENTO DE UM PROTOCOLO PARA CRIOCONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE JATOBÁ: CONTROLE DE PÁTOGENOS E CINÉTICA DE CONGELAMENTO

BANCA EXAMINADORA	PARECER	
Dr. Mário Eduardo R.M. Cavalcanti Mata-Orien	A PROVA DO	
Dr. Mário Eduardo R.M. Cavalcanti Mata-Orient	tador	
Dr. Egberto Araŭjo-Orientador	APROVADO	
Molitaria	APROVADO	
Dra. Maria Elita Martins Duarte-Examinadora		
Burloth St.	OGAVARGA	
Dr. Humberto Silva-Examinador		

**OUTUBRO - 2003** 

# **DEDICATÓRIA**

A DEUS
AOS MEUS PAIS DIGENALDO e
LEOPOLDINA,
AS MINHAS IRMÃS DAISY E
DEBORAH,
E AO MEU NAMORADO FABRÍCIO.

**DEDICO COM AMOR.** 

# **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao meu Deus maravilhoso, por ter me dado forças para continuar quando tudo parecia esta perdido;

Aos meus pais Digenaldo e Leopoldina, as minhas irmãs Deborah e Daisy pelo carinho, apoio e incentivo constante na vida. Amo vocês;

Ao meu namorado Ismael Fabricio pela paciência, incentivo, ajuda e amor que tens me dado ao longo do nosso namoro;

Aos professores orientadores, Dr. Mario Eduardo e Dr. Egberto Araújo, pelo apoio, orientação, amizade e paciência durante a realização deste trabalho;

A professora Dra. Maria Elita Martins Duarte pela grandiosa ajuda durante o curso e pelas correções em tudo;

Ao professor Dr. Humberto Silva pelas correções e sugestões que muito contribuiram para este trabalho;

Aos professores deste curso;

Aos colegas do curso: Pablicia, Rana, Patricia, Lucicleia, Diniz e Marcelo e em especial a Edênia e Helen pela ajuda científica e psicológica, nos momentos estressantes;

As secretárias do curso de Pós-graduação em Engenharia Agrícola D. Rivanilda e D. Aparecida pelo carinho e amizade conquistados a cada dia;

Aos funcionários Antônio, Flavio, Luciene e Socorro do Laboratório de Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas;

A todos que contribuíram direta ou indiretamente na realização deste trabalho.

# <u>INTRODUÇÃO</u>

# ÍNDICE

	LISTA DE FIGURAS	Viii
	LISTA DE TABELAS	Ix
	RESUMO	X
	ABSTRACT	Xi
1.	INTRODUÇÃO	1
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
	2.1. Descrição geral, importância e origem da espécie	4
	2.2. Fungos em sementes	5
	2.3. Propriedades físicas	7
	2.3.1. Circularidade	8
	2.3.2. Esfericidade	9
	2.3.3. Volume	11
	2.3.4. Densidade (Massa especifica)	14
	2.4. Cinética de Congelamento	16
	2.4.1. Difusividade Térmica	22
	2.5. Germinação e vigor	27
	2.6. Crioconservação	31
3.	MATERIAIS E MÉTODOS	36
	3.1. Localização dos estudos e origem das sementes	36
	3.2. Determinação da Micoflora	36
	3.3. Tratamento químico das sementes	37
	3.4. Características Físicas	37
	3.4.1. Dimensões das sementes	37
	3.4.2. Volume	38
	3.4.3. Circularidade	38
	3.4.4. Esfericidade	38
	3.4.5. Densidade (massa específica)	39
	3.5. Cinética de Congelamento	, 40
	3.5.1. Congelamento à -30°C	.40

		<i>,</i>	<u>INTRODUÇÃO</u>
	3.5.2.	Congelamento à -150°C	40
	3.5.3.	Congelamento à -170°C	41
	3.5,4.	Congelamento à -196°C	41
	3.6. Crioco	onservação	41
	3.6.1.	Crioconservação a −196°C e −170°C	42
	3.6.2.	Crioconservação a -150°C	42
	3.6.3.	Congelamento a –30°C	42
	3.7. Quebr	a de dormência	42
	3.8. Germi	nação e vigor	43
	3.9. Anális	se Estatística	43
			ı
4.	RESULTA	ADOS E DISCUSSÃO	44
	4.1. Micof	lora das sementes	44
	4.2. Efeito	s dos tratamentos químico sobre a micoflora das sementes	48
	4,3. Determ	minações das características físicas	49
	4.4. Temp	o de descongelamento	51
	4.5. Cinéti	ca de congelamento	52
	4.6. Crioco	onservação	59
	4.7. Germ	inação e vigor	60
5.	CONCLU	JSÕES	63
6.	PROTOC	coro	64
7.	REFERÊ	NCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
Λ	NEYOS		77

# LISTA DE FIGURAS

FIGURAS		PAGINA
Figura 1 -	Circularidade do objeto na posição de repouso pelo método 2	. 9
Figura 2 -	Equipamento para medição de volume e densidade das sementes	11
Figura 3 -	Aparelho para determinar o volume de uma semente irregular	12
Figura 4 -	Picnômetro de comparação a ar para determinação do volume de um produto irregular	13
Figura 5 -	Curva de congelamento de um produto alimentício (GRUDA e POSTOLSKI, 1986)	17
Figura 6 -	Aparelho de Dickerson para determinação da difusividade térmica	24
Figura 7 -	Botijão criogênico para o armazenamento de sementes	32
Figura 8 -	Medições das sementes de jatobá correspondentes a comprimento (a), largura (b) e espessura (c).	38
Figura 9 -	Sistema para obtenção de uma temperatura controlada de -150°C	40
Figura 10 -	Sementes fraturadas de jatobá da extremidade e do meio da vagem a -196°C	52
Figura 11 -	Curvas experimentais e calculadas pela equação de Fick das	55
	sementes de jatobá retiradas da extremidade da vagem para as temperaturas criogênicas de -150, -170, -196°C e para a	
TT' 10	temperatura de -30°C	مبر بد مبر بد
Figura 12 -	Curvas experimentais e calculadas pela equação de Fick das	55
	sementes de jatobá retiradas do meio da vagem para as	
	temperaturas criogênicas de -150, -170, -196°C e para a temperatura de -30°C	ı
Figura 13 -	Curvas experimentais e calculadas pela equação de Page das	56
U	sementes de jatobá retiradas da extremidade da vagem para as	
	temperaturas criogênicas de -150, -170, -196°C e para a temperatura de -30°C	
Figura 14 -	Curvas experimentais e calculadas pela equação de Page das	56
<b>O</b> .	sementes de jatobá retiradas do meio da vagem para as	
	temperaturas criogênicas de -150, -170, -196°C e para a	
Ti 16	temperatura de -30°C.	60
Figura 15 -	Aspectos físicos das sementes de jatobá da extremidade e do meio da vagem a -196°C	60
Figura 16 -	Aspectos físicos das sementes de jatobá da extremidade e do meio da vagem a -30°C.	61
Figura 17 -	Aspectos físicos das sementes de jatobá da extremidade e do meio	61
I Igaia I /	da vagem a -150°C	01
Figura 18 -	Aspectos físicos das sementes de jatobá da extremidade e do meio da vagem a -170°C	61
Figura 19 -	Germinação de sementes de jatobá extraídas da extremidade e do meio da vagem a temperatura de -30°C depois de 21 dias	64
Figura 20 -	Germinação de sementes de jatobá extraídas da extremidade e do	65
rigula 20 -	meio da vagem a temperatura de –150°C depois de 21 dias	UJ
Figura 21 -	Germinação de sementes de jatobá extraídas da extremidade e do	66
115010 21 -	meio da vagem a temperatura de 170°C depois de 21 días	50

# LISTA DE TABELAS

TABELAS		PAGINA
Tabela 1 -	Vigor e germinação das sementes de jatobá quando submetidas a diversos tratamentos para superar sua dureza e dormência	29
Tabela 2 -	Conteúdo de Água Limite para Crioconservação (CALC) de sementes de algumas espécies	33
Tabela 3 -	Análise de variância da semente de jatobá	45
Tabela 4 -	Comparação entre médias da presença dos fungos Aspergillus sp.,	45
Tabela 5 -	Aspegillus flavus, Fusarium sp. e Rhyzopu nas sementes de jatobá Valores médios do fator tratamentos (micoflora da amêndoa e micoflora da mucilagem) das sementes de jatobá	46
Tabela 6 -	Valores médios para o fator: posição das sementes na vagem	46
Tabela 7 -	(extremidade e meio)  Valores médios obtidos da interação dos fatores: fungos (% de presença) x posição das sementes na vagem	47
Tabela 8 -	Análise de variância (quadrado médio) para a incidência dos fungos	47
Tabela 9 -	Análise de variância (quadrado médio) para a incidência dos fungos assinalados nas sementes de jatobá tratadas com diferentes produtos fungicidas	49
Tabela 10 -	Incidência de fungos em sementes de jatobá tratadas com diferentes produtos fungicidas	49
Tabela 11 -	Características físicas da semente de jatobá da extremidade e do meio da vagem	50
Tabela 12 -	Percentagem de germinação de sementes de jatobá submetidas a diferentes tempos de imersão em água	52
Tabela 13 -	Parâmetros da cinética de congelamento das sementes de jatobá retiradas da extremidade e do meio da vagem (Equação de Fick)	57
Tabela 14 -	Parâmetros da cinética de congelamento das sementes de jatobá retiradas da extremidade e do meio da vagem (Equação de Page)	58
Tabela 15 -	Análise de variância (quadrado médio) da germinação e do vigor das sementes de jatobá extraídos da extremidade e do meio da vagem crioconservadas a diferentes temperaturas	62
Tabela 16 -	Comparação entre médias da germinação e do vigor e das sementes de jatobá extraídas da extremidade e do meio da vagem, submetidas às temperaturas de crioconservação de -30, -150 e - 170°C.	62
Tabela 1A-	Temperaturas de cada momento, temperaturas internas e razão de temperatura para as sementes de jatobá da extremidade (A1) e do meio (A2) imersas em nitrogênio líquido (-196°C)	78
Tabela 1B -	Temperaturas de cada momento, temperaturas internas e razão de temperatura para as sementes de jatobá da extremidade (B1) e do meio (B2) no vapor de nitrogênio líquido (-170°C)	79
Tabela 1C -	Temperaturas de cada momento, temperaturas internas e razão de temperatura para as sementes de jatobá da extremidade (C1) e do meio (C2) no nitrogênio líquido a -150°C	81
Tabela 1D-	Temperaturas de cada momento, temperaturas internas e razão de temperatura para as sementes de jatobá da extremidade ('D1) e do	83

		<u>INTRODUÇÃO</u>
	meio (D2) congeladas a uma temperatura de -30°C	
Tabela 2A -	Análise de variância Aspergillus flavus	85
Tabela 2.1 -	Análise de variância Aspergillus sp.	86
Tabela 2.2 -	Análise de variância Fusarium sp.	87
Tabela 2.3 -	Análise de variância Rhyzopus.	88

# RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo determinar o estudo da micoflora da semente e da vagem do jatobá, estudar o controle fúngico para os fungos identificados nas sementes. determinar algumas características físicas das sementes (dimensão, volume, circularidade, esfericidade e densidade), obterem as curvas de congelamento das sementes para as temperaturas de -30, -150, -170 e -196°C e crioconservar as sementes nas temperaturas estudadas. Para o teste da micoflora foram utilizados a polpa e amêndoa da semente e a vagem do jatobá, para o teste da fitossanidade foram utilizados os fungicidas benomyl, captan, thiovit, benomyl e thiovit e o hipoclórito de sódio. Para obtenção das curvas de congelamento a -30°C utilizou-se um congelador convencional, para -150°C foi elaborado um sistema onde a temperatura foi alcançada, a -170°C foi realizada com as sementes expostas ao vapor de nitrogênio líquido e a -196°C as sementes foram imersas em nitrogênio líquido. A crioconservação das sementes foi realizada nas temperaturas de -30, -150, -170 e -196°C. Com base nos resultados obtidos pode-se concluir que: a) todas as partes das sementes e da vagem do jatobá apresentaram incidência fúngica, sendo identificados os fungos Aspergillus sp., Aspergillus flavus, Fusarium sp. e Rhyzopus; b) para o controle fúngico, o melhor tratamento foi com benomyl e o captan. Com relação a cinética de congelamento; c) para as sementes de jatobá da extremidade da vagem, o tempo necessário para se atingir no centro geométrico da semente a temperatura de -196°C foi de 2 minutos, para -170°C foi 12 minutos, para -150°C foi de 13 minutos e 60 minutos para a temperatura de -30°C, para as sementes do meio da vagem, o tempo necessário foi de 2 minutos para -196°C, 18 minutos para -170°C, 10 minutos para -150°C e 50 minutos para a temperatura de -30°C; d) a difusividade térmica utilizando a equação de Fick, para as sementes da extremidade da vagem variou de 3,56201 x 10<sup>-7</sup> a 181,7532 x 10<sup>-7</sup> m<sup>2</sup>/s e para as sementes do meio da vagem de 1,21862 x 10<sup>-6</sup> a 32,9786 x 10<sup>-6</sup> m<sup>2</sup>/s, para equação de Page a difusividade térmica para as sementes da extremidade variou de 2,08404 x 10<sup>-7</sup> a  $183,866 \times 10^{-7} \text{ m}^2/\text{s}$  e para as sementes do meio da vagem  $3,54546 \times 10^{-6}$  a  $32,4027 \times 10^{-6}$ m<sup>2</sup>/s; e) a crioconservação a -196°C apresentou rachaduras, inviabilizando o processo nessa temperatura, as temperaturas de -30, -150 e -170°C, não apresentaram fissuras, sendo recomendado para a crioconservação por tempo indeterminado a temperatura de -170°C, a qual apresentou-se também nos testes de germinação e vigor, altas percentagens.

# **ABSTRACT**

This work has the objective to determine the study of micoflora seed and the husk of jatobá, to study the fungus control for the fungus identified in the seeds, to determine some constitution characteristics of the seeds (dimension, volume, circular form, spherical form and density), to obtain the freezing curves of seeds for the temperatures -30°C, -150°C, -170°C and -196 °C and to conserve the seeds in the temperatures studied. for the test of the micoflora went applied the pulp, the almond of the seed and the husk of jatobá, for the test of fitosanidade went applied the fungicides benomyl, captan, thiovit, benomyl e thiovit e o hipoclorito of sodium, for the to obtain the freezing curves at -30°C to make use of a conventional refrigerator, for -150°C went created a system that to obtain the temperature, at -170°C went realized with the seeds exposes to liquid nitrogen vapour and the -196°C the seeds went submergeds in the liquid nitrogen, the conservation of the seeds realized itself on the temperatures -30, -150, -170 an -190°C, with base in the results obtained can conclud that: a) all the parts of the seeds and of husk of jatobá present fungus incident, was indentified the fungus aspergillus sp., aspergillus flavus, fusarium sp. e rhyzopus; b) to fungus control, the best treatment was with benomyl and captan; c) to seeds of the extremities of the husk, the necessary time to reach the geometric center of the seeds on temperature -196°C was 2 minutes, to -170°C was 18 minutes, to -150°C was 13 minutes and 60 minutes for the temperatura -30°C, to middle seeds of the husk, the necessary time was 2 minutes for -190°C, 12 minutes for -170°C, 10 minutes for -150°C and 50 minutes for the temperature -30°C; d) the thermical diffusivity with the fick's equation, to the seeds of the extremities husk varied 3,56201 x 10<sup>-7</sup> to 181, 7532 x 10<sup>-7</sup>  $m^2/s$  and to the seeds of the midle husk 1,21862 x 10<sup>-6</sup> to 32,9786 x 10<sup>-6</sup> m<sup>2</sup>/s, to the Page's equation the thermical diffusivitty for the the seeds of the extremities varied  $2,08404 \times 10^{-7}$  to 183, 866 x  $10^{-7}$  m<sup>2</sup>/s and to the seeds of the middle husk  $3,54546 \times 10^{-6}$ to 32, 4027 x 10<sup>-6</sup> m<sup>2</sup>/s; e) the conservation in -196°C reported fissures so that remained impossible the process, the temperatures at 30, -150 and -170°C, didn't reported fissures, therefore recommed for the conservation for indeterminate time the temperature at -170°C, that showed also tests of the germination and strength, high percentage.

# 1. INTRODUÇÃO

O jatobá (*Hymeneae courbaril* Linn) é uma planta popularmente conhecida como: jutahy, getahy, jatahy peba, jutahy pororoca e jutahy assú (no Amazonas), jitahy preto (em Alagoas) e jatobá roxo (BARRERA et al., 1994).

Segundo o que descreve CARVALHO (1994), o jatobá ocorre naturalmente em solos secos, às vezes, até de pouca fertilidade e raramente em terra roxa. Em plantios experimentais, essa árvore tem crescido melhor em solo com nível de fertilidade média à elevada, com drenagem boa a regular e com textura arenosa a argilosa. A árvore de jatobá é de fácil multiplicação, razão pela qual, a planta é bastante empregada para o reflorestamento de áreas degradadas e na arborização de parques e jardins. O florescimento ocorre durante os meses de outubro-dezembro e frutifica a partir de setembro, prolongando-se até janeiro. As sementes de jatobá podem ser coletadas de frutos caídos das árvores, sendo que a sua extração é manual, utilizando-se um martelo para quebrar o fruto. Após a extração, as sementes são lavadas com água para a separação do endosperma e, a seguir, selecionadas, sendo eliminadas aquelas que apresentam perfurações causadas pelo ataque de pragas.

O jatobá além de sua utilidade como madeira para fornecimento de energia, na forma de queima, tem sido utilizado para diferentes fins, e, segundo alguns pesquisadores, dentre eles CARVALHO (1994); LORENZI (1992); SILVA e RIBEIRO (1990), a sua madeira é utilizada na construção civil e na indústria de móveis; os frutos são empregados na indústria alimentícia e as folhas e sementes na indústria farmacêutica e cosmética. Na construção civil ela é utilizada principalmente na fabricação de ripas, caibros, vigas, portas, tacos e tábuas para assoalhos; na indústria de móveis, a madeira é usada para confecção de peças torneadas, esquadrias e artefatos de madeiras. Na indústria de alimentos as sementes do jatobá são processados transformando-o em uma polpa amarelo-pálida adocicada, muito nutritiva e riquíssima em cálcio. Além da alimentação humana a farinha proveniente das sementes é consumida também por animais silvestres. Essa farinha é bastante calórica e contém cerca de 295,4cal/100gr, que equivale ao poder calórico do fubá, sendo ainda empregada na culinária, na confecção de bolos, biscoitos, mingaus, mouses e geléias. Na medicina caseira, o chá das folhas do jatobá e suas sementes, são utilizados com eficácia

no tratamento de doenças respiratórias, como tosse, asma, laringites e bronquites crônicas, possuindo, além disso, uma ação antifúngica e descongestionante. O chá das folhas de jatobá também é conhecido como um estimulante natural.

Pelas diferentes razões acima citadas de utilização do jatobá, as suas florestas têm sido dizimadas, razão pela qual esta árvore se tornou, em nosso país, como uma das numerosas árvores ameaçada de extinção. Segundo DRUMOND et al. (2000) a exploração dessa árvore, por parte das madeireiras, já tem causado mais danos à vegetação lenhosa da caatinga do que a própria agricultura migratória. As consequências desse modelo extrativista predatório se fazem sentir principalmente nos recursos naturais renováveis da caatinga onde a desertificação já se faz presente em, aproximadamente, 15% da área.

Para se evitar a extinção de diferentes espécies vegetais, muitos países com consciência da real importância da preservação da biodiversidade, como um mecanismo de sobrevivência da espécie humana, têm mantido bancos de germoplasma onde as sementes, embriões ou tecidos celulares são conservados e ou armazenados para utilizações futuras. Contudo, nas utilidades presentes, os bancos de germoplasma servem como unidades que fornecem matéria prima para a melhoria e multiplicação genética das espécies e estudos de aplicabilidades, entre outras.

O sistema convencional de Bancos de Germoplasma consiste na armazenagem das sementes em unidades controladas a uma temperatura de 10 °C e 40% de umidade relativa. Nesses bancos, embora se conservem as sementes por um tempo razoável, mas não evitam a erosão genética das espécies, considerando-se que o metabolismo das sementes é praticamente paralisado somente a temperaturas inferiores a –130°C (PITA VILLAMIL 1997).

Nesse contexto, e para evitar a erosão genética das espécies, nos últimos anos, vem sendo utilizado a técnica da crioconservação que consiste em armazenar as sementes em botijões criogênicos onde essas são imersas em nitrogênio líquido (N<sub>2</sub>L<sub>2</sub>) a uma temperatura de -196 °C ou ficam no vapor do nitrogênio dentro dos botijões criogênicos a uma temperatura de - 170 °C. Essa técnica proporciona um potencial de preservação das sementes com alto valor genético sem limites de tempo, devido à redução do seu metabolismo a níveis muito baixos, de modo que os processos bioquímicos são reduzidos

significativamente (KARTHA, 1985). L'ambem nesse processo considera-se que a deterioração biológica das sementes é virtualmente paralisada. Desta forma, teoricamente, as sementes poderiam ser mantidas viáveis por tempo considerado indefinido, no entanto, segundo LACERDA (2001) em seus estudos de crioconservação com semente de jatobá, o autor observou que uma semente como a de jatobá que é considerada grande, ao se congelar a baixas temperaturas, apresentava fissuras cotiledonares provocadas por grandes gradientes de temperatura que promoviam a formação de uma semente anormal. O autor relata que o percentual de ocorrência dessas fissuras cotiledonares era um percentual bastante elevado (50%), havendo uma incidência muito alta de fungos durante a germinação das sementes o que inviabilizava todo o esforço de sua conservação.

Considerando os fatores que provoca a diminuição do percentual de germinação e vigor das sementes de jatobá, prejudicando, assim, o emprego da técnica de crioconservação e indicando a necessidade de estudar um protocolo diferente para que as sementes de jatobá possam ser crioconservadas com sucesso.

Assim diante desses fatos, antes da implantação das técnicas de crioconservação, torna-se necessário conhecer a cinética de congelamento dessa semente a diferentes temperaturas criogênicas de modo a identificar em que gradientes de temperaturas ocorrem às fissuras cotiledonares.

Portanto, considerando-se importância da cultura do jatobá para o Nordeste e para o Brasil e dos problemas citados anteriormente com relação a crioconservação, foi proposto a realização do presente trabalho

### 1.1 Objetivos

- ✓ Identificar e avaliar os fungos e produtos para o controle desses organismos nas sementes de jatobá
- ✓ Determinar a cinética de congelamento da semente de jatobá para diferentes temperaturas de congelamento (-30, -150, -170 e -196 °C) com a finalidade de evitar as fissuras do endocarpo.
- ✓ Definir um protocolo para crioconservar sementes de jatobá

# 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

# 2.1. Descrição geral, importância e origem da espécie.

O jatobá é uma árvore que pode alcançar até 40m de altura aproximadamente da familia das leguminosas, que se desenvolve em solos úmidos e arenosos. Ela é facilmente encontrada na América do Sul, Antilhas, América Central, México e Brasil, sendo que no nosso país se desenvolve numa faixa de extensão que vai das Guianas, passando por Goiás, Minas Gerais e São Paulo. Segundo BARREIRA et al. (1994) a arvore de jatobá se caracteriza pela produção de madeira muito resistente que é utilizada na construção civil e naval; pelo fruto comestível, e, principalmente pela produção de uma "resina anime", "goma copal", "courbaril". A resina é um líquido amarelado transparente que exuda das cascas e se concentra cristalizado em pedaços ou massas por sobre as raízes, com cheiro aromático e brilho, tendo grande aplicação medicinal e poder terapêutico.

Os frutos amadurecem a partir do mês de julho e possuem uma polpa farinácea que fornece farinha com valor protéico equivalente ao fubá de milho, com utilização culinária (ALMEIDA, SILVA e RIBEIRO, 1990). Esta polpa farinácea também é muito procurada pôr várias espécies da fauna, que dispersam suas sementes, tornando o jatobá muito útil nos plantios em áreas degradadas, destinadas à recomposição da vegetação arbórea (LORENZI, 1992).

O jatobá é classificado como espécie clímax (KAGEYAMA; BIELLA & PALERMO, 1990), sendo pertencente ao grupo das indicadoras acompanhantes, ou seja, espécies de ocorrência em mata ciliar ou de várzea, em solo temporária ou permanentemente úmido, sujeito à inundação periódica e sendo ainda frequente nas matas de terra firme (SALVADOR, 1989).

## 2.2 Fungos em sementes

As condições ideais para a conservação das sementes são aquelas em que as suas atividades metabólicas são reduzidas ao mínimo, o que se consegue quando são mantidas baixas a umidade relativa e a temperatura no ambiente de armazenamento (ALMEIDA e FALIVENE (1983) e POPINIGIS (1976)). NOVEMBRE e MARCOS FILHO (1991), ressaltam que além das condições acima mencionadas deve-se ressaltar também os efeitos indiretos que ocorrem devido a esses fatores, na ação de microorganismos responsáveis pela deterioração.

A interação dos fatores ambientais, temperatura e umidade relativa com a umidade das sementes e aliados ainda aos danos mecânicos, todos estes promovem alterações bioquímicas, degenerativas e irreversíveis que afetam a qualidade da semente favorecendo a presença de fungos de armazenamento, como o gênero *Aspergillus* (PAIVA et al. 1995).

A umidade da própria semente em estrutura impermeável, possibilita a sobrevivência dos fungos em estado latente. A temperatura é variável pelo efeito do clima e pode também ser alterada pela presença de insetos e fungos, os quais em decorrência de sua respiração proporcionam um aumento da umidade no ambiente de estocagem e no gasto de reservas das sementes e, assim, uma diminuição da qualidade e quantidade das sementes (RODRIGUES et al. 1984).

A ação dos microorganismos, acelerar a taxa de deterioração das sementes durante o armazenamento (CARVALHO e NAKAGAWA, 1983). Constituindo assim, um grande problema para a agricultura dos trópicos (BÍLIA et al. 1994).

Como nem sempre é possível obter condições ideais para a armazenagem de sementes, torna-se necessário trata-las com produtos que preservem a sua integridade e minimizem a ação fúngica decorrente das condições ambientais.

O tratamento de sementes visando o controle de patógenos é uma prática que vem sendo realizada com diversos produtos, desde os primórdios da agricultura (NEERGAARD, 1979; DHINGRA et al., 1980; MENTEN, 1996), porém com o advento

do uso de produtos químicos na agricultura, o tratamento de sementes tem sido feito com produtos desta natureza, uma vez que o método tem sido eficiente e econômico no controle de diferentes doenças.

Jeffs citado por MACHADO (1988), considera o tratamento de sementes como uma das medidas de controle mais praticada na agricultura moderna, pela sua simplicidade de execução, menores riscos de intoxicação humana e poluição ambiente, maior eficácia e baixo consumo de material.

De acordo com NEERGAARD (1979), o tratamento de sementes com fungicidas, no controle direto das doenças, tem sido feito com duas finalidades básicas: 1) destruir os microorganismos patogênicos presentes nas sementes; 2) proteger as sementes contra os microorganismos do solo causadores de podridões e tombamentos. Além desses beneficios, se pode acrescer que o tratamento de sementes reduz a fonte de infecção primária; reduz o número de aplicações da parte aérea da cultura; controla fungos autróficos não associados a sementes, mas que aparecem nos estados iniciais da cultura.

MENTEN (1996), ressalta que o tratamento de sementes com produtos químicos têm importância por originar plantas vigorosas e sadias, devido à eliminação dos patógenos presentes nas sementes ou por protegê-las contra a ação de patógenos do ambiente (solo ou armazém)

Para o tratamento de sementes, diversos fungicidas químicos estão disponíveis no mercado, entre eles, o Benomyl (Metil - n (1 - butilcarbamail) - 2 benzimidazole carbamato), o Captan (N - (triclorometiltio) - cloro ciclohexeno - 1,2 dicarbomixida e o Thiovit (Enxofre). Segundo PICININI et al.., (1996) o Benomyl possui atividade sistêmica, com uma função erradicante e protetora contra grande espectro de doenças causadas por fungos nas mais diferentes culturas. Este produto é compatível com a maioria dos defensivos agrícolas, porém é incompatível com a calda sulfocálcica e com outros produtos de reação alcalina (CARDOSO et al., 1976).

O Captan, de acordo com DHINGRA et al. (1980), é o mais seguro entre todos os fungicidas não mercuriais, podendo ser utilizado como pó seco e como pasta fluida para a maioria das sementes; sendo particularmente eficiente contra patógenos causadores de

podridões. Este produto também possui uma ampla faixa fungicida e alguma bactericida, sendo ainda compatível com materiais alcalinos e com ditiocarbamatos.

O fungicida Benomyl, comparado a outros produtos, foi o mais eficiente, inibindo a germinação dos conideos de *Colletrotrichum lindemuthianum* e *Isoriopsis griseola* e reduzindo o crescimento miceliano de *Trichoderma viride*, *T. harzianum* e *T. pseudokoningii* (VERAS et al, 1995).

MENTEN et al. (1995) comparado o Benomyl com Captan e outros produtos, observou que o Benomyl era o mais eficiente, reduzindo o crescimento miceliano de Sclerotinia sclerotiorum e ROSSETO et al., (1996), observou está mesma eficiência do Benomyl no controle do Penicillium digitatum. MENTEN et al., (1995), estudando o tratamento de sementes de feijão (Phaseolus vulgaris L.) inoculada artificialmente com Aspergillus sp e Penicillium sp, e armazenada por seis meses, constatou que o Captan era o mais eficiente no controle desses fungos.

Em estudo realizado por MENDES et al., (1998) sobre a presença de patógenos em sementes de jatobá, este constatou a existência dos fungos Asteridiella hymenaeicola, Colletotrichum sp., Crossopsora hymeneae e Erythrogloeum hymeneae.

### 2.3 Propriedades físicas

O estudo das propriedades físicas de um produto agrícola justifica-se na medida em que se pretende desenvolver uma exploração baseada em meios mecânicos, nas quais as características físicas são de extrema importância (MOHSENIN, 1978). Com isso para uma otimização de máquinas específicas ou para melhorar o desempenho desses produtos em diversos meios deve-se levar em consideração o tamanho do produto, a sua forma e o seu volume.

Segundo CAVALCANTI MATA et al. (1986), o conhecimento da forma e tamanho dos grãos, são características físicas que devem ser estudadas, pois muitos dos problemas estão associados a este conhecimento, principalmente quando se deseja projetar

uma máquina especifica ou analisar o comportamento desse produto em relação a outros existentes no mercado.

Segundo CAVALCANTI MATA & FERNANDES FILHO, (1984) essas características físicas têm inúmeras variações que ocorrem nos produtos biológicos, em particular grãos e sementes, devido a estes dependerem de parâmetros variáveis na sua formação, tais como, variedades dos grãos e sementes, clima, fertilidade do solo e praticas agrícola, além de outros fatores.

Assim, a forma, o tamanho, a densidade e outras características físicas podem afetar o desempenho das máquinas de processamento, resfriamento e congelamento de produtos agrícolas (SILVA, 1995).

MOHSENIN (1978) relata a questão do emprego de determinadas cartas para resolução de problemas de transferência de calor, onde nessas cartas três formas básicas são mencionadas: a) uma placa plana b) um cilindro e c) uma esfera. Portanto, para o uso dessas cartas, torna-se necessário considerar que o produto esteja próximo a uma dessas três formas.

Wormsbeker citados por VIEIRA et al., (1985) descreve que os equipamentos básicos para o beneficiamento de sementes são as máquinas de ar e peneiras, utilizadas na limpeza e classificação do produto. Nessa operação é feito o aprimoramento do lote de sementes e a quantidade do trabalho realizado nessa etapa é função da ação de máquinas adaptadas para as características físicas das sementes, cujo principio de funcionamento baseia-se na utilização do maior número possível dessas características.

### 2.3.1 - Circularidade

Curray citado por CAVALCANTI MATA (1984), relata que a circularidade é um fator que nos indica a semelhança da área de um objeto relacionado a um circulo. O autor descreve duas formulas para circularidade, Figura 1.

Método 1

$$C = \frac{A_p}{A_c} 100 \tag{2.1}$$

em que,

C = circularidade, em percentagem

 $A_p$  = área projetada do produto, m<sup>2</sup>

A<sub>c</sub> = menor área do círculo que circunscreve a projeção do produto, m<sup>2</sup>

Método 2

$$C = \frac{100}{N} \sum_{i=1}^{N} \left( \frac{r_i}{R} \right)$$
 (2.2)

em que,

C = circularidade, em percentagem

R = raios de curvatura, mostrados na Figura 1, m

R = raio da maior circunferência inscrita na projeção do objeto na condição de repouso, m

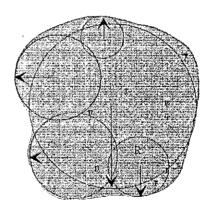


FIGURA 1 - Circularidade do objeto na posição de repouso pelo Método 2

### 2.3.2 - Esfericidade

A definição de esfericidade proposta por MOHSENIN (1978), baseia-se na característica isoperimétrica de uma esfera e sugere uma forma de estimar o grau de esfericidade de um objeto como:

$$\varphi = \frac{D_p}{D_c} 100 \tag{2.3}$$

em que,

 $\varphi$  = esfericidade, percentual

D<sub>P</sub> = diâmetro de uma esfera de volume igual ao objeto, m

D<sub>C</sub>= diâmetro da menor esfera que circunscreve a projeção do objeto na condição de repouso, m

Curray citado por QUEIROZ (1994), propõe as seguintes fórmulas.

### Método 1

Considerando o objeto como uma elipsóide, com volume dado por:

$$V_{\text{elip}} = 4 \pi r_a r_b r_c / 3 \tag{2.4}$$

em que,

 $V_{elip}$  = Volume do elipsóide, m<sup>3</sup>

r<sub>a</sub> = é o raio maior, m

 $r_b = é$  o raio médio, m

r<sub>e</sub> = é o raio menor, m

Considerando ainda  $a = 2 r_a$ ,  $b = 2 r_b$ ,  $c = 2 r_c$ , tem-se:

$$\varphi = \left(\frac{\text{Volume do sólido}}{\text{volume da esfera circunscrita}}\right)^{1/3}$$
 (2.5)

$$\varphi = \left[ \frac{4/3\pi \left( \frac{a}{2} \frac{b}{2} \frac{c}{2} \right)}{4/3\pi \left( \frac{a}{2} \right)^3} \right]^{\frac{1}{3}}$$
(2.6)

$$\varphi = \sqrt[3]{\frac{a.b.c}{a^3}} \tag{2.7}$$

$$\varphi = \frac{(abc)^{1/3}}{a} \tag{2.8}$$

### Método 2

$$\varphi = \frac{D_i}{D_c} \times 100 \tag{2.9}$$

em que,

D<sub>i</sub> = diâmetro da maior circunferência inscrita na projeção do objeto na condição de repouso, m.

 $D_{\rm c}\,$  = menor diâmetro que circunscreve o objeto na condição de repouso, m

### 2.3.3 - Volume

MOHSENIN (1978) descreve vários métodos utilizados na determinação do volume de amostras irregulares, dentre eles pode-se destacar um método no qual o volume é determinado pelo deslocamento de água (Figura 2), onde o produto é primeiramente pesado no ar, em seguida é imerso para dentro de um recipiente com água de peso já conhecido. A leitura, com o produto submerso, menos o peso do recipiente mais água, é o peso da água deslocada, o qual é usado na equação 2.10 para o cálculo do volume.

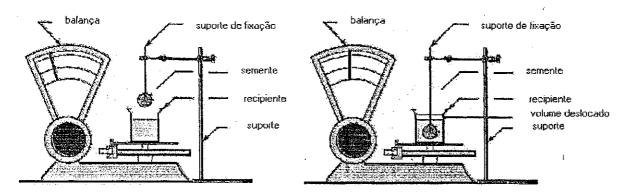


FIGURA 2 – Equipamento para medição de volume e densidade das sementes

$$Volume = \frac{(massa\ do\ bec\ ker + agua + produto\ submeso) - (bec\ ker + agua)}{massa\ especifica\ da\ água}$$
(2.10)

Outro procedimento utilizado para determinação do volume de um produto irregular foi descrito por GAVA (1979) e por CASTRO et al. (2000), no qual utilizava-se um recipiente conectado a uma bureta graduada, Figura 3. O método consistia em preencher o recipiente com água destilada até o inicio da bureta graduada, onde se encontrava a marca zero. A torneira conectada ao recipiente permite fazer uma calibração do equipamento quando este estiver com um volume de água acima do zero da bureta, estando a água na marca zero. Este procedimento é feito escoando-se a água com auxilio da torneira.

Depois do equipamento zerado, este é girado em 180° onde se abre a tampa do recipiente e introduz-se o produto de forma irregular no seu interior. Em seguida, fecha-se a tampa e novamente gira-se o equipamento em 180°. O volume introduzido no seu interior

faz com que haja um deslocamento da água no interior da bureta, sendo que o volume lido na bureta, corresponde ao volume em cm<sup>3</sup> do objeto irregular.

Os autores comentam que o volume do objeto corresponde ao real, se não houver absorção de água pelo objeto, ou se o objeto for recoberto por uma pequena película impermeabilizante, ou ainda se o procedimento for suficientemente rápido para que o objeto não absorva uma quantidade de água significativa. Os autores relatam ainda que se uma dessas três condições não for satisfeita provavelmente existirá um erro de medida de determinação de volume.

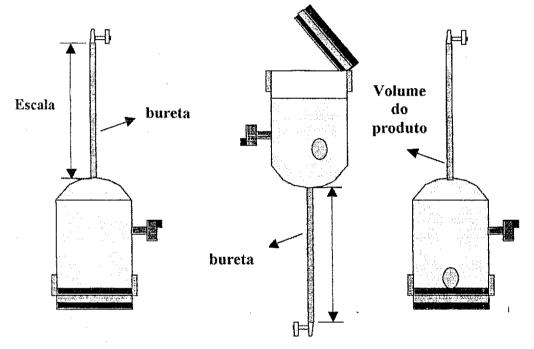


FIGURA 3 – Aparelho para determinar o volume de uma semente irregular

Outra proposta para o calculo do volume, foi feita por Houston, citado por QUEIROZ (1994), onde realizava a medida dos três eixos, maior, menor e longitudinal. Neste método, a média das áreas projetadas obtidas com os três eixos definidos como área média, conduz ao cálculo de um volume que difere do volume experimental por um fator constante determinado.

CAVALCANTI MATA & FERNANDES FILHO (1984), construíram um picnômetro de comparação a ar e determinou o volume do objeto, Figura 4. O procedimento para encontrar o volume do objeto irregular foi realizado da seguinte maneira. O aparelho foi constituído de dois cilindros de igual volume (359,53 cm3), sendo

que o cilindro 1 estava conectado a um compressor a ar e no segundo cilindro foi colocado o objeto irregular. Com a válvula fechada injetou-se ar comprimido no primeiro cilindro e mediu-se a pressão P<sub>1</sub> no manômetro de mercúrio. Logo em seguida, abriu-se a válvula de comunicação entre os dois cilindros e mediu-se a pressão P<sub>2</sub>. O volume do objeto irregular foi obtido pela seguinte fórmula:

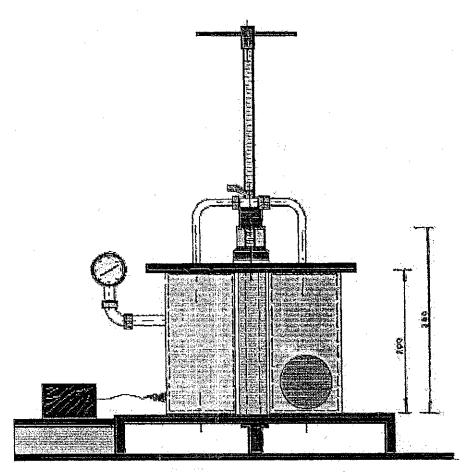
$$V = 359,53 \left[ 1 - \frac{P_1 - P_2}{P_2} \right] \tag{2.11}$$

em que,

V = Volume do objeto irregular, cm<sup>3</sup>

 $P_1$  = Pressão do Cilindro 1

 $P_2$  = Pressão do Cilindro 1 e 2 após a abertura da válvula



VISTA FRONTAL

FIGURA 4 - Picnômetro de comparação a ar para determinação do volume de um produto irregular

## 2.3.4 – Densidade (Massa especifica)

Em estudos desenvolvidos por SINGH e HELDMAN (1998), foi relatado que a densidade é um indicativo de como a matéria esta organizada no corpo; assim os materiais com estrutura molecular mais compacta têm maior densidade. Os mesmos autores relataram que existem três tipos de densidades quando se trabalha com materiais biológicos: a densidade de sólido, a densidade de partícula e a densidade a granel. Seus valores dependem de como se considera a porosidade no interior do produto. A densidade da água em estado sólido (gelo) é menor que a densidade da água no estado líquido. A densidade de um alimento congelado será, portanto, menor que a de um produto não congelado, existindo uma dependência com a temperatura. Essa mudança gradual da densidade se deve ao fator da mudança da proporção de água congelada em função da temperatura. Sendo a mudança da densidade proporcional ao conteúdo de água do produto.

De acordo com IBARZ e BARBOSA-CÁNOVAS (1999), uma equação que permite o cálculo da densidade de um produto congelado é:

$$\frac{1}{\rho} = \frac{x_A}{\rho_A} + \frac{x_H}{\rho_H} + \frac{x_S}{\rho_S} \tag{2.12}$$

onde  $x_A$ ,  $x_H$  e  $x_S$  são as frações mássicas da água não congelada, do gelo e dos sólidos totais, respectivamente.

De acordo com MOHSENIN (1980), a densidade ou massa específica é obtida determinando-se a massa de cada unidade intacta do material e dividido pelo seu volume, incluindo o espaço poroso dentro de cada unidade do material.

Um dos métodos para a determinação da densidade é o método do deslocamento de água, citado por DUTTA et al. (1988). Essa técnica consiste em imergir uma determinada quantidade de sementes em um cilindro contendo água, fazendo assim que ocorra um deslocamento dessa água. De acordo com o método de deslocamento de água causa um erro insignificante na determinação, sendo, portanto um dos mais utilizados.

Em estudos realizados por DURIGAN et al. (1978), para diferentes variedades do feijão comum, quanto maior a densidade, menor a relação de hidratação e quanto menor a relação de hidratação, maior o tempo para cozimento. OMOBUWAJO et al. (2003) utilizando o método de deslocamento de água para medir a densidade de sementes de *Monodora myristica*, com o teor de umidade de 7,67% (b.u.), verificaram uma densidade de 833,2 kg. m<sup>-3</sup>. Concordando com AVIARA e GWANDZANG (1999) que estudando sementes de Guna, com teores de umidade entre 4-7%, pelo método do deslocamento de água, verificaram a ocorrência da diminuição da densidade de 870 a 680 kg/m<sup>3</sup>.

Resultado semelhante foi encontrado por ÇARMAN (1996), estudando sementes de lentilha, no qual a densidade diminuiu de 1190 para 935 kg/m³, com o aumento da umidade de 6,5 para 32,6%. Estando também de acordo com os resultados de DESHPANDE et al. (1993), os quais verificaram que a densidade de sementes de soja diminuiu de 1216 a 1124 kg/m³, com o aumento da umidade de 8,7 para 25% (b.s.).

ÖZARSLAN (2002), estudando sementes de algodão com linter e deslintada, em função da variação da umidade de 8,33 para 13,78% (b.s.), verificou que ocorreu uma diminuição da densidade das sementes de 642 a 610 kg/m³. Resultado também observado por KONAK et al. (2002), para sementes de ervilha, no qual a densidade diminuiu de 1428 a 1368 kg/m³, com o aumento da umidade de 5,2 para 16,5% (b.s.).

BARYEH (2002), utilizando o método do hectolitro, verificou o aumento da densidade de 1000 sementes de milho com teores de umidade variando de 5 para 22,5%, de 1550 para 1712 kg/m³, respectivamente. O mesmo autor em (2001) estudando sementes de amendoim, utilizando o método do tolueno, verificou a diminuição de 1,285 a 1,160 g/cm³, com a variação do teor de umidade 5 para 35% (b.u.).

Utilizando o método do deslocamento de gás para a determinação da densidade de sementes de abóbora, JOSHI et al. (1993), verificaram que a densidade da maioria das sementes aumentou de 404 a 472 kg/m³, com os teores de umidade variando de 4 para 40% (b.s.). Resultado também encontrado por SUTHAR e DAS (1996), para sementes de melancia, com a variação dos teores de umidade de 7 para 35% (b.s.), no qual ocorreu um aumento da densidade de 487 a 595 kg/m³.

### 2.4 Cinética de congelamento

Segundo o Instituto Internacional do Frio citado por NEVES FILHO (1991), durante o processo de congelamento, um produto passa por vários estágios diferentes com o decorrer do tempo atingido diferentes regiões do produto, sendo que a maior velocidade de congelamento é obtida na superficie do produto e é mais lenta próxima ao seu centro.

De acordo com GRUDA e POSTOLSKI (1986), a velocidade de congelamento de um produto depende dos seguintes fatores: método de congelamento, tamanho do produto, composição química, propriedades físicas do produto (densidade, calor específico e difusividade térmica) e do tipo de embalagem. KASAHARA et al., (1986), acrescentam ainda que essas propriedades físicas passam por grandes mudanças durante o congelamento, como consequência da diminuição da temperatura e da mudança do estado da água presente no produto, influenciando, com isso, a velocidade e o tempo de congelamento do produto.

KASAHARA et. al., (1986) considera como uma forma prática para se determinar a evolução do processo de congelamento, o conhecimento da variação de temperatura do produto em função do tempo. Com isso, os produtos e os sistemas complexos em geral, geram curvas de congelamento típicas, não se congelando a uma temperatura definida. COX (1987) ressalta que a qualidade desses produtos depende da velocidade em que é congelado, sendo considerado como os melhores resultados quando se trabalhar com o "congelamento rápido", devendo-se, entretanto estudar a cinética de congelamento devido a sua complexidade em função de um grande número de variáveis.

Na Figura 5, se expressa graficamente a curva típica do processo de congelamento de um produto biológico com um conteúdo elevado de água (75% b.u.). Com relação a esta curva de congelamento, permite-se dizer que ela pode variar dependendo do produto e pode ser mais inclinada ou menos inclinada que a apresentada na figura. Em cada caso pode-se determinar as três etapas, que corresponde às fases do processo de congelamento para os produtos biológicos. Para este produto a primeira fase, que corresponde ao tempo decorrido de  $\underline{\mathbf{a}}$  até  $\underline{\mathbf{b}}$ , ocorre o resfriamento, desde a temperatura inicial  $t_1$  até a temperatura crioscópica  $t_{cr}$ .

## 2.4 Cinética de congelamento

Segundo o Instituto Internacional do Frio citado por NEVES FILHO (1991), durante o processo de congelamento, um produto passa por vários estágios diferentes com o decorrer do tempo atingido diferentes regiões do produto, sendo que a maior velocidade de congelamento é obtida na superficie do produto e é mais lenta próxima ao seu centro.

De acordo com GRUDA e POSTOLSKI (1986), a velocidade de congelamento de um produto depende dos seguintes fatores: método de congelamento, tamanho do produto, composição química, propriedades físicas do produto (densidade, calor específico e difusividade térmica) e do tipo de embalagem. KASAHARA et al., (1986), acrescentam ainda que essas propriedades físicas passam por grandes mudanças durante o congelamento, como consequência da diminuição da temperatura e da mudança do estado da água presente no produto, influenciando, com isso, a velocidade e o tempo de congelamento do produto.

KASAHARA et. al., (1986) considera como uma forma prática para se determinar a evolução do processo de congelamento, o conhecimento da variação de temperatura do produto em função do tempo. Com isso, os produtos e os sistemas complexos em geral, geram curvas de congelamento típicas, não se congelando a uma temperatura definida. COX (1987) ressalta que a qualidade desses produtos depende da velocidade em que é congelado, sendo considerado como os melhores resultados quando se trabalhar com o "congelamento rápido", devendo-se, entretanto estudar a cinética de congelamento devido a sua complexidade em função de um grande número de variáveis.

Na Figura 5, se expressa graficamente a curva típica do processo de congelamento de um produto biológico com um conteúdo elevado de água (75% b.u.). Com relação a esta curva de congelamento, permite-se dizer que ela pode variar dependendo do produto e pode ser mais inclinada ou menos inclinada que a apresentada na figura. Em cada caso pode-se determinar as três etapas, que corresponde às fases do processo de congelamento para os produtos biológicos. Para este produto a primeira fase, que corresponde ao tempo decorrido de  $\underline{a}$  até  $\underline{b}$ , ocorre o resfriamento, desde a temperatura inicial  $t_1$  até a temperatura crioscópica  $t_{cr}$ .

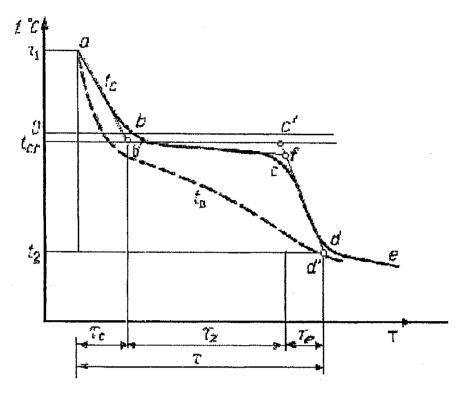


FIGURA 5 - Curva de congelamento de um produto alimentício (GRUDA e POSTOLSKI, 1986)

em que,

t<sub>c</sub> - Temperatura do centro do produto;

 $t_p$  – Temperatura da superficie do produto;

 $t_1$  e  $t_2$  – Temperatura inicial e final do produto, respectivamente.

a-b'-c'd' - Curva teórica de congelamento.

*a-b-c-d-e* – Curva real de congelamento.

O tempo decorrido entre  $\underline{\mathbf{b}}$  e  $\underline{\mathbf{c}}$  corresponde ao congelamento, nesse estágio a curva tende a ser horizontal. No ponto  $\underline{\mathbf{c}}$ , ocorre uma curva diferente da horizontal, neste ponto a curva começa a cair bruscamente e se inicia uma nova fase, que é o póscongelamento. Nesta fase que vai de  $\underline{\mathbf{c}}$  a  $\underline{\mathbf{d}}$ , é o período de redução da temperatura abaixo do ponto de congelamento, que corresponde, na maioria dos produtos, a um congelamento de, aproximadamente, 73% da quantidade total de água.

Quando os materiais biológicos não têm um conteúdo de água considerado elevado, observa-se que a água deixa de ser um elemento químico dominante e a curva característica de congelamento é alterada. Nessa alteração as curvas têm semelhança com a

curva típica de resfriamento. Assim, as equações da cinética de congelamento podem ser descritas como as utilizadas para resfriamento.

A equação que rege os fenômenos de transferência de calor ou de resfriamento, em eixo cartesiano, é dada pela equação denominada de Lei de Fourier.

$$\frac{\partial^2 T}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 T}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 T}{\partial z^2} + \frac{q_1}{k} = \alpha \left( \frac{\partial T}{\partial t} \right)$$
 (2.13)

em que,

T = temperatura, K

t = tempo, s

 $k = \text{condutividade térmica, W.m}^{-1}$ . K<sup>-1</sup>

 $q_{\rm i}$  = geração de calor interno,  $\rm J.s^{-1}.m^{-3}$ 

 $\alpha$  = difusividade térmica, m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>

 $x,y \in z = s\tilde{a}o$  os eixos cartesianos

Segundo MOHSENIN (1980) a equação básica da variação de temperatura em função do tempo no sentido unidirecional, em eixo cartesiano, para uma placa plana infinita de espessura  $2x_m$  é dada pela equação 2.14.

$$\frac{\partial T}{\partial t} = \alpha \cdot \frac{\partial^2 T}{\partial x^2} \tag{2.14}$$

em que,

x = distancia, m

A solução analítica da equação 2.14, dada pelo mesmo autor, é:

$$\frac{T - T_{\alpha}}{T_{i} - T_{\alpha}} = 2 \sum_{n=1}^{\infty} \left( \frac{sinM_{n}}{M_{n} + sinM_{n} \cos M_{n}} \right) \exp\left( \frac{-M_{n}^{2} \alpha.t}{x_{m}^{2}} \right) \cos\left( M_{n} \frac{x}{x_{m}} \right)$$
(2.15)

em que,

$$M_n = \text{\'e}$$
 a raiz,  $e M_n$  \'e dado por  $tan M_n = \frac{hx_m}{k}$ 

 $x_m$  = meia espessura, m

x = distancia até o centro, m

onde o subscrito n corresponde a n valores para as n soluções da função.

Devido à simetria, a solução acima é aplicável quando um lado da placa é isolado utilizando-se a meia espessura  $x_m$ . É também aplicável para uma placa finita com bordas isoladas, uma haste ou uma barra com uma periferia isolada. De acordo com o mesmo autor quando a temperatura é medida no centro do produto, que pode ser um produto biológico, a equação 2.15 é simplificada para:

$$\frac{T - T_{\alpha}}{T_{i} - T_{\alpha}} = 2 \sum_{n=1}^{\infty} \left( \frac{\sin M_{n}}{M_{n} + \sin M_{n} \cos M_{n}} \right) \exp \left( \frac{-M_{n}^{2} \alpha.t}{x_{m}^{2}} \right)$$
(2.16)

Quando um produto biológico é semelhante a um cilindro e a equação de condução de calor é alterada para coordenadas cilíndricas, neste caso a equação é dada por:

$$\frac{1}{r}\frac{\partial}{\partial r}\left(r\frac{\partial T}{\partial r}\right) + \frac{1}{r^2}\left(\frac{\partial^2 T}{\partial \phi^2}\right) + \left(\frac{\partial^2 T}{\partial z^2}\right) + \frac{q_1}{k} = \frac{1}{\alpha}\frac{\partial T}{\partial t}$$
(2.17)

em que,

r = raio, m

 $\phi$  = ângulo polar, rd.

z = distancia axial, m

Quando não existe geração de calor interno a equação 2.17 pode ser escrita como:

$$\frac{1}{\alpha} \frac{\partial T}{\partial t} = \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left( r \frac{\partial T}{\partial r} \right) + \frac{1}{r^2} \left( \frac{\partial^2 T}{\partial \phi^2} \right) + \left( \frac{\partial^2 T}{\partial z^2} \right)$$
(2.18)

E a equação de transferência de calor por condução unidirecional no sentido radial é expressa por:

$$\frac{\partial T}{\partial t} = \alpha \left[ \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left( r \frac{\partial T}{\partial r} \right) \right] \tag{2.19}$$

A solução analítica da equação 2.19 para um cilindro infinito de acordo com Schneider citada por MOHSENIN (1980) é dada por:

$$\frac{T - T_{\alpha}}{T_{i} - T_{\alpha}} = 2 \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{M_{n}} \frac{J_{1}(M_{n})}{J_{0}^{2} M_{n} + J_{1}^{2}(M_{n})} \exp\left(\frac{-M_{n}^{2} \alpha.t}{r_{m}^{2}}\right) J_{0} M_{n} \frac{r}{r_{m}}$$
(2.20)

onde  $M_n$  são raízes (ou n valores) da função enésima e  $(M_n) \frac{J_1(M_n)}{J_0(M_n)} = \frac{h r_m}{k}$  em que,

 $r_m$  = raio do cilindro, m

 $r_m =$ é a distancia até o centro, m

 $J_1$  e  $J_0$  = representa a ordem da função de Bessel

Segundo o autor Tabelas são elaboradas para estabelecer valores para a função de Bessel, por exemplo, para n = 1,  $J_0(M_1) = 2,4048$  e  $J_1(M_1) = 3,8317$ 

O mesmo autor relata que a equação de Fourier para coordenadas esféricas, em reciprocidade a equação 2.13, pode ser expressa por:

$$\frac{1}{r} \left[ \frac{\partial}{\partial r} \left( r^2 \frac{\partial T}{\partial r} \right) + \frac{1}{\sin \phi} \frac{\partial}{\partial \phi} \left( \sin \phi \frac{\partial T}{\partial \phi} \right) + \frac{1}{\sin^2 \phi} \left( \frac{\partial^2 T}{\partial \phi^2} \right) + \frac{q_1}{k} \right] = \frac{1}{\alpha} \frac{\partial T}{\partial t}$$
(2.21)

Onde  $\phi$  e  $\varphi$  são ângulos de longitude e latitude, respectivamente. Quando não existe calor interno sendo gerado a equação 2.21 pode ser escrita como:

$$\frac{1}{\alpha} \frac{\partial T}{\partial t} = \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left( r \frac{\partial T}{\partial r} \right) + \frac{1}{r^2} \left( \frac{\partial^2 T}{\partial \phi^2} \right) + \left( \frac{\partial^2 T}{\partial z^2} \right)$$
(2.22)

E a solução analítica da equação 2.22 para um produto semelhante a uma esfera, pode ser dada pela equação descrita por Apaci em1966 e citada por MOHSENIN (1980). Essa equação é:

$$\frac{T - T_{\alpha}}{T_{i} - T_{\alpha}} = 2 \sum_{n=1}^{\infty} \frac{\sin M_{n} - M_{n} \cos M_{n}}{M_{n} - \sin M_{n} \cos M_{n}} \exp\left(\frac{-M_{n}^{2} \alpha.t}{r_{m}^{2}}\right) \frac{\sin \left(M_{n} \frac{r}{r_{m}}\right)}{M_{n} \frac{r}{r_{m}}}$$
(2.23)

em que,

 $r_m$  = raio da esfera, m

r = raio até o centro, m

$$M_n$$
 é definida como  $\frac{M_n}{\tan M_n} = 1 - \frac{hr_m}{k}$ 

A equação 2.23 pode ser simplificada quando se trabalha com a medição da temperatura no centro geométrico do produto. Neste caso essa equação se torna:

$$\frac{T - T_{\alpha}}{T_i - T_{\alpha}} = 2 \sum_{n=1}^{\infty} \frac{\sin M_n - M_n \cos M_n}{M_n - \sin M_n \cos M_n} \exp\left(\frac{-M_n^2 \alpha.t}{r_m^2}\right)$$
(2.24)

De acordo com MILLER et al (1982) os produtos quando congelados convencionalmente e em nitrogênio líquido e armazenados por um período de 24 meses, apresentarem um decréscimo da qualidade do produto ao longo do armazenamento, entretanto esses mesmos produtos quando foram congelados em temperaturas muito baixas (nitrogênio líquido), apresentava uma melhor aparência do que quando congelado convencionalmente. Isso ocorreu devido, principalmente, à dimensão dos cristais de gelo, número de cristais e localização dos cristais de gelo no interior do produto.

### 2.4.1 Difusividade térmica

De acordo com INCROPERA & WITT (1992), as propriedades termofisicas incluem duas categorias distintas, as propriedades de transportes e as propriedades termodinâmicas. As propriedades de transportes incluem os coeficientes de taxas de difusão, a condutividade térmica, entre outras. As propriedades termodinâmicas, por outro lado, referem-se a estados de equilíbrio de sistema. A densidade ( $\rho$ ) e o calor específico ( $C_p$ ) são duas destas propriedades que se usam intensamente na análise termodinâmica.

Segundo BROWMIK e HAYAKAWA (1973) e BHOWMIX et al (1979) o estudo da difusividade térmica é necessário para se determinar às curvas de temperatura de alimentos, durante processos de transferência de calor para a delimitação dos próprios procedimentos usados nessas operações.

Quando um processo de transferência de calor satisfaz uma condição transiente, a propriedade térmica principal é a difusividade térmica ( $\alpha$ ), sendo que este parâmetro permite, por uma lado, estabelecer a rapidez com que o calor se difunde no material que se esfria ou aquece e por outro lado, conhecer o grau de dependência que existe entre a temperatura e o tempo, para uma dada região do produto (KASAHARA et al, 1986).

Para descrever o resfriamento ou o congelamento de produtos, diversos pesquisadores, entre eles, CALVELO (1986) e KASAHARA (1986) têm recorrido às equações tradicionais de transferência de calor tendo utilizado diferentes soluções que são específicas para cada caso.

Segundo ROSSI e ROA (1980), para a determinação das mudanças de temperaturas internas do produto sujeito aos processos de refrigeração faz-se necessário a determinação da difusividade térmica  $\alpha$ , sendo que para sementes são supostas duas condições, ou seja, a determinação da difusividade de grãos ou sementes individuais é realizada colocando-se termopares no interior desses grãos ou sementes; e a determinação para uma massa do produto, onde existe a porosidade intergranular e as sementes são envolvida por uma massa de ar. Neste caso, os termopares são inseridos nos espaços intergranulares.

De acordo com NEVES FILHO (1991) uma maneira para se obter a difusividade térmica de um produto são conhecendo-se a condutividade térmica, a massa específica do produto e seu calor específico. Com essas propriedades termofisicas calculase a difusividade térmica por meio da seguinte fórmula:

$$\alpha = \frac{k}{\rho \times Cp} \tag{2.25}$$

em que,

 $\alpha$  = difusividade térmica, m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>

K = condutividade térmica, W.m<sup>-1</sup>. °C<sup>-1</sup>

 $\rho$  = massa específica, kg. M<sup>-3</sup>

Cp = calor específico, J.kg<sup>-1</sup>. °C<sup>-1</sup>

De acordo com DICKERSON e READ (1973) a difusividade térmica também pode ser obtida medindo-se a quantidade de calor absorvido (dC<sub>p</sub>) por um material, para uma dada mudança de temperatura. Neste procedimento o material pode também indicar a sua habilidade para conduzir calor para moléculas adjacentes determinando-se conjuntamente a sua condutividade térmica (K).

Segundo PARK et al. (1999), a difusividade térmica é utilizada em situações onde a transferência de calor ocorre em regime transiente e é expressa pela 2ª lei de Fourier, unidirecional que é dada por:

$$\frac{\partial^2 T}{\partial x^2} = \frac{1}{\alpha} \cdot \frac{\partial T}{\partial \theta} \tag{2.26}$$

em que,

T = temperatura, K

x = comprimento ou espessura, m

 $\theta$  = tempo, s

 $\alpha$  = difusividade térmica, m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>

Segundo PARK (2001), a dependência da difusividade com a temperatura é expressa pela energia de ativação baseada em uma equação do tipo Arrhenius:

$$\ln(D_{ef}) = \ln(D_o) - \frac{Ea}{R.T}$$

onde:

 $D_{ef}$  - difusividade efetiva (m<sup>2</sup>/s);

 $D_0$  - Fator de Arrhenius (m<sup>2</sup>/s);

Ea - energia de ativação (J/mol);

R - constante universal dos gases (8,1314 J/mol K);

*T* - temperatura absoluta (K).

Neste caso Dickerson citado por MOURA et al. (2001) relata que a difusividade também pode ser calculada introduzindo o produto estudado em um cilindro com elevada condutividade térmica, o qual por sua vez, se submerge em banho térmico de água, com dois termopares acoplados, devidamente calibrados - um na superficie, para tomadas de medidas de temperatura nesta posição, outro, tipo agulha, disposto no plano central da amostra (Figura 6). A temperatura da água é elevada a uma velocidade constante. Os dados obtidos servirão como base para o tratamento gráfico dos perfis de evolução das temperaturas externa e interna, além de permitirem uma monitoração da taxa de elevação de temperatura do banho térmico.

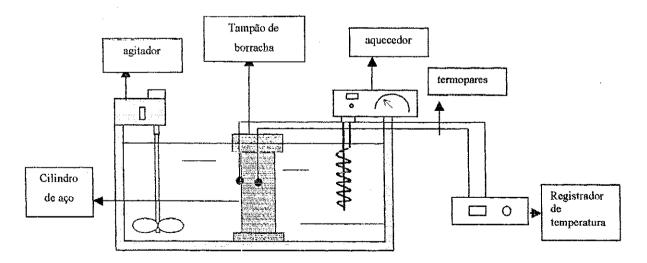


FIGURA 6 - Aparelho de Dickerson para determinação da difusividade térmica.

Neste caso, segundo DICHERSON (1965), com os dados de tempo e temperatura registrados nos dois termopares é possível determinar a difusividade térmica pela seguinte equação:

$$\alpha = \frac{AR^2}{4(T_R - T_Q)} \tag{2.27}$$

em que,

 $R^2$  = raio do cilindro, m

 $\alpha$  = difusividade térmica m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>

Onde os valores de (A) e ( $T_s$ - $T_c$ ) são conseguidos por meio das equações de regressão linear obtidas graficando-se a temperatura em função do tempo, onde (A) é calculado por meio da inclinação média das duas retas ( $T_R$ ) e ( $T_0$ ), e a diferença de temperatura ( $T_R$ - $T_0$ ) é obtida quando as curvas se tornam paralelas.

Segundo Gaffney et al. citado por QUEIROZ (1994), os valores de difusividade variam consideravelmente para um determinado produto, chegando a diferenças de 25% ou mais para produtos com alto teor de umidade.

Os materiais que tem difusividade térmica alta podem ser aquecidos ou resfriados rapidamente, enquanto, que as substâncias com baixa difusividade se aquecem ou resfriam lentamente. Assim, a difusividade térmica, é uma propriedade importante quando se consideram situações de transferência de calor em estado não estacionário (LEWIS, 1993).

Em estudos realizados por YANG et al., (2002) para sementes de borragem (*Borago officinalis*) com temperaturas variando de 6 a 20°C e teores de umidade de 1,2 a 30,3% b.u., observou-se que ocorreu um aumento da difusividade térmica de 2,32 x 10<sup>-7</sup> para 3,18 x 10<sup>-7</sup>s<sup>-1</sup>.m<sup>2</sup> para a maioria das sementes de borragem, com o aumento da temperatura. Resultado semelhante foi encontrado por DUTTA et al., (1988) estudando diferentes sementes, apresentando teores de umidade variando de 12,5 a 26,5% e

temperatura entre 20 e 34°C, onde pode ser observado um aumento da difusividade térmica de  $9,46 \times 10^{-8}$  para  $16,35 \times 10^{-8}$  m²/s à medida que a temperatura aumentava.

VERMA et al. (1990) estudando a difusividade térmica pelo método transiente de quatro cultivares de mostarda indiana (*Brassica juncea*) com temperatura variando de -20 a 90°C, observou que a difusividade térmica diminuiu quando a temperatura situava-se entre -20° e -15°C, em seguida aumentou com aumento da temperatura até -5°C, onde continuou aumentando gradualmente até a temperatura de 75°C.

YANG e ZHAO (2001) estudando sementes do nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L) e de alfafa (*Medicago sativa* L.) com temperatura variando de 30 a 80°C e teores de umidade de 4,6 a 6,5% para sementes de nabo e 5,0 a 7,3% para sementes de alfafa, observou que a difusividade térmica aumentou de 25,13 x 10<sup>-8</sup> para 34,47 x 10<sup>-8</sup> m<sup>-2</sup>/s para as sementes de nabo e de 27,14 x 10<sup>-8</sup> para 29,73 x 10<sup>-8</sup> m<sup>-2</sup>/s para as sementes da alfafa.

De acordo com MUNDE (1998) a difusividade térmica calculada pelo método transiente para sementes de soja aumentou como o aumento do teor de umidade de 9,5 a 30,62%. FASIN e SOKHANSANJ (1995) estudando a difusividade térmica em sementes de alfafa peletizada, com teor de umidade variando entre 7,5 a 18% b.u., observou-se o aumento da difusividade de 1,05 para 2,50 x 10<sup>-7</sup> m<sup>2</sup>/s.

De acordo com SHINOJ-SUBRAMANIAN (2003) a difusividade térmica para sementes de *Panicum miliare*, *Eleusine coracana*, *Sestaria italia*, *Paspalum sorobiculatum*, *Echinochola colona e Panicum miliaceum* com teor de umidade variando 10 a 30%, diminuiu de 0,731 x 10<sup>-3</sup> a 0,55 x 10<sup>-3</sup> m<sup>-2</sup>/h com o aumento do teor de umidade. Em estudos realizados por PARK et al. (1999) para a difusividade térmica do arroz e do trigo, foi encontrado os valores de 1,67 x 10<sup>-4</sup> m<sup>-2</sup>/s para o arroz e de 1,12 x 10<sup>-4</sup> m<sup>-2</sup>/s para o trigo. Segundo SINGH e GOSWAMI (2000) ocorreu um aumento da difusividade térmica de sementes de cominho a medida em se aumentava a temperatura de –70 a 50°C e o teor de umidade de 1,8 a 20,5% b.s. DESHPANDE et al. (1996) estudando a difusividade térmica da soja (*Glycine max* cv. JS-7244), observou um aumento 2,94 x de 10<sup>-4</sup> para 3,07 x 10<sup>-4</sup> m<sup>-2</sup>/h a medida que aumentava-se o teor de umidade de 8,1 a 25% b.s. JEKENDRA et al. (1995) estudando a difusividade térmica com diferentes teores de umidade para o

diferentes teores de umidade para o trigo, milho, sorgo, soja e gergelim observou que ocorreu uma diminuição da difusividade com o aumento da umidade, tendo sido observado uma difusividade mínima de 2,46 x 10<sup>-3</sup> m<sup>-2</sup>/h para o milho com teor de umidade de 28,4% e uma difusividade máxima de 3,77 x 10<sup>-3</sup> m<sup>-2</sup>/h para o sorgo com teor de umidade de 8,35%. JONES et al. (1992) encontrou a difusividade térmica aproximada de 1,7 x 10<sup>-7</sup> m<sup>-2</sup>/s para o arroz e o trigo. MUZILLA et al. (1991) estudando a difusividade térmica da soja (*Glycine max* (L.) Merr.) observou a variação deste de 1,71 x 10<sup>-7</sup> m<sup>-2</sup>/s<sup>-1</sup>.

# 2.5. Germinação e vigor

Segundo TOLEDO e MARCOS FILHO (1977) as sementes após atingirem a maturidade passam por um período de latência, sendo com isso interrompido o desenvolvimento e crescimento do embrião, ao reinício dessas atividades é denominado germinação.

De acordo com NASSIF et al., (1998), a germinação é considerada como uma sequência de eventos fisiológicos influenciados por fatores externos (ambientais) e internos (dormência, inibidores e promotores da germinação) às sementes: cada fator pode atuar por si ou em interação com os demais. Podendo ser considerado pelos botânicos como a retomada do crescimento do embrião, com o subsequente rompimento do tegumento pela radícula. Entretanto, para os tecnólogos de sementes, a germinação é definida como a emergência e o desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, manifestando a sua capacidade para dar origem a uma plântula normal, sob condições ambientais favoráveis. Para a maioria das espécies tropicais a temperatura ótima de germinação encontra-se entre 15 e 30°C. A máxima varia entre 35 e 40°C, podendo a mínima chegar ao ponto de congelamento. De maneira geral, temperaturas abaixo da ótima reduzem a velocidade de germinação, resultando em alteração da uniformidade de emergência, talvez em razão do aumento do tempo de exposição ao ataque de patógenos. Por outro lado, temperaturas acima da ótima aumentam a velocidade de germinação, embora somente as sementes mais vigorosas consigam germinar.

Essa germinação de acordo com MAYER e POLJAKOFF MAYBER (1989), é influenciada por uma faixa de temperatura para que ocorra uma máxima germinabilidade, essa temperatura é diferente para cada espécie de sementes.

Normalmente dentro dessa faixa existe uma temperatura ótima, acima e abaixo da qual a germinação é retardada, entretanto não é interrompida, sendo estabelecida como temperatura ótima àquela que apresenta a maior percentagem e velocidade de germinação.

De acordo com MARCOS FILHO et al.(1987) o teste de germinação é a obtenção de informações que permitem determinar o valor das sementes para semeadura e a comparação com diferentes lotes. Em estudos realizados por ALMEIDA et al. (1999) quando se estudam sementes o primeiro atributo da qualidade fisiológica que deve ser considerado é a percentagem de germinação, que representa a capacidade da semente em dar origem a uma plântula normal. Com isso, toda semente destinada ao plantio deverá ser cuidadosamente beneficiada e conservada durante o período de armazenamento, até o momento de sua utilização, para garantir a preservação de sua qualidade fisiológica.

Entretanto, algumas sementes mesmo estando em condições favoráveis para a sua germinação (umidade, temperatura, luz e oxigênio), estas se apresentam com um período de latência maior, essa condição de latência faz com que as sementes sejam classificadas como sementes dormentes. Esse processo é um recurso utilizado pelas plantas para germinarem na estação mais propícia ao seu desenvolvimento, buscando desta forma a perpetuação da espécie. Entretanto esse processo de dormência retarda a geminação, fazendo com que ocorra uma germinação desuniforme, com isso faz-se necessário utilizar métodos para quebra essa dormência.

TOLEDO e MARCOS FILHO (1977) descrevem a dormência como uma paralisação do crescimento em um determinado estágio de vida da planta, durante um certo período de tempo, essa paralisação pode ocorrer em sementes, gemas, florais, rizomas, bulbos e tubérculos. Esse fenômeno de dormência ocorre devido diversos fatores, entre eles, quando o tegumento é impermeável a água, neste caso as sementes são denominadas sementes duras, para a eliminação desse problema é provocado uma alteração do tegumento, através de escarificação, tratamento com ácido sulfúrico concentrado, imersão em água quente, tratamento com solventes ou incisão com lâmina ou estilete. Outros fatores que ocasionam a dormência em sementes são: sementes com tegumentos impermeáveis a gases, sementes (embriões) fisiologicamente imaturas ou embriões dormentes, sementes com a presença de substâncias inibidoras, embriões que

requerem acidez e a dormência secundária que ocorre quando as sementes são mantidas em condições ambientais desfavoráveis.

De acordo com VIEIRA e FERNANDES (1997), cerca de dois terços das espécies arbóreas, possuem algum tipo de dormência, cujo fenômeno é comum tanto em espécies de clima temperado (regiões frias), quanto em plantas de clima tropical e subtropical (regiões quentes). O fenômeno de dormência em sementes advém de uma adaptação da espécie as condições ambientais que ela se reproduz, podendo ser de muita ou pouca umidade, incidência direta de luz, baixa temperatura etc. Esses autores relatam que para a quebra da dormência das sementes de jatobá deve ser utilizado a escarificação com lixa.

BARBOSA et al. (1994) aplicando 14 tratamentos pré-germinativos nas sementes de visgueiro (*Parkia pendula*), concluíram que os melhores resultados de germinação foram obtidos utilizando ácido sulfúrico concentrado por 20 e 30 minutos.

Leopold e Kriedmann citado por SANTOS (1985) relatam que para sementes de muitas espécies a sua germinação só é estimulada pela remoção ou ruptura das camadas do tegumento. O mesmo autor citando Johnston, informa que para a família das Malvaceae, o melhor tratamento para a quebra da dormência foi a escarificação mecânica.

LACERDA (2001) testou vários tratamentos para a quebra de dormência das sementes de jatobá, sendo verificado que essas sementes quando escarificadas mecanicamente apresentavam uma maior percentagem de germinação e vigor. Na Tabela 1 encontram-se os valores obtidos pelo autor.

TABELA 1 - Vigor e germinação das sementes de jatobá quando submetida a diversos tratamentos para superar sua dureza e dormência

TRATAMENTOS	VIGOR %	GERMINAÇÃO %	TU %
Testemunha	0	0	
Pré-aquecimento	3	4	
Imersão em N <sub>L</sub>	0	0	8,1
Embebição	0	0	
Escarificação	63	71	

Fonte: (LARCEDA, 2001)

PIMENTEL (1982) estudando sementes das espécies de *Prosopis*, utilizando lixa nº 50, como forma de se eliminar a dormência das sementes, obteve uma percentagem de germinação de 83-97%.

Segundo MOORE (1972) vigor é a capacidade que possui uma semente para se desenvolver e formar uma plântula normal, mesmo em condições que não sejam satisfatoriamente ideais, como as que ocorrem em campo.

De acordo com TOLEDO e FILHO (1977) o vigor das sementes é afetado pelas condições climáticas, o vigor dos pais, maturidade das sementes, condições de armazenamento, danos mecânicos, idade das sementes, composição genética, manejo durante e após a colheita e os microorganismos e insetos.

Isely citado por TOLEDO e FILHO (1977) relata que os métodos para determinação do vigor das sementes são classificados em diretos, que são os testes que simulam em laboratório as mesmas condições que ocorrem no campo e o método indireto, que avaliam os atributos fisiológicos das sementes em laboratório, sendo também citados os métodos do teste de frio, envelhecimento rápido, velocidade e porcentagem de emergência das plântulas no campo, velocidade de germinação, primeira contagem do teste de germinação, teste de tetrazólio, comprimento das raízes e o teste de cloreto de amônio.

VIEIRA e CARVALHO (1994) afirmaram que a altura ou comprimento da planta visa determinar o vigor relativo de um lote de sementes, avaliando-se a altura média das plantas, com base no princípio de que sementes que produzem plantas com maiores valores de comprimentos médios da parte aérea são consideradas mais vigorosas, e que o peso da matéria seca da planta visa determinar o valor relativo de um lote de sementes, avaliando-se o peso médio da matéria seca da parte aérea das plantas, fundamentado no princípio de que sementes que produzem plantas com o maior peso médio de matéria seca da parte aérea da planta, em sua fase inicial de desenvolvimento, sob condições de campo, são consideradas mais vigorosas.

De acordo com ALMEIDA et al. (1999) não há melhoras da qualidade de sementes durante a sua conservação, sendo a qualidade inicial da semente, fator fundamental na manutenção da germinação e do vigor, entretanto, LIMA et al. (1999); CAVALCANTI MATA et al. (1999) e SOUSA et al. (1999) afirmaram que a germinação e o vigor são influenciados pelo armazenamento, ocorrendo perdas mais acentuadas ao longo do período de armazenagem.

ZINK e MENDONÇA (1964), citados por AZEVEDO (1994), salientaram que ambientes sujeitos a variações muito acentuadas nas condições atmosféricas são impróprios à conservação do poder germinativo das sementes, sendo a uniformização dessas condições favoráveis a sua manutenção.

# 2.6 Crioconservação

De acordo com GONZÁLEZ-ARNAO (2000), VIEIRA (2000) e KARTHA (1985), dentre as alternativas para conservação de sementes, fora de seu ambiente, encontra-se a crioconservação, técnica que utiliza o congelamento rápido a baixas temperaturas como método de conservação do material vivo, por meio da redução ou inibição total do seu metabolismo, sem causar danos ao material vegetal, pois se obtém a vitrificação das células, isto é, os componentes celulares solidificam, formando *um vidro*, sem haver formação de gelo, permitindo manter o germoplasma por vários anos (*long term storage*) sob ultra-baixa temperatura. Sendo a conservação em nitrogênio líquido (-196°C) apontado como o método mais seguro para manter por períodos teoricamente ilimitados, os recursos fitogenéticos. HENSHAW et al. (1980) ressalta que os sistemas organizados como sementes e embriões são os mais adequados para a conservação dos recursos genéticos, embora seja possível crioconservar várias partes da planta.

Segundo PITA VILLAMIL (1997), quando se congelam as sementes a temperaturas inferiores a -130°C, o metabolismo das sementes é paralisado, impedindo assim que ocorra a sua deterioração. Desta forma, as sementes crioconservadas não necessitariam ser periodicamente multiplicadas em campo.

A criopreservação ocorre no interior de botijões criogênicos (Figura 7), ondes as sementes são colocadas dentro de canisters e imersas em nitrogênio liquido, atingindo

com isso -196°C. Quando se procede a imersão do canister apenas no vapor do nitrogênio líquido a temperatura alcançada é de aproximadamente -170°C.

Para uma tomada de decisão, se determinadas sementes podem ou não ser crioconservadas, alguns fatores importantes devem ser levados em consideração como se a semente é ortodoxa, recalcitrante ou intermediaria. Se ela for ortodoxa ou intermediaria existe uma possibilidade de que ela possa ser crioconservada. De acordo com ROBERTS (1973) as sementes *ortodoxas* podem passar um processo de secagem e serem conservadas a baixas temperaturas, durante longos períodos de tempo, no entanto as *recalcitrantes* perdem a sua viabilidade quando secas abaixo de um nível crítico de umidade (12 – 13% b.u).

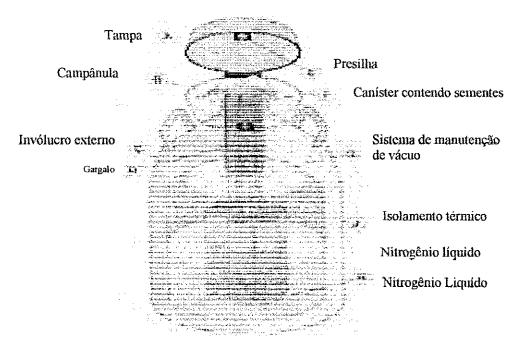


FIGURA 7 – Botijão criogênicos para o armazenamento de sementes.

Uma vez definida a possibilidade de criconservação das sementes torna-se necessário conhecer ainda com que teor de umidade ela deve ser criosonservada. Neste tema, segundo STANWOOD (1985) os quantitativos de água no interior do produto são importantes, uma vez que, a água a determinadas temperaturas negativas, entre 0 e – 4 °C, se expande podendo provocar o rompimento de determinadas células. Desta forma, segundo o mesmo autor, é necessário determinar o conteúdo de água limite que as sementes devem conter para que a sua viabilidade não seja afetada. Esse conteúdo de água foi definido como o HMFL de uma determina sementes, que vem do inglês e significa a

abreviatura de "High Moisture Freezing Limit", ou seja, o conteúdo de água máximo ou limite para que a semente possa ser congelada ou crioconservada.

De acordo com STANWOOD (1985), este limite crítico de conteúdo de água se encontra normalmente em uma faixa relativamente estreita para cada espécie, podendo variar entre as espécies. O autor elaborou a Tabela 2 onde são mostrados os conteúdos de água limite para a crioconservação de várias espécies. Nessa Tabela observa-se que os conteúdos de água limites para crioconservação vão desde 9,3% base úmida, para sementes de gergelim, até 27,2% para sementes de feijão.

TABELA 2. Conteúdo de Água Limite para Crioconservação (CALC) de sementes de algumas espécies.

Espécie	Germinação		
	HMFL	Conteúdo de Água abaixo do CALC	Conteúdo de Água acima do CALC
Hordeum vulgare	20,8	98	18
Phaseolus vulgare	27,2	99	84
Brassica oleraceae	13,8	90	0
Cucumis sativus	16,4	98	1
Festuca sp	23,0	98	2
Allium cepa	24,7	70	0
Raphanus sativus	16,8	99	4
Sesamum indicum	9,3	97	. 0
Lycopersicon esculentum	18,5	93	0
Triticum aestivum	26,8	96	25

FONTE: STANWOOD (1985)

RAMOS e SEIJO (1999) verificaram um aumento da tolerância ao congelamento durante o desenvolvimento de sementes de ervilha (*Pisum sativum* L.) cv. akabana. Mediante o congelamento por imersão em nitrogênio líquido dos tecidos das sementes, abaixo de um determinado conteúdo de água, vitrificaram-se, e em consequência, as sementes sobreviveram ao congelamento. No entanto, as sementes que foram colhidas depois de 35 dias do florescimento não germinaram, após teste de imersão

no nitrogênio líquido, porém, às colhidas depois de 50 dias do florescimento, germinaram em 90%.

IRIONDO et al. (1992) analisaram a influência da conservação, em nitrogênio líquido em arroz, aveia, alface cv. Regina e Valdor, aipo cv. Tall Utah 52-70R, Betula atriplicifolium, Colutea atlantica, Datura ferox, D stramonium, Halimium atriplicifolium, Lavandula stoechas subsp. pedunculata, Onobrychis eriophora (O. pedunculata), Onopordum nervosum e Spartium junceum, com teores de umidade e tempo de exposições diferentes. Os resultados não indicaram diferenças significativas, na maioria das espécies, em relação ao percentual de germinação, seja nas amostras de sementes com teores de umidade diferentes, seja nas amostras de sementes com diferentes tempos de exposição ao nitrogênio líquido.

TOUCHELL & DIXON (1994) armazenaram, em nitrogênio líquido, espécies de sementes nativas australianas, em que 40% se compunham de espécies raras ameaçadas de extinção no oeste da Austrália e verificaram que, após a crioconservação, as propriedades físicas e químicas das sementes são preservadas.

GONZALEZ-BENITO et al. (1995) estudaram a germinação de sete cultivares de aipo (*Apium graveolens* L.) armazenadas em nitrogênio líquido, de 1 a 3 dias. De acordo com os resultados obtidos, a crioconservação não reduziu o percentual de germinação.

PEREZ-GARCIA et al.,(1996) estudaram a influência do N<sub>2</sub>L na preservação e germinação de sementes de sete espécies nativas e de *Brassica* armazenada por trinta dias. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa entre a percentagem de germinação e a crioconservação, tendo estas apresentado uma elevada percentagem.

STANWOOD e SOWA (1995) estudaram o armazenamento de 14 variedades de sementes de alho (*Allium cepa* L.) com um percentual médio de 92%, a uma temperatura de -196°C, durante um período de 10 anos, e constataram que durante este período não ocorreu redução da germinação.

ZHANG et al. (1990) estudaram a crioconservação em nitrogênio líquido de sementes de vinte e cinco espécies por doze meses. Exceto as sementes de *Momordica* charantia, todas as outras espécies obtiveram uma elevada taxa de germinação.

CHAUDHURY & CHANDEL (1995) verificaram que a germinação de sementes de *Elettaria cardamom maton* a uma temperatura de -150°C, resultou em um aumento de mais de 80% de germinação quando testadas em armazenamento por um ano em vapor de nitrogênio.

GONZALEZ-BENITO et al. (1994) estudaram a crioconservação de sementes de seis espécies leguminosas (*Bituminaria bituminosa*, *Colutea arborescens* subsp. gallica, *C. istria, Onobrychis eriophora* e *Prosopsis juliflora*) com e sem dessecação em silica gel por 30 dias. A maioria das espécies não apresentaram diferenças significativas na percentagem de germinação.

PENCE (1991) verificando a viabilidade das sementes de 237 plantas (incluindo gramíneas, leguminosas, arbóreas e arbustivas) em processo de extinção em Ohio (USA), observou que pelo menos 25% das espécies podem ser crioarmazenadas em nitrogênio líquido.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1 Localização dos estudos e origem das sementes

As diferentes etapas deste trabalho foram executadas no Setor de Fitossanidade do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba - Campus II em Areia-PB e no Setor de Criogenia do Laboratório de Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas do Departamento de Engenharia Agrícola do Centro de Ciências e Tecnologia da Universidade Federal de Campina Grande - Campus I, DEAg (UFCG), Campina Grande-PB.

As sementes de jatobá foram coletadas em árvores localizadas em uma área da EMBRAPA-ALGODÃO, Campina Grande-Pb, e conduzidas para o Laboratório de Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas do DEAg/UFCG onde foram realizadas a pré-limpeza e limpeza. Em seguida, as sementes foram selecionadas descartando-se aquelas fisicamente danificadas, sendo então realizado, em um recipiente plástico, o expurgo com fosfeto de alumínio.

#### 3.2 Determinação da micoflora

Vagens de jatobá foram abertas e as sementes separadas de acordo com o posicionamento; extremidades e parte mediana. Fragmentos das paredes das vagens, porções da polpa das sementes e sementes sem a polpa foram incubadas para a identificação dos fungos.

As sementes foram quebradas com o auxilio de um martelo e retirado pequenos fragmentos da amêndoa, tanto os fragmentos da amêndoa como os das vagens foram desinfestados (imersos) em uma solução de hipoclórito de sódio (2%) durante um minuto. Em seguida foram colocados em placas de Petri, contendo meio de cultura de BDA (batata-dextrose-agar) e mantidas em ambiente de laboratório (sob controle). Decorrido um periodo de quinze dias, fez a identificação dos fungos considerando-se as caracteristicas \*\*\* e

exames de estruturas fúngicas ao microcópio. Fez-se a contagem de fragmentos de vagens, sementes e polpa que continha cada um dos fungos, para se obter os dados de incidência (%).

### 3.3 Tratamento químico das sementes

As sementes crioconservadas por 7 dias, foram descongeladas a temperatura ambiente por 24 horas. Em seguida, as sementes foram escarificadas por meio de um esmeril (LACERDA, 2001), sendo posteriormente tratadas com os fungicidas: benomyl (1,25g/200 sementes), captan (3,75g/200 sementes), thiovit (2,5g/200 sementes), benomyl + thiovit (0,625 e 1,25g/200 sementes), hipoclorito de sodio (20%) e a testemunha (sem tratamento fúngico). Os quantitativos, em gramas, anteriormente mencionados dos fungicidas foram diluídos em 100ml de água destilada, para em seguida ocorrer a imersão do material de jatobá.

As sementes, após o tratamento, foram colocadas sobre camadas constituidas por 3 folhas de papel – filtro, umedecidas com água estéril, onde o período de incubação foi de 7 dias. Após os 7 dias, procedeu-se a leitura, sendo então determinada a percentagem de sementes afetadas por fungos (incidência).

#### 3.4 Características físicas

# 3.4.1 Dimensões das sementes

As medições do tamanho das sementes foram realizadas com o auxilio de um paquimetro Mitutoyo de precisão de 0,01mm. As medições foram feitas em seus três eixos perpendiculares, Figura 8.

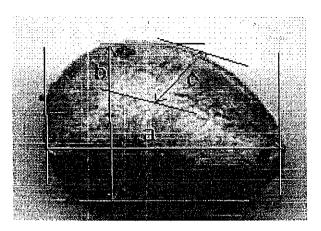


Figura 8 – Medições das sementes de jatobá correspondentes a comprimento (a) largura (b) e espessura (c)

### 3.4.2 Volume

O volume das sementes foi determinado utilizando-se o método do deslocamento da massa de água delineado por (MOSHENIN, 1978) e descrito no item 2.3.3. A equação utilizada é a 2.8.

#### 3.4.3 Circularidade

A circularidade foi determinada com o auxilio de um retroprojetor, onde cada semente foi projetada na posição de repouso, tendo seus contornos desenhados em papel milimetrado formato A4, com uma escala pré-estabelecida para o tamanho real e o tamanho do objeto projetado. Entre a área projetada e a área do menor círculo que circunscreve a semente, foi determinada a circularidade da semente de jatobá.

### 3.4.4 Esfericidade

A esfericidade foi determinada a partir da projeção da semente na posição de repouso sendo utilizado a equação 2.4.

# 3.4.5 Densidade (massa específica)

A densidade da semente ( $\rho_{semente}$ ) foi determinada pela relação entre a massa da semente e o seu volume, sendo utilizada a seguinte equação:

$$\rho_{semente} = \frac{m}{v} \tag{3.2}$$

em que,

 $\rho_{semente}$  = massa específica, kg.m<sup>-3</sup>

m = massa da semente, kg

v = volume da semente, m<sup>3</sup>

# 3.5 Cinética de congelamento

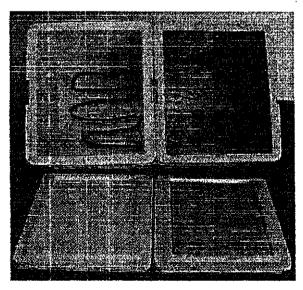
As cinéticas de congelamento das sementes de jatobá foram estudadas para as temperaturas de -30 -150, -170 e -196°C.

### 3.5.1 Congelamento a -30°C

Essa temperatura de congelamento das sementes foi obtida submetendo as sementes de jatobá a temperatura média de - 30 °C em um congelador de placas.

# 3.5.2 Congelamento a -150°C

Para esta temperatura foi elaborado um sistema (Figura 9) composto por duas caixas de isopor, onde a caixa 2 foi recoberta internamente com folha de zinco para evitar o contato direto do nitrogênio com o isopor. Nessa caixa foram feitos dois orificios os quais estavam conectados por um tubo de cobre em formato de serpentina que passava pela caixa 1 que continha um recipiente com as sementes. A caixa 2 era constantemente abastecida com nitrogênio, e, esse nitrogênio ao passar pela caixa 1 fazia com que essa caixa atingisse a temperatura de –150°C ± 5°C.



Caixa 1 Caixa 2

FIGURA 9 - Sistema para obtenção de uma temperatura controlada de - 150 °C

### 3.5.3 Congelamento a -170°C

Para o congelamento das sementes de jatobá a temperatura de −170°C foi utilizado o vapor do nitrogênio obtido na parte superior dos botijões criogênicos. Nos botijões de 50 litros de nitrogênio líquidos foram colocados em torno de 15 litros de nitrogênio o que corresponde a uma altura de gás de aproximadamente 40 cm.

# 3.5.4 Congelamento a -196°C

O congelamento das sementes de jatobá a – 196 °C foi realizada submetendo-a a imersão em nitrogênio líquido dentro dos botijões criogênicos.

Para obtenção da cinética de congelamento foi introduzindo um termopar no centro geométrico da semente de jatobá e outro termopar aderido a sua superficie externa. Os valores das temperaturas no interior da semente (T1) e no ambiente (T2), foram registradas periodicamente por meio de uma leitora digital Digi-sense, modelo 91100-40.

As equações utilizadas para descrever a curva de congelamento, foi a descrita por MOSHENIN (1980), tendo sido utilizada a equação para uma placa plana (equação 2.16) para as sementes de jatobá localizadas no meio da vagem e a equação para uma esfera (equação 2.24), para sementes localizadas na extremidade das vagens.

Para determinar os parâmetros das equações e a difusividade térmica aparente, foi utilizado o método de regressão não linear Quase-Newton empregando-se o programa computacional Statistica 5.0.

#### 3.6 Crioconservação

As sementes de jatobá destinadas a crioconservação, foram colocadas dentro de canister para posterior inserção em botijões criogenicos por um período de 7 dias, sendo que para cada temperatura foram utilizadas 200 sementes.

### 3.6.1 Crioconservação a -196°C e - 170 °C

Para a temperatura de -- 196 °C e -170 °C os canisters foram feitos de material de aço inox, no tamanho de 50cm e de 20 cm, respectivamente, onde as sementes foram inseridas. Na superfície dos canisters foi colocada uma tampa perfurada com orificios de 2mm de diâmetro, para evitar que as sementes saíssem do tubo cilíndrico quando esses canisters fossem colocados nos botijões criogênicos. Em seguida, os tubos foram introduzidos nos recipientes criogênicos, sendo que para a crioconservação das sementes a temperatura de - 196°C os canisters ficavam imersos no nitrogênio líquidos e para a temperatura de - 170 °C estes canisters ficam acima do nitrogênio líquido onde fiçavam sujeitos ao vapor do nitrogênio.

# 3.6.2 Crioconservação a -150°C

Para esta temperatura foi utilizado o sistema descrito no item 3.5.2 onde se obtêm uma temperatura criogênica de -150 °C.

# 3.6.3 Congelamento a -30°C

Para o congelamento das sementes de jatobá a temperatura -30 °C, que não é uma temperatura criogênica, utilizou-se um freezer convencional de 6 prateleiras.

Após o período de sete dias, as sementes submetidas a crioconservação (- 196, - 170 e - 150 °C) e ao congelamento de - 30 °C, foram descongeladas a temperatura ambiente (aproximadamente 25°C), por 24 horas.

# 3.7 Quebra de dormência

As sementes após o seu descongelamento foram escarificadas com um esmeril mecânico por cerca três segundos tendo-se o cuidado de evitar os danos no embrião e consequentemente na plântula. Desta forma, a escarificação foi realizada na parte oposta ao eixo do embrião. Depois da escarificação as sementes foram submetidas a um tratamento

com fungicida, sendo utilizado o produto que melhor respondeu ao controle da incidência fúngica. Em seguida a esse tratamento foram realizados os testes de germinação e vigor das sementes.

### 3.8 Germinação e vigor

As sementes foram semeadas em substrato de areia previamente passada por uma peneira de malha fina (N 16 ABNT) e esterilizada em estufa a 135ºC por 12 horas. O substrato foi umedecido com água destilada, antes do plantio das sementes e durante todo o decorrer do teste de germinação. Para cada espécie foram utilizadas 4 bandejas (repetições) contendo cada uma 50 sementes. Como o teste padrão para germinação de sementes de jatobá não foi descrito pelas "Regras de Análise de Sementes" (BRASIL, 1992), estabeleceu-se que a 1ª contagem fosse realizada aos 14 dias e a contagem final aos 21 dias. Foram consideradas germinadas, as plântulas sadias que emergiram do substrato.

O vigor das sementes foi determinado pela contagem das plântulas sadias emergentes provenientes da primeira contagem do teste de germinação após duas semana do plantio.

#### 3.9 Análise estatística

Para os teste de micoflora da mucilagem e micoflora da amendôa foi utilizado o experimento fatorial 4 x 2 x 2 (4 fungos x 2 tratamentos x 2 posições); para o teste da micoflora da vagem, teste de fitossanidade e teste de germinação e vigor o delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado. As análises foram realizadas utilizando-se o programa estatístico Assistat 6.0 (SILVA, 1996). Para tratamentos dos dados das curvas de congelamento foi utilizado o programa computacional STATISTICA 5.0.

# 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados apresentados a seguir referem-se aos testes realizados para a identificação dos fungos presentes nas sementes e nas vagens de jatobá (teste da micoflora), em seguida tem-se o teste para identificar qual o fungicida que exerceu um melhor controle para os fungos encontrados (teste da fitossanidade), sendo em seguida determinadas as propriedades físicas das sementes de jatobá. Após o estabelecimento desses parâmetros foi realizado o estudo da cinética de congelamento, para em seguida ser realizado a crioconservação das sementes de jatobá.

#### 4.1 Micoflora das sementes

Nas sementes de jatobá foram observadas colônias dos fungos Aspergillus sp., A. flavus, Fusarium sp e Rhizopus sp, sendo essa micoflora diferente daquela relacionada por MENDES et al. (1998) em plantas do gênero Hymeneae. Dos fungos assinalados no presente trabalho, os dois primeiros incluem-se no grupo dos considerados típicos de armazenamento; espécies de Fusarium causam murchas e secamento em plantas em desenvolvimento; e Rhizopus sp são considerados contaminantes de sementes (NEERGARRD, 1979). Esses fungos revestem-se de importância por se desenvolverem nas sementes causando-lhes apodrecimento e diminuições da germinação e vigor (NEERGARRD, 1979; POPINIGIS, 1985) e, no caso do Fusarium, espécies patogênicas desse fungo são transmitidas por sementes (NEERGAARD, 1979).

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 3, constata-se diferenças estatísticas entre os fungos e também quanto a interação fungos x posições da semente (1% de probabilidade) e interação fungos x tratamentos x posições (5% de probabilidade) pelo teste de Tukey. Na Tabela 4, verifica-se que a incidência de *Aspergillus* sp foi igual a do *Fusarium* sp e superior as de *A. flavus e Rhizopus* sp. Não foram constatadas diferenças significativas entre a micoflora da amêndoa x micoflora da vagem (Tabela 5), da mesma foma, com relação as sementes do meio de da extremidade das vagens (Tabela 6).

TABELA 3. Análise de variância referente a incidência de fungos em semente de jatobá.

FONTE DE VARIAÇÃO	QUADRO DE ANÁLISE			
	GL	SQ	QM	F
Fator Fungos	3	218,125	72,70834	7,5054**
Fator Tratamentos	1	7,8125	7,8125	0,8065 <sup>ns</sup>
Fator Posição	I	11,250	11,250	1,1613 <sup>ns</sup>
Interação Fungos x Tratamentos	3	7,8125	2,6041	0,2688 <sup>ns</sup>
Interação Fungos x Posições	3	238,125	79,375	8,1935**
Interação Tratamentos x Posição	1	0,3125	0,3125	0,0323 <sup>ns</sup>
Interação Fungos x Tratamentos x Posições	3	1,5625	0,5208	0,0538*
Residuos	64	620,00	9,6875	
Total	79	1105,00		
CV %	69,16611	and the second s	on annual at annual de taman d'hammat d'annuar aig an air ann	and the second second to the second
MG	4,50			

Comparação entre médias de incidência dos fungos Aspergillus sp., TABELA 4. Aspergillus flavus, Fusarium sp. e Rhizopus nas sementes do jatobá.

Fungos	Médias
Aspergillus sp.	6,8 <b>7</b> 50a
Aspergillus flavus	4,1250 b
Fusarium sp.	4,7500ab
Rhizopus	2,2500 b
DMS	2,59858

<sup>\*</sup>Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

<sup>\*\*</sup> significativo a nível de 1% de probabilidade \*F significativo a nível de 5% de probabilidade

não significativo

**TABELA** 5. Valores médios do fator: tratamentos (micoflora da amêndoa e micoflora da mucilagem) das sementes de jatobá.

Tratamentos	Médias	
Micoflora da amêndoa	4,8125a	
Micoflora da mucilagem	4,1875a	
DMS	1,39087	

<sup>\*</sup>Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

**TABELA 6.** Valores médios para o fator: posição das sementes na vagem (extremidade e meio)

Posição	Médias
Extremidade da vagem	4,8750a
Meio da vagem	4,1250a
DMS	1,39087

<sup>\*</sup> Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nivel de 5% de probabilidade

Com relação à interação dos fatores fungos x posição, pode-se observar na Tabela 7, que a maior incidência ocorreu para o Aspergillus flavus nas sementes da extremidade, porém os valores obtidos não diferiram significativamente do Aspergillus sp. e do Fusarium sp., para as sementes do meio da vagem, a maior incidência foi do fungo Aspergillus sp. não diferindo porém estatisticamente do Fusarium sp. Com relação análise entre as posições das sementes na vagem pode-se constatar que houve diferença significativa para o Aspergillus sp e o Aspergillus flavus, porem não houve diferença significativa para os fungos Fusarium sp. e Rhyzopus, tendo este último apresentado a menor incidência para as sementes do meio da vagem.

**TABELA** 7. Valores de incidêcia referentes as interação dos fatores: fungos x posição das sementes na vagem

FUNGOS	POSIÇÃO		
1011005	Extremidade da vagem	Meio da vagem	
Aspergillus sp	5,25abB	8,50aA	
Aspergillus flavus	7,00aA	1,25bB	
Fusarium sp	4,00abA	5,50aA	
Rhizopus	3,25bA	1,25bA	
DMS p/ linha	2,7817		
DMS p/ coluna	3,6749		

<sup>\*</sup> As médias seguidas das mesmas letras maiúscula nas linhas e minúsculas nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey

Com relação ao teste da micoflora das vagens de jatobá, pode-se observar na tabela 8, que utilizando o meio de cultura de papel de filtro ocorreu a ausência de fungos, entretanto, para o meio de cultura utilizando o BDA houve uma elevada incidência fúngica.

TABELA 8. Análise de variância (Quadrado Médio) para a incidência dos fungos. Campina Grande, PB, 2002.

TRATAMENTOS	MICOFLORA DA VAGEM		
	PLACA 1	PLACA 2	
BDA	74,200 a	22,000 a	
Papel de Filtro	0,000 a	0,000 b	
DMS	90,34495	13,44132	
CV%	167,03110	83,81404	

<sup>\*</sup>As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

# 4.2 Efeitos dos tratamento químico sobre a micoflora das sementes

Os tratamentos fungicidas afetaram diferentemente a micoflora das sementes (Tabela 9). Na Tabela 10 observa-se que as sementes de jatobá ficaram isentas (incidência = 0) de Aspergillus sp. quando tratadas com benomyl e isentas do Aspergillus flavus, quando tratadas com captan ou benomyl + thiovit. Nessa Tabela, também se constata que as sementes tratadas com captan e com hipoclorito de sódio, a incidência de Fusarium sp. foi nula, e, da mesma forma nas sementes não tratadas (testemunha), o que indica que este fungo pode estar ou não presente nas sementes de jatobá, porém quando presente, pode ser eliminado com captan ou com hipoclorito de sódio.

Ainda na Tabela 10, verifica-se com relação ao fungo Aspergillus sp., que o fungicida benomyl controlou eficazmente esse fungo do que o captan e estatisticamente o fungicida benomyl é tão eficaz quanto os outros estudados. Observa-se também na Tabela 10 que as sementes de jatobá não tratadas (testemunhas) tiveram a maior incidência de Aspergillus flavus, e que os tratamentos químicos realizados com captan e benomyl + thiovit, eliminaram completamente esses fungo, embora não tenha diferido do benomyl. Quanto ao Fusarium sp. e Rhizopus, todos os tratamentos foram estatisticamente iguais entre si.

**TABELA 9.** Análise de variância (Quadrado Médio) para a incidência dos fungos assinalados nas sementes de jatobá tratadas com diferentes produtos fungicidas. Campina Grande, PB, 2002.

		Quadrado Médio			
Fonte de Variação	GL	Aspergillus sp	Aspergillus flavus	Fusarium sp	Rhizopus
Tratamentos Resíduos	5 18	115,58433* 33,76160	524,32343** 20,71780	51,97759 <sup>ns</sup> 36,15575	53,32891 <sup>ns</sup> 29,72348
Total	23				
CV	74 mm, 1267 pmm targrig pmmpamitis n	76,86236	46,68590	183,25226	87,30646

<sup>\*</sup> significativos aos níveis de 5%

<sup>s</sup> não significativo

<sup>\*\*</sup> significativos aos níveis de 1% de probabilidade,

TABELA 10. Incidência de fungos em sementes de jatobá tratadas com diferentes produtos fungicidas. Campina Grande, PB, 2002.

		Fungos		
TRATAMENTOS	Aspergillus sp	Aspergyllus flavus	Fusarium sp	Rhizopus
Benomyl	0,00 a	3,03 cd	6,64 a	2,03 a
Captan	15,65 b	0,00 d	0,00 a	6,64 a
Thiovit	9,52 ab	17,33 b	6,09 a	5,77 a
Benomyl-1-Thiovit	4,06 ab	b 00,0	6,95 a	12,86 a
Hipoclorito de sódio	9,68 ab	10,75 bc	0,00 a	4,06 a
Testemunhas	6,43 ab	28,38 a	0,00 a	6,09 a
DMS	13,0445	10,2185	13,4991	12,2395
CV%	76,8623	46,6859	183,2522	87,3064

<sup>\*</sup>Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ao nível de 5%, probabilidade

De acordo com os resultados, os tratamentos químicos foram eficientes com relação ao A. flavus, pois apresentaram incidências significativamente menores em relação à testemunha. Destaca-se o captan, pois as sementes tratadas com esse produto apresentaram-se isentas dos fungos A. flavus e Fusarium sp. De acordo com resultados obtidos, pode ser entendido que se verificou a ocorrência de competição entre os microrganismos, pois sementes tratadas com Captan foram isentas de Fusarium sp e A. flavus mas apresentaram a maior incidência de Aspergillus sp. A maior incidência de Rhizopus sp. verificou-se nas sementes tratadas com Benomyl + Thiovit que, no entanto, estavam isentas de A. flavus. Nas sementes não tratadas (testemunha) observou-se a inexistência de Fusarium sp., no entanto essas sementes apresentaram a maior incidência de A. flavus.

#### 4.3 Determinações das características físicas

Na Tabela 11, pode-se observar os valores médios dos diâmetros (comprimento, largura e espessura), circularidade, esfericidade, volume e densidade das sementes de jatobá da extremidade e do meio da vagem.

Ao analisar a Tabela 11, constata-se que a semente de jatobá da extremidade da vagem teve uma circularidade aproximada de 70 % e esfericidade de 80 %, para a semente do meio da vagem a circularidade aproximou-se de 58 % e a esfericidade de 76 %.

TABELA 11 - Características físicas da semente de jatobá da extremidade e do meio da vagem

Médias das sementes de jatobá da extremidade da vagem				
	Média + Desvio padrão	Erro padrão		
Diâmetro (a), mm	2,4454 ± 0,06152	0,02751		
Diâmetro (b), mm	$1,8048 \pm 0,01827$	0,00817		
Diâmetro (c), mm	$1,5498 \pm 0,08607$	0,03849		
Volume, mm <sup>3</sup>	$3444,76 \pm 148,524$	66,42209		
Massa especifica g/cm³	$1,33276 \pm 0,00517$	0,00231		
Esfericidade, %	$80,81756 \pm 08,8714$	3,96741		
Circularidade, %	$70,334 \pm 3,32046$	1,48495		
Médias das sementes de jatobá do meio da vagem				
Médias das sem	entes de jatobá do meio da	vagem		
Médias das sem	entes de jatobá do meio da Média + Desvio padrão	vagem Erro padrão		
Médias das sem  Diâmetro (a), mm	A CONTRACT OF THE PARTY OF THE			
	Média + Desvio padrão	Erro padrão		
Diâmetro (a), mm	<b>Média + Desvio padrão</b> 2,5396 ± 0,35753	<b>Erro padrão</b> 0,15989		
Diâmetro (a), mm Diâmetro (b), mm	Média + Desvio padrão 2,5396 ± 0,35753 2,0282 ± 0,16085	Erro padrão 0,15989 0,07193		
Diâmetro (a), mm Diâmetro (b), mm Diâmetro (c), mm	Média + Desvio padrão 2,5396 ± 0,35753 2,0282 ± 0,16085 1,3784 ± 0,07901	0,15989 0,07193 0,03533		
Diâmetro (a), mm Diâmetro (b), mm Diâmetro (c), mm Volume, mm <sup>3</sup>	Média + Desvio padrão 2,5396 ± 0,35753 2,0282 ± 0,16085 1,3784 ± 0,07901 3469,44 ± 393,672	0,15989 0,07193 0,03533 176,05556		

Pode-se observar também na Tabela 11, que a semente de jatobá tem uma massa específica para semente da extremidade de 1,33276 e para semente do meio da vagem de 1,34522, o que implica em dizer que a semente é mais denso que a água.

# 4.4 Tempo de descongelamento

Nos testes de fitosanidade realizados para identificar o fungicida mais eficaz no combate aos fungos Aspergyllus sp, Aspergyllus flavus, Fusarium sp e Rhizopussp, observou-se que as sementes de jatobá depois de serem submetidas à imersão em nitrogênio liquido (-196 °C) por 7 dias, ao serem retiradas do botijão criogênico, sofriam rupturas em um grande números de sementes como foi verificado por LACERDA (2001). Assim, pensou-se que essas rupturas estavam ligadas aos choques térmicos e procederamse varias tentativas para tentar eliminar essas rupturas. Inicialmente, procedeu-se uma diminuição dessa temperatura deixando as sementes à temperatura de -170 °C, no vapor do nitrogênio por 12 horas, e, depois desse tempo, as sementes foram colocadas em um freezer a - 30 °C por 24 horas. Este procedimento ocorreu sem sucesso tendo um alto índice de sementes quebradas, Figura 5.

Observou-se também que as sementes quando crioconservadas a temperatura de – 196°C e umedecidas para germinação também se partiam. Para tentar solucionar este caso foram postas 100 sementes de jatobá em nitrogênio liquido por um período de sete dias e ao serem retiradas do botijão criogênico foram descongeladas por 12 horas, sendo selecionadas 40 sementes sem rachaduras e procedeu-se um teste de imersão em água destilada com 10 sementes por 12 horas; 10 sementes por 24 horas; 10 sementes por 36 horas e 10 sementes por 48 horas, sendo que 10 sementes sem crioconservação serviram de testemunha.

Como se pode constatar na Tabela 12, as sementes de jatobá quando crioconservadas a -196°C, descongeladas por 12 horas e imersas em água por qualquer período de tempo se fraturam, podendo, esta fratura, ocorre em várias posições.

Dessas informações verificou-se que as sementes de jatobá não poderiam ser crioconservadas a – 196 °C, sem que um grande número de sementes fossem danificadas.

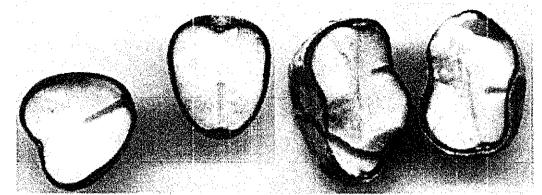


FIGURA 10. Sementes fraturadas de jatobá da extremidade e do meio da vagem a -196°C

TABELA 12 – Percentagem de germinação de sementes de jatobá submetidas a diferentes tempos de imersão em água.

Tempo (horas)	Sementes quebradas (%)
12	80
24	80
36	70
48	60
Sem crioconservação	0

# 4.5 Cinética de congelamento

Nas Figuras 11, 12, 13 e 14 encontram-se as curvas de congelamento da semente de jatobá para as temperaturas de -30, -150, -170 e -196°C, respectivamente. Como se pode observar, nessas figuras, o comportamento das curvas de congelamento são semelhantes às curvas de resfriamento, pois, de acordo com KASAHARA et. al (1986) e SILVA (2002), os produtos agrícolas, com conteúdos de água em torno de 70 a 90%, base úmida, tem três fases distinta. A Fase 1 corresponde ao resfriamento do produto, e vai, da temperatura ambiente até o inicio da temperatura de congelamento desse produto. Esse período é caracterizado por uma típica curva exponencial. A Fase 2 é constituída pelo congelamento do produto, onde a fração de água, que é a maior parte do produto, absorve a

energia para formar os cristais de gelo. Nessa fase, a curva característica é praticamente uma reta com pequena inclinação, pois, quase toda a energia é utilizada para formar os cristais de gelo. A Fase 3 corresponde ao pós-congelamento do produto, que consiste em baixar a temperatura do produto já congelado até temperaturas mais baixas e que se aproximam dos valores da substância congelante. Nessa fase a curva característica volta a ser uma exponencial.

As sementes de jatobá apresentaram um conteúdo de água de aproximadamente 13% base úmida (b.u), ou seja, baixa percentagem de água. Como as curvas de congelamento das sementes de jatobá não apresentam as três fases distintas, acima descritas, pode-se dizer que o seu conteúdo de água, embora passe pelas três fases, não é suficientemente forte de modo a caracterizar essa curva de congelamento como uma curva sigmóide, tendo predominância à curva característica de matéria seca que é uma curva exponencial.

Nessas Figuras, observa-se ainda que a semente de jatobá da extremidade da vagem, a temperatura de –196°C, levou 2 minutos para ser congelada; à temperatura de –170°C, 18 minutos; à temperatura de –150°C, 13 minutos; e a temperatura de –30°C levou 60 minutos. Para as sementes do meio da vagem, a temperatura de –196°C, levou 2 minutos para ser congelada; à temperatura de –170°C, 12 minutos; à temperatura de –150°C, 10 minutos e a temperatura de –30°C demorou 50 minutos.

Estes dados refletem a influencia da forma das sementes na cinética de congelamento, pois as sementes da extremidade são mais arredondadas o que implica dizer que elas levariam mais tempo para atingir a temperatura de congelamento no seu centro geométrico. Essa afirmativa pode ser reforçada observando-se a Tabela 13 e 14, onde se encontram os valores de difusividade térmica efetiva para as sementes de jatobá retiradas da extremidade da vagem e do meio da vagem. Nessa tabela constata-se que a difusividade térmica aparente da semente de jatobá é menor nas sementes de jatobá retiradas da extremidade da vagem do que as retiradas do meio da vagem.

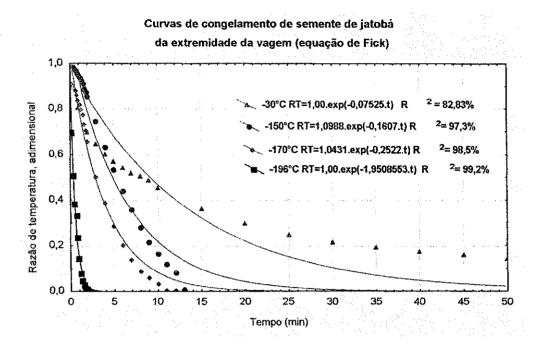


FIGURA 11 - Curvas experimentais e calculadas pela equação de Fick das sementes de jatobá retiradas da extremidade da vagem para as temperaturas criogenicas de -150, -170, -196°C e para a temperatura de -30 °C

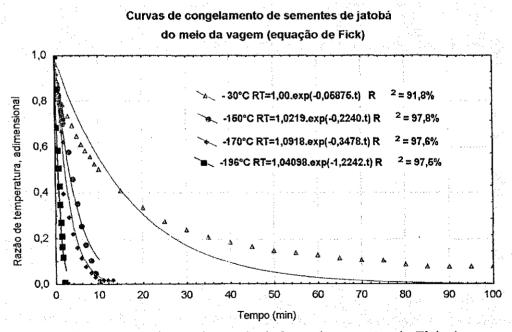


FIGURA 12 - Curvas experimentais e calculadas pela equação de Fick das sementes de jatobá retiradas do meio da vagem para as temperaturas criogenicas de - 150, -170, -196°C e para a temperatura de -30 °C

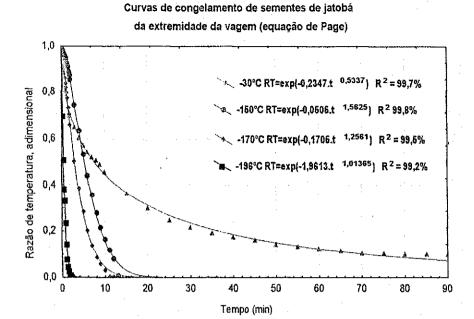


FIGURA 13 - Curvas experimentais e calculadas pela equação de Page das sementes de jatobá retiradas da extremidade da vagem para as temperaturas criogenicas de -150, -170, -196°C e para a temperatura de -30 °C

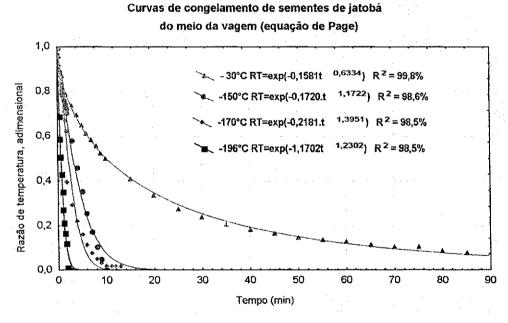


FIGURA 14 - Curvas experimentais e calculadas pela equação de Page das sementes de jatobá retiradas do meio da vagem para as temperaturas criogenicas de – 150, –170, –196°C e para a temperatura de –30 °C.

Na Tabela 13 estão os valores da difusividade térmica efetiva das sementes de jatobá para as temperaturas de -30, -150, -170 e -196°C utilizando-se a equação de Fick e empregando-se apenas o 1°. termo da série, e, na Tabela 14, encontram-se esses valores para a equação de Page.

Nessas tabelas também estão os valores de Mn que é a raiz da equação transcendental, r que corresponde ao raio da semente (semente da extremidade da vagem analisada como uma esfera),  $X_m$  que á a metade da espessura da sementes (semente retirada do meio da vagem analisada como um paralelepípedo) e  $\alpha$  que é a difusividade térmica aparente da semente.

Analisando-se a difusividade térmica aparente das sementes de jatobá, nas Tabelas 13 e 14, constata-se que a difusividade aumenta com a diminuição de temperatura e que esta difusividade é menor nas sementes retiradas da extremidade da vagem do que as das sementes retiradas do meio da vagem

νį

TABELA 13 – Parâmetros da cinética de congelamento das sementes de jatobá retiradas da extremidade e do meio da vagem (Equação de Fick)

S	extremidade da vaj	Sementes do meio da vagem					
Temperatura	$J = 2 \left( \frac{sinM_n}{M_n + sinM_n \cos M_n} \right)$		$K = \frac{M_n^2 \cdot \alpha}{R^2}$	Temperatura	$J = 2 \left( \frac{sinM_n - M_n \cos M_n}{M_n - sinM_n \cos M_n} \right) \qquad K = \frac{M_n^2}{X_m}$		
	M <sub>n</sub>	Raio da esfera equivalente, mm	$\alpha$ m <sup>2</sup> /s		$M_n$	$(X_m)^2$	$\alpha$ m <sup>2</sup> /s
-30°C	4,0287	9,29901	3,56201 x 10 <sup>-7</sup>	-30°C	1,72158	39,8792	· 1,21862 x 10 <sup>-6</sup>
-150°C	3,9812	9,94849	$16,72452 \times 10^{-7}$	-150°C	1,70942	48,3720	6,18276 x 10 <sup>-6</sup>
-170°C	4,0081	9,25847	22,42814 x 10 <sup>-7</sup>	-170°C	1,67075	44,2890	9,19711 x 10 <sup>-6</sup>
-196°C	4,0287	9,55475	181,7532 x 10 <sup>-7</sup>	-196°C	1,69885	46,6489	32,9786 x 10 <sup>-6</sup>

TABELA 14 - Parâmetros da cinética de congelamento das sementes de jatobá retiradas da extremidade e do meio da vagem. (Equação de Page)

Sementes da extremidade da vagem					Sementes do meio da vagem				
Temperatura	$J = 2\left(\frac{sinM_n}{M_n + sinM_n \cos M_n}\right)$		$K = \frac{M_n^2 \cdot \alpha}{R^2} \qquad \qquad \mathbf{N}$		Temperatura	$J = 2 \left( \frac{sinM_n - M_n \cos M_n}{M_n - sinM_n \cos M_n} \right)$		$K = \frac{M_n^2 \cdot \alpha}{X_m^2}$	N
	M <sub>n</sub>	Raio da esfera equivalente, mm	$\alpha_{\rm m^2/s}$			Mn	$(X_m)^2$	$\alpha_{\rm m^2/s}$	
-30°C	4,0287	9,29901	2,08404 x 10 <sup>-7</sup>	0,5337	-30°C	1,72158	39,8792	3,54546 x 10 <sup>-6</sup>	0,6334
-150°C	4,0287	9,94849	5,13245 x 10 <sup>-7</sup>	1,5625	-150°C	1,72158	48,3720	4,93973 x 10 <sup>-6</sup>	1,1722
-170°C	4,0287	9,25847	15,0081 x 10 <sup>-7</sup>	1,2561	-170°C	1,72158	44,2890	5,73365 x 10 <sup>-6</sup>	1,3951
-196°C	4,0287	9,55475	183,8664 x 10 <sup>-7</sup>	1,0136	-196°C	1,72158	46,6489	32,4027 x 10 <sup>-6</sup>	1,2302

O comportamento da difusividade com a diminuição de temperatura está de acordo o descrito por CHERNEEVA (1956), que obteve valores entre 1,2 10<sup>-6</sup> m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup> e 10,2 10<sup>-6</sup> m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup> para temperaturas variando entre -70 e 20°C e com VERMA et al. (1990) estudando sementes de mostarda indiana (*Brassica juncea*) com temperatura entre -20 a 90°C, constataram que a difusividade térmica aumentou com aumento da temperatura. Resultado semelhante foi encontrado por SINGH e GOSWAMI (2000), que verificaram um aumento da difusividade térmica de sementes de cominho com o aumento da temperatura de -70 a 50°C

#### 4.5 Crioconservação

Com relação a crioconservação, de acordo com o relatado por LACERDA (2001) uma grande parte das sementes de jatobá, quando imersas em nitrogênio liquido a – 196°C apresentaram rachaduras e consequentemente quebravam assim que eram retiradas do nitrogênio (Figura 15). Embora se tenha tentado resolver este problema, todas as tentativas foram frustradas, inviabilizando, até o momento, o sucesso de um processo de crioconservação a temperatura de – 196°C. No entanto a crioconservação das sementes de jatobá nas temperaturas de –30, –150 e –170°C não apresentaram essas fissuras como pode ser observado nas Figuras 16, 17 e 18, respectivamente.

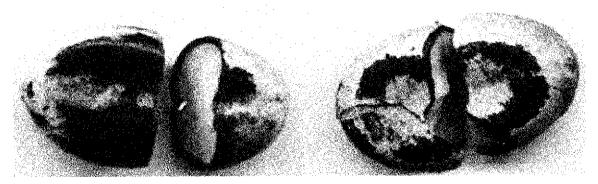


FIGURA 15. Semente de jatobá da extremidade e do meio da vagem a -196°C



FIGURA 16. Sementes de jatobá da extremidade e do meio da vagem a -30°C



FIGURA 17. Sementes de jatobá da extremidade e do meio da vagem a -150°C

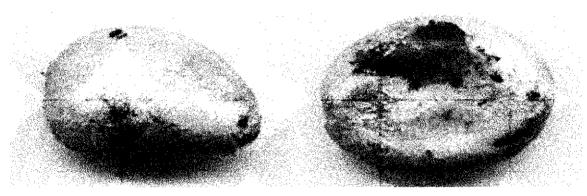


FIGURA 18. Sementes de jatobá da extremidade e do meio da vagem a -170°C

## 4.7 Germinação e vigor

No que diz respeito à análise estatística (Tabela 15) foram significativos os efeitos dos tratamentos, com relação á germinação e não significativos quando se analisa o

vigor das sementes para os referidos tratamentos. Com relação ao vigor das sementes da extremidade e do meio da vagem os três tratamentos não diferiram estatisticamente entre si.

Analisando-se a germinação das sementes de jatobá crioconservadas as temperaturas de -30, -150°C e -170°C (Tabela 16), verifica-se que a germinação das sementes retiradas da extremidade da vagem do jatobá, teve um melhor resultado quando essas sementes foram submetidas a crioconservação às temperaturas de -30 e -170°C, sendo que a germinação dessas sementes são significativamente diferente e superiores do que aquelas que são submetidas a crioconservação a temperatura de -150°C. As sementes do meio da vagem apresentaram um melhor resultado de germinação das sementes quando submetidas à temperatura de -30°C, porém esse resultado não difere estatisticamente da germinação das sementes quando submetidas a temperatura de -170°C, sendo esta estatisticamente igual a da temperatura de -150°C (Tabela 16).

De acordo com esses resultados, os tratamentos à -30 e -170°C foram os mais eficientes com relação à germinação e o vigor das sementes retiradas da extremidade e do meio da vagem do jatobá. Contudo, torna-se necessário analisar que a temperatura de - 30 °C não impede a erosão genética das espécies, pois segundo PITA VILAMILL (1997) o metabolismo das sementes é praticamente inalterado somente quando as sementes são crioconservação as temperaturas inferiores a - 130 °C.

Desta forma resta dizer que a melhor temperatura para crioconservar as sementes de jatobá é a temperatura de  $-170\,^{\circ}\mathrm{C}$ .

Vale a pena ainda ressaltar que as diferenças de germinação das sementes de jatobá encontradas entre as temperaturas -30°C e -170°C com a temperatura de -150°C podem estar associadas a incidência de fungos, pois observou nesta pesquisa que mesmo as sementes sendo tratadas com Captan houve incidência de fungos somente nas bandejas de germinação de sementes de jatobá submetidas a crioconservação de - 150°C.

TABELA 15 - Análise de variância (Quadrado Médio) da germinação e do vigor das sementes de jatobá da extraídos da extremidade e do meio da vagem crioconservadas a diferentes temperaturas.

		Quadrado Médio			
Fonte de Variação	GL =	Sementes da extremidade da vagem		Sementes do meio da vagem	
onte de variação GL i		Vigor	Germinação	Vigor	Germinação
Tratamentos	2	200,667 <sup>ns</sup>	240,666 *	386,00 ns	242,00*
Resíduos	3	27,333	9,333	41,33	9,33
Total	5				
CV		8,127	3,608	10,716	3,63

<sup>\*\* =</sup> significativo ao nível de 1% de probabilidade

TABELA 16 - Comparação entre médias da germinação e do vigor e das sementes de jatobá extraídas da extremidade e do meio da vagem, submetidas as temperaturas de crioconservação de -30, -150 e -170°C.

TRATAMENTOS	Sementes da extremidade da vagem		Sementes do 1	neio da vagem
	Vigor	Germinação	Vigor	Germinação
-30°C	68,0 a	91,0 a	53,0 a	95,0 a
-150°C	53,0 a	72,0 b	51,0 a	73,0 b
-170°C	72,0 a	91,0 a	76,0 a	84,0 ab
DMS	21,7	12,7	26,7	12,7

<sup>\*</sup>As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade

<sup>\* =</sup> significativo ao nível de 5% de probabilidade

ns = não significativo

## CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos pode-se concluir que:

- a) todas as partes das sementes e da vagem do jatobá apresentaram incidência fúngica, sendo identificados os fungos Aspergillus sp., Aspergillus flavus, Fusarium sp. e Rhyzopus;
- b) para o controle fúngico, o melhor tratamento foi com benomyl e o captan; c) as características físicas observadas para as sementes da extremidade foi de 70% e 80%, para circularidade e esfericidade respectivamente, para as sementes do meio da vagem a circularidade foi 58% e esfericidade 76%. Com relação a cinética de congelamento:
- c) para as sementes da extremidade da vagem, o tempo necessário para se atingir no centro geométrico da semente a temperatura de -196°C foi 2 minutos, para 170°C foi 18 minutos, para -150°C foi de 13 minutos e 60 minutos para a temperatura de -30°C, para as sementes do meio da vagem, o tempo necessário foi de 2 minutos para -196°C, 12 minutos para -170°C, 10 minutos para 150°C e 50 minutos para a temperatura de -30°C;
- e) a difusividade térmica utilizando a equação de Fick, para as sementes da extremidade da vagem variou de 3,56201 x 10-7 a 181,7532 x 10-7 m2/s e para as sementes do meio da vagem de 1,21862 x 10-6 a 32,9786 x 10-6 m2/s, para equação de Page a difusividade térmica para as sementes da extremidade variou de 2,08404 x 10-7 a 183,866 x 10-7 m2/s e para as sementes do meio da vagem 3,54546 x 10-6 a 32,4027 x 10-6 m2/s;
- f) a crioconservação a -196°C apresentou rachaduras, inviabilizando o processo, as temperaturas de -30, -150 e -170°C, não apresentaram fissuras, sendo recomendado para a crioconservação por tempo indeterminado a temperatura de -170°C, a qual apresentou-se também nos testes de germinação e vigor, altas percentagens.

#### **PROTOCOLO**

Diante dos resultados obtidos sugere-se que o protocolo a ser definido para a crioconservação da semente de jatobá seja:

- Eliminação total da mucilagem com ácido sulfúrico ou outro ácido com propriedades similares;
- 2) Tratamento das sementes com a combinação dos fungicidas Benomyl e o Captan;
- 3) Congelamento das sementes deve ser realizado a -170°C;
- 4) Crioconservação das sementes a -170°C (vapor de nitrogênio líquido);
- 5) Para testar a germinação e o vigor após a crioconservação, as sementes devem ser submetidas à escarificação mecânica na parte oposta ao hilo, durante 3 segundos a uma rotação de 1500rpm;
- 6) Colocar as sementes para germinar em areia esterelizada (a 135°C por 12 horas) por um periodo de 21 dias.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, L. D'A. de & FALIVENE, S. M. P. Efeito da trilhagem e do armazenamento sobre a conservação de sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília: ABRATES, v. 4, n. 1, p. 59-67, 1983.

ALMEIDA, F. de A.C.; FONSECA, K.S.; GOUVEIA, J.P.G. de. Influência da embalagem e do local de armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de gergelim. **Revista**Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, Campina Grande, v. 3, n. 2, p. 195 – 201, 1999.

ALMEIDA, S. P. de; SILVA, J. A. da; RIBEIRO, J. Aproveitamento alimentar de espécies nativas do cerrado: araticum, barú, cagaita e jatobá.EMBRAPA-CPAC, 2° Ed. Planaltina, 1990. 83p. (Documentos 26).

AVIARA, N. A.; GWANDZANG, M. I.; HAQUE, M. A. Physical properties of guna seeds

Journal of Agricultural Engineering Research. v.73, n.2, p.105-111, June, 1999

BARYEH, E. A. Physical properties of millet Journal of Food Engineering. v.51, n.1, p.39-46, January, 2002.

BARRERA, V. R.G., WILHELM, V. R. B. e SOUZA, L.A.C., A Resina de Jatobá como Alternativa para Uso em Restauração de Obras de Arte - Estudos Preliminares. In: Anais do 7º Seminário da ABRACOR. Rio de Janeiro, 1994, p. 19-22.

BHOWMIX, S.; HAYAKAWA, K. A. A new method for determining the aparent diffusivity of thermally conducive food. **Journal of Food Science.** v. 44, n. 2, p. 464-469, 1979

BÍLIA, D. A. C.; FNCELLI, A. L. & MARCOS FILHO, J. Comportamento de sementes de milho híbrido durante o armazenamento sob condições variáveis de temperatura e umidade relativa do ar. Scientia Agrícola. Piracicaba, v. 5, n. 1, p. 153-157, 1994.

CALVELO, F. A. Modelo matemático de la refrigeración de alimentos. In. KASAHARA, G. I. Tópicos en trasferencia de calor y propiedades termofisicas en refrigeración y congelación de alimentos. 1ª ed. Valparaíso: Universidad Católica de Valparaíso, Santiago de Chile: Maval, 1986, 132p.

CARDOSO, H. J.; BISSEL, H. D.; MULLER, M. G. Antimalarial and antibacterial substances separated fron higher plants. **J. bacterial.**, Baltimore, v. 52. p. 155 – 168, 1976.

ÇARMAN, K. Some physical properties of lentil seeds. **Journal of Agricultural Engineering Research**. v.63, n.2, p.87-92, February, 1996.

CARVALHO, P. E. R. Espécies florestais brasileiras: Recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira. EMBRAPA – CNPF/SPI, CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE FLORESTAS, Colombo: EMBRAPA – CNPF, Brasília; 1994. 640p.: il. color.

CARVALHO, N. M. de & NAKAGAWA, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 2ª ed. Campinas-SP: Fundação CARGILL, 1983. 429p.

CASTRO, A. A.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; BRAGA, M. E. D. Secagem de uva itália, com pré-secagem osmótica as temperaturas de 70, 80, e 90°C. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 29, 2000, Fortaleza-CE, Anais...

Botucatu – São Paulo: Sociedade Brasileira de Engenharia Agrícola, 2000. Publicação em CD.

CAVALCANTI MATA, M.E.R.M.; ARAGÃO, R. F.; SANTANA, E. F; SILVA, R. A. S. Estudo da morfologia geométrica em grãos. **Revista Nordestina de Armazenagem.** v. III, n. 1, p 3-30, 1986.

CAVALCANTI MATA, M.E.R.M.; BRAGA, M.E.D.; FIGUEREDO, R.M.F.; QUEIROZ, A.J. de M. Perda da qualidade fisiológica de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) armazenadas sob condições controladas. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v. 24, n. 1, p 10 – 25, 1999.

CAVALCANTI MATA, M.E.R.M. & FERNANDES FILHO, J. G. Determinação da porosidade de sementes de mamona e algaroba. **Revista Nordestina de Armazenagem.** v. I, n. 1, p. 3-31, 1984.

CHAUDHURY, R. & CHANDEL, K. P. S. Studies on germination and cryopreservation of Cardamom (*Eletteria cardamom maton*) seeds. National Plant Tissue Culture Repository, NBPGR, Pusa Campus, New Delhi-110012, India, Seed Science and Technology, vol. 23(1): 1995, p. 235-140.

COX, P. M. Ultracongelación de alimentos: guia de la teoría y práctica. Tradução de Juan Antonio Ordóñez Pereda. Zaragoza: Editorial Acribia. 1987. p.459.

DESHPANDE, S. D.; BAL, S.; OJHA, T. P. Physical properties of soybean. Journal of Agricultural Engineering Research. v 56, n.2, p.89-98, October, 1993.

DESHPANDE, S. D.; BAL, S.; OJHA, T. P. Bulk thermal conductivity and diffusivity of soybean. Journal of Food, Processing and Preservation. v. 20, n. 3, p. 177-189, 1996.

DICHERSON, R. W. Na apparatus for the measurement of thermal diffusivity of foods. Foods Technology. v. 52, p. 880-886, 1965.

DHINGRA, O. D; MUCHOVEJ, J. J. & CRUZ FILHO, J. J. Tratamento de sementes (Controle de Patógenos). Viçosa, M. Gerais. UFV. Imprensa universitária, 1980. 120 p.

DRUMOND, M. A.; KILL, L. H. P.; LIMA, P. C. F.; OLIVEIRA, M. C.; OLIVEIRA, V. R.; ALBUQUERQUE, S. G.; NASCIMENTO, C. E. de S.; CAVALCANTI, J. Estratégias para o Uso Sustentável da Biodiversidade da Caatinga, Documento para discussão no GT Estratégias para o Uso Sustentável Petrolina, 28/04/2000, 23 p.

DURIGAN, J.F.; FALEIROS, R.R.S.; LAM-SANCHEZ, A. Determinação das características tecnológicas e nutricionais de diversas variedades de feijão (Phaseolus vulgaris, L.) I. Características Tecnológicas, Científica, Marília, v.6., n.2.,p.215-223, 1978.

DUTTA, S. K.; NEMA, V. K.; BHARDWAJ, R. K. Physical properties of gram. Journal of Agricultural Engineering Research. v.39, p.259–268, 1988.

FASINA, O. O.; SOKHANSANJ, S. Bulk thermal properties of alfalfa pellets. Canadian Agricultural Engineering. v. 37, n. 2, p. 91-95, 1995.

GAVA, A. J. Princípios de Tecnologia de Alimentos. 2ª ed. São Paulo: Ed. Nobel, 1979, 284p.

GONZÁLEZ-ARNAO, M.T. Aplicación de la biotecnología para preservar recursos fitogenéticos. In: WORKSHOP DE BIOTECNOLOGIA DE PLANTAS - das potencialidades à realidade, 4., 2000, Évora. Resumos...Universidade de Évora, 2000, p.9.

GONZALES-BENITO, M.E.; IRIONDO, J.M.; PITA, J.M.; PEREZ-GARCIA, F. Effects of seed cryopreservation and priming on germination in several cultivars of *Apium* graveolens. F. Hort Science, v. 75, p.1-4, 1995.

GONZALEZ-BENITO, M. E.; CAZE FILHO, J.; PEREZ, C. Cryopreservation of seeds of several legume species. Departamento de Biologia Vegetal, Escuela Tecnica Superior

de Ingenieros Agronomos, Ciudade Universitaria, 28040 Madrid, Spain. Plant Varieties & Seeds, vol. 7(1): 1994, p. 23-27.

GRUDA, Z.; POSTOLSKI, J. Tecnologia de la congelación de los alimentos. Zaragosa: Editorial Acribia, 1986, p. 631.

HENSHAW, G.G.; STAMP, J.A. & WESTCOTT, J. J. In: SALA, F; PARISI, B.; CELLA, R.; CIFERRI, O. (ed.). Tissue cultures and germplasm storage Plant Cell Cultures: results and perspectives.. Amsterdan - Holanda, 1980, p. 277 – 282.

INCROPERA, F. P.; WITT, D. P. Fundamentals of heat and massa transfer. 3<sup>a</sup> ed. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1992, 455p.

IRIONDO, J.M.; PÉREZ, C.; PÉREZ-GARCIA, F. Effect of seed storage in liquid nitrogen on germination of several crop and will species. **Seed Science and Technology**, v.20, p.165-171, 1992.

JEKENDRA, Y.; RAO, V. V.; SHERIF, T.; THOMAS, R.; SREENARAYANAN, V. V. Effect of moisture content on thermal diffusiveness of grains. **Agricultural Mechanization** in Asia, Africa and Latin America. v. 26, n. 3, p. 49-50, 1995.

JONES, J. C.; WOOTTON, M.; GREEN, S. Measured thermal diffusivities of cereal products. Food Australia. v. 44, n. 11, p. 501-502, 1992.

JOSHI, D. C.; DAS, S. K.; MUKHERJEE, R. K. Physical properties of pumpkin seeds. Journal of Agricultural Engineering Research. v.54, n.3, p.219-229, March, 1993.

KAGEYAMA, P.Y.; BIELLA, L.C.; PALERMO Jr., A. Plantações mistas com espécies nativas com fins de proteção a reservatórios. In: Congresso Florestal Brasileiro, 6, Anais... Campos do Jordão: SBS/SBEF, 1990. p.109-113.

KARTHA, K.K. Meristem culture and germplasm preservation. In: KARTHA, K.K. (ed.). Cryopresevation of plant cells and organs. Boca Roton: CRS Press. 1985, p. 115 – 134.

KASAHARA, G. I.; GARRIDO, B.F.; SIMPSON, R. R.; ALDUNARTE, M. M. I.; CORNEJO, F. F. Cinética de congelacion y propriedades termofisicas en dos espécies de frutales menores. In: KASAHARA, G. I. Tópicos em transferência de calor y propriedades termofisicas en: refrigeración y congelacion de alimentos. Santiago de Chile: Maval, 1986, cap. 4, p.81 – 109.

LACERDA, S. N. B. Estudo de diferentes técnicas de armazenagem para conservação de sementes nativas do semi-árido paraibano, 2001, 115 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) — Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande, 2001.

LEWIS, M. J. Propriedades físicas do los alimentos y de los sistemas de procesado. Zaragoza: ACRIBIA, 1993, 494p.

LIMA, H.F.; BRUNO, R. de L.A.; BRUNO, G.B.; BANDEIRA, I.S. de A. Avaliação de produtos alternativos no controle de pragas na qualidade fisiológica de sementes de feijão armazenadas. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, Campina Grande, v. 3, n. 1, p. 40 – 53, 1999.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Editora Plantarum, 1992. 352p.

MACHADO, J. C. Patologia de Sementes: fundamentos e aplicações. Brasília: Ministério da Educação; Lavras: ESAL/FAEPE, 1988. 107P. IL.

MARCOS FILHO, J.; CÍCERO, S. M.; SILVA, W. R. da. Avaliação da qualidade das sementes. Piracicaba: ESALQ. 1987, 230 p.

MENDES. M. A. S.; SILVA, V. L. da; DIANESE, J. C.; FERREIRA, M. A. S. V.; SANTOS, C. E. N. dos; NETO, E. G.; URBEN, A. F.; CASTRO, C. Fungos em plantas no Brasil – Brasília: Embrapa – SPI/ Embrapa – Cenargen, 1998. 569p.; IL.

MENTEM, J. O. M.; PARADELA, A.; GALLI, M. A. & GONELLA, L. G. R. Eficiência "in vitro" de Diversos Fungicidas sobre *Sclerotinia sclerotiorum* do Feijoeiro. Fitopatologia Brasileira. v 20 (suplemento), p 320, agosto, 1995. (Resumo 258).

MILLER, A. J.; ACKERMAN, S. A.; PALUMBO, S. A. Effect of frozen storage on functionality of meat for processing. **Journal of Food Science**. v. 45, p.1466-1477, 1982.

MOHSENIN, N, N. Physical properties of plant and animal materials. New York, NY. Gordon and Breach Pub. Inc. 1978, 742p.

MOHSENIN, N, N. Thermal properties of foods and agricultural materials. New York, NY. Gordon and Breach Pub. Inc. 1980, 407p.

MOORE, R. P. Effects of mechanical injuries on viability. In: ROBERTS, E. H. Viability of seeds. Syracuse: University Press, p 94 – 113, 1972.

MOURA, S. C. S. R. de; VITALI, A. de A; FRANCA, V. C. L. Propriedades termofisicas de soluções modelo similares a creme de leite. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v.21, n.2, p.209-215, 2001.

MUNDE, A. V. Effect of moisture content on thermal properties of soybean.

Journal of Maharashtra, Agricultural-Universities. v. 23, n. 3, p. 291-294, 1998.

MUZILLA, M.; HELSEL, Z.; UNKLESBAY, K.; UNKLESBAY, N. Thermal properties of hydrated soybean hulls. **Crop Science**. v. 31, n. 6, p. 1541-1544, 1991

NASSIF, S. M. L.; VIEIRA, I. G.; FERNANDES, G. D. Fatores Externos (ambientais) que Influenciam na Germinação de Sementes. Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais. IPEF-LCF/ESALQ/USP. Informativo Sementes IPEF - Abril 1998

NEEGAARD, P. Seed Pathology. London. The Mac Millian Press. 1979, v.1, 839 p.

NEVES FILHO, L. de C. Resfriamento, congelamento e estocagem de alimentos. São Paulo – SP: IBF/ABRAVA/ SINDRATAR, 1991, p.176.

NOVEMBRE, A. D. L. C.; MARCOS FILHO, J. Tratamento Fungicida e Conservação de Sementes de Feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 13, n 2, p 105 - 113. 1991.

OMOBUWAJO, T. O., OMOBUWAJO, O. R.; SANNI, L. A. Physical properties of calabash nutmeg (*Monodora myristica*) seeds. **Journal of Food Engineering**, v.57, n.4, p. 375-381, May, 2003.

ÖZARSLAN, C. PH-Postharvest Technology-Physical properties of cotton seed Biosystems Engineering. v.83, n.2, p.169-174, October, 2002.

PAIVA, L. E.; LOBO JUNIOR, M.; COELHO, R. M. S.; ÁVILA, Z. R.; MACHADO, J. C.; OLIVEIRA, J. A.; VIEIRA, M. G. G. Efeito de *Aspergillus flavus* sobre semetnes de soja envelhecidas por diferentes períodos. **Informativo ABRATES** (Resumos), v. 5, n. 2, p. 102, 1995.

PARK, J. K.; ALONSO, L. F. T.; NUNES, A. S. Steady state determination of thermal conductivity and thermal diffusivity for grains. Ciência e Tecnologia de Alimentos. v. 19, n. 2, p. 264-269, 1999.

PARK, K. J.; YADO, M. K. M.; BROD, F. P. R. Estudo de secagem de pêra bartlett (Pyrus sp.) EM FATIAS. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v 21, n 3, p.288-292, set./dez. 2001.

PENCE, V.C. Cryopreservation of seeds if Ohio native plants and related species. Seed Science and Technology, Zurich – Suiça, v. 19, n. 2, p. 235 – 251, 1991.

PICININI, E. C; PRESTES, A. M. Fungicidas recomendados para o tratamento de sementes de trigo. In: Simpósio de Patologia de sementes IV. Anais... Gramado - RS. Cargill. 1996. p.58 -59.

PIMENTEL, M. de L. Extração de sementes de algarobeira (*Prosopis juliflora* (Sw) DC) através de processo químico. In: I Simpósio Brasileiro sobre algarobeira. Natal, 1982. p. 330-335.

PITA VILLAMIL, J.M. Crioconservación de semillas. 1997. Campina Grande, Paraíba ,Brasil 110p.

POPINIGIS, F. Fisiologia da Semente. Brasília: AGIPLAN, 1985. 289p.

QUEIROZ, A. J. de M. Propriedades físicas e pré-resfriamento de umbu (Spondia tuberosa Arruda Câmara). 1994, 108 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande, 1994.

RAMOS, A.L.; SEIJO, G. Freezing tolerance acquisition during seed deselopment of *Pisum sativum* L. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 11, n. 1, p. 1 – 5, 1999.

ROBERTS, E.H. Problems of long – term storage of seed and pollen for genetic resources conservation. In; FRANKEL, O.H.; HAWKES J.G. (ed.). Crop Genetic Resources for Today and Tomorrow. Cambridge, 1973. p. 269 – 295.

RODRIGUES, M. D.; SCAICO, M. A. & MATA, M. E. R. M. C. Pragas de grãos armazenados. Campina Grande, UFPb/NTA, 1984. 99 p.

ROSSETO, J.; MENTEM, J. O. M.; PARADELA, A. L. Eficiência "in vitro" de Fungicidas contra *Peciniciliium digitatum* Agente Causal do Bolor Verde dos Citros. **Summa Phytopathologica**, v. 22, n 1, p 63, 1996. (Resumo 101)

ROSSI, S. J.; ROA, G. Secagem e armazenamento de produtos agropecuários com uso de energia solar e ar natural. Academia de Ciências do Estado de São Paulo. Publicação ACIESP nº 22, 1980, p. 295.

SALVADOR, J. do L. G. Considerações sobre as matas ciliares e a implantação de reflorestamentos mistos nas margens de rios e reservatórios. 2ed. rev. at. CESP: São Paulo. 1989. 15p. (Série divulgação e informação, 105)

SANTOS, E. S. Quebra de dormência em sementes de algaroba (*Prosopis juliflora* (Sw) DC). 1985, 100 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Agrícola) Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias. Departamento de Fitotecnia, Areia, PB. 1985.

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

SILVA, J. de S. Pré-processamento de produtos agrícolas. Instituto Maria. Juiz de Fora, MG. 1995, 509p.

SINGH, K. K.; GOSWAMI, T. K. Thermal properties of cumin seed. Journal of Food Engineering. v. 45, n. 4, p. 181-137, 2000.

SOUSA, J.G.A.; QUEIROGA, V. de P.; RIBEIRO, O.R.; GOMES, J.P.; ALMEIDA, F. de A.C. Influência dos fatores colheita, beneficiamento e armazenamento na germinação das sementes de algodão herbáceo. **Agropecuária Técnica**, Areia, v. 20, n. 1, p. 35 – 41, 1999.

STANWOOD, P.C. Cryopreservation of seed germplasm for genetic conservation In: K.K. KARTHA. (ed.). Cryopreservation of plant cells and organs. Boca Rotan - Florida: CRC Press, 1985, p. 199 – 225.

STANWOOD, P. C.; SOWA, S. Evaluation of onion (*Allium cepa* L.) seed after 10 years of storage at 5, -18 and -196°C. Crop Science. v.35, p.852-856, 1995.

SUTHAR, S. H.; DAS, S. K. Some Physical properties of karingda (*Citrullus lanatus* (Thumb) Mansf) seeds. **Journal of Agricultural Engineering Research**. v.65, n.1, p.15-22, September, 1996.

TOLEDO, F. F. de; MARCOS FILHO, J. Manual das sementes: Tecnologia da Produção. ESALQ, Ed. Agronômica Ceres, 1977, 224 p.

TOUCHELL, D.H.; DIXON, K.W. Cryopreservation for seedbanking of Australian Species. Kings Park and Botanic Garden, West Perth, Australia, v.74, p. 541-546, 1994.

VERAS, S. M.; BARBOSA, M. A. G.; COELHO, R. S. B. Efeito de Fungicidas no Crescimento Micelial de Diferentes Espécies de *Trichoderma*. **Fitopatologia Brasileira**. v 20 (suplemento), p 330, agosto, 1995. (Resumo 323).

VERMA, L. S.; SHROTRIYA, A. K.; RAMVIR-SINGH; CHAUDHARY, D. R; SINGH, R. Thermophysical properties of Indian mustard (Brassica juncea) seeds at different

temperatures. Department of Physics, India. Indian Journal of Agricultural Sciences. v. 60, n 11, p. 770-771, 1990.

VIEIRA, M.L.C. Conservação de germoplasma in vitro. Biotecnologia Ciências e Desenvolvimento, Brasília - DF, v. 3, n. 14, p. 18 - 20, 2000.

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. Teste de vigor em sementes. São Paulo – SP: Editora Afiliada, 1994. 164p.

VIEIRA, I. G.; FERNANDES, G. D. Métodos de Quebra de Dormência de Sementes. Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais - Informativo Sementes IPEF - IPEF-LCF/ESALQ/USP, Novembro de 1997.

ZHANG, B. Z.; FU, J. R.; ZEE, S. Y. Studies on cryopreservation of seeds of crops and vegetables. Department of Biology, Zhongshan University, Guangzhou, Guangdong, China, Acta Scientiarum Naturalium. Universitatis Sunyatsene, v. 29, n.3, p. 115-121, 1990.

YANG, W.; SOKHANSANJ, S.; TANG, J.; WINTER, P. PH-Postharvest Technology - Determination of thermal conductivity, specific heat and thermal diffusivity of borage seeds **Biosystems Engineering.** v.82, n.2, p. 169-176, June, 2002,

YANG, J.; ZHAO, Y. Thermal properties of radish and alfalfa seeds. Department of Food Science & Technique, University Corvallis, USA Journal of Food Process Engineering. v. 24, n.5, p. 291-313, ref. 32, 2001

# ANEXOS

## Anexo A

Tabela 1 – Temperaturas de cada momento, temperaturas interna e razão de temperatura para as sementes de jatobá da extremidade(A1) e do meio (A2) imersas em Nitrogênio Liquido (-196°C).

Tabela A1

ТЕМРО	T1 (Int.)	RT (Int.)
0	30,4	1
0,166	-37,9	0,698322
0,333	-81,4	0,506184
0,5	-109,4	0,382509
0,666	-121,3	0,329947
0,833	-143	0,234099
1	-164	0,141343
1,166	-178	0,079505
1,333	-185	0,048587
1,5	-190,2	0,025618
1,666	-193,4	0,011484
1,833	-194,3	0,007509
2	-195,8	0,000883
2,166	-195,8	0,000883

Tabela A2

ТЕМРО	TI (Int.)	RT (Int.)
0	31,3	1
0,166	-2,4	0,851738
0,333	-39,8	0,687198
0,5	-63,4	0,58337
0,666	-80,7	0,507259
0,833	-98,1	0,430708
1	-116,1	0,351518
1,166	-134,3	0,271447
1,333	-147,4	0,213814
1,5	-158,7	0,1641
1,666	-168,9	0,119226
1,833	-193,8	0,009679
2	-194,7	0,005719
2,166	-195,5	0,0022
2,333	-195,5	0,0022

Anexo B

Tabela 1 – Temperaturas de cada momento, temperaturas interna e razão de temperatura para as sementes de jatobá da extremidade(B1) e do meio (B2) no vapor de Nitrogênio Liquido (-170°C)

Tabela B1

ТЕМРО	T1 (Int.)	RT (Int.)
0	27,1	1
0,166	21,8	0,97311
0,333	18,6	0,956875
0,5	15,3	0,940132
0,666	11,7	0,921867
0,833	8,2	0,90411
1	4,6	0,885845
1,166	0,5	0,865043
1,333	-3,6	0,844242
1,5	-7,3	0,825469
1,666	-11,5	0,80416
1,833	-16,4	0,7793
2	-20,1	0,760528
3	-45,4	0,632166
4	-72,6	0,494165
5	-93,4	0,388635
6	-112,4	0,292237
7	-128,2	0,212075
8	-141,1	0,146626
9	-151	0,096398
10	-160	0,050736
11	-165	0,025368
12	-169	0,005074
13	-173	-0,01522
14	-173	-0,01522
15	-173	-0,01522
16	-173	-0,01522
17	-173	-0,01522

Tabela B2

		والمراجع و
ТЕМРО	T1 (Int.)	RT (Int.)
0	28,7	1
0,166	25,2	0,982386
0,333	21,2	0,962255
0,5	18,9	0,950679
0,666	16,1	0,936588
0,833	12,9	0,920483
1	10,3	0,907398
1,166	6,2	0,886764
1,333	2,4	0,86764
1,5	-0,8	0,851535
1,666	-4,1	0,834927
1,833	-7,4	0,818319
2	-10,5	0,802718
3	-31,2	0,698541
4	-51,9	0,594363
5	-70,1	0,502768
6	-86,9	0,418218
7	-101,4	0,345244
8	-114,3	0,280322
9	-125	0,226472
10	-134,4	0,179165
11	-141.9	0,141419
12	-148,1	0,110216
13	-153	0,085556
14	-157	0,065425
15	-161	0,045294
16	-164	0,030196
17	-165	0,025164
18	-168	0,010065

Anexo C

Tabela 1 – Temperaturas de cada momento, temperaturas interna e razão de temperatura para as sementes de jatobá da extremidade(C1) e do meio (C2) no Nitrogênio Liquido a -150°C.

Tabela C1

ТЕМРО	T1 (Int.)	RT (Int.)
0	28,5	l
0,166	26,8	0,990476
0,333	26,3	0,987675
0,5	25	0,980392
0,666	23,9	0,97423
0,833	22,3	0,965266
1	20,5	0,955182
1,166	17,9	0,940616
1,333	15,2	0,92549
1,5	12,5	0,910364
1,666	8,9	0,890196
1,833	6,1	0,87451
2	2,8	0,856022
3	-16,7	0,746779
4	-36,7	0,634734
5	-54,8	0,533333
6	-71,4	0,440336
7	-86,2	0,357423
8	-99,4	0,283473
9	-110,9	0,219048
10	-120,4	0,165826
11	-128,7	0,119328
12	-135,1	0,083473
13	-148,6	0,007843

Tabela C2

ТЕМРО	TI (Int.)	RT (Int.)
0	27,6	1
0,166	27,2	0,997748
0,333	8	0,88964
0,5	4,3	0,868806
0,666	1,5	0,853041
0,833	-2,8	0,828829
1	-6,1	0,810248
1,166	-8,8	0,795045
1,333	-11,8	0,778153
1,5	-15,1	0,759572
1,666	-17,8	0,744369
1,833	-21,4	0,724099
2	-24,5	0,706644
3	-47,1	0,579392
4	-67,8	0,462838
5	-87,1	0,354167
6	-103,8	0,260135
7	-118,5	0,177365
8	-131	0,106982
9	-141	0,050676
10	-148,9	0,006194

Anexo D

Tabela 1 – Temperaturas de cada momento, temperaturas interna e razão de temperatura para as sementes de jatobá da extremidade(D1) e do meio (D2) congeladas a uma temperatura de -30°C.

Tabela D1

ТЕМРО	T1 (Int.)	RT (Int.)
0	28,7	1
0,166	28,5	0,996593
0,333	28	0,988075
0,5	27,6	0,981261
0,666	26,8	0,967632
0,833	26,3	0,959114
1	25,1	0,938671
1,166	24,5	0,92845
1,333	24	0,919932
1,5	23,2	0,906303
1,666	22,1	0,887564
1,833	21,4	0,875639
2	20,7	0,863714
3	16,1	0,785349
4	12,2	0,71891
5	8,1	0,649063
6	5,1	0,597956
7	2,1	0,546848
8	-0,6	0,500852
9	-2,7	0,465077
10	-4,6	0,432709
15	-12,6	0,296422
20	-17,7	0,20954
25	-21,1	0,151618
30	-23,2	0,115843
35	-24,4	0,0954
40	-25,2	0,081772
45	-26	0,068143
50	-26,7	0,056218
55	-26,7	0,056218
60	-26,7	0,056218

Tabela D2

ТЕМРО	T1 (Int.)	RT (Int.)
0	29,2	1
0,166	27,5	0,971284
0,333	26,9	0,961149
0,5	26,1	0,947635
0,666	25,7	0,940878
0,833	25,2	0,932432
1	24,5	0,920608
1,166	23,8	0,908784
1,333	22,9	0,893581
1,5	22,2	0,881757
1,666	21,7	0,873311
1,833	20,8	0,858108
2	20,6	0,85473
2 3	18,2	0,814189
4	15,9	0,775338
5	7,9	0,640203
6	5,8	0,60473
7	3,1	0,559122
8	1,1	0,525338
9	-0,9	0,491554
10	-4,8	0,425676
15	-10,1	0,336149
20	-16,8	0,222973
25	-20,2	0,165541
30	-23,8	0,10473
35	-26,9	0,052365
40	-28,2	0,030405
45	-28,9	0,018581
50	-29,1	0,015203

TABELA 2 Analise de variância Aspergillus flavus Data: 28/07/02 Hora: 04:05:34

## EXPERIMENTO INTEIRAMENTE CASUALIZADO

## QUADRO DE ANÁLISE

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M	l. F	
Tratame Residuo		2621,61 372,920		524,32343 20,71780	25,3079 **
Total	23	2994,5370	50	5	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·

<sup>\*\* =</sup> significativo ao nível de 1% de probabilidade

## MÉDIAS E MEDIDAS

## Médias de tratamento

1	2,03250	cd
2	0,00000	d
3	17,33000	b
4	0,00000	$\mathbf{d}$
5	10,75000	bc
6	28,38500	a

$$DMS = 10,21852$$

MG = 9,74958

CV% = 46,68590

OBSERVAÇÃO: Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

<sup>\* =</sup> significativo ao nível de 5% de probabilidade ns = não significativo

TABELA 2.1 Aspergillus sp 2. Data: 28/07/02 Hora: 04:08:34

## EXPERIMENTO INTEIRAMENTE CASUALIZADO

## QUADRO DE ANÁLISE

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.	M.	F	
Tratamen Resíduo	ts 5	577,9: 607,70		,	58433 6160	3,4235 *
Total	23	1185,630	)49			- cal 100 Mil 100 All All All

<sup>\*\* =</sup> significativo ao nível de 1% de probabilidade

ns = não significativo

## MÉDIAS E MEDIDAS

## Médias de tratamento

1	0,00000 Ь
2	15,65000 a
3	9,52750 ab
4	4,06500 ab
5	9,68500 ab
6	6,43000 ab

$$DMS = 13,04451$$

$$MG = 7,55958$$

CV% = 76,86236

OBSERVAÇÃO: Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

<sup>\* =</sup> significativo ao nível de 5% de probabilidade

TABELA 2.3 Fusarium2.TXT Data: 28/07/02 Hora: 04:10:53

## EXPERIMENTO INTEIRAMENTE CASUALIZADO

# QUADRO DE ANÁLISE

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.	M.	F	
Tratame Residuo	nts 5	259,88 650,80		,	97759 5575	1,4376 ns
Total	23	910,691	41		ने <b>व्यक्त स्था</b> न तथा स्थान स	

<sup>\*\* =</sup> significativo ao nível de 1% de probabilidade

## MÉDIAS E MEDIDAS

## Médias de tratamento

1	6,64000 a
2	0,00000 a
3	6,09750 a
4	6,95000 a
5	0,00000 a
6	0,00000 a
	e hom data talka data man data, man data alah man man man dan mak

DMS = 13,49911

MG = 3,28125

CV% = 183,25226

OBSERVAÇÃO: Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si

<sup>\* =</sup> significativo ao nivel de 5% de probabilidade ns = não significativo

**TABELA 2.4** Rhizopus Data: 28/07/02 Hora: 04:01:40

## **EXPERIMENTO INTEIRAMENTE CASUALIZADO**

## QUADRO DE ANÁLISE

F.V.	G.L.	S.Q.	Q.	M.	F	707 707 204 306 100 407 407 100
Tratame Resíduo		266,64 535,02		,	32891 2348	1,7942 ns
Total	23	801,667	24	***************************************		ada dak dak dak dak dak dak dak dak dak

<sup>\*\* =</sup> significativo ao nível de 1% de probabilidade

ns = não significativo

## MÉDIAS E MEDIDAS

## Médias de tratamento

1	2,03250 a	
2	6,64250 a	
3	5,77000 a	
4	12,86000 a	
5	4,06500 a	
6	6,09750 a	

$$DMS = 12,23957$$

MG = 6,24458

CV% = 87,30646

OBSERVAÇÃO: Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

<sup>\* =</sup> significativo ao nível de 5% de probabilidade