

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

Emprego de técnicas de análise de imagens na avaliação da morfologia interna e do potencial fisiológico de sementes de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.)

Júlio César Altizani Júnior

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

Piracicaba
2023

Júlio César Altizani Júnior
Engenheiro Agrônomo

Emprego de técnicas de análise de imagens na avaliação da morfologia interna e do potencial fisiológico de sementes de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.)

Orientador:
Prof. Dr. **SILVIO MOURE CICERO**

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

Piracicaba
2023

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

Altizani Júnior, Júlio César

Emprego de técnicas de análise de imagens na avaliação da morfologia interna e do potencial fisiológico de sementes de manjerição (*Ocimum basilicum* L.) / Júlio César Altizani Júnior - - Piracicaba, 2023.

62 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

1. Plantas medicinais 2. Raios X 3. Visão computadorizada 4. Vigor I.
Título

DEDICATÓRIA

À Deus, por ser meu porto seguro, minha força e coragem. Agradeço por guiar meus passos, iluminar meu caminho e me dar a força para enfrentar cada desafio.

Aos meus pais Júlio e Cíntia, pelo amor, dedicação e apoio em todos os momentos da minha vida. Espero que sintam orgulho da pessoa que me tornei.

Aos meus avós Mitie e Yoshiaki, pelos ensinamentos, compreensão e carinho. Sempre levarei comigo a sabedoria e o amor que me ensinaram.

À Cristina, por todo amor, companheirismo, amizade, apoio e confiança. Agradeço por estar ao meu lado nesta importante jornada que é a vida. Obrigado por compartilhar comigo os momentos felizes, pelos abraços nos momentos difíceis, pelas aventuras e por sempre mostrar o lado positivo da vida.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia (USP/ESALQ), pela oportunidade de realizar o curso de Mestrado, em especial à coordenadora Profa. Dra. Simone Rodrigues da Silva e à secretária Angela Marcia Derigi Silva pela atenção e todo o apoio ao longo do curso, possibilitando uma valiosa experiência de enriquecimento profissional e pessoal.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio concedido na forma de bolsa de estudo. Espero que esse trabalho possa, de alguma forma, contribuir para o avanço da agricultura brasileira.

Ao Prof. Dr. Silvio Moure Cicero, pela sua orientação ao longo de todo mestrado, paciência, dedicação, conselhos, confiança e profissionalismo. Seus conhecimentos e experiência foram fundamentais para o desenvolvimento desse trabalho. Obrigado pelo privilégio de tê-lo como orientador.

Ao Prof. Dr. Francisco Guilhien Gomes Junior, por todo conhecimento e ensinamentos na área de análise de imagens de sementes e de plântulas. Obrigado pela oportunidade de aprendizado, pelos conselhos e contribuições para a execução desse trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia (USP/ESALQ), em especial à Profa. Dra. Ana Dionisia da Luz Coelho Novembre pelos ensinamentos e conselhos na área de análise de sementes.

Ao Prof. Dr. Mário Tommasiello Filho e ao Eng. Ftal. Dr. Gabriel de Assis Pereira, pelo apoio conferido.

À técnica do laboratório de Análises de Sementes da USP/ESALQ, Eng. Agr. MSc. Helena M.C.P. Chamma, pela paciência, ensinamentos e auxílio na execução das avaliações.

Aos funcionários do Departamento de Produção Vegetal da USP/ESALQ, Adilson, David, João e Luis Claudio, pela amizade, histórias e apoio na execução das atividades laboratoriais.

Ao Eng. Agr. MSc. Rafael Alves, pelos conselhos, apoio e amizade. Obrigado pelo companheirismo em momentos de estudo e pesquisa, estando sempre disposto em ajudar e colaborar para o andamento desse trabalho.

Aos meus colegas e amigos do Grupo de Tecnologia de Sementes (USP/ESALQ), Abimael Santos, Andres Trujillo, Carlos Henrique, Letícia Betânia, Marina Zacharias, Mayara Rodrigues e Thiago Hirata, pela ajuda e troca de conhecimentos.

Aos membros da Comissão Julgadora, pela disponibilidade e valiosas contribuições para o aprimoramento do texto.

Aos funcionários da Biblioteca Central da USP/ESALQ, em especial à bibliotecária Eliana, pela atenção e auxílio na revisão, correção e formatação do texto.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desse trabalho.

Muito obrigado!

“O universo não é uma máquina que pode ser entendida com precisão matemática. Ele é um mistério, imprevisível e incrivelmente belo”.

(Stephen Hawking)

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE TABELAS	11
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1. Mercado de plantas medicinais, aromáticas e condimentares	15
2.2. Morfologia interna das sementes de manjeriço e teste de raios X para sua avaliação	16
2.3. Importância da avaliação do potencial fisiológico de sementes de manjeriço	19
2.4. Análise computadorizada de imagens de plântulas	20
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3.1. Uso do teste de raios X para avaliação da morfologia interna das sementes	23
3.2. Caracterização dos lotes	24
3.3. Avaliações complementares	25
3.4. Análise computadorizada de imagens de plântulas	26
3.5. Análise estatística	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1. Avaliação da morfologia interna das sementes por meio do teste de raios X e sua relação com o desempenho germinativo	29
4.2. Avaliação do potencial fisiológico das sementes	36
5. CONCLUSÕES	51
REFERÊNCIAS	53

RESUMO

Emprego de técnicas de análise de imagens na avaliação da morfologia interna e do potencial fisiológico de sementes de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.)

Os objetivos deste trabalho foram avaliar a morfologia interna de sementes de manjeriço, por meio do teste de raios X, e a sua relação com o desempenho germinativo das sementes radiografadas e verificar a eficiência da análise computadorizada de plântulas pelo sistema *Seed Vigor Imaging System* (SVIS[®]) na avaliação do vigor das sementes, em comparação aos testes convencionalmente empregados. Foram utilizados oito lotes de sementes do cultivar Alfavaca basilicão, caracterizados inicialmente quanto à determinação do teor de água e germinação das sementes. Na primeira parte do experimento foi avaliada a morfologia interna das sementes pelo teste de raios X, com posterior verificação do desempenho germinativo das sementes por meio do teste de germinação e avaliação do comprimento médio de plântulas, utilizando-se o SVIS[®]. A segunda parte do experimento consistiu na avaliação do potencial fisiológico das sementes por meio dos testes de germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado com solução saturada de sal, precocidade de protrusão da raiz primária, tempo médio de germinação, emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência de plântulas e análise computadorizada de imagens de plântulas com o SVIS[®], realizados em duas épocas de avaliação. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições para cada lote. Os dados provenientes do teste de raios X não foram submetidos a análise estatística. Os dados obtidos dos testes de germinação e de vigor foram submetidos à análise de variância e as médias agrupadas pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). O grau de associação entre os testes foi estipulado pela correlação de Pearson (r). O teste de raios X é eficiente na avaliação da morfologia interna das sementes de manjeriço, permitindo estabelecer uma relação de causa e efeito entre um possível menor desempenho germinativo com a integridade física dos tecidos. A análise computadorizada de plântulas pelo *software* SVIS[®], aos quatro dias após a semeadura, é uma técnica ágil e eficiente para avaliar o vigor de sementes de manjeriço.

Palavras-chave: Plantas medicinais, Raios X, Visão computadorizada, Vigor

ABSTRACT

Use of Image analysis techniques to evaluate sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) seed morphology and physiological potential

The objective of this research was to evaluate the internal morphology of sweet basil seeds through X-ray test and their relation with the germination performance of radiographed seeds. Furthermore, this research aimed to evaluate the efficiency of seedling digital image analysis with the use of Seed Vigor Imaging System (SVIS[®]) to assess seed vigor in comparison to conventional vigor tests. Eight lots of the cultivar Alfavaca basilição were initially characterized by moisture content and seed germination. In the first part of the experiment, the internal morphology of the seeds was evaluated using X-ray test. Subsequently, the germination performance of the radiographed seeds was determined by the germination test and later to the average length of the resulting seedlings with the assistance of the SVIS[®] system. The second part of the experiment was to assess seed physiological potential by germination, germination first count, saturated salt accelerated aging, primary root emission, mean germination time, seedling emergence, seedling emergence speed index and analysis of seedling images by SVIS[®], carried out in two evaluation periods. The experimental design was completely randomized, with four replicates for each lot. The data from the X-ray test were not submitted to statistical analysis. The data obtained from germination and vigor tests were submitted to analysis of variance, and the means were grouped by the Scott-Knott test ($p \leq 0.05$). The association between the tests was established by Pearson correlation (r). The X-ray test is efficient in evaluating the internal morphology of sweet basil seeds, allowing for the establishment of a cause-and-effect relationship between possible lower germination performance and the physical integrity of tissues. Computerized seedling analysis using SVIS[®] software with four-day-old seedlings is a quick and efficient technique for the evaluation of the vigor of sweet basil seeds.

Keywords: Medicinal plants, X ray, Computer vision, Vigor

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Plantas (a) e fruto-semente (b) de manjeriçao do cultivar Alfavaca basilicão. Corte longitudinal (c) e imagem radiográfica (d) evidenciando a morfologia interna do fruto. Legendas: ct – cotilédone; pl – plúmula; hr – eixo hipocótilo/radicula. 17
- Figura 2. Processamento de imagens de plântulas de manjeriçao pelo *software* SVIS®; plântulas analisadas são destacadas em vermelho, enquanto sementes não germinadas são marcadas em verde. Legendas: a - índice de vigor; b - número total de plântulas/sementes analisadas; c - comprimento individual (mm) da plântula demarcada em azul; d - índice de crescimento; e - índice de uniformidade. 27
- Figura 3. Imagens radiográficas de sementes de manjeriçao intactas (A, B, C) e suas respectivas plântulas: normal (a), anormal (b) e semente morta (c). O retângulo vermelho indica a região do eixo embrionário. 30
- Figura 4. Imagens radiográficas de sementes de manjeriçao com a cavidade interna vazia (a) e embriões malformados (b, c, d, e, f, g, h). 31
- Figura 5. Imagens radiográficas de sementes de manjeriçao com tecidos deteriorados (A, B, C) e suas respectivas plântulas: normal (a), anormal (b) e semente morta (c). 32
- Figura 6. Imagens radiográficas de sementes de manjeriçao apresentando diferentes intensidades de dano mecânico (A, B, C, D) e suas respectivas plântulas: normal (a), anormais (b, c) e semente morta (d). 33
- Figura 7. Percentual de germinação de sementes de manjeriçao radiografadas dos lotes 1, 2 e 8. TC = todas as categorias; IN = somente sementes intactas. 36
- Figura 8. Níveis de classificação, quanto ao vigor, dos cinco lotes de sementes de manjeriçao indicados como sendo de maior germinação (GE). PCG = primeira contagem de germinação; PPRP = precocidade de protrusão da raiz primária após 60 horas; TMG = tempo médio de germinação; IVE = índice de velocidade de emergência de plântulas; EP = emergência de plântulas; EASS = envelhecimento acelerado com solução saturada de sal. 41
- Figura 9. Principais componentes das plântulas de manjeriçao. 42
- Figura 10. Aspecto visual de plântulas de manjeriçao com três (A, B, C) e quatro (a, b, c) dias de idade, submetidas à análise computadorizada de imagens de plântulas por meio do *software* SVIS®. 44
- Figura 11. Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre os testes de germinação (GE), primeira contagem de germinação (PCG), envelhecimento acelerado com solução saturada de sal (EASS), precocidade de protrusão da raiz primária após 60 horas (PPRP), emergência de plântulas (EP), índice de crescimento (IC), índice de vigor (IV), comprimento médio de plântulas (CP) e da germinação e comprimento médio de plântulas originadas de sementes intactas (GE_{IN} e CP_{IN}), detectadas pelo teste de raios X, de lotes de sementes de manjeriçao. * significativo a 5 % ($p \leq 0,05$); ** significativo a 1 % ($p \leq 0,01$). 48

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Teste de germinação, categorias identificadas pelo teste de raios X e comprimento de plântulas obtidos a partir de lotes de sementes de manjeriçãõ. 34
- Tabela 2. Valores médios do teor de água inicial (TA_I), germinação (GE), primeira contagem de germinação (PCG), envelhecimento acelerado com solução saturada de sal (EASS), teor de água após o envelhecimento acelerado (TA_{EA}), precocidade de protrusão da raiz primária após 60 horas (PPRP_{60h}), emergência de plântulas (EP), índice de velocidade de emergência de plântulas (IVE) e tempo médio de germinação (TMG) de lotes de sementes de manjeriçãõ. 37
- Tabela 3. Valores médios dos índices de uniformidade (IU), de crescimento (IC) e de vigor (IV) e comprimento médio de plântulas (CP), obtidos por meio da análise computadorizada de imagens de plântulas (SVIS[®]), com três e quatro dias de idade, de lotes de sementes de manjeriçãõ. 46

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é considerado um potencial centro de produção de ervas e especiarias para comercialização *in natura* ou beneficiadas; devido sua importância econômica, o cultivo dessas plantas em escala comercial fornece uma alternativa de renda promissora para os pequenos produtores. No CEAGESP (Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo), as ervas e especiarias representam cerca de 7 % do volume total comercializado e 18 % da movimentação financeira no setor de verduras, estando o manjericão entre as plantas de maior procura (BISACCHI *et al.*, 2018).

Originário do Sudeste Asiático e África Central o manjericão (*Ocimum basilicum* L.) é o representante da família Lamiaceae mais intensamente cultivado; encontrado em diversos países ao redor do mundo sob condições temperadas, subtropicais, quentes e úmidas, podendo ser cultivado ao longo de todo o ano, exceto sob geadas. No Brasil, a espécie foi trazida pelos imigrantes europeus, encontrando em território nacional condições edafoclimáticas adequadas para o desenvolvimento da cultura. As plantas de manjericão são amplamente utilizadas para fins medicinais, culinários, condimentares, ornamentais e aromáticos com potencial para extração de fitoquímicos.

As plantas de manjericão em função de seu ciclo de cultivo e teores de óleo essencial representam uma promissora fonte de matéria-prima industrial. O óleo essencial de manjericão extraído de seus ramos, folhas e flores contém elevada concentração de linalol, monoterpeneo amplamente empregado na formulação de fragrâncias, sendo comercialmente valorizado pelas fábricas alimentícia, cosmética e farmacêutica devido sua comprovada ação antioxidante, anticancerígena, antiviral e antimicrobiana. Na agricultura, a necessidade de agroecossistemas sustentáveis tem estimulado o desenvolvimento de novas tecnologias, como o emprego de biomoléculas derivadas das plantas de manjericão, utilizadas na conservação pós-colheita de produtos hortícolas devido suas propriedades inseticidas e repelentes.

Para atender à demanda e os requisitos de qualidade, no cultivo de manjericão em escala comercial é necessário estruturar a cadeia produtiva brasileira, começando pela otimização do uso de insumos visando reduzir a dependência de importação. A aquisição de sementes tem um impacto relevante sobre o custo de produção, fazendo com que sementes destinadas ao uso doméstico ou compartilhadas entre agricultores seja uma opção atrativa como forma de reduzir gastos. Esse procedimento pode ocasionar quedas de produtividade e alterações dos padrões de qualidade do material comercializado, em função dos baixos percentuais de germinação e desuniformidade do desenvolvimento das plântulas. Sendo assim, é fundamental que sejam

disponibilizadas técnicas que viabilizem a produção e seleção de sementes de manjeriço de alta qualidade, para assegurar a competitividade da produção nacional. Apesar da importância econômica e usos populares do manjeriço, não são encontradas na literatura científica pertinente ao tema, indicações de metodologias específicas, adaptadas para avaliação do vigor de lotes de sementes desta espécie, o que certamente contribuiria para elevar seu padrão de qualidade.

Para a comercialização de sementes de manjeriço em território nacional, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) exige o mínimo de 60 % de germinação (BRASIL, 2019), em função de características próprias da espécie, que dificultam a obtenção de sementes de alta qualidade, em escala comercial. As plantas de manjeriço são alógamas, com desuniformidade de florescimento e desenvolvimento dos frutos em uma mesma inflorescência, produzindo sementes com diferentes graus de formação dos tecidos, anormalidades e danos que interferem na viabilidade e no vigor das sementes. Neste contexto, as técnicas de análise de imagens de sementes e de plântulas podem auxiliar na análise de sementes de manjeriço, tornando possível avaliar diferentes parâmetros físicos e fisiológicos, de forma rápida e precisa.

O teste de raios X tem sido utilizado e aperfeiçoado para a análise de sementes de diferentes espécies, possibilitando uma avaliação detalhada da morfologia interna, sem comprometer sua viabilidade. O sistema *Seed Vigor Imaging System* (SVIS[®]) é um *software* que utiliza o comprimento das plântulas para calcular índices de vigor, de crescimento e de uniformidade de desenvolvimento, com rapidez e precisão, fornecendo resultados passíveis de reprodução por diferentes laboratórios. Para que essas técnicas possam ser recomendadas em programas de controle de qualidade de sementes de manjeriço é necessário adequar os parâmetros dos sistemas e verificar a real possibilidade de sua aplicação e padronização para tal finalidade.

Diante do exposto, o presente trabalho foi realizado com os objetivos: (i) verificar a eficiência do teste de raios X para análise da morfologia interna de sementes de manjeriço e avaliar sua relação com o desempenho germinativo das sementes radiografadas; (ii) averiguar a possibilidade de uso e a eficiência do *software* SVIS[®], na análise computadorizada de plântulas de manjeriço, em comparação a outros testes convencionalmente empregados na avaliação do vigor de sementes.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Mercado de plantas medicinais, aromáticas e condimentares

As plantas medicinais, aromáticas e condimentares formam um diversificado grupo de espécies vegetais, denominadas ervas e especiarias (NORMAN, 2015). Ricas em óleos essenciais e substâncias aromáticas, elas servem para agregar cor, sabor ou aroma aos alimentos, bebidas e infusões. O interesse sobre estas plantas está intrinsecamente ligado à história da espécie humana, pois há séculos são utilizadas e comercializadas por diferentes povos, constituindo uma complexa cadeia global de abastecimento, com demanda por matérias-primas de alto valor agregado (HOFFMAN *et al.*, 2021).

As descobertas benéficas em relação aos alimentos funcionais e nutracêuticos, aumentaram a demanda por estas plantas como matéria-prima para a fabricação de suplementos alimentares, medicamentos e cosméticos (GALANAKIS, 2021). No ano de 2020, segundo dados do Observatory of Economic Complexity (OEC, 2020), o mercado mundial de ervas e especiarias movimentou US\$ 3,61 bilhões, o que corresponde a um aumento de 25 % em relação ao ano de 2019. A China e a Índia são os principais produtores, destinando grande parte da produção para o abastecimento dos mercados norte-americano e europeu.

A produção brasileira corresponde a menos de 2 % da produção mundial, valor insuficiente para suprir a demanda interna, pois o cultivo em território nacional é incipiente, concentrado em pequenas áreas próximas aos cinturões verdes, para o atendimento dos mercados locais, com entrega direta ao consumidor ou em feiras livres, supermercados e sacolões. O Estado do Paraná é responsável por cerca de 90 % da produção nacional (STREMEL *et al.*, 2016); São Paulo se destaca como consumidor e comprador devido à concentração de atacadistas e indústrias do setor (CATI, 2013). Para o atendimento à crescente demanda e os requisitos de qualidade é necessário o desenvolvimento de pesquisas que visem o uso eficiente dos insumos e da relação custo/benefício, possibilitando aumento da produtividade e melhor remuneração aos produtores (CORRÊA JÚNIOR e SCHEFFER, 2014), bem como a estruturação da cadeia produtiva brasileira e redução da dependência de importação destes produtos (HASENCLEVER *et al.*, 2017).

A complexidade da cadeia produtiva de plantas medicinais, aromáticas e condimentares é o primeiro ponto a ser observado, quando se questiona o porquê de ela ainda não se encontrar definida, começando pelos custos referentes à aquisição de sementes importadas. Sementes de alta qualidade possuem rápida germinação, emergência de plântulas uniforme, tolerância a condições adversas e melhor desempenho das plantas no campo (FINCH-SAVAGE e BASSEL,

2016), constituindo a base para o aumento da produtividade agrícola. O atraso e desuniformidade do desenvolvimento das plântulas podem se refletir na qualidade final do produto, com prejuízos em relação à obtenção de materiais dentro dos padrões de comercialização e redução do retorno econômico (MARCOS-FILHO, 2015a; SHINOHARA *et al.*, 2021).

Como forma de reduzir o investimento inicial, os agricultores utilizam material propagativo de baixa qualidade, correndo o risco de diminuir a produtividade pelo menor número de plantas na área de cultivo, disseminação de doenças e alterações nos parâmetros físico-químicos do material comercializado (SINGH *et al.*, 2022). Neste contexto, é primordial identificar as dificuldades na produção de sementes de elevado potencial fisiológico e menor custo de aquisição, em relação às sementes importadas (SILVA *et al.*, 2014).

As plantas de manjeriço representam uma promissora fonte de linalol como alternativa à exploração extrativista das árvores do pau-rosa (*Aniba rosodora* Ducke), que colocou a espécie sob risco de extinção (PRAVUSCHI *et al.*, 2010). O estabelecimento de uma cadeia produtiva de manjeriço no Brasil depende de conhecimento técnico, referente ao seu manejo e cultivo, começando pela seleção de sementes de alta qualidade (CATI, 2013), suficiente para a obtenção de áreas produtivas, quer seja por semeadura direta ou pelo transplântio de mudas, pois o reduzido tamanho de suas sementes, dificulta a semeadura mecanizada em grandes áreas (BLANK *et al.*, 2014). De acordo com Marcos-Filho e Kikuti (2006), o sucesso de um cultivo depende do estabelecimento adequado das plantas no campo, fator diretamente relacionado com a germinação e o vigor das sementes.

2.2. Morfologia interna das sementes de manjeriço e teste de raios X para sua avaliação

O percentual mínimo de germinação exigido pelo MAPA para a comercialização de sementes de manjeriço no Brasil (60 %) reflete a elevada proporção de desuniformidade de germinação e desenvolvimento de suas plântulas. A idade da planta-mãe e a época de colheita, influenciam nos diferentes estádios de desenvolvimento dos tecidos internos, danos e anormalidades em embriões (MARTINS *et al.*, 2008), podendo prejudicar o desempenho destas sementes durante o período de armazenamento e no posterior estande de plantas a campo.

Conforme as condições ambientais do local de cultivo e as características agrônômicas do cultivar, as plantas de manjeriço podem apresentar ciclo de vida anual ou perene (FAVORITO *et al.*, 2011). De acordo com Brasil (2009), as sementes de manjeriço (Figura 1) são descritas botanicamente como sendo um fruto seco indeiscente do tipo carceralídio; ZHOU *et al.* (2022) relataram que o fruto é constituído pelo pericarpo de coloração preta e o embrião, sem a

presença de endosperma. Conforme Patel *et al.* (2015) os frutos de manjericão são pequenos e leves, com massa individual que varia de 0,28 a 1,8 mg por semente. Nazir e Wani (2021) estudaram a caracterização funcional da mucilagem de frutos de manjericão e descreveram os valores para capacidade de absorção de água (35,16 a 38,96 g.g⁻¹) e capacidade de emulsificação (101 a 115,55 g.g⁻¹). Os autores também verificaram a presença de uma forte rede de fibrilas com características semelhantes às de gel.

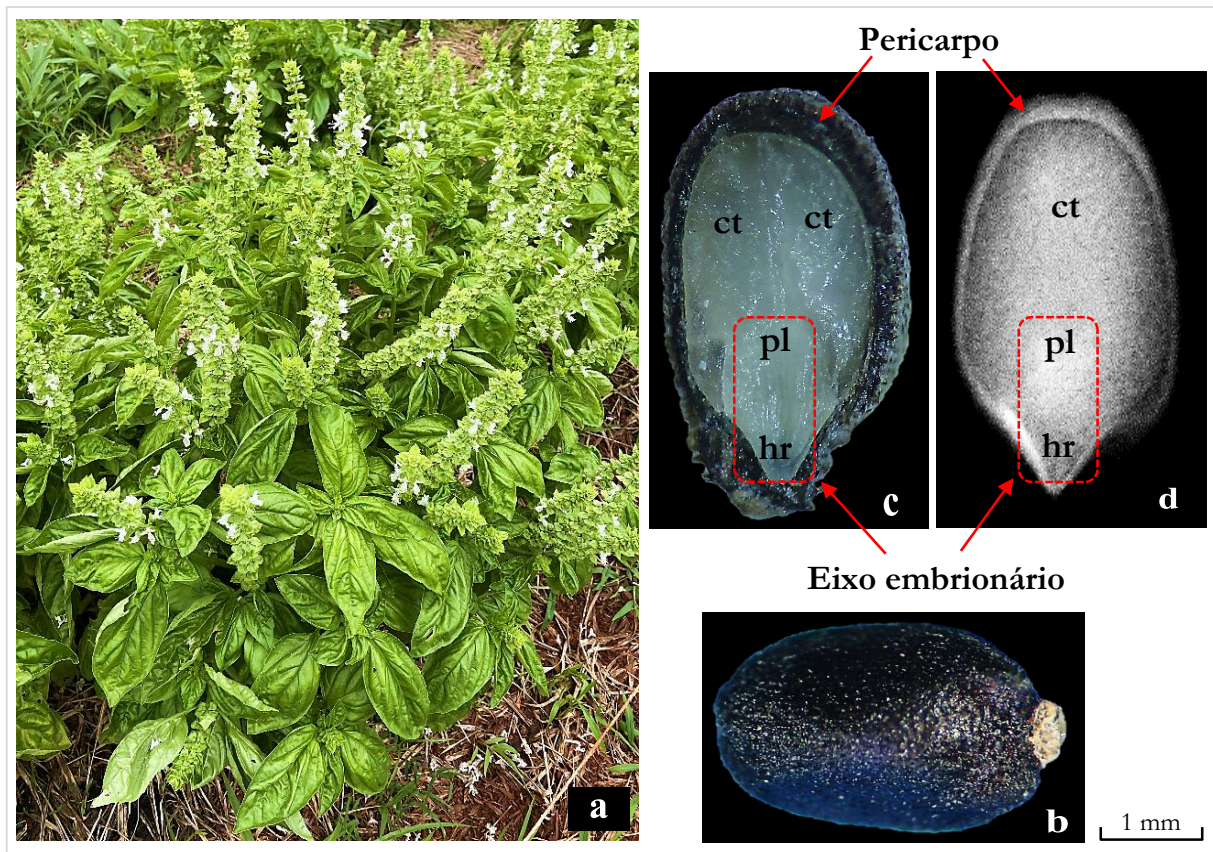


Figura 1. Plantas (a) e fruto-semente (b) de manjericão do cultivar Alfavaca basilicão. Corte longitudinal (c) e imagem radiográfica (d) evidenciando a morfologia interna do fruto. Legendas: ct – cotilédone; pl – plúmula; hr – eixo hipocótilo/radícula.

A produção das sementes de manjericão ocorre em pequenas flores distribuídas em racemos eretos, nos quais os botões florais não se abrem de modo uniforme, ocorrendo diferentes estádios de desenvolvimento em uma mesma inflorescência (BRITO *et al.*, 2010). As sementes da parte basal de inflorescências localizadas nos ramos primários possuem melhor qualidade (PUTIEVSKY, 1993). O mecanismo natural pelo qual estas plantas produzem suas sementes contribui para que os lotes sejam constituídos por uma ampla variedade de níveis de maturidade fisiológica, o que requer pesquisas de melhoramento do processo de reprodução ou formas eficientes e padronizadas para identificar o vigor de lotes de menor potencial fisiológico.

O teste de raios X é uma técnica simples, rápida e não destrutiva (SIMAK e SAHLÉN, 1981), baseada na exposição das sementes a uma fonte de baixa energia de raios X e a um filme fotossensível. Esta técnica foi inicialmente utilizada na avaliação da qualidade de sementes de *Pinus sylvestris* L. (SIMAK e GUTAFSSON, 1953), sendo posteriormente incorporada às regras de análise de sementes da *International Seed Testing Association* (ISTA, 1996) e aperfeiçoada para diferentes espécies vegetais. Ao transpassarem as sementes e atingirem o filme, os raios X produzem uma imagem com diferentes graus de absorção de energia pelos tecidos das sementes (SIMAK, 1980). Sementes constituídas por tecidos bem formados, sem danos e com maior preenchimento, possuem maior resistência à passagem dos raios X, gerando imagens com tons de cinza claros, que permitem verificar a integridade dos tecidos, por meio dos tons de cinza impressos na imagem radiográfica (BIANCHINI *et al.*, 2021).

A imagem radiográfica permite analisar a morfologia interna de sementes, identificar a ocorrência de danos mecânicos, tecidos deteriorados, sementes malformadas, vazias e atacadas por insetos (ISTA, 2004). De acordo com Copeland e McDonald (2001), a ocorrência de injúrias mecânicas é tida pelos tecnologistas de sementes como um sério problema, praticamente inevitável na produção de sementes, sendo na sua maior parte, consequência da mecanização das atividades agrícolas. Mesmo com perfeita regulagem das máquinas, os danos mecânicos são encontrados influenciando a qualidade dos lotes, em menor ou maior intensidade. Danos provocados durante a colheita mecanizada podem reduzir em até 10 % o desempenho germinativo. Quando os danos são ocasionados por processos inadequados de beneficiamento, o percentual de queda na germinação pode aumentar para 30 % (COPELAND, 1972).

Para aumentar a qualidade dos lotes, as sementes são submetidas a uma série de impactos, potencialmente causadores de injúrias durante a colheita, o transporte e o beneficiamento. Estes danos podem ocorrer em várias etapas dos processos mecanizados, sendo agravados a cada dia, haja vista a demanda crescente por mecanização do setor agrícola (PINTO *et al.*, 2012). Durante a colheita, as sementes se comportam como corpos estáticos que se chocam contra os cilindros de trilha dentro das colhedoras. As superfícies dos equipamentos que recebem as sementes para o beneficiamento e os elevadores utilizados para sua movimentação, dentro das usinas de beneficiamento de sementes são os locais onde os danos mecânicos ocorrem com maior intensidade (CARVALHO e NAKAGAWA, 2012).

Devido à baixa dose de radiação utilizada, os raios X não interferem na viabilidade das sementes, permitindo a realização posterior de testes fisiológicos com as sementes radiografadas. Ao comparar os resultados das imagens do teste de raios X com os da qualidade fisiológica é possível estabelecer uma relação de causa e efeito (SILVA *et al.*, 2014). Conforme Pinto *et al.*

(2012), lotes de sementes de soja que apresentam maior porcentagem de danos observados pelo teste de raios X, também apresentam maior taxa de plântulas anormais ou sementes não germinadas no teste de germinação.

A possibilidade de identificar e eliminar sementes com embriões malformados ou vazias é uma técnica útil no controle de qualidade de sementes de empresas produtoras de sementes, entretanto, a técnica não está padronizada para todas as espécies cultivadas. O descarte de sementes vazias aumentou significativamente a viabilidade da amostra de sementes de alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum* L.), planta do mesmo gênero do manjericão, no estudo conduzido por Martins *et al.* (2008), os autores concluíram ainda que o teste de raios X forneceu importantes informações complementares ao teste de germinação.

2.3. Importância da avaliação do potencial fisiológico de sementes de manjericão

A qualidade das sementes é resultado da interação entre os parâmetros genético, físico, fisiológico e sanitário que, quando avaliados de forma conjunta, permitem identificar o potencial de uso das sementes (DODE *et al.*, 2016). Todos os componentes apresentam igual importância e o descumprimento de qualquer um dos padrões mínimos de qualidade, estabelecidos pelas entidades normatizadoras, reprova o lote de sementes para a comercialização. Entretanto, o potencial fisiológico geralmente é o maior foco de atenção das pesquisas, uma vez que, o estabelecimento do estande representa para o agricultor a primeira oportunidade real para avaliar o desempenho das sementes adquiridas (MARCOS-FILHO, 2020a).

A realização do teste de germinação é obrigatória para a comercialização de sementes, sendo executado rotineiramente pelos laboratórios de análises de semente na determinação da máxima capacidade germinativa de uma amostra, ou seja, o percentual de sementes puras capazes de originar plântulas com potencial de continuar seu desenvolvimento e formar uma plântula normal, sob condições ambientais ótimas ao processo germinativo (BRASIL, 2009). Alguns autores realizaram trabalhos com sementes de manjericão com foco no teste de germinação, visando a determinação dos parâmetros de temperatura (KUMAR, 2012; MIJANI *et al.*, 2013; FALLAHI *et al.*, 2015; ZHOU *et al.*, 2016), luz (MENDES e CARVALHO, 2015) e métodos para superação de dormência (AMARO *et al.*, 2012).

O resultado do teste de germinação pode superestimar o real potencial fisiológico dos lotes, uma vez que as sementes são colocadas para germinar em ambiente asséptico e com rigoroso controle de temperatura, umidade e substrato, conforme a espécie vegetal avaliada (KIKUTI e MARCOS-FILHO, 2012). Tais condições dificilmente são encontradas no campo, impossibilitando a extrapolação dos seus resultados para fora do laboratório (ELLIS, 2019).

Visando uma melhor compreensão sobre o desempenho potencial das sementes após a semeadura, foi estabelecido o conceito de vigor.

O termo vigor de sementes pode ser compreendido como o conjunto de propriedades que determinam o desempenho e atividade das sementes, visando garantir a velocidade e uniformidade de germinação e desenvolvimento das plântulas, capacidade de emergência de plântulas sob condições ambientais desfavoráveis e a manutenção da capacidade germinativa durante o armazenamento (FINCH-SAVAGE e BASSEL, 2016). A falta de padronização de metodologias para análise do vigor de sementes que forneçam resultados semelhantes, em lotes avaliados por diferentes laboratórios, é o principal fator restritivo para sua recomendação de inclusão em programas de controle da qualidade de sementes, bem como nos padrões para comercialização de sementes. Além disso, dificilmente um único teste conseguirá avaliar todos os parâmetros envolvidos na determinação do vigor de sementes, fazendo com que este parâmetro sirva como uma técnica possível de comparação entre o desempenho potencial dos diferentes lotes de sementes após a semeadura ou durante o armazenamento (MARCOS-FILHO, 2020a).

As informações sobre a germinação e o vigor, obtidas em laboratório, devem permitir a comparação entre lotes de sementes e avaliar a probabilidade de sucesso com sua aquisição e utilização. Diversos testes de vigor têm sido estudados com o intuito de verificar a real possibilidade de sua aplicação e padronização para diferentes espécies (POWELL, 2022), pois tanto as empresas que comercializam sementes, quanto o agricultor precisam conhecer o potencial fisiológico e não apenas a viabilidade expressa pelo teste de germinação (CARVALHO e NAKAGAWA, 2012). Como exemplos, podem ser citados os testes de primeira contagem de germinação, velocidade de emergência de plântulas, avaliação do desempenho de plântulas, precocidade de protrusão da raiz primária e envelhecimento acelerado.

2.4. Análise computadorizada de imagens de plântulas

Alguns testes de vigor fundamentados no desempenho de plântulas são validados e recomendados por associações internacionais (*International Seed Testing Association* – ISTA e *Association of Official Seed Analysts* – AOSA) e nacional (Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes – ABRATES). Os processos de germinação e desenvolvimento da plântula dependem da hidratação de tecidos, alterações estruturais subcelulares, respiração, síntese de macromoléculas e crescimento celular, que associados, possibilitam a transformação de um embrião desidratado, em repouso, em um embrião com metabolismo vigoroso, culminando com o seu crescimento (MARCOS-FILHO, 2015a). A ocorrência desses processos está diretamente

relacionada ao nível de deterioração das sementes, ou seja, sementes de alto vigor, pouco deterioradas, apresentam intensa atividade metabólica, dando origem a plântulas vigorosas, reflexo da ação de mecanismos de reparo, mobilização de reservas e síntese de novos tecidos durante a germinação (KRZYZANOWSKI *et al.*, 2020). Por outro lado, sementes de baixo vigor, as quais apresentam maior extensão de danos, demandam maior período para que ocorra a reparação metabólica necessária ao andamento do processo germinativo, ocasionando uma germinação lenta e desuniforme (POWELL, 2022).

Nos procedimentos empregados para a mensuração do comprimento total das plântulas ou de suas partes, cada plântula é medida manualmente com auxílio de régua graduada, o que requer tempo considerável de execução, com pouca exatidão de resultados devido a subjetividade inerente ao analista, o que dificulta sua padronização e abrangência (GOMES-JUNIOR, 2020). Neste cenário, os recursos computadorizados passaram a ser utilizados com o objetivo de minimizar as limitações referentes às possíveis deficiências de padronização e agilidade para obtenção de informações consistentes (MARCOS-FILHO, 2015b). O sistema *Seed Vigor Imaging System* (SVIS[®]) foi desenvolvido na *Ohio State University* (EUA) por Sako *et al.* (2001) e aperfeiçoado por Hoffmaster *et al.* (2003).

O *software* SVIS[®] foi inicialmente utilizado para avaliar o vigor de sementes de alface, com base no processamento de múltiplas imagens digitais de plântulas escaneadas. De acordo com Hoffmaster *et al.* (2003), o sistema avalia o índice de vigor com base na velocidade e uniformidade do desenvolvimento das plântulas, em relação ao máximo valor estimado para plântulas com idade pré-estabelecida na programação do *software*. Após o processamento das imagens, o sistema fornece o comprimento total das plântulas avaliadas, os índices de vigor, de crescimento e de uniformidade de desenvolvimento, compreendendo valores no intervalo de 0 a 1.000.

Os idealizadores do SVIS[®] reuniram outros pesquisadores num esforço comum para adequar os algoritmos e ampliar a avaliação de imagens de plântulas no ranqueamento de lotes quanto ao vigor para mais espécies, incluindo floríferas, gramíneas forrageiras, olerícolas, frutíferas e grandes culturas (GOMES-JUNIOR, 2020). Os procedimentos foram utilizados com êxito para avaliação do potencial fisiológico de sementes de abóbora (SILVA *et al.*, 2017), berinjela (SILVA e CICERO, 2014a), brócolis (ABUD *et al.*, 2017), cebola (GONÇALVES *et al.*, 2017), cenoura (MARCHI e CICERO, 2017), melão (MARCOS-FILHO *et al.*, 2006), milho doce (GOMES-JUNIOR *et al.*, 2009), pepino (CHIQUITO *et al.*, 2012), pimentão (DIAS *et al.*, 2014), quiabo (KIKUTI e MARCOS-FILHO, 2013) e tomate (SILVA e CICERO 2014b).

A metodologia para condução das análises por meio do SVIS[®] necessita de recursos e equipamentos similares aos empregados no teste de germinação, com as vantagens de ser simples, rápido e com menor interferência humana, fornecendo resultados para uma amostra de 50 sementes no período de 2 a 3 minutos (GOMES-JUNIOR *et al.*, 2009), fatores determinantes do sucesso dos programas de controle de qualidade adotados pela indústria de sementes.

Fornecendo resultados comparáveis a outros testes utilizados na rotina de avaliação do vigor dos lotes de sementes com agilidade e eficiência, o sistema SVIS[®] foi incorporado à rotina de trabalho de laboratórios de entidades certificadoras e empresas norte-americanas, para avaliação complementar do vigor de sementes de diversas espécies (MARCOS-FILHO *et al.*, 2009). No Brasil, o acesso ao SVIS[®] está restrito ao Laboratório de Análise de Imagens do Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), Universidade de São Paulo (USP), mediante um convênio firmado entre a universidade brasileira e americana, garantindo o seu direito de uso para fins científicos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi realizada nos laboratórios de Análise de Imagens e de Análise de Sementes do Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (LPV/ESALQ/USP), no município de Piracicaba, São Paulo, Brasil. Foram utilizados oito lotes de sementes de manjeriço do cultivar Alfavaca basilicão, adquiridos de empresas que comercializam sementes de hortaliças e plantas medicinais, isentos de tratamento sanitário, acondicionados em embalagens impermeáveis hermeticamente fechadas. No início do trabalho, as embalagens foram abertas e as sementes transferidas para sacos de papel, sendo armazenadas em câmara fria, sob temperatura média de 20°C e 30 % de umidade relativa do ar, permanecendo desta forma durante todo o período experimental.

O experimento foi conduzido de agosto de 2022 a fevereiro de 2023 da seguinte forma:

- I) teste de raios X, com posterior verificação do desempenho germinativo das sementes radiografadas, através do teste de germinação e avaliação computadorizada do comprimento de plântulas (SVIS[®]), realizado de agosto a novembro de 2022;
- II) caracterização inicial dos lotes, pela determinação do teor de água e teste de germinação. Cada análise foi realizada duas vezes ao longo do período de condução do experimento, visando monitorar o teor de água e a viabilidade das sementes;
- III) avaliações complementares, pelos testes de envelhecimento acelerado com solução saturada de sal, precocidade de protrusão da raiz primária e emergência de plântulas. Cada análise foi executada duas vezes ao longo do período de condução do experimento, para validação dos dados obtidos;
- IV) análise computadorizada de imagens de plântulas com o *software* SVIS[®], realizado em agosto de 2022 e repetido em fevereiro de 2023, para validação dos dados obtidos.

3.1. Uso do teste de raios X para avaliação da morfologia interna das sementes

Para obtenção das imagens radiográficas, foram utilizadas 200 sementes de cada lote, distribuídas em lâminas de acetato transparente. Em cada lâmina foram fixadas, com fita adesiva dupla face, oito grupos de 25 sementes posicionadas com o eixo embrionário voltado para baixo e numeradas de acordo com a posição ocupada na lâmina.

Em seguida, a lâmina foi colocada no interior do equipamento digital Faxitron X-Ray, modelo MX-20 DC 12, a uma distância de 11,4 cm da fonte de emissão de raios X, acoplado a um computador (Core 2 Duo, 3.16 GHz, 3 GB de memória RAM, HD de 160 GB). O equipamento foi configurado com o tempo de exposição à radiação de 8,5 segundos e tensão de

28 kV. As imagens geradas foram salvas em pasta específica do disco rígido em formato TIFF para posterior análise. Com base na análise das radiografias, foram calculados para cada lote, os percentuais de ocorrência de sementes intactas, vazias, malformadas, com tecidos deteriorados e danos mecânicos.

Em seguida, mantendo-se a identificação numérica do teste de raios X, as sementes radiografadas foram submetidas ao teste de germinação (item 3.2.2) e de cada plântula obtida foi determinado seu comprimento (cm), pela análise computadorizada de imagens com o *software* SVIS[®], conforme procedimento descrito no item 3.4. Os resultados do desempenho das plântulas foram confrontados com as imagens radiográficas.

3.2. Caracterização dos lotes

3.2.1. Teor de água

Determinado pelo método da estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$ por 24 horas (BRASIL, 2009), utilizando-se duas subamostras de aproximadamente 0,5 g de sementes para cada lote. Após esse período, as sementes foram pesadas em balança com precisão de 0,0001 g e determinado o grau de umidade. Os resultados foram expressos em porcentagem média (base úmida), sem análise estatística, utilizado como parâmetro para caracterização inicial dos lotes. Essa determinação também foi realizada após a exposição das sementes às condições do teste de envelhecimento acelerado com solução saturada de sal (item 3.3.1).

3.2.2. Teste de germinação

Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes para cada lote, distribuídas de forma equidistante sobre duas folhas de papel mata-borrão, previamente umedecidas com água destilada na proporção equivalente a 2,5 vezes a massa do substrato seco, acondicionadas no interior de caixas plásticas transparentes (11 x 11 x 3,5 cm); as caixas foram tampadas e colocadas em sacos plásticos transparentes, para evitar o ressecamento excessivo do substrato. Os recipientes foram mantidos em câmara de germinação, tipo B.O.D., sob regime alternado de temperatura e luz (20°C/16 h e 30°C/8 h). A contagem do número de plântulas normais foi efetuada no quarto (primeira contagem de germinação) e no décimo quarto dia após a instalação do teste (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em percentual médio de plântulas normais.

3.3. Avaliações complementares

3.3.1. Envelhecimento acelerado com solução saturada de sal

Amostras de 2,0 g de sementes de cada lote foram distribuídas em camada uniforme, sobre tela metálica acoplada no interior de caixas plásticas transparentes (11 x 11 x 3,5 cm), contendo 40 mL de solução saturada de cloreto de sódio (40 g de NaCl em 100 mL de água) ao fundo, mantendo em aproximadamente 76 % a umidade relativa do ar no interior dos recipientes (JIANHUA e McDONALD, 1997). Os recipientes tampados foram mantidos em câmara de envelhecimento tipo incubadora, a 42°C por 48 horas (LIMA *et al.*, 2006). Após o procedimento de envelhecimento, as sementes foram submetidas ao teste de germinação, de acordo com o procedimento descrito no item 3.2.2, realizando-se uma única avaliação do percentual de plântulas normais, no quarto dia após a instalação do teste.

3.3.2. Precocidade de protrusão da raiz primária

Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes para cada lote, distribuídas de forma equidistante sobre duas folhas de papel mata-borrão, previamente umedecidas com água destilada na proporção equivalente a 2,5 vezes a massa do substrato seco, acondicionadas no interior de caixas plásticas transparentes (11 x 11 x 3,5 cm) e mantidas em germinador, tipo B.O.D., sob temperatura alternada de 20-30°C, na ausência de luz. As avaliações foram realizadas em intervalos de 12 horas num total de 84 horas após a sementeira, contabilizando-se o número de sementes que emitiram raiz primária com comprimento mínimo de 2 mm. Ao final do teste foi calculado o tempo médio de germinação (TMG), conforme a fórmula descrita por Marin *et al.* (2018).

$$TMG = \sum (n_i \times t_i) / N$$

onde, n_i = número de sementes que emitiram raiz primária contabilizadas em cada intervalo de tempo; t_i = tempo, em horas, entre a sementeira e uma determinada avaliação; N = número total de sementes contabilizadas.

3.3.3. Emergência de plântulas

Realizada com quatro repetições de 50 sementes para cada lote, semeadas em bandejas de poliestireno com 200 células individuais, previamente preenchidas com substrato comercial (Basaplant[®]) para produção de mudas de hortaliças. As bandejas foram mantidas sobre estrado, no interior de um galpão sob ambiente não controlado, sendo irrigadas diariamente, até se verificar o começo do gotejamento do excedente pelo orifício de drenagem das células. As

avaliações foram realizadas diariamente, a partir do início da emergência das plântulas até o vigésimo primeiro dia após a sementeira, pela contagem do número de plântulas normais emersas com folhas cotiledonares completamente expandidas. Após as avaliações, foram calculados o percentual de plântulas emersas e o índice de velocidade de emergência de plântulas (IVE), com base na fórmula proposta por Maguire (1962).

$$\text{IVE} = (G_1/N_1) + (G_2/N_2) + \dots + (G_n/N_n)$$

onde, G_1, G_2, \dots, G_n = número de plântulas normais emersas computadas na primeira, segunda, até a enésima contagem; N_1, N_2, \dots, N_n = número de dias entre a sementeira e a primeira, segunda, até a enésima contagem.

3.4. Análise computadorizada de imagens de plântulas

Para obtenção das plântulas, foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes por lote, distribuídas em duas fileiras paralelas no terço superior de duas folhas de papel mata-borrão, previamente umedecidas com água destilada equivalente a 2,5 vezes a massa do substrato seco, acondicionadas em caixas plásticas transparentes (11 x 11 x 3,5 cm) e mantidas em germinador, tipo B.O.D., sob temperatura alternada de 20-30°C, no escuro, durante três e quatro dias (idade das plântulas). Para que o desenvolvimento das plântulas obedecesse ao geotropismo natural, os recipientes foram posicionados formando um ângulo de 60° a 70° com a horizontal.

Após o período de germinação, as plântulas obtidas e as sementes não germinadas de cada repetição foram transferidas para uma folha de E.V.A. (etil vinil acetato) de coloração azul, proporcionando o contraste necessário para a análise pelo sistema. Em seguida, foi realizada a captura das imagens com um escâner modelo HP Scanjet 200, instalado em posição invertida no interior de uma caixa de alumínio (60 x 50 x 12 cm), ajustado em resolução de 100 dpi e acoplado a um computador (processador Intel Core i7 de 3.50 GHz, 16 GB de memória RAM, HD de 1 TB). As imagens digitalizadas foram salvas em pasta específica do disco rígido, em formato JPEG, e processadas pelo sistema SVIS[®] (Figura 2). Deste modo, foram obtidos os dados de comprimento médio de plântulas (cm), utilizando a conversão 1 pixel = 0,0254 cm, os índices de vigor, de crescimento e de uniformidade de desenvolvimento, compreendendo valores no intervalo de 0 a 1.000 (SAKO *et al.*, 2001).

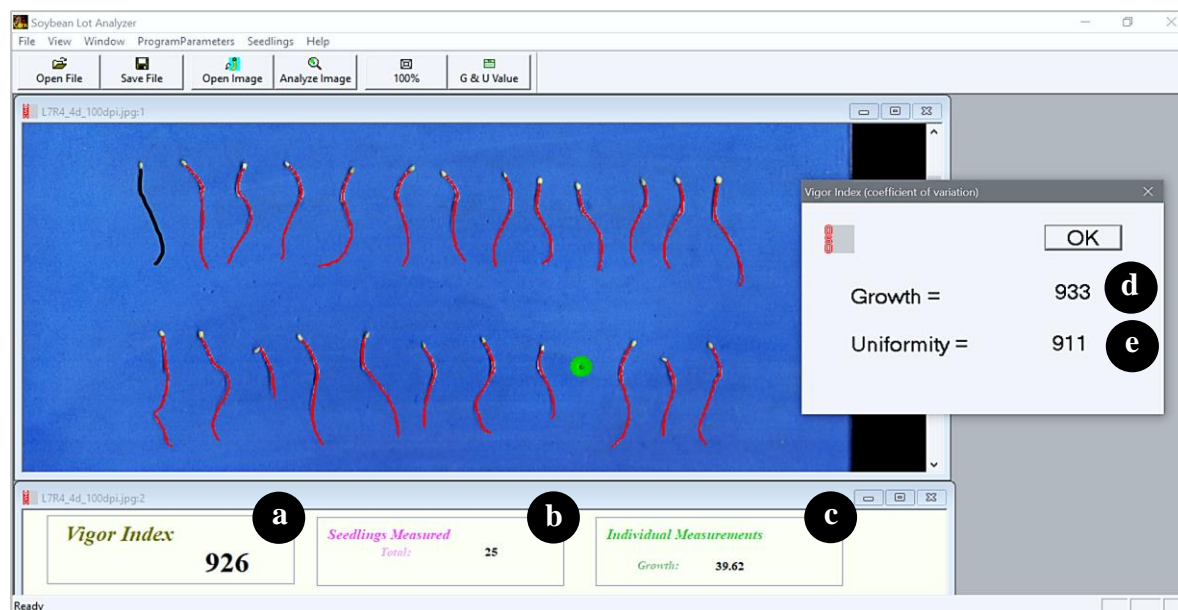


Figura 2. Processamento de imagens de plântulas de manjericão pelo *software* SVIS[®]; plântulas analisadas são destacadas em vermelho, enquanto sementes não germinadas são marcadas em verde. Legendas: a - índice de vigor; b - número total de plântulas/sementes analisadas; c - comprimento individual (mm) da plântula demarcada em preto; d - índice de crescimento; e - índice de uniformidade de desenvolvimento.

Para que o *software* SVIS[®] realize a análise de imagem das plântulas é necessário fazer alguns ajustes de acordo com a espécie, tais como: idade da plântula, comprimento máximo esperado para plântulas de uma determinada idade e a contribuição dos valores de crescimento e uniformidade para o cálculo do índice de vigor (TRUJILLO *et al.*, 2019). Neste trabalho o comprimento máximo de plântulas foi determinado a partir do maior valor de comprimento verificado pelo SVIS[®] em uma amostra de 800 plântulas (100 de cada lote), no quarto dia após a semeadura, conforme o recomendado para a primeira contagem de germinação em sementes de manjericão (BRASIL, 2009). Este procedimento foi repetido com outras 100 plântulas de cada lote, no terceiro dia após a semeadura, com o objetivo de verificar a possibilidade de realizar a avaliação com 1 dia de antecedência. Para o cálculo do índice de vigor, manteve-se a contribuição dos valores de crescimento em 70 % e da uniformidade em 30 % (Hoffmaster *et al.*, 2003).

3.5. Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições para cada lote, sendo as análises realizadas com o *software* R (R CORE TEAM, 2022). Os dados provenientes do teste de raios X foram expressos em percentual de ocorrência, não sendo submetidos a análise estatística, pois a finalidade foi investigar a relação entre a imagem observada na radiografia de cada semente com seu respectivo desempenho germinativo.

Os dados originais obtidos dos testes de germinação e de vigor foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk a 5 % de significância. Quando necessário, os dados expressos em porcentagem foram transformados em $\text{arc sen } (x/100)^{1/2}$ e os expressos em índices ou centímetros em $(x + 0,5)^{1/2}$. A análise da variância foi realizada separadamente para cada época experimental e as médias agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade ($p \leq 0,05$).

O grau de associação entre os resultados dos diferentes testes foi estipulado pela correlação simples de Pearson (r), agrupando-se as épocas experimentais. O coeficiente de correlação foi interpretado de acordo com Andrade *et al.* (1995), em que valores de (r) iguais ou maiores a 0,70 são considerados “fortes”.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Avaliação da morfologia interna das sementes por meio do teste de raios X e sua relação com o desempenho germinativo

A análise das radiografias das sementes de manjerição permitiu identificar quatro categorias: intactas (Figura 3), vazias e malformadas (Figura 4), com tecidos deteriorados (Figura 5) e danos mecânicos (Figura 6). As sementes radiografadas foram analisadas pelo teste de germinação, a fim de se estabelecer a relação entre a morfologia interna visualizada nas radiografias e os percentuais de plântulas normais, anormais e sementes mortas (Tabela 1).

As sementes consideradas intactas foram identificadas nas radiografias completamente preenchidas, com contorno definido pelo pericarpo ao redor de toda a semente, sem danos aparentes, embrião bem formado com o eixo embrionário caracterizado por uma área mais clara na região inferior da semente (Figuras 3A, 3B e 3C), não sendo possível distinguir com precisão a plúmula, hipocótilo e radícula. Conforme Brasil (2009), a imagem radiográfica pode apresentar maior ou menor grau de radiopacidade (clara) em função do nível de absorção de radiação pelas sementes, que por sua vez, varia de acordo com o comprimento de onda da radiação ionizante e das características inerentes a cada espécie, como a composição química, espessura e densidade dos tecidos. De acordo com Abud *et al.* (2018), tecidos com mesma densidade óptica absorvem níveis similares de raios X, gerando imagens radiográficas com menor contraste nos tons de cinza, dificultando a visualização nítida das estruturas internas da semente e diminuindo o nível de detalhamento da morfologia observada nas radiografias.

A expectativa era de que as sementes intactas germinassem e produzissem apenas plântulas normais (Figura 3a), porém, foram observadas nesta categoria plântulas anormais (Figura 3b) e sementes mortas (Figura 3c). Este resultado evidencia que a comprovação da integridade física dos tecidos internos, por meio de exame radiográfico, não pode ser utilizada como um procedimento único de avaliação da qualidade das sementes, pois corre-se o risco de superestimar o desempenho germinativo de um lote. As informações provenientes do teste de raios X podem complementar os resultados dos testes fisiológicos, uma vez que, infecções causadas por microrganismos e o nível de atividade metabólica não são determinados pelas radiografias. Segundo Van der Burg *et al.* (1994), alterações fisiológicas decorrentes do processo de deterioração podem impedir o processo de germinação das sementes, mesmo que elas apresentem bom aspecto visual nas radiografias.

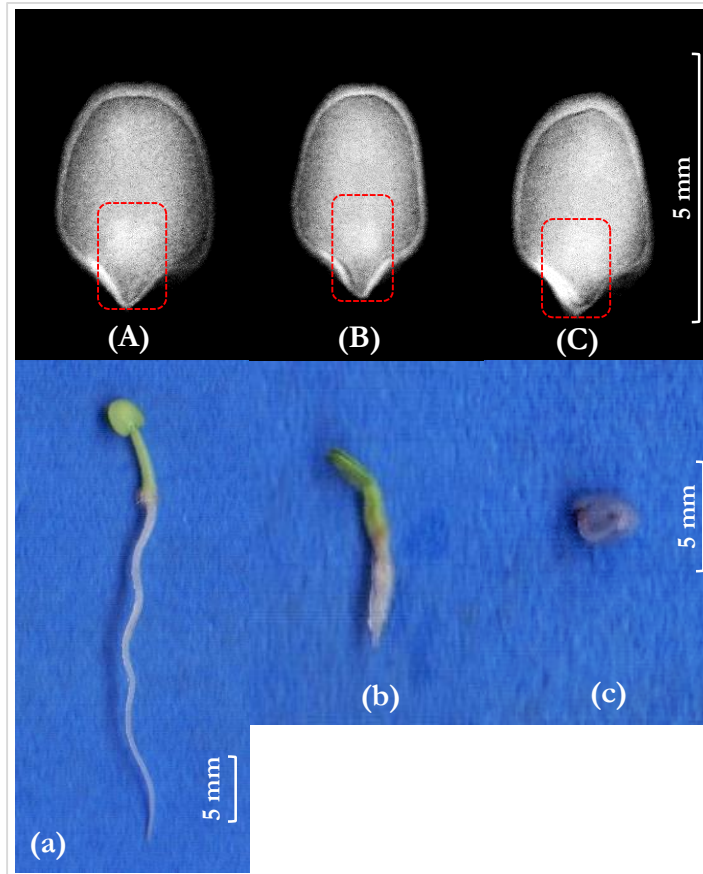


Figura 3. Imagens radiográficas de sementes de manjeriço intactas (A, B, C) e suas respectivas plântulas: normal (a), anormal (b) e semente morta (c). O retângulo vermelho indica a região do eixo embrionário.

As sementes vazias foram caracterizadas nas radiografias pelo contorno pronunciado do pericarpo e pela cavidade interna escurecida (Figura 4a). Na categoria de embriões malformados, foi possível detectar anormalidades como atrofia (Figura 4b), formato irregular (Figuras 4c e 4d), eixo embrionário atrofiado (Figura 4e) e formação parcial dos cotilédones (Figuras 4f, 4g e 4h). Nenhuma semente de manjeriço com embrião malformado germinou (Tabela 1), entretanto, Arruda *et al.* (2016) trabalhando com sementes de crotalária mencionaram que eventualmente sementes com embriões malformados podem originar plântulas normais, porém, menos desenvolvidas dependendo da intensidade e da localização do tecido malformado.

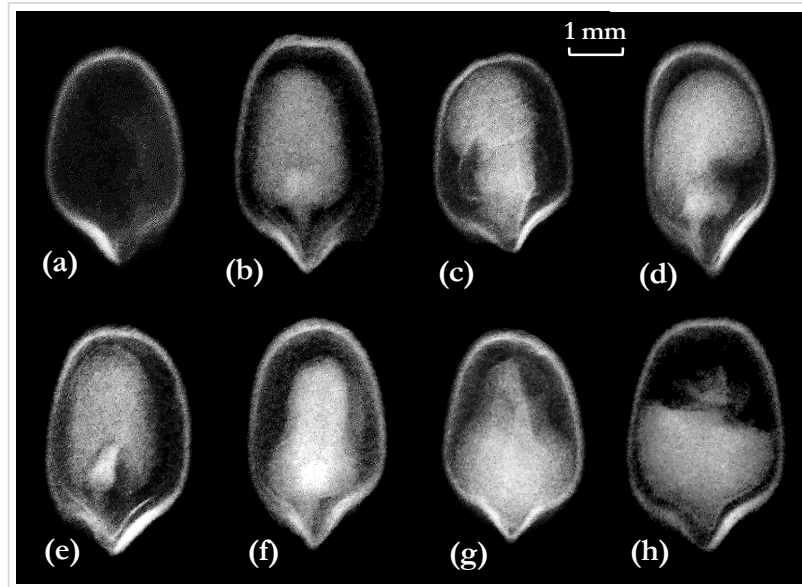


Figura 4. Imagens radiográficas de sementes de manjericão com a cavidade interna vazia (a) e embriões malformados (b, c, d, e, f, g, h).

A radiação fornecida pelos raios X consegue ultrapassar facilmente as regiões das sementes com presença de tecidos deteriorados, sendo reconhecidas nas radiografias por manchas escurecidas impressas nas imagens. A presença de tecidos deteriorados na extremidade oposta ao eixo embrionário (Figura 5A) não afetou a germinação das sementes, sendo possível verificar a lesão no cotilédone da plântula (Figura 5a). Manchas escuras abrangendo grande parte da região dos cotilédones (Figura 5B) originaram plântulas anormais, sem a parte aérea (Figura 5b), ou não germinaram. Nonogaki *et al.* (2010) relataram que quando a deterioração ocorre na porção intermediária do tecido de reserva, a capacidade germinativa pode ser prejudicada, pela dificuldade na translocação de nutrientes para a germinação. Sementes que apresentaram deterioração tecidual no eixo embrionário (Figura 5C) não germinaram (Figura 5c), provavelmente em decorrência da morte do embrião.

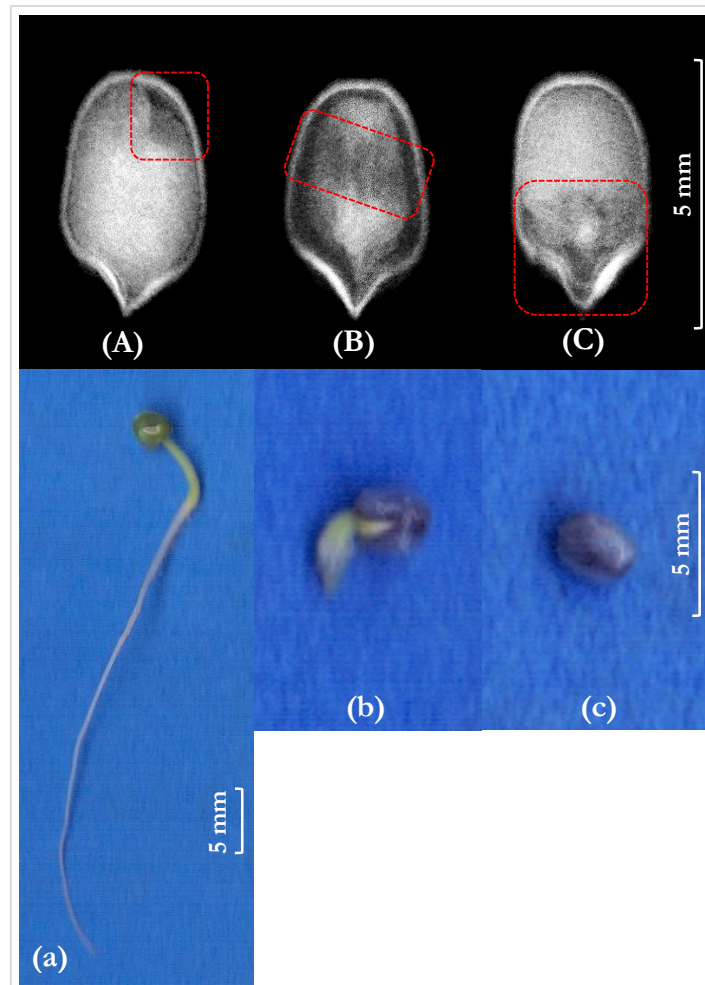


Figura 5. Imagens radiográficas de sementes de manjericão com tecidos deteriorados (A, B, C) e suas respectivas plântulas: normal (a), anormal (b) e semente morta (c).

A interferência dos danos mecânicos sobre a germinação de sementes de manjericão variou conforme a intensidade e a região atingida, pois sementes com trincas superficiais sobre os cotilédones (Figura 6A) deram origem a plântulas normais (Figura 6a). Lesões incidentes sobre a região do eixo embrionário (Figuras 6B, 6C e 6D) ocasionaram a perda da viabilidade das sementes, originando plântulas anormais, com ruptura do eixo hipocótilo-radícula parcial (Figura 6b) ou total (Figura 6c), e sementes mortas (Figura 6d). Segundo Arruda *et al.* (2016), a localização e extensão das injúrias devem ser considerados durante a análise das imagens radiográficas, pois sementes com danos mecânicos podem germinar e originar plântulas normais, desde que as lesões não comprometam regiões vitais ao processo germinativo.

Danos severos na parte superior do endosperma de sementes de milho doce, conforme Gomes-Junior e Cicero (2012), não comprometeram a germinação, porém, quando as lesões ocorreram sobre o eixo embrionário resultaram no desenvolvimento de plântulas anormais ou na morte das sementes. Constatação similar foi relatada por Medeiros *et al.* (2020), onde sementes de

melão danificadas originaram plântulas normais, desde que a lesão não comprometesse o eixo embrionário. Contudo, Copeland e McDonald (2001) alertaram que, mesmo quando os danos não resultam na perda imediata da viabilidade, eles podem ocasionar efeitos negativos sobre o vigor e aumentar a suscetibilidade das sementes à deterioração provocada pela ação de microrganismos.

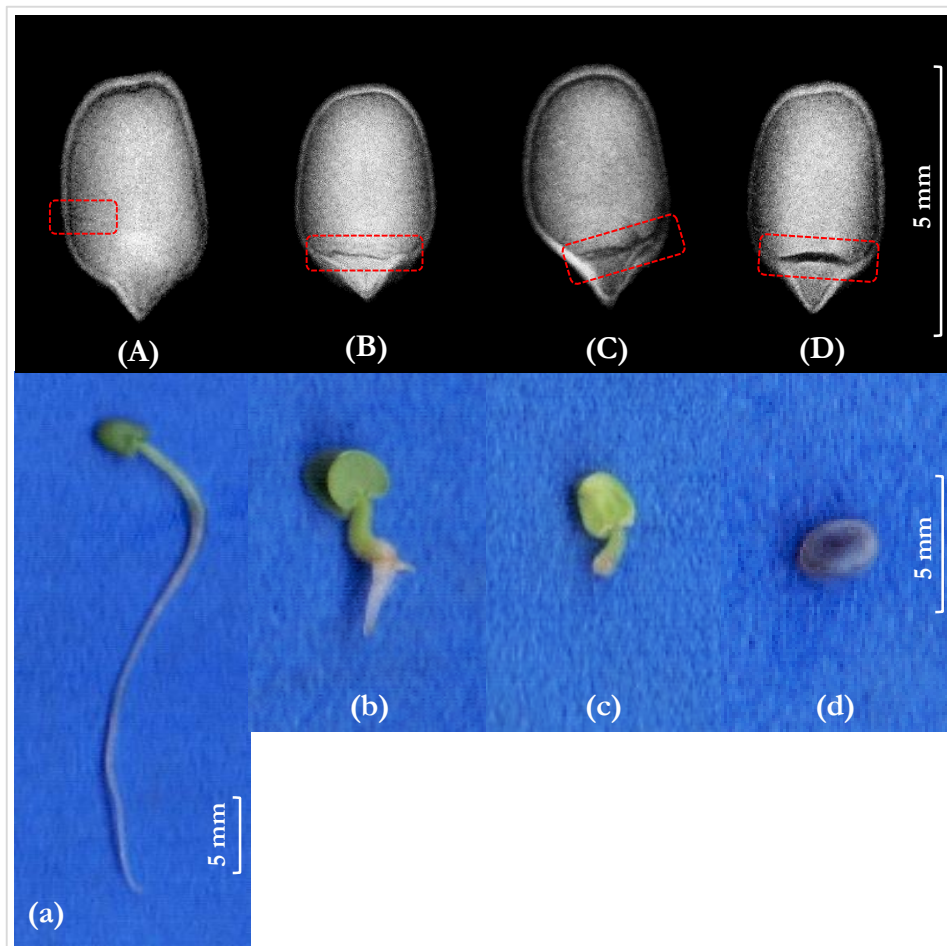


Figura 6. Imagens radiográficas de sementes de manjeriço apresentando diferentes intensidades de dano mecânico (A, B, C, D) e suas respectivas plântulas: normal (a), anormais (b, c) e semente morta (d).

A frequência de sementes intactas variou entre 76,5 % e 97,5 %, originando de acordo com a germinação das sementes dos diferentes lotes, em plântulas normais, em maior percentual, e em plântulas anormais e sementes mortas, em menor percentual (Tabela 1). A presença de sementes vazias foi observada nos lotes 2, 6 e 7, em proporções inferiores a 1 %. Sementes malformadas ocorreram em quase todos os lotes, atingindo no lote 1 o valor máximo de 3,5 %. Não foi observada germinação entre as sementes das categorias vazias e malformadas; resultado

semelhante foi relatado por Martins *et al.* (2008) analisando sementes de *O. gratissimum* L., espécie do mesmo gênero das plantas de manjericão.

Tabela 1. Teste de germinação, categorias identificadas pelo teste de raios X e comprimento de plântulas obtidos a partir de lotes de sementes de manjericão.

Lote	TG	Categorias					Total	CP	
		IN	VA	MF	TD	DM		A	B
		----- % -----						--- cm ---	
1	PN	53,0	0,0	0,0	1,0	0,0	54,0	1,55	1,99
	PA	13,0	0,0	0,0	2,5	2,0	17,5		
	SM	10,5	0,0	3,5	9,5	5,0	28,5		
2	PN	60,0	0,0	0,0	3,0	0,0	63,0	1,82	2,09
	PA	11,0	0,0	0,0	2,5	3,0	16,5		
	SM	11,5	0,5	0,5	6,5	1,5	20,5		
3	PN	80,5	0,0	0,0	1,5	0,5	82,5	2,16	2,35
	PA	5,5	0,0	0,0	0,5	4,0	10,0		
	SM	3,0	0,0	0,5	2,5	1,5	7,5		
4	PN	82,0	0,0	0,0	1,5	0,0	83,5	2,46	2,72
	PA	4,5	0,0	0,0	1,5	1,5	7,5		
	SM	2,0	0,0	1,0	6,0	0,0	9,0		
5	PN	80,0	0,0	0,0	0,5	0,0	80,5	2,56	2,78
	PA	8,0	0,0	0,0	3,0	1,0	12,0		
	SM	2,5	0,0	0,5	4,5	0,0	7,5		
6	PN	89,0	0,0	0,0	0,5	1,0	90,5	2,68	2,90
	PA	2,0	0,0	0,0	0,5	1,5	4,0		
	SM	0,5	0,5	1,0	2,5	1,0	5,5		
7	PN	96,5	0,0	0,0	0,0	0,5	97,0	3,64	3,70
	PA	0,5	0,0	0,0	0,5	0,0	1,0		
	SM	0,5	0,5	1,0	0,0	0,0	2,0		
8	PN	71,0	0,0	0,0	1,5	0,0	72,5	1,81	2,07
	PA	8,5	0,0	0,0	3,0	5,5	17,0		
	SM	5,0	0,0	0,0	1,5	4,0	10,5		
Total*		1401	3	16	113	67	1247**	---	---
Média		87,6	0,2	1,0	7,1	4,2	77,9**	2,34	2,58

TG = teste de germinação; PN = plântulas normais; PA = plântulas anormais; SM = sementes mortas; IN = sementes intactas; VA = sementes vazias; MF = sementes com embrião malformado; TD = sementes com tecidos deteriorados; DM = sementes com danos mecânicos; CP = comprimento médio de plântulas obtido por meio do *software* SVIS®; A = valor referente ao total de sementes avaliadas na amostra; B = valor referente às sementes classificadas com intactas; * número de sementes identificadas em cada uma das classes; ** valor referente ao número de plântulas normais verificadas no teste de germinação.

A presença de tecidos deteriorados ocorreu com maior frequência (56,5 %), em percentuais variáveis conforme a germinação das sementes do lote, sendo responsável pela maior proporção (47 %) de plântulas anormais e de sementes mortas (Tabela 1). É provável que este resultado esteja relacionado com o tamanho e a quantidade de reserva que as sementes de manjericão possuem, pois de acordo com Panobianco e Marcos-Filho (2001), sementes pequenas

apresentam menores quantidades de reservas e estão sujeitas à acentuada deterioração, após a maturidade fisiológica.

Os danos mecânicos foram constatados em todos os lotes, em menor proporção que os tecidos deteriorados, porém, com maior potencial de interferência no processo germinativo, pois dos 31,5 % de sementes desta categoria, apenas 2 % deram origem a plântulas normais (Tabela 1).

O percentual médio de plântulas normais verificado em todas as categorias de sementes radiografadas foi de 77,9 %, sendo que, das sementes com algum tipo de anormalidade somente 1,8 % deram origem a plântulas normais (Tabela 1). Ao excluir as sementes vazias, malformadas, deterioradas e com danos mecânicos dos lotes com maior ocorrência de anormalidades (1, 2 e 8), verificou-se um importante aumento no percentual médio de plântulas normais (Figura 7). No lote 1, este percentual aumentou de 54 % para 69,3 %, correspondendo a um acréscimo de 15,3 %, no lote 2 o acréscimo foi de 9,7 % e no lote 8 foi de 11,5 %. Ampliando o raciocínio de utilizar apenas sementes intactas para os oito lotes analisados, o percentual médio de plântulas normais aumenta de 77,9 % para 86,7 % (Tabela 1). De acordo com Martins *et al.* (2008), o teste de raios X utilizado para análise de sementes de *O. gratissimum* L., permitiu observar uma maior ocorrência de sementes vazias (52 %) em relação às cheias (48 %), não sendo observado germinação entre as vazias, enquanto 89,58 % das cheias originaram plântulas normais. Neste contexto, o teste de raios X pode contribuir para melhorar significativamente o desempenho germinativo dos lotes, pela possibilidade de se eliminar as sementes que apresentem algum tipo de anormalidade. Silva *et al.* (2014) obtiveram resultado semelhante trabalhando com sementes de abóbora.

O comprimento médio de plântulas, obtido pelo *software* SVIS[®], a partir de sementes identificadas como intactas, com tecidos deteriorados e danos mecânicos variou de 1,55 cm no lote 1, até 3,64 cm no lote 7, porém, retirando-se as sementes deterioradas e com danos mecânicos o comprimento médio de plântulas aumentou 0,44 cm no lote 1 e 0,06 cm no lote 7 (Tabela 1). Desse modo, ao manter apenas sementes intactas o comprimento médio das plântulas do lote 1, com maior incidência de problemas detectados pelos raios X, aumentou em maior proporção do que em relação ao lote 7, que apresentou apenas 2,5 % de anormalidades. Vale destacar que os lotes com maior ocorrência de danos (lotes 1, 2 e 8) apresentaram plântulas de menor comprimento, mesmo considerando apenas sementes intactas.

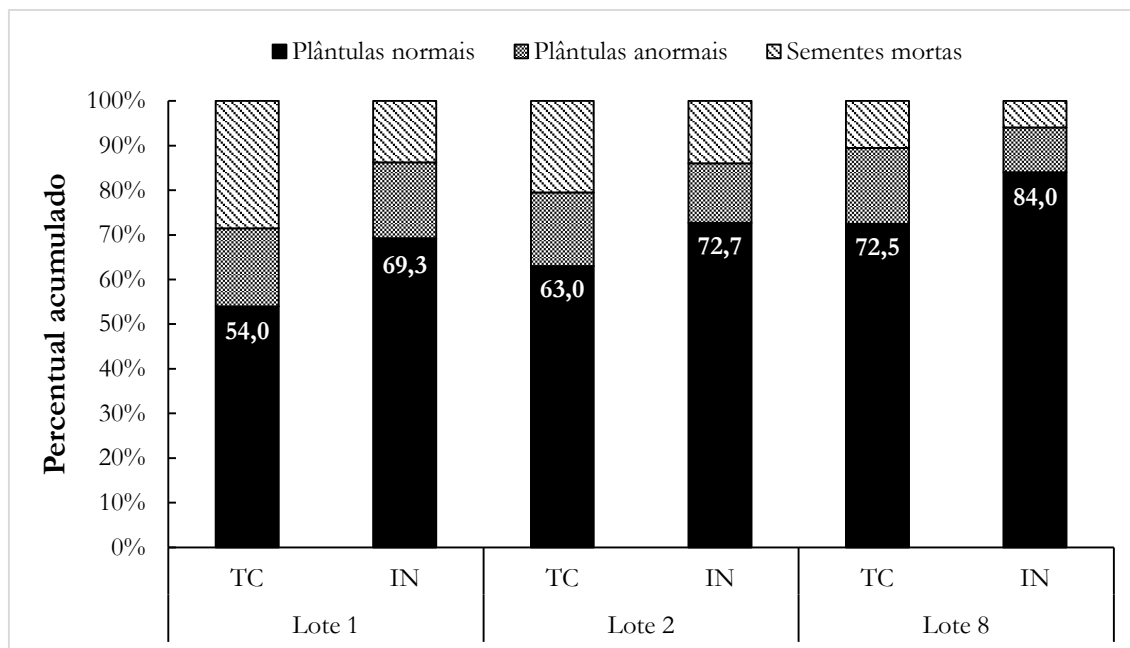


Figura 7. Percentual de germinação de sementes de manjeriço radiografadas dos lotes 1, 2 e 8. TC = todas as categorias; IN = somente sementes intactas.

A maior proporção de plântulas anormais e sementes mortas foi constatada nos lotes 1, 2 e 8, indicados como os de menor germinação (Tabela 2), confirmando o desempenho germinativo das sementes radiografadas (Tabela 1). Desse modo, foi possível comprovar a influência das características físicas identificadas pelos raios X, sobre a germinação das sementes, reforçando a forte correspondência entre os resultados destes testes. Segundo Noronha *et al.* (2018), os danos mecânicos e as malformações embrionárias detectadas pelos raios X podem ser responsáveis pela baixa germinação e redução do comprimento de plântulas.

4.2. Avaliação do potencial fisiológico das sementes

O teor de água dos lotes de sementes de manjeriço variou entre 6,1 % a 7,0 % no início do experimento e de 5,7 % a 6,9 % após 6 meses de armazenamento (Tabela 2). Tais percentuais estão de acordo com o limite mínimo de 4 % e máximo de 8 %, considerados ideais para a conservação de sementes ortodoxas em embalagens impermeáveis e hermeticamente fechadas, como as de manjeriço, sendo que valores superiores a 12 % são considerados potencialmente capazes de reduzir os percentuais de germinação destas sementes, quando armazenadas em ambiente não controlado (CARVALHO e NAKAGAWA, 2012). Segundo Marcos-Filho (2015a), o teor de água da semente é uma característica estritamente associada à deterioração e, de modo geral, deve permanecer entre 10 % a 13 %, porém, no caso das sementes de hortaliças, onde o

armazenamento é efetuado com embalagens impermeáveis e hermeticamente fechadas, o grau de umidade pode ser reduzido a valores entre 4 % e 8 %.

Tabela 2. Valores médios do teor de água inicial (TA_I), germinação (GE), primeira contagem de germinação (PCG), envelhecimento acelerado com solução saturada de sal (EASS), teor de água após o envelhecimento acelerado (TA_{EA}), precocidade de protrusão da raiz primária após 60 horas (PPRP), emergência de plântulas (EP), índice de velocidade de emergência de plântulas (IVE) e tempo médio de germinação (TMG) de lotes de sementes de manjeriço.

Lote	TA _I	GE	PCG	EASS	TA _{EA}	PPRP	EP	IVE	TMG
	----- % -----							índice	h
1ª época experimental (inicial)									
1	6,7	66,0 b	65,5 d	54,5 d	9,0	52,0 c	70,5 c	5,38 c	58,7 a
2	6,8	70,5 b	61,0 d	56,5 d	9,2	67,5 c	70,5 c	5,43 c	53,6 b
3	6,8	86,5 a	86,0 b	68,5 c	9,3	82,5 b	74,0 c	5,64 c	53,5 b
4	6,8	89,5 a	88,0 b	89,0 b	9,2	77,0 b	70,0 c	5,54 c	54,8 b
5	6,8	92,0 a	91,0 b	84,5 b	9,7	83,0 b	82,0 b	7,00 b	50,9 c
6	6,1	90,0 a	86,5 b	86,5 b	8,9	89,0 b	88,5 a	7,20 b	51,5 c
7	6,5	97,0 a	97,0 a	96,0 a	9,8	97,5 a	94,5 a	8,41 a	47,6 d
8	7,0	75,0 b	74,5 c	61,5 d	9,0	55,5 c	76,0 c	5,13 c	60,0 a
CV(%)	---	6,1	5,8	6,1	---	9,0	7,3	10,4	3,0
2ª época experimental (após 6 meses de armazenamento)									
1	6,0	76,0 b	60,0 c	46,0 e	9,9	50,0 e	69,0 c	5,23 c	58,8 a
2	6,0	75,0 b	64,0 c	57,0 d	9,3	65,5 d	71,0 c	5,22 c	53,2 b
3	6,1	90,5 a	85,5 b	69,0 c	9,0	85,0 c	75,5 c	5,57 c	52,5 b
4	6,4	90,0 a	86,5 b	84,0 b	9,4	83,0 c	74,5 c	5,43 c	54,0 b
5	6,4	88,0 a	85,0 b	84,0 b	9,0	92,0 b	81,0 b	6,94 b	50,5 c
6	5,7	93,0 a	87,5 b	81,5 b	8,8	90,5 b	88,0 a	7,17 b	50,2 c
7	6,2	98,0 a	97,5 a	95,5 a	8,8	98,5 a	91,5 a	8,33 a	46,1 d
8	6,9	83,0 b	66,5 c	54,5 d	9,0	68,5 d	73,0 c	5,27 c	58,0 a
CV(%)	---	6,2	7,0	7,1	---	5,9	5,7	8,2	2,6

Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5 % ($p \leq 0,05$); CV = coeficiente de variação.

A velocidade de embebição e o nível de atividade metabólica das sementes são influenciados pelo teor de água, portanto, a uniformidade do grau de umidade entre lotes é fundamental para a obtenção de resultados confiáveis e a padronização de testes que visem avaliar o potencial fisiológico. Conforme Marcos-Filho (2015a), os dados provenientes dos testes que avaliam a germinação e o vigor de sementes podem ser utilizados com segurança quando a diferença no grau de umidade entre lotes permanecer em até no máximo dois pontos percentuais. Como no presente estudo, a máxima variação inicial entre lotes foi de 0,9 % e após 6 meses 1,2

% (Tabela 2), é possível inferir que o teor de água das sementes não representou um fator de interferência no resultado de desempenho dos lotes, nos diferentes testes realizados.

Os testes de germinação inicial e após 6 meses de armazenamento permitiram separar os lotes em dois níveis, indicando os lotes 1, 2 e 8 como sendo os de menor germinação (Tabela 2), porém aptos para a comercialização, com médias superiores ao percentual mínimo (60 %) estabelecido para a comercialização de sementes de manjericão no Brasil (BRASIL, 2019). Os lotes 1, 2 e 8, possivelmente estão em um processo de perda do potencial fisiológico acentuado, em comparação com os outros cinco lotes. Partindo do pressuposto de que os testes de vigor têm como objetivo identificar diferenças no potencial fisiológico entre lotes de sementes comerciais, principalmente daqueles com porcentagem de germinação semelhante (Marcos-Filho, 2020a), o desafio dos testes para avaliação do vigor utilizados neste trabalho foi indicar diferenças entre os cinco lotes (3, 4, 5, 6 e 7), que não diferiram estatisticamente no teste de germinação (Tabela 2).

A primeira contagem de germinação (PCG) permitiu separar os lotes que apresentaram germinação semelhante em dois níveis, indicando a superioridade do lote 7 como o de melhor vigor, tanto na avaliação inicial, quanto após 6 meses de armazenamento (Tabela 2). O teste de primeira contagem disponibiliza informações complementares ao teste de germinação, de forma rápida e prática, uma vez que são conduzidos simultaneamente. Conforme Powell (2022), a PCG pode ser considerada como um teste de vigor, mesmo que seja realizada sob condições ótimas ao processo germinativo, pois, o avanço da deterioração reduz a velocidade de germinação, sendo consideradas vigorosas as sementes que germinam com maior velocidade (ABUD *et al.*, 2013).

O teste de envelhecimento acelerado com solução salina (EASS) diferiu os cinco lotes em três classes de vigor, nas duas épocas de avaliação, indicando o lote 7 como de maior vigor, os lotes 4, 5 e 6 como de vigor intermediário e o lote 3 como de baixo vigor. A variação máxima do teor de água entre os lotes após o envelhecimento acelerado inicial foi de 0,9 % e após 6 meses foi de 1,1 % (Tabela 2). Este resultado demonstra que os dados obtidos no EASS possuem credibilidade, uma vez que, segundo Marcos-Filho (2020b), o envelhecimento acelerado deve ser refeito, caso variações superiores a dois pontos percentuais sejam observadas, pois, quanto maior o teor de água de um lote, maior sua sensibilidade à alta temperatura que ocorre durante o teste.

Sementes pequenas possuem maior velocidade e intensidade de absorção de água, podendo acentuar o processo de deterioração sob as condições impostas pelo teste de envelhecimento acelerado, favorecendo o aumento do número de plântulas anormais e sementes mortas na germinação subsequente (RODO e MARCOS-FILHO, 2003). O uso de soluções salinas no teste de EA foi desenvolvido para reduzir a velocidade de absorção de água e os efeitos

nocivos sobre a germinação (RODRIGUES *et al.*, 2020). Neste contexto, o EASS foi eficiente ao manter a variação percentual de umidade entre os lotes de sementes de manjeriço abaixo de 2 %, assegurando que os resultados apresentados na Tabela 2 não foram influenciados por um aumento repentino e acentuado do teor de água das sementes.

O teste de precocidade de protrusão da raiz primária (PPRP), realizado após 60 horas da sementeira, inicialmente separou os cinco lotes em duas categorias, de modo semelhante a PCG, aumentando para três níveis de vigor após 6 meses de armazenamento (Tabela 2). Segundo Matthews e Khajeh-Hosseini (2007), sementes deterioradas necessitam de maior tempo para o reparo metabólico, germinando de maneira lenta e desuniforme. Por este motivo, usualmente no teste de PPRP são realizadas várias contagens, em diferentes intervalos de tempo, do número de sementes que apresentam protrusão da raiz primária, até que se verifique a estabilidade de germinação. De acordo com Akbarpour *et al.* (2019), a necessidade de se realizar contagens regulares dificulta o uso do teste de PPRP em programas de controle da qualidade de sementes, uma vez que trabalham com grandes quantidades de amostras e precisam agilizar o processamento das informações.

Neste estudo, as contagens do teste de PPRP foram realizadas em intervalos de 12 horas num total de 84 horas após a sementeira (dados não apresentados), totalizando 7 avaliações. O percentual de protrusão da raiz primária aumentou de forma significativa até 60 horas, sendo estes dados apresentados na Tabela 2 por possibilitarem o melhor ranqueamento dos lotes em relação ao vigor. Este resultado indica a perspectiva de se realizar o teste de PPRP em sementes de manjeriço com apenas uma contagem após 60 horas da instalação do teste. A capacidade do teste de PPRP realizado com uma única contagem em fornecer uma classificação rápida e eficiente do potencial de vigor de lotes de sementes foi comprovada por Demir *et al.* (2023), 24 horas para sementes de pepino, por Demir *et al.* (2019), 24 horas para sementes de agrião, por Shinohara *et al.* (2021), 48 horas para sementes de couve-flor e por Ilbi *et al.* (2020), 49 ou 66 horas para lotes de sementes de calêndula.

A PPRP foi o único teste onde, entre a leitura inicial e a de após 6 meses, houve uma alteração na classificação dos cinco lotes (Tabela 2). Martins *et al.* (2006), verificaram a eficiência de diferentes testes de vigor na avaliação da qualidade de sementes de tomate e relataram que, os testes de emissão de raiz primária apresentaram resultados contraditórios ou inconsistentes na classificação do vigor dos lotes quando comparados com os resultados dos outros testes. Neste sentido Marcos-Filho (2020a), relatou que a manifestação do vigor das sementes responde diretamente à influência do meio ambiente e, portanto, testes baseados no desenvolvimento de

plântulas podem não apresentar sensibilidade suficiente para detectar sutis diferenças no potencial fisiológico.

O teste de emergência de plântulas (EP) diferiu os cinco lotes em três classes de vigor nas duas épocas de avaliação, indicando os lotes 6 e 7 como de maior vigor, o lote 5 com vigor intermediário e os lotes 3 e 4 de vigor mais baixo, sendo o único teste a indicar o lote 6 como de vigor mais alto (Tabela 2). É provável que as condições do ambiente durante a condução do teste de EP tenham favorecido o desempenho do lote 6, fazendo com que não fosse possível identificar diferença estatística em relação ao lote 7. Os índices de velocidade de emergência (IVE) e o tempo médio de germinação (TMG) também indicaram três categorias de vigor entre os cinco lotes, nas duas épocas de avaliação, de modo semelhante entre si e, a PPRP feita após 6 meses, indicando o lote 7 como de maior vigor, os lotes 5 e 6 com vigor intermediário e os lotes 3 e 4 de vigor mais baixo. Segundo Marcos-Filho (2020a), deve ser considerado que os requisitos de um teste de vigor eficiente incluem alta sensibilidade às diferenças no potencial fisiológico, não detectado por testes de germinação e a capacidade de classificar os lotes de acordo com seu desempenho potencial.

Pelos resultados dos testes utilizados para avaliar o vigor das sementes de manjeriço foi possível identificar os lotes 1, 2 e 8 como sendo os de menor vigor, corroborando com o resultado do teste de germinação (Tabela 2). Este resultado era esperado, pois de acordo com Marcos-Filho (2020a), quando o teste de germinação detecta diferenças significativas no potencial fisiológico, com certeza os resultados de testes de vigor pouco ou nada acrescentam a essa informação, pois seu baixo potencial de desempenho já foi indicado pelo teste de germinação.

A classificação superior do lote 7, intermediária do lote 5 e inferior do lote 3 foi constatada em todos os testes, observando-se uma discordância em relação ao ranqueamento dos lotes 4 e 6 (Figura 8). O teste de EASS classificou os lotes 4 e 6 como intermediários, sendo que os testes de PPRP (após 6 meses), IVE e TMG corroboraram com o EASS em relação ao lote 6, porém, classificaram o lote 4 como de vigor mais baixo. Neste contexto Marcos-Filho, (2020a) explicou que, a identificação do potencial fisiológico dos lotes de médio vigor muitas vezes é difícil, pois podem ocorrer variações no seu comportamento, ora se igualando aos lotes de maior, ora aos de menor vigor, dependendo do teste utilizado.

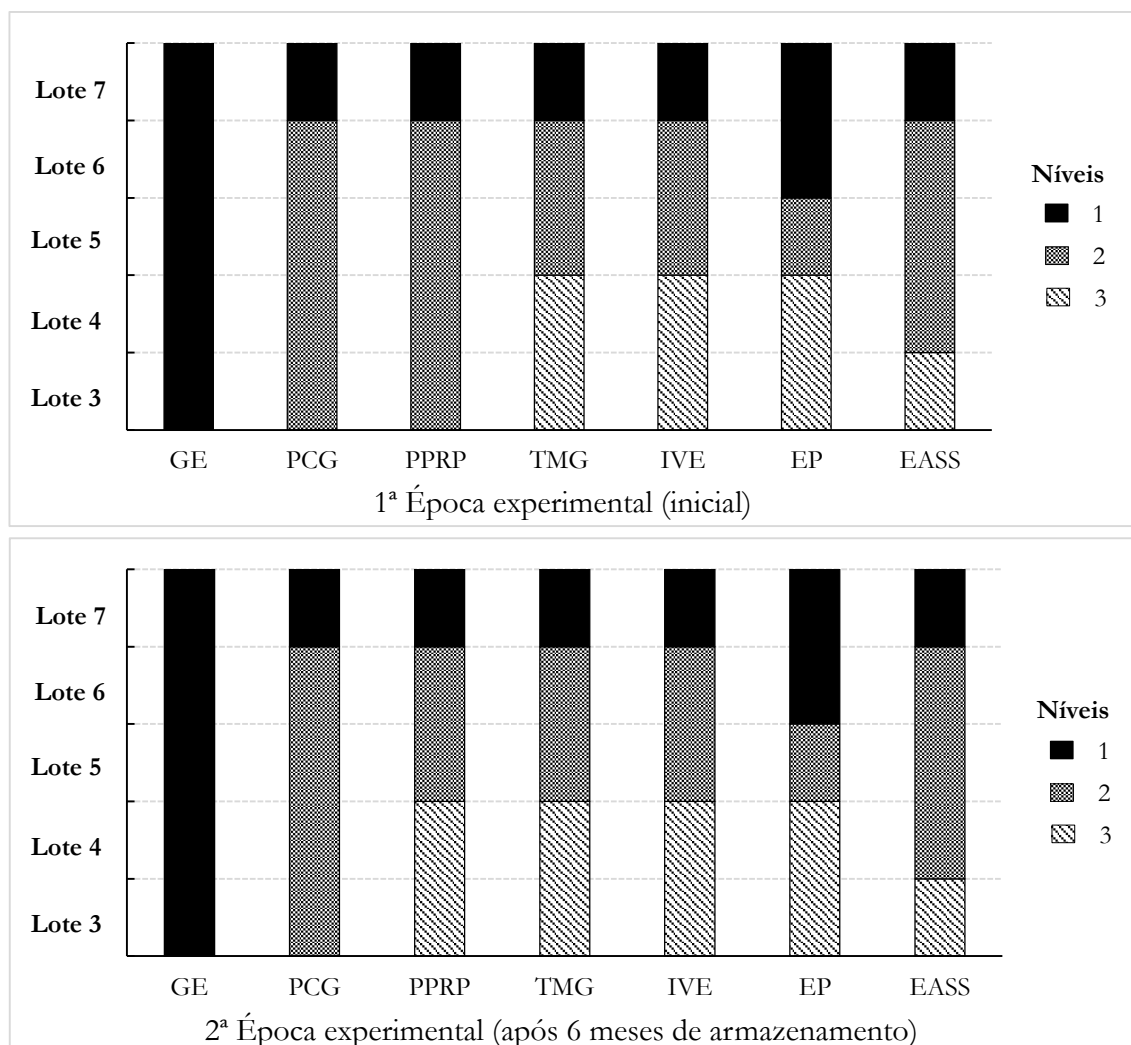


Figura 8. Níveis de classificação, quanto ao vigor, dos cinco lotes de sementes de manjeriço indicados como sendo de maior germinação (GE). PCG = primeira contagem de germinação; PPRP = precocidade de protrusão da raiz primária após 60 horas; TMG = tempo médio de germinação; IVE = índice de velocidade de emergência de plântulas; EP = emergência de plântulas; EASS = envelhecimento acelerado com solução saturada de sal.

O EASS classificou os lotes 4, 5 e 6 como de médio vigor nas duas épocas de avaliação, com percentuais de plântulas normais superiores a 80 % (Tabela 2). Desse modo, pode-se inferir que o EASS demonstrou maior sensibilidade e eficiência na classificação do vigor dos lotes de sementes de manjeriço. Este resultado corrobora com a recomendação da metodologia de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl proposta por Lima *et al.* (2006) para a avaliação do vigor de sementes de alfavaca-cravo (*O. gratissimum* L.), demonstrando que a referida metodologia pode ser aplicada em sementes de manjeriço (*O. basilicum* L.), sem ocasionar estresse excessivo às sementes analisadas.

Vale a pena relatar uma observação verificada durante a condução do teste de germinação: as Regras para Análise de Sementes estabelecem que para sementes da espécie *O. basilicum* L., deve-se iniciar a contagem do número de plântulas normais no quarto e finalizar no décimo quarto dia após a semeadura (BRASIL, 2009). Nesse trabalho, foi constatado que aproximadamente 91 % das sementes viáveis germinaram e deram origem a plântulas normais no quarto dia, estabilizando o processo germinativo no décimo dia após a instalação do teste. Este comportamento foi visualizado nos oito lotes durante a condução dos testes de germinação inicial e após 6 meses de armazenamento, sem a ocorrência de plântulas com desempenho insuficiente para avaliação de suas estruturas. Este resultado sugere a possibilidade de antecipar a segunda avaliação, reduzindo para dez dias o tempo para execução do teste de germinação em sementes de manjericão.

O *software* SVIS[®] precisa ser previamente configurado com informações básicas sobre as plântulas da espécie que será avaliada, sendo necessário obter, no menor tempo possível, plântulas com desenvolvimento suficiente de suas estruturas essenciais. De acordo com Hoffmaster *et al.* (2003), a correta identificação das partes das plântulas é fundamental para evitar equívocos na mensuração através do algoritmo, sendo o comprimento total de cada plântula (hipocótilo + raiz) mais importante que o comprimento do cotilédone, pois este não indica necessariamente a performance das plântulas no campo, bastando comprovar sua presença ou ausência. Os principais componentes das plântulas de manjericão estão indicados na Figura 9.

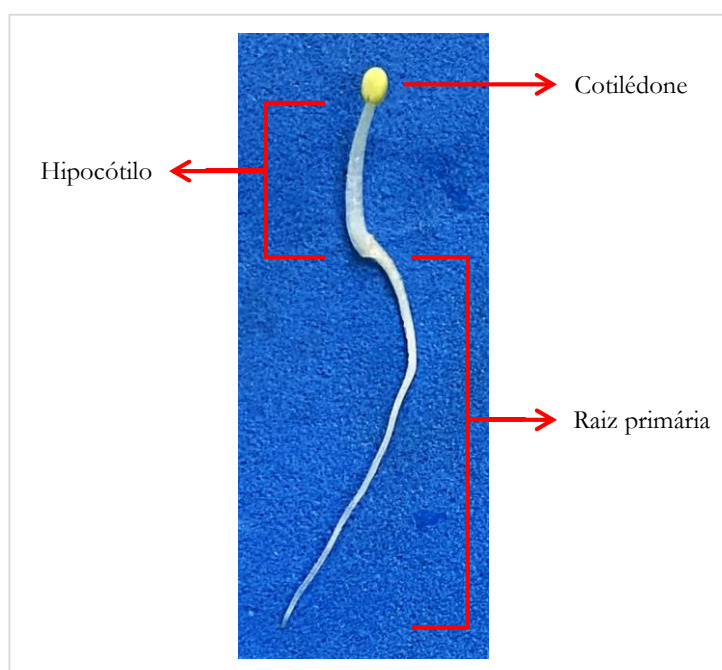


Figura 9. Principais componentes das plântulas de manjericão.

Neste estudo, as plântulas obtidas no terceiro dia após a semeadura apresentaram o valor máximo de 1,2'' (3,05 cm) de comprimento e, no quarto dia, o comprimento máximo aumentou para 2,0'' (5,08 cm). Estes valores foram utilizados como referencial para o cálculo dos resultados apresentados na Tabela 3. A determinação do tamanho máximo da plântula que será utilizado para calibrar o SVIS[®], conforme Gomes-Junior *et al.* (2014), deve ser constatado a partir de lotes reconhecidos por outros testes de rotina como de alto vigor, capazes de expressar o maior potencial de desenvolvimento das plântulas de uma espécie. Este procedimento precisa ser realizado minuciosamente, pois é imprescindível para a produção de resultados reproduzíveis entre diferentes laboratórios.

O acréscimo de 0,8'' (2,03 cm) no comprimento máximo das plântulas entre o terceiro e o quarto dia após a semeadura foi importante para viabilizar a análise pelo SVIS[®], pois no terceiro dia, apenas as plântulas do lote 7 apresentavam estruturas desenvolvidas o suficiente para a avaliação computadorizada (Figura 10). Conforme Hoffmaster *et al.* (2003), não é garantido que plântulas pouco desenvolvidas apresentem as estruturas necessárias para que se possa efetuar sua avaliação pelo SVIS[®], pois o crescimento da plântula pode ser tão pequeno que dificulte a identificação dos limites das partes da plântula.

As sementes do lote 7 (alto vigor) germinaram três dias após a semeadura e suas plântulas se desenvolveram com maior velocidade que as dos lotes 5 (médio vigor) e 2 (baixo vigor). No quarto dia, as estruturas das plântulas do lote 7 estão visíveis e expressam o máximo desenvolvimento observado entre os oito lotes de sementes de manjeriço analisados (Figura 10a). A maioria das sementes do lote 5 germinaram no terceiro dia após a semeadura (Figura 10B), entretanto, nem todas suas partes estão aparentes e as que são visíveis estão com menor desenvolvimento em relação ao comprimento de 1,2'' (3,05 cm), padronizado como de máximo potencial. No lote 2, o processo de germinação ocorreu lentamente, sendo que muitas sementes não germinaram no terceiro dia e as plântulas observadas estão no início do desenvolvimento, muito aquém do referencial padrão (Figura 10C). No quarto dias após a semeadura, as plântulas dos lotes 5 (Figura 10b) e 2 (Figura 10c) apresentaram desenvolvimento suficiente para a avaliação pelo SVIS[®].

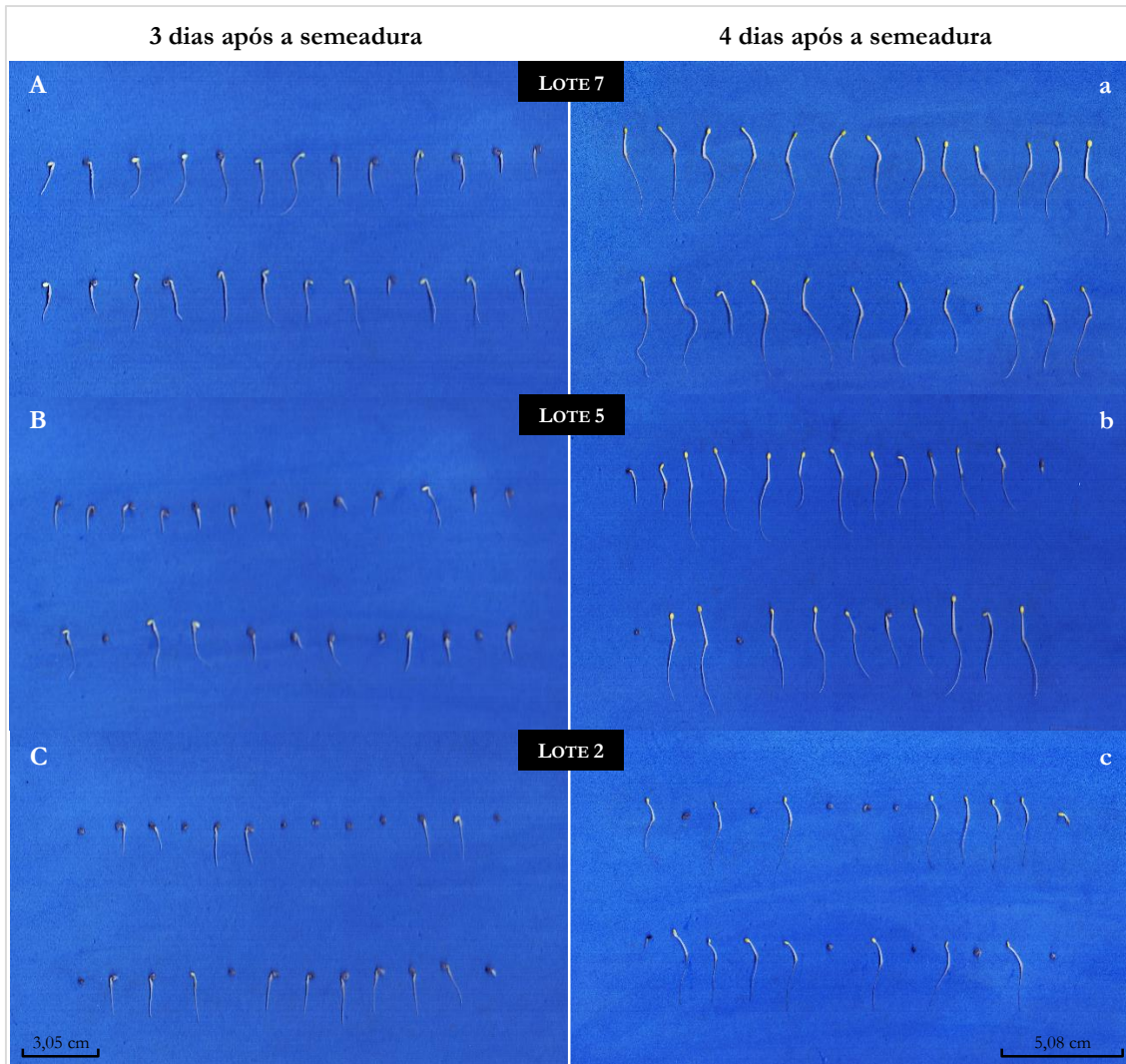


Figura 10. Aspecto visual de plântulas de manjericão com três (A, B, C) e quatro (a, b, c) dias de idade, submetidas à análise computadorizada de imagens de plântulas por meio do *software* SVIS®.

Segundo Trujillo *et al.* (2019), a determinação da idade das plântulas para a avaliação computadorizada no menor tempo possível é fundamental, no intuito de realizar o diagnóstico do potencial fisiológico de lotes de sementes de modo rápido, preciso e confiável, entretanto, dependendo da espécie pode haver a necessidade de um maior período para o desenvolvimento das plântulas. Para algumas culturas como alface, milho doce e soja tem sido recomendada a avaliação com três dias após a semeadura (SAKO *et al.*, 2001; GOMES-JUNIOR *et al.*, 2009; HOFFMASTER *et al.*, 2003) e no caso de sementes de melão e pepino foi estabelecido o período de quatro dias após a semeadura (MARCOS-FILHO *et al.*, 2006; CHIQUITO *et al.*, 2012). Quando a espécie em análise não tem estipulado o tempo necessário para a avaliação pelo SVIS®, como no caso do manjericão, utiliza-se como referencial a primeira contagem do teste de germinação (GOMES-JUNIOR *et al.*, 2014). Neste estudo, a idade ideal para avaliação

computadorizada das plântulas coincidiu com a recomendação das RAS (BRASIL, 2009) para a PCG de sementes de manjeriço, ou seja, no quarto dia após a instalação do teste de germinação.

O índice de uniformidade de desenvolvimento das plântulas (IU), de acordo com Castan *et al.* (2018), é um método importante para avaliar o vigor de sementes, uma vez que estima a capacidade das plântulas de se desenvolverem de forma rápida e homogênea no campo. Entretanto, para sementes de manjeriço (Tabela 3), o IU demonstrou ser um parâmetro que pode propiciar interpretações equivocadas, pois possibilitou equiparar a classificação de lotes de maior, com os de menor desenvolvimento. Os lotes 3, 4, 5 e 8 que na avaliação inicial com 3 dias, foram indicados como de médio vigor, após 6 meses no terceiro dia foram indicados como de alto vigor, junto com os lotes 6 e 7. Na avaliação inicial com quatro dias os lotes 5, 6 e 7 foram indicados como de alto vigor e, após 6 meses os lotes 5 e 6 foram incluídos no segundo nível de estratificação. Este resultado pode ser explicado pelo fato de que o IU se refere somente ao desvio padrão do comprimento das plântulas, determinando o nível de semelhança entre elas, independente do maior ou menor desenvolvimento que elas apresentem. Nesse parâmetro, é importante analisar o valor fornecido pelo índice junto com as imagens, de forma a evitar que um lote de menor desenvolvimento, porém, com boa uniformidade, seja ranqueado como de médio ou alto vigor. Conforme Gomes-Junior *et al.* (2014), o índice de uniformidade tende a ser semelhante entre lotes com baixo e alto vigor, portanto, não deve ser considerado de forma isolada, pois altos valores de IU podem estar relacionados tanto com plântulas bem formadas, quanto com plântulas pouco desenvolvidas (REGO *et al.*, 2021; LEITE *et al.*, 2020).

A análise do potencial fisiológico inicial e após 6 meses de armazenamento dos lotes de sementes de manjeriço foi fundamentada no ranqueamento fornecido pelos parâmetros comprimento médio de plântulas (CP), índices de crescimento (IC) e de vigor (IV), obtidos no quarto dia após a semeadura (Tabela 3). Na avaliação inicial, foi possível observar 6 níveis de vigor, diminuindo para 4 níveis, na avaliação após 6 meses de armazenamento. Conforme Marcos-Filho (2015a), é importante ressaltar a possibilidade de ocorrer diferenças no grau de deterioração das sementes que compõem um lote, pois sementes de um mesmo lote e até mesmo partes de uma mesma semente, deterioram com velocidades diferentes, propiciando a existência de discrepâncias no potencial fisiológico.

Tabela 3. Valores médios dos índices de uniformidade (IU), de crescimento (IC) e de vigor (IV) e comprimento médio de plântulas (CP), obtidos por meio da análise computadorizada de imagens de plântulas (SVIS[®]), com três e quatro dias de idade, de lotes de sementes de manjeriço.

Lote	3 dias				4 dias			
	IU	IC	IV	CP	IU	IC	IV	CP
	----- índice -----			cm	----- índice -----			cm
1 ^a época experimental (inicial)								
1	704 c	410 b	498 b	0,70 c	724 c	550 d	602 e	1,68 d
2	720 c	486 b	556 b	0,81 b	754 c	600 d	646 d	1,93 c
3	831 b	420 b	543 b	0,94 b	830 b	604 d	671 d	2,22 c
4	799 b	431 b	541 b	0,87 b	813 b	579 d	649 d	1,99 c
5	811 b	436 b	548 b	0,93 b	872 a	750 b	786 b	2,85 b
6	865 a	459 b	580 b	1,04 b	884 a	667 c	732 c	2,64 b
7	907 a	659 a	733 a	1,57 a	913 a	846 a	866 a	3,39 a
8	804 b	246 c	413 c	0,50 c	805 b	433 e	544 f	1,54 d
CV(%)	4,8	12,0	8,1	15,0	4,4	6,9	5,2	8,2
2 ^a época experimental (após 6 meses de armazenamento)								
1	652 c	392 c	470 d	0,58 d	784 c	574 c	637 c	1,92 c
2	728 b	483 b	556 c	0,79 c	699 d	562 c	603 d	1,64 d
3	849 a	421 c	549 c	0,92 c	843 b	560 c	645 c	2,15 c
4	818 a	386 c	515 c	0,84 c	848 b	654 b	712 b	2,49 b
5	828 a	558 b	639 b	1,20 b	862 b	705 b	752 b	2,68 b
6	866 a	506 b	614 b	1,16 b	862 b	664 b	724 b	2,56 b
7	893 a	723 a	773 a	1,71 a	910 a	929 a	923 a	3,68 a
8	812 a	258 d	424 d	0,53 d	831 b	494 d	594 d	1,80 d
CV(%)	5,6	11,2	7,6	14,7	3,5	6,3	4,5	7,1

Médias seguidas por mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5 % ($p \leq 0,05$); CV = coeficiente de variação.

O índice de vigor foi o parâmetro que indicou maior número de classes na avaliação inicial (Tabela 3), sendo considerado por Silva e Cicero (2014a), como um parâmetro mais rápido e sensível do que o teste de germinação para avaliar o aspecto fisiológico da qualidade de sementes. Entretanto, a diferenciação dos lotes fundamentada somente no resultado da distinção estatística pode dificultar o enquadramento nas classes de alto, médio e baixo vigor, dependendo do número de estratos fornecidos pelos testes de comparação de médias, como o observado nos parâmetros que possibilitaram identificar 4, 5 e 6 estratos (Tabela 3). Para a avaliação de plântulas de alface pelo SVIS[®], os pesquisadores da OSU propuseram a adoção dos valores de referência para o índice de vigor numa escala de 800 a 1.000 para lotes de extremo vigor, de 600 a 799 para

alto, de 400 a 599 para médio e de 200 a 399 para baixo vigor, sendo que valores inferiores a 200 indicam lotes sem vigor (GOMES-JUNIOR, 2020).

Neste estudo, empregando-se este critério de ranqueamento, a maioria dos lotes podem ser classificados como de alto vigor (1 a 6), o lote 7 como de extremo e o lote 8 como de médio vigor, porém os lotes 1, 2 e 8 apresentaram maior ocorrência de danos pelo teste de raios X (Tabela 1) e menor germinação pelos resultados da Tabela 2. Esse resultado demonstra que os valores de referência propostos para plântulas de alface não devem ser generalizados para outras espécies, sendo importante verificar a necessidade de adequação, conforme a espécie em estudo.

Os índices IC, IV e o CP possibilitaram visualizar diferenças sutis no potencial fisiológico entre os lotes desde a avaliação inicial logo após a abertura das embalagens, permitindo posicionar o lote 7 como o de maior vigor e o lote 8 entre os de menor vigor (Tabela 3). Na avaliação após 6 meses de armazenamento foi possível classificar os lotes 3, 4, 5, 6 e 7 de modo semelhante ao EASS (Tabela 2). De acordo com Marcos-Filho (2020a), um dos requisitos básicos para se incluir novos procedimentos na análise do vigor de sementes é a sua equivalência com os testes laboratoriais de rotina. Os autores das pesquisas realizadas com sementes de alface (KIKUTI e MARCOS-FILHO, 2012), berinjela (SILVA e CICERO, 2014a) e cenoura (MARCHI e CICERO, 2017), também verificaram que o teste de EASS e a análise computadorizada de plântulas por meio do SVIS[®] classificaram de modo semelhante o nível de vigor dos lotes de sementes estudados.

É importante ressaltar que a análise computadorizada de imagens de plântulas é baseada no crescimento e uniformidade de plântulas, ao contrário de testes como EA, PPRP e EP, que avaliam o percentual de plântulas normais, de sementes germinadas ou de plântulas emersas. Segundo Abud *et al.* (2017), a diferença entre a metodologia e os parâmetros avaliados pode explicar as possíveis variações no ranqueamento dos lotes, principalmente para aqueles de desempenho intermediário.

O comprimento médio de plântulas obtido de sementes intactas (CP_{IN}) foi o parâmetro que obteve maior número de associações entre os componentes utilizados na análise de correlação, correspondendo de maneira forte e significativa com todos os testes efetuados (Figura 11). No CP_{IN}, o comprimento de plântulas foi estimado a partir de uma amostra composta apenas com sementes puras e intactas de cada lote, excluindo a maioria das sementes que possivelmente não germinariam ou iriam originar plântulas pouco desenvolvidas. Desse modo, a elevada integridade física da amostra foi assegurada, permitindo que os aspectos fisiológicos fossem evidenciados.

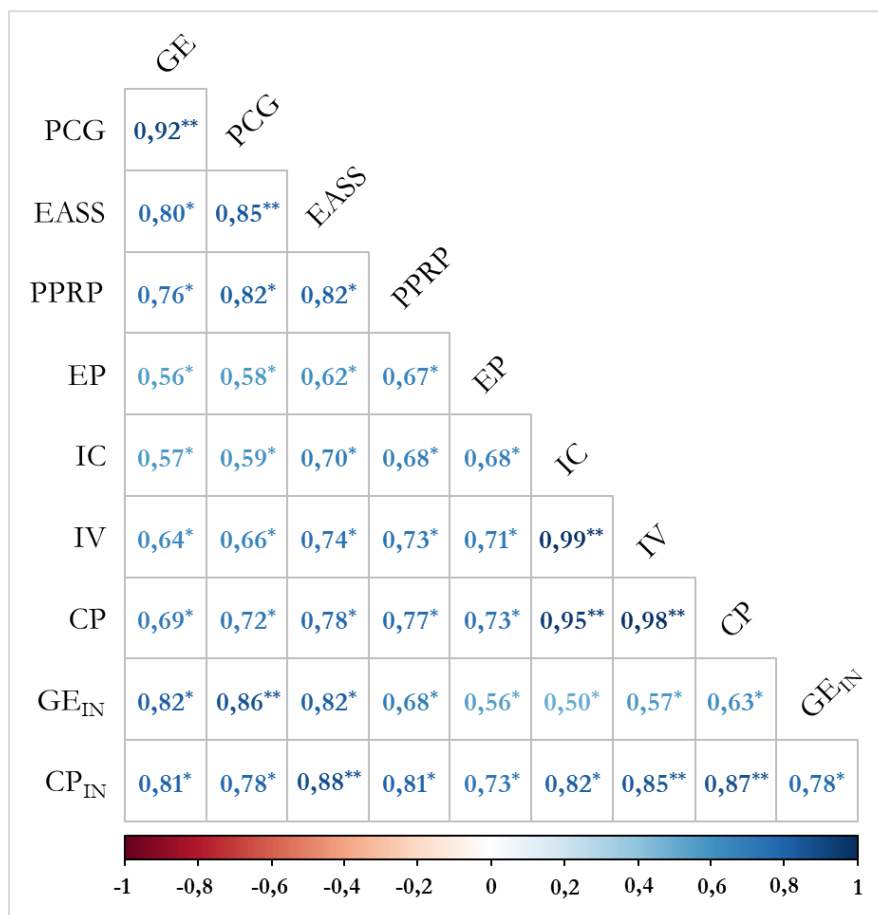


Figura 11. Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre os testes de germinação (GE), primeira contagem de germinação (PCG), envelhecimento acelerado com solução saturada de sal (EASS), precocidade de protrusão da raiz primária após 60 horas (PPRP), emergência de plântulas (EP), índice de crescimento (IC), índice de vigor (IV), comprimento médio de plântulas (CP) e da germinação e comprimento médio de plântulas originadas de sementes intactas (GE_{IN} e CP_{IN}), detectadas pelo teste de raios X, de lotes de sementes de manjericão. * significativo a 5 % ($p \leq 0,05$); ** significativo a 1 % ($p \leq 0,01$).

Existe uma tendência de ocorrer forte associação entre testes que avaliam parâmetros semelhantes, que pode ser verificada na Figura 11, a exemplo do que ocorreu entre o GE com os testes de PCG, EASS, PPRP e GE_{IN} (germinação de sementes intactas), que são procedimentos que medem o percentual de germinação. O mesmo aconteceu com o IC, que teve forte correlação com o IV, CP e CP_{IN}, que são metodologias que avaliam o desempenho de plântulas. O teste de EP também teve correlações fortes com os testes que avaliam plântulas (IV, CP e CP_{IN}), exceto com IC, isto provavelmente, porque o índice de crescimento é calculado tendo como referência um valor máximo de crescimento de plântulas.

Seguindo este raciocínio, o GE_{IN} apresentou forte correlação com os testes de GE, PCG, EASS que analisam o desempenho germinativo, mas, com os procedimentos que avaliam critérios relacionados com o desempenho de plântulas (EP, IC, IV e CP), as correlações foram

fracas. No caso do GE_{IN} , que apresentou correlação forte com a PCG e fraca com a PPRP, vale lembrar que a PCG foi medida 96 horas após a sementeira e a PPRP depois de 60 horas, ou seja com 36 horas a menos que a PCG. Os dois testes avaliam indiretamente a velocidade de germinação, porém na PPRP considera-se a emissão de apenas 2 mm de raiz primária, portanto, o acréscimo de 36 horas para se avaliar a PCG pode ter sido suficiente para o estabelecimento de plântulas normais com menor velocidade de desenvolvimento. É provável que a forte associação entre GE_{IN} e CP_{IN} pode ter ocorrido, porque uma amostra constituída apenas por sementes intactas diminuiu o número de sementes mortas e plântulas anormais, com consequente aumento do valor do comprimento médio de plântulas da amostra avaliada.

O teste de EASS (utilizado para avaliar o vigor) e o de GE (utilizado para estimar a viabilidade) apresentaram forte correlação (Figura 11), entretanto estes testes divergiram quanto ao ranqueamento dos lotes de sementes de manjeriço (Tabela 2). Este resultado pode ser justificado pelo fato de que lotes classificados como de alto vigor pelo EASS também possuem alta germinação, entretanto, nem todos os lotes que possuem altos percentuais de germinação são classificados como vigorosos nos testes de vigor.

É improvável que um único teste permita um diagnóstico satisfatório e preciso de todos os atributos relacionados à qualidade de sementes. Conforme ressaltou Marcos-Filho (2015b), a análise conjunta dos resultados de dois ou mais testes é fundamental para obtenção de informações consistentes e confiáveis. Neste contexto, o uso do coeficiente de correlação, amplamente empregado como forma de selecionar testes que possam ser utilizados em conjunto para estimar o potencial fisiológico de lotes de sementes (WENDT *et al.*, 2017), pode ser empregado com sucesso, desde que se tenha consciência da relatividade do vigor. De acordo com Reed *et al.* (2022), o vigor é uma característica complexa e não deve ser interpretado como uma única propriedade quantificável, mas sim como um atributo que inclui o desempenho potencial das sementes em um contexto agrícola, baseado nas interações entre os genes e o ambiente, que podem ser modificadas por muitos fatores ambientais.

As associações fortes e significativas verificadas neste trabalho possibilitaram, em função do grau de correlação, identificar testes promissores ou alternativos para a classificação de lotes de sementes de manjeriço quanto ao vigor, pois segundo Andrade *et al.*, (1995), o grau de associação verificado entre os resultados de cada método empregado para análise de sementes indica as melhores perspectivas de sua adoção. Neste contexto, se destacaram os testes de EASS, PPRP, SVIS® (IV e CP), pois aliaram forte correlação com o ranqueamento estatístico semelhante. O teste de EASS correspondeu de maneira forte e significativa com a maioria dos testes, ao mesmo tempo em que foi preciso ao estratificar os lotes quanto ao vigor. O IV e CP

possibilitaram ranquear os lotes e realizar uma avaliação precisa das pequenas plântulas de manjeriço, o que era esperado, haja visto que o SVIS[®] foi desenvolvido para plântulas de alface (SAKO *et al.*, 2001).

O teste de raios X, empregado para avaliar a qualidade física das sementes, pode ser uma técnica valiosa para a análise do potencial fisiológico, pois permite investigar se existe uma relação de causa e efeito entre um possível menor desempenho germinativo, com a integridade física dos tecidos internos. Ao associar o teste de raios X com os testes que avaliam a germinação e o vigor, foi possível avaliar o real potencial fisiológico das sementes de manjeriço e indicar lotes de melhor qualidade.

5. CONCLUSÕES

O teste de raios X é eficiente na avaliação da morfologia interna das sementes de manjeriço, permitindo estabelecer uma relação de causa e efeito entre um possível menor desempenho germinativo com a integridade física dos tecidos.

A análise computadorizada de plântulas pelo *software* SVIS[®], aos quatro dias após a semeadura, é uma técnica ágil e eficiente para avaliar o vigor de sementes de manjeriço.

REFERÊNCIAS

- ABUD, H.F.; ARAUJO, E.F.; ARAUJO, R.F.; ARAUJO, A.V.; PINTO, C.M.F. Qualidade fisiológica de sementes das pimentas malagueta e biquinho durante a ontogênese. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, n.12, p.1546-1554, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2013001200003>.
- ABUD, H.F.; CICERO, S.M.; GOMES-JUNIOR, F.G. Computerized image analysis of seedlings to evaluate broccoli seed vigor. **Journal of Seed Science**, v.39, n.3, p.303-310, 2017. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v39n3174582>.
- ABUD, H.F.; CICERO, S.M.; GOMES-JUNIOR, F.G. Radiographic images and relationship of the internal morphology and physiological potential of broccoli seeds. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.40, e34950, 2018. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v40i1.34950>.
- AKBARPOUR, M.; KHAJEH-HOSSEINI, M.; SEIFI, A. Potential of a single radicle emergence count in predicting field emergence of Desi chickpea seed lots as an alternative vigour test. **Seed Science and Technology**, v.47, n.3, p.319-324, 2019. <https://doi.org/10.15258/sst.2019.47.3.07>.
- AMARO, H.T.R.; ASSIS, M.O.; DAVID, A.M.S.S.; SILVEIRA, J.R.; SILVA NETA, I.C.; MOTA, W.F. Superação de dormência em sementes de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.14, p.218-223, 2012. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722012000500016>.
- ANDRADE, R.N.B.; SANTOS, D.S.B.; SANTOS FILHO, B.G.; MELLO, V.D.C. Correlação entre testes de vigor em sementes de cenoura armazenadas por diferentes períodos. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v.1, n.2, p.153-162, 1995. <http://revistapag.agricultura.rs.gov.br/ojs/index.php/revistapag/article/view/554>.
- ARRUDA, N.; CICERO, S.M.; GOMES-JUNIOR, F.G. Radiographic analysis to assess the seed structure of *Crotalaria juncea* L. **Journal of Seed Science**, v.38, n.2, p.161-168, 2016. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v38n2155116>.
- BIANCHINI, V.J.M.; MASCARIN, G.M.; SILVA, L.C.A.S.; ARTHUR, V.; CARSTENSEN, J.M.; BOELT, B.; SILVA, C.B. Multispectral and X-ray images for characterization of *Jatropha curcas* L. seed quality. **Plant Methods**, v.17, 9, 2021. <https://doi.org/10.1186/s13007-021-00709-6>.

- BISACCHI, M.; MARQUES, I.B.; PEDROZO, B.; BONFIM, F.P.G. Potencial econômico das plantas medicinais, aromáticas e condimentares na CEAGESP de São Paulo/SP. *In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA*, 55. 2018. **Anais...** Bonito: ABH, 2018. p.553.
- BLANK, A.F.; ARRIGONI-BLANK, M.F.; CARVALHO FILHO, J.L.S.; SANTOS NETO, A.L.; AMANCIO-LIMA, V.F. Produção de mudas de manjerição com diferentes tipos de substratos e recipientes. **Bioscience Journal**, v.30, p. 39-44, 2014. <https://seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/14127>.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 42, de 17 de setembro de 2019**. Estabelece as normas para a produção e a comercialização de sementes e mudas de espécies olerícolas, condimentares, medicinais e aromáticas e os seus padrões de sementes. Diário Oficial da União, n.182, seção 1, p.4-9, 2019.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009. 190p.
- BRITO, A.C.; SOUZA, J.D.; REBOUÇAS, T.N.H.; AMARAL, C.L.F. Propriedade do pólen e do estigma de *Ocimum basilicum* L. (cultivar Maria Bonita) para aumentar a eficiência de cruzamentos em programas de melhoramento. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.12, n.2, p.208-214, 2010. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722010000200013>.
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5ed. Jaboticabal: Funep, 2012. 399p.
- CASTAN, D.O.C.; GOMES-JUNIOR, F.G.; MARCOS-FILHO, J. Vigor-S, a new system for evaluating the physiological potential of maize seeds. **Scientia Agricola**, v.75, n.2, p.167-172, 2018. <https://doi.org/10.1590/1678-992X-2016-0401>.
- CATI. Coordenadoria de Assistência Técnica Integral. **Casa da agricultura: plantas medicinais e aromáticas**. Campinas: CECOR/CATI, n.3, 2013. 50p.
- CHIQUITO, A.A.; GOMES-JUNIOR, F.G.; MARCOS-FILHO, J. Assessment of physiological potential of cucumber seeds using the software Seed Vigor Imaging System® (SVIS®). **Revista Brasileira de Sementes**, v.34, n.2, p.255-263, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222012000200010>.
- COPELAND, L.O. How seed damage affects germination. **Crops & Soil Magazine**, v.24, n.9, p.9-22, 1972.
- COPELAND, L.O.; McDONALD, M.B. **Principles of seed science and technology**. 4ed. New York: Springer, 2001. 467p. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1619-4>.

- CORRÊA JÚNIOR, C.; SCHEFFER, M.C. As plantas medicinais, aromáticas e condimentares e a agricultura familiar. **Horticultura Brasileira**, v.32, n.3, p.376, 2014. <https://doi.org/10.1590/S0102-05362014000300023>.
- DEMIR, I.; KENANOGLU, B.B.; ÖZDEN, E. Seed vigour tests to estimate seedling emergence in cress (*Lepidium sativum* L.) seed lots. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v.47, n.3, p.881-886, 2019. <https://doi.org/10.15835/nbha47311453>.
- DEMIR, I.; KUZUCU, C.O.; ERMIS, S.; ÖKTEM, G. Radicle emergence as seed vigour test estimates seedling quality of hybrid cucumber (*Cucumis sativus* L.) cultivars in low temperature and salt stress conditions. **Horticulturae**, v.9, n.1, 3, 2023. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9010003>.
- DIAS, M.A.N.; MONDO, V.H.V.; CICERO, S.M. Recent approaches for bell pepper seed vigor testing. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.36, n.4, p.483-487, 2014. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v36i4.18348>.
- DODE, J.; ALMEIDA, A.S.; DEUNER, C.; BORGES, C.T.; MENEGHELLO, G.E.; VILLELA, F.A.; MORAES, D.M. Respiratory activity in wheat seeds as related to physiological quality. **Bioscience Journal**, v.32, n.5, p.1246-1253, 2016. <https://doi.org/10.14393/BJ-v32n5a2016-33001>.
- ELLIS, R.H. Temporal patterns of seed quality development, decline, and timing of maximum quality during seed development and maturation. **Seed Science Research**, v.29, n.2, p.135-142, 2019. <https://doi.org/10.1017/S0960258519000102>.
- FALLAHI, H.R.; MOHAMMADI, M.; AGHHAVANI-SHAJARI, M.; RANJBAR, F. Determination of germination cardinal temperatures in two basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars using non-linear regression models. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v.2, n.4, p.140-145, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2015.09.004>.
- FAVORITO, P.A.; ECHER, M.M.; OFFEMANN, L.C.; SCHLINDWEIN, M.D.; COLOMBARE, L.F.; SCHINEIDER, R.P.; HACHMANN, T.L. Características produtivas do manjericão (*Ocimum basilicum* L.) em função do espaçamento entre plantas e entre linhas. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.13, p.582-586, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722011000500013>.
- FINCH-SAVAGE, W.E.; BASSEL, G.W. Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. **Journal of Experimental Botany**, v.67, n.3, p.567-591, 2016. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv490>.

- GALANAKIS, C.M. (Ed.). **Aromatic Herbs in Food: Bioactive Compounds, Processing and Applications**. Cambridge: Academic Press, 2021. 447p. <https://doi.org/10.1016/C2019-0-04598-0>.
- GOMES-JUNIOR, F.G. Análise computadorizada de imagens de plântulas. *In*: KRZYŻANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B.; MARCOS-FILHO, J. (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. 2ed. Londrina: ABRATES, 2020. cap.3, p.141-183.
- GOMES-JUNIOR, F.G.; CHAMMA, H.M.C.P.; CICERO, S.M. Automated image analysis of seedlings for vigor evaluation of common bean seeds. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.36, n.2, p.195-200, 2014. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v36i2.21957>.
- GOMES-JUNIOR, F.G.; CICERO, S.M. X-ray analysis to assess mechanical damage in sweet corn seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, v.34, n.1, p.78-85, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222012000100010>.
- 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**, v.31, n.1, p.95-100, 2009. <https://www.jstor.org/stable/23433510>.
- GONÇALVES, N.R.; CICERO, S.M.; ABUD, H.F. Seedling image analysis and traditional tests to evaluate onion seed vigor. **Journal of Seed Science**, v.39, n.3, p.216-223, 2017. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v39n3160444>.
- HASENCLEVER, L.; PARANHOS, J.; COSTA, C.R.; CUNHA, G.; VIEIRA, D. A indústria de fitoterápicos brasileira: desafios e oportunidades. **Ciência & Saúde Coletiva**, v.22, n.8, p.2559-2569, 2017. <https://doi.org/10.1590/1413-81232017228.29422016>.
- HOFFMAN, J.M.; LAFEUILLE, J.L.; RAGUPATHY, S.; NEWMASER, S. Spice and herb fraud. *In*: HELLBERG, R.S.; EVERSTINE, K.; SKLARE, S.A. (Eds.). **Food Fraud: A Global Threat With Public Health and Economic**. Cambridge: Academic Press, 2021. cap.10, p.177-218. <https://doi.org/10.1016/C2018-0-00952-4>.
- 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**, v.31, n.3, p.701-713, 2003. <https://doi.org/10.15258/sst.2003.31.3.19>.
- ILBI, H.; POWELL, A.A.; ALAN, O. Single radicle emergence count for predicting vigour of margold (*Tagetes* spp.) seed lots. **Seed Science and Technology**, v.48, n.3, p.381-389, 2020. <https://doi.org/10.15258/sst.2020.48.3.06>.
- ISTA. International Seed Testing Association. **International rules for seed testing**. Zurich: ISTA, 2004. 174p.

- ISTA. International Seed Testing Association. **Rules for seed testing**. Zurich: ISTA, 1996. 323p.
- JIANHUA, Z.; McDONALD, M.B. The saturated salt accelerated aging test for small-seeded crops. **Seed Science and Technology**, v.25, n.1, p.123-131, 1997.
- KIKUTI, A.L.P.; MARCOS-FILHO, J. Análise de imagens de plântulas e testes tradicionais para avaliação do vigor de sementes de quiabo. **Journal of Seed Science**, v.35, n.4, p.443-448, 2013. <https://doi.org/10.1590/S2317-15372013000400005>.
- KIKUTI, A.L.P.; MARCOS-FILHO, J. Testes de vigor em sementes de alface. **Horticultura Brasileira**, v.30, n.1, p.44-50, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0102-05362012000100008>.
- KRZYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA-NETO, J.; GOMES-JUNIOR, F.G.; NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados em desempenho de plântulas. *In*: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B.; MARCOS-FILHO, J. (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. 2ed. Londrina: ABRATES, 2020. cap.2, p.79-140.
- KUMAR, B. Prediction of germination potential in seeds of indian basil (*Ocimum basilicum* L.). **Journal of Crop Improvement**, v.26, n.4, p.532-539, 2012. <https://doi.org/10.1080/15427528.2012.659418>.
- LEITE, M.S.; TORRES, S.B.; GOMES-JUNIOR, F.G.; REGO, C.H.Q.; PAIVA, E.P.; LEITE, T.S. Viability of seedling image analysis (Vigor-S) to determine the physiological potential of melon seeds. **Journal of Seed Science**, v.42, e202042043, 2020. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v42n2p159>.
- LIMA, C.B.; ATHANÁZIO, J.C.; BELLETTINI, N.M.T. Germinação e vigor de sementes de alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum* L.) submetidas ao envelhecimento acelerado. **Semina: Ciências Agrárias**, v.27, n.2, p.159-169, 2006. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2006v27n2p159>.
- MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.1, p.176-177, 1962. <https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>.
- MARCHI, J.L.; CICERO, S.M. Use of the software Seed Vigor Imaging System (SVIS[®]) for assessing vigor of carrot seeds. **Scientia Agricola**, v.74, n.6, p.469-473, 2017. <https://doi.org/10.1590/1678-992X-2016-0220>.
- MARCOS-FILHO, J. Testes de vigor: importância e utilização. *In*: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B.; MARCOS-FILHO, J. (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. 2ed. Londrina: ABRATES, 2020a. cap.1, p.17-77.

- MARCOS-FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. *In*: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B.; MARCOS-FILHO, J. (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. 2ed. Londrina: ABRATES, 2020b. cap.4, p.185-246.
- MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2ed. Londrina: ABRATES, 2015a. 660p.
- MARCOS-FILHO, J. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. **Scientia Agricola**, v.72, n.4, p.363-374, 2015b. <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0007>.
- 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**, v.34, n.2, p.485-497, 2006. <https://doi.org/10.15258/sst.2006.34.2.23>.
- MARCOS-FILHO, J.; KIKUTI, A.L.P. Vigor de sementes de rabanete e desempenho de plantas em campo. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.3, p.44-51, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222006000300007>.
- 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**, v.31, n.1, p.102-112, 2009. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222009000100012>.
- MARIN, M.; LAVERACK, G.; POWELL, A.A.; MATTHEWS, S. Potential of the electrical conductivity of seed soak water and early counts of radicle emergence to assess seed quality in some native species. **Seed Science and Technology**, v.46, n.1, p.71-86, 2018. <https://doi.org/10.15258/sst.2018.46.1.07>.
- MARTINS, C.C.; CASTRO, M.M.; SENEME, A.M.; NAKAGAWA, J. Metodologia para a avaliação do vigor de sementes de tomate. **Horticultura Brasileira**, v.24, n.3, p.301-304, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0102-05362006000300006>.
- MARTINS, J.R.; ALVARENGA, A.A.; CASTRO, E.M.; BATISTA, L.A.; SILVA, A.P.O. Influência da luz, temperatura e ácido giberélico na germinação de sementes de *Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae) e avaliação da qualidade fisiológica pelo teste de raios-X. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.10, n.2, p.44-49, 2008.
- MATTHEWS, S.; KHAJEH-HOSSEINI, M. Length of the lag period of germination and metabolic repair explain vigour differences in seed lots of maize (*Zea mays*). **Seed Science and Technology**, v.35, n.1, p.200-212, 2007. <https://doi.org/10.15258/sst.2007.35.1.18>.

- MEDEIROS, A.D.; MARTINS, M.S.; SILVA, L.J.; PEREIRA, M.D.; LEÓN, M.J.Z.; DIAS, D.C.F.S. X-ray imaging and digital processing application in non-destructive assessing of melon seed quality. **Journal of Seed Science**, v.42, e202042005, 2020. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v42229761>.
- MENDES, A.K.V.; CARVALHO, J.S.B. Germinação de sementes de manjeriço em diferentes condições ambientais. **Ciência, Tecnologia & Ambiente**, v.1, n.1, p.21-27, 2015. <https://www.revistacta.ufscar.br/index.php/revistacta/article/view/7>.
- MIJANI, S.; ESKANDARI NASRABADI, S.; ZARGHANI, H.; GHAS ABADI, M. Seed germination and early growth responses of hyssop, sweet basil and oregano to temperature levels. **Notulae Scientia Biologicae**, v.5, n.4, p.462-467, 2013. <https://dx.doi.org/10.15835/nsb.5.4.9164>.
- NAZIR, S.; WANI, I.A. Functional characterization of basil (*Ocimum basilicum* L.) seed mucilage. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v.25, n.3, 100261, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2021.100261>.
- NONOGAKI, H.; BASSEL, G.W.; BEWLEY, J.D. Germination – still a mystery. **Plant Science**, v.179, n.6, p.574-581, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.02.010>.
- NORMAN, J. **Ervas e especiarias: origem, sabores e receitas**. 2ed. São Paulo: Publifolha, 2015. 336p.
- NORONHA, B.G.; MEDEIROS, A.D.; PEREIRA, M.D. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Moringa oleifera* Lam. **Ciência Florestal**, v.28, n.1, p.393-402, 2018. <https://doi.org/10.5902/1980509831615>.
- OEC. Observatory of Economic Complexity. **Spices (HS: 0910): product trade, exporters and importers**. 2020. Disponível em: <<https://oec.world/en/profile/hs92/spices?redirect=true>>. Acesso em: 17 fev. 2023.
- PANOBIANCO, M.; MARCOS-FILHO, J. Envelhecimento acelerado e deterioração controlada em sementes de tomate. **Scientia Agricola**, v.58, n.3, p.525-531, 2001. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162001000300014>.
- PATEL, R.P.; SINGH, R.; SAIKIA, S.K.; RAJESWARA RAO, B.R.; SASTRY, K.P.; ZAIM, M.; LAL, R.K. Phenotypic characterization and stability analysis for biomass and essential oil yield of fifteen genotypes of five *Ocimum* species. **Industrial Crops and Products**, v.77, p.21-29, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.08.043>.
- PINTO, T.L.F.; MONDO, V.H.V.; GOMES-JUNIOR, F.G.; CICERO, S.M. Análise de imagens na avaliação de danos mecânicos em sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.42, n.3, p.310-316, 2012. <https://revistas.ufg.br/pat/article/view/18847>.

- POWELL, A.A. Seed vigour in the 21st century. **Seed Science and Technology**, v.50, n.1, p.45-73, 2022. <https://doi.org/10.15258/sst.2022.50.1.s.04>.
- PRAVUSCHI, P.R.; MARQUES, P.A.A.; RIGOLIN, B.H.M.; SANTOS, A.C.P. Efeitos de diferentes lâminas de irrigação na produção de óleo essencial do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.). **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.32, n.4, p.687-693, 2010. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v32i4.3160>.
- PUTIEVSKY, E. Seed quality and quantity in sweet basil as affected by position and maturity. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants**, v.2, n.1, p.15-20, 1993. https://doi.org/10.1300/J044v02n01_03.
- R CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2022. Disponível em: <<https://www.r-project.org/>>.
- REED, R.C.; BRADFORD, K.J.; KHANDAY, I. Seed germination and vigor: ensuring crop sustainability in a changing climate. **Heredity**, v.128, n.6, p.450-459, 2022. <https://doi.org/10.1038/s41437-022-00497-2>.
- REGO, C.H.Q.; CICERO, S.M.; FRANÇA-SILVA, F.; GOMES-JUNIOR, F.G. Assessing the vigor of cowpea seeds using the Vigor-S software. **Journal of Seed Science**, v.43, e202143018, 2021. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v43244858>.
- RODO, A.B.; MARCOS-FILHO, J. Accelerated aging and controlled deterioration for the determination of the physiological potential of onion seeds. **Scientia Agricola**, v.60, n.3, p.465-469, 2003. <https://doi.org/10.1590/S0103-901620030003000008>.
- RODRIGUES, M.; GOMES-JUNIOR, F.G.; MARCOS-FILHO, J. Vigor-S: System for automated analysis of soybean seed vigor. **Journal of Seed Science**, v.42, e202042039, 2020. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v42237490>.
- SAKO, Y.; McDONALD, M.B.; FUJIMURA, K.; EVANS, A.F.; BENNETT, M.A. A system for automated vigour assessment. **Seed Science and Technology**, v.29, n.3, p.625-636, 2001.
- SHINOHARA, T.; DUCOURNAU, S.; MATTHEWS, S.; WAGNER, M.H.; POWELL, A.A. Early counts of radicle emergence, counted manually and by image analysis, can reveal differences in the production of normal seedlings and the vigour of seed lots of cauliflower. **Seed Science and Technology**, v.49, n.3, p.219-235, 2021. <https://doi.org/10.15258/sst.2021.49.3.04>.

- SILVA, P.P.; BARROS, A.C.S.A.; MARCOS-FILHO, J.; GOMES-JUNIOR, F.G.; NASCIMENTO, W.M. Assessment of squash seed vigor using computerized image analysis. **Journal of Seed Science**, v.39, n.2, p.159-165, 2017. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v39n2171177>.
- SILVA, P.P.; FREITAS, R.A.; CICERO, S.M.; MARCOS-FILHO, J.; NASCIMENTO, W.M. Análise de imagens no estudo morfológico e fisiológico de sementes de abóbora. **Horticultura Brasileira**, v.32, n.2, p.210-214, 2014. <https://doi.org/10.1590/S0102-05362014000200016>.
- SILVA, V.N.; CICERO, S.M. Análise de imagens de plântulas para avaliação do potencial fisiológico de sementes de berinjela. **Horticultura Brasileira**, v.32, n.2, p.145-151, 2014a. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-05362014000200004>.
- SILVA, V.N.; CICERO, S.M. Image seedling analysis to evaluate tomato seed physiological potential. **Revista Ciência Agronômica**, v.45, n.2, p.327-334, 2014b. <https://doi.org/10.1590/S1806-66902014000200014>.
- SIMAK, M. X-radiography in research and testing of forest tree seeds. **Report SUAS - Department of Silviculture**, n.3, p.1-34, 1980.
- SIMAK, M.; GUSTAFSSON, Å. X-ray photography and sensitivity in forest tree species. **Hereditas**, v.39, n.2, p.458-468, 1953. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1953.tb03430.x>.
- SIMAK, M.; SAHLÉN, K. Comparison between the X-radiography and cutting tests used in seed quality analysis. **Seed Science and Technology**, v.9, n.1, p.205-227, 1981.
- SINGH, P.A.; BAJWA, N.; CHINNAM, S.; CHANDAN, A.; BALDI, A. An overview of some important deliberations to promote medicinal plants cultivation. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v.31, 100400, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2022.100400>.
- STREMEL, E.P.; GRANDI, A.M.; STREMEL, D.P. Cultivo de plantas medicinais na agricultura familiar: um estudo de caso. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v.9, n.1, p.9-24, 2016. <https://doi.org/10.17765/2176-9168.2016v9n1p9-24>.
- TRUJILLO, H.A.; GOMES-JUNIOR, F.G.; CICERO, S.M. Digital images of seedling for evaluating seed vigor. **Journal of Seed Science**, v.41, n.1, p.60-68, 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v41n1204651>.
- VAN der BURG, W.J.; AARTSE, J.W.; VAN ZWOL, R.A.; JALINK, H.; BINO, R.J. Predicting tomato seedling morphology by X-ray analysis of seeds. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.119, n.2, p.258-263, 1994. <https://doi.org/10.21273/JASHS.119.2.258>.

- WENDT, L.; MALAVASI, M.M.; DRANSKI, J.A.L.; MALAVASI, U.C.; GOMES-JUNIOR, F.G. Relação entre testes de vigor com a emergência a campo em sementes de soja. **Agrária - Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.12, n.2, p.166-171, 2017. <https://doi.org/10.5039/agraria.v12i2a5435>.
- ZHOU, D.; BARNEY, J.; PONDER, M.A.; WELBAUM, G.E. Germination response of six sweet basil (*Ocimum basilicum*) cultivars to temperature. **Seed Technology**, v.37, n.1, p.43-51, 2016. <https://www.jstor.org/stable/26625371>.
- ZHOU, D.; BARNEY, J.N.; WELBAUM, G.E. Production, composition, and ecological function of sweet-basil-seed mucilage during hydration. **Horticulturae**, v.8, n.4, 327, 2022. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8040327>.