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

**Maturação de sementes de quiabo e alterações morfológicas
avaliadas por análise de imagens**

Rayssa Fernanda dos Santos

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração:
Fitotecnia

**Piracicaba
2018**

Rayssa Fernanda Dos Santos
Engenheira Agrônoma

**Maturação de sementes de quiabo alterações morfológicas avaliadas por
análise de imagens**

Orientador:
Prof. Dr. **JULIO MARCOS FILHO**

Dissertação apresentada para obtenção do título
de Mestra em Ciências. Área de concentração:
Fitotecnia

Piracicaba
2018

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP**

Santos, Rayssa Fernanda dos

Maturação de sementes de quiabo e alterações morfológicas avaliadas por análise de imagens/ Rayssa Fernanda dos Santos. - - Piracicaba, 2018.
67 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2018.

1. Abelmoschus esculentus 2. Vigor 3. Maturidade Fisiológica 4. Raios
X eeeeeee L.. I. Título

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, pela presença em minha vida, por ter me dado forças e por abençoar-me sempre.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (USP/ESALQ) pela oportunidade valiosa de realizar Pós-Graduação.

Ao professor Julio Marcos Filho pela orientação, paciência e inúmeros conhecimentos transmitidos que muito contribuíram para minha formação profissional. Obrigada pela confiança e pela oportunidade de tê-lo como orientador.

Aos meus pais Maria e Milton por todo amor, carinho, confiança, incentivo e por serem meus exemplos de fé e determinação.

A todas as pessoas queridas da família Miranda, Santos e Placido, pelo amor, carinho, orações e apoio em todos os momentos, em especial as minhas avós Irma e Dalila.

Aos professores Silvio Moure Cícero e Ana Dionísia da Luz Coelho Novembre, pelos ensinamentos e amizade.

Ao Francisco Guilhien Gomes Junior pela valiosa contribuição na condução dessa pesquisa, pela aprendizagem constante, paciência e amizade.

À Helena M. C. P. Chamma, pela amizade, cuidado, dedicação e apoio nas análises no laboratório de sementes.

À CAPES, pela bolsa concedida durante o curso.

Aos funcionários Caca, Adilson, João, Aparecido, Solizete e Luciane.

Ao meu namorado Henrique Fabricio Placido pelo companheirismo, amor, ajuda e por estar sempre ao meu lado.

As minhas irmãs de coração Carina Oliveira e Oliveira e Danielle Carrara Castan, pela amizade, risadas, apoio, compreensão, carinho e por todos os momentos especiais. Obrigada por tudo!

Aos meus amigos, Dani Paluski, Gaby Soder, Isa Soares, Emanueli Bastos, Carine Cantú, Bruna Eloisa, Maria Beatriz, Ana Dognini, Plinio Duarte, Bruna Longatti, Maicon Javroski, Victor Damião, Carol Cipriano, Walquiria Fernanda, Fábio Diniz, Mayara Rodrigues, Nati Arruda, Jonathan Dieter, Gilda Verdi e Clíssia Barboza.

SUMÁRIO

RESUMO	5
ABSTRACT	6
1. INTRODUÇÃO	7
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	9
2.1. MATURAÇÃO	9
2.2. MORFOLOGIA INTERNA DAS SEMENTES	11
3. MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1. ESTUDO DA MATURAÇÃO	16
3.2. AVALIAÇÕES.....	17
3.2.1. <i>Características físicas dos frutos</i>	17
3.2.2. <i>Teor de água</i>	19
3.2.3. <i>Determinação da Matéria Seca</i>	19
3.2.4. <i>Germinação</i>	19
3.2.5. <i>Emergência de plântulas em casa de vegetação</i>	20
3.2.6. <i>Teste de raios X</i>	20
3.2.7. <i>Avaliação do espaço livre na cavidade interna das sementes e Aspect ratio</i> .	21
3.2.8. <i>Análise da anatomia da testa por microscopia eletrônica</i>	22
3.3. PROCEDIMENTO ESTATÍSTICO	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.1. ESTUDO DA MATURAÇÃO	25
4.1.1. <i>Características físicas dos frutos</i>	27
4.1.2. <i>Teor de água</i>	32
4.1.3. <i>Determinação da Matéria Seca</i>	34
4.1.4. <i>Germinação</i>	36
4.1.4.1. Sementes não escarificadas	36
4.1.4.1.1. Primeira contagem de germinação (Vigor)	37
4.1.4.1.2. Sementes duras	38
4.1.4.2. Sementes escarificadas	39
4.1.4.2.1. Germinação	39
4.1.4.2.2. Primeira contagem de germinação	40
4.1.4.2.3. Sementes duras	41
4.1.5. <i>Emergência de plântulas em casa de vegetação</i>	45
4.2. AVALIAÇÃO DA MORFOLOGIA INTERNA DAS SEMENTES.....	47
4.2.1. <i>Avaliação do espaço livre na cavidade interna das sementes e Aspect ratio</i> .	50
4.2.1.1. Espaço livre na cavidade interna das sementes	50
4.2.1.2. <i>Aspect ratio</i>	52
4.2.2. <i>Análise da anatomia da testa por microscopia eletrônica</i>	53
4.2.3. <i>Considerações Gerais</i>	55
5. CONCLUSÕES	57
REFERÊNCIAS	59

RESUMO

Maturação de sementes de quiabo e alterações morfológicas avaliadas por análise de imagens

O objetivo principal desta pesquisa foi estudar a maturação de sementes de quiabo, identificando as alterações morfológicas por meio da análise de imagens avaliando sua eficiência na caracterização da maturação; paralelamente a pesquisa visou verificar a ocorrência de sementes duras, durante o desenvolvimento. Foram utilizadas sementes do cultivar Santa Cruz 47, colhendo-se frutos em treze diferentes estádios durante o processo de maturação (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 dias após a antese) e determinando-se a coloração, o diâmetro, comprimento, teor de água, massa seca, germinação, vigor (primeira contagem do teste de germinação) e emergência de plântulas, em sementes extraídas imediatamente após a colheita e após repouso dos frutos durante sete dias. O teste de germinação foi realizado utilizando sementes não escarificadas e escarificadas com ácido sulfúrico, ao final do teste as sementes foram submetidas ao teste de tetrazólio. Após cada colheita, realizou-se o teste de raios X e, em seguida as imagens foram analisadas com auxílio do software ImageJ[®], determinando-se o *aspect ratio* (relação entre o maior e o menor eixo da elipse equivalente à semente) e o porcentual espaço interno livre no interior da cavidade interna da semente. Para avaliação da anatomia da testa de sementes, foi realizada eletromicrografia via microscopia eletrônica de varredura, a fim de verificar a estrutura do tegumento de sementes com e sem dormência; para isto foram avaliadas sementes colhidas aos 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 e 65 dias após a antese, que apresentaram dormência. Os dados foram submetidos a análise da variância, em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial, utilizando teste de Tukey. Verificou-se que a maturidade fisiológica foi atingida aos 30 dias após a antese, quando ocorreu máximo acúmulo de matéria seca e as sementes apresentavam teor de água de 56,6%. Observou-se que a porcentagem de sementes aptas a germinar e formar plântulas normais foi crescente durante o processo de maturação, atingindo nível máximo aos 50 dias após a antese. Os resultados indicaram que a análise de imagens foi eficiente para o acompanhamento do processo de maturação. A análise da anatomia da testa foi eficaz para identificação das células estruturais e de sementes duras.

Palavras-chave: *Abelmoschus esculentus*; Vigor; Maturidade Fisiológica, Raios X

ABSTRACT

Maturation of okra seeds and morphological changes evaluated by image analysis

The main objective of this research was to study the maturation of okra seeds, identifying morphological alterations by use of image analysis and verifying its efficiency in characterization of seed maturation; In parallel, this research aimed to verify the occurrence of dormant seeds during the development. Seeds from cultivar Santa Cruz 47 were harvested at thirteen different stages of the fruit maturation process (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 days after anthesis). Seeds were evaluated for color, diameter, length, moisture content, dry matter, germination and vigor (first germination count) and seedling emergence using seeds immediately after harvest or after a post-harvest resting period of fruits for seven days. The germination test was carried out using seeds without scarifying or with sulphuric acid scarification; at the end of the germination test, seeds were submitted to the tetrazolium test. After each harvest, the X-ray test was performed and then the seed images were analyzed with the ImageJ® software, determining the aspect ratio (ratio between the largest and the smallest axis of the ellipse equivalent to the seed) and the percentage free internal space within the inner cavity of the seed. To verify the structure of the seed coat with or without dormancy, the anatomy of the testa was evaluated by eletromicrography in a scanning electron microscopy; for this, dormant seeds harvested at 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 and 65 days after anthesis were evaluated. The data were submitted to analysis of variance in a completely randomized design and factorial scheme. Means were compared by Tukey's test. The physiological maturity of the seeds was reached at 30 days after anthesis with maximum seed dry matter accumulation and moisture content of 56.6%. The percentage of seeds able to germinate and to produce normal seedlings increased during the seed maturation process, reaching a maximum level at 50 days after anthesis. The results indicated that the image analysis was efficient to identify the seed maturation process. The anatomical analysis of the testa was efficient for identification the structural cells and dormant seeds.

Keywords: *Abelmoschus esculentus*; Vigor; Physiological Maturity, X-ray

1. INTRODUÇÃO

Para a obtenção de altas produtividades, o conhecimento do processo de maturação é essencial, a fim de se definir qual o melhor momento da colheita, obtendo maiores porcentagens de germinação e menor ocorrência de sementes duras.

Outro aspecto que pode influenciar diretamente as porcentagens de germinação e de sementes duras é o repouso pós-colheita. Deste modo, é importante a disponibilidade de parâmetros que permitam o acompanhamento do processo de maturação.

Para a avaliação da maturação de sementes, a literatura contempla diversos testes considerados eficientes; no entanto, faz-se necessário a inclusão de novas técnicas visando ampliar as alternativas para determinação do ponto de maturidade e acompanhamento da maturação, neste sentido a análise de imagens pode se constituir como uma opção a ser incluída na avaliação da maturação de sementes de quiabo.

A utilização da análise de imagens está cada vez mais inserida nas pesquisas de Tecnologia de Sementes, com resultados precisos e objetivos, permitindo a avaliação das características físicas, morfológicas e da qualidade de sementes.

Pesquisas têm sido conduzidas no intuito de avaliar o desenvolvimento do embrião e o desempenho das sementes utilizando-se o teste de raios X, entretanto, nota-se a necessidade de mais estudos, visando aprimorar a avaliação destas características.

Atualmente o software ImageJ[®], têm se destacado em pesquisas direcionadas a avaliação da morfologia interna de sementes, contudo, a utilização deste sistema encontra-se em fase inicial, sendo necessário a condução de pesquisas adicionais, para resultados mais consistentes.

Outra técnica que vem se destacando, é a via microscopia eletrônica de varredura, que possibilita a avaliação da anatomia de sementes, entretanto nota-se a necessidade de mais estudos utilizando esse procedimento em sementes.

Deste modo, a presente pesquisa teve como principal objetivo estudar a maturação de sementes de quiabo, identificando as alterações morfológicas por meio da análise de imagens avaliando sua eficiência na caracterização da

maturação; paralelamente a pesquisa visou verificar a ocorrência de sementes duras, durante o desenvolvimento.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Maturação

A maturação é um processo constituído por uma série de alterações morfológicas, físicas, fisiológicas e bioquímicas, que se iniciam a partir da fecundação do óvulo e prosseguem até o momento que as sementes se desligam fisiologicamente da planta-mãe, ou seja, atingem a maturidade fisiológica (DELOUCHE, 1971).

Durante esse processo as sementes sofrem várias transformações, como perda de água, acúmulo das substâncias de reserva, alteração de tamanho, coloração, germinação e vigor das sementes (CARNEIRO, 1983; TAIZ e ZEIGER, 2017); verificando-se também a ocorrência de modificações bioquímicas (BARBEDO et al., 1994).

O desenvolvimento da semente, desde a fertilização do óvulo até a maturidade pode ser dividido em quatro fases, de acordo com Pollock e Ross (1972) e Adams e Rinne (1980).

De acordo com Pollock e Ross (1972), após a fertilização ocorre à etapa de histodiferenciação, período esse de formação da estrutura das sementes através da expansão e diferenciação celular; constituindo as fases I e II do desenvolvimento, ocorrendo o aumento do tamanho das sementes.

A fase III é caracterizada por aumentos progressivos da matéria seca das sementes, neste período o teor de água ainda é elevado, a desidratação das sementes é acelerada medida que as sementes acumulam reservas (MARCOS-FILHO, 2015); na fase IV, a etapa final do processo de maturação as sementes perdem água com maior intensidade, não ocorrendo modificações significativas de matéria seca (BEWLEY; BLACK, 1994).

A evolução do processo de maturação das sementes pode ser avaliada com a utilização de vários parâmetros, como a caracterização morfológica, teor de água, matéria seca das sementes, germinação e vigor (MARCOS-FILHO, 2015); deste modo, o estudo da maturação de sementes é de suma importância para identificar a maturidade fisiológica e estabelecer bases para definir o momento mais adequado para a colheita.

De acordo Kramer e Kozlowski (1972), o ponto de maturidade fisiológica e a época adequada para a colheita, podem ser determinados pelas características morfológicas dos frutos e sementes, como a coloração e tamanho.

Estudos realizados por Carvalho (2014), com sementes de pimentão indicaram que a maturidade fisiológica geralmente coincide com o início da mudança de coloração dos frutos; entretanto, o tamanho dos frutos não pode ser considerado um indicativo do ponto de maturidade, mostrando-se eficaz apenas para a caracterização da maturação.

Marcos-Filho (1980), concluiu que a coloração das vagens, sementes e do hilo das sementes de soja, podem ser parâmetros eficientes para caracterizar e identificar a maturidade de sementes.

Trabalhos conduzidos com diferentes espécies mostram, pelos resultados obtidos, que o ponto de maturidade fisiológica ocorreu quando a semente apresentava máxima massa de matéria seca. Dentre eles podem ser destacados trabalhos de Chamma et. al (1990) com feijão, Demir e Ellis (1992) com pimentão, TeKrony e Egli (1997) com soja, Demir et. al (2002) com berinjela e Abud et. al (2014) com pimenta.

Entretanto, é necessário, que se considerem as dificuldades para a determinação do ponto máximo de acúmulo de matéria seca durante o processo de maturação, conforme salientam Lee et. al. (1979) e TeKrony e Egli (1997), pois a massa da matéria seca pode sofrer variações pequenas, próxima à sua máxima, necessitando de cuidados no momento da amostragem, buscando evitar falhas técnicas.

Na literatura, pesquisas indicaram não haver coincidência entre o momento de máximo acúmulo de matéria seca, máxima germinação e vigor; como estudos realizados por Carvalho (1972) com algodão, Setubal (1987) com quiabo, Berry e Bewley (1991) com tomate e Araújo et. al (2006) com milho doce

De acordo com Marcos-Filho (2015), a massa da matéria seca, constitui-se como ponto de referência para caracterização do encerramento do processo de desenvolvimento da semente e embora possam ser constatadas diferenças entre o máximo acúmulo de matéria seca, máxima germinação e vigor, é inegável que o máximo potencial fisiológico é alcançado próximo a maturidade.

Estudos realizados por Castro, Godoy e Cardoso (2008), em sementes de quiabo, verificaram que a máxima germinação ocorreu em sementes submetidas ao

repouso pós-colheita; esse fato justifica-se pois sementes submetidas ao repouso, apresentam desidratação mais lenta, permitindo a conclusão da maturação (MARCOS-FILHO,2015).

Setúbal et al. (1996), verificaram em quiabo, que o armazenamento das sementes no interior dos frutos, propiciou aumento na porcentagem de sementes duras.

De acordo com McDonough (1977), o estado de dormência passa a existir com o desenvolvimento da semente e a maturação do tegumento. Deste modo, o estudo dos estádios de maturação das sementes é de suma importância para se definir qual o melhor momento da colheita, minimizando assim problemas como a dormência.

Neste sentido, a análise de imagens vem uma ótima alternativa para o acompanhamento da maturação de sementes; estudos realizados por Carvalho (2014), associando parâmetros fisiológicos, genéticos e a análise de raios X em pimentão e verificou a eficiência da utilização destes métodos para caracterização da maturação.

2.2. Morfologia interna das sementes

Nos últimos anos, verifica-se crescente interesse por testes que avaliam os aspectos fisiológicos e físicos de sementes utilizando sistemas computadorizados, possibilitando a avaliação de plântulas e da estrutura interna da semente (DELL'ÁQUILA, 2007b).

Uma das principais técnicas utilizadas é o teste de raios X, considerado vantajoso pela sua eficiência, por não ser destrutivo e não danificar a semente, permitindo examinar sua estrutura e utilizá-la na sequência para a condução de outro teste (ALVARENGA, 2013).

O teste de raios X foi utilizado primeiramente para avaliar a morfologia interna de coníferas em 1953 (SIMAK, 1991); desde então, inúmeras pesquisas vem demonstrando a eficácia do uso dos raios X em Tecnologia de Sementes, como na identificação de danos internos (CICERO; BANZATTO JUNIOR, 2003; NASSIF; CICERO, 2006; GOMES-JUNIOR et al., 2014), associação entre as anormalidades morfológicas e a germinação de sementes (MACHADO; CICERO, 2003; MARCHI;

GOMES-JUNIOR, 2017), dimensionamento interno de sementes (LIU et al., 1993), caracterização de estádios de desenvolvimento de sementes (FERNANDES et al., 2016), entre outros.

Uma das variações morfológicas, observadas pelo teste de raios X e associadas ao desempenho da semente é o tamanho do embrião, ou melhor, o grau de desenvolvimento embrionário em relação ao espaço disponível na cavidade interna da semente (MARCOS-FILHO et al., 2010). Para Liu et al. (1993), “espaço livre” é uma expressão utilizada para descrever a ocorrência de áreas vazias entre o embrião e o endosperma ou entre o conteúdo da semente e o tegumento; esse parâmetro foi determinado pela primeira vez com sementes de tomate, buscando identificar relação entre o espaço vazio e a germinação de sementes (BREWER et al., 2007).

Trabalhos conduzidos com diferentes espécies têm fornecido informações a respeito do espaço interno livre, como ausência de germinação de sementes de aroeira, dependendo da proporção de espaço interno livre (MACHADO; CICERO, 2003), baixa germinação de sementes de mamona com preenchimento da cavidade interna da semente inferior a 50% (CAVALHO; ALVES; OLIVEIRA, 2010), a ocupação da cavidade interna de sementes de pimentão pelo embrião e endosperma (GAGLIARDI; MARCOS-FILHO, 2011), prejuízo na germinação de sementes de citrumelo ‘Swingle’ com espaço livre superior a 22,1%, (ARRUDA, 2016). Contudo, nota-se a necessidade da continuidade da pesquisa, no intuito de trazer informações mais precisas sobre esse assunto.

Outro procedimento disponível para avaliação da morfologia de sementes, utilizando o software ImageJ®, é o *aspect ratio*, que verifica a relação entre o maior e menor eixo que circunscreve a semente. Para Wendt et. al. (2014), a utilização de parâmetros que determinam a esfericidade das sementes, podem ser úteis para o controle de qualidade, avaliando de maneira eficaz a uniformidade de lotes de sementes.

A análise de imagens via microscopia eletrônica de varredura, também vem sendo utilizada para a verificação da anatomia de sementes, permitindo a identificação das camadas da testa e suas possíveis modificações (SILVA, 2003). De acordo com Santos et al. (2009), essa técnica vem demonstrando eficácia na caracterização da anatomia de semente, fornecendo informações com alto grau de consistência.

Assim, diante da escassez de informações na literatura envolvendo análise de imagens na avaliação da morfologia de sementes de quiabo, busca-se desvendar as possíveis modificações na estrutura da semente conforme a evolução do processo de maturação.

3. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida nos Laboratórios de Análise de Sementes (LAS) e de Análise de Imagens (LAI), do Departamento de Produção Vegetal (LPV), no Laboratório de Microscopia Eletrônica aplicada à Pesquisa Agropecuária, do Departamento de Fitopatologia e Nematologia, todos da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (USP/ESALQ), em Piracicaba/SP. A etapa de campo foi conduzida na Unidade Experimental do LPV/USP/ESALQ, localizada a 22° 42' 32,01" de latitude Sul, 47°37'41,03" longitude Oeste e 546 m de altitude.

O solo da área experimental é classificado como Nitossolo Vermelho Eutrófico argiloso e a adubação foi realizada com base nos resultados da análise do solo (Tabela 1).

Tabela 1. Análise química do solo de área experimental do Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP/ESALQ.

pH	P	K	Ca	Mg	Al
	mg.dm ⁻³		mmolc.dm ⁻³		
5,8	75	7,1	85	30	<1
MO	B	Cu	Fe	Mn	Zn
g.dm ⁻³		mg.dm ⁻³			
26	0,44	5	12	26,9	3,7
H+ Al	SB	CTC	V	M	
	mmolc.dm ⁻³		%		
16	122,1	138,1	88	0	

P: fósforo; K: potássio; Ca: cálcio; Mg: magnésio; Al: alumínio; MO: matéria orgânica; B: boro; Cu: cobre; Fe: ferro; Mn: manganês; Zn: zinco; H+Al: hidrogênio mais alumínio; SB: soma de bases; CTC: capacidade de troca catiônica; V: porcentagem de saturação por bases; m: porcentagem de saturação por alumínio. Observação: (<1) menor que o limite de quantificação.

Os resultados da análise, indicaram que o pH do solo estava adequado para a cultura e níveis de macro e micronutrientes classificados como altos (Trani et al., 1997).

Foram aplicados, no momento do transplante, 400 kg.ha⁻¹ da fórmula 5-30-15 (nitrato de amônio, fosfato diamônico (DAP), superfosfato triplo e cloreto de potássio), nas quantidades de 40 kg.ha⁻¹ N, 120 kg.ha⁻¹ de P e 60 kg.ha⁻¹ de K no momento do transplante; foi, também, realizada aplicação de 40 kg.ha⁻¹ de ureia em cobertura, parcelada em duas vezes, aos 20 e 40 dias após o transplante; essas

quantidades seguiram as recomendações efetuadas para a cultura do quiabo (PASSOS et al., 2014).

Utilizou-se o cultivar Santa Cruz 47, por ser um dos mais recomendados por Filgueira (2003) para a condução da cultura, além de atender às principais exigências do mercado, como por exemplo, frutos longos, cilíndricos, lisos e de coloração verde-brilhante.

Durante a condução da cultura, a área foi mantida livre de plantas daninhas através de capinas manuais; o controle de doenças (oídio e cercosporiose) foi realizado de maneira preventiva, aos vinte e cinco dias antes do florescimento, com o fungicida Opera® (0,5 L.ha⁻¹).

3.1. Estudo da maturação

A semeadura foi realizada em 15/11/2016, manualmente, em bandejas de poliestireno (isopor) contendo substrato comercial Basaplant® para hortaliças e mantidas em casa de vegetação durante o período de emergência e desenvolvimento inicial das plântulas. O sistema de irrigação foi programado para distribuir 5 mm de água/dia, enquanto a temperatura média e a umidade relativa mantidas a 25°C e 60% respectivamente, durante esse período.

Aos 25 dias após a semeadura, as mudas com duas folhas cotiledonares completamente expandidas, foram transplantadas para a área experimental de 300 m², em sulcos espaçados de 0,8 m entre si, mantendo-se 0,6 m entre plantas; a irrigação foi realizada por aspersão, de acordo com Marquelli, Silva e Silva (2008), sendo necessárias duas irrigações no período vegetativo e duas no período de reprodutivo (6 e 51 dias após a antese), cada uma programada para distribuição de 5 mm de água durante 45 minutos.

As flores foram etiquetadas na época de sua abertura (antese), em 06/02/2017 e, a colheita dos frutos foi realizada manualmente, com o auxílio de alicate de poda, em diferentes pontos da área, aos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 dias após a antese (DAA), amostrando-se 30 frutos, separando em dois grupos de 15, abrindo-os, e, em seguida, constituindo quatro repetições de 50 sementes cada. As sementes foram extraídas manualmente, imediatamente após a colheita ou após sete dias de repouso dos frutos em ambiente de

laboratório, à sombra, sob condições normais de temperatura e umidade relativa do ar.

As condições climáticas foram monitoradas pela estação meteorológica da unidade experimental do Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (Piracicaba/SP), obtendo-se os dados diários de temperatura, umidade relativa do ar e precipitações pluviais.

A evolução da maturação foi acompanhada mediante a determinação de características morfológicas dos frutos (coloração, comprimento e diâmetro), teor de água, massa seca, germinação e vigor das sementes, além da avaliação da morfologia interna das sementes. Após cada colheita, os frutos foram conduzidos para o LAS/USP/ESALQ, onde foram efetuadas a extração das sementes e análises pós-colheitas.

As sementes foram extraídas com o auxílio de um bisturi; em seguida realizou-se a retirada de impurezas (principalmente palha, restos de frutos e placenta) e sementes mal formadas. Após a determinação do teor de água, matéria seca e dos testes de raios X, germinação, vigor (primeira contagem de germinação) e emergência de plântulas, as sementes foram secadas até atingir 10% de água e armazenadas em câmara fria e seca (10°C e 30% UR do ar), durante aproximadamente 40 dias, para posterior análise da anatomia da testa por microscopia eletrônica.

3.2. Avaliações

3.2.1. Características físicas dos frutos

Para a determinação das características físicas dos frutos, foram mensurados o comprimento e diâmetro, (15 frutos por época de colheita), com o auxílio de um paquímetro digital; o comprimento foi determinado avaliando-se a distância entre a região do ápice e a base dos frutos; o diâmetro foi determinado na região basal dos frutos. Os resultados médios foram expressos em mm/fruto por época de colheita.

A coloração dos frutos foi identificada mediante comparação com o Munsell Book of Color (MUNSELL, 1976). Para tanto, logo após cada colheita, foi realizado o exame de cada fruto da amostra (15 frutos) e a determinação da sua coloração; anotou-se o número de frutos correspondente a cada uma das cores encontradas e

calculou-se a porcentagem média da ocorrência de frutos com a cor predominante em cada colheita. Os resultados foram expressos pela porcentagem média da coloração predominante e pela sigla Hue (matiz ou tonalidade), value (intensidade luminosa ou brilho) e chroma (saturação da cor).

Em sequência, os frutos (10 por época de maturação) foram fotografados utilizando câmera digital Nikon, modelo D1 com resolução de 2,7 megapixels, conectada a um computador Pentium 4 (30 GHz, 1 GB de memória RAM, Hard Disk de 160 GB e monitor de 21 polegadas). Todas as fotos foram obtidas sob as mesmas condições de iluminação, utilizando três lâmpadas fluorescentes de 55 W, com 50 cm de comprimento, temperatura de cor de 4000 K e índice de reprodução de cor de aproximadamente 90%.

As imagens foram analisadas com auxílio do software ImageJ® para a obtenção dos valores de intensidade de pixel dos componentes de cor vermelho (R), verde (G), azul (B) e escala de cinza (GOMES-JUNIOR; ARRUDA; MARCOS-FILHO, 2017). Para obtenção destes valores foi demarcada uma área (0,60 x 0,60 cm) na região basal dos frutos, conforme mostra a Figura 1.

Figura 1. Representação da região do fruto de quiabo utilizada para caracterização da coloração por meio do software ImageJ®.

3.2.2. Teor de água

Determinado pelo método da estufa a 105 °C ($\pm 3^{\circ}\text{C}$) durante 24 horas (BRASIL, 2009), com quatro amostras de 100 sementes para cada época de colheita; os resultados foram expressos em porcentagem média (base úmida).

3.2.3. Determinação da Matéria Seca

Determinado segundo as Regras para análise de Sementes (BRASIL, 2009), pelo método de estufa, à 105 ($\pm 3^{\circ}\text{C}$) durante 24 horas, com quatro amostra de 100 sementes por época de colheita; os resultados foram expressos em porcentagem média por parcela.

3.2.4. Germinação

A germinação foi realizada utilizando sementes não escarificadas e escarificadas com ácido sulfúrico, com a finalidade de acelerar e uniformizar a germinação. Foi avaliada em oito repetições de 25 sementes por época de colheita, em rolos de papel-toalha umedecidos com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa do papel, a 30°C.

A escarificação química foi realizada antes da instalação do teste de germinação mediante a imersão das sementes em solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado (98%), durante 5 minutos. Para tanto, as sementes foram colocadas em recipiente não corrosível, cobertas com quantidade suficiente de ácido sulfúrico concentrado e agitadas com bastonete de vidro. Após o período citado, as sementes foram colocadas em becker de vidro contendo água e, em seguida, lavadas em água corrente e secadas sobre papel de filtro (BRASIL, 2009).

As contagens de germinação foram efetuadas aos quatro (primeira contagem de germinação) e vinte e um dias após a instalação do teste e, a interpretação, efetuada de acordo com os critérios estabelecidos nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Computou-se a porcentagem de plântulas normais, obtendo-se dados médios para cada época de colheita. Ao final desse teste, as sementes não embebidas e as embebidas não germinadas foram submetidas ao

teste de tetrazólio, para verificação da vitalidade conforme metodologia proposta por Eichelberger e Moraes (2001).

Este procedimento constou da imersão das sementes em álcool 96° durante 30 minutos; em seguida, foram lavadas em água corrente, então imersas em água destilada a 30°C e mantidas por 24 horas em incubadora BOD.

O tegumento foi retirado com o auxílio de bisturi e pinça; em seguida, as sementes foram imersas em solução 0,075% de cloreto de 2,3,5 trifenil tetrazólio, durante 3,5 h, a 30°C; após o desenvolvimento da coloração, as sementes foram lavadas em água corrente e imersas em água destilada para a interpretação, classificando-se e contabilizando-se as sementes em vivas e mortas. Os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas normais, sementes duras, vivas e mortas para cada época de colheita.

3.2.5. Emergência de plântulas em casa de vegetação

Foram distribuídas quatro repetições de 50 sementes, para cada época de colheita, em células individuais de bandejas de poliestireno (isopor), contendo substrato comercial Basaplant®. As bandejas foram mantidas em casa de vegetação, com sistema de irrigação programada de 5 mm de água/dia, a aproximadamente 25°C e umidade relativa de 60% durante o período de emergência das plântulas.

A avaliação foi realizada aos vinte e um dias após a semeadura, considerando-se emersas as plântulas com completa expansão das folhas cotiledonares. Nesse momento, foi determinada a porcentagem de sementes duras, retirando-se essas as sementes do substrato, lavando-as em água corrente e observando-se as que não se apresentavam embebidas. Os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas emersas e sementes duras por época de colheita.

3.2.6. Teste de raios X

Para avaliar a morfologia interna das sementes durante a maturação, foram conduzidos testes de raios X. Essa análise foi efetuada utilizando equipamento digital Faxitron X-ray, modelo MX-20 DC12, acoplado ao computador Core 2 Duo

(3.16 GHz, 2 GB de memória RAM, Hard Disk de 160 GB) e monitor MultiSync LCD1990SX de 17 polegadas. Amostras de sementes colhidas nas diferentes épocas foram fixadas com fita adesiva dupla face, em oito grupos de 25, sobre uma folha de acetato transparente. As sementes foram posicionadas a 28,6 cm da fonte de emissão de raios X e, as imagens, obtidas com intensidade de 28 kV, frequência de 1,50 mA e tempo de exposição de 9,72 segundos.

Todas as sementes radiografadas foram colocadas para germinar, mantendo-se a mesma posição em que foram colocadas no momento da exposição aos raios X, permitindo relacionar a morfologia interna com a ocorrência de plântulas normais, anormais, de sementes duras ou mortas. Para caracterizar as sementes embebidas, mas não germinadas, foi realizado o teste de tetrazólio, conforme descrição no item 3.2.4.

3.2.7. Avaliação do espaço livre na cavidade interna das sementes e *Aspect ratio*

Esta avaliação foi realizada utilizando o mesmo procedimento descrito no item 3.2.6. Após o teste de raios X, as imagens de amostras de sementes colhidas em diferentes épocas (8 repetições de 25 sementes por época), foram analisadas com o auxílio do software ImageJ®, determinando-se a área porcentual do espaço livre na cavidade interna da semente e o *aspect ratio* (relação entre o maior e menor eixo que circunscreve a semente).

Deste modo, as partes da semente (cinza mais claro) e o espaço livre entre o embrião + endosperma e o tegumento (cinza mais escuro), foram segmentados e quantificados automaticamente pelo software, com os resultados expressos em índice *aspect ratio* e do espaço livre em porcentagem (Figura 2).

Figura 2. Imagem radiográfica de semente de quiabo (A) com identificação do tegumento (1), embrião + endosperma (2) e espaço interno livre (3) e respectiva imagem segmentada pelo software ImageJ® (B) com representação da determinação do aspect ratio (a/b).

3.2.8. Análise da anatomia da testa por microscopia eletrônica

Para o estudo da anatomia da testa das sementes, foi realizada eletromicrografia via microscopia eletrônica de varredura, a fim de verificar a estrutura do tegumento de sementes com e sem dormência; para isto foram avaliadas sementes colhidas aos 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 e 65 dias após a antese, que apresentaram dormência.

Para essa análise, foram realizados cortes histológicos na semente, com o auxílio de uma lâmina de aço e pinça. Em seguida o material foi metalizado com ouro paládio; essa deposição ocorreu pelo sistema de evaporação conhecido como “*sputtering*” (SILVA et al., 2008).

Preparadas, as amostras foram analisadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV), onde foram identificadas cutícula, epiderme (camadas das células paliçádicas), hipoderme (células em “ampulheta”) e células parenquimáticas localizadas na testa; foram obtidos dados referentes à espessura média da epiderme e hipoderme, expressos em micrômetros (μ).

3.3. Procedimento estatístico

Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 13x2 (treze épocas de colheita dos frutos x dois períodos de repouso), totalizando 26

tratamentos. Os dados foram submetidos a análise da variância e, as médias, comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Para execução da análise estatística foi utilizado o programa SISVAR (FERREIRA, 2000). O esquema da análise da variância encontra-se na tabela 2.

Tabela 2. Esquema de análise da variância

Causas de variação	Grau de Liberdade
Épocas de colheita dos frutos (E)	12
Períodos de repouso (R)	1
(E) x (R)	12
Resíduo	78
Total	103

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Estudo da maturação

Este estudo da maturação de sementes de quiabo, cultivar, “Santa cruz” foi realizado mediante avaliações das características físicas dos frutos, teor de água das sementes, peso da matéria seca, germinação, vigor e emergência de plântulas em casa de vegetação, em diferentes épocas de colheita e períodos de repouso, buscando relacionar essas características ao processo de maturação.

Em relação às condições climáticas durante a condução do experimento na etapa de campo, os dados de umidade relativa do ar, temperatura e precipitações pluviiais são apresentados na Figura 3.

Figura 3. Variáveis climáticas: temperaturas máximas, médias e mínimas, umidade relativa do ar e precipitações pluviiais durante a condução da cultura de quiabo a campo. Fonte: Escola Superior “Luiz de Queiroz” (2016/2017).

A cultura se desenvolve melhor em regiões de temperaturas altas, com cultivo ideal entre 18 e 35° C; um dos fatores que limitam a produtividade é o déficit hídrico (SONNENBER; SILVA 2002).

A umidade relativa do ar (U.R.) durante o desenvolvimento da cultura variou entre 60 e 94%. A partir dos 30 DAA (6^a colheita) até a última colheita (65 DAA) observou-se variação desde parâmetro de 71 a 91%, conforme Figura 3.

A temperatura média do ar durante a condução da cultura manteve-se em 25°C; as temperaturas mais altas ocorreram de dezembro a março, correspondendo ao período de crescimento das plantas (fase vegetativa) e formação da semente (fase de colheitas), favorecendo o crescimento, desenvolvimento e florescimento da cultura.

No início do desenvolvimento das sementes verificaram-se variações quanto à temperatura; observou-se aos 5 DAA (1^a colheita) mínima de 19°C, seguida de temperaturas elevadas (35°C) aos 25 DAA (5^a colheita), mantendo-se entre as temperaturas ideais para cultivo.

Aos 30 DAA, as temperaturas variaram de 20 °C a 28 °C, com o decorrer das épocas de colheita observaram-se mínima de 14 °C próximo aos 55 DAA (11^a colheita) e máxima de 34 °C aos 60 DAA (12^a colheita); nota-se que próximo à 11^a colheita, a temperatura mínima foi de 14°C , abaixo da ideal, podendo ser prejudicial ao crescimento, floração e frutificação da cultura.

Verificou-se, que no início do ciclo da cultura (fase vegetativa) a precipitação pluvial foi elevada, atingindo valores de 40,6 mm água/dia. Constatou-se variação quanto aos níveis de precipitação durante o processo de maturação (fase de colheitas), sendo os maiores valores registrados próximos aos 20, 30 e 60 DAA (4^a, 6^a e 12^a colheita), não prejudicando o desenvolvimento da cultura e a formação de sementes.

Nas fases iniciais de desenvolvimento das sementes de 5 a 15 DAA (1^a colheita a 3^a colheita), ocorreu um período de estiagem, seguido de precipitações frequentes entre 20 DAA a 40 DAA (4^a a 8^a colheita). No entanto, aos 45 a 55 DAA (9^a colheita a 11^a colheita) novamente houve um período de estiagem, seguido de precipitação elevada próximo aos 55 DAA (12^a colheita) e estiagem até o final das colheitas; favorecendo a formação e desenvolvimento da semente.

4.1.1. Características físicas dos frutos

As análises da variância dos dados obtidos para diâmetro e comprimento dos frutos, revelaram diferenças significativas para os efeitos de épocas de colheita; não houve efeitos significativos de períodos de repouso e para a interação épocas de colheita x períodos de repouso.

Os frutos recém-colhidos apresentaram máximo comprimento aos 45 dias após a antese (DAA), ou seja, 9^a colheita; em frutos submetidos ao repouso, o comprimento máximo foi verificado aos 50 DAA (10^a colheita).

Verificou-se em frutos recém-colhidos diâmetro máximo aos 25 DAA (5^a colheita); em frutos submetidos ao repouso, o máximo foi identificado aos 20 DAA (4^a colheita), conforme Tabela 3.

Tabela 3. Comprimento e diâmetro de frutos de quiabo colhidos em diferentes épocas de colheita e períodos de repouso.

Colheita	Comprimento (mm)		Diâmetro (mm)	
	Após colheita	Repouso	Após colheita	Repouso
5	70,96 C	70,12 C	12,95 CD	12,47 C
10	170,12 B	163,26 B	19,55 B	20,11 AB
15	198,21 A	182,93 AB	20,20 AB	19,95 B
20	196,28 AB	186,40 AB	21,52 AB	22,09 A
25	195,84 AB	184,85 AB	22,07 A	21,37 AB
30	192,15 AB	178,06 AB	20,50 AB	20,49 AB
35	185,66 AB	184,25 AB	20,25 AB	19,81 B
40	188,98 AB	187,05 AB	13,58 C	12,54 C
45	204,72 A	191,76 AB	12,23 CDE	11,58 CD
50	189,42 AB	201,37 A	12,02 CDE	11,81 CD
55	192,54 AB	181,76 AB	10,66 E	10,20 D
60	197,59 A	201,67 A	11,30 DE	11,24 CD
65	194,38 AB	194,38 A	12,64 CDE	12,62 C
C.V. (%)	12,46		10,45	

Letras Maiúsculas: comparação entre médias dentro de cada coluna, separadamente para cada avaliação conduzida (Teste de Tukey, $p \leq 5\%$).

A comparação entre as médias referentes aos períodos de repouso no decorrer das épocas de colheita, não revelam diferenças significativas. Contudo notou-se pequena variação numérica nas épocas de colheitas, quanto às médias de

frutos extraídas logo após a colheita e submetidos ao repouso durante 7 dias. Essa variação pode estar relacionada à perda de água do fruto submetido ao repouso, devido às elevadas temperaturas e umidade relativa do ar variando de 61 a 90% durante o repouso.

Após os frutos terem atingido comprimento e diâmetro máximos, verificaram-se pequenas variações das médias, decrescendo até o final das colheitas, sendo possível considerar um parâmetro eficaz para auxiliar na caracterização do processo de maturação de sementes, não sendo um indicador satisfatório do ponto de maturidade fisiológica. Os resultados se assemelham aos observados por Carvalho (2014), com sementes de pimentão, onde o comprimento e o diâmetro dos frutos foram eficientes no acompanhamento da maturação.

Analisando a coloração dos frutos, determinada com auxílio do Munsell Book of Color (Tabela 4), observou-se a ocorrência de alterações de cor conforme progrediu o processo de maturação; constatou-se que os frutos colhidos de 5 a 25 dias após a antese (1^a colheita a 5^a colheita) apresentavam predominância da coloração amarelo-esverdeada (7.5 GY 8/8 e 7.5 GY 8/6); com a evolução da maturação, tornaram-se amarelo-avermelhado (7.5 YR 7/4) e, aos 65 dias (12^a colheita), atingiram coloração marrom (7.5YR 6/4). As variações das porcentagens de sementes com diferentes colorações durante a maturação são apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4. Coloração predominante dos frutos de quiabo colhidos em diferentes dias após a antese.

Colheita (DAA)	Porcentagem de ocorrência (%)	Cor dos Frutos		
		Observada	Hue Value Chroma	
5	60,0	Amarelo-esverdeado	7.5 GY 8/8
	40,0		7.5 GY 8/6
10	66,6	Amarelo-esverdeado	7.5 GY 8/6
	33,4		7.5 GY 8/8
15	53,3	Amarelo-esverdeado	7.5 GY 8/6
	46,7		7.5 GY 8/8
20	73,3	Amarelo-esverdeado	7.5 GY 8/6
	26,7		7.5 GY 8/8
25	53,3	Amarelo-esverdeado	7.5 GY 8/6
	6,7		7.5 GY 8/8
	40,0	Amarelo-avermelhado	7.5 YR 7/4
30	73,3	Amarelo-avermelhado	7.5 YR 7/4
	26,7	Amarelo-esverdeado	7.5 GY 8/6
35	80,0	Amarelo-avermelhado	7.5 YR 7/4
	20,0	Amarelo-esverdeado	7.5 GY 8/6
40	73,3	Amarelo-avermelhado	7.5 YR 7/4
	26,7	Amarelo-esverdeado	7.5 GY 8/6
45	60,0	Amarelo-avermelhado	7.5 YR 7/4
	26,7	Amarelo-esverdeado	7.5 GY 8/6
50	86,6	Amarelo-avermelhado	7.5 YR 7/4
	26,7	Amarelo-esverdeado	7.5 GY 8/6
55	53,3	Amarelo-avermelhado	7.5 YR 7/4
	33,3	Amarelo-esverdeado	7.5 GY 8/6
	13,4	Marrom	7.5YR 6/4
60	66,6	Amarelo-avermelhado	7.5 YR 7/4
	33,4	Marrom	7.5YR 6/4
65	86,6	Marrom	7.5YR 6/4
	13,4	Amarelo-avermelhado	7.5 YR 7/4

O exame da Tabela 4 permite verificar que conforme aumentava a ocorrência de frutos amarelo-avermelhado com o decorrer das épocas de colheita, houve decréscimo gradativo da presença de frutos de coloração amarelo-esverdeado; na sequência, as porcentagens correspondentes à presença de frutos na coloração

amarelo-avermelhado decrescem ocorrendo acréscimo da ocorrência de frutos de coloração marrom.

Aos 30 dias após a antese (6a colheita), as porcentagens correspondentes à coloração amarelo-esverdeado (7.5 GY 8/6) eram 26,7%; nesta mesma época a cor predominante dos frutos (73,3%) era 7.5 YR 7/4 (amarelo-avermelhado), observando-se que a coloração amarelo-avermelhado manteve-se até os 60 dias (12^a colheita).

Nota-se que a coloração dos frutos ou das sementes vem se mostrando como um parâmetro eficaz para caracterizar e identificar a maturidade de sementes. Na literatura, pesquisas realizadas com diferentes espécies relataram a eficiência da coloração na identificação do ponto de maturidade, como estudos realizados por Marcos-Filho (1980) com soja, Chamma et. al (1990) com feijão e Carvalho (2014) com pimentão.

As diferenças de coloração dos frutos identificadas visualmente também foram identificadas utilizando os componentes de cor R (red), G (green), B (blue) e escala de cinza (gray).

As análises dos dados obtidos pelo do software ImageJ®, revelaram diferenças para os efeitos épocas de colheita dos frutos; não foram constatados efeitos significativos para os componentes R, G e escala de cinza para os períodos de repouso e para a interação épocas de colheita x períodos de repouso; para o componente B, os dados revelavam diferenças significativas para os efeitos período de repouso e para a interação épocas de colheita x períodos de repouso.

Com base nos valores de intensidade de pixels, os quais se referem à concentração total de pixels em uma área da imagem, é possível verificar que todos os componentes de cores (RGB) e escala de cinza, permitiram identificar diferenças entre estádios de maturação dos frutos (Figura 4).

Figura 4. Valores de intensidade de pixel para cada componente de cor vermelho (R), verde (G) e azul (B) e escala de cinza para coloração de frutos de quiabo, logo após cada colheita; as barras indicam $\pm$ erro padrão da média.

Observou-se que após os 30 DAA (6^a colheita), ocorreu decréscimo dos valores correspondentes à escala de cinza (gray), do componente R (red) e G (green); para o componente B verificou-se aumento na quantidade de pixel.

Informações semelhantes foram obtidas para frutos submetidos ao repouso; verificou-se decréscimo dos valores dos componentes R, G e escala de cinza (Figura 5).

Para o componente de cor B (blue), verificaram-se diferenças significativas entre os períodos de repouso; frutos submetidos ao repouso de 7 dias, apresentaram variações nos valores de intensidade, após 30 DAA (6^a colheita). A intensidade de pixel refere-se ao número de pixels que a imagem apresenta para um componente específico, no caso do componente B (blue) por exemplo, a frequência de ocorrência de pixels corresponde ao comprimento de onda na faixa de 455 a 492 nanômetros do espectro eletromagnético.

Figura 5. Valores de intensidade de pixel para cada componente de cor vermelho (R), verde (G) e azul (B) e escala de cinza para coloração de frutos de quiabo, logo após cada colheita; as barras indicam $\pm$ erro padrão da média.

A utilização dos componentes R,G,B e escala de cinza mostrou-se eficiente para a caracterização da maturação de sementes de quiabo. Resultados semelhantes foram observados por Gomes-Junior, Arruda e Marcos- Filho (2017) em Swingle citrumele, permitindo a classificação de frutas em diferentes estádios de desenvolvimento.

4.1.2. Teor de água

O exame da Figura 6, onde são indicados os valores médios do teor de água, permite notar seu decréscimo com o decorrer das épocas de colheita e após os períodos de repouso, durante o processo de maturação.

No início do desenvolvimento observou-se que as sementes apresentaram teor de água elevado (próximo de 90%); aos 5 dias após a antese (1ª colheita), as sementes apresentavam 84,4% e 74,2% de água, imediatamente após a colheita e após 7 dias de repouso, respectivamente.

Esses valores decresceram durante o processo de maturação, até as sementes atingirem o equilíbrio higroscópico com a umidade relativa do ar, ou seja, aproximadamente 11% de água aos 50 dias após a antese (10^a colheita); essa tendência também foi observada em sementes submetidas ao repouso, que não apresentaram variações marcantes a partir dos 35 após a antese, 7^a colheita (Figura 6). Esse é um comportamento comum relatado para sementes durante a maturação (CARVALHO; NAWAGAYA, 2000).

Figura 6. Teor de água (%) durante a maturação de sementes de quiabo.

Os dados obtidos revelaram que sementes submetidas ao repouso durante 7 dias, apresentaram teor de água inferior ao das extraídas logo após a colheita. Essa tendência foi observada até aos 45 dias após a antese (9^a colheita); a partir dos 50 DAA (10^a colheita) verificou-se a estabilização do teor de água, para sementes submetidas ou não ao repouso pós-colheita.

Comportamento semelhante foi observado por Barbedo (1990), em sementes de pepino, o qual relata redução no teor de água para sementes submetidas aos períodos de repouso.

4.1.3. Determinação da Matéria Seca

A análise da variância dos dados referentes à massa da matéria seca de sementes revelaram valores de F significativos para os efeitos épocas de colheita, períodos de repouso e para a interação épocas de colheita x períodos de repouso.

O acúmulo de matéria seca nas sementes foi caracterizado como lento no início do desenvolvimento, até 15 dias após a antese (3^a colheita), sendo intensificado até atingir o máximo, aos 30 dias após a antese (6^a colheita), conforme Figura 7. Resultados semelhantes foram obtidos por Chamma et. al (1990) com feijão, Demir e Ellis (1992) com pimentão, TeKrony e Egli (1997) com soja, Demir et. al (2002) com berinjela e Abud (2013) com pimenta.

Após atingir a máxima matéria seca, aos 30 (DAA), não ocorreram mais acréscimos significativos, havendo uma estabilização até o final das colheitas tanto em sementes recém-colhidas, como nas submetidas ao período de repouso; conforme mostra Delouche (1971) após máximo acúmulo da massa da matéria seca, as sementes podem ser consideradas como fisiologicamente maduras.

* Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (épocas) ou minúscula (períodos de repouso) não diferem significativamente entre si ($p \leq 0,05$); CV (%): 7,90.

Figura 7. Matéria seca durante a maturação de sementes de quiabo.

O exame das médias de sementes submetidas aos períodos de repouso no decorrer das épocas de colheita, revela diferenças significativas entre 5, 10 e 15 DAA (1^a, 2^a e 3^a colheita).

No momento em que a semente atingiu o ponto de maturidade fisiológica, aos 30 DAA (6^a colheita), o teor de água ainda era elevado, implicações tecnológicas, principalmente relacionadas às operações colheita e secagem, impedem a colheita nessa época.

Sugere-se que a colheita de sementes de quiabo “Santa Cruz” seja efetuada quando os frutos apresentarem coloração predominante amarelo-avermelhado e teor de água entre 50-40%, ou assim que possível; a cultura possui florescimento indeterminado, exigindo frequentemente a execução de colheitas parceladas para a obtenção de sementes com melhor potencial fisiológico.

4.1.4. Germinação

4.1.4.1. Sementes não escarificadas

As análises dos dados de germinação de sementes não escarificadas, relevaram valores de F significativos para os efeitos épocas de colheita, períodos de repouso e para a interação épocas de colheita x períodos de repouso.

Para sementes extraídas logo após colheita, a germinação foi nula até aos 25 DAA (5^a colheita); a partir desta época, aumentou significativamente, com máxima ocorrendo aos 55 DAA (11^a colheita), ou seja, em época posterior à de ocorrência de máxima matéria seca (Tabela 5).

Nota-se que as médias de germinação, para sementes recém-colhidas, aos 35 até 65 DAA (7^a a 13^a colheita), não diferiram entre si e foram estatisticamente superiores de sementes colhidas aos 30 DAA (6^a colheita).

Para sementes que permaneceram em repouso durante 7 dias, verificou-se germinação nula até aos 15 DAA (3^a colheita), com o decorrer das colheitas verificou-se acréscimos, atingindo porcentagem máxima aos 50 DAA (10^a colheita).

Examinando as médias referentes às sementes submetidas ao período de repouso, constatou-se que as médias obtidas entre os 40 e 65 DAA (8^a a 13^a colheita), não apresentaram diferenças entre si, sendo superiores às das demais épocas de colheita.

Ainda de acordo com a Tabela 5, o exame das médias de sementes submetidas aos períodos de repouso no decorrer das épocas de colheita, revela diferenças significativas entre 20, 25, 30, 45 e 50 DAA (4^a, 5^a, 6^a, 9^a e 10^a colheita).

Nota-se que sementes submetidas ao repouso apresentaram germinação superior à das extraídas logo após a colheita; para as demais épocas (5 à 15 DAA e de 55 a 65 DAA), os dados obtidos não revelaram diferenças significativas entre os períodos de repouso. Resultados semelhantes foram obtidos por Castro, Godoy e Cardoso (2008), em sementes de quiabo, onde o armazenamento favoreceu a germinação.

Aa análises dos dados de porcentagem de sementes vivas revelaram valores de F significativos para os efeitos épocas de colheita e para a interação épocas de colheita x períodos de repouso; não houve efeitos significativos para períodos de repouso.

Verificaram-se porcentagens muito baixas de sementes vivas, apresentando variações durante a maturação, com valores próximos a zero, representando proporções insignificantes no teste de germinação.

As análises dos dados de sementes mortas revelaram valores de F significativos para os efeitos épocas de colheita, períodos de repouso e para a interação épocas de colheita x períodos de repouso.

Os dados revelaram porcentagens elevadas no início das colheitas, decrescendo significativamente durante a maturação; provavelmente, nas primeiras colheitas, as sementes apresentavam baixa tolerância à dessecação e com o decorrer do processo de maturação, as sementes tornaram-se mais tolerantes à dessecação.

De acordo com Bewley et al. (2013), ao se aproximarem da maturidade, as sementes se tornam mais tolerantes à dessecação e apresentam maior capacidade de germinação.

Nota-se que até a 5^a colheita, as sementes recém-colhidas, apresentavam germinação nula; contudo, após 7 dias de repouso, algumas sementes germinaram. Esse fato justifica-se, pois em sementes submetidas ao repouso, a desidratação é mais lenta, permitindo a organização do sistema de membranas e conclusão do processo de maturação, favorecendo deste modo a germinação (MARCOS-FILHO, 2015).

4.1.4.1.1. Primeira contagem de germinação (Vigor)

As análises dos dados da primeira contagem de germinação revelaram valores de F significativos para os efeitos épocas de colheita, períodos de repouso e para a interação épocas de colheita x períodos de repouso.

O exame da Tabela 5, permite verificar que, para sementes extraídas logo após a colheita, a porcentagem foi nula até aos 25 DAA (5^a colheita); com o decorrer das colheitas, as médias aumentaram significativamente, atingindo o máximo aos 55 DAA (11^a colheita) decrescendo até o final das colheitas.

Comparando-se as médias de sementes extraídas logo após a colheita, observou-se que não houve diferenças significativas de sementes colhidas aos 45 a

55 DAA (9^a a 11^a colheita), sendo estatisticamente superiores às constatadas nas demais épocas de colheita.

Para sementes submetidas ao período de repouso, notou-se essa mesma tendência, ou seja, as médias referentes à primeira contagem do teste de germinação, com o decorrer das épocas de colheita verificou-se acréscimos, atingindo o máximo aos 50 DAA (10^a colheita).

Verificou-se que sementes submetidas ao repouso não apresentaram diferenças entre si aos 35, 45 e 55 DAA (7^a, 9^a e 11^a colheita), se diferenciando das demais épocas de colheita.

De acordo com a Tabela 5, o exame das médias de sementes submetidas aos períodos de repouso no decorrer das épocas de colheita, revelam diferenças significativas entre as médias obtidas entre 25 a 55 DAA (5^a a 11^a colheita).

Nota-se que sementes submetidas ao repouso apresentaram no teste de primeira contagem de germinação valores superiores à das extraídas logo após a colheita. Resultados semelhantes foram encontrados por Sanches et al. (1993) com sementes de pimentão, Castro, Godoy e Cardoso (2008), em sementes de quiabo e por Silva, Soares e Vale (2016) com sementes de pimenta.

4.1.4.1.2. Sementes duras

As análises dos dados de porcentagem de sementes duras no teste de germinação, revelaram valores de F significativos para os efeitos épocas de colheita, períodos de repouso e para a interação épocas de colheita x períodos de repouso.

Verificou-se que para sementes extraídas logo após a colheita, a porcentagem de sementes duras foi nula até aos 25 DAA (5^a colheita), apresentando variações durante a maturação, com porcentagens de ocorrência muito baixa, com valor máximo de 6% ocorrendo aos 65 DAA (13^a colheita). De acordo com Demir (1997), em quiabo, a formação de sementes duras normalmente ocorre no final do período de maturação, pela maior exposição dos frutos a condições climáticas.

Nota-se, para sementes submetidas ao repouso que a porcentagem de sementes duras foi nula até aos 15 DAA (3^a colheita), variando sua ocorrência com o decorrer das épocas de colheita, atingindo porcentagem máxima de sementes duras,

aos 25 DAA (5^a colheita), anteriormente ao momento de máximo acúmulo de matéria seca.

O exame das médias de sementes duras submetidas aos períodos de repouso no decorrer das épocas de colheita, revela diferenças significativas entre 20, 25, 30, 35 e 65 DAA (4^a, 5^a, 6^a, 7^a e 13^a); nota-se que sementes submetidas ao repouso apresentaram maior ocorrência de sementes duras. Estudos realizados por Setúbal et al. (1996), em sementes de quiabo, verificaram que o armazenamento das sementes no interior dos frutos, propiciou aumento na porcentagem de sementes duras.

4.1.4.2. Sementes escarificadas

4.1.4.2.1. Germinação

A análise dos dados de germinação de sementes escarificadas com ácido sulfúrico, revelaram valores de F significativos para os efeitos épocas de colheita, períodos de repouso e para a interação épocas de colheita x períodos de repouso.

Verificou-se, para sementes extraídas logo após as colheitas, que a germinação foi nula até aos 25 DAA (5^a colheita); com o decorrer das épocas de colheita as porcentagens de germinação aumentaram significativamente, com máxima (85%) aos 50 DAA (10^a colheita), conforme Tabela 6.

Nota-se que as médias de germinação, para sementes recém-colhidas, aos 35 até 65 DAA (7^a a 13^a colheita) não diferiram entre si e foram estatisticamente superiores as das demais épocas de colheita.

Os dados revelaram que sementes colhidas aos 35 dias, sem repouso, submetidas a escarificação química, apresentaram germinação mínima aceitável para comercialização de 70%.

Para sementes submetidas ao repouso durante 7 dias, a germinação foi nula até aos 15 DAA (3^a colheita); a partir dessa época, a germinação aumentou significativamente, com máxima porcentagem (94%), aos 50 DAA (10^a colheita).

A comparação do comportamento das sementes submetidas ao período de repouso no decorrer das épocas de colheita, revelam diferenças significativas entre médias obtidas dos 20 aos 55 DAA (4^a a 11^a colheita); nota-se que sementes

submetidas ao repouso apresentaram germinação superior à das extraídas logo após a colheita.

Observou-se que, em geral, sementes escarificadas, apresentaram porcentagem de germinação superior à das não escarificadas, revelando a eficiência deste tratamento, favorecendo a porcentagem de germinação. Resultados semelhantes foram observados por Picolotto et al. (2013) em sementes de urucum, em que a utilização de ácido sulfúrico para escarificação, favoreceu a germinação de sementes.

As análises dos dados de porcentagem de sementes vivas revelaram valores de F significativos para os efeitos épocas de colheita e para a interação épocas de colheita x períodos de repouso; não houve efeitos significativos para períodos de repouso.

Verificando-se a vitalidade das sementes (teste de tetrazólio), notou-se que as médias referentes a sementes vivas foram próximas a zero, com proporções insignificantes no teste de germinação.

A análise dos dados de sementes mortas revelaram valores de F significativos para os efeitos épocas de colheita, períodos de repouso e para a interação épocas de colheita x períodos de repouso.

No início do desenvolvimento, as sementes extraídas logo após a colheita apresentavam porcentagens elevadas de sementes mortas, decrescendo consideravelmente durante o processo de maturação; essa tendência também foi observada para sementes submetidas ao período de repouso.

O exame das médias de sementes de sementes submetidas aos períodos de repouso no decorrer das épocas de colheita, relevam diferenças significativas entre 20 aos 45 DAA (4^a a 9^a colheita).

4.1.4.2.2. Primeira contagem de germinação

As análises dos dados da primeira contagem de germinação de sementes escarificadas revelaram valores de F significativos para os efeitos épocas de colheita, períodos de repouso e para a interação épocas de colheita x períodos de repouso.

Na Tabela 6, verificou-se que sementes extraídas logo após a colheita, apresentaram valores nulos até aos 25 DAA (5^a colheita); com o decorrer das épocas de colheita ocorreu acréscimo na porcentagem de germinação, atingindo valor máximo aos 50 DAA (10^a colheita), diferindo das demais épocas de colheita.

Para sementes que permaneceram em repouso durante 7 dias, verificou-se valores nulos até aos 15 DAA (3^a colheita), aumentando significativamente com o decorrer das colheitas, atingindo porcentagem máxima aos 50 DAA (10^a colheita).

O exame das médias de sementes submetidas aos períodos de repouso no decorrer das épocas de colheita, revelam diferenças significativas entre 20 aos 65 DAA (4^a a 13^a colheita); nota-se que sementes submetidas ao repouso apresentaram germinação superior à das extraídas logo após a colheita.

De acordo Martins e Nakagawa (2008), a utilização de ácido sulfúrico, em sementes de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.), pode favorecer a porcentagem obtida no teste de primeira contagem de germinação.

4.1.4.2.3. Sementes duras

As análises dos dados de porcentagem de sementes duras no teste de germinação revelaram valores de F significativos para os efeitos épocas de colheita, períodos de repouso e para a interação épocas de colheita x períodos de repouso.

Verificou-se, para sementes extraídas logo após a colheita, que a porcentagem de sementes duras foi nula até aos 25 DAA (5^a colheita), apresentando variações da sua ocorrência durante a maturação, com porcentagem de ocorrência muito baixas, com valor máximo de 5%, aos 65 DAA (13^a colheita).

Nota-se, para sementes submetidas ao repouso que, as porcentagens de sementes duras foram nulas até aos 15 DAA (3^a colheita), variando sua ocorrência das épocas de colheita; atingindo porcentagens máximas de sementes duras aos 25 DAA (5^a colheita).

Examinando os dados referentes aos períodos de repouso no decorrer das épocas de colheita, verificaram-se diferenças significativas para sementes colhidas aos 20, 25, 30, 35, 40, 45 e 65 DAA (4^a, 5^a, 6^a, 7^a, 8^a, 9^a e 13^a colheita); indicando maiores porcentagens de sementes duras para sementes submetidas ao repouso.

Observou-se que, sementes escarificadas, apresentaram menor ocorrência de sementes duras, evidenciando a eficiência deste tratamento; resultados semelhantes foram observados em estudos realizados por Barbosa et al. (2005), com sementes de *Strelitzia reginae*, os quais relataram decréscimo nas porcentagens de sementes duras, após utilização de ácido sulfúrico para escarificação das sementes.

Tabela 5. Sementes não escarificadas: germinação, primeira contagem de germinação, sementes duras, sementes vivas e sementes mortas de sementes de quiabo.

Colheita	Germinação (%)		Primeira Contagem (%)		Sementes Duras(%)		Sementes Vivas (%)		Sementes Mortas (%)	
	Após colheita	Repouso	Após colheita	Repouso	Após colheita	Repouso	Após colheita	Repouso	Após colheita	Repouso
5	0 Ca	0 Ea	0 Da	0 Fa	0 Ba	0 Ea	0 Ca	0 Ca	100 Aa	100 Aa
10	0 Ca	0 Ea	0 Da	0 Fa	0 Ba	0 Ea	0 Ca	0 Ca	100 Aa	100 Aa
15	0 Ca	0 Ea	0 Da	0 Fa	0 Ba	0 Ea	0 Ca	0 Ca	100 Aa	100 Aa
20	0 Cb	20 Da	0 Da	1 Efa	0 Bb	6 CDEa	0 Cb	2 Aa	100 Aa	36 Bb
25	0 Cb	51 Ca	0 Db	5 Ea	0 Bb	18 Aa	0 Ca	0 Ca	100 Aa	12 Eb
30	31 Bb	44 Ca	5 Cb	11 Da	2 ABb	11 BCa	0 Ca	0 Ca	41 Ba	33 Cb
35	72 Aa	52 Cb	9 Cb	13 Aa	0 Bb	7 CDa	0 Cb	1 Ba	8 Db	19 Da
40	76 Aa	80 Aba	22 Bb	27 Ba	2 Aba	0 Ea	1 Ba	0 Cb	9 Da	3 Fb
45	69 Ab	81 Aba	29 Ab	33 Aa	1 Aba	0 Ea	1 Ba	0 Cb	17 Ca	1 FGb
50	80 Ab	89 Aa	30 Ab	35 Aa	0 Ba	1 EFa	0 Ca	0 Ca	0 Ea	0 Ga
55	83 Aa	85 Aba	31 Aa	21 Cb	0 Ba	1 EFa	0 Ca	0 Ca	2 Ea	0 Gb
60	82 Aa	78 Aba	19 Ba	20 Ca	1 Aba	3 DEFa	0 Cb	1 Ba	0 Ea	0 Ga
65	75 Aa	71 Ba	20 Ba	18 Ca	6 Ab	16 ABa	3 Ab	2 Aa	0 Ea	0 Ga
C.V. (%)	13,25		13,96		80,29		65,56		2,85	

Letras Maiúsculas: comparação entre médias dentro de cada coluna; letras minúsculas: comparação dentro de cada linha, separadamente para cada teste conduzido ($p \leq 0,05$).

Tabela 6. Sementes submetidas a escarificação química: germinação, primeira contagem de germinação, sementes duras, sementes vivas e sementes mortas de sementes de quiabo.

Colheita	Germinação (%)*		Primeira Contagem (%)*		Sementes Duras (%)*		Sementes Vivas (%)*		Sementes Mortas (%)*	
	Após colheita	Repouso	Após colheita	Repouso	Após colheita	Repouso	Após colheita	Repouso	Após colheita	Repouso
5	0 Da	0 Ea	0 Fa	0 Ea	0 Ba	0 Fa	0 Ca	0 Ba	100 Aa	100 Aa
10	0 Da	0 Ea	0 Fa	0 Ea	0 Ba	0 Fa	0 Ca	0 Ba	100 Aa	100 Aa
15	0 Da	0 Ea	0 Fa	0 Ea	0 Ba	0 Fa	0 Ca	0 Ba	100 Aa	100 Aa
20	0 Db	24 Da	0 Fb	3 Ea	0 Bb	4 DEa	0 Ca	0 Ba	83 Ba	71 Bb
25	0 Db	54 Ca	0 Fb	7 Da	0 Bb	13 Aa	1 BCa	0 Bb	97 Aa	72 Bb
30	44 Cb	51 Ca	8 Eb	19 Ca	2 ABb	8 BCa	0 Ca	0 Ba	26 Cb	40 Ca
35	76 Aba	55 Cb	13 Db	22 Ca	0 Bb	5 CDa	2 Ba	2 Aa	14 Db	27 Da
40	78 ABb	85 Aba	24 Cb	33 Ba	2 Aba	0 Fb	0 Cb	2 Aa	11 DEa	0 Eb
45	73 Bb	86 Aba	26 BCb	31 Ba	2 Aba	0 Fb	1 BCa	0 Bb	8 Ea	2 Eb
50	85 Ab	94 Aa	34 Ab	38 Aa	0 Ba	0 Fa	0 Cb	1 ABa	0 Fa	0 Ea
55	85 Ab	91 Aba	28 Bb	31 Ba	0 Ba	1 EFa	4 Aa	0 Bb	0 Fa	0 Ea
60	84 Aa	83 Ba	24 Cb	30 Ba	2 Aba	2 DEFa	0 Cb	2 Aa	0 Fa	0 Ea
65	78 ABb	84 Aba	24 Cb	31 Ba	5 Ab	10 ABa	1 BCa	1 ABa	0 Fa	0 Ea
C.V. (%)	8,24		9,29		59,01		77,44		3,73	

*Sementes Submetidas a escarificação química

Letras Maiúsculas: comparação entre médias dentro de cada coluna; letras minúsculas: comparação dentro de cada linha, separadamente para cada teste conduzido ($p \leq 0,05$).

4.1.5. Emergência de plântulas em casa de vegetação

Em relação à emergência de plântulas em casa de vegetação, as análises dos dados revelaram valores de F significativos para os efeitos épocas de colheita, para períodos de repouso e para a interação épocas de colheita x períodos de repouso.

Para sementes extraídas logo após a colheita, verificaram-se valores nulos de emergência de plântulas até aos 25 DAA (5^a colheita); com o decorrer das épocas de colheita ocorreram acréscimos na porcentagem de emergência, atingindo valor máximo aos 50 DAA (10^a colheita), diferindo das demais épocas de colheita.

Para sementes submetidas ao repouso, observaram-se valores nulos de emergência até aos 15 DAA (3^a colheita); com o decorrer das épocas de colheita, verificaram-se acréscimos na porcentagem de emergência de plântulas, com valor máximo aos 45 DAA (9^a colheita).

Examinando os dados referentes aos períodos de repouso no decorrer das épocas de colheita, verificaram-se diferenças significativas entre 20, 25, 35 até 65 DAA (4^a, 5^a, 7^a a 13^a colheita), apresentando comportamento distinto aos 45 DAA; nas demais épocas observa-se que o repouso favoreceu a emergência de plântulas.

Resultados semelhantes foram observados em mamão (AROUCHA et al., 2005) e abóbora híbrida (COSTA et al., 2006), em que o período de repouso favoreceu a emergência de plântulas.

Tabela 7. Porcentagens de emergência de plântulas e de sementes duras durante a maturação de sementes de quiabo colhidas em diferentes épocas e submetidas a períodos de repouso.

Colheita	Emergência (%)		Sementes duras (%)	
	Após colheita	Repouso	Após colheita	Repouso
5	0 Há	0 Ha	0 Da	0 Da
10	0 Há	0 Ha	0 Da	0 Da
15	0 Há	0 Ha	0 Da	0 Da
20	0 Hb	25 Ga	0 Db	6 Ca
25	0 Hb	47 Ea	0 Db	20 Aa
30	36 Ga	36 Fa	1 CDb	16 Ba
35	87 Cb	96 Aa	0 Da	1 Da
40	81 Db	90 Ba	4 BAa	0 Db
45	92 Bb	100 Aa	3 BCa	0 Db
50	100 Aa	68 Db	0 Da	0 Da
55	75 Eb	87 BCa	0 Db	2 Da
60	58 Fb	83 Ca	4 BAa	2 Db
65	60 Fb	87 BCa	6 Ab	8 Ca
C.V. (%)	3,37		32,26	

Letras Maiúsculas: comparação entre médias dentro de cada coluna; letras minúsculas: comparação dentro de cada linha, separadamente para cada teste conduzido ($p \leq 0,05$).

As análises dos dados da porcentagem de sementes duras no teste de emergência de plântulas, revelaram valores de F significativos para os efeitos épocas de colheita, para períodos de repouso e para a interação épocas de colheita x períodos de repouso.

Verificou-se que para sementes extraídas logo após a colheita, a porcentagem de sementes duras no teste de emergência de plântulas, foi nula até aos 25 DAA (5^a colheita).

Observou-se variações na ocorrência de sementes duras durante a maturação, com porcentagens muito baixas, com valor máximo de 6%, aos 65 DAA (13^a colheita), essa tendência também observada no teste de germinação.

Nota-se, para sementes submetidas ao repouso, que a porcentagem de sementes duras no teste de emergência de plântulas, foi nula até aos 15 DAA (3^a colheita), atingindo porcentagem máxima, aos 25 DAA (5^a colheita), anteriormente ao momento de máximo acúmulo de matéria seca.

O exame das médias de sementes submetidas aos períodos de repouso no decorrer das épocas de colheita, revelam diferenças significativas entre as médias obtidas aos 20, 25, 30, 35, 40, 45, 55, 60, 65 DAA (4^a, 5^a, 6^a, 7^a, 8^a, 9^a, 11^a, 12^a e 13^a colheita). Nota-se que sementes submetidas ao repouso apresentaram maior ocorrência de sementes duras, se assemelhando aos resultados do teste de germinação.

4.2. Avaliação da morfologia interna das sementes

O exame das radiografias de sementes de quiabo, obtidas pelo teste de raios X, permitiram avaliar a condição interna das sementes. Os resultados revelaram diferenças morfológicas entre sementes colhidas em diferentes épocas, sendo possível o acompanhamento do processo de maturação de sementes, conforme mostra Tabela 8.

A análise da morfologia interna das sementes permitiu detectar a presença sementes vazias, mal formadas e cheias (totalmente formadas) durante o processo de maturação.

Embora não tenha sido realizada análise estatística para as avaliações de raios X as análises dos dados indicaram a eficiência da utilização da técnica para avaliação da morfologia interna das sementes.

Tabela 8. das imagens radiográficas com a porcentagem de ocorrência de plântulas normais (PN), plântulas anormais (PA), sementes mortas (SM) e sementes dormentes (SD), durante a maturação de sementes de quiabo.

Colheita (DAA)	Raios X	Repouso (dias)	PN	PA	SM	SD

5		0	0	0	100	0
		7	0	0	100	0
10		0	0	0	100	0
		7	0	0	100	0
15		0	0	0	100	0
		7	0	0	100	0
20		0	0	0	100	0
		7	20	36	36	8
25		0	0	0	100	0
		7	51	19	12	18
30		0	31	16	41	2
		7	44	12	33	11
35		0	72	20	7	0
		7	52	21	19	8
40		0	76	12	9	3
		7	80	17	3	0
45		0	69	12	17	2
		7	81	18	1	0
50		0	80	20	0	0
		7	89	10	0	1
55		0	83	15	2	0
		7	85	14	0	1
60		0	82	17	0	1
		7	78	18	0	4
65		0	75	16	0	7
		7	71	12	0	16

Analisando as radiografias de sementes extraídas logo após a colheita, até aos 25 DAA (5ª colheita), verificou-se a presença de sementes vazias e mal

formadas, resultando em maiores porcentagens de sementes mortas (Tabela 8). Conforme progrediu a maturação, houve decréscimo das sementes mal formadas e consequentemente observaram-se menores porcentagens de sementes mortas.

A partir de 30 DAA (6^a colheita) verificou-se aumento significativo de sementes cheias (totalmente formadas), atingindo valores máximos de germinação aos 50 DAA (10^a colheita); neste período a presença de sementes mortas foi nula.

Para sementes submetidas ao repouso, notou-se que a partir dos 20 DAA (4^a colheita) a porcentagem de sementes mortas decresceu consideravelmente verificando-se o acréscimo gradativo de plântulas normais.

Verificou-se que sementes parcialmente formadas aos 20 DAA (4^a colheita) não foram capazes de formar plântulas normais. Neste estudo, a maior ocorrência de plântulas anormais foi identificada no início do desenvolvimento aos 20 DAA, em sementes submetidas ao repouso. Em pesquisas realizadas com outras espécies, também foi observado que sementes parcialmente formadas não germinaram ou originaram plântulas anormais, para sementes de aroeira (MACHADO; CICERO, 2003) e pimentão (GAGLIARDI; MARCOS-FILHO, 2011).

A partir de 25 DAA (5^a colheita) observou-se aumento significativo de sementes cheias (totalmente formadas), verificando-se valores máximos de germinação aos 50 DAA, apresentando valores nulos de sementes mortas neste período.

Em pesquisa conduzida com sementes de mamona, observou-se que aquelas consideradas cheias, ou seja, totalmente formadas, apresentaram maiores porcentagens de germinação (CARVALHO; ALVES; OLIVEIRA, 2010).

Nota-se, conforme a evolução do processo de maturação, que a quantidade de sementes vazias e das parcialmente formadas diminuiu consideravelmente, aumentando progressivamente a quantidade de sementes cheias, resultando em maiores porcentagens de germinação.

Para a variável semente dura, observou-se comportamento diferenciado tanto nas épocas de colheita e quanto períodos de repouso, não seguindo uma tendência durante processo de maturação.

4.2.1. Avaliação do espaço livre na cavidade interna das sementes e *Aspect ratio*

4.2.1.1. Espaço livre na cavidade interna das sementes

A análise dos dados de porcentagem de espaço livre na cavidade interna das sementes revelaram valores de F significativos para os efeitos épocas de colheita e para a interação épocas de colheita x períodos de repouso; não houve efeitos significativos de período de repouso.

No início do desenvolvimento, as sementes extraídas logo após a colheita apresentavam maior espaço livre, cerca de 99,7%, ocorrendo redução com a evolução do processo de formação da semente (Tabela 8).

Examinando as médias de espaço livre, para sementes extraídas logo após a colheita, verificaram-se valores elevados aos 5 e 10 DAA, (1^a e 2^a colheita), havendo decréscimos significativos das médias a partir de 15 DAA (3^a colheita) até o final das colheitas.

Para sementes que permaneceram em repouso durante 7 dias, verificaram-se valores máximos de espaço vazio aos 5 e 10 DAA (1^a e 2^a colheita) ocorrendo redução do espaço livre com o decorrer das colheitas, notou-se que o menor valor foi constatado aos 50 DAA (10^a colheita), conforme Tabela 9.

O exame das médias de espaço livre em sementes submetidas aos períodos de repouso no decorrer das épocas de colheita, revelam diferenças significativas aos 20 DAA (4^a colheita), pois sementes extraídas após a colheita apresentaram valores superiores; aos 40 DAA (8^a colheita) sementes submetidas ao repouso originaram maiores médias de espaço livre em relação as sementes recém-colhidas, com diferenças significativas.

Tabela 9. Variação do espaço livre na cavidade interna das sementes e *Aspect ratio* durante a maturação de sementes de quiabo.

Colheita	Espaço livre na cavidade interna		<i>Aspect ratio</i>	
	Repouso 0	Repouso	Repouso 0	Repouso
5	99,76 Aa	99,85 Aa	1,42 A	1,35 A
10	99,97 Aa	99,73 Aa	1,39 A	1,41 A
15	19,61 Ba	21,06 Ba	1,18 B	1,20 B
20	17,98 Ba	13,95 Cb	1,14 BC	1,13 BC
25	7,98 Ca	9,4 Da	1,15 BC	1,11 BC
30	3,62 Da	4,85 Ea	1,13 BC	1,09 C
35	2,74 Da	1,97 EFa	1,08 C	1,13 BC
40	1,5 Db	3,42 EFa	1,12 BC	1,14 BC
45	2,15 Da	2,44 EFa	1,14 BC	1,18 B
50	1,32 Da	0,77 Fa	1,11 BC	1,14 BC
55	1,5 Da	1,63 Fa	1,11 BC	1,15 BC
60	1,85 Da	2,23 EFa	1,12 BC	1,14 BC
65	0,5719 Da	1,64 Fa	1,12 BC	1,13 BC
C.V. (%)	6,35		3,07	

Letras Maiúsculas: comparação entre médias dentro de cada coluna; letras minúsculas: comparação dentro de cada linha, separadamente para cada teste conduzido ($p \leq 0,05$).

Examinando os dados, de forma geral, verificou-se que durante a evolução da maturação, o espaço interno livre foi reduzido significativamente, com valores próximos a 1 aos 50 (10^a colheita) e 65 DAA (13^a colheita).

Nesta pesquisa, foi possível constatar relação do espaço livre com a maturação das sementes, podendo-se utilizar essa variável como indicativo do ponto de maturidade fisiológica das sementes, quando atingir valores iguais ou inferiores a 4,85%.

De acordo com os resultados obtidos por meio do software ImageJ[®], menores porcentagens de área livre na cavidade interna das sementes, resultaram em maiores porcentagens de germinação.

Observou-se que sementes com porcentagem de espaço interno livre superior a 17,98%, apresentaram germinação nula; a maior porcentagem de germinação foi atingida aos 50 dias após a antese (10^a colheita), quando o espaço livre era de 0,77%. Resultados semelhantes foram observados em sementes de citrumelo 'Swingle' (ARRUDA, 2016) mamona (CAVALHO; ALVES; OLIVEIRA, 2010) e

pimentão (DELL'ÁQUILA, 2007a); evidenciando a eficiência da utilização do software ImageJ® para mensurar o espaço livre na cavidade da semente.

4.2.1.2. Aspect ratio

A análise dos dados de *aspect ratio* revelaram valores de F significativos para os efeitos épocas de colheita; não houve efeitos significativos de períodos de repouso nem para a interação épocas de colheita x períodos de repouso.

As médias referentes ao *aspect ratio*, para sementes extraídas logo após a colheita, indicam valores máximos 5 e 10 DAA (1^a e 2^a colheita), conforme Tabela 8.

Para sementes submetidas ao repouso, nota-se valores máximos aos 5 e 10 DAA, não se diferenciando entre si e sendo estatisticamente superiores as demais colheitas (15 a 65 DAA).

O exame das médias de sementes submetidas aos períodos de repouso no decorrer das épocas de colheita, não revelam diferenças significativas entre sementes recém-colhidas e submetidas ao repouso.

De modo geral, verificou-se que, durante a maturação, as sementes passaram por alterações morfológicas, tornando-se mais esféricas de acordo com seu desenvolvimento, *aspect ratio* próximo de 1,0, ou seja, quanto mais próximo a 1,0 a relação entre o maior e menor eixo que circunscreve a semente, mais esférica a semente.

Verificou-se que sementes colhidas aos 5 dias após a antese, apresentaram valores de *aspect ratio* próximos a 1,4, enquanto em colheitas realizadas próximas aos 30 dias, quando a semente atingiu o ponto de maturidade fisiológica, observou-se maior percentual de sementes com valores próximos a 1,0, conforme Tabela 8. Contudo, observa-se que, para o parâmetro *aspect ratio*, não houve uma tendência de decréscimo dos dados ou estabilização em 1,0, após a semente atingir os o ponto de maturidade fisiológica.

De acordo com Wendt et. al. (2014), a utilização de parâmetros que avaliam se as sementes são esféricas, podem ser úteis para o controle de qualidade de sementes.

A utilização desta variável possibilita o acompanhamento das alterações morfológicas durante o processo de maturação; contudo, não se mostra um

parâmetro consistente para identificação do ponto de maturidade fisiológica em sementes de quiabo.

4.2.2. Análise da anatomia da testa por microscopia eletrônica

O exame das eletromicrografias da testa das sementes de quiabo, obtidas por microscopia eletrônica de varredura, possibilitou a observação das células estruturais da testa, identificando-se a cutícula, a epiderme (camadas das células paliçádicas), a hipoderme (células em “ampulheta”) e as células parenquimáticas, conforme Figura 8.

Figura 8. Eletromicrografias de varredura da testa de sementes de quiabo colhido aos 20 dias após a antese. A) Sementes dormentes B) Sementes não dormentes; (a: cutícula, b: epiderme, c: hipoderme e d: células parenquimáticas).

Os cortes das sementes de quiabo, como indicado pelas eletromicrografias, apresentam estrutura altamente organizada na testa; o mesmo pode ser verificado em sementes de outras espécies (AGBO et al., 1987).

Observa-se que em sementes dormentes, as células da camada das células paliçádicas (epiderme) e as células em “ampulheta” (hipoderme), apresentaram diferenças quanto à espessura durante a maturação; essa tendência foi observada em todas as épocas de colheita, conforme Tabela 10.

Tabela 10. Espessura média da epiderme e hipoderme de sementes sem e com dormência durante a maturação de sementes de quiabo.

Colheita	Repouso	Espessura (μm)			
		Ausência de dormência		Sementes dormentes	
		Epiderme	Hipoderme	Epiderme	Hipoderme
20	0	-*	-	-	-
	7	59,19	83,71	70,11	95,94
25	0	-	-	-	-
	7	69,15	89,75	70,81	91,63
30	0	67,84	77,08	72,77	86,08
	7	68,93	69,06	78,11	87,47
35	0	-	-	-	-
	7	67,07	87,64	77,24	93,49
40	0	66,61	84,45	76,50	87,79
	7	-	-	-	-
45	0	59,31	82,99	71,59	91,76
	7	-	-	-	-
50	0	71,41	84,32	74,25	89,36
	7	67,14	84,64	71,52	84,58
55	0	-	-	-	-
	7	68,10	76,77	69,82	90,72
60	0	74,15	87,73	75,56	93,33
	7	72,67	91,22	74,28	96,78
65	0	65,31	86,43	77,01	97,36
	7	64,82	82,07	65,94	86,69
Média		67,26	83,42	73,25	90,50

*- ausência de sementes dormentes nesta época de colheita.

Verificou-se em todas as épocas de colheita, que a hipoderme apresentou-se mais espessa que a epiderme, com médias de 83,42 e 90,50 μm para sementes sem e com dormência respectivamente. Estes resultados se assemelham ao citado por Esau (1977), afirmando, que sementes com impermeabilidade no tegumento, apresentam maiores espessuras das camadas da testa.

Examinando as médias de espessura de epiderme e hipoderme, nota-se que, durante a evolução de maturação, as sementes apresentaram comportamento distinto quanto à espessura de suas camadas, não sendo possível estabelecer diferenças concretas entre às épocas de colheita e períodos de repouso.

Diante disso, verificou-se que a análise da anatomia da testa por microscopia possibilitou a observação e identificação das células estruturais da testa e

diferenciação de sementes com e sem dormência, não possibilitando a caracterização da maturação.

4.2.3. Considerações Gerais

Diante do conjunto de informações obtidas durante o estudo da maturação de sementes de quiabo, em diferentes épocas de colheita e períodos de repouso, estudou-se processo de maturação, identificando o ponto de maturidade fisiológica e possíveis alterações morfológicas.

As características físicas dos frutos, forneceram informações referentes ao diâmetro, comprimento e coloração dos frutos; com esse estudo verificou-se a eficácia da utilização do tamanho do fruto para a caracterização da maturação.

Quanto à determinação da coloração dos frutos, verificou-se que, no momento em que a semente atingiu máximo acúmulo de matéria seca, a coloração predominante era amarelo-avermelhada (7.5 YR 7/4). As diferenças visuais de coloração também foram confirmadas utilizando os componentes de cor R, G, B e escala de cinza, que permitiram a identificação de diferenças entre os estádios de maturação dos frutos, de modo não subjetivo, prático e rápido, classificando a coloração dos frutos durante o processo de maturação.

Verificou-se que o teor de água decresceu até o momento em que as sementes atingiram equilíbrio higroscópico com a umidade relativa do ar. As sementes atingiram o máximo acúmulo de matéria seca, aos 30 DAA (6ª colheita) e neste momento o teor de água ainda era elevado, aproximadamente 56%.

Neste estudo, verificou-se que a máxima massa da matéria seca não ocorreu junto com o máximo potencial fisiológico; nota-se que os valores máximos de germinação e vigor ocorreram em sementes submetidas ao repouso, esse fato justifica-se pois estas apresentaram desidratação mais lenta, permitindo a organização do sistema de membranas e conclusão do processo de maturação.

Diante dos resultados obtidos, verificou-se que sementes submetidas ao repouso de 7 dias e escarificadas com ácido sulfúrico, apresentaram porcentagens de germinação superiores às das sementes extraídas logo após a colheita e sem escarificação.

Os resultados desta pesquisa proporcionaram informações relevantes em relação à maturação de sementes de quiabo e a utilização da análise de imagens possibilitou o acompanhamento da maturação.

A utilização de raios X possibilitou relacionar a maturação com a morfologia interna das sementes, constituindo-se mais uma alternativa para o acompanhamento da maturação.

Os dados de espaço interno livre, permitiram a identificação do ponto de maturidade fisiológica; a determinação deste parâmetro e do *aspect ratio*, mostraram-se eficientes na caracterização da evolução das sementes.

A análise da anatomia de sementes de quiabo, por microscopia eletrônica de varredura, possibilitou a identificação das camadas da testa e de diferenças quanto a espessura de suas camadas para sementes duras; entretando, para essa técnica, não foi possível verificar relação consistente entre os estádios de maturação.

5. CONCLUSÕES

A análise dos dados e a interpretação dos resultados da presente pesquisa permitiram concluir que:

Houve evidências da possibilidade de se utilizar a coloração dos frutos de quiabo para identificar a maturidade fisiológica.

A maturidade fisiológica de semente de quiabo, nas condições de Piracicaba-SP foi alcançada aos 30 DAA (6ª colheita); não coincidindo com a máxima germinação e vigor.

Os resultados indicaram que a análise de imagens foi eficiente para o acompanhamento do processo de maturação.

A análise da anatomia da testa foi eficaz para identificação das células estruturais e de sementes duras.

REFERÊNCIAS

- ABUD, H. F. **Caracterização de frutos, histoquímica e qualidade fisiológica de sementes de pimenta durante a maturação**. 2013. 105f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.
- ADAMS, C. A.; E RINNE, R. W. Moisture content as a controlling factor in seed development and germination. **International Review of Cytology**. V 1, p 1-8, 1980.
- AGBO, G.N.; HOSFIELD, M.A.; UEBERSAX, M.A.; KLOMPARENS, K. Seed microstructure and its relationship to water in isogenic lines and a cultivar of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Microstructure**, v.6, p.91-102. 1987.
- ALVARENGA, R. O. **Análise de imagens para avaliação de variações na estrutura e no potencial fisiológico de sementes armazenadas de algodão**. 2013. 90f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Estadual de São Paulo, Piracicaba, 2013.
- ARAÚJO, E.F.; ARAUJO, R.F.; SOFIATTI, V.; SILVA, R.F. Maturação de sementes de milho-doce-grupo super doce. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.2, p.69-76, 2006.
- AROUCHA, E. M. M. et al. Época de colheita e período de repouso dos frutos de mamão (*Carica papaya* L.) cv Golden na qualidade fisiológica das sementes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 3, p. 537-543, maio/jun. 2005.
- ARRUDA, N. **Avaliação da morfologia interna de sementes de citrumelo ‘Swingle’ por meio de raios X**. 2016. 77f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Estadual de São Paulo, Piracicaba, 2016.
- BARBEDO, A. S. C.; ZANIN, A. C. W.; BARBEDO, C. J.; NAKAGAWA, J. Efeitos da idade e do período de repouso pós-colheita dos frutos sobre a qualidade de

sementes de berinjela. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 12, n. 1, p. 14-18, 1994.

BARBEDO, C.J. **Influência da idade e do repouso pós - colheita de frutos na qualidade fisiológica de sementes de pepino (*Cucumis sativus* L.)**. 1990. 110f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Estadual de São Paulo, Piracicaba, 1990.

BARBOSA, J. G.; ALVARENGA, E. M.; DIAS, D. C. F. dos S.; VIEIRA, A. N. Efeito da escarificação ácida e de diferentes temperaturas na qualidade fisiológica de sementes de *Strelitzia reginae*. **Revista Brasileira de sementes**, Londrina , v. 27,n. 1, p. 71-77, 2005.

BERRY, T.; BEWLEY, D. Seeds of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) which develop in a fully hydrated environment in the fruit switch from a developmental to a germinative mode without a requirement for desiccation. **Planta**, v.186, p. 27-34, 1991.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds. Physiology of development and germination**. 2 ed. New York : Plenum Press,.1994

BEWLEY, JD; BRADFORD KJ; HILHORST HWM; NONOGAKI H. **Seeds: Physiology of development, germination and dormancy**, 3 ed. New York: Springer.2013 392p.

BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA, Secretaria de Defesa Agropecuária, 2009.

BREWER, M. T.; MOYSEENKO, J. B.; MUNIFORTE, A. J.; VAN DER KNAPP, E. Morphological variation in tomato: a comprehensive study of quantitative trait loci controlling fruit shape and development. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 58, n.6, p. 1339-1349, 2007.

- CARNEIRO, J.G.A. **Curso de silvicultura I**. Curitiba: Escola de Florestas, 1983. 132p.
- CARVALHO, M. L. M.; ALVES, R.A.; OLIVEIRA, L.M. Radiographic analysis in castor bean seeds (*Ricinus communis* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 170-175, 2010.
- CARVALHO, C. **Maturação e caracterização morfôanatomica, fisiológica e bioquímica de sementes de pimentão**. 2014. 138f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Estadual de São Paulo, Piracicaba, 2014.
- CARVALHO, N. M. **Maturação de sementes de algodão**. 1972. Tese (Doutorado em Agronomia/ Horticultura) Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal 1972.
- CASTRO, M. M.; GODOY, A. R.; CARDOSO, A. I. I. Qualidade de sementes de quiabeiro em função da idade e do repouso pós-colheita dos frutos. **Ciênc. Agrotec. (Online)**, vol. 32, Lavras, 2008.
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p
- CHAMMA, H. M. C. P.; MARCOS FILHO, J. ; CROCOMO, O. J. Maturation of seeds of Aroana beans and its influence on the storage potential. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 18, n.2, p. 371-382, 1990.
- CICERO, S. M.; BANZATTO JUNIOR, H. L. Avaliação do relacionamento entre danos mecânicos e vigor, em sementes de milho, por meio da análise de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 25, n. 1, p. 29-36, 2003.
- COSTA, C. J.; CARMONA, R.; NASCIMENTO, W. M. Idade e tempo de armazenamento de frutos e qualidade fisiológica de sementes de abóbora

híbrida. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v. 28, n. 1, p. 127-132, 2006.

DELL'AQUILA, A. Pepper seed germination assessed by combined X- radiography and computeraided imaging analyses. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 51, p. 777-781, 2007a.

DELL'AQUILA, A. Towards new computer imaging techniques applied to seed quality testing and sorting. **Seed Science and Technology**, v.35, p.519-538, 2007b.

DELOUCHE, J.C. Seed maturation. In: **Handbook of Seed Technology**. State College: Mississippi: Mississippi State University, 1971. p.17-21.

DEMIR, I. Ocurrence of hardseededness in relation to seed development in okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). **Plant Varieties and Seeds**, v. 10, n. 1, p. 7-13, 1997.

DEMIR, I.; ELLIS, R.H. Development of pepper (*Capsicum annum*) seed quality. **Annals of Applied Biology**, v. 121, p. 385 - 399, 1992.

DEMIR, I.; MAVI, K.; SERMENLI, T.; OZCOBAN, M. Seed development and maturation in Aubergine (*Solanum melongena* L.). **Gartenbauwissenschaft**, v. 67, n. 4, p. 148 - 154, 2002.

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

ESAU, K. **Anatomy of seeds plants**. JOHN WILEY; SONS. New York, 550p. 1977.

FERNANDES, J.S.; SILVA, D. F.; SANTOS, H. O.; PINHO, H. V. O. Teste de raios X na avaliação da qualidade de sementes de frutos de fisális em diferentes estádios

de desenvolvimento. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v.15, n.2, p.165-168, 2016.

FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do SISVAR para Windows® versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Programas e resumos...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. UFV, Viçosa, ed. 2, 2003. p 386.

GAGLIARDI, B.; MARCOS-FILHO, J. Relação entre germinação e estrutura de sementes de pimentão avaliada pelo teste de raios-X. **Sci. agric.**, Piracicaba, v. 68, n. 4, p. 411-416, 2011.

GOMES JUNIOR, F. G.; CHAMMA, H. M. C. P. CICERO; S. M. Automated image analysis of seedlings for vigor evaluation of common bean seeds. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 36, n.2, p. 195-200, 2014.

GOMES-JUNIOR, F. G.; ARRUDA, N.; MARCOS-FILHO, J. Swingle citrumelo seed vigor and storability associated with fruit maturity classes based on RGB parameters. **Scientia Agricola**. v.74, n.5, Piracicaba, 2017.

KRAMER, P.J.; KOZLOWSKI, T. **Fisiologia das árvores**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1972, 745p.

LEE, H. J. McKEE, G. W.; KNIEVEL, D.P. Determination of physiological maturity in oat. **Agronomy Journal**, v 71, p 931-935.

LIU, Y.; VAN DER BURG, W. J.; AARSTE, J. W.; VAN ZWOL, R. A.; JALINK, H.; BINO, R. J. X-ray studies on changes in embryo and endosperm morphology during priming and imbibitions of tomato seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 3, p. 171-178, 1993.

- MACHADO, C. F.; CICERO, S. M. Avaliação da qualidade de sementes de aroeira-branca (*Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. - Anacardiaceae por meio de raios-X. **Sci. agric.** Piracicaba, 2003.
- MARCHI, J. L. de; GOMES JUNIOR, F. G. Uso de técnicas de análise de imagem para determinar o tamanho do embrião das sementes de *Senna multijuga* (Rich) e sua relação com germinação e vigor. **Journal of Seed Science**, v. 39 (1), p. 13-19. 2017
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas**, ABRATES , Londrina, ed.2,.2015. 659 p.
- MARCOS-FILHO, J. Maturidade Fisiológica de sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v 15, p 447-460, 1980.
- MARCOS-FILHO, J.; GOMES-JUNIOR, F. G.; BENNETT, M. A.; WELLS, A. A.; STIEVE, S. Using tomato analyzer software to determine embryo size in X-rayed seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.2, p. 146-153, 2010.
- MARQUELLI, W. A.; SILVA, W. L. de C. e; SILVA, H. R. da. Irrigação por aspersão em hortaliças: qualidade da água, aspectos do sistema e método prático de manejo. **Embrapa Informações Tecnológicas**, Brasília, 2008. p 55.
- MARTINS, C. C.; NAKAGAWA, J. Germinação de sementes de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville de diferentes origens submetidas a tratamentos para superação de dormência. **Rev. Árvore**, Viçosa, v. 32, n.6, p.1059-1067, dezembro de 2008.
- McDONOUGH, W. T. Seed physiology. In: SOSEBEE, R. E. (Ed.) **Rangeland plant physiology**. Washington: USDA Forest Service, 1977. p. 155-84.
- Munsell, A.H. 1976. **Munsell Book of Color**. Baltimore, MD, USA.

- 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, 2006.
- PASSOS, F.A.; SANCHES, J.; ANTONIALI, S.; TEODORO, M. C. C. L.; SANTOS, V. J. In: AGUIAR, A. T. E.; GONÇALVES, C.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; TUCCI, M. L. S.; CASTRO, C. E. F. (Org.). **Boletim 200- Instruções agrícolas para as principais culturas econômicas**. Campinas: Instituto Agrônomo, v. único, p. 358-361, 2014.
- PICOLOTTO, D. R. N., THEODORO, J. V. C., DIAS, A. R., THEODORO, G. F.; ALVES, C. Z.. Germinação de sementes de urucum em função de métodos de superação de dormência e temperaturas, **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43(3), p 232-238, 2013.
- POLLOCK, B.M.; ROSS, E.E. Seed and seedling vigor. In: KOZLOWSKY, T.T., (Ed). **Seed Biology**. New York: Academic Press, 1972. p.313-387.
- SANCHEZ, V. M.; SUNDSTROM, F. J.; McCLURE, G.N.; LANG, N. S. Fruit maturity, storage and postharvest maturation treatments affect bell pepper (*Capsicum annuum* L.) seed quality. **Scientia Horticulturae**, v. 54, n. 3, p. 191- 201,1993.
- SANTOS, S. A.; SILVA, R. F.; PEREIRA, M. G.; ALVES, E.; MACHADO, J. CC.; BOREM, F. M.; GUIMARAES, R. .; MARUQUES, E. R. Estudos morfo-anatômicos de sementes de dois genótipos de mamão (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 31, nº 2, p.116-122, 2009.
- SETUBAL, J.W. **Sementes duras em quiabeiro (*Abelmoschus esculentus*): efeito de métodos de colheita e da localização dos frutos na planta**. 1987. 55f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Horticultura), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu,1987.

SETUBAL, J.W.; ZANIN, A.C.W.; NAKAGAWA, J. Efeitos da idade dos frutos, métodos e condição de secagem sobre a qualidade de sementes de quiabeiro (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) cv. Santa Cruz-47. **Revista Brasileira de Sementes, Brasília**, v.18, n.1, p.138-142, 1996.

SILVA, M. A. D. **Morfologia da testa e potencial fisiológico de sementes de soja**. 2003. Tese (Doutorado em Agronomia/ Horticultura) Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2003.]

SILVA, H. W. da; SOARES, R. S.; VALE, L. S. R. Qualidade das sementes de pimenta dedo-de-moça em função do repouso pós-colheita dos frutos. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 58, n. 4, p. 427-433, 2016.

SILVA, M. A. D.; VIEIRA, R. D.; SANTOS, J. M. Influência do envelhecimento acelerado na anatomia da testa de sementes de soja, cv. Monsoy 8411. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 30, n.2, p 091-099,2008.

SIMAK, M. Testing of forest tree and shrub seeds by X-radiography. In: GORDON, A.G.; GOSLING, P.; WANG, B.S.P. (Ed.). **Tree and shrub seed handbook**. Zurich: ISTA, 1991. p. 1-28.

SONNENBERG, P.E.; SILVA, N.F. da. Desenvolvimento e produção do quiabeiro em função das datas de plantio. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.32, n.1, p.33-37, 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888p.

TEKRONY, D.M.; EGLI D.B. Accumulation of seed vigour during development and maturation. In: ELLIS, R.H., et al. (Eds). **Basic and applied aspects of seed biology**. Boston Kluwer Academic, 1997. p.369-384.

TRANI, P. E.; PASSOS, F. A.; NAGAI, H. In: RAIJ, B. V.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A.; FURLANI, A.M.C. (Ed.).**Recomendações de adubação e**

calagem para o Estado de São Paulo. 2.ed. Campinas : Instituto Agrônômico, 1997. 183p. (IAC. Boletim técnico, 100).

WENDT, L.; GOMES-JUNIOR, F. G.; ZORATO, M.F.; MOREIRA, G. C. Avaliação do potencial fisiológico de sementes de soja por meio de imagens. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 3, p. 280-286, 2014.