**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Procedimentos para avaliação do potencial fisiológico de sementes
de pimentão e relações com a emergência de plântulas**

Bruna Gagliardi

**Dissertação apresentada para a obtenção do título de
Mestre em Agronomia. Área de concentração: Fitotecnia**

**Piracicaba
2009**

Bruna Gagliardi
Engenheiro Agrônomo

Procedimentos para avaliação do potencial fisiológico de sementes de pimentão e relações com a emergência de plântulas

Orientador:
Prof. Dr. JÚLIO MARCOS FILHO

Dissertação apresentada para a obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2009

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Gagliardi, Bruna

Procedimentos para avaliação do potencial fisiológico de sementes de pimentão e relações com a emergência de plântulas / Bruna Gagliardi. - - Piracicaba, 2009.
75 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2009.
Bibliografia.

1. Germinação de sementes - Vigor 2. Pimentão 3. Sementes - Fisiologia I. Título

CDD 635.643
G135p

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

DEDICO

Aos meus pais José e Silvana pelo amor, incentivo, compreensão e presença constante em minha vida.

À minha linda avó Irene.

Aos meus queridos irmãos André e Carolina e cunhados Fernanda e Eduardo.

Aos meus lindos e engraçados sobrinhos Dudu, João, Melissa e Gabriela.

Ao amor da minha vida, meu namorado Danilo.

AGRADECIMENTOS

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (USP/ESALQ), pela oportunidade de realizar o curso de mestrado.

Ao professor Júlio Marcos Filho, pela orientação, dedicação, paciência, ensinamentos, confiança, amizade e exemplo profissional.

Aos professores Dra. Ana Dionísia da Luz Coelho Novembre e Dr. Sílvio Moure Cícero, pelos ensinamentos, amizade e atenção dispensada durante o curso.

À Engenheira Agrônoma Helena M. C. Pescarin Chamma, pela amizade e auxílio nas análises em laboratório.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da Bolsa de Mestrado.

À empresa Syngenta Seeds Ltda., pela cessão das sementes.

Ao funcionário Hodair Luiz Banzatto, pela amizade e apoio na utilização dos equipamentos de informática.

Aos secretários Rafael e Luciane Lopes, pela ajuda e atenção a mim dispensada.

Aos funcionários do laboratório Adilson, João e Ticão, pela amizade e auxílio durante a condução do trabalho.

À bibliotecária Eliana Maria Garcia, pela atenção a mim dispensada e rapidez na correção da dissertação.

À família Castro, simplesmente por fazerem parte da minha vida, amo muito vocês.

Aos amigos que fiz durante o curso: Tereza Cris, Japinha, Tathi, Renata, Chiquinho, Taís, Vitinho, Cris, Ana Lúcia, Liana, Márcia; vocês são uma das razões pela qual meu mestrado foi extremamente divertido, adorei conhecê-los.

À todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT	11
1 INTRODUÇÃO	13
2.1 Revisão bibliográfica	15
2.1.1 Avaliação do vigor das sementes.....	15
2.1.2 Envelhecimento acelerado	17
2.1.3 Germinação sob diferentes temperaturas	19
2.1.4 Teste de Tetrazólio.....	21
2.1.5 Teste de raios X	24
2.2 Material e Métodos.....	26
2.2.1 Sementes	26
2.2.2 Avaliação inicial do potencial fisiológico das sementes.....	27
2.2.2.1 Germinação.....	27
2.2.2.2 Teste de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl.....	27
2.2.2.3 Emergência de plântulas em casa de vegetação	28
2.2.2.4 Determinação do grau de umidade	28
2.2.3 Germinação sob diferentes temperaturas	28
2.2.4 Teste de tetrazólio.....	29
2.2.4.1 Hidratação das sementes.....	29
2.2.4.2 Coloração	29
2.2.4.3 Classificação	30
2.2.5 Teste de raios X	32
2.2.6 Procedimento estatístico	34
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
3.1 Avaliação Inicial do Potencial Fisiológico dos Lotes.....	37
3.2 Teste de Tetrazólio.....	39
3.3 Germinação sob diferentes temperaturas	41
3.4 Teste de raios X	51

3.4.1 Híbrido Reinger.....	55
3.4.2 Híbrido Sentinel	61
4 CONCLUSÕES.....	65
REFERÊNCIAS	67

RESUMO

Procedimentos para avaliação do potencial fisiológico de sementes de pimentão e relações com a emergência de plântulas

O presente trabalho teve como objetivos verificar a eficiência de procedimentos para avaliação do potencial fisiológico de sementes de pimentão e procurar identificar suas relações com a germinação sob diferentes temperaturas e com a emergência de plântulas. Paralelamente, foram efetuadas análises de imagens obtidas com o emprego de radiações X, procurando associar a morfologia interna das sementes ao seu desempenho e determinar possíveis causas de variações do potencial fisiológico. Utilizaram-se cinco lotes de sementes dos híbridos Reinger e Sentinel. A avaliação do potencial fisiológico das sementes foi realizado mediante a condução do teste de germinação, envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl (48h/41°C), emergência de plântulas (percentagem e velocidade), teste de tetrazólio (3h/45°C para embebição e 2h/5°C para a coloração das sementes) e teste de germinação (percentagem e velocidade) sob cinco faixas de temperatura (15°C, 18°C, 21°C, 25°C e 30°C), em mesa termogradiente. Para o teste de raios X, as sementes radiografadas foram classificadas em função do estágio de desenvolvimento e morfologia dos embriões; posteriormente ao teste de germinação, procurou-se relacionar a estrutura das sementes com as respectivas plântulas/sementes resultantes. Os testes de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl e de tetrazólio são adequados para a avaliação do potencial fisiológico das sementes e, lotes vigorosos apresentam bom desempenho sob variações de temperatura, na germinação. O teste de raios X é eficiente na identificação de danos e anormalidades no embrião associados à germinação de sementes de pimentão.

Palavras-chave: Análise de sementes; Potencial fisiológico; Raios X; Temperatura.

ABSTRACT

Procedures for the physiological potential assessment of pepper seeds and relations with the emergence of seedlings.

This study aimed to verify the efficiency of procedures for the physiological potential assessment of pepper seeds and seek to identify its relationship with germination under different temperatures and the emergence of seedlings. In parallel, we performed the analysis of images, obtained with the use of radiation X, seeking to associate the internal morphology of seeds to their performance and to determine possible causes of changes of physiological potential. The study used five seed lots of hybrids Reinger and Sentinel. The evaluation of physiological potential of the seeds was achieved by conducting the germination test, accelerated aging with saturated solution of NaCl (48h/41°C), emergence of seedlings (percentage and speed), the tetrazolium test (3h/45°C for imbibition and 2h/5°C for colouration of seeds) and germination test (percentage and speed) on five tracks of temperature (15°C, 18°C, 21°C, 25°C and 30°C) in thermogradient table. For the X-ray test, radiographed seeds were classified according to the stage of development and morphology of the embryos; after the germination test, the structure of seeds were associated with the respective resulting seedlings/seeds. The accelerated aging test with saturated solution of NaCl and tetrazolium test are appropriate for assessing the physiological potential of pepper seeds, and vigorous lots show good performance under variations of temperature in germination. The X-ray test is effective in identifying damage and abnormalities in the embryo associated with germination of pepper seeds.

Keywords: Analysis of seeds, Physiological potential, X rays, Temperature.

1 INTRODUÇÃO

O pimentão (*Capsicum annuum* L.) ocupa posição significativa na olericultura brasileira, sendo a terceira espécie mais cultivada da família Solanaceae, superado apenas pela batata e o tomate. É cultivado em todo o País; as principais áreas concentram-se na região Sudeste (NASCIMENTO; BOITEUX, 1992; CAMARGO; CAMARGO FILHO, 1998), destacando-se o estado de São Paulo (FNP, 2003). A importância da cultura justifica a demanda crescente por sementes de alta qualidade dessa espécie (NASCIMENTO, 1999); o componente fisiológico deve receber atenção especial, pois o estabelecimento do estande constitui base para a obtenção de alta produção de frutos por unidade de área.

O teste padrão de germinação, conduzido em laboratório, geralmente superestima o potencial fisiológico de lotes de sementes, porque é conduzido sob condições ótimas de ambiente. Esse teste, além de outras limitações, não distingue amostras que germinam rapidamente daquelas em que o processo é lento e não considera o fato de plântulas com certas deficiências apresentarem menor possibilidade de se estabelecer em campo.

Dessa maneira, é cada vez maior a necessidade do aprimoramento dos testes destinados à avaliação do vigor de sementes, com a finalidade de fornecer informações consistentes, complementando as obtidas no teste de germinação, e de estimar o potencial de emergência de plântulas em campo, sob ampla diversidade de condições de ambiente.

A avaliação do vigor de sementes é um componente essencial de programas de controle de qualidade e tem evoluído à medida que os testes disponíveis vêm sendo aperfeiçoados e adaptados a diferentes espécies, permitindo a obtenção de resultados reproduzíveis (KRZYZANOWSKI et al., 1999). De acordo com Marcos Filho (1999a), as informações sobre o vigor são ainda mais importantes para sementes de elevado valor comercial, como as hortaliças. Estas, geralmente, são muito propensas à deterioração após a maturidade fisiológica; conseqüentemente, predomina o armazenamento em embalagens herméticas ou em ambientes controlados, sob temperatura e/ou umidade relativa reduzidas.

Além disso, dentre os procedimentos disponíveis, a utilização de métodos rápidos para a avaliação do potencial fisiológico das sementes, como o teste de tetrazólio e técnicas de análise de imagens, como o teste de raios X podem constituir ferramentas de grande importância em programas de controle de qualidade de sementes; a utilização desses testes para avaliação direta ou indireta do desempenho de sementes de pimentão ainda é pouco estudada.

Diante do exposto, o trabalho teve como objetivos: a) comparar a eficiência de testes para detectar diferenças no vigor de sementes de pimentão; b) identificar procedimento adequado para a condução do teste de tetrazólio, verificando sua sensibilidade para separar lotes de sementes de pimentão com diferenças de viabilidade e vigor; c) verificar o comportamento dos lotes de sementes de pimentão com diferenças de vigor quando submetidos à diferentes temperaturas na germinação, em mesa termogradiante; d) avaliar a eficiência da técnica do teste de raios X para visualização da estrutura das sementes de pimentão e sua possível relação com o potencial fisiológico.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão bibliográfica

2.1.1 Avaliação do vigor das sementes

A qualidade das sementes deve ser considerada como o padrão de excelência de um conjunto de características que determinam o potencial de desempenho da semente após a semeadura em campo ou durante o armazenamento (HAMPTON, 2002), considerando a interação de atributos de natureza genética, física, fisiológica e sanidade (MARCOS FILHO, 1998). A qualidade é particularmente importante em sementes de hortaliças, não só pelo alto custo de produção, mas também porque envolve, freqüentemente, vultosos investimentos, devido ao elevado custo das sementes (BITTENCOURT, 1991). Considerando-se os atributos que determinam a qualidade dos lotes de sementes, há consenso entre os pesquisadores, os tecnologistas e os produtores de sementes quanto à importância do vigor de sementes e da necessidade de avaliá-lo de maneira consistente.

Lotes de sementes de um mesmo cultivar, com a mesma capacidade de germinação, podem apresentar diferenças marcantes na porcentagem de emergência de plântulas em campo. A falta de relação estreita entre a germinação obtida em laboratório e a emergência de plântulas em campo, foi responsável pelo desenvolvimento do conceito de vigor (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). Isso se deve ao fato de que, em ambiente favorável, geralmente não há preocupações mais sérias quanto à fidelidade dos resultados obtidos em laboratório; porém, quando as sementes são submetidas às condições menos favoráveis de ambiente, pode-se verificar até que ponto se manifesta o potencial identificado em laboratório (MARCOS FILHO, 2005). Conseqüentemente, a avaliação do vigor é imprescindível no monitoramento do potencial fisiológico das sementes (DIAS; MARCOS FILHO, 1995).

As vantagens do uso de sementes com elevado potencial fisiológico, principalmente de hortaliças, incluem germinação rápida e uniforme, obtenção de

plântulas com maior tolerância a adversidades ambientais, obtenção de estandes adequados e maturidade mais uniforme da cultura, com conseqüente aumento na rentabilidade (BENNETT, 2001).

O potencial fisiológico deve ser determinado avaliando-se a germinação e o vigor do lote de sementes. O vigor compreende várias características associadas ao desempenho do lote de sementes, podendo identificar manifestações do seu comportamento durante o armazenamento ou em campo (MARCOS FILHO, 2005). Devido a isso, o uso de um único teste de vigor (fisiológico, bioquímico ou de resistência a estresse), pode gerar informações incompletas, tanto para uma espécie como para avaliar o potencial de desempenho das sementes sob diferentes condições ambientais (HAMPTON; COOLBEAR, 1990).

Os testes de vigor são utilizados rotineiramente nas indústrias de sementes para a determinação do potencial fisiológico, com os objetivos básicos de avaliar ou detectar diferenças significativas no potencial fisiológico de lotes com germinação semelhante, complementando as informações fornecidas pelo teste de germinação; distinguir, com segurança, lotes de alto dos de baixo vigor; separar (ou classificar) lotes em diferentes níveis de vigor, de maneira proporcional à emergência das plântulas em campo, resistência ao transporte e potencial de armazenamento (MARCOS FILHO, 1999a).

Devido à propensão das sementes de hortaliças à deterioração após a maturidade fisiológica (MARCOS FILHO, 2001) e à crescente importância econômica das diversas espécies, o desenvolvimento e aprimoramento dos testes de vigor devem ocorrer o mais rápido possível (McDONALD, 1998). Além da necessidade de padronização da metodologia e da interpretação dos resultados, para possibilitar a comparação entre resultados obtidos por diferentes analistas e laboratórios, os testes de vigor devem preencher outras características, como: relação com a emergência de plântulas em campo, rapidez, objetividade, simplicidade, baixo custo e reprodutibilidade (DELOUCHE, 1976; ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS - AOSA, 1983; TEKRONY, 1983).

No entanto, a continuidade das pesquisas sobre o emprego de testes de vigor para avaliação do potencial fisiológico de sementes de hortaliças ainda merecem atenção. O desenvolvimento de novos testes, o aprimoramento e a padronização dos disponíveis para sementes dessas espécies é necessário, devido ao alto valor comercial das sementes e à utilização de nível tecnológico diferenciado durante a produção (McDONALD, 1998). Isso possibilita maior eficiência da semeadura de precisão, a eliminação do desbaste e a obtenção de uniformidade no desenvolvimento e maturação de plantas, desde que as sementes apresentem potencial fisiológico elevado, tornando necessário o emprego rotineiro de testes de vigor em programas de controle de qualidade (HAMPTON; COOLBEAR, 1990).

Como o vigor da semente é função de um conjunto de características que determinam o potencial para emergência rápida e uniforme de plântulas normais sob ampla diversidade de condições ambientais (AOSA, 1983), a tendência predominante, segundo Marcos Filho (1999b), seria a combinação de resultados de diferentes testes de vigor, considerando a finalidade do uso dos resultados e as limitações de cada teste.

O vigor de sementes de hortaliças tem sido avaliado principalmente com a utilização dos testes de envelhecimento acelerado, deterioração controlada, condutividade elétrica e velocidade de germinação e/ou de emergência de plântulas (MARCOS FILHO, 2005), havendo também referências a estudos sobre o teste de germinação sob diferentes temperaturas.

2.1.2 Envelhecimento acelerado

O teste de envelhecimento acelerado é reconhecido como um dos mais populares para avaliação do vigor de sementes de várias espécies, sendo capaz de proporcionar informações com alto grau de consistência (TEKRONY, 1995). Tem como princípio a aceleração artificial da taxa de deterioração das sementes mediante sua exposição a temperatura e umidade relativa do ar elevadas (MARCOS FILHO, 1999b), com a finalidade de estimar a longevidade de sementes armazenadas, considerando que lotes de sementes de alto vigor mantêm sua viabilidade quando submetidos, durante curtos períodos de tempo a essas condições adversas de temperatura e umidade relativa do ar (DELOUCHE; BASKIN, 1973) .

A seqüência hipotética do processo de deterioração da semente envolve a degradação das membranas celulares, redução das atividades respiratórias e biossintéticas, redução da velocidade de germinação, redução do potencial de conservação durante o armazenamento, menor taxa de crescimento e desenvolvimento de plântulas, menor uniformidade de germinação, maior sensibilidade a adversidades do ambiente, redução da emergência de plântulas em campo, aumento da ocorrência de plântulas anormais e perda do poder germinativo (DELOUCHE; BASKIN, 1973). Conseqüentemente, o teste de envelhecimento acelerado pode ser considerado como um dos mais sensíveis para a avaliação do vigor de sementes, dentre os disponíveis (MARCOS FILHO, 1999b), pois seus resultados se relacionam com o potencial de conservação das sementes.

O teste de envelhecimento acelerado tem sido utilizado por empresas dedicadas à produção de sementes, principalmente por fornecer, também, informações sobre o potencial de emergência das plântulas em campo (MARCOS FILHOS, 1999b). Alguns trabalhos com sementes de hortaliças confirmam essa relação: pimentão (TORRES, 1996; PANOBIANCO; MARCOS FILHO, 1998); abóbora (CASAROLI et al., 2006); erva-doce (TORRES, 2004); tomate (PANOBIANCO; MARCOS FILHO, 2001); pepino (TORRES, 2005a); rúcula (RAMOS et al., 2004); cebola (PIANA et al., 1995); couve-brócolos (MARTINS et al., 2002); cenoura (MARTINS et al., 1996).

Entre os fatores que afetam o comportamento das sementes submetidas ao teste de envelhecimento acelerado, a interação temperatura/período de exposição é um dos mais estudados. Alguns autores dedicaram-se ao estudo dessa interação, indicando, para sementes de tomate 42°C/72h (NASCIMENTO et al., 1993) e 41°C/72h (PANOBIANCO; MARCOS FILHO, 2001); pimentão, 41°C/48h (PANOBIANCO; MARCOS FILHO, 1998; OLIVEIRA, 2003) e de pimenta-malagueta, 38°C/72h e 41°C/72h (TORRES, 2005b).

Diferenças na absorção de água pelas sementes quando expostas a atmosfera úmida no teste de envelhecimento acelerado, podem acarretar variações acentuadas no teor de água das sementes. Para Powell (1995), pesquisas realizadas com espécies de sementes pequenas, como a de hortaliças, têm mostrado resultados pouco

consistentes devido à variação muito acentuada do teor de água das amostras, após o envelhecimento. Em função disso, procedimentos alternativos vêm sendo estudados para a condução desse teste, substituindo-se os 40 mL de água por igual volume de solução saturada de um sal, optando-se por KCl (87%UR), NaCl (76%UR) ou NaBr (55%UR); isto permite a obtenção de umidades relativas inferiores às verificadas no envelhecimento convencional, fazendo com que a absorção de água pelas sementes ocorra em menor intensidade e de forma mais lenta e uniforme, culminando numa menor intensidade de deterioração e menor variação entre os resultados (JIANHUA; McDONALD, 1996).

A eficiência do teste de envelhecimento acelerado com uso de soluções saturadas (EASS) na separação de lotes em níveis distintos de vigor foi constatada em sementes de pimentão (PANOBIANCO; MARCOS FILHO, 1998; RODO et al., 2000), tomate (PANOBIANCO; MARCOS FILHO, 2001), cebola (RODO; MARCOS FILHO, 2003) e rúcula (RAMOS et al., 2004).

Embora o teste de envelhecimento acelerado venha sendo amplamente estudado visando sua padronização para muitas espécies, as informações são mais escassas para as sementes de hortaliças quando comparadas às das grandes culturas.

2.1.3 Germinação sob diferentes temperaturas

O processo germinativo das sementes constitui uma seqüência de eventos físicos, bioquímicos e fisiológicos, influenciados por vários fatores, que podem atuar isolados ou em interação. Dentre os fatores, a disponibilidade de água, a temperatura e o oxigênio são determinantes no sucesso ou fracasso desse processo (MARCOS FILHO, 2005).

Das condições ambientais que afetam o processo germinativo, a temperatura exerce influência significativa (MAYER; POLJAKOFF-MAYBER, 1989). Para muitas espécies, se fornecidas condições ideais de luz e disponibilidade de água, a temperatura do ambiente determina tanto a fração de sementes germinadas de uma amostra como a velocidade do processo (HEIDECKER, 1977; BEWLEY; BLACK, 1985), pois influencia a velocidade de absorção de água pela semente (SHULL, 1920) e as

reações químicas que regulam o metabolismo necessário para iniciar o processo de germinação (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

A temperatura pode regular a germinação determinando a capacidade e velocidade do processo, superando a dormência primária ou secundária e induzindo dormência secundária (BEWLEY; BLACK, 1994). As sementes são capazes de germinar em uma amplitude de temperatura definida para cada espécie (BEWLEY; BLACK, 1985), sendo que dentro desses limites pode ser considerada como temperatura ótima aquela na qual a mais alta porcentagem de germinação é obtida dentro do menor período de tempo. Seriam consideradas, ainda, a mínima e a máxima, respectivamente como a mais baixa e a mais alta temperatura onde a germinação ainda ocorre (MAYER; POLJAKOFF-MAYBER, 1989).

A temperatura ótima para a maioria das espécies está entre 20°C e 30°C e a máxima entre 35°C e 40°C (MARCOS FILHO, 1986). Dentro de certos limites, acréscimos de temperatura contribuem para acelerar o processo de germinação, enquanto temperaturas abaixo da ótima afetam principalmente a velocidade do processo (MARCOS FILHO, 1986; CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

A morosidade do processo germinativo constitui um dos sintomas mais significativos do declínio do potencial fisiológico, juntamente com o aumento do intervalo de tempo entre a germinação da primeira e da última semente de um lote, comportamento que determina desuniformidade entre as plântulas após a emergência (EIRA; MARCOS FILHO, 1990). Segundo Globirson (1981), a uniformidade de emergência de plântulas em campo é de grande importância para as hortaliças, devido ao alto custo das sementes, da mão-de-obra exigida durante o seu cultivo e do alto investimento financeiro e tecnológico.

Para Nascimento (2000), diversos fatores afetam a emergência das plântulas em campo e, dentre eles, a temperatura, pois não há controle humano sobre este fator. Se na época de semeadura a temperatura não for a ideal para aquela espécie, a germinação pode ser prejudicada e não corresponder à expectativa do produtor. Diante dessa situação, empresas produtoras de sementes têm manifestado interesse em

identificar o potencial de estabelecimento do estande sob temperaturas sub e supra-ótimas e estimar esse comportamento mediante a condução de testes de vigor.

Na literatura são escassos os trabalhos que avaliam o desempenho germinativo de sementes de hortaliças sob diferentes temperaturas, podendo-se destacar alguns com sementes de: alface (MENEZES et al., 2000; NASCIMENTO; CANTLIFFE, 2002; BERTAGNOLLI et al., 2003; NASCIMENTO; PEREIRA, 2007); tomate (CAMPOS; TILLMANN, 1997; OLIVEIRA et al., 2001) e cenoura (CARNEIRO; GUEDES, 1992). Nesses trabalhos foi identificada a temperatura ótima para a germinação das sementes em cada espécie estudada. Observou-se ainda, que o vigor das sementes e o genótipo influenciaram os resultados, quando foi avaliada a germinação sob temperaturas extremas. Nascimento e Pereira (2007), estudando três temperaturas (10°C, 20°C e 35°C) sobre a germinação de sementes de alface, observaram que, a 35°C, foi possível a separação dos lotes em níveis de vigor, porque essa temperatura é limitante para essa espécie; apenas os lotes mais vigorosos alcançaram valores satisfatórios de germinação. Nesse mesmo trabalho, os autores notaram que a emergência de plântulas foi reduzida em comparação com a germinação obtida em laboratório, somente nas temperaturas de 10°C e 20°C.

Diante do exposto, verifica-se que efeitos da temperatura devem ser amplamente estudados, pois exerce extrema influência no campo, alterando a taxa de emergência de um lote de sementes.

2.1.4 Teste de Tetrazólio

Dentre os métodos utilizados para a avaliação do potencial fisiológico de sementes no Brasil, o teste de tetrazólio vem ganhando destaque, pois é rápido e propicia informações sobre a viabilidade e vigor das sementes. Sua metodologia baseia-se na alteração da coloração dos tecidos vivos, em presença de solução de cloreto de 2, 3, 5 trifênil tetrazólio, expressando a atividade de enzimas desidrogenases envolvidas na atividade respiratória. Essas enzimas catalizam a reação dos íons H⁺, que são liberados pela respiração dos tecidos vivos com o sal de tetrazólio, formando uma substância de coloração vermelha denominada formazan. A reação se processa no interior das células, detectando os tecidos vivos pela formação da coloração

vermelha, tecidos deteriorados com coloração vermelho escuro (respiração intensa e grande liberação de íons H^+) e os tecidos mortos, que não respiram (liberam pouca quantidade de íons H^+ , insuficiente para que a reação ocorra), não apresentando coloração (GRABE, 1976; FRANÇA-NETO et al., 1986). Desta maneira, trata-se de um teste que permite determinar a presença, localização e a natureza das alterações nos tecidos (FRANÇA NETO et al., 1999b).

A eficiência desse teste em avaliar a viabilidade e o vigor das sementes está relacionada com o desenvolvimento de uma metodologia adequada para cada espécie, definindo assim, condições para o pré-condicionamento, preparo e coloração das sementes. Em algumas espécies, para facilitar a penetração da solução de tetrazólio, é necessário o corte da semente, podendo ser realizado no sentido longitudinal, transversal ou lateral (MARCOS FILHO et al., 1987; BRASIL, 1992). A semente de pimentão necessita desse preparo, para que haja exposição do embrião à solução de tetrazólio, pois seu tegumento não permite a penetração uniforme da solução.

A temperatura e o período de pré-condicionamento têm papéis importantes, pois é a hidratação que promove o amolecimento da semente, facilitando seu preparo e, também, ativa o sistema enzimático resultando numa coloração mais nítida (MOORE, 1985).

Redução significativa no tempo de execução do teste pode ser obtida com o aumento da temperatura durante o pré-condicionamento, uma vez que temperaturas elevadas aumentam a velocidade de embebição das sementes (COSTA et al., 1998). Santos et al. (2007), trabalhando com sementes de tomate, constataram que o pré-condicionamento por 3 horas a 45°C possibilitou uma coloração adequada das sementes, permitindo uma avaliação tão segura quanto à obtida nas condições tradicionalmente recomendadas (18 horas a 30°C). Nesse mesmo sentido, Andrade et al. (1996), utilizando sementes de cenoura, verificaram a possibilidade de reduzir drasticamente o período de pré-condicionamento de 18 horas, indicado pela Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992), para 2 horas e a coloração de 6-24 horas a 30°C (recomendada) para 1 hora a 35°C.

O período de tempo necessário para a coloração das sementes também varia conforme a espécie estudada. Delouche et al. (1976) afirmaram que sementes de uma mesma espécie ou até de um mesmo lote podem apresentar velocidade de coloração diferentes. Um período muito longo na solução de tetrazólio pode acarretar numa coloração muito intensa, prejudicando assim, a interpretação dos resultados.

A obtenção de coloração uniforme e adequada para uma interpretação segura e eficiente também é fator de grande importância para o sucesso do uso do teste em determinada espécie, como consequência, a concentração da solução de tetrazólio deve ser levada em consideração. Em geral, Moore (1985) recomendou o uso de soluções de tetrazólio nas concentrações de 0,1% a 1%. Trabalhos mais recentes com algumas espécies de hortaliças têm indicado que o uso de solução a 0,075% permite o desenvolvimento de coloração adequada tanto nos tecidos vigorosos como dos menos vigorosos (BHERING et al., 2005; NERY et al., 2007; SANTOS et al., 2007).

Apesar do teste de tetrazólio ser importante, rápido e preciso na determinação do vigor e da viabilidade de sementes, seu uso mais freqüente em sementes de grandes culturas como algodão (VIEIRA; VON PINHO, 1999), amendoim (BITTENCOURT; VIEIRA, 1999), feijão (BHERING et al., 1999), milho (DIAS; BARROS, 1999) e soja (FRANÇA NETO et al., 1999a). Ainda há carência de informações sobre uma metodologia mais adequada para diferentes espécies de hortaliças; dentre os trabalhos nessa linha, podem ser citados: tomate (SANTOS et al., 2007), abobrinha (BARROS et al., 2005), cenoura (ANDRADE et al., 1996), melancia (BHERING et al., 2005; NERY et al., 2007), melão (LIMA et al., 2007) e quiabo (EICHELBERGER; MORAES, 2001). Todos esses trabalhos mostraram que o teste de tetrazólio foi eficiente para avaliar a viabilidade e o vigor das sementes.

Segundo Santos et al. (2007), o teste é eficiente para estimar a viabilidade e o vigor de sementes de tomate, mostrando ser uma alternativa para a avaliação de sementes pequenas; as de pimentão, também representantes das solanáceas, ainda não foram estudadas nesse sentido.

2.1.5 Teste de raios X

A possibilidade da utilização da técnica de análise de imagens, para a determinação da qualidade das sementes, tem se mostrado promissora; é um método de precisão, onde as sementes podem ser examinadas individualmente, em imagens ampliadas, podendo averiguar a existência de anormalidades e/ou danos no embrião, prejudiciais à germinação.

O teste de raios X tem sido utilizado em pesquisas com sementes desde que Simak e Gustafsson demonstraram, em 1950, possibilidade de avaliação da estrutura interna de sementes de *Pinus sylvestris* L. (Simak, 1991).

No teste, a semente é submetida a um feixe de radiação, na faixa espectral dos raios X, proveniente de uma fonte emissora. Parte dessa radiação é absorvida pelos elementos componentes da semente e parte é transmitida atingindo uma emulsão fotográfica, a qual é sensibilizada pela radiação incidente, resultando em uma imagem com diferentes tons da cor cinza. Na imagem, o cinza mais escuro representa maior quantidade de radiação transmitida pela semente enquanto que, progressivamente, o cinza mais claro representa diferentes porcentagens de absorção por parte dos elementos constituintes da semente. A análise dessas variações de tons da cor cinza indica as características de composição e organização (estrutura) interna da semente (BINO et al., 1993). Como as diferentes partes da semente absorvem diferentes intensidades de raios X, elas são diferenciadas na imagem obtida, sendo possível identificar a estrutura e a extensão do desenvolvimento de partes do embrião e do endosperma (INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION - ISTA, 1996).

Embora as radiações sejam potencialmente nocivas às sementes, a baixa dose absorvida durante o teste não causa mutações genéticas nas sementes e não afeta a germinação (SIMAK; GUSTAFSSON, 1953; SWAMINATHAN; KAMRA, 1961; BINO et al., 1993). Além disso, trata-se de um teste que não requer tratamento prévio das sementes, o que confere vantagens por ser um método não destrutivo, rápido e de simples execução.

A inclusão do teste de raios X nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992) tem como objetivo básico a complementação das informações fornecidas pelo teste de germinação. Para tanto, as amostras destinadas ao teste de germinação são previamente radiografadas e classificadas, de acordo com o perfil anatômico visualizado, em sementes cheias, vazias e danificadas. Porém, sementes anatomicamente perfeitas, conforme verificado no teste de raios X, podem apresentar desempenho ineficiente durante a germinação. Tal fato pode ser verificado em decorrência da presença de sementes com infecções latentes, sementes mortas por causas naturais, em estágio avançado de deterioração ou submetidas a armazenamento inadequado (VAN DER BURG et al., 1994).

Segundo a International Seed Testing Association – ISTA (1993), diferentes equipamentos de raios X permitem regulagens de tempos de exposição e níveis de intensidade diferentes para produzir a melhor imagem; as regulagens variam de acordo com a espécie. Assim, a qualidade ou poder de penetração dos raios X é determinado pela quilovoltagem do aparelho de raios X. O tempo de exposição, juntamente com a miliamperagem fixa do aparelho, regulam a quantidade de raios X que determina a densidade radiográfica ou grau de escurecimento. Nesse sentido, diferentes interações voltagem/tempo de exposição para a obtenção de imagens radiográficas apuradas de sementes, têm sido adotadas em função da espécie, do aparelho de raios X e da sensibilidade do filme radiográfico utilizado (SIMAK, 1980; ISTA, 1993). Trabalhando com sementes de milho, Mondo e Cícero (2005) utilizaram uma intensidade de radiação de 15kV por 5 minutos; já Carvalho et al. (1999), radiografando as sementes dessa mesma espécie, aplicaram a mesma intensidade por apenas 25 segundos. Obando Flor et al. (2004) expôs sementes de soja a uma intensidade de 20 kV por 45 segundos e Pinto et al., (2007) utilizou a mesma intensidade, reduzindo o tempo de exposição para 40 segundos, trabalhando com a mesma espécie.

Aspectos morfológicos das sementes, possivelmente associados à viabilidade podem ser avaliados pelo teste de raios X (COPELAND; McDONALD, 1985). Marcos Filho (1994) relatou que testes envolvendo aspectos morfológicos ou características físicas das sementes podem estar relacionados ao vigor. Assim vários pesquisadores

têm procurado relacionar a estrutura interna das sementes com a germinação ou morfologia das plântulas, cuja correspondência tem variado de acordo com a espécie (SIMAK, 1991). Dentre as espécies em que se verificou tal correspondência destacam-se as sementes de tomate (VAN DER BURG et al., 1994), milho (CÍCERO et al., 1998; CARVALHO et al., 1999; OBANDO FLOR; CARVALHO, 2002), *Peltophorum dubium* – canafístula (OLIVEIRA et al., 2003), pimentão (DELL'AQUILA, 2007); acerola (NASSIF; CÍCERO, 2006), *Cecropia pachystachya* Trec. – embaúba (PUPIM et al., 2008), *Eugenia pleurantha* (MASETTO et al., 2007).

Dell'Aquila (2007), utilizando sementes de pimentão, verificou com a utilização do teste de raios X, sementes que possuíam espaço entre o endosperma e o embrião menor que 2,7% apresentaram germinação entre 97% e 100%, com baixa taxa de plântulas anormais e sementes mortas; sementes com espaço maior que 2,7% resultaram, na sua maioria, em plântulas anormais ou não germinaram. Trabalhando com sementes de tomate, Van der Burg et al. (1994) observaram que sementes com espaço excessivo entre o endosperma e o embrião e/ou a presença de cotilédones torcidos ou dobrados, resultavam em plântulas anormais no teste de germinação.

Para as sementes de hortaliças, há escassez de informações sobre a eficiência do teste de raios X na avaliação da viabilidade das sementes; portanto há necessidade de intensificar a pesquisa nessa área.

2.2 Material e Métodos

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Análise de Sementes e no Laboratório de Análise de Imagens do Departamento de Produção Vegetal, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” / Universidade de São Paulo, em Piracicaba, SP. As análises foram realizadas em duas épocas distintas, com intervalo de, aproximadamente, 120 dias entre março a outubro de 2008.

2.2.1 Sementes

Utilizaram-se dois híbridos de pimentão (Reinger - vermelho e Sentinel - verde) cedidos pela empresa Syngenta Seeds Ltda., cada um representado por cinco lotes.

Como os lotes apresentaram poder germinativo elevado e desempenho uniforme, a diferenciação em níveis de vigor foi obtida mediante o envelhecimento artificial de três lotes, a 41°C durante 24, 48 e 72 horas, respectivamente. Em seguida, as sementes foram colocadas para secar sobre papel toalha em uma câmara (20°C e 60% de umidade relativa do ar) até atingirem teor de água próximo ao inicial.

Posteriormente, os lotes foram homogeneizados e divididos em duas amostras (uma para cada época de avaliação), mantidos em embalagens aluminizadas e hermeticamente fechadas durante o período experimental e armazenados em câmara (20°C e 60% de umidade relativa do ar). Após a retirada de amostras suficientes para a realização de cada teste, as embalagens foram novamente fechadas, utilizando-se uma seladora, e armazenadas.

2.2.2 Avaliação inicial do potencial fisiológico das sementes

2.2.2.1 Germinação

Utilizaram-se quatro repetições de 50 sementes por lote, distribuídas sobre duas folhas de papel mata-borrão, previamente umedecidas com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco (aproximadamente 13 mL) e colocadas no interior de caixas plásticas transparentes (11,5 x 11,5 x 3,5cm), sob regime alternado de temperatura e luz (20°C/16h e 30°C/8h). As avaliações foram feitas aos 14 dias após a semeadura, computando-se a porcentagem de plântulas normais (Brasil, 1992).

2.2.2.2 Teste de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl

Conduzido utilizando-se caixas de plástico (11,5 x 11,5 x 3,5 cm) como compartimentos individuais (mini-câmaras), possuindo em seu interior suportes para apoio de uma tela metálica, onde foram distribuídas, de maneira a formar uma camada única, as amostras de sementes (2,0g por lote). No interior de cada caixa foram adicionados 40 mL de solução saturada de NaCl, proporcionando ambiente com 76% de umidade relativa, por 48 horas a 41°C (PANOBIANCO; MARCOS FILHO, 1998).

Decorrido o período de envelhecimento, quatro amostras de 50 sementes de cada lote foram colocadas para germinar, conforme descrito no item 3.2.1.

2.2.2.3 Emergência de plântulas em casa de vegetação

O teste foi conduzido com quatro repetições de 50 sementes, distribuídas em bandejas de poliestireno com 200 células individuais, em substrato comercial (Plantimax – Hortaliças). As bandejas foram mantidas em ambiente protegido, sob temperatura ambiente e irrigadas diariamente. A percentagem de emergência de plântulas foi determinada aos 14 dias após a semeadura, computando-se aquelas com tamanho igual ou superior a 1 cm. As plântulas também foram computadas diariamente para a realização do cálculo do índice de velocidade de emergência, conforme Maguire (1962).

2.2.2.4 Determinação do grau de umidade

Foi efetuada antes da instalação dos testes e após o envelhecimento acelerado, nas duas épocas, pelo método da estufa a $105^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, durante 24 horas (BRASIL, 1992), com duas amostras com aproximadamente 2,0g de sementes para cada lote. Os resultados foram expressos em percentagem média (base úmida) por lote.

2.2.3 Germinação sob diferentes temperaturas

Para a condução desse teste, utilizaram-se três repetições de 25 sementes por lote, distribuídas sobre três folhas de papel mata-borrão umedecidas com quantidade de água equivalente a 2,5 o peso do substrato, em placas de Petri vedadas com filme de plástico, para manutenção do grau de umidade do substrato. As amostras foram colocadas em uma mesa termogradiente sob cinco faixas de temperatura (15°C , 18°C , 21°C , 25°C e 30°C), mantendo-se iluminação durante oito horas por dia.

As plântulas normais, anormais e as sementes que não germinaram foram computadas diariamente até o 21º dia após a instalação do teste. A caracterização de plântulas normais e a expressão dos resultados seguiram as indicações das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992).

A velocidade de germinação foi determinada após contagens diárias da germinação, de acordo com Maguire (1962):

$$IVG = \frac{G_1}{N_1} + \frac{G_2}{N_2} + \dots + \frac{G_n}{N_n}, \text{ em que:}$$

$G_1 + G_2 + \dots + G_n$ = número de plântulas normais computadas na primeira, segunda, ..., e última contagens, respectivamente;

$N_1 + N_2 + \dots + N_n$ = número de dias decorridos da semeadura à primeira, segunda, ..., e última contagens, respectivamente.

2.2.4 Teste de tetrazólio

2.2.4.1 Hidratação das sementes

Foram utilizadas quatro repetições com 1g de semente por lote e um método de hidratação, para estabelecer o procedimento mais adequado para o pré-condicionamento. Na hidratação entre papel, as sementes foram distribuídas entre duas folhas de papel mata-borrão, previamente umedecidas com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco e mantidas no interior de uma caixa de plástico (11,5 x 11,5 x 3,5 cm). Em seguida, as amostras foram colocadas em germinadores regulados a 45°C; cada repetição foi pesada com intervalos de 60 minutos, durante cinco horas, para o cálculo do teor de água (base úmida) alcançado pelas sementes ao final de cada período, com a finalidade de obter-se o melhor período de embebição, para a realização da coloração das sementes.

2.2.4.2 Coloração

Após o pré-condicionamento, quatro repetições de 25 sementes por lote foram cortadas longitudinalmente, dividindo a semente, sem separar as duas metades e imersas em 15 mL de solução cloreto de 2,3,5 trifenil tetrazólio 0,075%, a 45°C, durante 1, 2 e 3 horas. Vencido o período de coloração, a solução de tetrazólio foi drenada, as sementes foram lavadas e imersas em água até a avaliação. As sementes foram examinadas individualmente, avaliando-se apenas uma das metades, em microscópio estereoscópico.

2.2.4.3 Classificação

As sementes viáveis e não viáveis foram fotografadas com uma câmara digital, marca Nikon, modelo D1. Em seguida, as imagens foram transferidas para o computador, pelo programa Nikoncapture – Powerful Imaging Software for the Nikon D1 e ajustadas com o programa Photoshop 6.

Para a avaliação do vigor e viabilidade, as sementes foram classificadas, segundo critérios propostos por Santos et al. (2007), em: 1) viáveis e vigorosas: coloração rosa em toda a extensão do embrião e do endosperma, com tecidos firmes e túrgidos, sem apresentar lesões visíveis (Figura 1) ; 2) viáveis não vigorosas: apresentam tecidos firmes e túrgidos não coloridos em menos de 50% das áreas dos cotilédones ou do endosperma; a extremidade do eixo hipocótilo-radícula pode estar sem coloração (Figura 2 - A, B, C); 3) não viáveis: aquelas com mais de 50% das áreas dos cotilédones e/ou do endosperma não coloridas ou com ausência de coloração na região da extremidade da radícula, com tecidos flácidos e brancos ou amarelados; podem ter, também, áreas do endosperma e/ou embrião totalmente sem coloração (Figura3). Os resultados foram expressos em porcentagem de sementes viáveis e vigorosas e viáveis não vigorosas.

Figura 1 – Sementes de pimentão viáveis e vigorosas, hidratadas por 3 horas a 45°C e mantidas por 2 horas em solução de tetrazólio a 0,075% a 45°C.

Figura 2 – Sementes de pimentão viáveis e não vigorosas, hidratadas por 3 horas a 45°C e mantidas por 2 horas em solução de tetrazólio a 0,075% a 45°C.

A: cotilédones e a extremidade da radícula descoloridos;

B: um dos cotilédones descolorido;

C: extremidade da radícula descolorida.

Figura 3 – Sementes de pimentão não viáveis, hidratadas por 3 horas a 45°C e mantidas por 2 horas em solução de tetrazólio a 0,075% a 45°C.

2.2.5 Teste de raios X

Previamente à realização do teste de raios X, para proporcionar uma imagem radiográfica de melhor qualidade, o teor de água das sementes foi ajustado para 12%, permitindo melhor visualização da estrutura interna. Para tanto, utilizou-se o método da atmosfera úmida (ROSSETO et al., 1995), conduzido em caixas de plástico (11,5 x 11,5 x 3,5 cm) contendo 40mL de água destilada, utilizando-se amostras de aproximadamente cinco gramas de sementes distribuídas em uma camada única sobre a tela suspensa no interior da caixa. As caixas, depois de tampadas, foram mantidas

em incubadora, a 20°C. Durante o umedecimento, o teor de água das sementes foi monitorado mediante pesagens sucessivas (HAMPTON; TEKRONY, 1995) com intervalos de 60 minutos, sendo na última hora, realizadas em intervalos de 20 minutos, até se obter o valor desejado. A cada pesagem foi determinado o teor de água das sementes através da equação:

$$W_2 = \frac{100 - A}{100 - B} \times W_1, \text{ onde:}$$

A - teor de água inicial;

B - teor de água desejado;

W1 - peso inicial das sementes;

W2 - peso final das sementes.

Após atingirem teor de água desejado, quatro repetições com 50 sementes de cada lote foram colocadas em alvéolos individualizados de uma placa de acrílico, fixadas com uma fita adesiva transparente, mantendo-as posicionadas de maneira que o eixo embrionário ficasse situado paralelamente à superfície da placa.

Para a obtenção da imagem radiografada, a placa de acrílico contendo as sementes, foi colocada diretamente sobre um filme radiográfico (Kodak MIN-R 2000, tamanho de 18x24 cm) a 35 cm da fonte de radiação. O aparelho de raios X utilizado foi o FAXITRON Hewlett-Packard, modelo MIX-20. Os binômios intensidade de radiação/tempo de exposição testados foram: 10kV/260", 10kV/270", 10kV/280", 13kV/50", 13kV /75", 13kV /90", 15kV /75", 25kV /75", 25kV /30" e 35kV /10". O filme radiográfico foi revelado em processador automático Hope X-Ray, modelo 319 Micromax e analisado visualmente sobre um transluminador Hoefer, modelo VIS-4. Posteriormente, as imagens das sementes radiografadas foram digitalizadas em um scanner Umax, modelo Power Look 1100, para ampliação e visualização em computador (Pentium III, 600 MHZ, memória de 256 MB, HD Ultra SCSI de 20 GB e monitor de 21 polegadas).

Com o objetivo de averiguar a eficiência da análise de imagens, as sementes de cada lote foram previamente numeradas e submetidas ao teste de germinação, conforme descrito no item 2.2.2.1. Semeou-se em grupos de 25 sementes, nas caixas de plástico, para permitir o desenvolvimento das plântulas de maneira individualizada. A avaliação foi efetuada 14 dias após a semeadura (BRASIL, 1992). As plântulas normais, anormais e sementes não germinadas foram fotografadas individualmente, utilizando-se câmera digital Nikon, modelo D1, acoplada ao computador descrito anteriormente. Desta maneira, todas as imagens (raios X e fotos) puderam ser examinadas simultaneamente na tela do monitor, permitindo relacionar a estrutura interna da semente (raios X) à plântula resultante do teste de germinação.

A análise radiográfica das sementes teve como base os diferentes estádios de desenvolvimento do embrião, estabelecidos de acordo com a proporção embrião+endosperma/cavidade interna de 0 (semente vazia), <50%, 50-75% e 100%. As sementes com proporção de 100% foram classificadas, em função da morfologia do embrião, em normais e anormais. Foram considerados normais os embriões intactos, ou seja, completos e com as partes desenvolvidas, e aqueles com danos limitados (com mais de 50% do cotilédone funcional); danos no eixo embrionário não foram admitidos (MACHADO; CÍCERO, 2003).

2.2.6 Procedimento estatístico

Os dados referentes à germinação, envelhecimento acelerado, germinação sob diferentes temperaturas, emergência de plântulas e tetrazólio foram transformados em arc seno $\sqrt{x/100}$; os dados de velocidade de germinação sob diferentes temperaturas e velocidade de emergência de plântulas não foram transformados.

Os dados obtidos em cada época foram analisados separadamente. Nos testes de germinação, envelhecimento acelerado, emergência de plântulas e tetrazólio, os dados obtidos foram analisados utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições (Tabela 1).

Os dados obtidos no teste de germinação (porcentagem e índice de velocidade) sob diferentes temperaturas foram analisados utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial (lotes x temperaturas), com três repetições (Tabela 2).

As análises de variância foram realizadas separadamente para cada híbrido e, a comparação múltipla das médias, através do teste de Tukey ($p < 0,05$). Não foi realizada análise estatística dos dados obtidos no teste de raios X e do grau de umidade das sementes. Para os cálculos estatísticos utilizou-se o Sistema de Análise Estatística – SANEST (ZONTA; MACHADO, 1984).

Tabela 1 - Análise de variância dos dados de germinação, envelhecimento acelerado, emergência de plântulas e tetrazólio, para sementes dos dois híbridos de pimentão, em cada época de avaliação

Causas de variação	GL
Lotes	4
Resíduo	15
Total	19

Tabela 2 - Análise de variância dos dados da porcentagem e velocidade de germinação sob diferentes temperaturas, para os dois híbridos de pimentão, em cada época de avaliação

Causas de variação	GL
Lotes	4
Temperaturas	4
Lotes x Temperaturas	16
Resíduo	50
Total	74

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação Inicial do Potencial Fisiológico dos Lotes

Os resultados obtidos nas duas épocas de avaliação não diferiram entre si, portanto apenas discutiu-se a primeira época de avaliação do trabalho.

Os dados referentes ao grau de umidade foram semelhantes para os dez lotes estudados (Tabela 3). Este fato é importante para a execução dos testes, porque a uniformização do teor de água das sementes é imprescindível para a padronização das avaliações e obtenção de resultados comparáveis, já que a velocidade de absorção de água pela semente pode variar de acordo com os potenciais hídricos da semente e do substrato e, conseqüentemente, sementes mais úmidas germinariam mais rapidamente e seriam menos sujeitas a danos provocados por embebição. No envelhecimento acelerado, a desuniformidade do teor de água nas sementes gera variação acentuada na intensidade de deterioração das sementes (MARCOS FILHO et al., 1987; LOEFFLER et al., 1988; MARCOS FILHO, 1999b).

O grau de umidade inicial das sementes variou de 4,9% a 6,9%; após o teste de envelhecimento acelerado, foi de 10,3% a 10,7% para os lotes do híbrido Reinger e de 10,0% a 10,5% para os lotes do híbrido Sentinel, não afetando a obtenção de resultados consistentes, pois são toleradas variações de até 2-3% no teor de água após o envelhecimento (MARCOS FILHO, 1999b).

Tabela 3 - Valores médios de grau de umidade inicial (GU), grau de umidade após envelhecimento acelerado (GU após EA), germinação (G), envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl (EA), emergência de plântulas em casa de vegetação (EP) e índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de cinco lotes de pimentão, híbridos Reinger e Sentinel

Híbridos	Lotes	GU			EA	EP	IVE
		GU	após EA	G			
		%					
Reinger	1	4,9	10,6	83A	84A	91A	4,17A
	2	5,5	10,7	82A	76AB	91A	4,03A
	3	5,6	10,3	88A	78AB	56B	2,00B
	4	5,9	10,3	81A	75AB	68B	2,58B
	5	5,9	10,7	83A	65B	69B	2,62B
C.V. (%)		-	-	5,2	6,7	11,4	13,3
Sentinel	6	5,4	10,5	83A	57CD	92AB	4,23A
	7	6,2	10,2	93A	94A	97A	4,35A
	8	6,7	10,0	90A	73B	93AB	3,51B
	9	6,4	10,5	85A	53D	60C	2,28C
	10	6,9	10,3	86A	65BC	81B	3,42B
C.V. (%)		-	-	6,9	4,6	7,5	5,9

Letras maiúsculas: comparação dentro de cada coluna (Tukey, $p \leq 0,05$).

Os valores de germinação (Tabela 3) não permitiram a diferenciação dos lotes, cujas médias variaram de 81% a 88% (Híbrido Reinger) e 83% a 93% (Híbrido Sentinel). Resultados elevados de germinação não indicam, necessariamente, que os lotes possuem alto vigor, uma vez que o teste é conduzido em condições favoráveis de temperatura, umidade e luminosidade, permitindo ao lote expressar potencial máximo em gerar plântulas normais (Marcos Filho, 1999a). Assim, é primordial a utilização dos testes de vigor para complementar as informações fornecidas pelo teste de germinação, permitindo caracterizar adequadamente o potencial fisiológico das sementes (MARCOS FILHO, 1999a).

Isso é comprovado quando observam-se os valores obtidos nos testes de vigor. Verifica-se, para o híbrido Reinger (Tabela 3), no teste de envelhecimento acelerado, que os lotes 1 e 5 foram os de melhor e pior desempenho, respectivamente. Pelos

resultados da percentagem e velocidade de emergência de plântulas, os lotes 1 e 2 não diferiram entre si e superaram os lotes 3, 4 e 5. No caso dos lotes do híbrido Sentinel (Tabela 3), os resultados do envelhecimento acelerado apresentaram estreita relação com a percentagem de emergência de plântulas, pois em ambos os testes, houve melhor desempenho do lote 7 e inferioridade do lote 9. Nos dados referentes ao índice de velocidade de emergência, verificou-se a superioridade dos lotes 6 e 7.

Como era esperado, o teste de emergência de plântulas em casa de vegetação, mostrou-se mais sensível do que o teste de germinação para detectar diferenças no potencial fisiológico entre os lotes avaliados (Tabela 3); isso, porque o teste foi conduzido no inverno, onde a temperatura (aproximadamente 21°C) era inferior à ideal para o pimentão (25-30°C). Quando as condições ambientais se desviam daquelas mais adequadas, os resultados de emergência das plântulas podem ser inferiores aos observados para a germinação em laboratório (MARCOS FILHO, 2005).

Comparando-se os dados obtidos, de uma maneira geral, os testes de vigor separaram, de maneira consistente, diferenças acentuadas no potencial fisiológico das sementes. Assim, pode-se afirmar que os lotes 1 e 5 do híbrido Reinger foram, respectivamente, o mais e o menos vigoroso; o mesmo é verdadeiro para os lotes 7 e 9 do híbrido Sentinel. Os demais lotes, de ambos híbridos, apresentaram comportamento intermediário, ocupando posições diferentes de acordo com o teste utilizado. Isto, provavelmente ocorreu, porque a identificação de lotes de vigor intermediário pode sofrer variações em função da metodologia adotada, principalmente quando se tratam de lotes com germinação superior à mínima estabelecida para a comercialização (KULIK; YAKLICH, 1982; MARCOS FILHO et al., 1984).

3.2 Teste de Tetrazólio

Na hidratação das sementes de pimentão, híbrido Reinger, dos cinco lotes, na temperatura de 45°C, entre papel, os teores de água alcançados pelas sementes foram, em média, 26% após uma hora, 31% após duas horas, 33% após três horas, 37% após quatro horas e 39% após cinco horas. Nos 60 minutos iniciais, houve aumento expressivo do teor de água nas sementes, sendo que nos demais períodos a variação foi menor. O mesmo comportamento foi observado para as sementes do híbrido

Sentinel, onde os valores médios de teor de água foram, respectivamente, para cada período indicado, 28%, 32%, 36%, 39% e 41%. As sementes hidratadas apresentaram teor de água superior a 25%, suficiente para a reestruturação do sistema de membranas celulares (BEWLEY; BLACK, 1994).

Os resultados médios de viabilidade (Tabela 4) indicaram que as sementes hidratadas, dos dez lotes de pimentão, por três horas a 45°C e mantidas em solução de tetrazólio por duas horas a 45°C, permitiram classificação dos lotes semelhante à indicada pelo teste de germinação (Tabela 3). Portanto, a metodologia proposta nesta pesquisa tem a mesma eficiência para estimar a viabilidade de sementes de pimentão, que a indicada pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992) para sementes de *Capsicum* spp., com a vantagem de reduzir o tempo de hidratação em 15 horas. Além disso, apesar da pesquisa não ter incluído esse estudo, os resultados indicaram que há possibilidade de redução na concentração da solução de tetrazólio e no tempo de imersão uma vez que, as regras indicam que a concentração deve ser 0,5% ou 1% e o tempo de imersão de 24 horas. O período de três horas de hidratação a 45°C possibilitou o corte preciso das sementes, sem dificuldade; a imersão das sementes em solução de tetrazólio por duas horas resultou numa coloração uniforme das partes vitais da semente, facilitando a avaliação dos tecidos. Segundo Marcos Filho (1994), a escolha de metodologia adequada para o emprego do teste de tetrazólio em sementes se baseia na facilidade para diferenciação de tecidos viáveis e inviáveis e na capacidade de diferenciar lotes de potencial fisiológico distinto.

Na comparação geral dos dados de germinação (Tabela 3) com os de tetrazólio (1-2) (Tabela 4), para o híbrido Reinger, observa-se que houve coerência entre os dois testes, já que ambos não indicaram diferença estatística entre os lotes estudados. O mesmo aconteceu para o híbrido Sentinel, verificando-se semelhança entre os lotes estudados nos dois testes realizados.

Os dados do teste de envelhecimento acelerado, emergência de plântulas (Tabela 3) e vigor (1) (Tabela 4), confirmaram diferenças no potencial fisiológico das sementes que constituem os lotes em estudo. Para o híbrido Reinger, houve relação entre os resultados de vigor (1) com os de percentagem e velocidade de emergência de

plântulas, apontando os lotes 1 e 2 como os mais vigorosos e os lotes 3, 4 e 5 como inferiores. Já no híbrido Sentinel, a análise dos dados de vigor (1) (Tabela 4) apontou os lotes 7, 8 e 10 como superiores; o lote 9, independentemente do teste de vigor aplicado (envelhecimento acelerado, emergência de plântulas e tetrazólio), foi classificado como o de menor potencial fisiológico.

Tabela 4 - Valores médios de viabilidade (1-2) e vigor (1), no teste de tetrazólio, de dez lotes de pimentão dos híbridos Reinger e Sentinel

Híbridos	Lotes	Viabilidade (1-2)%.....	Vigor (1)
Reinger	1	93A	84 ^a
	2	94A	79AB
	3	89A	69B
	4	88A	66B
	5	88A	69B
CV (%)		7,9	7,6
Sentinel	6	90A	54AB
	7	90A	67 ^a
	8	92A	65 ^a
	9	80A	46B
	10	87A	63 ^a
CV (%)		8,0	7,5

Letras maiúsculas: comparação dentro de cada coluna (Tukey, $p \leq 0,05$).

3.3 Germinação sob diferentes temperaturas

O valor médio da germinação das sementes do híbrido Reinger não variou significativamente entre os lotes estudados, independentemente da temperatura utilizada (Tabela 5). Porém, analisando-se o desempenho dos lotes sob cada temperatura, nota-se a redução da porcentagem de sementes germinadas a 18°C, sendo nula a 15°C. Com isso, em muitos dos casos, a porcentagem de germinação indicada no rótulo da embalagem de um determinado lote de sementes, pode não corresponder à emergência das plântulas em campo obtida pelo produtor; se a temperatura do solo, na

ocasião da semeadura, não for ideal para a espécie utilizada, a germinação, geralmente, é menor do que a indicada na embalagem (NASCIMENTO, 2000).

A temperatura influenciou a germinação dos lotes do híbrido Sentinel (Tabela 5). As percentagens mais altas foram observadas quando os testes foram conduzidos a 30°C, 25°C e 21°C. Em todas as temperaturas, os lotes 7, 8 e 10 apresentaram melhor desempenho, superando a percentagem de germinação dos lotes 6 e 9. A baixa germinação desses lotes (6 e 9) provavelmente foi determinada pelo baixo vigor das sementes, detectado pelo teste de envelhecimento acelerado e o teste de tetrazólio (Tabela 3 e 4), pois de acordo com Marcos Filho (1986) e Carvalho e Nakagawa (2000) as sementes mais vigorosas germinam sob ampla faixa de temperatura, ao passo que as mais deterioradas são menos tolerantes aos desvios em relação ao nível ótimo. Devido a isso, esses dois lotes (6 e 9) apresentaram sua germinação reduzida com o decréscimo da temperatura; entretanto, para os lotes 7, 8 e 10, houve redução da percentagem de germinação apenas a partir da temperatura de 18°C.

Para todos os lotes dos dois híbridos, houve apenas protrusão da raiz primária na maioria das sementes expostas à temperatura de 15°C. Provavelmente, se fosse ampliado o período do teste, essas sementes talvez pudessem ter gerado plântulas normais, pois, segundo Carvalho e Nakagawa (2000), temperaturas inferiores à ótima tendem a reduzir a velocidade de germinação das sementes.

De uma maneira geral, notou-se que as sementes de pimentão apresentaram maior percentagem de germinação sob as temperaturas mais elevadas (30°C e 25°C), certamente por ser uma espécie originada de regiões tropicais (FILGUEIRA, 2005).

Tabela 5 - Valores médios de germinação de dez lotes de sementes de pimentão dos híbridos Reinger e Sentinel, sob cinco temperaturas distintas, no 21^o dia de contagem.

Híbridos	Lotes	Temperaturas (°C)				
		30	25	21	18	15
		%				
Reinger	1	98Aa	92Aa	91Aa	64Ab	00Ac
	2	85Aa	94Aa	87Aa	71Ab	00Ac
	3	88Aa	92Aa	95Aa	67Ab	00Ac
	4	95Aa	91Aa	95Aa	70Ab	00Ac
	5	93Aa	96Aa	93Aa	62Ab	00Ac
CV(%)				10,4		
Sentinel	6	73Ba	61Bab	48Cb	18Cc	00Ad
	7	98Aa	100Aa	95Aa	76Ab	00Ac
	8	99Aa	98Aa	80ABb	64ABb	00Ac
	9	68Ba	63Bb	67BCa	18Cb	00Ac
	10	98Aa	98Aa	98Aa	48Bb	00Ac
CV(%)				12,6		

Comparação de médias na coluna (letras maiúsculas) e na linha (letras minúsculas), (Tukey, $p \leq 0,05$).

Para o híbrido Reinger, a germinação sob diferentes temperaturas não possibilitou a diferenciação dos lotes, independentemente da temperatura utilizada (Tabela 5); porém, quando observam-se os valores médios do índice de velocidade de germinação sob diferentes temperaturas (Tabela 6), pode-se notar que a velocidade de germinação dos lotes variou conforme a temperatura utilizada. As temperaturas que proporcionaram maior velocidade do processo foram 30°C e 25°C; em ambas foi detectada maior velocidade de germinação do lote 1, não deferindo estatisticamente dos lotes 2 e 4; a germinação do lote 5 foi a mais lenta.

Apesar da germinação sob a temperatura de 21°C resultar em valores relativamente altos (Tabela 5), ao examinar o IVG (Tabela 6), a diminuição de 9°C na temperatura (30°C – 21°C), provocou redução de, aproximadamente, 50% na velocidade de germinação das sementes; assim, nessa temperatura a germinação foi significativamente mais lenta que a 30°C.

Tabela 6 - Valores médios do índice de velocidade de germinação (IVG) de dez lotes de sementes de pimentão, híbridos Reinger e Sentinel, sob cinco temperaturas distintas, até o 21º dia de contagem

Híbridos	Lotes	Temperaturas (°C)				
		30	25	21	18	15
Reinger	1	2,37Aa	2,10Ab	1,44Ac	0,84Ad	0,00Ae
	2	2,22ABa	1,90ABb	1,50Ac	0,98Ad	0,00Ae
	3	2,06Ba	1,85Ba	1,44Ab	0,87Ac	0,00Ad
	4	2,23ABa	1,93ABb	1,46Ac	0,91Ad	0,00Ae
	5	1,54Ca	1,14Cb	0,82Bc	0,80Ad	0,00Ad
CV(%)				8,2		
Sentinel	6	1,88Ba	1,70Ba	1,00Cb	0,80ABb	0,00Ac
	7	2,40Aa	2,02Aa	1,45ABc	1,10Ad	0,00Ae
	8	2,18ABa	1,99ABa	1,21BCb	0,55BCc	0,00Ad
	9	1,07Ca	1,07Ca	0,93Ca	0,32Cb	0,00Ab
	10	2,12ABa	2,03Aa	1,66Ab	0,57BCc	0,00Ad
CV(%)				12,5		

Comparação de médias na coluna (letras maiúsculas) e na linha (letras minúsculas) (Tukey, $p \leq 0,05$).

Quando a germinação foi conduzida a 18°C, todos os lotes do híbrido Reinger apresentaram velocidade de germinação semelhante, sendo que nessa temperatura a velocidade foi reduzida em, aproximadamente, 75% em relação à verificada a 30°C. A 15°C, as sementes apenas apresentaram protrusão da raiz primária e, portanto, não foi computada a velocidade de formação de plântulas normais; sob o ponto de vista de um tecnologista de sementes, apenas essa protrusão não é suficiente para avaliar o potencial para o estabelecimento de uma plântula em campo, sendo necessário o exame de suas partes constituintes (MARCOS FILHO, 2005).

No híbrido Sentinel, os lotes, também, apresentaram os maiores índices de velocidade de germinação sob a influência de 25°C e 30°C. Nas duas temperaturas, os lotes apresentaram desempenhos semelhantes; o lote 7 destacou-se com o maior índice de velocidade de germinação, não diferindo significativamente dos lotes 8 e 10; o lote 9 apresentou o pior desempenho. Nesse mesmo sentido, Bierhuizen et al. (1978) concluíram que as sementes de pimentão germinaram mais rapidamente quando semeadas sob temperaturas entre 23°C e 34°C.

A redução da germinação, observada nas temperaturas inferiores a 25°C (Tabela 5), coincidiu com o declínio da velocidade do processo (Tabela 6); assim, a partir dos 21°C, a velocidade de germinação dos lotes decresceu, não prejudicando a percentagem total de germinação apenas dos lotes 7, 8 e 10 (Tabela 5), provavelmente porque eram mais vigorosos (Tabela 3), com os maiores índices de velocidade de germinação. Porém, a percentagem germinação dos lotes foi extremamente baixa nas avaliações realizadas até o 14º dia, pois a germinação a 21°C somente teve início a partir do 12º dia após a instalação do teste.

Considerando a germinação dos lotes a 18°C, houve diminuição mais acentuada da velocidade nos lotes 8, 9 e 10; apesar do lote 6 apresentar índice de velocidade de germinação mais alto (Tabela 6), a percentagem foi uma das mais baixas (Tabela 5), isto talvez tenha ocorrido porque as sementes desse lote iniciaram sua germinação no 14º dia após a instalação do teste, dois dias antes dos lotes 8, 9, e 10, porém geraram plântulas normais apenas até o 18º dia, ao ponto que as sementes dos outros lotes apresentaram plântulas normais até o 21º dia do teste. A velocidade de germinação foi nula a 15°C, mesmo porque a redução da temperatura promove efeitos sobre a velocidade de embebição e a mobilização de reservas, provocando o decréscimo da velocidade de germinação (MARCOS FILHO, 2005). Diferentemente, Bierhuinzen et al. (1978), analisando a germinação de sementes de pimentão a 15°C, verificaram percentagem de germinação próxima a 80%, aproximadamente, 14 dias após a instalação do teste. Provavelmente, o genótipo do cultivar de pimentão, utilizado pelos autores, influenciou na tolerância das sementes a temperaturas mais baixas durante a germinação.

Estes resultados mostraram que as sementes de pimentão germinaram rapidamente a 25°C e 30°C, sendo limitante a partir dos 21°C; as temperaturas abaixo desse limite promoveram germinação lenta, porque o processo germinativo envolve uma série de atividades metabólicas baseadas em reações químicas que dependem da atividade de sistemas enzimáticos complexos, cuja eficiência é diretamente relacionada à temperatura (MARCOS FILHO, 1986).

De um modo geral, o lote 1 do híbrido Reinger e o lote 7 do híbrido Sentinel, classificados como os mais vigorosos (Tabela 3), apresentaram melhor desempenho sob variações de temperatura (Tabela 6); o lote 5 do híbrido Reinger e lote 9 do híbrido Sentinel, classificados como os piores (Tabela 3), tiveram desempenho inferior aos demais lotes sob variações de temperaturas (Tabela 6).

Foram obtidas imagens fotográficas das plântulas em desenvolvimento, dos dez lotes de sementes dos híbridos Reinger e Sentinel, em cada temperatura estudada, aos 14 e 21 dias após semeadura em mesa termogradiante. Em cada Figura (4 a 13), as temperaturas decrescem da esquerda para a direita.

Figura 4 - Desenvolvimento das plântulas do lote 1 aos 14 e 21 dias após a semeadura sob diferentes temperaturas, em mesa termogradiante.

Figura 5 - Desenvolvimento das plântulas do lote 2 aos 14 e 21 dias após a semeadura sob diferentes temperaturas, em mesa termogradiante.

Figura 6 - Desenvolvimento das plântulas do lote 3 aos 14 e 21 dias após a semeadura sob diferentes temperaturas, em mesa termogradeiente.

Figura 7 - Desenvolvimento das plântulas do lote 4 aos 14 e 21 dias após a semeadura sob diferentes temperaturas, em mesa termogradeiente.

Figura 8 - Desenvolvimento das plântulas do lote 5 aos 14 e 21 dias após a semeadura sob diferentes temperaturas, em mesa termogradeiente.

Figura 9 - Desenvolvimento das plântulas do lote 6 aos 14 e 21 dias após a semeadura sob diferentes temperaturas, em mesa termogradiante.

Figura 10 - Desenvolvimento das plântulas do lote 7 aos 14 e 21 dias após a semeadura sob diferentes temperaturas, em mesa termogradiante.

Figura 11 - Desenvolvimento das plântulas do lote 8 aos 14 e 21 dias após a semeadura sob diferentes temperaturas, em mesa termogradiante.

Figura 12 - Desenvolvimento das plântulas do lote 9 aos 14 e 21 dias após a semeadura sob diferentes temperaturas, em mesa termogradiente.

Figura 13 - Desenvolvimento das plântulas do lote 10 aos 14 e 21 dias após a semeadura sob diferentes temperaturas, em mesa termogradiente.

Em todas as figuras, nota-se que, até o 14º dia de avaliação, a maioria das sementes de pimentão gerou plântulas normais, sob as temperaturas de 30°C e 25°C. Apesar disso, nessas condições, para o híbrido Reinger, o crescimento das plântulas não foi similar para todos os lotes. Nos lotes 4 (Figura 7) e 5 (Figura 8), verifica-se que, no 14º dia, as plântulas eram menores e suas raízes pouco desenvolvidas, não tendo, praticamente, a formação de raízes secundárias. Esse atraso foi compensado até o 21º dia de avaliação, quando as plântulas encontravam-se maiores e com raízes bem desenvolvidas; esse fato não foi verdadeiro somente para as plântulas do lote 4,

mantidas sob a temperatura de 30°C, pois seu tamanho foi menor do que as demais. Isso mostrou que nem sempre a temperatura que permitiu uma germinação mais rápida (Tabela 6), foi aquela que proporcionou melhor desenvolvimento da plântula.

Aos 14 dias, as temperaturas inferiores a 25°C não possibilitaram o desenvolvimento pleno das plântulas; porém, a 21°C, as plântulas se encontravam em desenvolvimento mais avançado, sendo que além da protrusão da raiz primária havia o alongamento do hipocótilo. Na mesma temperatura, os lotes 1 e 4 apresentaram plântulas desenvolvidas, faltando apenas a liberação do tegumento. No 21º dia de avaliação, sob essa mesma temperatura, as plântulas encontravam-se com crescimento similar às influenciadas pelas temperaturas superiores; o mesmo não ocorreu para os lotes 5 (Figura 8) e 9 (Figura 12), provavelmente, por serem os menos vigorosos (Tabela 3), apresentando os menores índices de velocidade de germinação (Tabela 6).

As sementes do híbrido Reinger resultaram, na sua maioria, sob a temperatura de 18°C até o 21º dia de avaliação, em plântulas normais (Figuras 4 a 8). O mesmo ocorreu somente para os lotes 7 (Figura 10) e 8 (Figura 11) do híbrido Sentinel. Devido a isso, verifica-se que híbridos de uma mesma espécie apresentam comportamento diferenciado quando submetidos a diferentes temperaturas, indicando a influência do genótipo sobre o processo de germinação.

Sob a temperatura de 15°C, do 14º ao 21º dia de avaliação, houve apenas protrusão e alongamento da raiz primária. Se prolongado o período de avaliação, possivelmente haveria a formação de plântulas normais, já que nos lotes 4 (Figura 7) e 7 (Figura 10), por exemplo, houve a formação de apenas uma plântula normal nesse período.

Um fato a ser considerado, sob as temperaturas de 25°C e 30°C, foi que os lotes apresentaram uniformidade de germinação, sendo que nas outras temperaturas não houve esse padrão. Isso não seria interessante para um produtor, ainda mais quando a semente utilizada é de um híbrido, devido ao alto custo (NASCIMENTO, 2000). A percentagem de germinação em laboratório nem sempre proporciona informações consistentes sobre o potencial de estabelecimento de plântulas em campo, mas as

avaliações conduzidas em mesa termogradiante podem estimar o provável comportamento dos lotes perante temperaturas adversas.

3.4 Teste de raios X

Previamente à realização do teste de raios X, as sementes foram umedecidas pelo método da atmosfera úmida (ROSSETO et al., 1995), procurando obter contraste mais evidente e melhor visualização da estrutura das sementes radiografadas. Avaliaram-se preliminarmente sementes com 12%, 15% e 20% de água; foi verificado que, mesmo neste teor de água, não há ativação significativa do processo preparatório essencial à germinação, de modo que não ocorreu alteração significativa na condição inicial das sementes. Optou-se radiografar as sementes com grau de umidade de 12%, pois este foi o mais próximo do nível inicial, permitindo que a estrutura da semente se tornasse suficientemente visível (Figura 14) sem, no entanto, promover alterações drásticas em seu metabolismo.

Figura 14 - Radiografias de sementes com teores de água de 6%, 12%, 15% e 20%

O período de exposição das sementes à radiação com intensidade de 10kV por 260 segundos possibilitou nítida visualização da estrutura das sementes de pimentão. As outras intensidades utilizadas na pesquisa (13kV, 15kV, 25kV e 35kV), independentemente do período de exposição, resultaram em imagens escuras, não permitindo visualizar adequadamente as partes da semente. As regulagens do aparelho de raios X dependem da espessura, densidade, composição da semente e do tipo de aparelho utilizado (ISTA, 1996).

O conjunto de tonalidades claras e escuras observado em imagens radiográficas das sementes é definido em função do nível de absorção dos raios X em regiões

distintas nas sementes (SIMAK, 1980; ISTA, 1993). Portanto sementes sem a cavidade interna completamente preenchida com tecido embrionário e endosperma ou com tecido menos denso, quando radiografadas, resultaram em imagens com manchas escuras, pois não apresentavam resistência à passagem dos raios X, como mostra a Figura 15 - A; as sementes totalmente preenchidas forneceram imagens claras, pois apresentavam resistência à radiação, como mostra na Figura 15 - B. Desta maneira, ficou evidente que o teste de raios X possibilitou a visualização nítida da estrutura das sementes de pimentão (Figura 15 - A e B).

Os aspectos morfológicos das sementes, possivelmente associados à viabilidade, podem ser avaliados pelo teste de raios X (COPELAND; McDONALD, 1985), sendo que para a confirmação dos resultados obtidos, é necessário relacioná-los com a germinação ou morfologia das plântulas (SIMAK, 1991). Para tanto, os critérios utilizados para classificar anormalidades morfológicas nas sementes de pimentão, foram basicamente os seguintes: embriões danificados (Figura 16), embriões mal formados (Figura 17), início de retração ou “descolamento” parcial do endosperma (Figura 18) e espaços entre o eixo embrionário e o endosperma (Figura 19). Os tecidos menos densos correspondem a áreas manchadas, provavelmente associadas à ocorrência de danos.

Figura 15 - Imagens radiográficas de sementes de pimentão com a cavidade embrionária parcialmente preenchida (A) e totalmente preenchida (B).

ct – cotilédones; hr – eixo hipocótilo-radícula.

Figura 16 - Imagens radiográficas de embriões danificados (C e D) de sementes de pimentão

- 1 – tecido cotiledonar menos denso (região escura no eixo embrionário);
- 2 – tecido radicular menos denso (região escura no eixo embrionário);
- 3 – cotilédones quebrados.

Figura 17 - Imagens radiográficas de embriões mal formados (E, F e G) de sementes de pimentão

- 1 – sem diferenciação das folhas cotiledonares;
- 2 – espaço entre o eixo embrionário e o endosperma (área escura).

Figura 18 - Imagens radiográficas indicando a retração e “descolamento” do endosperma de sementes de pimentão (H e I)

1 – retração do endosperma (área escura entre o tegumento e o endosperma);

2 – início de retração do endosperma (área escura entre o tegumento e o endosperma).

Figura 19 - Imagens radiográficas de sementes mostrando espaços entre o endosperma e o eixo embrionário (J e K)

1 – espaços entre o eixo embrionário e o endosperma (área escura).

3.4.1 Híbrido Reinger

Nos cinco lotes de sementes do híbrido Reinger não foi detectada a presença de sementes vazias e com proporção embrião/cavidade embrionária menor que 50% (Tabela 7). Esses resultados já eram esperados, pois esta pesquisa foi conduzida com sementes híbridas de potencial fisiológico elevado, cuja produção é altamente tecnificada. Conseqüentemente, a porcentagem de sementes em que a proporção embrião+endosperma/cavidade interna da semente era de 50-75% foi muito baixa, variando de 5% a 6%.

Tabela 7 - Percentagem de sementes de pimentão agrupadas nas classes determinadas pelo teste de raios X, de cinco lotes do híbrido Reinger

Lotes	Proporção embrião+endosperma/cavidade interna (%)				
	0	< 50	50-75	100	
				Normal	Anormal
1	0	0	5	95	0
2	0	0	5	91	4
3	0	0	6	88	6
4	0	0	5	93	2
5	0	0	5	91	4

De um modo geral, os embriões considerados completamente desenvolvidos (proporção embrião+endosperma/cavidade embrionária de 100%), classificados como normais pela avaliação do teste de raios X (Tabela 7), corresponderam à percentagem de plântulas normais do teste de germinação (Tabela 8); uma pequena quantidade dessas sementes, de cada lote resultou em plântulas anormais ou em sementes não germinadas (Figura 20 – A, A', B, B', C e C'). Esse fato pode ter ocorrido quando, durante a germinação, as sementes permanecem expostas a fatores prejudiciais como a ação de microorganismos; devido à presença de sementes mortas por causas naturais e de sementes em estádios avançados de deterioração (SWAMINATHAN; KAMRA, 1961; VAN DER BURG et al., 1994). Dessa maneira, a classificação das sementes completamente cheias em morfologicamente normais, pelo teste de raios X, pode ser questionável.

As sementes que possuíam proporção embrião+endosperma/cavidade interna de 50-75% geraram plântulas anormais ou não germinaram, indicando que o “descolamento” do endosperma prejudicou a germinação das sementes (Figura 21). Analisando-se a semente radiografada “A” (Figura 21), a retração do endosperma juntamente com o eixo embrionário danificado, pela presença de tecido menos denso, contribuíram para a morte da semente (Figura 21 – A’). A semente radiografada “B” (Figura 21) apresenta apenas retração do endosperma, com eixo embrionário intacto, fatos que influenciaram a formação de uma plântula anormal (Figura 21 – B’) após o teste de germinação. Isso significa que a retração do endosperma pode indicar forte indício de que esteja associada à formação de plântulas anormais; observou-se que, excepcionalmente, algumas dessas sementes deram origem a plântulas normais, mas quanto maior a área de retração, menor o tamanho da plântula gerada (Figura 22 – A, A’, B e B’). Nas sementes que possuíam espaço entre o endosperma e o embrião, observou-se que quanto maior o espaço maior foi a incidência de plântulas anormais (Figura 23 – A e A’); em sementes com espaços menores entre o embrião e o endosperma apresentaram, na sua maioria, plântulas normais, no teste de germinação (Figura 23 – B e B’). Nesse mesmo contexto, utilizando sementes de pimentão, Dell’Aquila (2007) notou que sementes com espaços menores que 2,7% entre o eixo embrionário e o endosperma apresentaram baixa taxa de plântulas anormais.

As sementes completamente cheias (proporção embrião+endosperma/cavidade interna de 100%) e classificadas como anormais pelo teste de raios X (Tabela 7), resultaram, apenas, em plântulas anormais e sementes não germinadas no teste de germinação (Figura 24 – A, A’, B e B’); o teste de raios X mostrou-se eficiente na classificação das sementes, do híbrido Reinger, em anormais. A semente radiografada “A” (Figura 24) apresenta uma trinca nos cotilédones; isso fez com que não houvesse o desenvolvimento da parte aérea da plântula e, conseqüentemente o tegumento da semente manteve-se preso à plântula (Figura 24 – A’); a semente radiografada “B” apresentou eixo embrionário danificado, com tecido menos denso por toda sua extensão, impossibilitando o desenvolvimento de uma plântula no teste de germinação (Figura 24 – B’).

Tabela 8 - Percentagem de plântulas normais (PN), anormais (PA) e sementes não germinadas (SNG) de cada proporção embrião+endosperma/cavidade interna, detectada pelo teste de raios X em cinco lotes de sementes do pimentão híbrido Reinger

Lotes	Proporção embrião+endosperma/cavidade interna (%)						Total
	Categoria	0	< 50	50-75	100		
					Normal	Anormal	
1	PN	00	00	02	89	00	91
	PA	00	00	02	06	00	08
	SNG	00	00	01	00	00	01
2	PN	00	00	01	84	00	85
	PA	00	00	04	05	03	13
	SNG	00	00	00	01	01	02
3	PN	00	00	01	82	00	83
	PA	00	00	03	06	03	12
	SNG	00	00	02	00	03	05
4	PN	00	00	02	84	00	86
	PA	00	00	02	08	02	12
	SNG	00	00	01	01	00	02
5	PN	00	00	00	85	00	85
	PA	00	00	04	06	03	13
	SNG	00	00	01	00	01	02

Figura 20 - Imagens radiográficas de sementes de pimentão da classe 100% (proporção embrião+endosperma/cavidade interna) e normais (A, B e C), e as respectivas imagens fotográficas (A', B' e C') da plântula normal, anormal e da semente não germinada resultantes do teste de germinação

Figura 21 - Imagens radiográficas (A e B) de sementes da classe 50-75% (proporção embrião+endosperma/cavidade interna) e respectivas imagens fotográficas (A' e B') da semente não germinada e plântula anormal resultantes do teste de germinação

1 – retração do endosperma (área escura entre o tegumento e o endosperma);

2 – tecido menos denso no eixo hipocótilo-radícula, identificado pelas manchas escuras.

Figura 22 - Imagens radiográficas (A e B) de sementes da classe 50-75% (proporção embrião+endosperma/cavidade interna) e respectivas imagens fotográficas (A' e B') das plântulas normais resultantes do teste de germinação

1 – maior retração (área escura entre o tegumento e o endosperma) do endosperma (A), menor a plântula formada (A');

2 – menor retração (área escura entre o tegumento e o endosperma) do endosperma (B), maior a plântula formada (B').

Figura 23 - Imagens radiográficas (A e B) de sementes da classe 50-75% (proporção embrião+endosperma/cavidade interna) e respectivas imagens fotográficas (A' e B') das plântulas anormal e normal resultantes do teste de germinação

1 – maior espaço (área escura entre o endosperma e o embrião) (A), maior incidência de plântulas anormais (A');

2 – menor espaço (área escura entre o endosperma e o embrião) (B), maior incidência de plântulas normais (B').

Figura 24 - Imagens radiográficas de sementes de pimentão da classe 100% (proporção embrião+endosperma/cavidade interna) e anormais (A e B), e as respectivas imagens fotográficas (A' e B') da plântula anormal e semente não germinada resultantes do teste de germinação

1 – trinca nos tecidos cotiledonares;

2 – tecido menos denso no eixo hipocótilo-radícula, identificado pelas manchas escuras.

3.4.2 Híbrido Sentinel

Os lotes do híbrido Sentinel (Tabela 9), também não apresentaram sementes vazias e com proporção embrião/cavidade embrionária menor que 50%. A quantidade de sementes na classe 50-75% foi baixa, variando de 3% a 12%.

As sementes cheias (100%), classificadas como normais pelo teste de raios X (Tabela 9), apresentaram-se em menor quantidade nos lotes 6 e 9; fato similar verificado em testes de vigor (Tabela 3 e 4) que indicaram esses lotes como os de pior desempenho. Esses lotes também apresentaram maior taxa de sementes da classe 50-75% (Tabela 9).

Tabela 9 - Percentagem de sementes de pimentão agrupadas nas classes determinadas pelo teste de raios X, de cinco lotes do híbrido Sentinel

Lotes	Proporção embrião+endosperma/cavidade interna (%)				
	0	< 50	50-75	100	
				Normal	Anormal
6	0	00	11	85	04
7	0	00	05	93	02
8	0	00	03	95	02
9	0	00	12	81	07
10	0	00	03	95	02

A classificação das sementes através do teste de raios X (Tabela 9) e os resultados obtidos no teste de germinação (Tabela 10) proporcionaram informações semelhantes para os lotes 7, 8 e 10. Os lotes 6 e 9 apresentaram muitas sementes cheias (100%) e consideradas normais, mas que geraram plântulas anormais e sementes mortas. Segundo Burg et al. (1994), sementes que mostram-se normais no teste de raios X e fracassam no teste de germinação, demonstram esse comportamento devido a uma variação natural, possivelmente pela presença de microorganismos e sementes fisiologicamente danificadas.

Na Tabela 10, as sementes da classe 50-75% apresentaram plântulas normais, anormais e sementes mortas. Isso mostra que diferentes proporções de espaços entre

o tegumento e o endosperma e/ou entre o endosperma e o embrião, podem ou não prejudicar a germinação das sementes desse híbrido. Porém, quanto maior foi o espaço entre o tegumento e o endosperma da semente, menor foi a plântula gerada e, quanto maior o espaço entre o embrião e o endosperma, maior a incidência de plântulas anormais e sementes não germinadas no teste de germinação. Trabalhando com sementes de tomate, Burg et al. (1994) observaram que sementes que possuíam espaço excessivo entre o endosperma e o embrião, raramente conseguiam se desenvolver e formar mudas para transplante.

As sementes cheias (100%) e anormais (Figura 25), pelo teste de raios X (Tabela 9), de todos os lotes, apenas resultaram plântulas anormais e sementes não germinadas. Isso mostra que o teste de raios X foi eficiente na caracterização das sementes anormais desse híbrido. A semente radiografada “A” (Figura 25) apresenta tecido radicular danificado, com uma mancha escura nessa região, por causa do tecido menos denso; isso fez com que não houvesse o desenvolvimento do sistema radicular da plântula (Figura 25 – A’); a semente radiografada “B” apresentou má formação do eixo embrionário, não tendo as folhas cotiledonares diferenciadas; conseqüentemente não houve formação da parte aérea da plântula, portanto o tegumento manteve-se preso à plântula (Figura 25 – B’).

De uma maneira geral, o teste de raios X foi eficiente para detectar danos e anormalidades nas sementes de pimentão dos dois híbridos, relacionando-se com o teste de germinação. A relação do teste de raios X com o teste de germinação também foi verificada em sementes de tomate (VAN DER BURG et al., 1994), milho (CÍCERO et al., 1998), cipreste italiano (BATTISTI et al., 2000), canafístula (OLIVEIRA et al., 2003), aroeira-branca (MACHADO; CÍCERO, 2003) e pimentão (DELL’AQUILA, 2007).

Tabela 10 - Percentagem de plântulas normais (PN), anormais (PA) e sementes não germinadas (SNG) de cada proporção embrião+endosperma/cavidade interna, detectada pelo teste de raios X em cinco lotes de sementes do pimentão híbrido Sentinel

Lotes	Proporção embrião+endosperma/cavidade interna (%)						Total
	Categoria	0	< 50	50-75	100		
					N	A	
6	PN	00	00	07	66	00	73
	PA	00	00	03	14	05	22
	SNG	00	00	02	01	02	05
7	PN	00	00	01	89	00	90
	PA	00	00	02	03	01	06
	SNG	00	00	02	01	01	04
8	PN	00	00	02	90	00	92
	PA	00	00	00	05	02	07
	SNG	00	00	01	00	00	01
9	PN	00	00	05	60	00	65
	PA	00	00	03	14	03	20
	SNG	00	00	04	10	01	15
10	PN	00	00	01	88	00	89
	PA	00	00	01	07	02	10
	SNG	00	00	01	00	00	01

Figura 25. Imagens radiográficas de sementes da classe 100% (proporção embrião+endosperma/cavidade interna) e anormais (A e B) e respectivas imagens fotográficas das plântulas anormais (A' e B'), resultantes do teste de germinação.
1 – tecido radicular menos denso, caracterizado pela mancha escura na região da radícula;
2 – sem diferenciação das folhas cotiledonares.

4 CONCLUSÕES

A análise dos dados e a interpretação dos resultados do presente trabalho permitiram concluir:

- a) os testes de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl e de tetrazólio (3h/45°C para embebição e 2h/45°C para coloração) são considerados adequados para a avaliação do potencial fisiológico de sementes de pimentão e, os lotes vigorosos apresentam bom desempenho sob variações de temperatura, na germinação.
- b) o teste de raios X permite a identificação de danos e anormalidades associados à germinação de sementes de pimentão.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, R.N.B. de; SANTOS, D.S.B. dos; SANTOS FILHO, B.G. dos; MELLO, V.D.C. Testes de germinação e de tetrazólio em sementes de cenoura armazenadas por diferentes períodos. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 18, p. 108-116, 1996.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. The Seed Vigor Test Committee. **Seed vigor testing handbook**. Lincoln, 1983. 88 p. (Contribution, 32).
- BARROS, D.I.; DIAS, D.C.F.S.; BHERING, M.C.; DIAS, L.A.S.; ARAÚJO, E.F. Uso do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de abobrinha. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 27, n. 2, p. 165-171, 2005.
- BATTISTI, A.; CANTINI, R.; FECI, E.; FRIGIMELICA, G.; GUIDO, M.; ROQUES, A. Detection and evaluation of seed damage of cypress, *Cupressus semprevirens* L. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 28, n. 3, p. 729-738, 2000.
- BENNETT, M.A. Determination and standardization challenges of vigor tests of vegetable seeds. **Informativo ABRATES**, Curitiba, v. 11, n. 3, p. 58-62, 2001.
- BERTAGNOLLI, C.M.; MENEZES, N.L.; STORCK, L.; SANTOS, O.S.; PASQUALLI, L.L. Desempenho de sementes nuas e peletizadas de alface (*Lactuca sativa* L.) submetidas a estresses hídrico e térmico. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 25, n. 1, p. 7-13, 2003.
- BEWLEY, J.D. & BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination: viability, dormancy and environmental control**. Berlin: Springer-Verlag, 1982. v.2, 375p.
- _____. **Seeds: physiology of development and germination**. 2nd ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.
- BHERING, M.C.; DIAS, D.C.F.S.; BARROS, D.I. Adequação da metodologia do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de melancia. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 27, n. 1, p.176-182, 2005.
- BHERING, M.C.; SILVA, R.F.; ALVARENGA, E.M.; DIAS, D.C.F.S.; PENA, M.F. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de feijão. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap. 8.3, p. 1-10.
- BIERHUIZEN, J.F.; WAGENVOORT, W.A.; NILWIK, H. Analysis of the relationship between temperature and germination of sweet pepper. **Acta Horticulturae**, Sutton Boningto, n. 83, p. 195-199, 1978.
- BINO, R.J.; AARTSE, J.W.; VAN DER BURG, W.J. Non destructive X-ray of Arabidopsis embryo mutants. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 3, p. 167-170, 1993.

BITTENCOURT, M.L.C. **Qualidade das sementes e avaliação das progênes de meios-irmãos de cenoura (*Daucus carota* L.) 'Brasília'**. 1991. 77 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1991.

BITTENCOURT, S.R.M.; VIEIRA, R.D. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de amendoim. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap. 8.2, p. 1-8.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. 365 p.

CAMARGO, A.M.M.P.; CAMARGO FILHO, W.P. Área cultivada e regiões produtoras de hortaliças em São Paulo, 1995/96. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 38., 1998, Petrolina. **Resumos...** Petrolina: EMBRAPA; SOB, 1998. p. 33.

CAMPOS, V.C.; TILLMANN, M.A.A. Avaliação da metodologia do teste de germinação para sementes de tomate. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 3, n. 1, p. 37-42, 1997.

CARNEIRO, J.W.P.; GUEDES, T.A. Influência da temperatura no desempenho germinativo de sementes de cenoura (*Daucus carota* L.), avaliada pela função de distribuição de Weibull. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 14, n. 2, p. 207-213, 1992.

CARVALHO, M.L.M.; VAN AELST, A.C.; VAN ECK, J.W.; HOEKSTRA, F.A. Pre-harvest stress cracks in maize (*Zea mays* L.) kernels as characterized by visual, X-ray and low temperature scanning electron microscopical analysis: effect on kernel quality. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 9, n. 3, p. 227-236, 1999.

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

CASAROLI, D.; GARCIA, D.C.; MENEZES, N.L. de; MUNIZ, M.F.B.; BAHRY, C.A. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de abóbora. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v. 13, n. 2, p. 97-107, 2006.

CÍCERO, S.M.; VAN DER HEIJDEN, G.W.A.M.; VAN DER BURG, W.J.; BINO, R.J. Evaluation of mechanical damage in seeds of maize (*Zea mays* L.) by X-ray and digital imaging. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 26, n. 3, p. 603-612, 1998.

COPELAND, L.O. **Principles of seed science and technology**. Minneapolis: Burges Publ., 1976. 369 p.

COPELAND, L.O.; McDONALD, M.B. **Principles of seed science and technology**. 2nd ed. New York: Macmillan, 1985. 321 p.

COSTA, N.P.; FRANÇA NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; HENNING, A.A.; PEREIRA, J.E. Avaliação de metodologia alternativa para o teste de tetrazólio para sementes de soja. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, n. 2, p. 302-312, 1998.

DELL'AQUILA, A. Pepper seed germination assessed by combined X-radiography and computer-aided imaging analysis. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 51, n. 4, p. 777-781, 2007.

DELOUCHE, J.C. Standardization of vigor tests. **Journal of Seed Technology**, Zürich, v. 1, n. 2, p. 75-85, 1976.

DELOUCHE, J.C.; BASKIN, C.C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 1, n. 2, p. 427-452, 1973.

DIAS, D.C.S.F., MARCOS FILHO, J. Testes de vigor baseados na permeabilidade das membranas celulares: II. Lixiviação de potássio. **Informativo ABRATES**, Brasília, v. 5, n. 1, p. 37-41, 1995.

DIAS, M.C.L.L.; BARROS, A.S.R. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de milho. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap. 8.4, p. 1-10.

EICHELBERGER, L.; MORAES, D.M. Preparo de sementes de quiabo (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) para o teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 23, n. 1, p. 154-158, 2001.

EIRA, M.T.S.; MARCOS FILHO, J. Condicionamento osmótico de sementes de alface. I. Efeitos sobre a germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 12, n. 1, p. 9-27, 1990.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2003. 412 p.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. **AGRIANUAL 2003: anuário da agricultura brasileira**. São Paulo, 2003. 544 p.

FRANÇA NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; COSTA, N.P. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999a. cap. 8.5. p. 1-28.

_____. Testes de tetrazólio para a determinação do vigor de sementes. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES. 1999b. cap. 8. p. 1-7.

FRANÇA-NETO, J.B.; PEREIRA, L.A.G.; COSTA, N.P. **Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA, CNPSOJA, 1986. 35 p.

GLOBIRSON, D. The quality of lettuce seed harvested at different times after anthesis. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 9, p. 861-866, 1981.

GRABE, D.F. **Manual do teste de tetrazólio em sementes**. Brasília: AGIPLAN, 1976. 85 p.

HAMPTON, J.G. What is seed quality? **Seed Science and Technology**, v.30, n.1, p. 1-10, 2002.

HAMPTON, J.G.; COOLBEAR, P. Potencial versus actual seed performance can vigour testing provide an answer? **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 18, n. 2, p. 215-228, 1990.

HAMPTON, J.G.; TEKRONY, D.M. Controlled deterioration test. In: _____. (Ed.). **Handbook of vigour test methods**. Zürich: ISTA. 1995. 117 p.

HEIDECKER, W. Stress and seed germination: an agronomic view. In: KHAN, W. **The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination**. Amsterdam. Elsevier, 1977. p. 237 – 282.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. International rules for testing seed. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 21, 1993. 363 p. Supplement.

_____. International rules for testing seed. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 13, n. 2, p. 300-520, 1995.

_____. International rules for seed testing. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 24, 1996. 336 p. Supplement.

JIANHUA, Z.; McDONALD, M.B. The saturated salt accelerated aging test for small-seeded crops. **Seed Science and Technology**, v.25, p.123-131, 1996.

KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. 164 p.

KULIK, M.M.; YAKLICH, R.W. Evaluation for vigor tests in soybean seeds relationship of accelerated aging, cold, sand bench and speed of germination tests to field performance. **Crop Science**, Madison, v. 22, n. 4, p. 776-770, 1982.

LIMA, C.B.; BELLETTINI, N.M.T.; JANANI, J.K.; SILVA, A.S.; AMADOR, T.S.; VIEIRA, M.A.V.; CHEIRUBIM, A.P. Metodologias do teste de tetrazólio para sementes de melão (*Cucumis melo* L.). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 744-746, 2007.

LOEFFLER, T.M.; TEKRONY, D.M.; EGLI, D.B. The bulk conductivity test as an indicator of soybean seed quality. **Journal of Seed Technology**, Lansing, v. 12, p. 37-53, 1988.

MACHADO, C.F.; CÍCERO, S.M. Aroeira-branca' [*Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. - Anacardiaceae] seed quality evaluation by the X-ray test. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.60, n.2, p. 393-397, 2003.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

MARCOS-FILHO, J. Germinação de sementes. In: CÍCERO, S.M.; MARCOS-FILHO, J.; SILVA, W.S. **Atualização em produção de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1986. p. 11-39.

_____. Utilização de testes de vigor em programas de controle de qualidade de sementes. **Informativo Abrates**, Londrina, v. 4, n. 2, p. 33-35, 1994.

_____. A avaliação da qualidade de sementes de soja. In: CÂMARA, G.M.S. (Coord.). **Soja: tecnologia de produção**. Piracicaba: Ed. Publique, 1998. p. 206-243.

_____. Testes de vigor: importância e utilização. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999a. cap. 1, p. 1-21.

_____. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999b. cap. 3, p. 1-24.

_____. Pesquisa sobre vigor de sementes de hortaliças. **Informativo ABRATES**, Curitiba, v. 11, n. 3, p. 63-75, 2001.

_____. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495 p.

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

MARCOS FILHO, J.; PESCARIN, H.M.C.; KOMATSU, Y.H.; DEMÉTRIO, C.G.B.; FANCELLI, A.L. Testes para a avaliação do vigor de sementes de soja e suas relações com a emergência de plântulas no campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 5, p. 605-613, 1984.

MARTINS, C.C.; MARTINELLI-SENE, A.; CASTRO, M.M.; NAKAGAWA, J.; CAVARIANI, C. Comparação entre métodos para avaliação do vigor de lotes de sementes de couve-brócolos (*Brassica oleracea* L. var. *italica* PLENK). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 24, n. 2, p. 96-101, 2002.

MARTINS, L.; SPINOLA, M.C.M.; CALIARI, M.F.; TESSARIOLI NETO, J. Comparação entre métodos para avaliação do vigor de sementes de cenoura (*Daucus carota* L.). In: SEMINÁRIO PANAMERICANO DE SEMILLAS, 15., 1996, Gramado. **Anais...** Gramado: CESM; ELAS, 1996. p. 20.

MASETTO, T.E.; DAVIDE, A.C.; SILVA, E.A.A. da; FARIA, J.M.R. Avaliação da qualidade de sementes de *Eugenia Pleurantha* (Myrtaceae) pelo teste de raios x. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 29, n. 3, p. 170-174, 2007.

MAYER, A.M.; POLJAKOFF-MAYBER. **The germination of seeds**. Oxford: Pergamon Press, 1989. 270 p.

McDONALD, M.B. Improving our understanding of vegetable and flower seed quality. **Seed Technology**, Lexington, v. 20, n. 2, p. 121-124, 1998.

MENEZES, N.L.; SANTOS, O.S.; NUNES, E.P.; SCHMIDT, D. Qualidade fisiológica de alface submetida a diferentes temperaturas na presença e ausência de luz. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 6, p. 941-945, 2000.

MONDO, V.H.V.; CÍCERO, S.M. Análise de imagens na avaliação da qualidade de sementes de milho localizadas em diferentes posições na espiga. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 27, n. 1, p. 9-18, 2005.

MOORE, R.P. **Handbook on tetrazolium testing**. Zürich: ISTA, 1985. 99 p.

NASSIF, D.S.P.; CÍCERO, S.M. Avaliação de sementes de acerola por meio de raios-X. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 3, p. 542-545, dez/2006.

NASCIMENTO, W.M. Rumos na produção de hortaliças. **Seed News**, Pelotas, n.14, p. 10-11, nov./dez. 1999.

_____. Temperatura x germinação. **Seed News**, Pelotas, v. 4, n. 4, p. 44-45, jul./ago. 2000.

NASCIMENTO, W.M.; BARROS, B.C.G.; PESSOA, H.B.S.V. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 15, n. 2, p. 251-253, 1993.

NASCIMENTO, W.N.; BOITEUAX, L.S. Produção de sementes de pimentão em Brasília. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 10, n. 2, p. 125-126, 1992.

NASCIMENTO, W.M.; CANTLIFFE, D.J. Germinação de sementes de alface sob altas temperaturas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 103-106, 2002.

NASCIMENTO, W.M.; PEREIRA, R.S. Testes para avaliação do potencial fisiológico de sementes de alface e sua relação com a germinação sob temperaturas adversas. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 29, n. 3, p. 175-179, 2007.

NERY, M.C.; CARVALHO, M.L.M.; OLIVEIRA, L.M. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de melancia. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 365-372, 2007.

OBANDO-FLOR, E.P.; CARVALHO, M.L.M. Uso de los rayos-X para la evaluación de daños internos producidos por secamiento y sus efectos en la calidad de semillas de maíz. **Revista de la Facultad Nacional de Agronomía**, Medellín, v. 55, n. 2, p. 1521-1537, 2002.

OBANDO-FLOR, E.P.; CÍCERO, S.M.; FRANCA NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C. Avaliação de danos mecânicos em sementes de soja por meio da análise de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 68-76, 2004.

OLIVEIRA, A.P.; BRUNO, R.L.A.; ALVES, E.U. Influência do substrato e da temperatura na germinação de sementes peletizadas de tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 2, p. 72-77, 2001.

OLIVEIRA, L.M. de; CARVALHO, M.L.M. de; DAVIDE, A.C. Utilização do teste de raios-X na avaliação da qualidade de sementes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 25, n. 1, p. 116-120, 2003.

PANOBIANCO, M.; MARCOS FILHO, J. Comparação entre métodos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de pimentão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 68-72, 1998.

_____. Envelhecimento acelerado e deterioração controlada em sementes de tomate. **Scientia Agricola, Piracicaba**, v. 58, n. 3, p. 525-531, jul./set. 2001.

PIANA Z; TILLMANN M.A.A; MINAMI K. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de cebola e sua relação com a produção de mudas vigorosas. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 17, n. 2, p. 149-153, 1995.

PINTO, T.L.F; CICERO, S.M.; FORTI, V.A. Avaliação de danos por umidade, em sementes de soja, utilizando a técnica da análise de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 29, p. 31-38, 2007.

POWELL, A.A. The controlled deterioration test. In: VAN DE VENTER, H.A. (Ed.). **Seed vigour testing seminar**. Copenhagen: The International Seed Testing Association, 1995. p. 73-87.

PUPIM, T.L.; NOVENBRE, A.D.L.C.; CARVALHO, M.L.M. de; CÍCERO, S.M. Adequação do teste de raios x para avaliação da qualidade de sementes de embaúba (*Cecropia pachystachya* Trec.). **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 30, n. 2, p. 28-32, 2008.

RAMOS, N.P.; FLOR, E.P.O.; MENDONÇA, E.A.F. de; MINAMI, K. Envelhecimento acelerado em sementes de rúcula (*Eruca sativa* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 26, n. 1, p. 98-103, 2004.

RODO, A.B.; MARCOS FILHO, J. Accelerated aging and controlled deterioration for the determination of the physiological potential of onion seeds. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 3, p. 465-469, 2003.

ROSSETO, C.A.V.; FERNANDEZ, E.M.; MARCOS-FILHO, J. Metodologias de ajuste do grau de umidade e comportamento das sementes de soja no teste de germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 17, n. 2, p. 171-178, 1995.

SANTOS, M.A.O.; NOVENBRE, A.D.L.C.; MARCOS FILHO, J. Tetrazolium test to assess viability and vigour of tomato seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 35, n. 1, p. 213-223, 2007.

SHULL, C.A. Temperature and rate moisture intake in seeds. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 69, n. 5, p. 361-390, 1920.

SIMAK, M. X-radiography in research and testing of forest tree seeds. **Report SUAS Department of Silviculture**, Umea-Sweden, n. 3, p. 1-34, 1980.

_____. Testing of forest tree and shrub seeds by Xradiography. In: GORDON, A.G.; GOSLING, P.; WANG, B.S.P. **Tree and shrub seed handbook**. Zurich: ISTA, 1991. p. 1-28.

SIMAK, M.; GUSTAFSSON, A. X-ray photography and sensitivity in forest tree species. **Hereditas**, Lund-Sweden, v. 39, p. 458-468, 1953.

SIMAK, M.; BERGSTEN, U.; HENRIKSSON, G. Evaluation of ungerminated seeds at the end germination test by radiografy. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 17, n. 2, p. 361-369, 1989.

SWAMINATHAN, M.S.; KAMRA, S.K. X-ray analysis of the anatomy and viability of seeds of some economic plants. **Indian Journal of Genetics & Plant Breeding**, New Delhi, v. 21, n. 2, p. 129-135, 1961.

TEKRONY, D.M. Seed vigor testing – 1982. **Journal of Seed Technology**, Springfield, v. 8, n. 1, p. 55-60, 1983.

_____. Accelerated aging test. In: VAN DE VENTER, H.A. (Ed.). Seed vigour testing seminar. Copenhagen: The International Seed Testing Association, 1995. p.53-72.

TORRES, S.B. Qualidade fisiológica de sementes de pimentão (*Capsicum annuum* L.) através do teste de estresse hídrico. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 18, n. 2, p. 246-250, 1996.

_____. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de erva-doce. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 26, n. 2, p. 20-24, 2004.

_____. Envelhecimento acelerado em sementes de pepino com e sem solução salina saturada. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.2, p.303-306, abr./jun. 2005a.

_____. Envelhecimento acelerado em sementes de pimenta-malagueta (*Capsicum frutescens* L.). **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 36, n. 1, p. 98–104, jan./abr. 2005b.

VAN DER BURG, W.J.; AARTSE, J.W.; VAN ZWOL, R.A.; JALINK, H.; BINO, F.J. Predicting tomato seedling morphology by X-ray analysis of seeds. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 119, n. 2, p. 258-263, 1994.

VIEIRA, M.G.G.C.; VON PINHO, E.V.R. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de algodão. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap. 8, p. 1.1-1.13.

ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A. **SANEST**: Sistema de Análise Estatística para Microcomputadores. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 1984.