

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA AGROINDUSTRIAL E SOCIOECONOMIA
RURAL

ISADORA DE ANDRADE TRONCO

**TOLERÂNCIA À SECAGEM DE SEMENTES DE CACAU: ENZIMA SUPERÓXIDO
DISMUTASE COMO MARCADOR BIOQUÍMICO**

Araras
2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA AGROINDUSTRIAL E SOCIOECONOMIA
RURAL

ISADORA DE ANDRADE TRONCO

**TOLERÂNCIA À SECAGEM DE SEMENTES DE CACAU: ENZIMA SUPERÓXIDO
DISMUTASE COMO MARCADOR BIOQUÍMICO**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado para a obtenção do título de
Bacharel em Agroecologia na
Universidade Federal de São Carlos

Orientação: Prof. Dr. Victor Augusto Forti

Araras
2025

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus. Obrigada por todo o amor e cuidado que tem por mim e por me permitir ser um instrumento de vossa paz. Dedico também a minha família, que sempre me inspira diariamente a fazer o bem!

AGRADECIMENTO

Agradeço a Deus pela oportunidade dessa caminhada evolutiva e por sempre me ensinar a superar os desafios.

Agradecimento à minha família pelos ensinamentos que me levaram a ser quem eu sou. Especialmente aos meus pais, minha irmã, meu irmão e meus avós. Agradeço aos meus pais, pelo tempo e esforço dedicados a mim e à minha irmã para que pudéssemos concluir a graduação.

Agradecimento ao meu orientador pela orientação acadêmica e por me ajudar a conduzir o trabalho de maneira tranquila e por sempre me incentivar a aprender mais.

Agradecimento a todos os integrantes do grupo de estudo NEPAS (Núcleo de Extensão e Pesquisa em Agricultura Sustentável), que me ajudaram na execução deste trabalho, em especial a Vitória, a Júlia, a Ivana e a Bianca.

Agradecimento a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão de bolsa de Iniciação Científica do processo nº 21/13689-3.

RESUMO

O cacau é uma espécie recalcitrante, pois suas sementes após a maturidade fisiológica não sofrem dessecação natural e são dispersas com altos teores de água no ambiente. Uma das dificuldades para a conservação de espécies recalcitrantes é a menor tolerância a baixas temperaturas e a baixos teores de água, uma vez que não sobrevivem por longos períodos de armazenamento. Essa sensibilidade durante o armazenamento está relacionada com a resposta ineficiente de mecanismos de defesa a condições de estresse. Esses mecanismos, como as enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase (SOD), são responsáveis por remover os radicais livres que ocasionam a morte celular. O presente trabalho teve por objetivo determinar a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) como marcador bioquímico de sensibilidade à secagem em sementes recalcitrantes de cacau (*Theobroma cacao* L.). Para isso, dois lotes de sementes de cacau, extraídos de frutos maduros, foram submetidos à secagem contínua em estufa com circulação de ar forçada a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ para a obtenção dos tratamentos com diferentes teores de água. Os tempos de secagem foram: 0 h, 3 h, 6 h, 9 h, 12 h, 15 h, 18 h, 21 h, 24 h, 27 h, 30 h. As sementes de cada tratamento foram avaliadas quanto ao teor de água e quanto ao potencial fisiológico por meio do teste de germinação e do teste de tetrazólio. Além disso, as sementes de todos os tratamentos de ambos os lotes foram submetidas à análise bioquímica para a avaliação da atividade da enzima SOD. Houve redução na viabilidade avaliada pelo teste de germinação e tetrazólio, em ambos os lotes, à medida que ocorreu a secagem. O teor de água crítico das sementes foi atingido no teor de água 43,61% (lote 1) e no teor de água de 66,04% (lote 2). A atividade da SOD foi diferente entre os lotes, entretanto, no lote 2, a queda da SOD ocorreu após as sementes atingirem o teor de água crítico. Logo, essa enzima pode ser utilizada como marcador de sensibilidade à secagem para lotes com qualidade.

Palavras-chave: Semente recalcitrante. *Theobroma cacao* L. Qualidade de sementes.

ABSTRACT

Cocoa is a recalcitrant species, as its seeds do not suffer natural desiccation after physiological maturity and are dispersed with high water contents in the environment. One of the difficulties in conserving recalcitrant species is their lower tolerance to low temperatures and low water content, as they do not survive long periods of storage. This sensitivity during storage is related to the inefficient response of defense mechanisms to stress conditions. These mechanisms, such as antioxidant enzymes, such as superoxide dismutase (SOD), are responsible for removing the free radicals that cause cell death. The aim of this study was to determine the activity of the enzyme superoxide dismutase (SOD) as a biochemical marker of drying sensitivity in recalcitrant cocoa seeds (*Theobroma cacao* L). For this, two batches of cocoa seeds, extracted from mature fruit, were subjected to continuous drying in a forced-air oven at $36 \pm 2^\circ\text{C}$ to obtain treatments with different water contents. Drying times were: 0 h, 3 h, 6 h, 9 h, 12 h, 15 h, 18 h, 21 h, 24 h, 27 h, 30 h. The seeds from each treatment were evaluated for water content and physiological potential using the germination test and the tetrazolium test. In addition, the seeds from all the treatments in both batches were subjected to biochemical analysis to assess the activity of the SOD enzyme. There was a reduction in viability as assessed by the germination and tetrazolium tests in both batches as they dried. The critical water content of the seeds was reached at 43.61% water content (batch 1) and 66.04% water content (batch 2). The activity of SOD was different between the batches, however, in batch 2, the decrease in SOD occurred after the seeds reached the critical water content. Therefore, this enzyme can be used as a marker of sensitivity to desiccation for quality lots.

Keywords: Recalcitrant seeds. *Theobroma cacao* L. Seed quality.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
2.1. IMPORTÂNCIA DA ESPÉCIE E FISIOLÓGIA DA SEMENTE.....	13
2.2. DESENVOLVIMENTO E DETERIORAÇÃO DE SEMENTES	14
2.3. ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO (ROS) E MECANISMO DE PROTEÇÃO	15
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
5. CONCLUSÕES.....	28
6. REFERÊNCIAS	29

1. INTRODUÇÃO

O processo de maturação de sementes tem grande influência no sucesso da germinação e, no final deste processo ocorre uma perda considerável de água da semente para o meio. Esse é um processo natural e ocorre de maneira diferente para cada espécie. Em espécies ortodoxas, as sementes naturalmente passam pela dessecação natural e se mantem viáveis por maior período mesmo armazenadas em baixas temperaturas e baixos teores de água (Roberts, 1973; Carvalho; Nakagawa, 2000). Já as sementes recalcitrantes, que são liberadas na natureza com alto teores de água e que não sofrem o processo de dessecação natural, sobrevivem por um menor período quando armazenadas e submetidas a baixas temperaturas e baixos teores de água (Roberts, 1973; Gasparin et al., 2020; Chinthu; Raveendran, 2023). Além desses dois tipos de sementes há também as sementes intermediárias que toleram a secagem parcial, mas são sensíveis a baixas temperaturas (Roberts, 1973). Diante dessa classificação, as sementes de cacau podem ser consideradas como recalcitrantes (Li; Sun, 1999; Martini; Tavares, 2005; Salles *et al.*, 2019).

O cacau é uma cultura de destaque no Brasil, possui 93.314 estabelecimentos, com mais 436 milhões de pés de cacauzeiros de acordo com o Censo Agropecuário de 2017. Em 2022, o valor da produção foi em torno de 3,5 milhões de reais, com rendimento médio de 464 kg por hectare (IBGE, 2019a; IBGE, 2024). Em 2023, o Brasil exportou mais de 47.000 toneladas de derivados do cacau (em pó, manteiga ou pasta de cacau), apesar da queda de 1,2% em comparação com o ano de 2022. O principal estado exportador foi a Bahia, sendo que o maior importador foi a Argentina (MDIC, 2023).

Essa cultura foi um importante meio de fixação do produtor rural no campo por permitir uma agricultura de bases estáveis (Costa *et al.*, 1973). O seu plantio pode se dar por sementes e por propagação vegetativa a fim de se obter plantios clonais, através de técnicas de enxertia (a partir de porta-enxertos obtidos por semente) ou por estaquia (Sodré, 2017). Dessa forma, a qualidade fisiológica da semente é extremamente importante, tanto para a obtenção de porta enxertos de boa qualidade quanto para a produção de mudas seminais de excelência, sendo necessário considerar a característica recalcitrante da espécie para a conservação das sementes.

A compreensão sobre teores de água crítico e letal das sementes contribui para identificação da recalcitrância, uma vez que esses teores têm sido utilizados como parâmetro de viabilidade. As sementes recalcitrantes devem ser mantidas no armazenamento acima dos teores de água

críticos, já que abaixo destes há a redução da viabilidade, de modo que os teores letais indicam o sessar da germinação das sementes (Nair et al., 2020; Viana et al., 2020).

A sensibilidade à secagem da semente recalcitrante está relacionada com mecanismos de proteção celular. Hendry et al. (1992), Li e Sun (1999), Francini et al. (2006), Chandra et al. (2021) e Chinthu e Raveendran (2023), observaram, que a atividade das enzimas removedoras de espécies reativas de oxigênio, como a superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX), dentre outras, foi alterada com a secagem de sementes de espécies recalcitrantes. Quanto a SOD, esses autores, Hendry et al. (1992), Li e Sun (1999), Francini et al. (2006) e Chandra et al. (2021), relataram diminuição da atividade dessa enzima com a secagem, havendo peroxidação lipídica.

Dessa forma, percebe-se que a SOD apresenta um papel importante no controle da quantidade de radicais livres, mas sua atividade é afetada com a deterioração da semente (Brar; Kaushik; Dudi, 2019). Essa enzima, durante o processo de eliminação de radicais livres, atua na redução do ânion oxigênio (O_2^-) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e na oxidação de outro O_2^- formando o oxigênio (O_2) (Marcos-Filho, 2015).

Observa-se que os marcadores bioquímicos (catalase, superóxido dismutase, glutathione redutase) são importantes ferramentas para a verificação da qualidade da semente, pois permitem uma melhor compreensão, por exemplo dos mecanismos de proteção celulares. Pontua-se a necessidade de trabalhos, que relacionem a identificação da atividade enzimática, como marcador bioquímico, com os teores de água críticos da semente. Assim, o trabalho visa identificar a atividade da enzima Superóxido dismutase (SOD) como marcador bioquímico de sensibilidade à secagem em sementes de cacau (*Theobroma cacao* L.), a fim de determinar os níveis críticos/letais das sementes de cacau, sob diferentes teores de água, durante o processo de secagem.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. IMPORTÂNCIA DA ESPÉCIE E FISIOLOGIA DA SEMENTE

A cultura de cacau (*Theobroma cacao* L.) foi fortalecida no Brasil e em outras regiões da América do Sul, da Ásia, da América Central e da África, a partir do aumento do consumo na Europa, devido à comercialização que se iniciou na Espanha em 1585. O cultivo de cacau difundiu-se no Brasil, o qual se destaca pelas favoráveis condições edafoclimáticas (especificamente da região do Sul da Bahia) que beneficiavam a produção dessa cultura (Cuenca; Nazário, 2004). O cacau é nativo do Brasil e não endêmico, está distribuído geograficamente nas regiões Norte, Nordeste e Sudeste do Brasil (Colli-Silva; Pirani, 2020). De acordo com o Censo Agropecuário de 2017, mais de 80% dos estabelecimentos agropecuários são familiares (que apresentavam lavoura permanente de cacau) e a região com maior número de estabelecimentos foi o Nordeste com 69.040 destes estabelecimentos (73,99% do total de estabelecimentos) (IBGE, 2019a). A quantidade produzida de cacau (amêndoa) no Brasil, no ano de 2019, foi de 259.425 toneladas (IBGE, 2019b).

O ciclo da cultura do cacau no Brasil, no Sul da Bahia, caracterizou-se por um ciclo oscilatório (crescimento/queda), sendo suas quedas justificadas, em sua maioria, por crises financeiras, queda no preço internacional e queda da produção provocada pela doença vassoura-de-bruxa (*Crinipellis pernicioso*) (Caldas; Perz, 2013).

Essa cultura pode ser propagada a partir de sementes ou pelo método de propagação vegetativa. A propagação por sementes era mais comum antigamente e, na década de 1970, foi indicada para produção massal de mudas em viveiros. Quanto ao método de propagação vegetativa, este é utilizado para a produção de clones através de duas técnicas: estaquia e enxertia, sendo que para essa última utiliza-se porta-enxertos de mudas seminais (SENAR, 2018). A necessidade do emprego da propagação assexuada em cacauzeiros deriva-se da baixa longevidade das sementes (Marcos Filho, 2005).

As melhores maneiras para a conservação de germoplasma por longos períodos são a partir das sementes, pois os custos são menores, abrigam uma grande diversidade genética, apresentam pequeno tamanho e melhores condições para armazenamento em comparação a estruturas de propagação vegetativa (Marcos Filho, 2005). Contudo, em relação à recalcitrância de sementes de cacau, observa-se alta susceptibilidade à perda de água, o que dificulta seu armazenamento (Salles *et al.*, 2019). Sendo assim, verifica-se a importância de estudos a fim de compreender melhor a sensibilidade à secagem das sementes de cacau diante da necessidade da conservação dessa espécie.

Quanto à tolerância de sementes de cacau à secagem, Liang e Sun (2000) identificaram que a máxima tolerância de eixos embrionários maduros de cacau ocorreu sob potencial hídrico de -9 MPa (quando o potencial atmosférico iguala ao potencial hídrico da tolerância máxima à secagem) e taxa ótima de secagem (variação de água por um tempo constante) foi de $0,02$ h⁻¹. Esses parâmetros, potencial hídrico e taxa de secagem indicados, promoveram menores danos físicos e bioquímicos resultantes da secagem. O teor de água crítico aproximado e a tolerância máxima à secagem foram próximos, respectivamente, de $0,7$ e $0,63$ g de água por g de peso seco (o que equivale a 70% e 63% de teor de água na semente). Os mesmos autores avaliaram o extravasamento de eletrólitos e a viabilidade dos eixos embrionários de cacau e verificaram que potenciais de água menores que $-8,5$ MPa resultaram em aumento do extravasamento de eletrólitos dos tecidos do embrião e que potenciais entre -8 a -6 MPa, resultaram em queda da taxa de sobrevivência da raiz, do caule e diminuição do comprimento dos eixos.

2.2. DESENVOLVIMENTO E DETERIORAÇÃO DE SEMENTES

A semente é o resultado da fusão dos núcleos polares e oosfera (do óvulo) com o núcleo espermático (do grão de pólen). No desenvolvimento da semente várias etapas acontecem: histodiferenciação celular (divisão celular), acúmulo de reservas nos tecidos e dessecação até atingir a maturidade fisiológica. A dessecação é caracterizada pela diminuição rápida do teor de água na semente, que anteriormente se apresentava elevado. A tolerância à secagem pode variar entre frutos secos e carnosos, mas também em sementes recalcitrantes e ortodoxas (Marcos-Filho, 2015).

Após a semente atingir a maturidade fisiológica, momento em que a semente possui seu máximo potencial fisiológico, ela iniciará seu processo de deterioração, ou seja, seu envelhecimento. A deterioração é ocasionada por uma série de eventos que modificam a viabilidade da semente (Marcos-Filho, 2015), desde fatores genéticos a ambientais.

Diante disso, condições adequadas de armazenamento são essenciais a fim de manter essa qualidade adquirida durante a maturação. Sementes armazenadas em condições de altas temperaturas e de umidade relativa (condições de viveiro), aceleram a deterioração da semente. Dessa forma, é imprescindível a utilização de técnicas adequadas de armazenamento, tais como secagem das sementes e exposição a baixas temperaturas (Clemente *et al.*, 2024). Contudo, em sementes recalcitrantes, devido à sensibilidade à secagem, a exposição a essas condições é danosa, afetando sua viabilidade. A influência entre o teor de água na deterioração em sementes recalcitrantes não é bem estabelecida, uma vez que há diferenças no comportamento entre

diferentes espécies, quanto à interferência da temperatura sobre a deterioração, observa-se certa tendência, em que altas temperaturas aceleram a deterioração (Amorim; Souza; Barbedo, 2021).

Quando as sementes de *Eugenia brasiliensis* Lam. (espécie recalcitrante) foram armazenadas com teor de água de 52% e potencial hídrico entre -1 a -2 MPa foi identificado deterioração, uma vez que a produção de mudas normais foi afetada. Mas, ao alterar esse teor de água (aumentar ou reduzir) acelerou a deterioração (Cecel; Barbedo, 2023). Isso demonstra a alta sensibilidade das espécies recalcitrantes à secagem e o alto grau de dificuldade em se identificar condições adequadas de armazenamento para a conservação *ex situ* dessas espécies.

A deterioração é caracterizada por uma desordem fisiológica e por danos celulares na semente. Foi observado que lotes de cedro vermelho de baixa qualidade fisiológica apresentaram perda da quantidade de óleo e alterações na concentração de ácidos graxos poliinsaturados devido a deterioração através da peroxidação lipídica. Observa-se também entre as possíveis causas da deterioração de sementes de cedro vermelho está a oxidação de proteínas, através da geração de radicais livres e pelo comprometimento dos mecanismos de proteção a essas espécies reativas (Terskikh *et al.*, 2008).

Além disso, manifestações fisiológicas e bioquímicas em sementes são observadas com a deterioração. Sementes de girassol expostas a deterioração apresentaram redução na velocidade de germinação e de crescimento, aumento da condutividade elétrica, decréscimo da atividade da enzima SOD ao longo do envelhecimento, bem como aumento da atividade das enzimas peroxidase e ascorbato peroxidase. A diferença entre vigor de lotes impacta nessa manifestação, de modo que os lotes que apresentavam menor vigor manifestaram mais rapidamente os danos da deterioração (Morais *et al.*, 2021). Da mesma forma, foi observado em sementes de salgueiro (*Salix nigra*) coletadas e armazenadas nos anos de 2000, 2006 e 2016, que aquelas armazenadas por mais tempo tiveram o aumento no vazamento de eletrólitos, diminuição da germinação, degradação da membrana celular, fragmentação do DNA, diminuição da solubilidade proteica e alterações nas composições de ácidos graxos, evidenciando a oxidação lipídica (López-Fernández *et al.*, 2018).

2.3. ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO (ROS) E MECANISMO DE PROTEÇÃO

No processo de fosforilação oxidativa, os carboidratos, lipídios e aminoácidos são oxidados na mitocôndria para a síntese de energia estocada (ATP). Mas, inevitavelmente, na respiração aeróbica dos organismos há a produção de subprodutos de espécies reativas de oxigênio (ROS). Essas espécies, tais como: radicais livres superóxido e hidroxila e o peróxido de hidrogênio,

são altamente reativas e danosas, sendo capazes de ocasionar danos moleculares nas enzimas, no material genético e nos lipídios. A relevância do potencial danoso dessas espécies é o efeito mutagênico devido à oxidação do material genético. Alguns fatores contribuem para que haja o aumento da produção dessas espécies: quando há um desbalanço na quantidade de carreadores de elétrons (NAD⁺ e NADH) e do acceptor de elétrons ou quando há a diminuição na produção de ATP (por escassez de ADP ou oxigênio). Como meio de controlar o dano oxidativo, há a síntese de enzimas que capturam os ROS, tais como superóxido dismutase, glutatona peroxidase e catalase, convertendo em produtos menos tóxicos (Nelson; Cox, 2014).

Tem sido visto que a SOD, a catalase e a glutatona redutase durante o envelhecimento de sementes de soja aumentaram suas atividades em um determinado período de armazenamento, controlando radicais livres e depois, reduziram as atividades dessas enzimas à medida que houve perda do vigor dos lotes. Além disso, sementes com diferentes vigores (alto, médio e baixo) manifestaram distintas respostas quanto a atividade das enzimas, as sementes com alto vigor apresentaram maior atividades das enzimas do que sementes com médio e baixo vigor (Usha; Dadlani, 2016). Isso pode indicar como a diferença de qualidade de lotes pode interferir na resposta enzimática.

Em sementes de girassol verificou-se que essas enzimas removedoras de radicais livres são de extrema importância para a proteção celular da semente, pois possuem ação antioxidante. A SOD atuou como primeira via de defesa, removendo o radical superóxido em peróxido de hidrogênio, enquanto as enzimas peroxidases agiram neutralizando o peróxido de hidrogênio. Porém, a exposição da semente à deterioração prejudicou não somente a qualidade fisiológica da semente, mas também a atividade das enzimas antioxidantes (Morais *et al.*, 2021).

O mesmo aconteceu em sementes de *Cucumis sativus* expostas ao envelhecimento acelerado. Foi observado o declínio da qualidade fisiológica das sementes e do vigor e aumento dos radicais livres durante a deterioração. Durante essa exposição as enzimas catalase, peroxidase e superóxido dismutase atuaram na defesa contra essa condição estressante. A SOD, por exemplo, aumentou sua atividade no segundo dia de envelhecimento, mas a partir do quarto dia, diminuiu sua atividade. Isso ocorreu devido ao estresse, uma vez que a exposição das sementes à altas temperaturas e alta umidade provocou o declínio da atividade da enzima (Ahmad *et al.*, 2021). Similarmente, em sementes de *Amaranthus lividus L.* expostas a diferentes tratamentos de choque térmico para indução de germinação, à medida que aumentava o tempo de exposição houve a diminuição na atividade de enzimas removedoras de radicais livres e aumento dos radicais, por conseguinte houve o acréscimo de peroxidação lipídica e de danos nas membranas celulares (Bhattacharjee; Mukherjee, 2003).

Em sementes recalcitrantes vários são os danos observados quando há o prejuízo nas enzimas antioxidantes. Nas sementes recalcitrantes de *Quercus robur L*, com o declínio da atividade da enzima superóxido dismutase, no eixo embrionário, a partir da secagem da semente, ocorreu o acúmulo de radicais livres e o aumento da peroxidação lipídica nos eixos (Hendry *et al.*, 1992). Esse declínio da superóxido dismutase, durante a secagem, também foi identificado nas sementes de cacau. A sensibilidade à secagem dessa semente está relacionada com a diminuição das atividades das enzimas removedoras de radicais livres, tais como a superóxido dismutase durante a diminuição do conteúdo de água dos eixos embrionários de sementes de cacau ao longo da secagem. Nos tecidos do cotilédone, a atividade da enzima superóxido dismutase reduziu com a secagem, verificando-se, conjuntamente, aumento de produtos da peroxidação lipídica (Li; Sun, 1999). Diante disso, observa-se a importância das enzimas antioxidantes na defesa celular, mas também a sensibilidade desses mecanismos de proteção, principalmente frente a deterioração e secagem.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram analisados dois lotes de sementes de cacau, provenientes de frutos maduros adquiridos nas Centrais de Abastecimento de Campinas (CEASA de Campinas). Após o recebimento dos frutos, as sementes foram extraídas e beneficiadas para a remoção da polpa por meio da fricção manual em peneira de areia fina. Feito isso, as sementes foram homogeneizadas e lavadas em água corrente com posterior secagem superficial com o auxílio de papel toalha.

Após a secagem superficial, as sementes foram submetidas à secagem contínua em estufa com circulação de ar forçada a 36 °C para a obtenção dos 11 tratamentos considerando diferentes tempos de secagem, espaçados a cada três horas, num total de 30 horas. Dessa maneira, os tempos de secagem realizados foram: 0 h, 3 h, 6 h, 9 h, 12 h, 15 h, 18 h, 21 h, 24 h, 27 h, 30 h. Para a secagem, as sementes foram colocadas dentro de sacos de filó contendo 42 sementes para cada repetição dos tratamentos. Os sacos foram fechados com barbante. Esse experimento foi feito em delineamento inteiramente casualizado.

As sementes de cada tratamento foram avaliadas quanto ao teor de água (4 repetições de 5 sementes) e quanto à germinação (4 repetições de 25 sementes) e viabilidade pelo teste de tetrazólio (4 repetições de 10 sementes). Na determinação do teor de água, em base seca, utilizou-se o método da estufa a 105 ± 3 °C durante um período de 24 horas (Brasil, 2009).

Para o teste de germinação, avaliou-se as sementes que germinaram em vermiculita, em caixa plástica “gerbox” fechada a 25 °C seguindo a metodologia de Voigt *et al.* (1995) com adaptações. O substrato foi umedecido a 60% da capacidade de retenção de água. As avaliações de plântulas normais foram realizadas considerando as sementes que haviam emitido a raiz primária e as raízes secundárias. No lote 1 realizou-se quatro avaliações da germinação, sendo a avaliação final realizada ao 26° dia após a instalação do teste. No lote 2 foram feitas três avaliações, finalizando no 27° dia. A avaliação final foi determinada considerando o tempo em que houve estabilização da formação de plântulas normais.

O teste de tetrazólio foi realizado visando avaliar a viabilidade das sementes de cacau. A partir de um pré-teste, a concentração adequada de 0,075% e o tempo de imersão na solução de tetrazólio de 7 horas foram determinados. As concentrações testadas no pré-teste foram: 0,075%, 0,1% e 0,5% enquanto os tempos analisados foram: 2 h, 3 h, 4 h, 5 h, 6 h e 7 h.

Antes de colocar as sementes em imersão na solução de tetrazólio, estas foram envolvidas em papel de germinação umedecido na proporção de 2,5 vezes a massa do papel seco e mantidas em temperatura ambiente por 6 horas. O tegumento das sementes foi removido com auxílio de

uma lâmina de barbear, priorizando o corte lateral superficial, na região oposta ao eixo embrionário. Após isso, colocou-se as sementes de cada tratamento em solução de tetrazólio na concentração de 0,075% por 7 h. Decorrido esse tempo de embebição, foi feita a lavagem das sementes em água corrente, as quais foram mantidas em água em Biochemical Oxygen Demand (BOD) a 25 °C até o momento de análise. Para esse teste, analisou-se a viabilidade das sementes de cada tratamento de acordo com a classificação a seguir (Tabela 1 e Figura 1).

Tabela 1 - Classes de viabilidade de semente de cacau para o teste de tetrazólio.

Classe 1	Viável. Eixo embrionário com coloração rosa.
Classe 2	Viável. Eixo embrionário com tonalidade rósea. Presença de pequenas manchas com cor rosa mais intenso menor que 50% da área total.
Classe 3	Viável. Eixo embrionário com cor rosa mais intenso que representa mais de 50% da área total.
Classe 4	Não viável. Eixo embrionário com mais de 50% da tonalidade branca, mescladas com tonalidades rósea intensa.
Classe 5	Mortas. Eixo embrionário completamente branca.

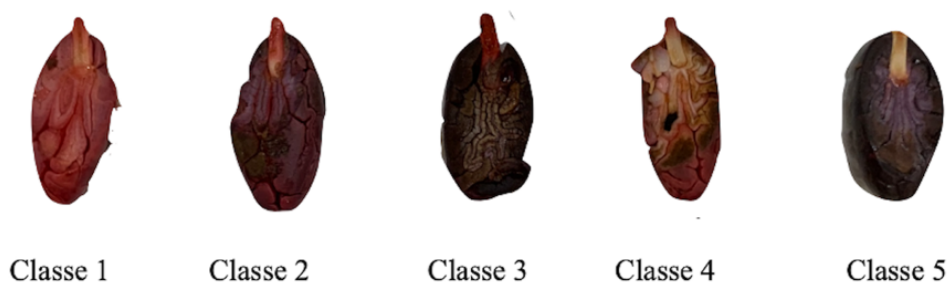


Figura 1 - Análise de viabilidade de sementes de cacau pelo teste de tetrazólio. Classe 1: Eixo embrionário como coloração rosa. Classe 2: Eixo embrionário com pequenas manchas de cor rosa mais intenso. Classe 3: Eixo embrionário com cor rosa mais intenso em mais de 50% da área total. Classe 4: Eixo embrionário de coloração branca em mais de 50% da área total. Classe 5: Eixo embrionário completamente branco.

Além disso, 8 sementes de cada tratamento foram separadas e congeladas em freezer (-10 °C) para posterior avaliação da atividade da enzima SOD. No dia da avaliação da atividade da SOD, descongelou as sementes e retirou o eixo embrionário para o preparo do extrato. Para a determinação da atividade foi feito o preparo do meio de reação e obtenção do extrato enzimático bruto a partir dos eixos embrionários de cacau. Posteriormente, os tubos de ensaio foram separados para a reação de redução do NBT (em A amostra; A controle “sem luz”; e A controle “com luz”), em que foram adicionados em cada tubo o meio de reação, sendo que somente no tubo “A amostra” adicionou-se o extrato bruto. Houve o ajuste do

espectrofotômetro para leitura no comprimento de onda de 560 nm (anteriormente zerado com água desmineralizada). Foram anotados os valores de absorvância das amostras para o cálculo da determinação da atividade da SOD. O cálculo da determinação da atividade da superóxido dismutase consiste na análise da porcentagem de inibição da fotorredução da amostra analisada, a partir da subtração da porcentagem total (100% de absorvância) pela porcentagem de absorvância líquida (obtido pela “Absorvância da amostra” menos “Absorvância do controle no escuro”, dividindo o resultado pela Absorvância do controle no claro e multiplicando o valor por 100), metodologia proposta por Sekita (2012), com adaptações.

A equação usada para determinar a taxa de secagem (TS) em função do teor de água das sementes (TA), expressa em porcentagem, foi:

$$TS(\%) = \frac{(TA(\text{tempo de secagem}) - TA(\text{tempo } 0h))}{TA(\text{tempo } 0h)} \times 100$$

Os resultados de viabilidade pelo teste de germinação e pelo teste de tetrazólio foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando houve efeito significativo, as médias foram analisadas pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se a redução no teor de água nas sementes de cacau com a exposição aos diferentes tempos de secagem para ambos os lotes (Figura 2). Para o lote 1, no tempo zero, o teor de água foi de 57,24% atingindo, após 30 h de secagem, o teor de água de 26,75%. Já para o lote 2, o teor de água inicial foi de 67,58%, atingindo 23,91% após 30h de secagem.

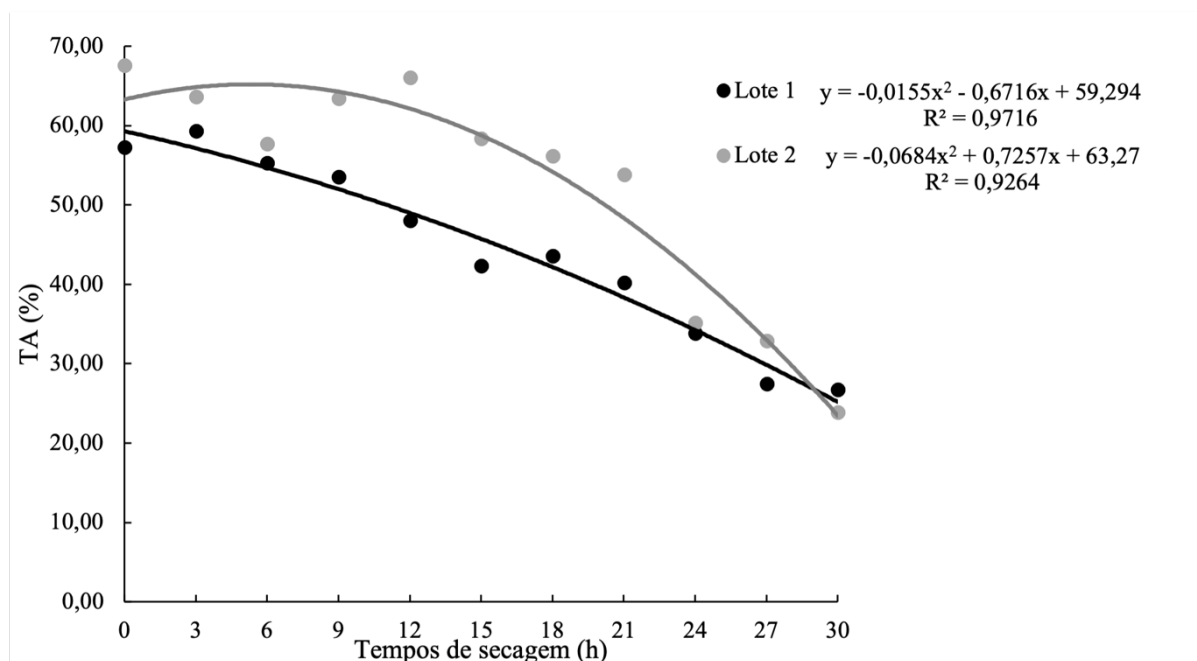


Figura 2 - Teor de água (em porcentagem) de sementes de *Theobroma cacao* L. dos lotes 1 e 2 em diferentes tempos de secagem em estufa de circulação forçada à 36° C.

Os dados referentes à taxa de secagem (porcentagem de perda de água em relação ao teor de água inicial), germinação e viabilidade por meio do teste de tetrazólio estão apresentados na Tabela 2. Observou-se que, após a secagem das sementes, a viabilidade diminuiu para ambos os lotes, uma vez que as sementes de cacau são recalcitrantes e toleram poucas perdas no teor de água (toleram secagem até atingir 63% de teor de água, conforme Liang e Sun (2000)). Para o lote 2, houve uma perda de dado durante a coleta, no tempo de 24 h de secagem, o qual não está apresentado na Tabela 2. Para o lote 1, quando as sementes atingiram 26,75% de água, somente 15% germinaram, o que indica que a porcentagem de germinação das sementes reduziu com a secagem delas. O mesmo para o lote 2, a germinação foi de 51% quando a semente atingiu o teor de água de 23,91%. Seiffert *et al.* (2006) identificaram que a viabilidade da semente também diminuiu com a redução do teor de água nas sementes de *Protium widgrenii* Engler, indicando a sua sensibilidade à secagem, classificando-a como recalcitrante, de maneira semelhante ao observado para as sementes de cacau.

Tabela 2 - Teor de água (TA), Taxa de Secagem (TS), Germinação (G) e viabilidade por meio do tetrazólio (TZ), em porcentagem, em sementes de *Theobroma cacao* L. com diferentes tempos de secagem em estufa de circulação forçada a 36 °C para os lotes 1 e 2.

Tempo de secagem (h)	Lote 1				Lote 2			
	TA (%)	TS (%)	G (%)	TZ (%)	TA (%)	TS (%)	G (%)	TZ (%)
0	57,24	0,00	68 a	93,33 a	67,58	0,00	72,00 a	82,50 a
3	59,29	3,58	51 ab	87,50 ab	63,63	-5,84	83,00 a	82,50 a
6	55,32	-3,35	54 ab	95,00 a	57,69	-14,63	73,00 a	85,00 a
9	53,53	-6,48	61 a	95,00 a	63,38	-6,21	73,00 a	87,50 a
12	48,07	-16,02	40 abcd	82,50 abc	66,04	-2,28	51,00 b	90,00 a
15	42,33	-26,05	46 abc	62,50 abcd	58,35	-13,66	54,42 b	87,50 a
18	43,61	-23,81	26 bcd	65,00 abcd	56,20	-16,84	58,39 b	82,50 a
21	40,23	-29,72	12 d	53,61 bcd	53,84	-20,33	60,00 b	92,50 a
24	33,86	-40,85	20 cd	46,11 cd	-	-	-	-
27	27,45	-52,04	13 d	37,50 d	32,91	-51,30	51,30 b	30,00 b
30	26,75	-53,27	15 d	30,00 d	23,91	-64,62	51,00 b	40,00 b
CV (%)			31,34	16,89			24,42	20,60

Uma das hipóteses para a queda da germinação com a redução do teor de água nas sementes está relacionada com a falha de algum mecanismo bioquímico que não preservou a viabilidade da semente (Connor; Sowa, 2003). Um dano típico é o extravasamento de eletrólitos que aumenta com o tempo de secagem, o que interfere negativamente na viabilidade das sementes (Vieira *et al.*, 2022), isso não foi observado neste experimento porque não foi feita condutividade elétrica.

Observou-se que o teor de água crítico, ou seja, momento em que ocorreu diferença significativa na queda da porcentagem de germinação em relação ao controle (tempo 0h), foi verificado no teor de água referente à 43,61% (tempo de secagem 18 h) para o lote 1 e 66,04% (tempo de 12 h) para o lote 2. Esse teor de água crítico é caracterizado pelo momento em que ocorre uma queda significativa na germinação por conta da secagem das sementes. Segundo Sharanya, Ajith Kumar e Nair (2023), a exposição das sementes à secagem compromete a germinação e a integridade da membrana celular, interferindo em sua qualidade fisiológica.

Negi e Rawal (2019) observaram que as sementes recalcitrantes de *Quercus floribunda* sofreram a redução da porcentagem de germinação (em 16,21%) quando tiveram a redução do teor de água na semente para 33,89%.

De maneira geral, observou-se que a viabilidade por meio do teste de tetrazólio seguiu a mesma tendência verificada para o teste de germinação (Tabela 2). Porém, é evidente uma discrepância em relação à viabilidade das sementes avaliadas por estas duas maneiras. Essa

diferença possivelmente se deu pela presença de fungos nas sementes comprometendo o crescimento radicular durante o teste padrão de germinação. As sementes de cacau com escurecimento radicular e sem emissão de raízes adventícias foram consideradas anormais, não sendo contabilizadas na porcentagem de germinação. Dessa forma, o percentual de germinação foi menor que o demonstrado no teste de tetrazólio. Isso pode ter acontecido, pois o teste de tetrazólio não sofre interferência pela ação de alguns fungos, o que pode levar a altos valores de viabilidade nesse teste (França-Neto; West, 1989).

Sobre as porcentagens de germinação, verificou-se que a tendência foi de queda à medida que a semente foi exposta a maiores tempos de secagem. Para o lote 1, no tempo de 21 h observou-se que 12% das sementes germinaram (Tabela 2). Viana *et al.* (2020) observaram que as sementes de *Garcinia gardneriana*, também recalcitrantes, após atingirem o teor de água crítico apresentaram uma queda drástica da germinação, evidenciando que a viabilidade de sementes recalcitrantes decai à medida que são expostas à secagem.

Quanto à taxa de secagem, observou-se que esta foi menor no lote 1 (- 53,27%) do que no lote 2 (- 64,62%), em relação ao início do tempo até 30 h (Tabela 2). Essa diferença na taxa de secagem entre o lote 1 e 2, mesmo com a exposição ao mesmo tempo de secagem, pode estar relacionada com o conteúdo de água inicial da semente, o qual era mais elevado no lote 2. Além disso, observou-se também uma diferença dos lotes em relação à sua germinação, indicando uma provável superioridade do lote 2 em relação ao potencial fisiológico devido às maiores germinações observadas no tempo de secagem de 30h para o lote 2.

Essa diferença observada na germinação pode ter também uma relação com a taxa de secagem. Segundo Marcos-Filho (2015), quando a secagem acontece de forma mais lenta há um maior dano da semente ficando expostas a danos que podem levar a prejuízos nos processos bioquímicos e da estrutura celular. Alguns danos observados ocasionados pela secagem são: mudança da estrutura das proteínas, mudança na concentração de açúcares nos eixos embrionários e nos cotilédones (Connor; Sowa, 2003), e até mesmo na atividade de enzimas como a SOD (Li; Sun, 1999; Brar; Kaushik; Dudi, 2019; Anusha; Anilkumar; Gangaprasad, 2022; Walt; Burritt; Nadarajan, 2022).

Em relação à atividade da SOD, observou-se que no lote 1 não se verificou uma tendência definida quanto à atividade (Tabela 3). Entretanto, para o lote 2 verificou-se relação entre a redução da atividade da SOD à medida que se procede com a secagem. Essa redução também foi observada por Feng *et al.* (2017) estudando sementes de *Ginkgo biloba*, em que a atividade da superóxido dismutase aumentou quando o teor de água era de 25% na semente e reduziu logo após esse pico juntamente com a secagem das sementes. Em Peng *et al.* (2023), a SOD

também sofreu interferência com a secagem em sementes recalcitrantes de *Sassafras tzumu* (Hemsl.) Hemsl., a atividade no início foi alta, protegendo a semente contra a secagem, mas diminuiu à medida que o teor de água da semente diminuía.

Tabela 3 - Tempo de secagem e porcentagem de fotorredução pela amostra de superóxido dismutase (SOD) em sementes de *Theobroma cacao* L. com diferentes tempos de secagem em uma estufa de circulação forçada a 36 °C.

Tempo de secagem (h)	% de inibição da fotorredução pela amostra (SOD)	
	Lote 1	Lote 2
0	81,52	231,35
3	88,40	170,64
6	114,58	156,67
9	82,70	173,91
12	121,03	189,98
15	75,02	137,49
18	98,65	134,30
21	83,75	125,65
24	104,40	89,60
27	76,03	127,48
30	111,10	132,64

Deve-se considerar que a SOD é um dos primeiros mecanismos de resposta contra o estresse e que há, também, a participação de outras enzimas (como a catalase e peroxidase), atuando como mecanismos secundários que contribuem para a captura dos radicais livres protegendo as sementes da deterioração (Marcos-Filho, 2015). Dessa forma, o comportamento (aumento ou redução da atividade) dessas enzimas durante a secagem varia com a presença desses radicais e com a eficiência desses mecanismos (Varghese; Naithani, 2002; Viana *et al.*, 2020).

A diferença da atividade da SOD verificada entre os lotes, possivelmente, pode estar relacionada com a diferença na qualidade das sementes observada através dos testes de viabilidade no tempo de secagem de 30h. Observou-se que o lote 1 (Figura 3A) possui qualidade inferior quando comparado ao lote 2 (Figura 3B), respectivamente, no tempo 30h a porcentagem de germinação era de 15% e 51%. No teste de tetrazólio a viabilidade no lote 1 e no lote 2 foram, respectivamente, de 30% e 40%, esses dois resultados de viabilidade podem justificar algumas variações verificadas para os resultados de atividade da SOD. Uma vez que segundo Liu *et al.* (2020), a atividade da SOD pode atuar com um indicativo de vigor do lote, uma vez que a ineficiência do sistema enzimático mostrou um indicativo de perda de vigor nas sementes de *Metasequoia glyptostroboides*. Em outro estudo foi constatado, em sementes recalcitrantes de *Syzygium maire*, que o teor de água na semente influencia na atividade da SOD que reduziu com a secagem rápida (Walt; Burritt; Nadarajan, 2022). Esses autores também

observaram que a SOD apresentou atividade nula quando a semente não tinha viabilidade. Isso indica que a atividade da SOD pode ser um parâmetro de viabilidade, assim observado no presente trabalho. Onde foi verificado que o lote 1 tinha menor qualidade fisiológica que o lote 2, pois apresentou menores níveis de atividade da SOD, o que coincidiu com a viabilidade baixa (tanto no teste de germinação quanto para o teste de tetrazólio no tempo 30h).

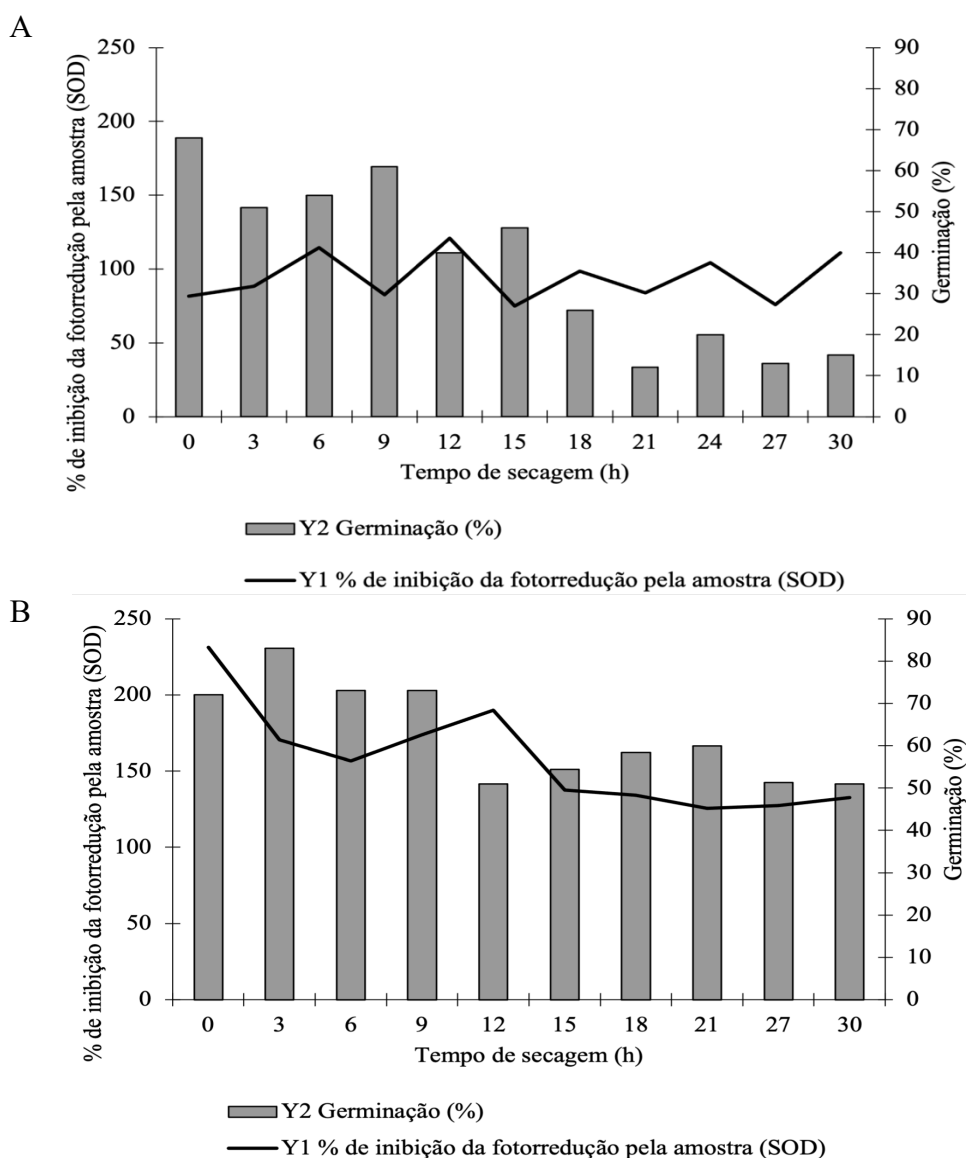


Figura 3 - Efeito da secagem nos lotes 1 (A) e 2 (B) em relação à porcentagem de germinação e à porcentagem de inibição da fotorredução pela amostra (SOD).

Diante disso, verificou-se que a oscilação da atividade da SOD no lote 1 pode estar relacionada com a presença do ânion superóxido, indicando que essa enzima ainda está atuando na proteção da semente, entretanto com o potencial fisiológico da semente sendo afetado. Essa hipótese pode ser afirmada, visto que alguns autores mostram que a atividade da SOD pode aumentar devido ao aumento do ânion superóxido nas sementes, mesmo após a semente atingir o teor de água crítico o que indica esse mecanismo de defesa ainda está ativo (Varghese; Naithani, 2002). Nesse mesmo trabalho, foi verificado que as enzimas catalase e peroxidase reduziram suas atividades após atingir o teor de água crítico, por conta de alguma falha nesse mecanismo bioquímico, e observou o aumento da peroxidação lipídica.

Observou-se que no lote 2 a queda da atividade da SOD aconteceu após as sementes atingirem o teor de água crítico (66,04%). Similarmente, em Viana *et al.* (2020) observou que em sementes de *Garcinia gardneriana* que a atividade SOD reduziu após atingido o teor de água crítico, ao passo que a catalase aumentou. Essa relação entre a queda da atividade da SOD e o momento que a semente atinge o teor de água crítico traz uma perspectiva do uso da análise bioquímica da atividade da enzima SOD como marcador de sensibilidade da semente à secagem, uma vez que a queda da atividade SOD após atingir o teor de água crítico também foi observado em sementes intermediárias (Vieira *et al.*, 2022), não somente, em recalcitrantes.

5. CONCLUSÕES

A qualidade fisiológica dos lotes pode interferir na resposta da atividade da enzima superóxido dismutase. A análise da atividade da SOD pode ser utilizada como marcador de sensibilidade à secagem de sementes de cacau, porém não unicamente para identificar a recalcitrância.

6. REFERÊNCIAS

- AHMAD, D.; JAIN, S. K.; JOSHI, M. A.; ANAND, A.; TOMAR, B. S.; KUMAR, S.; HASAN, M. H₂O₂ as a better index of seed quality and mechanism of cucumber (*Cucumis sativus*) seed deterioration. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v. 91, n. 10, p. 1500–1504, 2021. DOI: 10.56093/ijas.v91i10.117515
- AMORIM, I. P.; SOUZA, J. G.; BARBEDO, C. J. A comparative analysis of deterioration rate between seeds of the orthodox *Erythrina speciosa* and recalcitrant *Eugenia* spp. species. **Iheringa Serie Botanica**, v. 76, n. e2021013, 2021. DOI: 10.21826/2446-82312021v76e2021013
- ANUSHA, S.; ANILKUMAR, C.; GANGAPRASAD, A. Desiccation induced physiological and biochemical changes of *Gymnacranthera canarica* (King) Warb. seeds in the Myristica swamp forests, Southern Western Ghats, India. **Plant Science Today**, v. 9 n. 4, p. 1110-1121, 2022. DOI: 10.14719/pst.1887
- BHATTACHARJEE, S.; MUKHERJEE, A. K. Implications of reactive oxygen species in heat shock induced germination and early growth impairment in *Amaranthus lividus* L. **Biologia Plantarum**, v. 47, n. 4, p. 517-522, 2003. DOI: 10.1023/B:BIOP.0000041055.77873.db
- BRAR, N. S.; KAUSHIK, P.; DUDI, B. S. Assessment of natural ageing related physio-biochemical changes in onion seed. **Agriculture-Basel**, v. 9, n. 163, 2019. DOI: 10.3390/agriculture9080163
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 399 p.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Jaboticabal: Funesp, 2000. 588 p.
- CALDAS, M. M.; PERZ, S. Agro-terrorism? The causes and consequences of the appearance of witch's broom disease in cocoa plantations of southern Bahia, Brazil. **Geoforum**, v. 47, p. 147-157, 2013. DOI: 10.1016/j.geoforum.2013.01.006
- CECEL, A. T.; BARBEDO, C. J. Storage of recalcitrant seeds of *Eugenia brasiliensis* Lam. under control of water availability. **Journal of seed science**, v. 45, n. e202345009, 2023. DOI: 10.1590/2317-1545v45264131
- CHANDRA, J.; DUBEY, M.; VARGHESE, B.; SERSHEN; KESHAVKANT, S. Towards understanding the basis of desiccation-induced oxidative stress in recalcitrant seeds: The case of *Madhuca latifolia* Roxb. **South African Journal of Botany**, v. 142, p. 100-105, 2021. DOI: 10.1016/j.sajb.2021.06.012
- CHINTHU, R. V.; RAVEENDRAN, M. Effect of desiccation damage on the seed viability of *Hydnocarpus alpina* Wight of Western Ghats. **Plant Science Today**, v. 10, n. 1, p. 15–21, 2023. DOI: 10.14719/pst.1655
- CLEMENTE, A.; COSTA, C. A.; OLIVEIRA, G.; CORREIA, O. Short-term seed storage of two Mediterranean shrubs used in restoration: Simple procedures to reduce seed deterioration. **Ecological Engineering**, v. 202, n. 107243, 2024. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2024.107243
- COLLI-SILVA, M.; PIRANI, J. R. 2020. Theobroma in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <https://floradobrasil2020.jbrj.gov.br/FB23618>. Acesso em: 19 jun. 2024.

- CONNOR, K. F.; SOWA, S. Effects of desiccation on the physiology and biochemistry of *Quercus alba* acorns. **Tree Physiology**, v. 23, n. 16, p. 1147-1152, 2003. DOI: 10.1093/treephys/23.16.1147
- CUENCA, M. A. G.; NAZÁRIO, C. C. . **Importância econômica e evolução da cultura do cacau no Brasil e na região dos tabuleiros costeiros da Bahia entre 1990 e 2002**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2004. 25p. (Embrapa Tabuleiros Costeiros. Documentos, 72).
- FENG, J. SHEN, Y.; SHI, F.; LI, C. Changes in seed germination ability, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities of *Ginkgo biloba* seed during desiccation. **Forests**, v. 8, n. 286, p. 1-13, 2017. DOI: 10.3390/f8080286
- FRANÇA-NETO, J. B.; WEST, S. H. Effects of *Colletotrichum truncatum* and *Cercospora kikuchii* on viability and quality of soybean seed. **Journal of Seed Technology**, v. 13, n. 2, p. 136-149, 1989.
- FRANCINI, A.; GALLESCHI, L.; SAVIOZZI, F.; PINZINO, C.; IZZO, R.; SGHERRI, C.; NAVARI-IZZO, F. Enzymatic and non-enzymatic protective mechanisms in recalcitrant seeds of *Araucaria bidwillii* subjected to desiccation. **Plant Physiology and biochemistry**, v. 44, n. 10, p. 556-563, 2006. DOI: 10.1016/j.plaphy.2006.09.002
- GASPARIN, E.; FARIA, J. M. R.; JOSÉ, A. C.; TONETTI, O. A. O.; de MELO, R. A.; HILHORST, H. W. M. Viability of recalcitrant *Araucaria angustifolia* seeds in storage and in a soil seed bank. **Journal of Forestry Research**, v. 31, n. 6, p. 2413-2422, 2020. DOI: 10.1007/s11676-019-01001-z
- HENDRY, G. A. F.; FINCH-SAVAGE, W. E.; THORPE, P. C.; ATHERTON, N. M.; BUCKLAND, S. M.; NILSSON, K. A.; SEEL, W. E. Free radical processes and loss of seed viability during desiccation in the recalcitrant species *Quercus robur* L. **New Phytologist**, v. 122, n. 2, p. 273-279, 1992. DOI: 10.1111/j.1469-8137.1992.tb04231.x
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo Agropecuário 2017**. Rio de Janeiro: IBGE, 2019a. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/censo-agropecuario/censo-agropecuario-2017#extracao-vegetal>. Acesso em: 19 jun. 2024.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Agrícola Municipal**. Rio de Janeiro: IBGE, 2019b. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pam/tabelas>. Acesso em: 15 jul. 2021.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção de Cacau**. Rio de Janeiro: IBGE, 2024. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/cacau/br>. Acesso em: 18 jun. 2024
- COSTA, A. da S.; FRANZÃO, D. A. C.; TOURINHO FILHO, E. DAGUER, A. R. F. **Cultura do cacau**. Belém, PA: IPEAN: ACAR-PARÁ, 1973. 27p.
- LIANG, Y.; SUN, W. Q. . Desiccation tolerance of recalcitrant *Theobroma cacao* embryonic axes: the optimal drying rate and its physiological basis. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, n. 352, p. 1911-1919, 2000. DOI: 10.1093/jexbot/51.352.1911
- LI, C.; SUN, W. Q. Desiccation sensitivity and activities of free radical-scavenging enzymes in recalcitrant *Theobroma cacao* seeds. **Seed Science Research**, v. 9, n. 3, p. 209-217, 1999. DOI: 10.1017/S0960258599000215
- LIU, H.; ZHU, Y.; LIU, X.; JIANG, Y.; DENG, S.; AI, X.; DENG, Z. Effect of artificially accelerated aging on the vigor of *Metasequoia glyptostroboides* seeds. **Journal of Forestry Research**, v. 31, p. 769–779, 2020. DOI: 10.1007/s11676-018-0840-1

- LÓPEZ-FERNÁNDEZ, M. P.; MOYANO, L.; CORREA, M. D.; VASILE, F.; BURRIEZA, H. P.; MALDONADO, S. Deterioration of willow seeds during storage. **Scientific Reports**, v. 8, n. 17207, 2018. DOI: 10.1038/s41598-018-35476-3
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas**. 1.ed. Piracicaba, SP: Fealq, 2005. 495 p.
- MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas**. 2.ed. Londrina, PR: ABRATES, 2015. 660p.
- MARTINI, M. H.; TAVARES, D. Q. Reservas das sementes de sete espécies de *Theobroma*: revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 64, n.1, p. 10-19, 2005.
- MINISTÉRIO da Economia. Exportações Gerais. Comex Stat. **Base de Dados**. Brasília: Ministério da Economia. 2023. Disponível em: <https://comexstat.mdic.gov.br/pt/comex-vis/4/0723>. Acesso em: 18 jun. 2024.
- MORAIS, T. C.; DIAS, D. C. F. S.; PINHEIRO, D. T.; GAMA, G. F. V.; SILVA, L. J. Physiological quality and antioxidant enzymatic action in sunflower seeds exposed to deterioration. **Revista Caatinga**, v. 34, n. 3, 2021. DOI: 10.1590/1983-21252021v34n308rc
- NAIR, P. S.; KUMAR, K. G. A.; GAYATRI, G. P.; DETH, G. S. K. Recalcitrant behaviour of the seeds of *Syzygium cumini* (L.) Skeels during embryogeny and natural desiccation. **Plant Physiology Reports**, v. 25, p. 426-431, 2020. DOI: 10.1007/s40502-020-00528-2
- NEGI, M.; RAWAL, R. S. Desiccation response of seeds of himalayan Oak, *Quercus floribunda* Lindl. ex A. Camus. **National Academy Science Letters**, v. 42, p. 291-294, 2019. DOI: 10.1007/s40009-018-0741-z
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.
- PENG, C.; WANG, M.; WU, Y.; HUA, Q.; SHEN, Y. Study on desiccation tolerance and biochemical changes of *Sassafras tzumu* (Hemsl.) Hemsl. seeds. **Forests**, v. 14, n. 2183, 2023. DOI: 10.3390/f14112183
- ROBERTS, E. H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, v. 1, p. 499-514, 1973.
- SALLES, B. P. A.; DAVID, A. M. S. S.; FIGUEIREDO, J. C.; MAIA, V. M.; PRUDÊNCIO, J. R. S.; PEREIRA, K. K. G. Viabilidade de sementes de cacau e limitações no armazenamento. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 42, n. 4, p. 1010-1014, 2019. DOI: 10.19084/rca.18166
- SEKITA, M. C. **Determinação da atividade de enzimas associadas com o mecanismo de defesa antioxidativo em plantas**. Viçosa, MG, 2012.
- SEIFFERT, M.; ALVARENGA, A. A.; GUIMARÃES, R. M.; CASTRO, E. M.; CARDOSO, M. G.; PAIVA, R.; DOUSSEAU, S.; VIEIRA, C. V. Efeito da secagem e de diferentes temperaturas na germinação de sementes de *Protium widgrenii* Engler. **Ciência Agrotecnologia**, v. 30, n. 1, p. 35-42, 2006. DOI: 10.1590/S1413-70542006000100005
- Serviço Nacional de Aprendizagem Rural. **Cacau: produção, manejo e colheita**. Brasília: Senar, 2018. 145 p. (Coleção Senar, 215).
- SHARANYA, K. P.; AJITH KUMAR, K. G.; NAIR, P. S. Recalcitrant behaviour of the seeds of endangered *Syzygium Zeylanicum* (L.) DC. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 42, p. 2626-2636, 2023. DOI: 10.1007/s00344-022-10732-z

SODRÉ, G. A. **Cultivo do cacauzeiro no estado da Bahia**. 1. ed. Ilhéus, BA: MAPA/Ceplac/Cepes, 2017. 126p.

TERSKIKH, V. V.; ZENG, Y.; FEURTADO, J. A.; GIBLIN, M.; ABRAMS, S. R.; KERMODE, A. R. Deterioration of western redcedar (*Thuja plicata* Donn ex D. Don) seeds: protein oxidation and *in vivo* NMR monitoring of storage oils. **Journal of Experimental Botany**, v. 59, n. 4, p. 765–777, 2008. DOI: 10.1093/jxb/erm357

USHA, T. N.; DADLANI, M. Study of free radical and peroxide scavenging enzymes and content in different vigour lots of soybean (*Glycine max*). **Legume Research**, v. 39, n. 2, p. 233-236, 2016. DOI: 10.18805/lr.v0iOF.8409

VARGHESE, B.; NAITHANI, S. C. Desiccation-induced changes in lipid peroxidation, superoxide level and antioxidant enzymes activity in neem (*Azadirachta indica* A. Juss) seeds. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 24, p. 79-87, 2002. DOI: 10.1007/s11738-002-0025-5

VIANA, W. G.; LANDO, A. P.; SILVA, R. A.; CONSTA, C. D.; VEIRA, P. H. M.; STEINER, N. Physiological performance of *Garcinia gardneriana* (Planch. & Triana) Zappi: a species with recalcitrant and dormant seeds. **Journal of Seed Science**, v. 42, n. e202042001, 2020. DOI: 10.1590/2317-1545v42222357

VIEIRA, P. H. M.; LANDO, A. P.; GOETEN, D.; JUNIOR, R. O.; VIANA, W. G.; STEINER, N. Physiological behavior trend of *Campomanesia xanthocarpa* (Myrtaceae) seeds under desiccation and their implication for germplasm conservation. **Trees-Structure and Function**, v. 36, p. 53-66, 2022. DOI: 10.1007/s00468-021-02178-9

VOIGT, J.; KAMARUDDIN, S.; HEINRICHS, H.; WRANN, D.; SENYUK, V.; BIEHL, B. Developmental stage-dependent variation of the levels of globular storage protein and aspartic endoprotease during ripening and germination of *Theobroma cacao* L. seeds. **Journal of Plant Physiology**, v. 145, n. 3, p. 299-307, 1995. DOI: 10.1016/S0176-1617(11)81894-8

WALT, K. V. D.; BURRITT, D. J.; NADARAJAN, J. Impacts of rapid desiccation on oxidative status, ultrastructure and physiological functions of *Syzygium mairé* (Myrtaceae) zygotic embryos in preparation for cryopreservation. **Plants**, v. 11, n. 1056, 2022. DOI: 10.3390/plants11081056