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

**Análise de imagens para avaliação de variações na estrutura e no
potencial fisiológico de sementes armazenadas de algodão**

Renata Oliveira Alvarenga

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutora em Ciências. Área de concentração:
Fitotecnia

**Piracicaba
2013**

**Renata Oliveira Alvarenga
Engenheira Agrônoma**

**Análise de imagens para avaliação de variações na estrutura e no potencial
fisiológico de sementes armazenadas de algodão**

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

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutora em Ciências. Área de concentração:
Fitotecnia

**Piracicaba
2013**

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

Alvarenga, Renata Oliveira

Análise de imagens para avaliação de variações na estrutura e no potencial fisiológico de sementes armazenadas de algodão / Renata Oliveira Alvarenga. - Piracicaba, 2013.

89 p: il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2013.

1. *Gossypium hirsutum* L. 2. Área embrionária 3. Tomato analyzer 4. Image-Pro® Plus 5. Vigor I. Título

CDD 633.51
A473a

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

*Ao meu maior exemplo de fé, sabedoria, honestidade e caráter,
meu amado paizinho Paulo Edson de Alvarenga*

OFEREÇO

*A Deus e à Nossa Senhora,
pela oportunidade de crescer em sabedoria.*

*Aos meus queridos pais, Paulo e Cidinha,
pelos constantes exemplos de fé, determinação, persistência e honestidade.*

*Aos meus queridos irmãos Nielsey, Neander e Rodrigo, e à minha querida cunhada
Vivi, pelo amor, carinho, compreensão e incentivo.*

*Ao meu amor, Oscar A. B. Neto e Silva, por estar sempre ao meu lado, me apoiando
e me incentivando.*

A todos os meus familiares, por fazerem parte da minha vida.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, pela presença constante e por mais uma graça alcançada.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (USP/ESALQ), pelo suporte e apoio na realização do doutorado.

À CAPES, pela bolsa de estudos concedida durante o curso.

À Fundação Goiás e à Fundação MT, pela cessão das sementes. Em especial, ao José Bruno Malaquias, pelo grande apoio na obtenção das sementes.

Ao querido professor Julio Marcos Filho, pela valiosa orientação e pelos inúmeros conhecimentos transmitidos que muito contribuíram para minha formação profissional. Obrigada pela confiança em mim depositada, pela compreensão e pela amizade.

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

À querida amiga Helena M. C. P. Chamma, pela amizade, carinho, cuidado, pelos ensinamentos, apoio e incentivo. Obrigada por estar sempre disponível a nos ajudar!

A todas as pessoas queridas das famílias Oliveira, Alvarenga e Batista, pelo amor, carinho, orações e constante apoio em todos os momentos.

Ao meu querido namorado, Oscar A. B. Neto e Silva, pelo amor, carinho, incentivo e por estar sempre ao meu lado, me ajudando e me apoiando em todas as situações.

Às queridas amigas Aninha, Carti, Dê, Ka, Jô, Ju Leles, Naty, Si Asmar e Tathi, por todos os momentos especiais, pela amizade, apoio, compreensão e carinho.

Aos queridos amigos do GOU (Grupo de Oração Universitário), pelo carinho, amizade, orações e companheirismo. Obrigada por caminharmos juntos em busca de um mesmo sonho!

Aos funcionários e amigos, Ananias, Edson, Hodair, Ivani, João, Luciane, Mussum, Rafael, Ticão e Zezé, pela colaboração, amizade e serviços prestados durante o curso.

Aos colegas e amigos do laboratório, Adrielle, Bruna, Carti, Chiquinho, Cibebe, Clíssia, Cris, Denis, Fábio, Fabrício, Juliana, Marcão, Márcio, Mário, Naty, Nayara, Paty, Renê, Roberta, Simone, Tathi, Vanessa, Vitinho e Zé, pela amizade, companheirismo e pelos bons momentos compartilhados.

Às bibliotecárias Eliana e Silvia, pela atenção e auxílio a mim dispensados.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, o meu muito obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT	11
1 INTRODUÇÃO	13
2 DESENVOLVIMENTO	15
2.1 Revisão bibliográfica	15
2.2 Material e métodos	21
2.2.1 Avaliações do grau de umidade e do desempenho das sementes	21
2.2.1.1 Grau de umidade.....	21
2.2.1.2 Germinação	22
2.2.1.3 Primeira contagem de germinação.....	22
2.2.1.4 Germinação a baixa temperatura	22
2.2.1.5 Envelhecimento acelerado (procedimento tradicional)	22
2.2.1.6 Envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl (EASS)	23
2.2.1.7 Análise computadorizada de imagens de plântulas - SVIS®	23
2.2.1.8 Avaliação do espaço livre na cavidade interna das sementes	23
2.2.1.9 Emergência de plântulas em campo	26
2.2.2 Procedimento estatístico	27
2.3 Resultados e discussão.....	28
2.3.1 Avaliação do potencial fisiológico de sementes	28
2.3.1.1 Cultivar BRS 293	28
2.3.1.2 Cultivar FMT 709.....	41
2.3.1.3 Considerações gerais.....	52
2.3.2 Avaliação do espaço livre na cavidade interna das sementes por meio do <i>software</i> Tomato Analyzer.....	53
2.3.3 Avaliação do espaço livre na cavidade interna das sementes por meio do <i>software</i> Image-Pro® Plus	67
2.3.4 Considerações finais	79
3 CONCLUSÕES	81
REFERÊNCIAS.....	83

RESUMO

Análise de imagens para avaliação de variações na estrutura e no potencial fisiológico de sementes armazenadas de algodão

Dentre as variações morfológicas possivelmente associadas ao potencial fisiológico das sementes está o tamanho do embrião. Uma das abordagens atuais da pesquisa sobre análise de imagens de sementes radiografadas é verificar até que ponto a relação entre o grau de desenvolvimento embrionário e o espaço disponível na cavidade interna da semente está associada ao desempenho da semente. Os objetivos deste trabalho foram verificar a eficiência de diferentes testes na avaliação do vigor de sementes de algodão ao longo do armazenamento, verificar a possível relação entre o espaço livre na cavidade interna e o potencial fisiológico das sementes durante o armazenamento e verificar se há relação entre o espaço livre e o desempenho de sementes de algodão. Diferentes lotes de sementes de algodão, cultivares BRS 293 e FMT 709, foram armazenados em câmara fria e seca (10 °C e 30% de UR do ar) e em ambiente natural, durante oito meses. As avaliações da germinação e do vigor (primeira contagem de germinação, germinação a baixa temperatura, envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl, emergência de plântulas em campo e análise computadorizada de imagens de plântulas - SVIS[®]) foram realizadas a cada dois meses de armazenamento. Para avaliação do espaço livre, as sementes de cada lote foram radiografadas e analisadas por meio dos *softwares* Tomato Analyzer e Image-Pro[®] Plus. Os resultados indicaram que os testes de envelhecimento acelerado (tradicional e com solução saturada de NaCl), emergência de plântulas em campo e SVIS[®] (comprimento de plântulas) são adequados para avaliação do vigor de sementes de algodão, sendo o envelhecimento acelerado tradicional e as análises SVIS[®] (comprimento de plântulas) sensíveis para detectar redução no potencial fisiológico das sementes durante o armazenamento. No entanto, a queda do vigor das sementes de algodão não está associada ao espaço livre na cavidade interna das sementes. Contudo, há indícios de uma relação inversamente proporcional entre o espaço livre e a germinação de sementes de algodão.

Palavras-chave: *Gossypium hirsutum* L.; Área embrionária; Tomato analyzer; Image-Pro[®] Plus; Vigor

ABSTRACT

Image analysis to assess changes in the structure and physiological potential of cotton seed during storage

One of the morphological variations usually referred as associated to seed physiological potential is the embryo size. A primary interest of image analysis of X-rayed seeds is to identify whether the ratio between the degree of embryo development and the available space in the internal seed cavity is related to seed performance. The objectives of this research were to verify the accuracy of different tests to assess the vigor of cotton seeds during storage, to check the possible relationship between the free space and cotton seed physiological potential during storage and to verify if the relationship between the free space and cotton seed performance exist. Cotton seed lots of BRS 293 and FMT 709 cultivars were stored during eight months under two environments: cold and dry chamber (10 °C and 30% relative air humidity) and laboratory non-controlled condition. Evaluations of seed germination and vigor (germination first count, cool germination, traditional and saturated salt accelerated aging, field seedling emergence and seedling imaging automated analysis - SVIS[®]) were performed at two months intervals during storage. Free space was evaluated in radiographed seeds from each lot using Tomato Analyzer and Image-Pro[®] Plus *softwares*. Results showed that the accelerated aging tests (traditional and with saturated NaCl), field seedling emergence and SVIS[®] (seedling length) are suitable for evaluate the cotton seed vigor and the traditional accelerated aging and SVIS[®] (seedling length) are sensitive to detect reductions in seed physiological potential during storage. However, the reduction of cotton seed vigor is not associated with the free space in the internal cavity of the seed. Nevertheless, there is evidence of an inverse relationship between the free space and germination of cotton seed.

Keywords: *Gossypium hirsutum* L.; Embryonic area; Tomato analyzer; Image-Pro[®] Plus; Vigor

1 INTRODUÇÃO

A análise de imagens vem ganhando importância cada vez maior na pesquisa em Tecnologia de Sementes, demonstrando elevado potencial para o esclarecimento de especificidades no comportamento das sementes e, também, permitindo o desenvolvimento de novos métodos para avaliação da qualidade das sementes.

Uma das principais ferramentas utilizadas nesse segmento é o teste de raios X, considerado vantajoso por sua eficiência e por não ser destrutivo nem danificar as sementes, possibilitando examinar sua estrutura e, em seguida, utilizá-las para a condução de outros testes. Assim, é possível associar informações obtidas em imagens radiográficas a outros atributos da qualidade, como o potencial fisiológico.

As variações no grau de desenvolvimento do embrião provavelmente estão associadas ao desempenho das sementes. Alguns trabalhos têm sido conduzidos avaliando essa característica por meio de sementes radiografadas, no entanto, a precisão dessas avaliações é relativamente limitada, devido à interpretação baseada em estimativas visuais.

Em busca da eliminação da subjetividade das análises e de uma maior precisão, métodos automatizados estão sendo desenvolvidos para auxiliar na avaliação do potencial fisiológico das sementes. Atualmente, dois *softwares* têm se destacado nas pesquisas direcionadas à avaliação da morfologia interna das sementes, o Tomato Analyzer e o Image-Pro[®] Plus. No entanto, o processo de utilização desses sistemas ainda se encontra em fase inicial, sendo necessária a continuidade dos trabalhos para que se obtenham informações adicionais e, conseqüentemente, maior consistência dos resultados.

Embora algumas pesquisas tenham sido conduzidas visando verificar a amplitude da relação entre a morfologia interna e a germinação de sementes, ainda não é bem conhecida a extensão da relação entre a área embrionária e o desempenho das sementes ao longo do armazenamento. Assim, a presente pesquisa teve como objetivos avaliar a eficiência de diferentes testes para diferenciar o vigor de sementes de algodão e detectar a possível queda do potencial fisiológico das sementes ao longo do armazenamento; visa, também, verificar até que ponto há relação entre o espaço livre (não ocupado pelo embrião) na cavidade interna e o potencial fisiológico das sementes durante o armazenamento.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão bibliográfica

Dentre os parâmetros para se avaliar a qualidade de um lote de sementes, o potencial fisiológico se destaca. Sabe-se que o destino final das sementes é o campo e, portanto, o estabelecimento do estande constitui prioridade para o produtor. Assim, para garantir a emergência das plântulas, torna-se imprescindível a avaliação do potencial fisiológico das sementes, visando identificar lotes que apresentem maior probabilidade de se estabelecer adequadamente no campo e proporcionar o retorno esperado (MARCOS FILHO, 2005).

A avaliação do potencial fisiológico das sementes é realizada por meio dos testes de germinação e de vigor. Os testes de vigor são considerados importantes por revelarem variações relativamente estreitas no estágio de deterioração de lotes de sementes (BAALBAKI et al., 2009); por outro lado, o teste de germinação geralmente acusa apenas diferenças acentuadas no grau de deterioração. Desta forma, o uso de testes de vigor é de grande utilidade no monitoramento do desempenho das sementes durante o armazenamento, pois a queda do vigor precede a perda da viabilidade.

Entre os diversos testes de vigor existentes, o teste de germinação a baixa temperatura tem apresentado resultados consistentes para diferenciar lotes de sementes de algodão. Avaliando a relação entre resultados de testes conduzidos em laboratório e a emergência de plântulas de algodão em campo, Freitas et al. (2000) verificaram que sob condições adversas, a emergência de plântulas apresentou relação estreita com o vigor, determinado por meio da germinação a baixa temperatura. A eficiência desse teste também foi constatada quando foi avaliado o desempenho de sementes de algodão submetidas a condições de estresse de temperatura e de disponibilidade hídrica (MATTIONI; ALBUQUERQUE; MENDONÇA, 2009).

Um dos métodos mais importantes para a avaliação do vigor de sementes consiste na determinação da velocidade e uniformidade de crescimento (HOFFMASTER et al., 2003). Assim, o teste de crescimento de plântulas possui eficiência comprovada (WOODSTOCK, 1969; STEINER, 1990; NAKAGAWA, 1999) para detectar diferenças entre lotes de sementes e estabelecer relações com a

emergência de plântulas em campo. Comparando a eficiência de diferentes testes de vigor, Torres (1998) verificou que o teste de comprimento de plântulas é eficiente para diferenciar os níveis de vigor de sementes de algodão, apresentando relação com a emergência de plântulas em campo.

Outro teste de vigor que merece destaque é o envelhecimento acelerado, reconhecido como um dos mais utilizados para avaliação do potencial fisiológico de sementes de várias espécies, proporcionando informações com alto grau de consistência (TEKRONY, 1995). Estudos têm empregado esse teste para verificar o potencial fisiológico de sementes de algodão durante o armazenamento (MEDEIROS FILHO et al., 1996; PÁDUA; VIEIRA, 2001; FREITAS et al., 2002).

Embora os testes de vigor sejam eficientes para avaliar o potencial fisiológico das sementes, é necessário que as condições de armazenamento sejam adequadas para que haja conservação do potencial fisiológico. As sementes de algodão, ricas de óleo (25 a 40%), exigem cuidados especiais durante o período de armazenamento, para que mantenham sua qualidade (BRAGANTINI et al., 1974; PASSOS, 1977; MEDEIROS FILHO et al., 1996). Essas sementes, classificadas como aleuro-oleaginosas, apresentam menor potencial de armazenamento do que as amiláceas, devido à menor estabilidade química dos lipídios em relação ao amido, uma vez que uma elevação moderada da temperatura, como consequência da respiração, já é suficiente para a decomposição dos lipídios e elevação da taxa de deterioração. Por essa razão, as sementes de algodão devem ser armazenadas com grau de umidade inferior ao recomendado para as amiláceas (11% a 13%) (MARCOS FILHO, 2005).

Associadas ao grau de umidade, as condições do ambiente de armazenamento interferem na manutenção do potencial fisiológico das sementes. Vários autores (TOLEDO; MARCOS FILHO, 1977; ELLIS; OSEI-BONSU; ROBERTS, 1982; ANDERSON; BAKER, 1983; COPELAND; McDONALD, 2001; TORRES, 2005) têm destacado que os principais fatores responsáveis pela conservação das sementes durante o armazenamento são a temperatura e a umidade relativa do ar, sendo esta última mais crítica, dada a sua relação direta com o grau de umidade das sementes; entretanto, a temperatura contribui significativamente, afetando a velocidade dos processos bioquímicos (DELOUCHE et al., 1973).

Em ambientes com alta umidade relativa do ar, as sementes tendem a ganhar água elevando seu grau de umidade, permitindo assim, que as atividades metabólicas do embrião se intensifiquem, acelerando o processo de deterioração. Por outro lado, a manutenção da baixa temperatura no ambiente de armazenamento reduz a atividade das enzimas envolvidas no processo respiratório e, conseqüentemente, a velocidade da queda da viabilidade das sementes durante o armazenamento (HARRINGTON, 1972).

Avaliando o potencial fisiológico de sementes de algodão armazenadas em condições normais de ambiente, Freitas et al. (2000) observaram que o decréscimo da viabilidade e do vigor das sementes foi proporcional ao período de armazenamento. Pádua e Vieira (2001) também verificaram redução significativa na germinação de sementes de algodão, armazenadas em ambiente sem controle de temperatura e umidade relativa do ar.

Embora haja disponibilidade de vários métodos para avaliação do potencial fisiológico de sementes, há oportunidades para o aprimoramento das metodologias e inclusão de alternativas inovadoras. A perspectiva é, sempre, favorecer a padronização, a objetividade, a redução do período necessário para realização do teste e a consistência das informações proporcionadas (MARCOS FILHO, 2010).

Em busca de alternativas que aprimorem a avaliação do potencial fisiológico de sementes e em resposta aos avanços tecnológicos ocorridos nos últimos anos, métodos computadorizados para a avaliação do vigor de sementes têm sido desenvolvidos. Em 2001, Sako et al. desenvolveram um sistema destinado à determinação do vigor de sementes de alface, mediante a análise computadorizada de imagens de plântulas (*Seed Vigor Imaging System* - SVIS®). O sistema foi adaptado com sucesso para outras espécies, como soja (HOFFMASTER et al., 2003, 2005; MARCOS FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009), milho (HOFFMASTER et al., 2005; OTONI; McDONALD, 2005), melão (MARCOS FILHO et al., 2006), milho doce (GOMES JUNIOR et al., 2009; ALVARENGA; MARCOS-FILHO; GOMES JUNIOR, 2012), pepino (CHIKUITO; GOMES JUNIOR; MARCOS-FILHO, 2012), trigo (SILVA; GOMES JUNIOR; CICERO, 2012) e crotalária (ARRUDA, 2012; SILVA et al., 2012), gerando valores médios do índice de vigor, uniformidade de desenvolvimento e comprimento de plântulas ou de suas partes.

A avaliação do vigor de sementes por meio do SVIS® apresenta vantagens como: a) simplicidade e rapidez, pois os resultados para uma amostra de 50

sementes podem ser obtidos em dois a três minutos; b) redução do nível de erro humano, aumentando a confiabilidade dos dados para fins de comparação; c) possibilidade de arquivar as imagens para análise posterior e baixo custo (GOMES JUNIOR et al., 2009). Diante disso, esse procedimento tem sido utilizado rotineiramente por laboratórios de entidades certificadoras de sementes e de empresas produtoras nos Estados Unidos da América, particularmente no estado de Ohio, sendo considerado procedimento promissor para avaliação segura do vigor de sementes de várias espécies cultivadas (MARCOS FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009).

Outra ferramenta dentro da análise de imagens disponível para avaliação da qualidade de sementes é a técnica de raios X. Trata-se de uma técnica precisa, possibilitando que as sementes sejam examinadas de forma individual e detalhada por meio de imagens ampliadas; além disso, por ser um método não destrutivo, as sementes radiografadas podem ser submetidas a testes fisiológicos e, desta forma, permitir o estabelecimento de relações de causa e efeito (CICERO; BANZATTO JUNIOR, 2003).

O teste de raios X foi utilizado primeiramente em 1953 por Simak e Gustafson, para avaliar a morfologia de sementes de coníferas (SIMAK, 1991), enquanto a imagem digital de sementes submetidas aos raios X foi introduzida para avaliar a morfologia do embrião e do endosperma de sementes de *Arabidopsis thaliana* (BINO; AARTSE; VAN DER BURG, 1993) e de tomate (LIU et al., 1993). Desde então, têm sido relatados resultados que demonstram a eficiência do uso dos raios X em vários segmentos da tecnologia de sementes, como na detecção de prejuízos causados por percevejos em sementes de soja (PINTO et al., 2009), dimensionamento interno das sementes (LIU et al., 1993), associação entre características físicas e fisiológicas de sementes (ILLIPRONTI JUNIOR; LANGERAK; LOMMEN, 1997; OLIVEIRA et al., 2004), caracterização de estádios de desenvolvimento de sementes durante a maturação (CARVALHO et al., 1999; MACHADO; CICERO, 2003; MONDO; CICERO, 2005), identificação de danos mecânicos e tecidos deteriorados em sementes (ROCHA, 2012; ARRUDA, 2012), associação entre anormalidades morfológicas e a germinação de sementes (VAN DER BURG et al., 1994; CICERO et al., 1998; BATTISTI et al., 2000; MACHADO; CICERO, 2003; SILVA; CICERO; BENNETT, 2013), dentre outros.

Uma das variações morfológicas provavelmente 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). De acordo com 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; o parâmetro foi determinado, pela primeira vez, em sementes de tomate, para identificar suas relações com a germinabilidade.

Algumas pesquisas têm fornecido informações interessantes a esse respeito, como por exemplo, a ausência de germinação de sementes de aroeira-branca dependendo da proporção entre crescimento do embrião/cavidade embrionária (MACHADO; CICERO, 2003), a existência de uma relação entre o estágio de formação de sementes de embaúba e a porcentagem de germinação (PUPIM et al., 2008), a baixa germinação de sementes de mamona com preenchimento da cavidade interna inferior a 50% (CARVALHO; ALVES; OLIVEIRA, 2010), a obtenção de plântulas anormais ou sementes não germinadas a partir da redução (entre 50 e 75%) da ocupação da cavidade interna sementes de pimentão pelo embrião e endosperma (GAGLIARDI; MARCOS-FILHO, 2011). No entanto, os métodos de avaliação dessas relações têm sido efetuados por meio de estimativas visuais, com precisão relativamente limitada.

Diante desse cenário, a pesquisa tem se voltado para a automatização das variações no grau de desenvolvimento do embrião identificadas por meio de radiografias. Utilizando o *software* denominado Image-Pro[®] Plus, Dell'Aquila (2007) demonstrou que o espaço livre pode ser um indicador do potencial de germinação, visto que sementes radiografadas de pimentão, com espaço livre entre o embrião e o endosperma superior a 2,7%, apresentaram redução progressiva na formação de plântulas normais.

Por outro lado, trabalhando com o mesmo *software*, Silva, Cicero e Bennett (2012) verificaram que a presença de maior área ocupada pelo embrião e endosperma não favoreceu a germinação de sementes de berinjela. Resultados semelhantes foram obtidos para sementes de tomate, onde o aumento do espaço livre na cavidade interna de sementes, não necessariamente resultou em redução da germinação (SILVA; CICERO; BENNETT, 2013).

Outro procedimento disponível para excluir a subjetividade é a utilização do *software* Tomato Analyzer, desenvolvido por pesquisadores da Ohio State University para avaliação semiautomática de características fenotípicas de frutos de tomate. O

software permite substituir avaliações de atributos morfológicos efetuadas mediante mensurações manuais ou estimativas subjetivas (BREWER et al., 2006, 2007), acelerando a análise fenotípica e obtendo informações com alto grau de consistência e repetibilidade.

Procurando verificar a possibilidade de utilização do Tomato Analyzer para determinações em sementes, pesquisadores têm conduzido estudos envolvendo a análise de imagens de sementes radiografadas de algodão, pepino, abóbora e melancia, demonstrando a sensibilidade do *software* para a avaliação do grau de desenvolvimento embrionário das sementes (MARCOS FILHO et al., 2010). Essa possibilidade foi confirmada, sendo posteriormente conduzida outra pesquisa com sementes de pepino, onde foi observada tendência à redução do desenvolvimento de plântulas normais e acréscimos de anormalidades em plântulas com área embrionária inferior a 78,1%, em relação ao espaço disponível na cavidade interna de sementes de pepino (GOMES-JUNIOR; CHIQUITO; MARCOS-FILHO, 2013).

Embora essas pesquisas tenham sido conduzidas, ainda não se tem informações sobre as prováveis variações durante o armazenamento, considerando uma possível redução da relação área embrionária/espaço disponível na cavidade interna da semente, causada pelo progresso da deterioração e o consequente consumo de reservas.

Diante da possibilidade do uso dos *softwares* Tomato Analyzer e Image-Pro[®] Plus para avaliar a estrutura de sementes, mais especificamente o grau de desenvolvimento do embrião, busca-se desvendar se há variações do tamanho do embrião durante o armazenamento (associadas ao espaço livre e à provável redução da área embrionária devido ao consumo de reservas da semente) e se estas variações estão associadas ao potencial fisiológico das sementes. Dessa forma, a relação entre a morfologia interna e o potencial fisiológico das sementes será melhor compreendida, trazendo informações significativas para a evolução do conhecimento dirigido para o controle de qualidade de sementes.

2.2 Material e métodos

A pesquisa foi conduzida nos Laboratórios de Análise de Sementes e de Análise de Imagens do Departamento de Produção Vegetal / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” / Universidade de São Paulo (USP/ESALQ), em Piracicaba/SP.

Foram utilizados nove lotes de sementes de algodão, tratadas com fungicida, sendo cinco do cultivar BRS 293 (fornecidos pela Fundação Goiás) e quatro do cultivar FMT 709 (fornecidos pela Fundação MT). As sementes de cada lote foram acondicionadas em sacos de papel e armazenadas em dois ambientes: câmara fria e seca (10°C e 30% de umidade relativa do ar) e ambiente natural não controlado. Foi realizado o monitoramento da temperatura e umidade relativa do ar, em cada ambiente, durante todo o período de armazenamento, por meio dos registros em termohigrógrafos.

As sementes permaneceram armazenadas durante oito meses, sendo avaliadas em cinco épocas distintas, com intervalos aproximadamente bimestrais. Antes do início de cada uma dessas avaliações, foi realizada a uniformização do grau de umidade das sementes. Esse procedimento foi necessário porque as sementes permaneceram expostas a diferentes condições de armazenamento e, consequentemente, apresentaram variações nos graus de umidade. Assim, para cada época de armazenamento, as sementes armazenadas em câmara fria e seca e em ambiente natural não controlado foram mantidas em câmara seca (20°C e 50% umidade relativa do ar), durante aproximadamente dez dias antes da instalação de cada época de testes. Essa providência é importante para a execução dos testes, porque a uniformização do teor de água das sementes é fundamental para a padronização das avaliações e obtenção de resultados consistentes (MARCOS FILHO, 1999b; TEKRONY, 2003).

2.2.1 Avaliações do grau de umidade e do desempenho das sementes

2.2.1.1 Grau de umidade

Determinado antes da instalação dos diferentes testes, pelo método da estufa a 105°C ($\pm 3^\circ\text{C}$), durante 24 horas (BRASIL, 2009), com duas repetições para cada lote. Os resultados foram expressos em porcentagem média (base úmida) por lote.

2.2.1.2 Germinação

Teste conduzido com quatro repetições de 50 sementes por lote, em rolos de papel-toalha umedecidos com quantidade de água equivalente a 2,4 vezes a massa do papel, a 25°C, por sete dias. As contagens foram realizadas aos quatro e sete dias após a instalação do teste e, as avaliações, efetuadas de acordo com os critérios estabelecidos nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas normais para cada lote.

2.2.1.3 Primeira contagem de germinação

Computada no teste de germinação (item 2.2.1.2), considerando a porcentagem de plântulas normais no quarto dia após a semeadura.

2.2.1.4 Germinação a baixa temperatura

Conduzida de acordo com o mesmo procedimento descrito para o teste de germinação (item 2.2.1.2), sendo os rolos de papel-toalha acondicionados dentro de sacos de plástico e mantidos em B.O.D. a 18°C, no escuro. A avaliação foi realizada sete dias após a instalação do teste, computando-se as plântulas normais que apresentaram o eixo raiz-hipocótilo maior ou igual a 4cm (BAALBAKI et al., 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem média por lote.

2.2.1.5 Envelhecimento acelerado (procedimento tradicional)

Conduzido utilizando-se caixas de plástico (11,0 x 11,0 x 3,0 cm) como compartimentos individuais (minicâmaras), possuindo suportes em seu interior para apoio de uma tela metálica, onde as sementes foram distribuídas de maneira a formar camada simples. No interior de cada caixa foram adicionados 40 mL de água. As caixas foram tampadas e mantidas em câmara de envelhecimento (tipo B.O.D.), a 41°C, durante 48 horas (MIGUEL et al., 2001). Após esse período, foi conduzido teste de germinação conforme descrito no item 2.2.1.2, sendo a avaliação realizada aos quatro dias após a semeadura. Foi determinado, também, o grau de umidade das sementes, conforme 2.2.1.1, após o período de envelhecimento acelerado, visando verificar a uniformidade das condições do teste.

2.2.1.6 Envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl (EASS)

Foi conduzido conforme procedimento descrito para o teste de envelhecimento acelerado tradicional (item 2.2.1.5); porém, o período de exposição das sementes foi prolongado para 72 horas. Ainda, substituiu-se o volume de água adicionado às caixas por 40 mL de solução saturada de NaCl, visando proporcionar ambiente com 76% de umidade relativa, de acordo com metodologia proposta por Jianhua e McDonald (1996). Após o envelhecimento, foi determinado o grau de umidade das sementes, da mesma maneira já descrita.

2.2.1.7 Análise computadorizada de imagens de plântulas - SVIS[®]

Para análise computadorizada de imagens, as plântulas foram obtidas de quatro repetições de 25 sementes para cada lote, colocadas para germinar em três fileiras situadas no terço superior do papel-toalha, a 25°C, durante 3 dias. Em seguida, as plântulas (normais e anormais) e as sementes não germinadas foram transferidas do papel-toalha para uma folha de cartolina de coloração preta. Esta folha foi colocada em *scanner* HP Scanjet 2410[®], disposto de maneira invertida no interior de uma caixa de alumínio (60 x 50 x 12 cm) e operado por *software* Photosmart[®], com resolução de 100 dpi. As plântulas e as sementes foram escaneadas e analisadas com o uso do *software* Seed Vigor Imaging System (SVIS[®]), obtendo-se valores médios do índice de vigor, uniformidade de desenvolvimento e comprimento de plântulas para cada lote e cultivar (HOFFMASTER et al., 2005).

2.2.1.8 Avaliação do espaço livre na cavidade interna das sementes

Foi realizada no início, aos 4 e 8 meses de armazenamento. Para tanto, foram radiografadas 100 sementes de cada lote, posicionadas a 28,6 cm da fonte de emissão de raios X, utilizando-se equipamento digital Faxitron X-ray, modelo MX-20 DC-12, acoplado a um computador Core 2 Duo (3.16 GHz, 2 GB de memória RAM, Hard Disk de 160 GB) e monitor MultiSync (LCD1990SX de 17 polegadas). As sementes foram fixadas, em grupos de 25, sobre uma folha de acetato transparente (210 x 297 mm) utilizando fita adesiva dupla face. Após as radiografias, as sementes foram transferidas para uma bandeja de plástico contendo células individualizadas, mantendo-se a mesma posição em que as sementes foram colocadas no momento

da radiografia. Posteriormente, as imagens foram analisadas com utilização dos *softwares* Tomato Analyzer (BREWER et al., 2008) e Image-Pro® Plus.

Nas análises realizadas por meio do Tomato Analyzer, foram demarcados o perímetro externo de cada semente e o perímetro do embrião (Figura 1); o software gera, automaticamente, valores correspondentes ao espaço livre entre o embrião e o tegumento, expressos em decimais (ex.:0,326) e permite calcular a área ocupada pelo embrião, pois a diferença para 1,0 representa a relação entre a área embrionária e o espaço disponível na cavidade interna da semente (neste caso, 0,674, ou 67,4%).

Figura 1 - Imagem de semente analisada pelo *software* Tomato Analyzer, destacando as delimitações do perímetro da semente (em amarelo) e do embrião (em azul), correspondendo a uma relação espaço livre/cavidade interna de 0,326 (32,6%)

Por outro lado, o Image-Pro® Plus quantifica o espaço livre entre o embrião e o tegumento, por meio de uma escala de tonalidades de coloração cinza. Assim, o espaço livre (cinza escuro) e as partes constituintes da semente (cinza claro) (Figura 2A) são marcados pelo software com cores diferentes (vermelho e amarelo, respectivamente) (Figura 2B), gerando, automaticamente, valores percentuais (ex.: 22,6%) correspondentes a relação espaço livre/cavidade interna da semente.

Figura 2 - Imagem radiográfica de semente (A) analisada pelo *software* Image-Pro® Plus (B), destacando as diferenças de tonalidade (A) e cor (B) do espaço livre e das partes da semente, correspondendo a uma relação espaço livre/cavidade interna de 22,6%. (1=tegumento; 2=embrião; 3=espaço livre)

Os resultados obtidos com o uso de ambos os *softwares* foram expressos em porcentagem do espaço livre em relação à cavidade interna da semente.

Posteriormente, as sementes examinadas em cada *software*, foram classificadas em três categorias de acordo com a relação espaço livre/cavidade interna (x), definidas com base na média (M) e no desvio padrão (dp) dos valores obtidos para todos os lotes (Tabela 1):

- Categoria 1: sementes com valor da relação espaço livre/cavidade interna inferior ao valor obtido pela subtração $M - dp$ ($x < M - dp$);
- Categoria 2: sementes em que o valor da relação espaço livre/cavidade interna se situou no intervalo entre $M - dp$ e $M + dp$ ($M - dp \leq x \leq M + dp$);
- Categoria 3: sementes com valor da relação espaço livre/cavidade interna superior ao valor obtido pela soma $M + dp$ ($x > M + dp$).

O critério utilizado foi estabelecido com base em resultados obtidos na primeira época experimental, onde o uso de três categorias permitiu uma melhor distribuição das sementes dentro de cada classe.

Tabela 1 - Espaço livre (%) na cavidade interna das sementes de nove lotes, cultivares BRS 293 e FMT 709, avaliado por meio dos *softwares* Tomato Analyzer e Image-Pro® Plus, e desvio padrão, utilizados para definição das categorias

Tomato Analyzer					
Lote	Espaço Livre	Desvio Padrão	Categorias		
			1	2	3
1	27,4	3,4			
2	26,2	2,6	<23,3%	23,3% a 28,9%	>28,9%
3	27,9	3,5			
4	25,6	2,7			
5	27,3	4,3			
6	24,7	2,1			
7	25,8	2,5			
8	25,7	2,2			
9	24,7	2,2			
Média	26,1	2,8			
Image-Pro® Plus					
Lote	Espaço Livre	Desvio Padrão	Categorias		
			1	2	3
1	8,1	4,9			
2	6,3	3,2	<2,2%	2,2% a 9,6%	>9,6%
3	7,7	4,3			
4	5,7	3,6			
5	7,7	5,2			
6	4,5	2,8			
7	4,5	3,0			
8	3,9	3,4			
9	5,0	2,8			
Média	5,9	3,7			

Após as radiografias e análises do desenvolvimento do embrião, as 100 sementes de cada lote foram colocadas para germinar, sendo distribuídas em repetições de 25, no terço superior do papel-toalha, mantendo-se as mesmas posições em que as sementes foram radiografadas, para possibilitar sua identificação correta. Após permanência de três dias em germinador a 25°C, as plântulas (normais e anormais) e as sementes não germinadas foram fotografadas utilizando câmera digital (Nikon, modelo D1) acoplada a computador.

2.2.1.9 Emergência de plântulas em campo

Teste realizado ao final do período de armazenamento para todas as épocas em conjunto; após cada época de avaliação, as sementes foram armazenadas em câmara fria e seca (10°C e 30% UR) a fim de evitar o progresso da deterioração e,

consequentemente, a interferência nos resultados. Conduzido com quatro repetições de 50 sementes, cada uma representada por uma linha de 4m de comprimento, onde as sementes foram distribuídas de maneira equidistante, em sulcos com cerca de 3cm de profundidade, e cobertas com, aproximadamente, 3cm de terra. O espaçamento entre linhas foi de 40cm. Aos 14 dias após a semeadura foi avaliada a emergência de plântulas, adotando-se como critério a completa expansão das folhas cotiledonares. Os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas emersas para cada lote.

2.2.2 Procedimento estatístico

Para os testes conduzidos em laboratório, a análise estatística foi efetuada de acordo com delineamento inteiramente casualizado (Tabela 2). Para o teste de emergência de plântulas em campo foi adotado o delineamento blocos ao acaso (Tabela 3). Foi utilizado esquema fatorial, avaliando-se os efeitos de lotes e de épocas de armazenamento, para cada cultivar e ambiente. Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias obtidas foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Para execução da análise estatística foi utilizado o programa SISVAR (FERREIRA, 2000). Na classificação das sementes quanto ao espaço livre, os dados não foram submetidos a análise estatística, sendo apresentados e discutidos os valores percentuais de sementes dentro de cada categoria.

Tabela 2 - Esquema da análise de variância para os testes realizados em laboratório para os cultivares BRS 293 e FMT 709

	CV. BRS 293	CV. FMT 709
Causas de variação	GL	GL
Lotes	4	3
Ambientes	1	1
Lotes x Ambientes	4	3
Resíduo	30	24
Total	39	31

Tabela 3 - Esquema da análise de variância para os testes realizados em campo para os cultivares BRS 293 e FMT 709

	CV. BRS 293	CV. FMT 709
Causas de variação	GL	GL
Lotes	4	3
Ambientes	1	1
Lotes x Ambientes	4	3
Blocos	3	3
Resíduo	27	21
Total	39	31

2.3 Resultados e discussão

2.3.1 Avaliação do potencial fisiológico de sementes

2.3.1.1 Cultivar BRS 293

De maneira geral, foram identificadas diferenças significativas entre os lotes na maioria dos testes conduzidos, sendo o pior e melhor desempenho apresentados pelos lotes 3 e 5, respectivamente. Ainda, todos os lotes apresentaram redução no desempenho ao longo do armazenamento, com exceção do lote 5 (Tabelas 5, 7 e 8). Isto pode ser explicado devido ao maior vigor inicial do lote 5, detectado nos testes de germinação a baixa temperatura e emergência de plântulas em campo, pois lotes que inicialmente apresentam maior potencial fisiológico, são menos propensos à deterioração durante o armazenamento (MARCOS FILHO, 2005).

Embora não tenha sido realizada análise estatística para comparação dos efeitos dos ambientes sobre o potencial fisiológico das sementes, observou-se que, de uma forma geral, não houve diferença relevante no comportamento das sementes nos diferentes ambientes, conforme os resultados da maioria dos testes conduzidos (Tabelas 5, 7 e 8). Como a câmara fria e seca (A1) apresenta uma combinação de temperatura (10°C) e umidade relativa do ar (30% UR) muito favorável ao armazenamento de sementes, era possível supor que as sementes armazenadas nesse ambiente apresentassem melhor desempenho. No entanto, isto não ocorreu,

provavelmente devido ao alto potencial fisiológico das sementes e às condições relativamente favoráveis do ambiente natural (A2), onde a temperatura média variou de 19,9°C a 25,9°C e a umidade relativa do ar, de 54,7% a 74,9% (Figura 3).

Figura 3 - Valores médios da umidade relativa do ar (UR) e da temperatura média (Tm), por quinzena, entre os meses de fevereiro e outubro de 2012, em ambiente natural não controlado (A2)

Dentre os fatores que afetam a conservação das sementes, a umidade relativa do ar e a temperatura se destacam no progresso da deterioração. Diante deste fato, Delouche et al. (1973) propuseram alternativas envolvendo combinações de temperatura e umidade relativa do ar favoráveis para o armazenamento de sementes de grandes culturas, como o algodão: período de 8 a 10 meses de armazenamento, a soma da umidade relativa do ar (%) e temperatura (°C) não deve ultrapassar 80; para o período de 12 a 18 meses a soma desses valores não deve ultrapassar 65; para 3 a 5 anos, a soma deve ser de, no máximo, 55 e, para 5 a 15 anos, não ultrapassar 45. Assim, a combinação mantida em câmara fria e seca (A1) foi de 40, o que possibilitaria, de acordo com os autores, a manutenção do potencial fisiológico das sementes durante 5 a 15 anos. Por outro lado, a combinação mantida no ambiente natural (A2) foi superior a 80 em praticamente todos os meses de armazenamento, chegando ao máximo de 98,2, o que indica que a manutenção da viabilidade das sementes armazenadas nesse ambiente não estaria assegurada por

um período superior a 8 meses; cabe ressaltar que a intenção inicial era que um dos ambientes não fosse totalmente favorável à preservação do potencial fisiológico, a fim de se obterem diferenças no comportamento das sementes.

Conforme mostra a Tabela 4, os lotes de sementes do cultivar BRS 293 apresentaram graus de umidade inicial de 8,0% e 8,1%. Durante o armazenamento em câmara fria e seca (A1), esses valores variaram de 6,3% a 7,3%. Quando as sementes foram armazenadas em ambiente natural (A2), o teor de água sofreu maiores alterações, atingindo valores entre 9,2% e 11,4%, de acordo com as variações das condições ambientais. Como pode ser verificado, as sementes alcançaram os maiores teores de água no sexto mês de armazenamento (A2), variando de 11,0% a 11,4%; isso provavelmente ocorreu devido à elevada umidade relativa do ar constatada nos meses anteriores, principalmente em maio e junho. No entanto, esses teores não prejudicaram o desempenho das sementes, pois além desses valores estarem dentro de limites considerados adequados ao armazenamento de sementes ortodoxas, como as de algodão, durante 8 meses (MARCOS FILHO, 2005), a soma da umidade relativa do ar e da temperatura, neste período, foi em torno de 82,3.

Vale a pena ressaltar a importância da uniformização do teor de água das sementes realizada no início de cada época de avaliação, pois além de interferir nos resultados dos testes para avaliação do potencial fisiológico das sementes, a variação no grau de umidade poderia mascarar os resultados obtidos nas análises do espaço livre na cavidade interna das sementes. Dessa forma, buscou-se a uniformidade do teor de água das sementes tanto entre os ambientes de armazenamento, como entre as épocas de avaliação, visando obter resultados mais confiáveis. Assim, a variação máxima obtida após a uniformização do grau de umidade das sementes do cultivar BRS 293 foi de 1,0 ponto percentual (Tabela 4).

Avaliando os dados de germinação (A1 e A2), verificou-se separação dos lotes somente aos 8 meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1), em que o lote 3 apresentou desempenho inferior em relação ao lote 5 (Tabela 5). Segundo Marcos Filho (1999b), o uso de lotes com poder germinativo semelhante e superior ao mínimo estabelecido para comercialização é recomendável para que sejam comparados os desempenhos das sementes em testes de vigor.

Tabela 4 - Grau de umidade (%), antes e depois da sua uniformização, no início, aos 2, 4, 6 e 8 meses de armazenamento de cinco lotes de sementes de algodão do cultivar BRS 293, armazenados em dois ambientes

BRS 293										
Armazenamento	Lote	Inicial	2 meses		4 meses		6 meses		8 meses	
			antes	depois	antes	depois	antes	depois	antes	depois
Câmara fria e seca (A1)	1	8,0	6,9	8,5	6,6	8,0	7,1	8,2	7,3	8,1
	2	8,1	6,4	8,1	6,7	8,1	7,3	7,8	6,9	7,7
	3	8,1	6,7	8,2	6,3	8,0	7,1	8,1	7,0	8,0
	4	8,0	6,7	8,4	6,5	8,0	6,8	7,8	6,8	7,6
	5	8,0	6,4	8,1	6,7	8,0	6,9	8,0	7,0	7,6
Ambiente natural (A2)	1	8,0	10,3	9,0	10,5	8,5	11,2	8,8	9,6	8,4
	2	8,1	10,1	8,6	10,3	8,6	11,0	8,3	9,3	8,5
	3	8,1	9,8	8,9	10,4	8,7	11,4	8,5	9,3	8,4
	4	8,0	9,9	9,0	10,0	8,8	11,1	8,5	9,2	8,2
	5	8,0	10,2	9,0	10,0	8,5	11,4	8,3	9,5	8,0

Observou-se que, em câmara fria e seca (A1), apenas o lote 3 apresentou queda significativa na germinação das sementes durante o armazenamento, reduzida de 95% para 89% (Tabela 5). Em ambiente natural (A2), a redução na germinação foi constatada para os lotes 1 e 3 (Tabela 5). É importante ressaltar que essas quedas na germinação das sementes ocorreram no final do período de armazenamento (a partir dos 6 meses para o lote 1 e aos 8 meses, para o lote 3), sendo que os lotes mantiveram germinação superior à mínima (75%) exigida para comercialização de sementes de algodão (BRASIL, 2005), demonstrando o alto potencial fisiológico das sementes.

Quando se avaliou a primeira contagem de germinação, constatou-se diferença entre os lotes quanto ao vigor apenas ao final do armazenamento (Tabela 5). Aos 8 meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1) foi detectado o maior vigor do lote 5. Em ambiente natural (A2), além do maior vigor do lote 5 foi identificado o menor vigor do lote 3, aos 6 meses de armazenamento. Esses resultados demonstraram o alto potencial de desempenho das sementes sob condições favoráveis de ambiente, dificultando a separação dos lotes em diferentes níveis de vigor.

Aos 8 meses de armazenamento, observou-se redução na porcentagem de germinação das sementes da maioria dos lotes (lotes 1, 2, 3 e 4) armazenados em câmara fria e seca (A1) e dos lotes 1 e 3, armazenados em ambiente natural (A2). Como pode ser observado, a queda no vigor das sementes foi detectada somente na última época de armazenamento. Segundo Delouche e Baskin (1973), o declínio significativo na porcentagem de germinação não está entre os eventos iniciais da deterioração de sementes.

Um dos testes mais utilizados para avaliação do vigor de sementes de algodão é o teste de germinação a baixa temperatura. Nesse teste, em todas as épocas e ambientes de armazenamento, foram detectadas diferenças de vigor entre os lotes, sendo novamente identificado o maior vigor do lote 5 em relação ao lote 3 (Tabela 5). Este fato comprova a sensibilidade desse teste para avaliação do potencial fisiológico de sementes de algodão, mesmo durante o armazenamento. Freitas et al. (2000) verificaram sua eficiência para avaliação do vigor de sementes armazenadas de algodão, permitindo a estratificação dos lotes em níveis de vigor desde o início do período de armazenamento.

Tabela 5 - Germinação, primeira contagem de germinação e germinação a baixa temperatura de cinco lotes de sementes de algodão, cultivar BRS 293, no início e aos 2, 4, 6 e 8 meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1) e em ambiente natural (A2)

GERMINAÇÃO (%)										
Lote	CÂMARA FRIA E SECA (A1)					AMBIENTE NATURAL (A2)				
	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses
1	97Aa	95Aa	94Aa	93Aa	93ABa	97Aa	94Aab	93Aabc	90Abc	89Ac
2	94Aa	92Aa	93Aa	93Aa	92ABa	94Aa	93Aa	91Aa	90Aa	91Aa
3	95Aa	93Aab	94Aab	92Aab	89Bb	95Aa	93Aa	87Aab	89Aab	85Ab
4	96Aa	94Aa	93Aa	93Aa	94ABa	96Aa	95Aa	91Aa	91Aa	91Aa
5	97Aa	93Aa	95Aa	95Aa	97Aa	97Aa	96Aa	93Aa	94Aa	91Aa
CV(%)	3,1					3,8				
PRIMEIRA CONTAGEM DE GERMINAÇÃO (%)										
Lote	CÂMARA FRIA E SECA (A1)					AMBIENTE NATURAL (A2)				
	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses
1	94Aa	91Aab	93Aab	92Aab	88Bb	94Aa	96Aa	92Aab	90ABab	89Ab
2	90Aa	89Aa	92Aa	92Aa	85Bb	90Aa	90Aa	90Aa	90ABa	87Aa
3	91Aa	89Aa	90Aa	91Aa	82Bb	91Aa	93Aa	87Aab	86Bab	85Ab
4	94Aa	91Aa	94Aa	93Aa	86Bb	94Aa	94Aa	92Aa	91ABa	89Aa
5	94Aa	91Aa	93Aa	94Aa	96Aa	94Aa	91Aa	90Aa	94Aa	91Aa
CV(%)	3,5					4,0				
GERMINAÇÃO A BAIXA TEMPERATURA (%)										
Lote	CÂMARA FRIA E SECA (A1)					AMBIENTE NATURAL (A2)				
	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses
1	77ABa	78ABa	81ABa	79ABa	77ABa	77ABa	82ABa	79ABa	79ABa	73BCa
2	77ABa	79ABa	80ABa	81ABa	73ABa	77ABa	80ABa	78ABa	79ABa	74ABCa
3	73Ba	75Ba	72Ba	75Ba	68Ba	73Ba	78Ba	76Ba	75Ba	69Ca
4	78ABa	81ABa	82ABa	81ABa	77ABa	78ABa	85ABa	81ABa	80ABa	79ABa
5	86Aa	87Aa	88Aa	87Aa	80Aa	86Aa	88Aa	86Aa	84Aa	82Aa
CV(%)	6,6					5,8				

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, dentro de cada ambiente, não diferem entre si pelo teste de Tukey, $p \leq 0,05$

Ainda em relação ao teste de germinação a baixa temperatura, constatou-se que, apesar das porcentagens de germinação terem sido inferiores às obtidas nos demais testes, o desempenho das sementes de todos os lotes foi mantido durante os 8 meses de armazenamento (A1 e A2). Resultados distintos foram verificados por Pádua, Vieira e Barbosa (2002), onde os lotes de sementes de algodão apresentaram redução no vigor a partir do segundo mês de armazenamento. Essa divergência entre resultados é compreensível, pois as condições de ambiente, os cultivares e o potencial fisiológico inicial das sementes não eram os mesmos utilizados nesta pesquisa.

Outro teste de resistência a estresse é o de envelhecimento acelerado, reconhecido como um dos mais populares para avaliação do vigor de sementes de várias espécies. Conforme se verifica na Tabela 6, os lotes de sementes armazenados em câmara fria e seca (A1) apresentaram diferenças de 1,0 a 2,5 pontos percentuais no grau de umidade, e quando armazenados em ambiente natural (A2), as diferenças foram de 1,4 a 2,3 pontos percentuais, após o envelhecimento. Dessa forma, o grau de umidade não deve ter afetado o comportamento das sementes durante a condução do teste, pois as variações estavam dentro de limites toleráveis (MARCOS FILHO, 1999a).

Na Tabela 7, encontram-se os resultados do teste de envelhecimento acelerado tradicional. Verificou-se que, a partir do segundo mês de armazenamento nos dois ambientes, o lote 5 apresentou desempenho superior em relação ao lote 3, concordando com os resultados obtidos nos testes de germinação, primeira contagem de germinação e germinação a baixa temperatura. A eficiência desse teste na estratificação de lotes de sementes de algodão também foi verificada por Torres (1998) e Freitas et al. (2000).

Tabela 6 - Grau de umidade de cinco lotes de sementes de algodão, cultivar BRS 293, após os testes de envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl, no início e aos 2, 4, 6 e 8 meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1) e em ambiente natural (A2)

GRAU DE UMIDADE (%) - ENVELHECIMENTO ACELERADO TRADICIONAL									
Lote	CÂMARA FRIA E SECA (A1)					AMBIENTE NATURAL (A2)			
	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses
1	26,7	25,8	25,4	23,5	24,1	25,3	26,1	25,3	25,3
2	26,8	24,5	24,8	24,6	24,4	23,3	24,4	25,6	24,3
3	25,0	23,3	23,3	23,3	24,9	23,2	24,4	24,2	24,9
4	24,8	23,9	24,0	23,1	24,5	24,3	25,6	24,0	25,5
5	26,6	23,3	25,6	23,3	25,1	25,5	25,5	25,2	25,7

GRAU DE UMIDADE (%) - ENVELHECIMENTO ACELERADO COM SOLUÇÃO SATURADA DE NaCl									
Lote	CÂMARA FRIA E SECA (A1)					AMBIENTE NATURAL (A2)			
	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses
1	10,7	11,2	10,8	10,7	10,4	11,6	10,5	10,7	10,5
2	10,4	11,0	10,2	10,5	10,7	10,6	11,0	10,7	10,7
3	10,8	10,6	10,6	11,5	11,0	11,9	10,3	11,0	10,6
4	9,8	10,2	11,2	10,2	10,6	10,9	10,0	11,4	10,1
5	10,6	10,8	10,5	10,7	10,1	10,9	10,4	11,4	10,9

Para a maioria dos lotes, o teste de envelhecimento acelerado tradicional detectou reduções no vigor das sementes ao longo do armazenamento. As sementes dos lotes 2, 3 e 4, apresentaram queda no potencial fisiológico nas últimas épocas (6 e 8 meses), em câmara fria e seca (A1). Em ambiente natural (A2), houve redução a partir dos 4 meses para os lotes 2 e 3 e, a partir dos 6 meses, para os lotes 1 e 4. Outros pesquisadores, conduzindo o teste de envelhecimento acelerado tradicional, também verificaram redução no vigor de sementes de algodão durante o armazenamento, principalmente em ambiente natural (MEDEIROS FILHO et al., 1996; FREITAS et al., 2000; PÁDUA; VIEIRA, 2001; SILVA et al., 2006). Isto é compreensível, pois em condições naturais, a temperatura e umidade relativa do ar estão mais sujeitas a oscilações, que geralmente contribuem para a redução do potencial fisiológico das sementes.

Na condução do teste de envelhecimento acelerado com uso de solução saturada de NaCl, também não houve interferência do grau de umidade no comportamento das sementes, visto que as variações foram de 0,9 a 1,3 ponto percentual entre os lotes armazenados em câmara fria e seca (A1), e de 0,7 a 1,3 ponto percentual, quando armazenados em ambiente natural (A2) (Tabela 6). Podemos observar que as sementes submetidas às condições desse teste apresentaram menores valores do grau de umidade em relação aos verificados para as envelhecidas por meio do procedimento tradicional. Isto ocorreu devido a substituição da água por solução saturada de sal, propiciando um ambiente menos úmido no interior das minicâmaras, favorecendo absorção mais lenta e uniforme de água pelas sementes. Poderia ser esperado que, nessas condições, ocorressem efeitos menos intensos, pois ao apresentar menores teores de água, o grau de deterioração das sementes seria atenuado em relação ao normalmente verificado com o uso do procedimento tradicional. Contudo, mesmo com as sementes atingindo teor de água inferior, o teste com solução saturada de NaCl permitiu a separação dos lotes em níveis de vigor (Tabela 7). Após 2 meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1), o lote 5 novamente foi identificado como o mais vigoroso em relação ao lote 3. Essa mesma estratificação quanto ao vigor foi observada para as sementes armazenadas em ambiente natural (A2), a partir de 4 meses de armazenamento. Assim, esses resultados concordaram com os obtidos em todos os testes discutidos anteriormente.

Tabela 7 - Envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl e emergência de plântulas provenientes de cinco lotes de sementes de algodão, cultivar BRS 293, no início e aos 2, 4, 6 e 8 meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1) e em ambiente natural (A2)

ENVELHECIMENTO ACELERADO TRADICIONAL (%)										
Lote	CÂMARA FRIA E SECA (A1)					AMBIENTE NATURAL (A2)				
	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses
1	94Aa	94Aa	93Aa	90ABa	90ABa	94Aa	94ABa	90ABab	87ABb	87ABb
2	94Aa	93Aa	91Aa	87BCb	86BCb	94Aa	94ABa	88BCb	86ABb	86ABb
3	93Aa	88Bab	86Bab	84Cb	84Cb	93Aa	90Ba	84Cb	82Bb	84Bb
4	95Aa	97Aa	93Aab	89ABCb	90ABb	95Aa	94ABa	91ABab	86ABb	87ABb
5	94Aa	96Aa	95Aa	93Aa	94Aa	94Aa	96Aa	94Aa	91Aa	91Aa
CV(%)	3,2					2,9				
ENVELHECIMENTO ACELERADO COM SOLUÇÃO SATURADA DE NaCl (%)										
Lote	CÂMARA FRIA E SECA (A1)					AMBIENTE NATURAL (A2)				
	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses
1	94Aa	94ABa	91ABab	88ABb	88BCb	94Aa	95Aa	89ABb	89ABb	89ABb
2	94Aa	90ABab	90ABab	89ABb	88BCb	94Aa	91Aab	85ABb	88ABb	85ABb
3	93Aa	89Bab	82Bb	85Bb	84Cb	93Aa	91Aa	81Bb	83Bb	82Bb
4	92Aa	94ABa	91ABa	89ABa	90ABa	92Aa	95Aa	88ABb	89ABb	87ABb
5	94Aa	95Aa	94Aa	94Aa	94Aa	94Aa	94Aa	91Aa	93Aa	91Aa
CV(%)	2,9					3,6				
EMERGÊNCIA DE PLÂNTULAS (%)										
Lote	CÂMARA FRIA E SECA (A1)					AMBIENTE NATURAL (A2)				
	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses
1	89BCa	90Aa	92ABa	92ABa	91ABa	89BCa	93ABa	91ABa	92ABa	87ABa
2	89BCa	89Aa	90ABa	90ABa	91ABa	89BCa	92ABa	92ABa	92ABa	89ABa
3	88Ca	91Aa	85Ba	86Ba	86Ba	88Ca	87Ba	86Ba	88Ba	82Ba
4	95ABa	89Aa	92ABa	91ABa	92ABa	95ABa	89ABab	93ABab	93ABab	88ABb
5	97Aa	93Aa	95Aa	94Aa	95Aa	97Aa	94Aa	96Aa	96Aa	92Aa
CV(%)	4,2					3,8				

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, dentro de cada ambiente, não diferem entre si pelo teste de Tukey, $p \leq 0,05$

Da mesma forma que no procedimento tradicional, foram observadas reduções na porcentagem de germinação após o envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl, durante o armazenamento (Tabela 7). Para os lotes 1 e 2, a redução ocorreu após 6 meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1), enquanto para o lote 3, após 4 meses. As sementes dos lotes 1, 2, 3 e 4, armazenadas em ambiente natural (A2), apresentaram queda no vigor a partir de 4 meses de armazenamento. Resultados semelhantes foram obtidos por Yagushi (2011), onde no teste de envelhecimento acelerado com uso de solução saturada de NaCl, foram verificadas reduções no desempenho de sementes de soja durante o armazenamento tanto em ambiente controlado (20°C e 75% de umidade relativa do ar) como em ambiente natural.

Os resultados obtidos no teste de emergência de plântulas em campo são apresentados na Tabela 7. Embora as condições de ambiente ocorridas durante a condução do teste tenham sido favoráveis, verificou-se a separação dos lotes em diferentes níveis de vigor em todas as épocas e ambientes de armazenamento (exceto aos 2 meses, em A1), destacando novamente o melhor desempenho do lote 5 em relação ao lote 3. No entanto, as sementes armazenadas nos dois ambientes mantiveram o desempenho relativamente uniforme durante todo o período de armazenamento, com exceção do lote 4, armazenado em ambiente natural (A2), em que a porcentagem de emergência de plântulas foi reduzida de 95% para 88% no final do armazenamento. Isso pode ser um indicativo de que as condições de armazenamento utilizadas (A1 e A2) favoreceram a conservação do potencial fisiológico das sementes.

Na Tabela 8, encontram-se os resultados obtidos em análises SVIS[®]. Avaliando os dados referentes ao índice de vigor, constatou-se pior desempenho do lote 3 em relação ao lote 5, após 6 meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1), e a partir de 4 meses, em ambiente natural (A2). A eficiência do índice de vigor para avaliação do potencial fisiológico de sementes foi verificada para várias espécies como melão (MARCOS-FILHO et al., 2006), soja (YAGUSHI, 2011), pepino (CHIKUITO; GOMES JUNIOR; MARCOS-FILHO, 2012), milho superdoce (ALVARENGA; MARCOS-FILHO; GOMES JUNIOR, 2012), trigo (SILVA; GOMES JUNIOR; CICERO, 2012), entre outras.

Tabela 8 - Índice de vigor, uniformidade de desenvolvimento e comprimento de plântulas determinados em análises SVIS® provenientes de cinco lotes de sementes de algodão, cultivar BRS 293, no início e aos 2, 4, 6 e 8 meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1) e em ambiente natural (A2)

ÍNDICE DE VIGOR										
Lote	CÂMARA FRIA E SECA (A1)					AMBIENTE NATURAL (A2)				
	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses
1	774Aa	794Aa	751Aa	741ABa	721ABa	774Aa	813Aa	786ABa	770ABb	740ABb
2	807Aa	828Aa	836Aa	772ABa	757ABa	807Aa	841Aa	792ABa	786ABb	767ABb
3	801Aa	818Aa	762Aab	694Bb	669Bb	801Aa	811Aa	727Bb	720Bb	703Bc
4	796Aa	751Aa	824Aa	762ABa	737ABa	796Aa	864Aa	777ABb	775ABb	750ABb
5	791Aa	834Aa	836Aa	814Aa	772Aa	791Aa	860Aa	810Aa	805Aa	812Aa
CV(%)	6,1					4,7				
UNIFORMIDADE DE DESENVOLVIMENTO										
Lote	CÂMARA FRIA E SECA (A1)					AMBIENTE NATURAL (A2)				
	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses
1	859Aa	869Aa	862Aa	869ABa	880ABa	859Ab	896ABab	885Aab	920Aa	896ABab
2	862Aa	880Aa	873Aa	843ABb	875ABa	862Ab	887ABab	880Aab	907Aa	866Bab
3	863Aa	811Ba	802Bb	775Cb	815Cab	863Aa	882Ba	818Bb	878Aa	804Cb
4	850Aab	880Aa	868Aa	811BCb	856BCab	850Ab	902ABa	885Aab	901Aa	873Bab
5	891Aa	884Aa	900Aa	892Aa	921Aa	891Aa	930Aa	901Aa	916Aa	922Aa
CV(%)	3,2					2,5				
COMPRIMENTO DE PLÂNTULAS (cm)										
Lote	CÂMARA FRIA E SECA (A1)					AMBIENTE NATURAL (A2)				
	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses
1	7,3Aa	7,5ABa	6,9BCa	6,5ABa	6,4ABa	7,3Aa	7,7Aa	7,5ABa	6,8ABa	6,8ABa
2	7,8Aa	7,9ABa	8,0ABa	6,9ABa	7,0ABa	7,8Aa	7,8Aa	7,5ABa	7,0ABa	7,0ABa
3	7,7Aa	6,6Bab	6,6Cab	5,7Bb	5,4Bb	7,7Aa	7,9Aa	6,2Bb	6,7Bb	6,1Bb
4	7,4Aa	7,7ABa	7,7ABCa	6,4ABb	6,7ABb	7,4Aa	8,3Aa	7,0ABb	7,3ABb	6,9ABb
5	7,6Aa	8,1Aa	8,3Aa	7,1Aa	7,5Aa	7,6Aa	8,4Aa	7,7Aa	7,6Aa	7,8Aa
CV(%)	8,7					7,0				

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, dentro de cada ambiente, não diferem entre si pelo teste de Tukey, $p \leq 0,05$

As sementes do lote 3, armazenadas em câmara fria e seca (A1), apresentaram redução no índice de vigor a partir de 6 meses de armazenamento. Quando armazenados em ambiente natural (A2), os lotes 3 e 4 tiveram seus índices de vigor reduzidos após 4 meses de armazenamento, e os lotes 1 e 2, a partir de 6 meses. Em pesquisa realizada com sementes de soja, o índice de vigor, determinado em análises SVIS[®], permitiu detectar reduções no vigor das sementes a partir do segundo mês de armazenamento (YAGUSHI, 2011), demonstrando que esse sistema de avaliação pode ser utilizado, com eficiência, para avaliar o desempenho de sementes armazenadas.

Em câmara fria e seca (A1), os resultados referentes à uniformidade de desenvolvimento detectaram o pior desempenho do lote 3 a partir de 2 meses de armazenamento e, também, o melhor desempenho do lote 5, após 6 meses (Tabela 8). Esses mesmos destaques para os lotes 3 e 5 foram observados aos 2 e 8 meses de armazenamento em ambiente natural (A2). Este fato é interessante, pois algumas pesquisas sobre o uso das análises SVIS[®] para avaliação do potencial fisiológico de sementes, revelaram que o parâmetro uniformidade de desenvolvimento não tem apresentado sensibilidade suficiente na estratificação dos lotes de sementes de soja (MARCOS FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009; SANTOS et al., 2011), de pepino (CHQUITO; GOMES JUNIOR; MARCOS-FILHO, 2012) e de trigo (SILVA; GOMES JUNIOR; CICERO, 2012) quanto ao vigor. No entanto, para outras espécies, como melão (MARCOS-FILHO et al., 2006) e crotalária (SILVA et al., 2012), a uniformidade de desenvolvimento acusou diferenças entre lotes.

Para a maioria dos lotes, em ambos ambientes (A1 e A2), o índice de uniformidade de desenvolvimento apresentou variações ao longo do armazenamento, ora reduzindo, ora aumentando, de forma que, no final do período de armazenamento, o índice de uniformidade foi mantido (Tabela 8).

Quanto ao comprimento de plântulas, os resultados obtidos revelaram diferenças significativas entre os lotes a partir de 2 meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1), e após 4 meses, em ambiente natural (A2), identificando, mais uma vez, o lote 3 como menos vigoroso em relação ao lote 5 (Tabela 8). De acordo com Nakagawa (1999), os testes que avaliam o crescimento de plântulas são mais sensíveis para detectar diferenças no potencial fisiológico de sementes de várias espécies.

Em relação ao desempenho das sementes ao longo do armazenamento, foi verificado o decréscimo no comprimento de plântulas dos lotes 3 e 4, ocorrendo a partir de 6 meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1) e após 4 meses, em ambiente natural (A2). O SVIS[®] também indicou reduções do comprimento de plântulas durante o armazenamento de sementes de soja em ambiente controlado e não controlado (YAGUSHI, 2011).

Assim, diante dos resultados obtidos para o cultivar BRS 293, verificou-se que, em ambos os ambientes de armazenamento (A1 e A2), os testes de germinação a baixa temperatura, envelhecimento acelerado (tradicional e com solução saturada de NaCl), emergência de plântulas em campo e SVIS[®] (comprimento de plântulas) apresentaram maior eficiência na classificação dos lotes quanto ao vigor, identificando o pior e melhor desempenho dos lotes 3 e 5, respectivamente; de uma maneira geral, essa classificação foi mais evidente a partir dos 4 meses nos dois ambientes de armazenamento. Ainda, os testes de envelhecimento acelerado (tradicional e com solução saturada de NaCl) e as análises SVIS[®] (índice de vigor e comprimento de plântulas) demonstraram sensibilidade na identificação da queda no vigor das sementes, ocorrendo, de uma forma geral, a partir de 6 meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1), e após 4 meses, em ambiente natural (A2).

2.3.1.2 Cultivar FMT 709

De acordo com os dados obtidos para o cultivar FMT 709 (Tabelas 10, 11 e 13), foram identificadas diferenças significativas entre lotes para a maioria dos parâmetros avaliados, sendo, de uma forma geral, o pior desempenho apresentado pelo lote 6, e o melhor, pelos lotes 7 e 8. Além disso, para todos os lotes, verificou-se queda no potencial fisiológico das sementes durante o armazenamento.

Em relação aos ambientes de armazenamento, observou-se que para a maioria dos testes conduzidos, as diferenças encontradas no desempenho das sementes foram, de uma maneira geral, ligeiramente superiores às verificadas para o cultivar BRS 293, permitindo identificar tendência de melhor conservação das sementes armazenadas em câmara fria e seca (A1). Esta constatação pode ser explicada pelas condições mais adequadas de umidade relativa do ar (30%) e de temperatura

(10°C) da câmara fria e seca, as quais favorecem a manutenção do potencial fisiológico de sementes ortodoxas.

Para o cultivar FMT 709 (Tabela 9), os graus de umidade inicial variaram de 7,3% a 7,8%. Ao longo do armazenamento em câmara fria e seca (A1) a variação foi de 6,2% a 6,9%, enquanto as sementes armazenadas em ambiente natural (A2) atingiram teores de água entre 9,0% e 10,9%. Após a uniformização do grau de umidade das sementes, a variação máxima foi de 1,2 ponto percentual. Assim como para o cultivar BRS 293, o grau de umidade não afetou o comportamento das sementes deste cultivar.

Avaliando os dados de germinação (Tabela 10), observou-se que, apenas ao final do período de armazenamento (8 meses) em ambiente natural (A2), foi possível identificar os lotes de melhor (lotes 7 e 8) e pior desempenho (lote 6). Resultados semelhantes foram obtidos na avaliação da primeira contagem de germinação (Tabela 10); aos 8 meses de armazenamento, em ambos os ambientes, o lote 8 apresentou desempenho superior ao lote 6, porém, acompanhado pelo lote 7 em ambiente natural (A2). Estes resultados podem ser atribuídos à menor sensibilidade do teste de primeira contagem de germinação em detectar pequenas diferenças de vigor, quando comparado aos testes de resistência a estresse (MARCOS FILHO; CICERO; SILVA, 1987).

Em relação ao desempenho das sementes ao longo do armazenamento, avaliado pelos testes de germinação e primeira contagem de germinação (Tabela 10), constatou-se que apenas as sementes do lote 6, armazenadas em ambiente natural (A2), apresentaram queda no poder germinativo. Contudo, essas sementes apresentaram 85% de germinação ao final do período de armazenamento (8 meses), valor superior ao estabelecido nos padrões para a comercialização de sementes de algodão.

Tabela 9 - Grau de umidade (%), antes e depois da sua uniformização, no início, aos 2, 4, 6 e 8 meses de armazenamento de quatro lotes de sementes de algodão do cultivar FMT 709, armazenados em dois ambientes

FMT 709										
Armazenamento	Lote	Inicial	2 meses		4 meses		6 meses		8 meses	
			antes	depois	antes	depois	antes	depois	antes	depois
Câmara fria e seca (A1)	6	7,3	6,2	7,7	6,7	7,6	6,4	7,7	6,7	7,7
	7	7,7	6,5	7,8	6,8	7,6	6,9	7,9	6,7	7,9
	8	7,8	6,9	7,7	6,8	7,7	6,5	7,7	6,8	7,8
	9	7,5	6,5	7,9	6,4	7,7	6,9	7,8	6,6	7,6
Ambiente natural (A2)	6	7,3	10,1	8,8	9,3	8,1	10,7	7,8	9,3	7,8
	7	7,7	9,9	8,9	9,6	8,0	10,8	8,2	9,4	8,2
	8	7,8	10,1	8,7	10,1	8,3	10,9	8,1	9,2	8,3
	9	7,5	10,0	8,3	9,9	8,2	10,7	7,9	9,0	8,2

Tabela 10 - Germinação, primeira contagem de germinação e germinação a baixa temperatura de quatro lotes de sementes de algodão, cultivar FMT 709, no início e aos 2, 4, 6 e 8 meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1) e em ambiente natural (A2)

GERMINAÇÃO (%)										
Lote	CÂMARA FRIA E SECA (A1)					AMBIENTE NATURAL (A2)				
	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses
6	95Aa	93Aa	90Aa	89Aa	90Aa	95Aa	93Aa	88Aab	89Aab	85Bb
7	92Aa	94Aa	88Aa	93Aa	92Aa	92Aa	92Aa	89Aa	92Aa	92Aa
8	94Aa	94Aa	94Aa	95Aa	95Aa	94Aa	93Aa	93Aa	93Aa	92Aa
9	95Aa	96Aa	89Aa	92Aa	92Aa	95Aa	94Aa	90Aa	90Aa	91ABa
CV(%)	3,9					4,1				
PRIMEIRA CONTAGEM DE GERMINAÇÃO (%)										
Lote	CÂMARA FRIA E SECA (A1)					AMBIENTE NATURAL (A2)				
	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses
6	91Aa	90Aa	90Aa	89Aa	86Ba	92Aa	92Aa	88Aab	89Aab	85Bb
7	91Aa	93Aa	88Aa	93Aa	91ABa	91Aa	92Aa	89Aa	92Aa	92Aa
8	93Aa	91Aa	92Aa	95Aa	94Aa	93Aa	93Aa	93Aa	93Aa	92Aa
9	92Aa	95Aa	89Aa	92Aa	91ABa	92Aa	94Aa	90Aa	90Aa	91ABa
CV(%)	4,0					4,1				
GERMINAÇÃO A BAIXA TEMPERATURA (%)										
Lote	CÂMARA FRIA E SECA (A1)					AMBIENTE NATURAL (A2)				
	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses
6	85Ba	81Aa	82Aa	83Ba	82Ba	85Ba	78Bab	77Bb	76Bb	75Bb
7	87Ba	87Aa	85Aa	87ABa	88ABa	87Ba	86Aab	85Aab	84Aab	80ABb
8	95Aa	86Ab	87Ab	90Aab	89Aab	95Aa	89Aab	84Ab	84Ab	84Ab
9	83Ba	85Aa	85Aa	89ABa	86ABa	83Ba	86Aa	80ABa	80ABa	80ABa
CV(%)	4,1					4,3				

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, dentro de cada ambiente, não diferem entre si pelo teste de Tukey, $p \leq 0,05$

Quanto ao teste de germinação a baixa temperatura (Tabela 10), verificou-se que, para este cultivar, o teste não apresentou a mesma eficiência na estratificação dos lotes como para o cultivar BRS 293. Na avaliação inicial, observou-se que apenas o lote mais vigoroso (lote 8) foi identificado. Já durante o armazenamento em câmara fria e seca (A1), o lote 8 novamente apresentou melhor desempenho em relação ao lote 6, a partir dos 6 meses de armazenamento. Em ambiente natural (A2), essa mesma classificação foi observada; porém, o lote 8 foi acompanhado pelo lote 7, aos 2, 4 e 6 meses de armazenamento.

Para o cultivar FMT 709, o teste de germinação a baixa temperatura permitiu detectar reduções no vigor das sementes ao longo do armazenamento (Tabela 10). Em ambiente natural (A2), verificou-se queda no desempenho das sementes dos lotes 6 e 8, a partir dos 4 meses de armazenamento e, do lote 7, aos 8 meses. Contudo, em câmara fria e seca (A1), o potencial fisiológico das sementes foi mantido, de uma maneira geral, até ao final do período de armazenamento.

Por outro lado, a utilização de temperatura e umidade relativa elevadas no teste de envelhecimento acelerado tradicional, também permitiu a separação dos lotes em níveis de vigor (Tabela 11). A partir do segundo mês de armazenamento em ambos os ambientes (A1 e A2), o lote 8 foi identificado, mais uma vez, como mais vigoroso em relação ao lote 6, mostrando coerência com os resultados obtidos nos testes apresentados anteriormente.

Os resultados obtidos no teste de envelhecimento acelerado tradicional foram consistentes, pois não houve interferência do grau de umidade no comportamento das sementes. Após o envelhecimento, os lotes de sementes armazenados em câmara fria e seca (A1) apresentaram diferenças de 1,4 a 2,2 pontos percentuais no grau de umidade e, quando armazenados em ambiente natural (A2), as diferenças foram de 1,7 a 2,2 pontos percentuais (Tabela 12).

Tabela 11 - Envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl e emergência de plântulas provenientes de quatro lotes de sementes de algodão, cultivar FMT 709, no início e aos 2, 4, 6 e 8 meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1) e em ambiente natural (A2)

ENVELHECIMENTO ACELERADO TRADICIONAL (%)										
Lote	CÂMARA FRIA E SECA (A1)					AMBIENTE NATURAL (A2)				
	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses
6	90Aa	82Bb	83Bb	80Bb	82Bb	90Aa	84Bb	84Bb	81Bb	75Bc
7	90Aa	90Aa	91Aa	90Aa	85ABa	90Aa	87ABa	89Aa	85ABab	80Ab
8	92Aa	93Aa	92Aa	90Aa	88Aa	92Aa	90Aa	90Aa	88Aa	81Ab
9	93Aa	88ABab	89Aab	92Aab	84ABb	93Aa	87ABb	87Ab	85ABbc	79ABc
CV(%)	3,5					3,3				
ENVELHECIMENTO ACELERADO COM SOLUÇÃO SATURADA DE NaCl (%)										
Lote	CÂMARA FRIA E SECA (A1)					AMBIENTE NATURAL (A2)				
	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses
6	90Aa	90Aa	86Bab	84Bab	82Bb	90Aa	91Aa	81Bab	83Bab	76Bb
7	89Aa	94Aa	92Aa	91Aa	89Aa	89Aa	91Aa	87ABa	88ABa	84Aa
8	92Aa	95Aa	92Aa	91Aa	89Aa	92Aa	91Aa	89Aa	90Aa	86Aa
9	91Aa	93Aa	90ABab	90ABab	86ABb	91Aa	92Aa	86ABa	85ABa	86Aa
CV(%)	3,9					4,1				
EMERGÊNCIA DE PLÂNTULAS (%)										
Lote	CÂMARA FRIA E SECA (A1)					AMBIENTE NATURAL (A2)				
	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses
6	85Ba	87Aa	88Ba	88Ba	86Ba	85Ba	86Ba	82Ba	83Ba	82Ba
7	93Aa	90Aa	92ABa	94ABa	93Aa	93Aa	90ABa	89Aa	91Aa	92Aa
8	93Aa	90Aa	93Aa	96Aa	92Aa	93Aa	93Aa	90Aa	91Aa	93Aa
9	91ABa	89Aa	92ABa	93ABa	90ABa	91ABa	88ABa	87ABa	87ABa	89ABa
CV(%)	3,2					3,5				

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, dentro de cada ambiente, não diferem entre si pelo teste de Tukey, $p \leq 0,05$

Tabela 12 - Grau de umidade de quatro lotes de sementes de algodão, cultivar FMT 709, após os testes de envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl, no início e aos 2, 4, 6 e 8 meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1) e em ambiente natural (A2)

GRAU DE UMIDADE (%) - ENVELHECIMENTO ACELERADO TRADICIONAL									
Lote	CÂMARA FRIA E SECA (A1)					AMBIENTE NATURAL (A2)			
	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses
6	25,2	22,9	23,8	24,6	23,4	23,5	23,9	25,0	24,8
7	24,9	23,3	24,6	25,5	25,3	24,9	25,8	25,2	24,8
8	25,2	24,3	25,2	25,4	25,6	24,7	25,5	26,9	26,0
9	23,8	23,2	24,8	23,8	23,5	23,2	24,0	24,7	24,1

GRAU DE UMIDADE (%) - ENVELHECIMENTO ACELERADO COM SOLUÇÃO SATURADA DE NaCl									
Lote	CÂMARA FRIA E SECA (A1)					AMBIENTE NATURAL (A2)			
	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses
6	9,3	9,9	10,0	9,6	10,2	10,2	10,7	10,6	9,9
7	10,1	9,6	10,5	9,8	10,6	10,5	11,2	11,4	10,0
8	10,0	9,7	10,8	10,2	10,7	10,3	11,3	10,7	10,1
9	9,4	9,7	10,0	9,9	10,5	10,4	10,2	10,4	10,2

Em relação ao desempenho das sementes ao longo do armazenamento, avaliado pelo teste de envelhecimento acelerado tradicional, verificou-se redução no vigor das sementes armazenadas nas duas condições de ambiente (A1 e A2) (Tabela 11). Em câmara fria e seca (A1), as sementes do lote 6 apresentaram queda no potencial fisiológico a partir do segundo mês de armazenamento, e as do lote 9, aos 8 meses. Em ambiente natural (A2), houve redução a partir dos 2 meses para os lotes 6 e 9, e aos 8 meses, para os lotes 7 e 8. Assim, verificou-se que a redução no vigor das sementes menos vigorosas (lote 6) ocorreu antecipadamente à daquelas de melhor desempenho (lotes 7 e 8). De acordo com Delouche e Caldwell (1960), nas condições desse teste, ou seja, temperatura e umidade relativa elevadas, sementes com menor potencial fisiológico deterioram-se mais rapidamente do que as mais vigorosas, com reflexos na germinação após o período de envelhecimento acelerado.

Com relação ao teste de envelhecimento acelerado com uso de solução saturada de NaCl (Tabela 11), os resultados obtidos para ambos os ambientes (A1 e A2) também permitiram classificar os lotes quanto ao vigor. Em câmara fria e seca (A1), verificou-se que, a partir dos 4 meses de armazenamento, novamente o lote 6 apresentou desempenho inferior em relação aos lotes 7 e 8. Em ambiente natural (A2), a inferioridade do lote 6 em relação ao lote 8 também foi detectada a partir do quarto mês de armazenamento.

Na condução deste procedimento com solução saturada de sal, também não foi constatada interferência do grau de umidade no desempenho das sementes, pois as variações entre os lotes armazenados nas duas condições de ambiente (A1 e A2), não ultrapassaram 1,1 ponto percentual (Tabela 12).

Quanto ao desempenho das sementes durante o armazenamento, em ambos os ambientes (A1 e A2) verificou-se que, apenas na última época de avaliação (8 meses), o teste de envelhecimento acelerado com uso de solução saturada de NaCl identificou redução no vigor das sementes dos lotes 6 (em A1 e A2) e 9 (em A1).

Na Tabela 11, encontram-se os resultados obtidos no teste de emergência de plântulas em campo. De maneira semelhante à observada para o cultivar BRS 293, verificou-se a estratificação dos lotes em níveis de vigor em todas as épocas e ambientes de armazenamento (exceto aos 2 meses, em A1), identificando, mais uma vez, o pior desempenho do lote 6 e o melhor do lote 8, acompanhado ou não pelo lote 7. Assim, esses resultados concordaram com os obtidos nos testes de

germinação, primeira contagem de germinação, germinação a baixa temperatura e envelhecimento acelerado (tradicional e com solução saturada de NaCl), demonstrando sensibilidade do teste de emergência de plântulas em campo na avaliação do potencial fisiológico de sementes de algodão.

Ainda em relação ao teste de emergência de plântulas em campo, observou-se que as sementes de todos os lotes armazenados em ambos os ambientes (A1 e A2) mantiveram o mesmo desempenho ao longo do armazenamento, apresentando valores superiores ao mínimo exigido para comercialização de sementes dessa espécie.

Quanto às análises SVIS[®], os resultados encontram-se na Tabela 13. Avaliando os dados referentes ao índice de vigor, verificou-se que, de uma maneira geral, em todas as épocas e ambientes de armazenamento foram detectados, novamente, o melhor desempenho dos lotes 7 e 8, e o pior do lote 6, acompanhado ou não pelo lote 9. Este fato demonstra a sensibilidade desse parâmetro na diferenciação dos lotes quanto ao vigor.

A redução no índice de vigor das sementes foi constatada ao longo do armazenamento em ambos os ambientes. Em câmara fria e seca (A1), a redução ocorreu para as sementes dos lotes 6 (aos 8 meses), 7 (aos 6 meses) e 9 (a partir dos 4 meses). Em ambiente natural (A2), as sementes de todos os lotes apresentaram queda no vigor, verificada a partir dos 4 meses para os lotes 6, 7 e 9, e aos 6 meses, para o lote 8.

Em relação à uniformidade de desenvolvimento, verificou-se que nas duas condições de ambiente, os resultados foram coerentes com os obtidos em todos os testes relatados anteriormente. Mais uma vez o lote 6 apresentou o pior desempenho, observado aos 2, 6 e 8 meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1), e aos 2 e 8 meses, em ambiente natural (A2). Ainda, o maior vigor foi identificado para o lote 8 (aos 6 meses, em A1, e aos 2 meses, em A2), acompanhado pelo lote 7 (aos 8 meses, em A1). Além disso, para este cultivar, o índice de uniformidade foi mantido ao longo do armazenamento em ambos os ambientes.

Os resultados obtidos para o comprimento de plântulas foram semelhantes aos dos demais testes conduzidos. Novamente o maior vigor foi identificado para os lotes 7 e 8, e o menor, para os lotes 6 e 9. Essa classificação ocorreu em todas as épocas e ambientes de armazenamento, exceto aos 2 meses em A1, em que o lote 6

apresentou desempenho inferior ao dos demais lotes. Trabalhos conduzidos com sementes de outras espécies, como soja (MARCOS FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009), crotalária (ARRUDA, 2012), pepino (CHIQUITO; GOMES JUNIOR; MARCOS-FILHO, 2012) e milho superdoce (ALVARENGA; MARCOS-FILHO; GOMES JUNIOR, 2012) também demonstraram a sensibilidade das análises SVIS[®] (comprimento de plântulas) na separação dos lotes quanto ao vigor.

Tabela 13 - Índice de vigor, uniformidade de desenvolvimento e comprimento de plântulas determinados em análises SVIS® provenientes de quatro lotes de sementes de algodão, cultivar FMT 709, no início e aos 2, 4, 6 e 8 meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1) e em ambiente natural (A2)

ÍNDICE DE VIGOR										
Lote	CÂMARA FRIA E SECA (A1)					AMBIENTE NATURAL (A2)				
	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses
6	828Ba	795Ba	767Bab	748Bab	704Bb	828Ba	865Ba	698Bb	711Bb	629Cc
7	913Aa	876Aab	869Aab	830Ab	857Aab	913Aa	977Aa	795Ab	781Ab	777Ab
8	878Aa	913Aa	883Aa	840Aa	849Aa	878Aab	961Aa	806Abc	781Ac	815Abc
9	839ABa	876Aa	760Bbc	749Bc	763Bbc	839ABb	922ABa	690Bc	707Bc	702Bc
CV(%)	5,2					4,6				
UNIFORMIDADE DE DESENVOLVIMENTO										
Lote	CÂMARA FRIA E SECA (A1)					AMBIENTE NATURAL (A2)				
	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses
6	884Aa	849Ba	864Aa	832Ba	844Ba	884Aa	874Ba	874Aa	888Aa	851Ba
7	917Aa	922Aa	900Aa	871ABa	902Aa	917Aa	923ABa	907Aa	924Aa	931Aa
8	906Aa	926Aa	903Aa	902Aa	910Aa	906Aa	927Aa	914Aa	928Aa	931Aa
9	875Aa	900Aa	861Aa	872ABa	864ABa	875Aa	909ABa	897Aa	910Aa	910Aa
CV(%)	3,4					3,0				
COMPRIMENTO DE PLÂNTULAS (cm)										
Lote	CÂMARA FRIA E SECA (A1)					AMBIENTE NATURAL (A2)				
	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses	Início	2 meses	4 meses	6 meses	8 meses
6	8,0Ba	7,2Bab	7,0Bb	6,7Bb	6,2Bb	8,0Ba	8,0Ba	6,0Bb	6,3Bb	5,7Bb
7	9,2Aa	8,7Aab	8,5Aab	8,3Aab	7,8Ab	9,2Aa	9,9Aa	7,5Ab	7,4Ab	7,3Ab
8	9,1Aa	9,2Aa	8,9Aa	8,4Aa	8,3Aa	9,1Aa	9,7Aa	7,7Ab	7,3Ab	7,7Ab
9	8,1Ba	8,6Aa	6,9Bb	7,0Bb	6,3Bb	8,1Ba	8,7Ba	6,1Bb	6,3Bb	6,2Bb
CV(%)	6,2					7,1				

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, dentro de cada ambiente, não diferem entre si pelo teste de Tukey, $p \leq 0,05$

Quanto ao desempenho das sementes ao longo do armazenamento, foi constatada redução no comprimento de plântulas de todos os lotes. Em câmara fria e seca (A1), a queda no vigor foi identificada para os lotes 6 e 9, a partir dos 4 meses de armazenamento, e para o lote 7, aos 8 meses. Já em ambiente natural (A2), a redução ocorreu para as sementes de todos os lotes a partir do quarto mês de armazenamento.

Diante dos resultados obtidos nos testes conduzidos para o cultivar FMT 709, verificou-se que os testes de envelhecimento acelerado (tradicional e com solução saturada de NaCl), emergência de plântulas em campo e as análises SVIS[®] (índice de vigor e comprimento de plântulas) apresentaram maior sensibilidade na separação dos lotes quanto ao vigor, em ambos os ambientes de armazenamento, destacando o pior desempenho do lote 6, às vezes acompanhado pelo lote 9, e o melhor do lote 8, acompanhado ou não pelo lote 7. De maneira semelhante à verificada para o cultivar BRS 293, essa estratificação foi mais consistente a partir dos 4 meses de armazenamento, nos dois ambientes. Além disso, vale ressaltar que o teste de emergência de plântulas em campo e o SVIS[®] (índice de vigor e comprimento de plântulas) identificaram diferenças iniciais entre lotes, não observadas nos testes de germinação, primeira contagem de germinação e envelhecimento acelerado (tradicional e com solução saturada de NaCl).

Ainda, verificou-se que o teste de envelhecimento acelerado tradicional e as análises SVIS[®] (índice de vigor e comprimento de plântulas) também demonstraram maior sensibilidade na identificação da queda no vigor das sementes durante o armazenamento, sendo detectada, de uma maneira geral, a partir dos 4 meses, nos dois ambientes.

2.3.1.3 Considerações gerais

De acordo com as observações realizadas nos testes conduzidos para as sementes de ambos os cultivares, constatou-se maior eficiência dos testes de envelhecimento acelerado (tradicional e com solução saturada de NaCl), emergência de plântulas em campo e das análises SVIS[®] (comprimento de plântulas) na estratificação dos lotes quanto ao vigor; essa separação foi mais consistente a partir dos 4 meses de armazenamento nos dois ambientes. Além disso, o teste de envelhecimento acelerado tradicional e o SVIS[®] (índice de vigor e comprimento de

plântulas) demonstraram sensibilidade na identificação da queda no vigor das sementes, sendo verificada a partir dos 4 meses de armazenamento tanto em câmara fria e seca (A1), como em ambiente natural (A2).

Em relação aos ambientes de armazenamento (A1 e A2), observou-se que as diferenças no desempenho das sementes foram relativamente pouco acentuadas, porém, suficientes para fazer as avaliações propostas, uma vez que foram observadas diferenças de vigor entre os lotes e redução no potencial fisiológico das sementes ao longo do armazenamento.

2.3.2 Avaliação do espaço livre na cavidade interna das sementes por meio do *software* Tomato Analyzer

Os resultados da avaliação das determinações do espaço livre na cavidade interna das sementes do cultivar BRS 293, revelaram diferenças significativas entre lotes em todas as épocas e ambientes de armazenamento (Tabela 14).

Tabela 14 - Espaço livre (%) na cavidade interna das sementes de cinco lotes, cultivar BRS 293, avaliado por meio do *software* Tomato Analyzer, no início, aos 4 e 8 meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1) e em ambiente natural (A2)

Lote	ESPAÇO LIVRE (%)					
	CÂMARA FRIA E SECA (A1)			AMBIENTE NATURAL (A2)		
	Início	4 meses	8 meses	Início	4 meses	8 meses
1	27,4ABa	27,4Aa	28,4Aa	27,4ABa	27,6Aa	27,9Aa
2	26,2ABa	25,2Ba	24,9Ca	26,2BCa	25,6Ba	25,8Ba
3	27,9Aa	26,4ABa	26,5BCa	27,9Aa	26,5ABa	27,2ABa
4	25,6Ba	25,6ABa	25,6BCa	25,6Ca	25,6Ba	26,5ABa
5	27,3ABa	27,2Aa	27,1ABa	27,3ABa	27,6Aa	27,5Aa
CV (%)	3,4			2,8		

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, dentro de cada ambiente, não diferem entre si pelo teste de Tukey, $p \leq 0,05$

No início do armazenamento, as sementes dos lotes 3 e 4 apresentaram o maior e menor espaço livre, respectivamente. No entanto, a partir do quarto mês de armazenamento em câmara fria e seca (A1), as sementes dos lotes 1 e 5 apresentaram maior espaço livre em relação às sementes do lote 2. Esses resultados também foram verificados para as sementes armazenadas em ambiente

natural (A2), destacando, ainda, a superioridade do espaço livre dos lotes 1 e 5 em relação ao lote 4, aos 4 meses de armazenamento.

Como pode ser observado, a estratificação dos lotes quanto ao espaço livre na cavidade interna das sementes não apresentou relação com a obtida na avaliação do potencial fisiológico. Em nenhuma das épocas e ambientes de armazenamento houve diferença significativa entre o espaço livre dos lotes 3 e 5. O mesmo não foi verificado com o potencial fisiológico das sementes, pois, após 4 meses de armazenamento (A1 e A2), os lotes 3 e 5 apresentaram comportamentos distintos na maioria dos testes conduzidos, destacando-se como lotes de menor e maior vigor, respectivamente.

Além disso, a provável redução da área ocupada pelo embrião ao longo do armazenamento, ou seja, o aumento do espaço livre na cavidade interna da semente, não foi constatado nos resultados da análise por meio do Tomato Analyzer. Observou-se que, durante os 8 meses de armazenamento (A1 e A2), o espaço livre na cavidade interna das sementes de todos os lotes avaliados foi mantido. Em contrapartida, o potencial fisiológico das sementes foi reduzido a partir do sexto mês de armazenamento em câmara fria e seca (A1), e após 4 meses, em ambiente natural (A2).

Dessa forma, não foi possível constatar relação entre o espaço livre e o potencial fisiológico das sementes do cultivar BRS 293, visto que sementes com diferentes níveis de vigor apresentaram espaço livre semelhantes; ainda, constatou-se redução no desempenho das sementes ao longo do armazenamento, enquanto o espaço livre foi mantido.

Para o cultivar FMT 709, foi possível verificar diferenças de espaço livre na cavidade interna das sementes em todas as épocas e ambientes de armazenamento, exceto aos 4 meses, em ambiente natural (Tabela 15).

De acordo com a Tabela 15, podemos observar que, no início do armazenamento, as sementes do lote 7 apresentaram maior espaço livre em relação às sementes dos lotes 6 e 9. Essa mesma estratificação dos lotes permaneceu ao longo do armazenamento em câmara fria e seca (A1); porém, quando as sementes foram armazenadas em ambiente natural (A2), o espaço livre do lote 7 superou apenas o do lote 9, aos 8 meses de armazenamento.

Tabela 15 - Espaço livre (%) na cavidade interna das sementes de quatro lotes, cultivar FMT 709, avaliado por meio do *software* Tomato Analyzer, no início, aos 4 e 8 meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1) e em ambiente natural (A2)

Lote	ESPAÇO LIVRE (%)					
	CÂMARA FRIA E SECA (A1)			AMBIENTE NATURAL (A2)		
	Início	4 meses	8 meses	Início	4 meses	8 meses
6	24,7Ba	24,1Ba	24,1Ba	24,7Ba	24,6Aa	25,2ABa
7	25,8Aa	25,1Ab	25,0Ab	25,8Aab	25,1Ab	26,0Aa
8	25,7Aa	24,8ABb	25,0Ab	25,7ABa	25,4Aa	25,7Aa
9	24,7Ba	24,1Bab	23,9Bb	24,7Ba	25,0Aa	24,6Ba
CV (%)	1,5			2,0		

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, dentro de cada ambiente, não diferem entre si pelo teste de Tukey, $p \leq 0,05$

De maneira distinta à verificada para o cultivar BRS 293, foi constatada uma relação entre o espaço livre e o potencial fisiológico das sementes do cultivar FMT 709. De acordo com os resultados obtidos por meio do *software* Tomato Analyzer, o menor espaço livre foi, de uma forma geral, apresentado pelas sementes dos lotes 6 e 9. Nos testes de vigor conduzidos, as sementes dos lotes 6 e 9 apresentaram pior desempenho em relação às dos lotes 7 e 8. Assim, observou-se que as sementes menos vigorosas apresentaram menor espaço livre e, conseqüentemente, maior área ocupada pelo embrião; o contrário também foi constatado, ou seja, sementes mais vigorosas possuíam menor área embrionária. Estes resultados discordam dos obtidos por Santos et al. (2009), onde a presença de maior área livre na cavidade interna de sementes de mamão resultou em menores porcentagens de germinação.

Além disso, as sementes do cultivar FMT 709 (lotes 7, 8 e 9) apresentaram redução do espaço livre ao longo do armazenamento em câmara fria e seca (A1). Este fato leva ao questionamento sobre a provável redução da área embrionária das sementes durante o armazenamento, pois se sabe, até o momento, que ao longo deste processo há um consumo de reservas pelo eixo embrionário, o que poderia levar a um aumento do espaço livre e não à sua redução. De acordo com Liu et al. (1993), amplas variações no teor de água podem gerar informações incorretas decorrentes de alterações na morfologia interna das sementes. No entanto, descarta-se a possibilidade do grau de umidade ter sido o responsável pelo menor

espaço livre, visto que os teores de água foram ajustados de forma que não interferissem nos resultados.

Ainda foi observado que, de forma geral, a redução do espaço livre no interior das sementes armazenadas em câmara fria e seca (A1) ocorreu a partir dos 4 meses de armazenamento, apresentando relação com a queda do potencial fisiológico dessas sementes, detectada, também, nesse mesmo período. O mesmo não foi verificado para as sementes armazenadas em ambiente natural (A2), uma vez que o espaço livre praticamente se manteve durante o armazenamento, enquanto o vigor das sementes decrescia.

Para verificar de forma minuciosa a possível relação entre o espaço livre e o desempenho das sementes, adotou-se outra forma de análise dos dados, visando identificar associação entre o espaço livre e a germinação das sementes. Assim, as sementes foram classificadas em três categorias (item 2.2.1.8).

Com a classificação das sementes em categorias, observou-se que, independentemente do ambiente de armazenamento (A1 e A2), nas 3 épocas de avaliação, todos os lotes do cultivar BRS 293 apresentaram maior porcentagem de sementes com espaço livre entre 23,3% e 28,9% (categoria 2) (Figuras 4 e 5).

Figura 4 - Germinação e porcentagem de sementes de cinco lotes, cultivar BRS 293, em cada categoria de espaço livre, no início, aos 4 e 8 meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1)

Início do armazenamento

4 meses de armazenamento (A2)

8 meses de armazenamento (A2)

Figura 5 - Germinação e porcentagem de sementes de cinco lotes, cultivar BRS 293, em cada categoria de espaço livre, no início, aos 4 e 8 meses de armazenamento em ambiente natural (A2)

Embora a comparação de médias do espaço livre não tenha se relacionado com a obtida para o potencial fisiológico de sementes do cultivar BRS 293, foi possível associar o espaço livre com a germinação, por meio da classificação das sementes em categorias.

No início do armazenamento (Figuras 4 e 5), verificou-se que as sementes da categoria 3, dos lotes 1 e 3, apresentaram menor germinação em relação às sementes das categorias 1 e 2. Em câmara fria e seca (A1) (Figura 4), essa inferioridade das sementes da categoria 3 também foi verificada para o lote 2, aos 4 meses de armazenamento, e para os lotes 1 e 3, aos 8 meses. A presença de uma área livre maior pode indicar menor desenvolvimento do embrião, como também, consumo de reservas durante a respiração, interferindo de forma negativa no potencial fisiológico das sementes. Por outro lado, uma área livre menor indica maior área ocupada pelo embrião, o qual possivelmente estará mais desenvolvido, dispondo de uma quantidade maior de reservas para a futura germinação. Assim, em todas as épocas de avaliação, verificou-se que para a maioria dos lotes armazenados em A1, as sementes com espaço livre inferior a 23,3% (categoria 1) apresentaram 100% de germinação. Trabalhando com sementes de embaúba, Pupim et al. (2008) verificaram que a maior parte das sementes classificadas como “totalmente formadas”, ou seja, com menor espaço livre, originou plântulas normais.

Em ambiente natural (A2) foram observados resultados semelhantes (Figura 5). Aos quatro meses de armazenamento, as sementes da categoria 3, dos lotes 2, 3 e 5, apresentaram menor germinação em relação às sementes das demais categorias; o mesmo foi verificado para as sementes do lote 3, no oitavo mês de armazenamento. Além disso, em todas as épocas de avaliação, constatou-se, novamente, maior germinação das sementes com espaço livre inferior a 23,3%, visto que para a maioria dos lotes, as sementes da categoria 1 germinaram, originando somente plântulas normais.

Um fato interessante ocorreu com as sementes do lote 5, armazenadas em câmara fria e seca (A1) (Figura 4). Independente da categoria de espaço livre, todas as sementes germinaram originando apenas plântulas normais. Como o lote 5 foi identificado como o mais vigoroso na avaliação do potencial fisiológico, provavelmente isto aconteceu devido ao alto vigor das sementes, sendo a adequada condição de armazenamento responsável pela conservação do potencial fisiológico das sementes. De acordo com Carvalho e Nakagawa (2000), as melhores condições

para a manutenção do potencial fisiológico de sementes armazenadas são baixa umidade relativa do ar e baixa temperatura, pois mantém o embrião em baixa atividade metabólica.

A classificação em categorias também permitiu identificar lotes de sementes com padrões semelhantes quanto à proporção de espaço livre em relação à cavidade interna. No início do armazenamento (Figuras 4 e 5), os lotes 1 e 3 apresentaram similaridade dos percentuais de sementes dentro de cada categoria de espaço livre, e conseqüentemente, comportamentos semelhantes em relação a germinação. Essa mesma relação foi observada aos 4 meses de armazenamento em ambiente natural (A2) (Figura 5), para as sementes dos lotes 2 e 4, classificadas nas categorias 1 e 2; já as sementes da categoria 3, de ambos os lotes, apresentaram percentuais de sementes similares, porém, porcentagens de germinação distintas, sendo 89% para o lote 2 e 100% para o lote 4. Este fato demonstra a atuação de outros fatores responsáveis pela manifestação do potencial fisiológico das sementes, como por exemplo, a ação de microrganismos e a deterioração natural das sementes, sem apresentação de sintomas visíveis nas imagens radiográficas (VAN DER BURG et al., 1994). Provavelmente estes fatores interferiram nos resultados obtidos nesta pesquisa, pois sementes com espaço livre semelhante e sem dano aparente nas imagens radiográficas, originaram tanto plântulas normais como anormais (Figura 6). Resultados semelhantes foram observados em sementes de pimentão (GAGLIARDI; MARCOS-FILHO, 2011), berinjela (SILVA; CICERO; BENNETT, 2012) e pepino (GOMES-JUNIOR; CHIQUITO; MARCOS-FILHO, 2013).

Figura 6 - Imagens radiográficas de sementes de algodão (A, B, C, D, E, F), cultivar BRS 293, representativas de cada categoria de espaço livre (A e B - categoria 1; C e D - categoria 2; E e F - categoria 3), com suas respectivas plântulas normais (A', C', E') ou anormais (B', D', F'), após três dias de germinação

Em relação ao cultivar FMT 709, os resultados obtidos foram, em parte, semelhantes aos do cultivar BRS 293. Os lotes do cultivar FMT 709 também apresentaram maior porcentagem de sementes na categoria 2 (Figuras 7 e 8).

No início do armazenamento, observou-se novamente o comportamento inferior das sementes da categoria 3 em relação ao das demais, apresentado pelos lotes 7 e 9. Durante o armazenamento, o desempenho das sementes da categoria 3 dos lotes 7 (aos 8 meses, em A1) e 9 (aos 4 meses, em A2) permaneceu inferior ao das categorias 1 e 2. No entanto, para os demais lotes armazenados em ambos os ambientes, os resultados foram divergentes, verificando-se 100% de germinação para todas as sementes com espaço livre superior a 28,9% (categoria 3). Talvez isso tenha ocorrido devido à baixa representatividade desta categoria, o que eleva a probabilidade de ocorrer maior germinação dessas sementes quando comparada às sementes das categorias 1 e 2. Porém, vale ressaltar que estes resultados são coerentes com os obtidos na comparação de médias (Tabela 15) e na avaliação do potencial fisiológico das sementes (item 2.3.1.2), visto que o maior espaço livre foi verificado pelas sementes que apresentaram melhor desempenho.

Para o cultivar FMT 709 também foi constatado que, para a maioria dos lotes armazenados em ambiente natural (A2), as sementes com espaço livre inferior a 23,3% (categoria 1) originaram somente plântulas normais (Figura 8). Em pesquisa conduzida com sementes de mamão, observou-se que aquelas consideradas cheias, ou seja, com menor espaço livre, apresentaram alta porcentagem de germinação (CARVALHO; ALVES; OLIVEIRA, 2010).

Início do armazenamento

4 meses de armazenamento (A1)

8 meses de armazenamento (A1)

Figura 7 - Germinação e porcentagem de sementes de quatro lotes, cultivar FMT 709, em cada categoria de espaço livre, no início, aos 4 e 8 meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1)

Início do armazenamento

4 meses de armazenamento (A2)

8 meses de armazenamento (A2)

Figura 8 - Germinação e porcentagem de sementes de quatro lotes, cultivar FMT 709, em cada categoria de espaço livre, no início, aos 4 e 8 meses de armazenamento em ambiente natural (A2)

Ainda, lotes de sementes com proporções semelhantes de espaço livre em relação à cavidade interna também foram observados para o cultivar FMT 709 (Figura 8). Aos quatro meses de armazenamento (A2), as sementes das categorias 1 e 2, dos lotes 7 e 9, apresentaram porcentagens de sementes e de germinação similares; porém, apesar da proximidade do percentual de sementes da categoria 3, houve diferença na germinação das mesmas, atingindo 100% para as do lote 7 e 83% para as do lote 9. Resultados semelhantes foram observados para os lotes 6 e 9, aos 8 meses de armazenamento (A2), sendo constatada semelhança entre as porcentagens de sementes e de germinação para as categorias 2 e 3, e a divergência de sementes germinadas para a categoria 1 (100% para o lote 6 e 91% para o lote 9), embora apresentassem porcentagem de sementes semelhante. Dessa forma, fica claro que há outros fatores responsáveis pela germinação das sementes, além do espaço livre, como a atividade das enzimas, peroxidação, presença de danos mecânicos, deterioração dos tecidos, ação de microrganismos, entre outros. As seguintes imagens revelam este fato, visto que sementes classificadas dentro da mesma categoria de espaço livre, apresentaram desempenhos diferentes (Figura 9).

Figura 9 - Imagens radiográficas de sementes de algodão (A, B, C, D, E, F), cultivar FMT 709, representativas de cada categoria de espaço livre (A e B - categoria 1; C e D - categoria 2; E e F - categoria 3), com suas respectivas plântulas anormais (A', C', E') ou normais (B', D', F'), após três dias de germinação

Assim, de acordo com os resultados obtidos para ambos os cultivares, verificou-se que a utilização do *software* Tomato Analyzer permitiu quantificar o espaço livre na cavidade interna das sementes de algodão; no entanto, não foi observada relação consistente entre o espaço livre e o potencial fisiológico das sementes durante o armazenamento. Contudo, com a classificação das sementes em categorias, observou-se, de uma forma geral, tendência do menor espaço livre favorecer a germinação das sementes, e do maior espaço livre, decrescer o percentual de germinação.

2.3.3 Avaliação do espaço livre na cavidade interna das sementes por meio do *software* Image-Pro® Plus

Os resultados da avaliação das determinações do espaço livre na cavidade interna das sementes, obtidos por meio do *software* Image-Pro® Plus, também revelaram diferenças significativas entre os lotes do cultivar BRS 293, em todas as épocas e ambientes de armazenamento (Tabela 16). No entanto, da mesma forma observada para o *software* Tomato Analyzer, em todas as épocas e ambientes de armazenamento, não foram constatadas diferenças significativas entre o espaço livre das sementes dos lotes de menor (lote 3) e maior (lote 5) vigor, conforme avaliação do potencial fisiológico.

Tabela 16 - Espaço livre (%) na cavidade interna das sementes de cinco lotes, cultivar BRS 293, avaliado por meio do *software* Image-Pro® Plus, no início, aos 4 e 8 meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1) e em ambiente natural (A2)

Lote	ESPAÇO LIVRE (%)					
	CÂMARA FRIA E SECA (A1)			AMBIENTE NATURAL (A2)		
	Início	4 meses	8 meses	Início	4 meses	8 meses
1	8,1Aa	9,1Aa	9,3Aa	8,1Aa	8,8Aa	8,7Aa
2	6,3ABa	6,0Ca	6,0Ba	6,3BCa	6,9Ba	6,5Ba
3	7,7ABa	7,1ABCa	7,2Ba	7,7ABa	7,5ABa	7,4ABa
4	5,7Ba	6,4BCa	6,1Ba	5,7Ca	6,2Ba	6,4Ba
5	7,7ABa	8,1ABa	7,3ABa	7,7ABa	8,2ABa	7,7ABa
CV (%)	14,1			12,2		

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, dentro de cada ambiente, não diferem entre si pelo teste de Tukey, $p \leq 0,05$

Em câmara fria e seca (A1) verificou-se que, desde o início do armazenamento, as sementes do lote 1 apresentaram maior espaço livre em relação às sementes do lote 4. Esse maior espaço livre das sementes do lote 1 também foi observado em relação às sementes do lote 2, aos 4 meses de armazenamento, e às dos lotes 2 e 3, aos 8 meses. Os resultados obtidos para as sementes armazenadas em ambiente natural (A2) foram semelhantes; em todas as épocas de avaliação, o espaço livre na cavidade interna das sementes do lote 1 foi superior ao dos lotes 2 e 4.

Ainda, observou-se que, ao longo do armazenamento (A1 e A2), o espaço livre na cavidade interna das sementes de todos os lotes avaliados foi mantido, divergindo dos resultados obtidos na avaliação do potencial fisiológico, onde constatou-se queda no desempenho das sementes a partir dos seis meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1), e após o quarto mês, em ambiente natural (A2). Dessa forma, não foi possível verificar uma relação entre o espaço livre na cavidade interna e o desempenho das sementes.

Diante desses resultados, podemos constatar que a sensibilidade do Image-Pro® Plus na avaliação do espaço livre na cavidade interna das sementes do cultivar BRS 293, foi semelhante à do Tomato Analyzer, uma vez que os resultados obtidos para ambos os *softwares* forneceram informações semelhantes.

Para o cultivar FMT 709 (Tabela 17), a avaliação do espaço livre por meio do Image-Pro® Plus permitiu apenas a separação dos lotes armazenados em ambiente natural (A2). Assim, os resultados divergiram dos obtidos pelo Tomato Analyzer, pois no início e aos 8 meses de armazenamento (A2) foi verificada uma relação inversamente proporcional, ou seja, sementes menos vigorosas (lote 9) apresentaram maior espaço livre e, sementes mais vigorosas (lote 8), menor espaço livre. Trabalhando com sementes de pimentão, Dell'Aquila (2007) verificou decréscimo na porcentagem de plântulas normais em sementes com espaço livre entre o embrião e o endosperma superior a 2,7%.

Além disso, observou-se que, ao contrário do potencial fisiológico, o espaço livre na cavidade interna das sementes de todos os lotes se manteve ao longo do armazenamento (A1 e A2), exceto dos lotes 6 e 8, armazenados em ambiente natural (A2), onde foi constatado um aumento do espaço livre aos 4 meses. Esses resultados demonstram que há uma tendência da área embrionária das sementes ser reduzida ao longo do armazenamento.

Dessa forma, verificou-se que, apesar do Image-Pro® Plus ter apresentado menor sensibilidade na separação dos lotes do cultivar FTM 709 quanto ao espaço livre, esse *software* permitiu a obtenção de informações mais coerentes quando comparado ao Tomato Analyzer, pois o Image-Pro® Plus quantifica o real espaço livre na cavidade interna das sementes, enquanto o Tomato Analyzer contabiliza o tegumento adicionalmente. Além disso, observou-se que para alguns lotes desse cultivar, o Image-Pro® Plus permitiu constatar aumento do espaço livre na cavidade interna das sementes durante o armazenamento, o que era esperado nesta pesquisa.

Tabela 17 - Espaço livre (%) na cavidade interna das sementes de quatro lotes, cultivar FMT 709, avaliado por meio do *software* Image-Pro® Plus, no início, aos 4 e 8 meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1) e em ambiente natural (A2)

Lote	ESPAÇO LIVRE (%)					
	CÂMARA FRIA E SECA (A1)			AMBIENTE NATURAL (A2)		
	Início	4 meses	8 meses	Início	4 meses	8 meses
6	4,5Aa	4,9Aa	4,1Aa	4,5ABb	5,9Aa	6,1Aa
7	4,6Aa	4,4Aa	3,9Aa	4,6ABa	5,1Aa	5,2ABa
8	4,0Aa	4,1Aa	3,8Aa	4,0Bb	5,1Aa	4,3Bab
9	5,0Aa	5,1Aa	4,2Aa	5,0Aa	5,6Aa	5,4Aa
CV (%)	13,0			10,6		

Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, dentro de cada ambiente, não diferem entre si pelo teste de Tukey, $p \leq 0,05$

De maneira semelhante à observada para o Tomato Analyzer, foi conduzida a classificação das sementes em categorias para verificar a possível relação entre o espaço livre e a germinação das sementes. Assim, para a avaliação das sementes utilizando o Image-Pro® Plus, também foram estabelecidas três categorias de espaço livre, seguindo a metodologia apresentada no item 2.2.1.8.

É importante deixar claro que as diferenças de valores obtidas entre os dois *softwares* ocorreram devido à identificação do espaço livre, pois no Tomato Analyzer o tegumento é contabilizado como espaço livre, enquanto no Image-Pro® Plus não. Assim, os valores obtidos por meio desse *software* são inferiores aos obtidos pelo Tomato Analyzer.

Figura 10 - Germinação e porcentagem de sementes de cinco lotes, cultivar BRS 293, em cada categoria de espaço livre, no início, aos 4 e 8 meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1)

Figura 11 - Germinação e porcentagem de sementes de cinco lotes, cultivar BRS 293, em cada categoria de espaço livre, no início, aos 4 e 8 meses de armazenamento em ambiente natural (A2)

De uma forma geral, foi possível verificar relação entre o espaço livre e a germinação das sementes do cultivar BRS 293. Observou-se que para alguns lotes, em todas as épocas de avaliação, as sementes da categoria 1 germinaram, originando somente plântulas normais. Isto ocorreu com as sementes dos lotes 3, 4 e 5, armazenadas em câmara fria e seca (A1) (Figura 10), e com as sementes dos lotes 1 e 5, armazenadas em ambiente natural (A2) (Figura 11). Estes resultados podem ser explicados, pois sementes com menor espaço livre indicam maior área ocupada pelo embrião, consequentemente, maior quantidade de tecido de reserva disponível para o processo de germinação. No entanto, não se pode afirmar que uma semente com maior área ocupada pelo embrião originará uma plântula normal, pois além da morfologia interna, existem outros fatores responsáveis pelo desempenho das sementes, como sanidade, condições de ambiente (água, oxigênio, temperatura, luz), atividade de enzimas, entre outros.

Por outro lado, observou-se tendência do maior espaço livre favorecer o desenvolvimento de plântulas anormais e sementes mortas, pois em alguns lotes, foi possível verificar o desempenho inferior das sementes da categoria 3 (espaço livre > 9,6%) em relação ao das demais categorias. Este fato foi observado para as sementes dos lotes 1 e 3, no início do armazenamento (Figuras 10 e 11); já aos quatro meses, apenas as sementes do lote 2, armazenadas em câmara fria e seca (A1), apresentaram esse desempenho (Figura 10). Contudo, ao final do período de armazenamento (8 meses), a maioria dos lotes manifestou esse comportamento, tanto em sementes armazenadas em câmara fria e seca (lotes 1, 3 e 4) (Figura 10), como em sementes armazenadas em ambiente natural (lotes 1, 2, 3 e 4) (Figura 11). Em pesquisa conduzida com sementes de pimentão, foi observado que o decréscimo da área ocupada pelo embrião + endosperma na cavidade interna das sementes estava diretamente relacionado à incidência de plântulas anormais e sementes não germinadas (GAGLIARDI; MARCOS-FILHO, 2011).

A classificação das sementes do cultivar BRS 293 em categorias, também possibilitou detectar lotes com padrões semelhantes quanto ao espaço livre na cavidade interna das sementes. Este fato foi verificado aos 4 meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1), onde os lotes 3 e 5 apresentaram porcentagens de sementes similares em cada categoria de espaço livre; neste caso, o desempenho das sementes, dentro de cada categoria, também foi semelhante. Entretanto, a semelhança entre porcentagens de sementes nem sempre

correspondeu a uma similaridade na germinação. Aos 8 meses de armazenamento em ambiente natural (A2), as sementes das categorias 1 e 2, dos lotes 1 e 5, apresentaram semelhança tanto em relação à porcentagem de sementes como ao desempenho; porém, isto não foi constatado para as sementes da categoria 3, pois embora tenha sido detectada equivalência entre as porcentagens de sementes, as germinações foram distintas: 91% para o lote 1 e 100% para o lote 5.

Essa relação entre espaço livre semelhante e desempenhos diferentes foi verificada com frequência durante a condução desta pesquisa, demonstrando a importância de se associar outros fatores à análise da morfologia interna para se estimar a germinação das sementes (Figura 12).

Quanto às sementes do cultivar FMT 709 (Figuras 13 e 14), houve semelhança entre os resultados obtidos pelos dois *softwares*. No início do armazenamento, as sementes da categoria 3 ($> 9,6\%$), dos lotes 8 e 9, apresentaram menor germinação em relação às das categorias 1 e 2; este mesmo comportamento foi observado para as sementes do lote 9 (aos 4 meses, em A1) e dos lotes 7 e 8 (aos 4 meses, em A2). Contudo, para os demais lotes avaliados (em A1 e A2), todas as sementes da categoria 3 germinaram, originando apenas plântulas normais. Cabe aqui lembrar que poucas sementes foram classificadas nesta categoria de maior espaço livre, o que aumenta a probabilidade de ocorrer maior germinação em relação às demais categorias. Essa baixa representatividade das sementes em algumas categorias foi detectada em pesquisa com sementes de tomate e berinjela (SILVA, 2012), interferindo na confiabilidade dos resultados. Assim, é importante ressaltar que quanto maior o número de sementes analisadas, mais confiáveis são os resultados obtidos.

Figura 12 - Imagens radiográficas de sementes de algodão analisadas pelo Image-Pro[®] Plus (A, B, C, D, E, F), cultivar FMT 709, representativas de cada categoria de espaço livre (A e B - categoria 1; C e D - categoria 2; E e F - categoria 3), com suas respectivas plântulas anormais (A', C', E') ou normais (B', D', F'), após três dias de germinação

Figura 13 - Germinação e porcentagem de sementes de quatro lotes, cultivar FMT 709, em cada categoria de espaço livre, no início, aos 4 e 8 meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1)

Início do armazenamento

4 meses de armazenamento (A2)

8 meses de armazenamento (A2)

Figura 14 - Germinação e porcentagem de sementes de quatro lotes, cultivar FMT 709, em cada categoria de espaço livre, no início, aos 4 e 8 meses de armazenamento em ambiente natural (A2)

Por outro lado, observou-se que todas as sementes com porcentagem de espaço livre inferior a 2,2 (categoria 1), armazenadas em ambiente natural (A2), deram origem à plântulas normais (Figura 14). Assim como comentado anteriormente, é provável que a maior área ocupada pelo embrião possa ter favorecido o desempenho das sementes, devido a maior disponibilidade de reservas para a germinação. No entanto, pesquisa desenvolvida com sementes de tomate demonstrou que a presença de maior área ocupada pelo embrião e endosperma não favoreceu a germinação (SILVA; CICERO; BENNETT, 2012). Essa divergência demonstra a necessidade de mais estudos específicos para verificar a relação do grau de desenvolvimento embrionário e o desempenho das sementes.

A classificação em categorias por meio do Image-Pro[®] Plus também permitiu identificar lotes de sementes do cultivar FMT 709, com proporções semelhantes de espaço livre em relação à cavidade interna (Figuras 13 e 14). Aos 4 meses de armazenamento (A2), os lotes 6 e 9 apresentaram semelhança tanto na distribuição das sementes em categorias, como na porcentagem de germinação. Por outro lado, foi possível observar, mais uma vez, que além da morfologia interna outros fatores contribuem para a germinação das sementes. Isto pode ser constatado nas sementes da categoria 3 dos lotes 7 e 9 (no início do armazenamento) e nas sementes das categorias 1 e 2, dos lotes 7 e 8 (aos 8 meses em A1), onde a similaridade entre as porcentagens de espaço livre não necessariamente significaram desempenhos semelhantes. A Figura 15 demonstra que a germinação das sementes não pode ser estimada apenas com base no espaço livre.

Figura 15 - Imagens radiográficas de sementes de algodão analisadas pelo Image-Pro® Plus (A, B, C, D, E, F), cultivar FMT 709, representativas de cada categoria de espaço livre (A e B - categoria 1; C e D - categoria 2; E e F - categoria 3), com suas respectivas plântulas anormais (A', C', E') ou normais (B', D', F'), após três dias de germinação

Diante disso, podemos observar que o *software* Image-Pro[®] Plus também permitiu determinar o espaço livre na cavidade interna das sementes de ambos os cultivares. Da mesma forma observada para o Tomato Analyzer, não foi verificada relação consistente entre o espaço livre e o vigor das sementes durante o armazenamento; no entanto, a classificação das sementes em categorias permitiu verificar relação entre o espaço livre e a germinação das sementes, onde, novamente, foi constatada tendência das sementes com maior espaço livre apresentarem menor germinação e vice-versa.

2.3.4 Considerações finais

Dentre os testes conduzidos para avaliação do potencial fisiológico de sementes de algodão, houve destaque para o envelhecimento acelerado (tradicional e com solução saturada de NaCl), emergência de plântulas em campo e SVIS[®] (comprimento de plântulas). Esses testes apresentaram maior sensibilidade às diferenças de vigor entre os lotes de sementes dos cultivares BRS 293 e FMT 709; no entanto, de uma maneira geral, essas diferenças não se relacionaram com aquelas obtidas na avaliação do espaço livre na cavidade interna, pois sementes com diferentes níveis de vigor apresentaram espaço livre semelhante.

Além disso, houve redução no vigor das sementes de ambos os cultivares durante o armazenamento em câmara fria e seca e em ambiente natural, sendo detectada com maior eficiência pelo teste de envelhecimento acelerado tradicional e pelas análises SVIS[®] (índice de vigor e comprimento de plântulas); porém, verificou-se que, para a maioria dos lotes avaliados, o espaço livre na cavidade interna das sementes se manteve ao longo do armazenamento.

Diante disso, não foi possível verificar relação consistente entre o espaço livre na cavidade interna e o potencial fisiológico das sementes durante o armazenamento. No entanto, a classificação das sementes em categorias permitiu identificar, de uma forma geral, tendência do menor espaço livre favorecer a germinação das sementes, e do maior espaço livre, reduzir o porcentual de germinação.

3 CONCLUSÕES

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

a) Os testes de envelhecimento acelerado (tradicional e com solução saturada de NaCl), emergência de plântulas em campo e as análises SVIS[®] (comprimento de plântulas) são considerados adequados para a avaliação do potencial fisiológico de sementes de algodão. Dentre eles, o teste de envelhecimento acelerado tradicional e o SVIS[®] (comprimento de plântulas) apresentam sensibilidade na identificação da queda do vigor das sementes durante o armazenamento.

b) O espaço livre na cavidade interna da semente não está associado à redução do potencial fisiológico de sementes de algodão durante o armazenamento.

c) Há indícios da existência de uma relação inversamente proporcional entre a germinação de sementes de algodão e o espaço livre na cavidade interna da semente; no entanto, há necessidade de aprimorar a metodologia para essa avaliação.

REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, R.O.; MARCOS-FILHO, J.; GOMES JUNIOR, F.G. Avaliação do vigor de sementes de milho superdoce por meio da análise computadorizada de imagens de plântulas. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 3, p. 488-494, 2012.
- ANDERSON, J.D.; BAKER, J.E. Deterioration of seeds during aging. **Annual meeting of the American Phytopathological Society**, St. Paul, v. 73, n. 2, p. 321-325, 1983. Apresentado no SYMPOSIUM ON DETERIORATION MECHANISMS IN SEEDS, 1983, New Orleans.
- ARRUDA, N. **Avaliação da estrutura e do potencial fisiológico de sementes de crotalária por meio de recursos de análise de imagens**. 2012. 55 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.
- BAALBAKI, R.; ELIAS, S.; MARCOS-FILHO, J.; McDONALD, M.B. **Seed vigor testing handbook**. Ithaca: Association of Official Seed Analysts, 2009. 341 p. (Contribution, 32).
- BATTISTI, A.; CANTINI, R.; FECI, E.; FRIGIMELICA, G.; GUIDO, M.; ROQUES, A. Detection and evaluation of seed damage of cypress, *Cupressus sempervirens* L., in Italy. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 28, n. 3, p. 729-738, 2000.
- BINO, R.J.; AARTSE, J.W.; VAN DER BURG, W.J. Non-destructive X-ray analysis of *Arabidopsis* embryo mutants. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 3, p. 167-170, 1993.
- BRAGANTINI, C.; MARCOS FILHO, J.; ABRAHÃO, J.T.M.; GODOY, R. Avaliação do comportamento de sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) durante o armazenamento. **Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"**, Piracicaba, v. 31, n. 11, p. 175-185, 1974.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa Nº 25, de 16 de dezembro de 2005**. Brasília, 2005. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do>>. Acesso em: 03 jun. 2010.
- _____. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA, Secretaria de Defesa Agropecuária, 2009. 395 p.
- BREWER, M.T.; MOYSEENKO, J.B.; MUNFORTE, A.J.; VAN DER KNAAP, 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.

BREWER, M.T.; LANG, L.K.; DUJMOVIC, N.; GRAY, M.; VAN DER KNAAP, E. Development of a controlled vocabulary and software application to analyze fruit shape variation in tomato and other plant species. **Plant Physiology**, Rockville, v. 141, n. 1, p. 15-25, 2006.

BREWER, M.T.; RODRIGUEZ, G.; GONZALO, M.J.; ANDERSON, C.; LANG, L.; SULLIVAN, D.; DUJMOVIC, N.; FUJIMURO, K.; GRAY, S.; van der KNAAP, E. **Tomato Analyzer user manual version 2.2.0.0**. 18p. 2008. Disponível em: <http://www.oardc.ohio-state.edu/vanderknaap/tomato_analyzer.php>. Acesso em: 05 dez. 2012.

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

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

CHIQUITO, A.A.; GOMES JUNIOR, F.G.; MARCOS-FILHO, J. Assessment of physiological potential of cucumber seeds using the software Seedling Vigor Imaging System (SVIS®). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 2, p. 255-263, 2012.

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.

CICERO, S.M.; VAN DER HEIJDEN, G.W.A.M.; VAN DER BURG, W.J.; BINO, R.J. Evaluation of mechanical damages in seeds of maize by X-ray and digital imaging. **Seed Science and technology**, Zurich, v. 26, n. 3, p. 603-612, 1998.

COPELAND, L.O.; McDONALD, M.B. **Principles of seed science and technology**. 4th ed. Boston: Kluwer Academic, 2001. 467 p.

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

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

DELOUCHE, J.C.; CALDWELL, W.P. Seed vigor and vigor tests. **Proceedings of Association of Official Seed Analysts**, Lincoln, v. 50, n. 1, p. 124-129, 1960.

DELOUCHE, J.C.; MATTHEWS, R.K.; DOUGHERTY, G.M.; BOYD, A.H. Storage of seed in sub-tropical and tropical regions. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 1, p. 671-700, 1973.

ELLIS, R.H.; OSEI-BONSU, K.; ROBERTS, E.H. The influence of genotype, temperature and moisture on seed longevity in chickpea, cowpea and soya bean. **Annals of Botany**, London, v. 50, n. 1, p. 69-82, 1982.

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.

FREITAS, R.A. de; DIAS, D.C.F.S.; CECON, P.R.; REIS, M.S. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de algodão durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 22, n. 2, p. 94-101, 2000.

FREITAS, R.A. de; DIAS, D.C.F.S.; CECON, P.R.; REIS, M.S.; DIAS, L.A.S. Storability of cotton seeds predicted by vigour tests. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 30, n. 2, p. 403-410, 2002.

GAGLIARDI, B.; MARCOS-FILHO, J. Relationship between germination and bell peper seed structure assessed by the X-ray test. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 68, n. 4, p. 411-416, 2011.

GOMES-JUNIOR, F.G.; CHIQUITO, A.A.; MARCOS-FILHO, J. Semi-automated assessment of the embryonic area of cucumber seeds and its relationship to germination and seedling length. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 183-189, 2013.

GOMES JUNIOR, F.G.; MONDO, V.H.V.; CICERO, S.M.; McDONALD, M.B.; BENNETT, M.A. Evaluation of priming effects on sweet corn seeds by SVIS. **Seed Technology**, Zurich, v. 31, n.1, p. 95-100, 2009.

HARRINGTON, J.F. Seed storage and longevity. In: KOZLOWSKI, T.T. **Seed biology**. New York: Academic Press, 1972. v. 3, p. 145-245.

HOFFMASTER, A.L.; FUJIMURA, K.; McDONALD, M.B.; BENNETT, M.A. An automated system for vigor testing three-day old soybean seedlings. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 31, n. 3, p. 701-713, 2003.

HOFFMASTER, A.L.; XU, L.; FUJIMURA, K.; McDONALD, M.B.; BENNETT, M.A.; EVANS, A.F. The Ohio State University Seed Vigor Imaging System (SVIS) for soybean and corn seedlings. **Seed Technology**, Lincoln, v. 27, n. 1, p. 7-24, 2005.

ILLIPRONTI JUNIOR, R.A.; LANGERAK, C.J.; LOMMEN, W.J.M. Variation in and relationships between physical and physiological seed attributes within a soybean seed lot. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 25, n. 2, p. 215-231, 1997.

JIANHUA, Z.; McDONALD, M.B. The saturated salt accelerated aging test for small-seeded crops. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 25, n. 1, p. 123-131, 1996.

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 imbibition of tomato seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 3, p. 171-178, 1993.

MACHADO, C.F.; CICERO, S.M. 'Aroeira branca' seed quality evaluation by the X-ray test. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 2, p. 393-397, 2003.

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999a. p. 3.1-3.24.

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

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

_____. Sistema computadorizado de análise de imagens de plântulas (SVIS[®]) para avaliação do vigor de sementes. **Informativo ABRATES**, Brasília, v. 20, n. 3, p. 40-44, 2010.

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

MARCOS FILHO, J.; KIKUTI, A.L.P.; LIMA, L.B. Métodos para avaliação do vigor de sementes de soja, incluindo a análise computadorizada de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 102-112, 2009.

MARCOS FILHO, J.; BENNETT, M.A.; McDONALD, M.B.; EVANS, A.F.; GRASSBAUGH, E.M. Assessment of melon seed vigour by an automated computer imaging system compared to traditional procedures. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 34, n. 2, p. 485-497, 2006.

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**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 146-153, 2010.

MATTIONI, F.; ALBUQUERQUE, M.C.F.; MENDONÇA, E.A.F. Desempenho de sementes de algodoeiro submetidas a diferentes tipos de estresses. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 80-85, 2009.

MEDEIROS FILHO, S.; FRAGA, A.C.; QUEIROGA, V.P.; SOUSA, L.C.F. de. Efeito do armazenamento sobre a qualidade fisiológica de sementes deslintadas de algodão. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 20, n. 3, p. 284-292, 1996.

MIGUEL, M.H.; CARVALHO, M.V.; BECKERT, O.P.; MARCOS FILHO, J. Teste de frio para avaliação do potencial fisiológico de sementes de algodão. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 4, p. 741-746, 2001.

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

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap. 2, p. 2.1-2.24.

OLIVEIRA, L.M.; CARVALHO, M.L.M.; GUIMARÃES, R.M.; MASETTO, T.E. Avaliação da qualidade de sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. E *T. impetiginosa* (Martius ex A.P. de Candolle) Standley – (*Bignoniaceae*) pelo teste de raios X. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 26, n. 2, p. 138-143, 2004.

OTONI, R.R.; McDONALD, M.B. Moisture and temperature effects on maize and soybean seedlings using the seed vigor imaging system. **Seed Technology**, Lincoln, v. 27, n. 2, p. 243-247, 2005.

PÁDUA, G.P.; VIEIRA, R.D. Deterioração de sementes de algodão durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 23, n. 2, p. 255-262, 2001.

PÁDUA, G.P.; VIEIRA, R.D.; BARBOSA, J.C. Desempenho de sementes de algodão tratadas quimicamente e armazenadas. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 24, n. 1, p. 212-219, 2002.

PASSOS, S.M.G. **Algodão**. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1977. 424 p.

PINTO, T.L.F.; CICERO, S.M.; FRANÇA NETO, J.B.; FORTI, V.A. An assessment of mechanical and stink bug damage in soybean using X-ray analysis test. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 37, n. 1, p. 110-120, 2009.

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

ROCHA, C.R.M. **Avaliação da qualidade de sementes de girassol por meio da análise de imagens**. 2012. 68 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

SAKO, Y.; McDONALD, M.B.; FUJIMURA, K.; EVANS, A.F.; BENNETT, M.A. A system for automated seed vigour assessment. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 29, n. 3, p. 625-636, 2001.

SANTOS, J.F.; ALVARENGA, R.O.; TIMÓTEO, T.S.; CONFORTO, E.C.; MARCOS FILHO, J.; VIEIRA, R.D. Avaliação do potencial fisiológico de lotes de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 4, p. 743-751, 2011.

SANTOS, S.A.; SILVA, R.F.; PEREIRA, M.G.; MACHADO, J.C.; BORÉM, F.M.; GOMES, V.M.; TONETTI, O.A.O. X-ray technique application in evaluating the quality of papaya seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 37, p. 776-780, 2009.

SILVA, C.B.; LOPES, M.M.; MARCOS-FILHO, J.; VIEIRA, R.D. Automated system of seedling image analysis (SVIS) and electrical conductivity to assess sun hemp seed vigor. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 55-60, 2012.

SILVA, J.C. da; ALBUQUERQUE, M.C.; MENDONÇA, E.A.F. de; KIM, M.E. Desempenho de sementes de algodão após o processamento e armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Lavras, v. 28, n. 1, p. 79-85, 2006.

SILVA, V.N. **Avaliação da qualidade de sementes de tomate e de berinjela por meio da análise de imagens**. 2012. 164 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

SILVA, V.N.; CICERO, S.M.; BENNETT, M. Relationship between eggplant seed morphology and germination. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 4, p. 597-604, 2012.

_____. Associations between X-ray visualised internal tomato seed morphology and germination. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 41, n. 2, p. 225-234, 2013.

SILVA, V.N.; GOMES JUNIOR, F.G.; CICERO, S.M. Computerized imaging analysis of seedlings for assessment of physiological potential of wheat seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 4, p. 589-596, 2012.

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.

STEINER, J.J. Seedling rate of development index: indicator of vigor and seedling growth response. **Crop Science**, Madison, v. 30, n. 6, p. 1264-1271, 1990.

TEKRONY, D.M. Accelerated aging test. In: HAMPTON, J.G.; TEKRONY, D.M. (Ed.). **Handbook of vigour test methods**. 3rd ed. Zurich: International Seed Testing Association, 1995. p. 35-50.

_____. Precision is an essential component in seed vigour testing. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 31, p. 435-447, 2003.

TOLEDO, F.F.; MARCOS FILHO, J. **Manual das sementes: tecnologia da produção**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1977. 224 p.

TORRES, S.B. Comparação entre testes de vigor para avaliar a qualidade fisiológica de sementes de algodão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 11-15, 1998.

_____. Qualidade de sementes de melancia armazenadas em diferentes embalagens e ambientes. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 36, n. 2, p. 163-168, 2005.

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

WOODSTOCK, L.W. Seedling growth as a measure of seed vigor. **Proceedings of International Seed Testing Association**, Zurich, v. 34, n. 2, p. 273-280, 1969.

YAGUSHI, J.T. **Testes de envelhecimento acelerado e análise computadorizada de imagens de plântulas para avaliação do desempenho de sementes de soja durante o armazenamento**. 2011. 101 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.