



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS, BIOQUÍMICAS E MORFOLÓGICAS
DURANTE A MATURAÇÃO DE SEMENTES HÍBRIDAS DE TOMATE**

SHARA REGINA DOS SANTOS BORGES

TESE DE DOUTORADO EM AGRONOMIA

BRASÍLIA/DF
MARÇO/2018



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS, BIOQUÍMICAS E MORFOLÓGICAS
DURANTE A MATURAÇÃO DE SEMENTES HÍBRIDAS DE TOMATE**

SHARA REGINA DOS SANTOS BORGES

ORIENTADOR: DR. WARLEY MARCOS NASCIMENTO

TESE DE DOUTORADO EM AGRONOMIA

BRASÍLIA/DF
MARÇO/2018



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS, BIOQUÍMICAS E MORFOLÓGICAS
DURANTE A MATURAÇÃO DE SEMENTES HÍBRIDAS DE TOMATE**

SHARA REGINA DOS SANTOS BORGES

**TESE DE DOUTORADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM AGRONOMIA, COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À
OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM AGRONOMIA.**

APROVADO POR:

**WARLEY MARCOS NASCIMENTO, PhD (Orientador) / Embrapa Hortaliças / CPF:
329.264.056-34 / E-mail: warley.nascimento@embrapa.br**

**PATRÍCIA PEREIRA DA SILVA, Dra. (Examinador Externo) / PNPD Embrapa
Hortaliças / CPF: 828.966.901-15 / E-mail: patricia.pereira@colaborador.embrapa.br**

**NARA OLIVEIRA SILVA SOUZA, Dra. (Examinador Interno) / Universidade de
Brasília / CPF: 033.300.726-36 / E-mail: narasouza@unb.br**

**LEONARDO SILVA BOITEUX, PhD (Examinador Externo) / Embrapa Hortaliças /
CPF: 381.496.721-68 / E-mail: leonardo.boiteux@embrapa.br**

BRASÍLIA/DF, 22 de MARÇO de 2018

Ficha catalográfica elaborada automaticamente, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

B732a Borges, Shara Regina dos Santos
Alterações fisiológicas, bioquímicas e morfológicas durante a maturação de sementes híbridas de tomate / Shara Regina dos Santos Borges; orientador Warley Marcos Nascimento. -- Brasília, 2018.
143p.: il.
Tese (Doutorado em Agronomia) -- Universidade de Brasília, 2018.
1. Fisiologia. 2. Maturação. 3. híbrido. 4. Tomate. I. Nascimento, Warley Marcos, orient. II. Título.

CDU: 631/63

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

BORGES, S. R. S. Alterações fisiológicas, bioquímicas e morfológicas durante a maturação de sementes híbridas de tomate. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2018, 143 p. Tese de Doutorado.

CESSÃO DE DIREITOS

AUTOR: SHARA REGINA DOS SANTOS BORGES

TÍTULO DA TESE: ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS, BIOQUÍMICAS E MORFOLÓGICAS DURANTE A MATURAÇÃO DE SEMENTES HÍBRIDAS DE TOMATE.

GRAU: DOUTORA **ANO:** 2018

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta Tese de Doutorado para única e exclusivamente propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva para si os outros direitos autorais de publicação. Nenhuma parte desta Tese de Doutorado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

Shara Regina dos Santos Borges

CPF: 019.626.075-26. Cel.: +55 61 999743225. E-mail: shara.rsb2@gmail.com

Endereço: QN16, Conjunto 12, Lote 13, Riacho Fundo 2.

Ao meu pai Francisco Torres Borges (in memorian), que continua sendo o melhor pai do meu mundo. O seu amor incondicional e exemplo de vida, sempre me foram espelhos para saber como agir.

DEDICO

À minha querida mãe Terezinha Borges, por ser exemplo de mulher forte e guerreira, pelos valores que sempre me nortearam e pelo carinho e amor incondicional.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Para mim, escrever “agradecimentos” foi uma das partes mais complicadas para finalizar esta tese. Como expressar tamanha gratidão e dar o devido valor a todas as pessoas que contribuíram e foram tão importantes para que este trabalho chegassem ao seu formato final? Confesso que para mim é muito difícil. Claro, muitas não tiveram uma contribuição prática, porém, foram alicerces em toda a minha caminhada acadêmica.

Inicio então agradecendo ao meu orientador Dr. Warley Marcos Nascimento, por ser um grande profissional na área e que apesar da vida corrida, com muitos compromissos, sempre deu todo o suporte necessário, além de confiança e autonomia para o desenvolvimento da pesquisa e à Dra. Patrícia Pereira da Silva que foi coorientadora durante todo o desenvolvimento do trabalho. Muito, muito obrigada!

Agradeço à Embrapa Hortaliças pela oportunidade e o apoio que alguns de seus funcionários dispensaram, principalmente ao “Maninho” (*in memorian*), que me ensinou toda a parte prática para a produção de sementes híbridas. Agradeço ainda à equipe do Laboratório de Sementes, Marçal, Karlão e Jorge e aos colegas do doutorado Fabiana (Fábi) e Paulo. A vocês, minha gratidão!

Agradeço à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo auxílio financeiro durante todo o período de Doutorado (Aqui entre nós, em Brasília é tudo caro!).

Agradeço especialmente ao grande amor da minha vida, Ketnny, que foi meu apoio e suporte emocional e mais ainda, quis aprender e foi ao campo comigo desenvolver muitas atividades práticas. Obrigada baby! Sem você, eu até teria conseguido, porém, garanto que seria bem mais difícil. Ah! Não poderia deixar de agradecer e dar os devidos créditos por transformar os vídeos e imagens em gifs tão lindos do jeitinho que pedi.

Agradeço às pessoas mais importantes que alguém pode ter: meu pai, Francisco Torres, que nos deixou fisicamente, mas seu exemplo de força, coragem, perseverança e honestidade foram minha maior herança. Minha querida mãe Terezinha, que hoje demonstra ser ainda mais guerreira que antes. Aos meus sobrinhos Eduardo, Laura e Ísis, pequenos grandes amores da minha vida. E aos meus irmãos Nara e Cléber. À vocês meu amor e gratidão!

À minha eterna orientadora, mãe, amiga e conselheira, Dra. Márcia Targino, que dispensou tempo para leitura deste trabalho, dando seus “pitacos” que são sempre tão necessários para minha autoafirmação quanto profissional da área acadêmica.

Aos meus grandes amigos, Felipe Morelli (Piper), Fernando Araújo (“*Haleloo!*” Kilar) e Ewerton Torres (Zé Tatu) que sempre são apoio tanto na vida acadêmica quanto pessoal. E em nome deles quero agradecer a todos os meus amigos que são para mim uma família conquistada.

Agradeço à Universidade de Brasília por me proporcionar conhecer e conviver com poucas, porém, pessoas maravilhosas que levarei para a vida.

Agradeço a todos que de alguma maneira contribuíram não só com este trabalho, mas com tantas outras tarefas do dia-a-dia e não teria espaço para citar aqui.

E por fim quero agradecer a “Deus”, mesmo que seja de praxe ou clichê, mas se foi Ele quem me fez, devo agradecê-lo e dizer: o “senhor” foi bem criativo (leves tons de ironia, rs)!

Gratidão ao Universo!

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Matriz síntese das principais características do software para análise e processamento de imagens, ImageJ.....31

Capítulo I

Figura 1. Vista da área experimental mostrando as diferenças de desenvolvimento do parental feminino à esquerda e masculino à direita (A); pólen sendo coletado com vibrador elétrico (B); polinização da flor após emasculação (C) e; fruto desenvolvido devidamente identificado com a data da polinização (D). Brasília-DF.....45

Figura 2. Aparência externa de frutos de tomate colhidos aos 30 (A), 40 (B), 50 (C), 60 (D) e 70 (E) dias após a polinização manual para produção de sementes do híbrido BRS Nagai. Brasília-DF.50

Figura 3. Aparência externa (A) e sementes geminadas dentro do fruto (B) de tomates colhidos aos 80 dias após a polinização manual para produção de sementes do híbrido BRS Nagai. Brasília DF.50

Figura 4. Rendimento de sementes (A) e número de sementes (B) oriundas de frutos de tomate colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização para a produção de sementes do híbrido BRS Nagai. Brasília-DF.....53

Figura 5. Massa seca (A) e peso de mil sementes (B) oriundas de frutos de tomate colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização para a produção de sementes do híbrido BRS Nagai. Brasília-DF.....54

Figura 6. Teor de água das sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília-DF.....55

Figura 7. Porcentagem de germinação de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília-DF.57

Figura 8. Primeira contagem de germinação (A) e índice de velocidade de germinação (B) de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília-DF.....58

Figura 9. Emergência de plântulas (A) e envelhecimento acelerado (B) de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília-DF.....59

Capítulo II

Figura 1. Massa seca de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF.....73

Figura 2. Porcentagem de germinação de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF.....74

Figura 3. Primeira contagem de germinação (A) e índice de velocidade de germinação (B) de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF.....75

Figura 4. Condutividade elétrica em sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF.....76

Figura 5. Atividade respiratória (CO_2) de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF.....77

Figura 6. Concentração de proteínas totais (PT) em sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF.....78

Figura 7. Atividade das enzimas superóxido dismutase - SOD (A) e catalase - CAT (B) em sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF.....79

Figura 8. Atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX) em sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF.....80

Figura 9. Atividade da enzima peroxidase (POX) em sementes híbridas de tomate, BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF 81

Capítulo III

Figura 1. Exemplo de análise de imagens de sementes de tomate no programa ImageJ, mostrando as etapas de: abertura da imagem (A); conversão da imagem (B); escolha da área de interesse (C e D); escolha da escala de medição (E e F), e escolha dos parâmetros para mensuração (G e H). Brasília-DF 95

Figura 2. Exemplo de análise de imagens de sementes de tomate no programa ImageJ, mostrando as etapas de: ajuste da escala de cor (I, J e L); mensuração dos parâmetros escolhidos (M) e a obtenção dos resultados (N e O). Brasília-DF 96

Figura 3. Imagens de raios-X de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, mostrando embrião anormal (A, B e C), normal em óculos (D e E) e normal enrolado (F). Brasília-DF. 97

Figura 4. Imagens radiográficas de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, colhidas aos 50 (A), 60 (B) e 70 (C) dias após a polinização, com embrião morfologicamente normal e suas respectivas plântulas normais, Brasília-DF. 99

Figura 5. Imagens radiográficas de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, colhidas aos 30 (A) e 40 (B) DAP com extensa área livre e embrião anormal e suas respectivas sementes mortas. Brasília-DF. 100

Figura 6. Imagens radiográficas de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, colhidas aos 50, 60 e 50 DAP, com embrião morfologicamente normal e suas respectivas plântulas anormais, Brasília-DF. 101

Figura 7. Distribuição de área livre no interior de cada semente de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30 (A), 40 (B), 50 (C), 60 (D) e 70 (E) dias após a polinização, numa amostra de 100 sementes, Brasília-DF. 104

Capítulo IV

Figura 1. Porcentagem de germinação de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília-DF	118
Figura 2. Primeira contagem de germinação (A), índice de velocidade de germinação (B), envelhecimento acelerado com solução saturada (C) e porcentagem de emergência de plântulas (D) de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília-DF.....	120
Figura 3. Índice de vigor (A) e de uniformidade no crescimento (B) de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília-DF.....	121
Figura 4. Comprimento de plântulas obtidas pelo SVIS de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília-DF.	123

Capítulo V

Figura 1. Porcentagem de germinação (A) e primeira contagem de germinação - PC (B) de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização, submetidas ou não, ao condicionamento osmótico com KNO_3 (nitrato de potássio). Brasília-DF.....	136
Figura 2. Índice de velocidade de germinação - IVG (A) e tempo médio de germinação - TMG (B) de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização, submetidas ou não, ao condicionamento osmótico com KNO_3 (nitrato de potássio). Brasília-DF.....	137
Figura 3. Massa seca de plântulas (MSP) de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização, submetidas ou não, ao condicionamento osmótico com KNO_3 (nitrato de potássio). Brasília-DF.....	139

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Tabela 1. Resumo da análise de variância da produção e qualidade fisiológica de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, colhidas aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília-DF 52

Tabela 2. Resumo da análise de regressão das variáveis relativas à produção e à qualidade fisiológica de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF 52

Capítulo II

Tabela 1. Resumo da análise de variância das variáveis fisiológica e bioquímicas de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF 72

Tabela 2. Resumo da análise de regressão das variáveis fisiológicas e bioquímicas de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF 73

Capítulo III

Tabela 1. Valores médios de plântulas normais (%), sementes mortas (%), primeira contagem de germinação (%), velocidade de germinação (índice) e massa seca (mg semente⁻¹) de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF 98

Tabela 2. Valores médios de embriões normais (%), embriões anormais (%) e área livre total (%) de semente de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF 100

Tabela 3. Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre variáveis avaliadas em sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF 102

Capítulo IV

Tabela 1. Resumo da ANOVA da qualidade fisiológica de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização, através da análise computadorizada de imagens de plântulas pelo SVIS®. Brasília, DF.....117

Tabela 2. Resumo da análise de regressão do potencial fisiológico e análise de imagens de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF.....118

Capítulo V

Tabela 1. Resumo da análise de variância da resposta fisiológica de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização e submetidas ou não, ao condicionamento osmótico com KNO_3 (nitrato de potássio). Brasília, DF.....134

Tabela 2. Resumo da análise de regressão da germinação (G), primeira de germinação (PC), índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação (TMG) e massa seca de plântulas (MSP) de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização e submetidas ou não, ao condicionamento osmótico com KNO_3 (nitrato de potássio). Brasília, DF.....135

Tabela 3. Valores médios de Germinação (G), primeira contagem de germinação (PC), índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação (TMG) e massa seca de plântulas (MSP) de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos ao 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização (DAP) e submetidas ou não ao condicionamento osmótico com KNO_3 (nitrato de potássio). Brasília, DF.....140

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	18
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1. IMPORTÂNCIA DA CULTURA DO TOMATE	21
2.2. DESCRIÇÃO DA CULTIVAR BRS NAGAI.....	22
2.3. PRODUÇÃO DE SEMENTES HÍBRIDAS	22
2.4. MATURAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DAS SEMENTES.....	23
2.5. ESTUDOS BIOQUÍMICOS DURANTE O DESENVOLVIMENTO	25
2.6. MÉTODOS ALTERNATIVOS PARA AVALIAÇÃO DO VIGOR	28
2.6.1. Análise de raios-X	29
2.6.2. Análise de imagens com o <i>Software ImageJ</i>	30
2.6.3. <i>Seed Vigor Imaging System (SVIS®)</i>	31
2.7. CONDICIONAMENTO OSMÓTICO E QUALIDADE DAS SEMENTES	32
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
CAPÍTULO I. RENDIMENTO E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES HÍBRIDAS DE TOMATE EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO	41
1.1. INTRODUÇÃO	44
1.2. MATERIAL E MÉTODOS	45
1.2.1. Produção das sementes	45
1.2.2. Determinação do rendimento.....	46
1.2.3. Qualidade fisiológica das sementes.....	47
1.2.4. Procedimento estatístico	48
1.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
1.4. CONCLUSÕES.....	60
1.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
CAPÍTULO II. ATIVIDADE RESPIRATÓRIA E ENZIMÁTICA DE SEMENTES HÍBRIDAS DE TOMATE EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO	64

2.1.	INTRODUÇÃO	67
2.2.	MATERIAL E MÉTODOS	68
2.2.1.	Grau de umidade.....	68
2.2.2.	Testes de germinação.....	68
2.2.3.	Primeira contagem de germinação:..	69
2.2.4.	Índice de velocidade de germinação (IVG).....	69
2.2.5.	Condutividade elétrica	69
2.2.6.	Atividade respiratória	69
2.2.7.	Avaliação das atividades enzimáticas.....	70
2.2.8.	Procedimento estatístico	72
2.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	72
2.4.	CONCLUSÕES.....	82
2.5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83

CAPÍTULO III. ANÁLISE DE IMAGENS NA AVALIAÇÃO DO VIGOR DE SEMENTES DE TOMATE DURANTE O DESENVOLVIMENTO E MATURAÇÃO 88

3.1.	INTRODUÇÃO	91
3.2.	MATERIAL E MÉTODOS	92
3.2.1	. Obtenção das imagens radiográficas	92
3.2.2	. Teste de germinação	93
3.2.3	. Análise da cavidade interna da semente	93
3.2.4	. Procedimento estatístico	96
3.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	97
3.4.	CONCLUSÕES.....	105
3.5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	106

CAPÍTULO IV. AVALIAÇÃO DO VIGOR DE SEMENTES DE TOMATE EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO POR MEIO DA ANÁLISE COMPUTADORIZADA DE PLÂNTULA 110

4.1.	INTRODUÇÃO	113
------	------------------	-----

4.2.	MATERIAL E MÉTODOS	114
4.2.1.	Produção das sementes	114
4.2.2.	Análises fisiológicas	115
4.2.3.	Análise computadorizada	116
4.2.4.	Procedimento experimental	116
4.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	116
4.4.	CONCLUSÕES.....	124
4.5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	125
CAPÍTULO V. RESPOSTA FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE TOMATE EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO SUBMETIDAS AO CONDICIONAMENTO OSMÓTICO.....		128
5.1.	INTRODUÇÃO	131
5.2.	MATERIAL E MÉTODOS	132
5.2.1.	Germinação.....	132
5.2.2.	Primeira contagem (PC)	133
5.2.3.	Índice de velocidade de germinação (IVG).....	133
5.2.4.	Tempo médio de germinação (TMG).....	133
5.2.5.	Massa seca de plântulas (MS)	133
5.2.6.	Procedimento estatístico	133
5.3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	134
5.4.	CONCLUSÕES.....	140
5.5.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	140
5.6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	144

RESUMO GERAL

O BRS Nagai, lançado em 2012, é um híbrido de tomateiro multi-resistente com frutos alongados do tipo saladete desenvolvido pela Embrapa Hortaliças em parceria com a iniciativa privada. Na cadeia produtiva do tomate a semente possui uma elevada importância, correspondendo a até 8% do custo total de produção. No caso de sementes híbridas, cujo processo de polinização é manual, os custos tornam-se ainda mais elevados. Por isso, um dos principais desafios deste setor é a produção de sementes com máxima qualidade. Portanto, conhecer o estádio de desenvolvimento do fruto para realizar a colheita visa contribuir com o aumento da produtividade e qualidade das sementes. Partindo-se disto, o objetivo deste trabalho consistiu em acompanhar as mudanças ocorridas durante o desenvolvimento e determinar o rendimento e as alterações fisiológicas, bioquímicas e morfológicas das sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, em frutos colhidos em diferentes estádios de maturação. Essa informação vai permitir determinar o momento mais adequado de realização da colheita para obtenção de sementes com máxima qualidade. As sementes híbridas foram produzidas em telado na Embrapa Hortaliças. Flores do parental feminino foram emasculadas antes da antese, sendo imediatamente polinizadas. Aos 30, 40, 50, 60, 70 e 80 dias após a polinização (DAP), foram feitas colheitas de frutos, tendo suas sementes extraídas e posteriormente armazenadas, seguindo procedimentos já estabelecidos para o tomate. Sementes úmidas foram avaliadas quanto o teor de água e conteúdo de matéria seca. As sementes secas foram avaliadas quanto ao rendimento e as alterações fisiológicas por meios de testes fisiológicos corriqueiros; avaliadas quanto às alterações da atividade respiratória e das enzimas antioxidativas; estudo da morfologia interna por meio de Raios-X; análise de imagens de plântulas com uso do “seed vigor imaging system” SVIS® e; finalmente, sementes nos diferentes estádios de maturação foram armazenadas e posteriormente submetidas ao condicionamento osmótico. Sementes de frutos colhidos aos 80 DAP foram descartadas, pois, apresentavam viviparidade. O maior percentual de germinação ocorreu três dias após, praticamente coincidindo, com o máximo conteúdo de matéria seca. Os resultados mostraram que sementes imaturas (30 e 40 DAP) têm menor rendimento. Sementes colhidas aos 30 DAP não toleram a secagem, e, portanto, não possuem capacidade de germinação. A germinação inicia-se com as sementes colhidas aos 40 DAP, porém, com valores muito baixos. As sementes colhidas nos três últimos estádios (50, 60 e 70 DAP) apresentaram percentuais de germinação acima de 80%. No entanto, testes revelaram que sementes colhidas aos 50 DAP, têm menor vigor, comparado às sementes colhidas aos 60 e 70 DAP. A atividade respiratória e enzimática, o teste de raios-X e a análise do vigor de plântulas pelo SVIS® revelaram que as sementes imaturas, em contraste com as sementes maduras, apresentam metabolismo sem sincronia, possuem maior área livre bem como baixos índices de vigor e uniformidade. Os resultados foram concordantes com os de qualidade fisiológica, indicando que sementes colhidas aos 50 DAP têm vigor reduzido e estão em processo de deterioração mais avançado. Quando as sementes foram submetidas ao condicionamento osmótico, verificou-se que aquelas colhidas aos 50 DAP apresentaram um incremento considerável na qualidade, aumentando o percentual e a velocidade de geminação. Em resumo, as sementes do híbrido BRS Nagai apresentam máxima qualidade quando são oriundas de frutos que apresentam pericarpo completamente vermelho e firme, ou seja, quando colhidos entre 60 e 70 DAP.

Palavras-chave: BRS Nagai, maturidade fisiológica, morfologia, produção de sementes, *Solanum lycopersicum*, SVIS.

OVERVIEW

BRS Nagai, is a multi-resistant tomato hybrid with elongated fruits of the saladette type developed by Embrapa Vegetable Crops in partnership with a private company. In the tomato production chain, the commercial seed has a high importance, corresponding to up to 8% of the total cost of production. In the case of hybrid seeds, whose pollination process is done manually, the seed costs become even higher. In this context, one of the main challenges of this sector is the production of seeds with the highest quality. Therefore, knowing the ideal stage of fruit harvesting after the pollination process would contribute to the increase of seed yield and quality. The objective of the present work was to monitor the changes that occurred during seed development and to determine the yield and the physiological, biochemical and morphological changes of BRS Nagai hybrid seeds in fruits harvested at different stages of maturation. The main goal was to identify the most appropriated time for fruit harvesting in order to obtain seeds with the highest quality. The seeds were produced under screenhouse conditions at Embrapa Vegetable Crops. Flowers of the female parent were emasculated before the anthesis, being immediately pollinated. Fruits were harvested at 30, 40, 50, 60, 70, and 80 days after pollination (DAP). Seeds were extracted and stored, following the usual procedures. Non-dry seeds were evaluated for water content and dry matter content. Dry seeds were evaluated for yield and physiological changes by means of routine physiological tests; evaluated for changes in respiratory activity and antioxidant enzymes; study of the internal morphology by means of X-ray; analysis of seedlings images using the seed vigor imaging system (SVIS®) and; finally, seeds at the different stages of maturation were stored and subsequently submitted to priming. Seeds of harvested at 80 DAP were discarded from the analyses due to the presence of viviparity. The highest percentage of germination occurred three days after, practically coinciding with the maximum dry matter content. The results showed that immature seeds (30 and 40 DAP) had lower yields and those harvested at 30 DAP did not tolerate drying and, therefore, they were unable to germinate. Germination begins with the seeds harvested at 40 DAP, but with very low values. Seeds harvested in the last three stages (50, 60, and 70 DAP) displayed germination above 80%. However, some vigor tests showed that seeds harvested at 50 DAP were less vigorous when compared to seeds harvested at 60 and 70 DAP. Respiratory and enzymatic activity, X-ray testing and seedling vigor analysis by SVIS revealed that immature seeds (in contrast with seeds of the last three maturation stages) exhibited a non-synchronized metabolism, displaying greater free areas, and low levels of vigor and uniformity. The results were in agreement with those of physiological quality, indicating that seeds harvested at 50 DAP had reduced vigor and they were in a more advanced process of deterioration, since they had not completed the maturation process. When the seeds were submitted to priming, it was verified that those harvested at 50 DAP improved the quality considerably, increasing the percentage and the germination speed. In summary, the seeds of the BRS Nagai tomato hybrid displayed the highest quality when the seeds were obtained from fruits with a fully red and firm pericarp, which corresponded to fruits harvested between 60 and 70 DAP.

Key words: BRS Nagai, physiological maturity, morphology, seed production, *Solanum lycopersicum*, SVIS.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O BRS Nagai é um híbrido de tomateiro com frutos alongados do tipo Saladete desenvolvido pela Embrapa Hortaliças em parceria com a iniciativa privada (empresa Agrocinco *Vegetable Seeds*). Este híbrido tem em seu genoma genes naturais de resistência e/ou tolerância a 40 espécies/variantes/raças de patógenos fúngicos, bacterianos e virais, bem como nematoides e pragas que atacam severamente os campos de produção de tomate e causam prejuízos econômicos de grandes proporções aos produtores rurais no Brasil (EMBRAPA, 2016).

O setor de produção de hortaliças apresenta grande destaque no agronegócio brasileiro e esse progresso pode ser atribuído aos investimentos em inovação tecnológica nos sistemas de cultivo das principais culturas, como o tomateiro. A grande mudança no novo cenário, principalmente no setor de sementes, foi a conversão do mercado de sementes de polinização aberta, de baixo valor, por cultivares híbridas comercializadas pelas empresas nacionais e multinacionais (NASCIMENTO, 2015).

Dentro da movimentação financeira da cadeia produtiva de hortaliças, o comércio de sementes e mudas de tomateiro movimenta valores em torno de 94 milhões de dólares. Esses dois segmentos chegaram a uma representatividade de 30% sobre o total movimentado no ano de 2016 (ABCSEM, 2017). No caso do tomate, a semente possui uma elevada importância na cadeia, correspondendo a até 8% do custo total de produção da cultura (CEPEA, 2013). Informações obtidas nos primeiros dias de 2018 indicam que os preços do tomate já estão 148% superiores aos de 2017 (CEPEA, 2018), demonstrando o vigor de um mercado em franco crescimento. Desta forma, existe uma intensa busca por novas tecnologias que permitam produzir uma semente com elevada qualidade fisiológica (MENDONÇA, 2006; NASCIMENTO, 2015; PINHEIRO et al., 2017).

Para o tomateiro, a maturação desuniforme dos frutos figura entre os principais problemas na fase de produção. Embora a prática da colheita parcelada seja a solução neste caso, as informações sobre quando os frutos estão aptos a serem colhidos ou quando as sementes atingem a maturidade fisiológica, são muito relevantes, principalmente no caso do híbrido BRS Nagai, que foi desenvolvido e lançado há pouco mais de cinco anos e, portanto, ainda são escassas as informações relacionadas aos aspectos da produção de sementes.

O processo de maturação é controlado geneticamente e envolve uma sequência ordenada de alterações verificadas a partir da fecundação do óvulo, até que as sementes se tornem indivíduos independentes da planta-mãe. Compreende um conjunto de eventos sucessivos de

preparação para o sucesso da futura germinação, caracterizado pela síntese e acúmulo de reservas, posteriormente mobilizadas, conduzindo a retomada do crescimento e a formação de uma plântula capaz de expressar todo o seu potencial genético (MARCOS-FILHO, 2015). Esse processo é constituído por uma série de alterações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas que ocorrem a partir da fecundação e prosseguem até o momento em que as sementes atingem a maturidade fisiológica (DELOUCHE, 1971; CARVALHO; NAKAGAWA, 2012; MARCOS FILHO, 2015).

A maturidade das sementes tem sido identificada por meio de diferentes características, como coloração do fruto (VALDES e GRAY, 1998), teor de água e acúmulo máximo de matéria seca nas sementes associando-se ao número de dias decorridos desde a antese (KWON; BRADFORD, 1987; DEMIR; ELLIS, 1992; CARVALHO; NAKAGAWA, 2012; MARCOS-FILHO, 2015). Embora estas características possam fornecer informações importantes para determinação da maturidade, essas variáveis podem sofrer modificações devido a fatores climáticos e genéticos, não se constituindo em indicativos seguros do ponto ideal de colheita (DIAS et al., 2006).

Em espécies de crescimento indeterminado, como o tomateiro, os frutos de diferentes estádios de maturação ocorrem na mesma planta, devido à contínua floração e frutificação e, portanto, há discordância quanto à fase ideal de colheita de frutos para obter sementes de máxima qualidade fisiológica (VALDÉS; GRAY, 1998).

Desde o processo de formação, passando pela colheita, transporte e beneficiamento, várias injúrias são ocasionadas à semente que podem influenciar no seu desempenho fisiológico (LIMA et al., 2013). Com o embrião, ocorrem mudanças complexas seguindo padrões específicos que variam entre as diferentes espécies (FRANQUERA, 2015; EKPONG e SUKPRAKARN, 2008) e, portanto, um melhor entendimento das alterações que ocorrem durante a maturação poderá contribuir para a obtenção de maior quantidade e qualidade de sementes, visto que, a colheita no estádio ideal, além de aumentar a produtividade, minimiza os efeitos da deterioração das mesmas, provocados pela permanência prolongada do fruto na planta, ou pela colheita precoce, que acarreta em grande proporção de sementes imaturas (VIDIGAL et al., 2009).

A produção de sementes de alta qualidade genética, fisiológica, física e sanitária ainda é um dos principais desafios para a pesquisa e para as empresas produtoras. Vários aspectos relacionados à produção de sementes das espécies oleráceas devem ser melhor investigados, dentre eles, os estudos sobre a maturação e época de colheita, buscando com isso o

aprimoramento das tecnologias para a produção de sementes híbridas (NASCIMENTO, 2015).

Deste modo, conhecer o processo de maturação e identificar a época ideal de colheita dos frutos são aspectos importantes para se obter sementes do híbrido BRS Nagai com elevado nível de desempenho. Ademais, essas informações poderão contribuir para o estabelecimento de um sistema de produção mais eficiente.

OBJETIVO GERAL

Acompanhar as mudanças ocorridas durante o desenvolvimento e determinar o rendimento e as alterações fisiológicas, bioquímicas e morfológicas das sementes de tomate oriundas de frutos colhidos em diferentes estádios de maturação, bem como identificar o momento adequado de realização da colheita visando à obtenção de sementes com máxima qualidade.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a produtividade de sementes do híbrido BRS Nagai oriundas de frutos colhidos em diferentes estádios de maturação;
- Avaliar a atividade respiratória e de enzimas antioxadativas de sementes híbridas de tomate em diferentes estádios de maturação;
- Estudar a relação entre a morfologia interna e a qualidade fisiológica das sementes híbridas de tomate por meio do teste de raios-X;
- Avaliar o vigor das sementes híbridas de tomate oriundas de frutos colhidos em diferentes estádios de maturação através da análise computadorizada de imagens de plântulas com o SVIS®;
- Avaliar as respostas fisiológicas de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, em estádios de maturação distintos e submetidas ao condicionamento osmótico.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A tecnologia de sementes tem evoluído constantemente nos últimos anos, impulsionada pelos avanços obtidos de ações de pesquisa em diferentes áreas temáticas. Apesar disso, constata-se que desde o processo de formação, passando pela colheita, transporte e beneficiamento, várias injúrias são ocasionadas à semente que podem influenciar no seu desempenho fisiológico. Contudo, para identificar quais as partes da semente são mais afetadas, novos testes e técnicas surgem constantemente, proporcionando cada vez mais, uma maior exatidão nas análises realizadas (LIMA et al., 2013).

2.1. IMPORTÂNCIA DA CULTURA DO TOMATE

No Brasil, além de estar relacionado à agricultura familiar, o tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é responsável por 21% da produção de hortaliças (CAMARGO-FILHO; CAMARGO, 2015), contribuindo com uma produção anual de mais de 3 milhões de toneladas, gerando uma parcela significativa de empregos todos os anos (MACIEL et al., 2012).

As sementes de hortaliças possuem alto valor comercial devido aos elevados investimentos realizado no processo produtivo e a família das Solanáceas destaca-se neste mercado, representada principalmente pelo tomate, uma das hortaliças mais consumidas no mundo (SILVA, 2012).

O tomate é uma hortaliça com crescente demanda mundial, se destacando pelo valor comercial e nutricional. O fruto é rico em vitaminas, minerais, e outros compostos tais como o licopeno, que funciona como um importante antioxidante no organismo, conferindo propriedades importantes no tratamento de diferentes tipos de câncer (MONTEIRO, 2008; PINHEIRO et al., 2017).

O estado Goiás é o principal polo, quando se fala de tomate para indústria, correspondendo a mais de 60% do total cultivado no Brasil. Quanto ao tomate de mesa, a produção é bem pulverizada, abrangendo diversas regiões produtoras. Entre os estados com maior área cultivada do fruto (tanto indústria quanto de mesa) estão São Paulo, Minas Gerais, Goiás e Bahia (CARVALHO et al, 2017).

2.2. DESCRIÇÃO DA CULTIVAR BRS NAGAI

A cultivar BRS Nagai é um híbrido F1 com hábito de crescimento indeterminado indicado para cultivo estaqueado. Apresenta excelente cobertura foliar o que vem a reduzir a incidência de escaldadura solar dos frutos. As plantas apresentam rápido desenvolvimento inicial, são vigorosas e a primeira floração ocorre próximo ao nível do solo, possuindo longo período de colheita e elevada produtividade. Os frutos apresentam formato de redondo a elíptico, são firmes e com coloração externa vermelha escura e brilhante (EMBRAPA, 2011).

Este híbrido pode ser cultivado em qualquer época e em todas as regiões produtoras, tanto em campo aberto quanto em condições protegidas, sendo, portanto, amplamente adaptado às condições tropicais e subtropicais. As sementes do híbrido BRS Nagai começaram a ser efetivamente comercializadas em larga escala no biênio 2013/2014. Em 2012, o híbrido alcançou uma área de adoção de 28 hectares. Em 2013, essa área expandiu-se para 54,3 hectares. E no triênio 2014/2015/2016 atingiu uma área de 345,6 hectares. Em 3,5 anos de adoção plena da tecnologia foram cultivados 428 hectares. Rende em torno de 400 caixas por 1000 plantas e o valor de venda de sementes em 2014 foi equivalente a cerca de 7% do mercado de tomate do segmento saladete no Brasil (EMBRAPA, 2016).

O uso desta semente contribui para a redução de custos em virtude de uma menor necessidade de aplicações de agrotóxicos e apresenta menor demanda por adubação nitrogenada. O híbrido BRS Nagai possui tolerância às principais espécies de *Begomovirus*, e resistência a alguns patótipos do *Tomato mosaic vírus* (ToMV). Possui ainda o gene *Sw-5*, que confere resistência a diferentes espécies do complexo *Orthotospovirus*. Também apresenta resistência aos fungos causadores da murcha-de-fusário (raças 1 e 2), murcha-de-verticílio (raça 1) e mancha foliar de *Stemphylium* (EMBRAPA, 2011).

2.3. PRODUÇÃO DE SEMENTES HÍBRIDAS

Com a enorme demanda por produtos de melhor qualidade, uma crescente utilização de novas cultivares tem sido observada, principalmente a utilização de sementes híbridas, pois, possibilita aos produtores a obtenção de plantas com um maior número de fatores de resistência bem como maiores uniformidade, produtividade e qualidade. No mercado dessas sementes, as prioridades de negócio das empresas que atuam no setor de comercialização de sementes no Brasil envolvem espécies de hortaliças que ocupam mercados já foram e/ou estão sendo convertidos para o emprego de híbridos F₁ (NASCIMENTO, 2015).

Neste contexto, conhecer o processo de formação da semente é de grande importância para o estabelecimento de sistemas eficientes de produção de sementes híbridas. Uma polinização eficiente é fundamental, pois, contribui para o aumento da quantidade e qualidade das sementes. No caso do tomateiro, um dos aspectos envolvidos na tecnologia de produção, é o processo de emasculação, que constitui a retirada dos estames de todas as flores que atuarão como parentais femininos. Devido a essa necessidade, as sementes híbridas de tomate costumam possuir preço elevado, pois, as etapas envolvidas na produção requerem um processo manual, delicado e trabalhoso, podendo representar 40% do custo total (MARCOS-FILHO, 2015).

2.4. MATURAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DAS SEMENTES

O processo de maturação tem início com a fertilização, que consiste na união do gameta masculino, liberado pelo pólen, com o gameta feminino que está localizado no óvulo. O óvulo, uma vez fecundado, se desenvolverá e originará a semente que, na maioria das espécies, está contida no interior do fruto. O processo de fertilização desencadeia uma série de transformações morfológicas e fisiológicas, principalmente aquelas envolvidas na aquisição do potencial germinativo. Os compostos formados nas folhas pela fotossíntese são transportados e encaminhados para as áreas de crescimento e armazenagem da planta, incluindo as sementes em formação, onde são metabolizados para a formação de novas células e tecidos que constituirão no futuro material de reserva (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Os estudos sobre desenvolvimento e maturação de sementes, visando estabelecer o ponto de máximo vigor e a época mais adequada à colheita, são considerados de fundamental importância no campo da tecnologia de sementes (BARBEDO et al., 1994). O desenvolvimento é caracterizado por uma série de alterações, controladas geneticamente, de natureza física, morfológica, fisiológica e bioquímica iniciadas a partir da fecundação (BERGER et al., 2008; HEHENBERGER et al., 2012) levando à formação do embrião, do endosperma e do tegumento, no caso das sementes das angiospermas (KESAVAN et al., 2013).

Na maioria das espécies vegetais, o desenvolvimento das sementes pode ser dividido em três fases distintas. A primeira fase é caracterizada pela divisão celular e pelo aumento rápido na massa da semente e no conteúdo de água. Nessa fase, a água representa maior parte da massa da semente. Durante essa fase, a histodiferenciação e a morfogênese das sementes acontecem à medida que o zigoto unicelular inicia uma extensiva série de divisões mitóticas

(YEDEGARI; GOLDBERG, 1997). O aumento de massa ocorre devido à síntese e deposição de reservas, tais como carboidratos, lipídios e proteínas. Esses processos ocorrem em organelas específicas que podem estar presentes no embrião e/ou nos tecidos de reserva, tais como endosperma ou perisperma (BEWLEY et al., 2013).

A análise de sementes é o exame de uma amostra com a finalidade de estabelecer a qualidade de um determinado lote, sendo definidas por parâmetros genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários (LOPES; NASCIMENTO, 2009). A avaliação do componente fisiológico normalmente é realizada por meio do teste de germinação, que apresenta limitações por ser realizado sob condições controladas, podendo fornecer resultados que superestimam o potencial das sementes à medida que as condições ambientais desviam das mais adequadas para o estabelecimento das plântulas ou para o armazenamento das sementes (SCHUCH et al., 2013).

O processo de maturação compreende um conjunto de eventos sucessivos relacionados às alterações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas, sendo caracterizado pela síntese e acúmulo de reservas (MARCOS-FILHO, 2015). Esses eventos ocorrem a partir da fecundação do óvulo e prosseguem até o momento em que as sementes se desligam da planta, ou seja, atingem a maturidade fisiológica (DELOUCHE, 1971). O termo maturidade fisiológica tem sido definido como o ponto máximo da qualidade da semente (ELLIS; PIETA FILHO, 1992) e tem sido identificada por meio de diferentes características, como coloração do fruto (VALDES; GRAY, 1998) teor de água e acúmulo máximo de matéria seca coincidindo com o momento que as sementes apresentam máxima qualidade fisiológica, isto é, máximo valor de germinação e vigor (POPINIGIS, 1985; BORBA et al., 1995; CARVALHO; NAKAGAWA, 2000; CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). No entanto, alguns desses parâmetros nem sempre podem ser acompanhados no campo e a fixação de períodos de ocorrência de maturidade fisiológica, em função de eventos como semeadura, emergência das plântulas e florescimento, pode apresentar diferenças para uma mesma espécie e cultivar, em função das condições ambientais. Portanto, torna-se interessante conhecer outros parâmetros que permitam detectar a maturidade fisiológica, correlacionando-a com características morfológicas da planta, frutos e sementes (DIAS et al., 2006).

A maturidade fisiológica da semente é um dos principais fatores que determinam a qualidade final do lote produzido. A qualidade constitui-se em um pré-requisito para uma germinação e emergência satisfatórias das plântulas. Vários estudos mostram que a obtenção

da máxima qualidade das sementes durante seu desenvolvimento varia entre as espécies de plantas (DEMIR; ELLIS, 1995).

A partir do momento da antese, o conhecimento do processo de maturação de sementes é fundamental, quando se procura obter um material de melhor qualidade e esse estudo sempre deve ser considerado nos programas de produção de sementes, seja para melhoramento, conservação ou produção de mudas (IOSSI et al., 2007). Algumas espécies apresentam, na mesma planta, frutos em diferentes estádios de maturação, pois têm florescimento e frutificação contínuos, assim como acontece com o tomate. Para essas espécies, a determinação do ponto ideal de colheita é dificultada, pois a maturidade fisiológica dos frutos e sementes ocorre de maneira dessincronizada (MIRANDA et al., 1992).

No início da formação da semente, o grau de umidade é elevado. Posteriormente, inicia-se uma lenta diminuição dessa porcentagem até que atinja o máximo acúmulo de matéria seca (GRESTA et al., 2007). Este alto teor de água nos estádios iniciais de formação das sementes é necessário para que ocorram a translocação e a deposição do material fotossintetizado nos tecidos de reserva (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

O reconhecimento prático da maturidade fisiológica tem grande importância, pois caracteriza o momento em que a semente deixa de receber nutrientes da planta. Já a determinação adequada do ponto de colheita dos frutos para a obtenção de sementes torna-se importante para evitar prejuízos ocasionados por um atraso ou antecipação da mesma. Quando as sementes são colhidas precocemente, o processo da maturação é interrompido e a sua qualidade fisiológica é prejudicada (CASTRO; GODOY; CARDOSO, 2008).

Para hortaliças de frutos carnosos, como o tomate, a maturidade das sementes, geralmente, coincide com o início da mudança de coloração dos frutos, quando apresenta cor vermelha ou amarela, dependendo da cultivar. Todavia, pode-se verificar, por resultados de pesquisas, que, mesmo antes da completa maturação dos frutos, ou seja, antes de sua completa mudança de coloração, as sementes já atingiram a maturidade fisiológica (ZANIN, 1990; VALDES; GRAY, 1998).

2.5. ESTUDOS BIOQUÍMICOS DURANTE O DESENVOLVIMENTO

Enzimas antioxidantes são importantes na qualidade das sementes, principalmente na fase final do desenvolvimento, pois os processos oxidativos tendem a aumentar durante a perda de água (OLIVER; BEWLEY, 1997). Neste contexto, esses sistemas têm a função de impedir/reduzir o acúmulo de substâncias tóxicas geradas por processos oxidativos. Dentre

essas enzimas, destacam-se as que estão envolvidas nos processos respiratórios, como a malato desidrogenase (MDH) e a álcool desidrogenase (ADH) e as removedoras de radicais livres, como a superóxido dismutase (SOD) e a catalase (CAT) (PUNTARULO et al., 1991; CAKMAK et al., 1993).

Os eventos que compreendem o processo de deterioração das sementes podem propiciar a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs), como o radical superóxido (O_2^-), o radical hidroxila (OH^-), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o oxigênio singlet (1O_2), sendo que o excesso de produção desses grupos funcionais é limitante para o crescimento e desenvolvimento vegetal (CARVALHO et al. 2009; FORMAN et al. 2010). No entanto, as plantas contam com um sistema enzimático antioxidante de defesa primária capaz de eliminar as EROs, a exemplo das enzimas superóxido dismutase (SOD) que catalisa a dismutação do O_2^- em H_2O_2 e O_2 , ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT) que podem converter a molécula de H_2O_2 em H_2O e O_2 (GILL; TUTEJA, 2010). O equilíbrio entre a produção excessiva de EROs e a capacidade de acionar o sistema de defesa antioxidante, refletirão na capacidade dessas plântulas em superar os danos causados pela eventual maturação precoce ou pelo armazenamento inadequado das sementes (BORBA et al., 2014).

A enzima superóxido dismutase, presente no citoplasma celular e na matriz mitocondrial, atua, inicialmente, catalizando a reação de dismutação de radicais superóxidos livres (O_2^-) para oxigênio molecular (O_2) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O peróxido de oxigênio gerado (que também é tóxico para as sementes) é decomposto pela catalase, cujas subunidades são formadas no citoplasma, sendo a síntese completada no peroxissomo (McDONALD, 1999). A CAT é enzima intracelular, encontrada no glioxisoma nos vegetais, com capacidade de transformar formas reativas de oxigênio em formas inofensivas (LEHNINGER, 2006).

Nas fases iniciais de desenvolvimento, as sementes não são capazes de tolerar a dessecação. A aquisição dessa tolerância está relacionada aos mecanismos protetores de síntese de açúcares solúveis e a sínteses de proteínas do tipo *Late Embryogenesis Abundant* (LEAs), que se instalam antes ou durante a fase de desidratação das sementes (HOEKSTRA et al., 2001).

O processo de germinação de uma semente inicia-se com a embebição de água, seguida pelo desencadeamento de uma série de alterações metabólicas representadas pela hidrólise de compostos armazenados na semente (TAIZ; ZEIGER, 2013) e consequentemente intensificação da respiração (MARCOS-FILHO, 2015). Com o início da hidratação, a

transcrição e tradução de genes são retomadas em sementes ortodoxas, culminando na ativação catabólica de enzimas. Todos esses processos fisiológicos exigem o consumo de energia gerada pela respiração aeróbica e anaeróbica (DRANSKI, et al., 2013).

A respiração é a oxidação completa de compostos de carbono a CO₂ e água, através de uma série de reações, usando oxigênio como acceptor final de elétrons. Sucintamente, é a oxidação de compostos orgânicos para a produção de energia e compostos secundários. A energia é liberada e conservada na forma de adenosina trifosfato (ATP), composto que pode ser prontamente utilizado para a manutenção e o desenvolvimento da planta ou da semente (TAIZ; ZEIGER, 2013).

A primeira atividade metabólica das sementes, logo após a reidratação, é a respiração. De quase nula, ela passa a valores elevados em relativamente pouco tempo, dependendo da espécie. A atividade e integridade das mitocôndrias de embriões viáveis aumentam a partir do início da embebição, tornando mais eficiente a produção de ATP, refletindo a elevação do consumo de oxigênio e por consequência maior liberação de CO₂ (BEWLEY; BLACK, 1994).

A medição da atividade respiratória de sementes em condições de laboratório é uma técnica utilizada na determinação do vigor pela alta relação com a qualidade de semente. Esse procedimento pode se tornar uma importante ferramenta de auxílio à tomada de decisões sobre a qualidade de um lote de sementes (MENDES et al., 2009).

Os métodos mais utilizados, baseados em trocas gasosas, são o respirômetro de Warburg e o eletrodo de Clark, que consistem na medição manométrica do O₂ consumido, e o analisador de gás infravermelho (IRGA); os métodos físico-químicos que se baseiam na retenção de CO₂ em uma base e em sua determinação por titulometria (CRISPIN et al., 1994), colorimetria (DRANSKI, et al., 2013) ou condutivimetria (MAESTRI; ALVIM; SILVA, 1998) e pela determinação do CO₂ liberado pelo processo respiratório através da cromatografia em fase gasosa (MENDES et al., 2009; BUCKLEY; HUANG, 2011).

As mitocôndrias são conhecidas por serem os principais locais de deterioração das sementes, reduzindo a capacidade de geração de energia pela via aeróbica, proporcionando maior participação na geração de energia pela via anaeróbia (BEWLEY; BLACK 1994). Portanto, a quantificação da concentração de CO₂ resultante da respiração pode ser um indicativo de vigor porque as sementes com maior potencial fisiológico são capazes de minimizar a deterioração das membranas celulares e, consequentemente, a eficiência na

oxidação dos açúcares é maior, gerando mais CO₂ em comparação com as sementes com menos vigor (BUCKLEY; HUANG, 2011).

As sementes secas em contato com a água iniciam a embebição, aumentando a atividade respiratória e produzindo ATP (FERREIRA; BORGHETTI, 2004), sendo assim, a quantidade de CO₂ liberado das sementes é medido e então associado quanto ao vigor. Dessa forma, altas taxas de respiração estão relacionadas às sementes vigorosas, devido à grande quantidade de carboidratos e lipídeos armazenados em suas células, enquanto que as menos vigorosas têm atividade respiratória reduzida, devido ao processo de deterioração natural, responsável pela oxidação de suas reservas (MARCOS-FILHO, 2015).

Martins et al. (2014) avaliou a separação de lotes de sementes por sua atividade respiratória e concluiu que era um método eficiente para a estratificar lotes de sementes de soja de diferentes níveis de vigor. Resultados semelhantes também foram relatados para sementes de algodão (VENSKE et al., 2014). Além disso, como mostrado em um estudo de Marini et al. (2013), a atividade respiratória é indicativa da redução da qualidade e pode ser usada para identificar fatores relacionados à deterioração das sementes.

2.6. MÉTODOS ALTERNATIVOS PARA AVALIAÇÃO DO VIGOR

O potencial fisiológico compreende o conjunto de aptidões que permite estimar a capacidade teórica de um lote de sementes em manifestar adequadamente suas funções vitais após a semeadura. Desta maneira, 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. Após a semeadura, constata-se até que ponto se manifestou o potencial identificado em laboratório e a eficiência dos métodos usados para avaliá-lo (MARCOS-FILHO, 2011).

O teste de germinação é um dos mais utilizados para a determinação da qualidade fisiológica de lotes de sementes, no entanto, este teste isoladamente não é eficiente para identificar diferenças do potencial das sementes em campo, sendo necessária a complementação com resultados obtidos pelos testes de vigor (COIMBRA et al., 2009).

Esses testes têm sido cada vez mais utilizados pela indústria de sementes visando a determinação da qualidade fisiológica (ALVES; SÁ, 2009), permitindo estimar o potencial das sementes com a determinação de diferenças significativas entre lotes, geralmente, não detectadas pelo teste de germinação (ISTA, 2012). Por isso, a busca de novos métodos para avaliar a qualidade fisiológica das sementes, é constante, desde que seja um teste rápido, de

fácil execução, baixo custo e reproduzibilidade (OLIVEIRA et al., 2014; MARCOS-FILHO, 2015).

2.6.1. Análise de raios-X

A utilização da radiografia de baixa energia para avaliação da qualidade física das sementes é indicado pela ISTA (2004), que o considera um método rápido e não destrutivo, prescrevendo-o com a finalidade básica de detectar e analisar as estruturas internas das sementes, permitindo assim, a visualização de sementes cheias, vazias, mal formadas, com danos mecânicos ou que tenham sofrido algum dano de insetos e fungos, e em alguns casos, possibilitando a detecção de anormalidades no embrião, além do seu estádio de desenvolvimento (SIMAK; GUSTAFSSON, 1953). Nessa circunstância, sementes da amostra destinada ao teste de germinação são previamente radiografadas e classificadas, de acordo com o perfil morfológico visualizado (NUNES et al., 2014).

O teste de raios-X consiste na exposição da estrutura interna das sementes a uma fonte de baixa energia de raios-X e a um filme fotossensível. Ao atravessarem as sementes e atingirem o filme, os raios permitem a formação de uma imagem latente, caracterizada por diferentes graus de sombras e luz. O princípio da técnica é definido pela absorção de raios-X em diferentes quantidades pelos tecidos das sementes, em função de sua estrutura, composição e densidade, além do tempo de exposição à radiação (ISTA, 2004).

Apesar de ser um teste potencialmente nocivo às sementes, a baixa dose absorvida durante a análise não induz nenhum tipo de mutações genéticas e não afeta a germinação (SIMAK; GUSTAFSSON, 1953). Desta forma, após a disposição das sementes sobre o filme e subsequentemente a radiação, formam-se imagens claras nas regiões mais densas, as quais os raios-X não atravessaram, e imagens escuras nas regiões menos densas (ISTA, 2004). Cada equipamento de raios-X requer diferentes regulagens de tempo de exposição e voltagens para gerar melhor imagem (BRASIL, 2009). Carvalho et al. (2009) observaram que a exposição de sementes de abóbora à radiação não afetou a qualidade fisiológica mesmo após seu armazenamento durante um ano, sob condições controladas.

A grande maioria das pesquisas realizadas com raios-X em sementes no Brasil envolvem estudos de morfologia interna e sua relação com o potencial fisiológico de sementes de diversas espécies (CICERO, 2010). Esta técnica tem permitido relacionar a morfologia de sementes com a germinação ou morfologia das plântulas de diversas espécies agrícolas e florestais (CARVALHO et al., 2010; GAGLIARDI; MARCOS-FILHO, 2011), identificar injúrias por umidade e por percevejo em sementes de soja (PINTO et al., 2009) estudar a

maturação em sementes de abóbora (SILVA et al., 2014) e de injúrias mecânicas em sementes de milho (CICERO; BANZATTO JUNIOR, 2003).

Por isso, a possibilidade de utilização da técnica de análise de imagens, para avaliar a qualidade de sementes tem se mostrado promissora, sendo um método preciso, em que a semente pode ser examinada individualmente em imagens ampliadas e capaz de indicar, com detalhes, a área danificada sua localização e a extensão dos danos (FORTI et al., 2008).

Um dos métodos iniciais propostos para a avaliação da morfologia interna de sementes foi baseado na mensuração computadorizada das áreas correspondentes às partes internas de sementes de tomate. O procedimento para a identificação de variações morfológicas entre sementes durante a embebição e o condicionamento fisiológico foi a determinação do espaço livre, que, segundo Liu et al., (1993), corresponde à área vazia entre o embrião e o endosperma. Esses autores verificaram que o espaço livre se desenvolveu após a desidratação das sementes.

2.6.2. Análise de imagens com o *Software ImageJ*

O *ImageJ* é um software de análise e processamento de imagens, com código-fonte livre (DIAS, 2008) e desenvolvido no *National Institutes of Health* (BARBOSA et al., 2016). Nas pesquisas sobre análise de imagens de sementes os principais softwares apresentados na literatura são o *Tomato Analyzer®* (MARCOS-FILHO et al., 2010) e o *Image ProPlus®* (DELL'ÁQUILA, 2007; SILVA et al., 2012), sendo que o primeiro é mais indicado para sementes que não possuem endosperma (MARCOS-FILHO et al., 2010).

No entanto, Silva et al. (2013) verificaram que, o uso do *ImageJ* possibilitou a mensuração das áreas livres internas das sementes de goiabeira serrana (*Acca sellowiana* O. (Berg) Burret), permitindo a separação das sementes em diferentes categorias, auxiliando no estudo da relação entre a morfologia interna e a germinação, considerando este *software* como mais uma alternativa para pesquisas nesta linha de estudo.

Este *software* também tem sido utilizado para avaliar defeitos superficiais em frutos, como o tomate, permitindo a identificação de defeitos superficiais (SILVA, 2015).

A figura 1 apresenta uma matriz sinóptica das principais características do *software ImageJ* para análise e processamento de imagens.

Característica	Software <i>ImageJ</i>
Linguagem em que foi desenvolvida	<ul style="list-style-type: none"> ○ Java
Requerimentos do sistema	<ul style="list-style-type: none"> ○ Windows 95 ou mais recente, Mac OS, Mac OS X e Linux; ○ 64 MB de memória RAM, no mínimo, embora o recomendável seja 256 MB;
Extensões Suportadas	<ul style="list-style-type: none"> ○ TIF/TIFF (Tagged Image Format) ○ BMP (Windows Bitmap) JPG/JPEG (Joint Photographic Engineers Group); ○ PGM (Portable Grey Map); ○ DICOM (Digital Imaging and Communications in Medicine); ○ FITS (Flexible Image Transport System); ○ NIH (Macintosh Image Format).

Figura 1. Matriz síntese das principais características do *software* para análise e processamento de imagens, *ImageJ*.

Fonte: Adapatado de Dias, 2008. <http://urlib.net/sid.inpe.br/mtc-m17@80/2008/04.30.20.23>

2.6.3. *Seed Vigor Imaging System (SVIS®)*

Para auxiliar na obtenção de informações a respeito do potencial de desempenho de lotes de sementes em condições variadas de ambiente, surgiram os testes de vigor (ROCHA; SILVA; CICERO, 2015). Segundo Tekrony (2003), vigor de sementes é uma característica complexa, comparada à germinação, e proporciona informação adicional para auxiliar na diferenciação de lotes de sementes com níveis aceitáveis de germinação.

Os testes de vigor são mais sensíveis para identificar estágios menos avançados de deterioração das sementes, podendo facilitar a tomada de decisões sobre o destino dos lotes. No entanto, entre as limitações dos testes de vigor estão o tempo necessário para execução e a subjetividade na sua avaliação (PINTO et al., 2015), pois, esses testes são geralmente baseados em determinações de velocidade e uniformidade do crescimento de plântulas ou medição manual de suas partes (SILVA; CICERO, 2014).

A determinação da taxa e a uniformidade do crescimento de plântulas é um dos métodos mais importantes para avaliar o vigor da semente (HOFFMASTER et al., 2003). De acordo com Dan et al. (1987), as sementes mais vigorosas produzem plântulas com maior taxa de crescimento, uma vez que possuem maior capacidade de transformação, fornecem as reservas de armazenamento e incorporam-nas para o crescimento do eixo embrionário.

Vários testes são utilizados rotineiramente para a avaliação do vigor, destacando-se os de envelhecimento acelerado, tetrazólio, condutividade elétrica, crescimento e classificação do

vigor de plântulas. Entretanto, nos últimos anos, a pesquisa em tecnologia de sementes tem priorizado procedimentos computadorizados para a avaliação do vigor de sementes (WENDT et al., 2017), pois, ao automatizar essas tarefas através do uso de *software* de processamento de imagem, são descartadas pelo menos duas limitações humanas como, a variação dos resultados de um laboratório para outro devido à natureza da matéria e o tempo excessivo para adquirir resultados (HOFFMASTER et al., 2003; SILVA; CICERO, 2014).

A viabilidade do uso de análise de imagem computadorizada foi demonstrada pela primeira vez por McCormac et al. (1990) que determinaram o comprimento médio das raízes primárias das mudas de tomate, alface e couve-flor, evidenciando que o teste oferece a perspectiva de previsões mais precisas e menos dispendiosas sobre vigor das sementes (BAALBAKI et al., 2009).

Com o objetivo de obter informações sobre o vigor de forma rápida e consistente, o uso de imagens digitais de plântulas tem se tornado uma das principais alternativas (GOMES JUNIOR et al., 2014). Sako et al. (2001) propuseram essa ferramenta com base na análise automatizada das imagens digitais de plântulas de alface, medindo a taxa e uniformidade do crescimento das plântulas e criando um *software* chamado *Seed Vigor Imaging System* (SVIS®).

Vários trabalhos de pesquisa utilizando a análise computadorizada de imagens através do SVIS® relatam sua eficiência na avaliação do vigor em diferentes espécies, como, melão (MARCOS-FILHO et al., 2006), canola (TOHIDLOO; KRUSE, 2009), pepino (CHIQUITO, et al., 2012), tomate (SILVA; CICERO, 2014), brócolis (ABUD et al., 2017) e soja (MARCOS-FILHO et al., 2009; WENDT et al., 2017).

No estudo de maturação de sementes, Silva et al. (2017) verificaram que a análise computadorizada de imagens, através do SVIS® foi eficiente para detectar diferenças no vigor das sementes oriundas de frutos de abóbora colhidos em diferentes épocas.

2.7. CONDICIONAMENTO OSMÓTICO E QUALIDADE DAS SEMENTES

O condicionamento osmótico ou *priming* é uma técnica, que envolve o controle da hidratação das sementes, suficiente para permitir os processos preparatórios essenciais à germinação, entretanto, insuficiente para a ocorrência da protrusão radicular (MARCOS-FILHO, 2005, BRADFORD, 1986) favorecendo o incremento das atividades enzimáticas e metabólicas, as quais podem estar relacionadas com o revigoramento das sementes, inclusive daquelas imaturas.

A técnica do condicionamento osmótico baseia-se na embebição de sementes em uma solução osmótica, que fornecem diferentes potenciais osmóticos, possibilitando que a semente se hidrate lentamente, permitindo, dessa forma, maior tempo para a reparação ou a reorganização das membranas, tornando possível que os tecidos se desenvolvam de maneira mais ordenada e reduzindo os riscos da ocorrência de danos no eixo embrionário, causados pela rápida absorção de água (SANTOS; MENEZES, 2000).

Um aspecto que afeta a resposta do condicionamento é a qualidade da semente. Tem sido sugerido o uso de sementes de alto vigor como pré-requisito para se obter um bom resultado. Entretanto, o condicionamento osmótico tem melhorado o desempenho de lotes de baixa qualidade. Algumas pesquisas relatam que sementes mais vigorosas mostram-se menos sensíveis ao condicionamento, enquanto sementes de médio vigor manifestam resposta de maneira mais evidente. Pertel et al. (2001) e Dias et al. (2006) verificaram que o tratamento não foi efetivo em lotes de baixo e alto vigor, entretanto, promoveu melhoria da qualidade de sementes de médio vigor. Nascimento (2004) relata que o tratamento depende também da maturidade fisiológica das sementes, e que em algumas espécies, as sementes mais imaturas terão maior resposta do tratamento.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABCSEM - Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudas -. **Mapeamento e quantificação da cadeia produtiva de hortaliças**. Brasília. 2017. 79 p. Disponível em: http://www.cnabrasil.org.br/sites/default/files/sites/default/files/uploads/mapeamento_e_quantificacao_da_cadeia_de_hortalicas.pdf
- ABUD, H. F.; CICERO, S. M.; GOMES JUNIOR, F. G. Computerized image analysis of seedlings to evaluate broccoli seed vigor. **Journal Of Seed Science**, [s.l.], v. 39, n. 3, p.303-310, set. 2017. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2317-15372017000300303 Acesso em: 10 jan. 2018.
- CARVALHO, C. de et al. **Anuário brasileiro de hortaliças**. Santa Cruz do Sul : Editora Gazeta Santa Cruz, 2016. 56 p. : il. 2017.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds**: physiology of development and germination. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.
- BISOGININ, M. B et al. Desempenho fisiológico de sementes de olerícolas em diferentes tempos de hidrocondicionamento. **Revista de Ciências Agrárias**, 39, n. 3, 2016. 340-359. Disponível em: <http://www.scielo.mec.pt/pdf/rca/v39n3/v39n3a03.pdf>
- BLACKMAN, S.A.; WETTLAUFER, S.H.; OBENDORF, R.L.; LEOPOLD, A.C. Maturation proteins associated with desiccation tolerance in soybean seeds. **Plant Physiology**, Rockville, v. 96, n. 3, p.868-874, July 1991.
- BOCK, F. L. **Resposta a nível molecular do envelhecimento artificial, natural e pré-condicionamento de sementes de soja**. 1999. 27p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- BORBA et al. Metabolismo antioxidativo para separação de lotes de sementes de diferentes graus de homogeneidade. **R. bras. Bioci.**, Porto Alegre, v. 12, n. 1, p. 20-26, jan./mar. 2014
- BRADFORD, K.J. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. **HortScience**, v.21, n.5, p.1105-1112, 1986.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. SDA: Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399p.
- BUCKLEY, W. T.; HUANG, J. An ethanol-based seed vigour assay for canola. **Seed Science and Technology**, 39, jul. 2011. 510-526. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/233517727_An_ethanol-based_seed_vigour_assay_for_canola .
- CAKMAK, I.; STRBAC, D.; MARSCHNER, H. Activities of hydrogen peroxide-scavenging enzymes in germinating wheat seeds. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 44, n. 258, p. 127-132, 1993.

CAMARGO FILHO, W. P.; CAMARGO, F. P. **Acomodação da produção olerícola no Brasil e em São Paulo, 1990-2010.** Análise Prospectiva e Tendências. 2015. Disponível em: http://www.abhorticultura.com.br/downloads/artigo_mercado_hort_iea2011.pdf . Acesso em: jan. 2018.

CARVALHO, L. F.; SEDIYAMA, C. S.; REI, S. M. S.; DIAS, D. C. F. S.; MOREIRA, M.A.. Influência da temperatura de embebição da semente de soja no teste de condutividade elétrica para avaliação da qualidade fisiológica. **Revista Brasileira de Sementes**, 41(1): 9-17, 2009.

CARVALHO, M. D. M.; SILVA, C. D.; OLIVEIRA, L. D.; SILVA, D. G.; CALDEIRA, C.M. Teste de raios x na avaliação da qualidade de sementes de abóbora. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 31, nº 2, p.221-227, 2009. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-31222009000200026&script=sci_abstract&tlang=pt

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciências, tecnologias e produção.** 5.ed., Jaboticabal; FUNEP, 2012. 590p.

CHIQUITO, A.A.; GOMES-JUNIOR, F.G.; MARCOS-FILHO, J. Assessment of physiological potential of cucumber seeds using the Seed Vigor Imaging System®. **Revista Brasileira de Sementes** 34: 255-263, 2012. Disponível em http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222012000200010 Acesso em: 10 de jan. 2018.

CRISPIM, J. E. et al. Determinação da taxa de respiração em sementes de soja pelo métodos da titulação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 29, n. 10, 1994. p. 1517-1521. <http://www.hasohaosh.com.br> .

DAN, E.; MELLO, V.; WETZEL, C.; POPINIGIS, F.; SOUZA, E. Transferência de matéria seca como método de avaliação de avaliação do vigor de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.9, n.3, p.45-55, 1987.

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

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

DIAS, F. C. Uso do software Image J para analise quantitativa de imagens de microestruturas de materiais. **Dissertação** (Mestrado). São José dos Campos: INPE, 2008. 145p.

DIAS, D. C. F. S. et al. Tomato seed quality harvested from different trusses. **Seed Science and Technology**, v. 34, n. 3, p. 681-689, 2006. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/233603052_Tomato_seed_quality harvested_from_different_trusses

DRANSKI, J. A. L. et al. Vigor of canola seeds through quantification of CO2 emission. **Ciênc. agrotec**, Lavras, 37, n. 3, jun. 2013. p. 229-236. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542013000300005

DRANSKI, J. A. L. et al. Carbon dioxide quantified by the infrared in evaluation of respiratory activity of wheat seeds. **Revista Ceres**, Viçosa, 64, n. 5, out. 2017. p.507-515. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0034-737X2017000500507&script=sci_arttext.

EKPONG, B.; SUKPRAKARN, S. Seed Physiological Maturity in Dill (*Anethum graveolens* L.). **Kasetsart J (Nat. Sci.)**. v. 42. 2008. p. 1-6.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Soluções tecnológicas: **Tomate BRS Nagai**. 2016. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-solucoes-tecnologicas-/produto-servico/1054/tomate-brs-nagai> Acesso em: fev. 2018.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Tomate BRS Nagai: tipo saladete com tolerância a geminivírus e tospovírus**. 2011. Disponível em: <http://amaranto.cpac.embrapa.br/agrobsb/Arquivos/hortalicas/BRSNagai.pdf> Acesso em: fev. 2018.

FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 323 p.

FORTI, V.A.; CICERO, S.M.; PINTO, T.L.F. Análise de imagens na avaliação de danos mecânicos e causados por percevejos em sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.1, p.121-130, 2008.

FORMAN, H. J.; MAIORINO, M.; URGINI, F. Signaling functions of reactive oxygen species. **Biochemistry**, 49(5): 835-842. 2010.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4226395/>

FRANQUERA, E. N. Seed physiological maturity in eggplant (*Solanum melogena*). **Scholars Journal of Agriculture and Veterinary Science**, v. 2, n. 4A, set. 2015. p. 333-336. Disponível em: <http://saspjournals.com/wp-content/uploads/2015/08/SJAVS-24A333-336.pdf>

GALAU, G. A.; BIJAISORADAT, N.; HUGHES, D. W. Accumulation kinetics of coton late embryogenesis-abundant (LEA) mRNAs and storage protein mRNAs: ccoordinate regulations during embryogenesis and the role of abscisic acid. **Developmental Biology**. v. 123, p. 198-212, 1997.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidante machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, 48(12): 909-930. 2010.

GODOY, M. C. GODOY, A. R.; CARDOSO, A. I. I. Influência do estádio de maturação da flor na produção de sementes de pimentão com polinização manual. **Bragantia**, Campinas, v.65, n.1, p.83-87, 2006. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0006-87052006000100011&script=sci_abstract&tlang=pt

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.
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222012000100010

HAN, B. et al. Changes in late-embryogenesis-abundant (LEA) messenger RNAs and dehydrins during maturation and premature drying of *Ricinus communis* L. seeds. **Planta**. v. 201, p. 27-35, 1997.

HOEKSTRA, F.A.; GOLOVINA, E.A.; BUITINK, J. Mechanisms of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science**, v.6. p.431–438. 2001.

HOFFMASTER, A.L.; XU, L.; FUJIMURA, K.; McDONALD, M.B.; BENNET, M.A.; EVANS, A.F. The Ohio State University seed vigor imaging system (SVIS) for soybean and corn seedlings. **Seed Science and Technology**, v.27, n.1, p.7-26, 2005.
http://seedbiology.osu.edu/People_pdf/miller_abstractSVIScorn.pdf

INTERNACIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (ISTA). Regras internacionais para análise de sementes. **Seed Science and Technology**, Zurich, 174p. 2004.

KIGEL, J.; GALILI, G. Seed development and germination. New York: Marcel Dekker, 1995. 853p.

KWON, O.S.; BRADFORD, K.J. Tomato seed development and quality as influenced by preharvest treatment with ethephon. **HortScience**, 22, 1987, 588–591.

LIMA, L.K.S.; DUTRA, A.S.; SANTOS, C.C.; BARROS, G.L. Utilização de Técnicas na Avaliação de Sementes por Imagem. **Revista Agropecuária Científica no Semiárido**, v.9, n.3, p 01-06, jul – set, 2013.

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

LOPES, A. C. A.; NASCIMENTO, W. M. **Análise de sementes de hortaliças**. Circular Técnica (83). Embrapa Hortalícias. Brasília, 2009.

MACIEL, K. S.; LOPES, J. C.; COLA, M. P. A.; VENÂNCIO, L. P. Qualidade fisiológica de sementes de tomate. **Encyclopédia Biosfera**. v. 8, n. 44, p. 819-826. 2012.

MAESTRI, M.; ALVIM, P. T.; SILVA, M. A. P. **Fisiologia vegetal: exercícios práticos**. Viçosa, MG: UFV, 1998. 91 p. (Cadernos didáticos, 20).

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2. ed. Londrina: ABRATES, 2015. 660 p.

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**. 2006. v34: 485-497. DOI <http://dx.doi.org/10.15258/sst.2006.34.2.23>

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

MARINI, P. et al. Indicativos da perda de qualidade de sementes de arro sob diferentes temperaturas atravess da atividade enzimática e respiratória. **Interciencia**, 38, n. 1, jan. 2013. p. 54-59. Disponível:<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33926506002> .

McDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 22, n. 3, p. 531-539, 1999.

MENDES, C. R. et al. Respiratory activity for the differentiation of vigor on soybean seeds lotes. **Revista Brasileira de Sementes**, 31, n. 2, 2009. p. 171-176.

MONTEIRO, C. S.; BALBI, M. E.; MIGUEL, O. G.; PENTEADO, P. T. P. S.; HARACEMIV, S. M. C. Qualidade nutricional e antioxidante do tomate “tipo italiano”. **Alimentos e Nutrição**. v. 19, n.1, p. 25-31. 2008.

NASCIMENTO, W.M. Desafios e oportunidades na produção de sementes de hortaliças no Brasil. **SEED NEWS**. maio/jun - Ano XIX - N. 3. 2015. Disponível em: http://www.seednews.inf.br/_html/site/content/reportagem_capa/imprimir.php?id=224

NASCIMENTO, W.M. Condicionamento osmótico de sementes de hortaliças visando a germinação em condições de temperaturas baixas. **Horticultura Brasileira**, vol. 23, n. 2, 2005. p. 211-214. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362005000200010>

NUNES, R. T. C. et al. Análise de imagens na avaliação da qualidade fisiológica de sementes. **Revista Verde**, Pombal, 9, n. 5, dez. 84-90, 2014.

OLIVER, M.J.; BEWLEY, J.D. Desiccation tolerance of plant tissues: A mechanistic overview. **Horticultural Reviews**, New York, v. 18, p. 171-213, 1997.

PERTEL, J.; DIAS, D.C.F.S.; DIAS, L.A.S.; ALVARENGA, E.M. Efeito do condicionamento fisiológico na germinação e no vigor de sementes de café (*Coffea arabica* L.). **Revista Brasileira de Armazenamento**, Especial, n.3, p.39-45, 2001.

PINTO, C. A. G.; CARVALHO, M. L. M.; ANDRADE, D. B.; LEITE, E. R.; CHALFOUNS, I. Image analysis in the evaluation of the physiological potential of maize seeds. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 2, p. 319-328, 2015. DOI <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20150011>

PUNTARULO, S.; GALLEANO, M.; SÁNCHEZ, R. A.; BOVERIS, A. Superoxide anion and hydrogen peroxide metabolism in soybean embryonic axes during germination. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1074, p. 277-283, 1991.

ROCHA, C. R. M. D.; SILVA, V. N.; CICERO, S. M. Avaliação do vigor de sementes de girassol por meio de análise de imagens de plântulas. **Ciência Rural**, Santa Maria, 45, n. 6, jun. 2015. 970-976. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cr/v45n6/1678-4596-cr-45-06-00970.pdf>.

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

SANTOS, C.M.R.; MENEZES, N.L. Tratamentos pré-germinativos em sementes de alface. **Revista Brasileira de Sementes**, v.22, n.1, p.153-158, 2000.

SCHUCH, L.O.B.; VIEIRA, J.F.; RUFINO, C.A.; JUNIOR, J.S.A. **Produção, qualidade e inovações tecnológicas**. Pelotas –RS. Ed. Gráfica Universitária, 2013. P.571.

SILVA, P. P. da et al. Assessment of squash seed vigor using computerized image analysis. **Journal of Seed Science**, [s.l.], v. 39, n. 2, p.159-165, jun. 2017. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2317-15372017000200159.

SILVA, V. N. Avaliação da qualidade de sementes de tomate e berinjela por meio de análise de imagens. **Tese** (Doutorado). Piracicaba, SP. 164 p: il. 2012.

SILVA, V.N.; SARMENTO, M.B.; SILVEIRA, A.C.; SILVA, C.S.; CICERO, S.M. Avaliação da morfologia interna de sementes de *Acca sellowiana* O. Berg por meio de análise de imagens. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 35, n. 4, p. 1158-1169, dez 2013.

SILVA, Vanessa Neumann; CICERO, Silvio Moure. Image seedling analysis to evaluate tomato seed physiological potential. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 45, n. 2, p.327-334, jun. 2014. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-05362014000200145&script=sci_abstract&tlang=pt . Acesso em: 10 jan. 2018.

SILVA, R. V da. Identificação de defeitos superficiais em tomate (*Solanum lycopersicum*) utilizando técnicas de processamento de imagens. **Dissertação** (Mestrado). Campinas, SP. 56 p. 2015.

SIMAK, M.; GUSTAFSSON, Å. X-ray photography and sensitivity in Forest tree species. **Hereditas**, v. 39, p. 458-468, 1953.

SPINOLA, M. C. M.; CICERO, S. M.; MELO, M. Alterações bioquímicas e fisiológicas em sementes de milho causadas pelo envelhecimento acelerado. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 57, n. 2, p. 263-270, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

TEKRONY, D.M. Precision is an essential component in seed vigour testing. **Seed Science and Technology**, v.31, n.3, p.435-447, 2003. Disponível em: <http://www.ingentaconnect.com/content/ista/sst/2003/00000031/00000002/art00020?crawler=true> Acesso em: 10 de jan. 2018.

TOHIDLOO, G.; KRUSE, M. Development of an image analysis aided seedling growth test for winter oilseed rape and verification as a vigor test. **Seed Science and Technology**, v. 37, p. 98-109, 2009. DOI <http://dx.doi.org/10.15258/sst.2009.37.1.12>

VALDES, V.M. AND GRAY, D. The influence of stage of fruit maturation on seed quality in tomato (*Lycopersicon lycopersicum* (L.) Karsten). **Seed Science and Technology**, 26, 1998, p. 309-318.

VENSKE, E. et al. Atividade respiratória como teste de vigor em sementes de algodão. **Rivista Brasileira de Ciências Agrárias**, 9, n. 2, 2014. p.174-179.

WENDT, L. et al. Relação entre testes de vigor com a emergência a campo em sementes de soja. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife,pe, v. 12, n. 2, p.166-171, mar. 2017. Disponível em: [http://agraria.pro.br/ojs-2.4.6/index.php?journal=agraria&page=article&op=view&path;\[\]](http://agraria.pro.br/ojs-2.4.6/index.php?journal=agraria&page=article&op=view&path;[])=agraria_v12i2a5435. Acesso em: 10 jan. 2018

CAPÍTULO I

**RENDIMENTO E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES HÍBRIDAS DE
TOMATE EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO**

RESUMO

O trabalho de pesquisa foi desenvolvido inicialmente no campo experimental da Embrapa Hortaliças com a produção de sementes híbridas da cultivar BRS Nagai durante o período de fevereiro a junho de 2016. Os parentais foram cultivados em vasos mantidos em ambiente protegido seguindo as recomendações usuais para tomate tutorado. No momento do florescimento, antes da antese, os botões florais do parental feminino foram emasculados, e a polinização realizada imediatamente, sendo devidamente contabilizadas e identificadas com etiquetas contendo a data de realização do cruzamento. Aos 30, 40, 50, 60, 70 e 80 dias após a polinização (DAP) foram colhidos aproximadamente 60 frutos, pesados, e posteriormente tendo as sementes extraídas por processo manual e colocadas para fermentar por um período de 48 horas. Decorrido este tempo as sementes foram lavadas, secas à temperatura ambiente por aproximadamente 24 horas e, posteriormente, transferidas para uma câmara com ventilação a 32°C por mais 24 horas. Após a secagem, as mesmas foram acondicionadas em embalagens de alumínio e armazenadas em câmara fria à 7°C até o momento da realização dos testes. Ressalta-se que quantidades suficientes de sementes foram retiradas e avaliadas quanto ao teor de água e matéria seca logo após a lavagem, sendo secas somente superficialmente com auxílio de papel toalha. No laboratório de sementes foram determinados os valores do peso de mil sementes, rendimento, número de sementes por fruto, teor de água, massa seca, além dos testes de germinação, primeira contagem de germinação, IVG, envelhecimento acelerado e emergência de plântulas. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, exceto para a emergência que foi em blocos ao acaso. Os dados foram submetidos à análise de variância e posteriormente regressão. Em média 78% das flores polinizadas desenvolveram-se em frutos. Sementes colhidas aos 80 DAP foram descartadas, pois, ocorreu viviparidade. As sementes colhidas nos primeiros estádios (30 e 40 DAP) apresentaram baixo rendimento e baixo número de sementes por fruto. A germinação foi nula para aquelas colhidas aos 30 DAP. No entanto, sementes colhidas aos 40 DAP, apesar de germinarem, apresentou baixa capacidade de germinação e vigor. Os melhores valores de germinação e vigor foram obtidos para sementes colhidas aos 60 e 70. O maior percentual de germinação ocorreu três dias após, praticamente coincidindo, com o máximo conteúdo de matéria seca. Sementes colhidas aos 50 DAP apresentaram vigor intermediário, em decorrência da colheita precoce. Os frutos colhidos nesta época apresentavam pericarpo de coloração transitória do verde para o vermelho, e, portanto, com intuito de melhorar os processos de colheita, é possível que os frutos colhidos nesta época tenham suas sementes extraídas somente após a mudança total da cor do fruto para o vermelho. Os maiores rendimentos de sementes são obtidos quando os frutos são colhidos a partir de 60 DAP não devendo ultrapassar 70 DAP. Sementes do híbrido BRS Nagai apresentam melhor qualidade fisiológica quando os frutos são colhidos logo após apresentarem pericarpo completamente vermelho e firme. A máxima germinação e vigor das sementes ocorreram poucos dias após as sementes atingirem o maior conteúdo de matéria seca.

Palavras-chave: BRS Nagai, maturidade fisiológica, produção de sementes.

ABSTRACT

The research was initially carried out in the experimental field of Embrapa Vegetable Crops with the production of hybrid seeds of the cultivar BRS Nagai (from February to June, 2016). The parental inbred lines were cultivated in pots kept under plastic house conditions, following the standard recommendations for fresh market tomato. At the flowering time, (before the anthesis) the floral buds of the female parent were emasculated, and the pollination was performed immediately after this procedure. Pollinated flowers were properly counted and identified with labels indicating the pollination date. At 30, 40, 50, 60, 70 and 80 days after pollination (DAP), approximately 60 fruits were harvested, and the seeds were harvested by hand and allowed to a standard fermentation process for 48 hours. After this time the seeds were washed, dried at room temperature for 24 hours and then transferred to a chamber with ventilation at 32 °C for 24 hours. After drying, they were packed in aluminum containers and stored in a cold room at 7°C until analyses. Enough quantities of seeds were removed and evaluated for water and dry matter content immediately after washing and were superficially dried with the aid of paper towel. In the seed laboratory, the following values were determined: one thousand seed mass, yield, number of seeds per fruit, water content, dry mass, germination, first germination, germination rate index (GR), accelerated aging, and seedling emergence. The experiment was carried out using a completely randomized design, except for the emergency that was done using a randomized block design. The results were submitted to analysis of variance and regression. On average 78% of the pollinated flowers developed in fruits. Seeds harvested at 80 DAP were not included in the analyses due to the presence of viviparity. The seeds harvested in the first stages (30 and 40 DAP) displayed low yield and reduced number of seeds per fruit. The germination was zero for those harvested at 30 DAP. However, seeds harvested at 40 DAP, despite germinating, presented low germination capacity and vigor. The best germination and vigor values were observed in seeds harvested at 60 and 70 DAP. The highest percentage of germination occurred three days after, practically coinciding with the maximum dry matter content. Seeds harvested at 50 DAP showed intermediate vigor, as a result of early harvesting. The fruits harvested at that time had a transient coloring of the green to red. Therefore, in order to improve the harvesting processes, it is indicated that the fruits harvested at 50 DAP should have their seeds extracted only after the total fruit color change to red. The highest seed yields were observed in fruits harvested after 60 DAP and should not exceed 70 DAP. Seeds of the hybrid BRS Nagai present better physiological quality when the fruits are harvested with completely red and firm pericarp. The maximum seed germination and vigor was observed a few days after the seeds reached out the highest dry matter content.

Key words: BRS Nagai, physiological maturity, seed production.

1.1. INTRODUÇÃO

A obtenção de sementes de alta qualidade fisiológica em hortaliças de frutos carnosos está, geralmente, relacionada ao estádio de maturação em que se apresenta o fruto. No entanto, muitas vezes, somente o aspecto externo de coloração não é suficiente para determinar a maturidade fisiológica das sementes por ocasião da colheita. Deste modo, a determinação da maturidade é um dos aspectos mais importantes na produção de sementes e conhecer o processo de desenvolvimento e maturação objetiva não somente definir o momento ideal de colheita, como também o estádio de máxima qualidade das sementes que pode variar em função da espécie e das condições do ambiente (SOUZA et al., 2011).

A exigência do mercado por sementes de alta qualidade leva as empresas a darem ênfase e prioridade à produção de sementes com boas características físicas, fisiológicas, genéticas, e sanitárias, além de destinarem grandes investimentos para as pesquisas nessa área (NASCIMENTO, 2004), pois, a utilização de sementes de qualidade comprovada traz vantagens econômicas, sociais e ambientais para os produtores e consumidores (JUSTINO et al., 2015).

Os principais parâmetros utilizados na identificação da maturidade fisiológica das sementes em populações de plantas, bem como, o ponto ideal para a colheita, têm sido a idade e a coloração dos frutos. Essa alteração de coloração pode ser um indicativo do ponto de maturidade fisiológica das sementes, onde, geralmente, são observados níveis máximos de germinação e vigor e mínimos de deterioração (NASCIMENTO et al., 2006). Portanto, o reconhecimento prático da maturidade fisiológica geralmente é estratégico para a definição do momento ideal de colheita, contribuindo para a produção de sementes de alta qualidade.

As sementes podem apresentar a máxima qualidade fisiológica poucos dias antes ou depois do maior acúmulo de matéria seca, sendo discordante entre as espécies, de modo que, a partir da maturidade fisiológica, ocorre aumento da respiração e do consumo de reservas acumuladas, e a qualidade começa a ser perdida devido ao processo de deterioração (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). Portanto, para a definição tanto do ponto de colheita quanto da maturidade fisiológica das sementes faz-se necessário o acompanhamento das modificações ocorridas durante o seu desenvolvimento através da avaliação de características físicas e fisiológicas.

Partindo desses pressupostos objetivou-se com este trabalho avaliar as alterações físicas e fisiológicas durante a maturação bem como determinar o rendimento e a qualidade das sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, nos diferentes estádios de desenvolvimento do fruto.

1.2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho de pesquisa foi desenvolvido inicialmente no campo experimental da Embrapa Hortaliças localizada na Rodovia BR-060, Km 09, Fazenda Tamanduá, Brasília-DF, onde ocorreu a produção das sementes do híbrido BRS Nagai.

1.2.1. Produção das sementes

As sementes foram produzidas durante o período de fevereiro a junho de 2016. Os parentais foram cultivados em vasos mantidos em ambiente protegido seguindo as recomendações usuais para tomate tutorado (MELO et al., 2014) através de fitilho fixado no pé da planta. Salienta-se que a semeadura do progenitor masculino ocorreu 10 dias antes da semeadura do progenitor feminino, de modo a sincronizar a coleta de pólen com o período em que os estigmas estariam aptos para a polinização (figura 1 A). Após a semeadura e obtenção das mudas em viveiro, estas foram transplantadas, aos 30 dias de idade, para o local definitivo.



Figura 1. Vista da área experimental mostrando as diferenças de desenvolvimento do parental feminino à esquerda e masculino à direita (A); pólen sendo coletado com vibrador elétrico

(B); polinização da flor após emasculação (C) e; fruto desenvolvido devidamente identificado com a data da polinização (D). Brasília-DF.

No momento do florescimento, os botões florais de plantas do parental feminino foram emasculados manualmente, antes da antese e o pólen das flores de plantas do parental masculino foi coletado por meio de um vibrador artesanal elétrico (figura 1B). A polinização foi realizada diariamente sendo devidamente contabilizadas e identificadas com etiquetas contendo a data de realização do cruzamento (figura 1 C e D). Flores não polinizadas foram eliminadas para evitar autofecundação e competição por nutrientes. Não houve seleção de posição dos rácimos, mas tentou-se padronizar a polinização de flores do segundo ao quarto. Aos 30 dias após a polinização, foram feitas as contagens de frutos pegas.

Aos 30, 40, 50, 60, 70 e 80 dias após a polinização (DAP) foram colhidos aproximadamente 60 frutos, pesados, e posteriormente tendo as sementes extraídas por processo manual e colocadas para fermentar por um período de 48 horas. Decorrido este tempo as sementes foram lavadas em água corrente, secas à temperatura ambiente por aproximadamente 24 h e, posteriormente, transferidas para uma câmara com ventilação a 32°C por mais 24 h. Após a secagem, as mesmas foram acondicionadas em embalagens de alumínio, seladas e armazenadas em câmara fria à 7°C para realização dos testes a posteriori.

As sementes foram avaliadas inicialmente quanto ao teor de água (sementes que não sofreram processo de secagem) e grau de umidade através do método da estufa a 105 ± 3 °C, por 24 horas com três amostras de sementes de 1,0 g para cada época e os resultados foram expressos em porcentagem (base úmida), conforme Brasil (2009) e massa seca, determinada em quatro repetições de 50 sementes com base no peso final após a secagem (BRASIL, 2009) em mg semente^{-1} .

1.2.2. Determinação do rendimento

Para obtenção do rendimento de sementes foram realizadas as seguintes determinações:

1.2.2.1. Peso de mil sementes (Pms)

Seis repetições de 100 sementes de cada época colhida foram pesadas em balança analítica. Em seguida calcularam-se os coeficientes de variação (CV) entre as repetições, seguindo as recomendações das Regras para Análise de Sementes (RAS) (BRASIL, 2009).

1.2.2.2. Peso de mil sementes corrigido (Pmc)

Para o cálculo de rendimento o peso de mil sementes das amostras foram corrigidos para 6% de umidade, conforme a equação abaixo, pois, segundo Nascimento et al (2004); Melo (2005) esta é a umidade desejada para o armazenamento de sementes de tomate.

$$Pmc = \frac{(100-Ui)*Pi}{(100-Uc)} \text{ onde,}$$

Pi, corresponde ao peso de mil sementes inicial;

Ui, umidade da amostra e;

Uc, umidade corrigida (6%)

1.2.2.3. Número de sementes por fruto (Nsf)

Para determinar o Nsf utilizou-se a razão entre o peso médio de sementes por fruto (Psf), determinado pela divisão do peso total das sementes pelo número de frutos, em miligramas, e o peso médio de mil sementes corrigido (Pmc), em gramas, conforme a equação abaixo:

$$Nsf = \frac{Psf}{Pmc}$$

1.2.2.4. Rendimento de sementes (Rts)

A obtenção do Rts foi através da razão entre a quantidade de sementes por fruto (Qsf) (determinada pela divisão da massa das sementes por fruto pelo número de frutos colhidos) e a massa média do fruto (Pf) conforme a equação abaixo:

$$Rst = \frac{Qsf}{Pf}$$

1.2.3. Qualidade fisiológica das sementes

Foram realizadas as seguintes determinações:

1.2.3.1. Germinação:

Quatro repetições de 50 sementes de cada época colhida foram distribuídas sobre duas folhas de papel de germinação umedecidas com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa seca do substrato, dispostas no interior de caixas de plástico tipo gerbox e expostas à faixa de temperatura 20-30°C, com fotoperíodo ajustado para 8 horas de luz e 16 horas de escuro. As avaliações foram realizadas aos 14 dias após a semeadura segundo as recomendações das Regras para Análise de Sementes – RAS (BRASIL, 2009).

1.2.3.2. Primeira contagem de germinação (PC):

Realizada conjuntamente com o teste de germinação, contabilizando-se o número de plântulas normais presentes no quinto dia após o início do teste. Os resultados foram expressos em porcentagem (BRASIL, 2009).

1.2.3.3. Emergência de plântulas em casa de vegetação:

Foram utilizadas quatro subamostras de 50 sementes em cada tratamento, sendo semeadas em bandejas multicelulares de poliestireno expandido com 200 células, contendo substrato comercial. A irrigação foi realizada diariamente e a avaliação ocorreu aos 14 dias após a semeadura. Os resultados foram expressos em porcentagem.

1.2.3.4. Índice de velocidade de germinação (IVG):

Determinado conjuntamente ao teste de germinação, por meio da contagem do número de sementes germinadas diariamente, a partir da emissão da radícula, até a estabilização do estande e calculado segundo a equação abaixo proposta por Maguirre (1962).

$$\text{IVG} = \sum \left(\frac{n_i}{t_i} \right)$$

n_i = número de sementes germinadas diariamente; N_1, N_2, \dots, N_n ,

t_i = número de dias de semeadura à primeira, segunda ... última contagem.

1.2.3.5. Envelhecimento acelerado:

Duzentas sementes de cada época foram uniformemente distribuídas sobre uma tela de alumínio, dispostas em caixas gerbox, contendo no fundo, 40mL de solução de cloreto de sódio (NaCl) 40%. As caixas foram fechadas e mantidas a 41°C, por 72 horas em câmara de envelhecimento (PARNOBIANCO; MARCOS-FILHO, 2001). Após esse período, as sementes foram submetidas ao teste de germinação, conforme descrito anteriormente. As avaliações foram feitas aos cinco dias após a semeadura.

1.2.4. Procedimento estatístico

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado para a maioria dos dados exceto para os de rendimento e número de sementes, emergência de plântulas, teor de água e massa seca das sementes que foi em blocos ao acaso. Inicialmente os dados foram analisados quanto à normalidade de distribuição de resíduos e uniformidade da variância e aqueles que não apresentaram distribuição normal e homogeneidades foram transformados em arc sen $(x/100)^{1/2}$. Posteriormente foram submetidos à análise de variância a 5% de probabilidade pelo

teste “F” e as estimativas dos parâmetros de regressão foram analisadas pelo teste “t” a 5% de probabilidade através do programa Sistema para Análise de Variância-SISVAR (FERREIRA, 2011).

1.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se inicialmente que, em média, 78% das flores polinizadas desenvolveram-se em frutos. No entanto, ressalta-se que a polinização ocorreu aproximadamente um a dois dias antes da antese. Para Shakya e Scott (1983) a produção de sementes de tomate por polinização manual é menor, quando realizada antes da antese. Portanto, esta informação pode ser relevante para estudos posteriores, quanto à maturidade dos estigmas, com intuito de otimizar a produção de sementes híbridas da cultivar BRS Nagai, pois, conforme Marcos-Filho (2015), a eficiência no processo de polinização, referente ao desenvolvimento da tecnologia da produção de sementes híbridas, permite estabelecer bases para maximizar a produção de sementes. A partir de dados observacionais ainda não publicados verificou-se que os estigmas mostraram-se viáveis mesmo quando polinizados três dias após a emasculação.

Em cada colheita, os frutos foram caracterizados subjetivamente, adaptando-se a metodologia de Dias et al. (2006) de acordo com a coloração externa (figura 2).

Frutos colhidos aos 30 DAP apresentavam-se completamente verdes (figura 2 A), com mucilagem consistente e sementes imaturas que eram cortadas pela lâmina da faca quando os frutos são partidos transversalmente ao meio. Aos 40 DAP os frutos estavam completamente verdes (figura 2 B), porém aproximadamente 60% deles tinham suas sementes fisicamente bem formadas, não sendo cortadas pela lâmina da faca, enquanto os demais se assemelhavam com a classificação anterior. Os frutos colhidos aos 50 DAP apresentavam-se em início de amadurecimento, com coloração transitória do verde para o vermelho (figura 2 C). Frutos colhidos aos 60 e 70 DAP apresentavam pericarpo completamente vermelho e consistência firme (Figura 2 D e E).

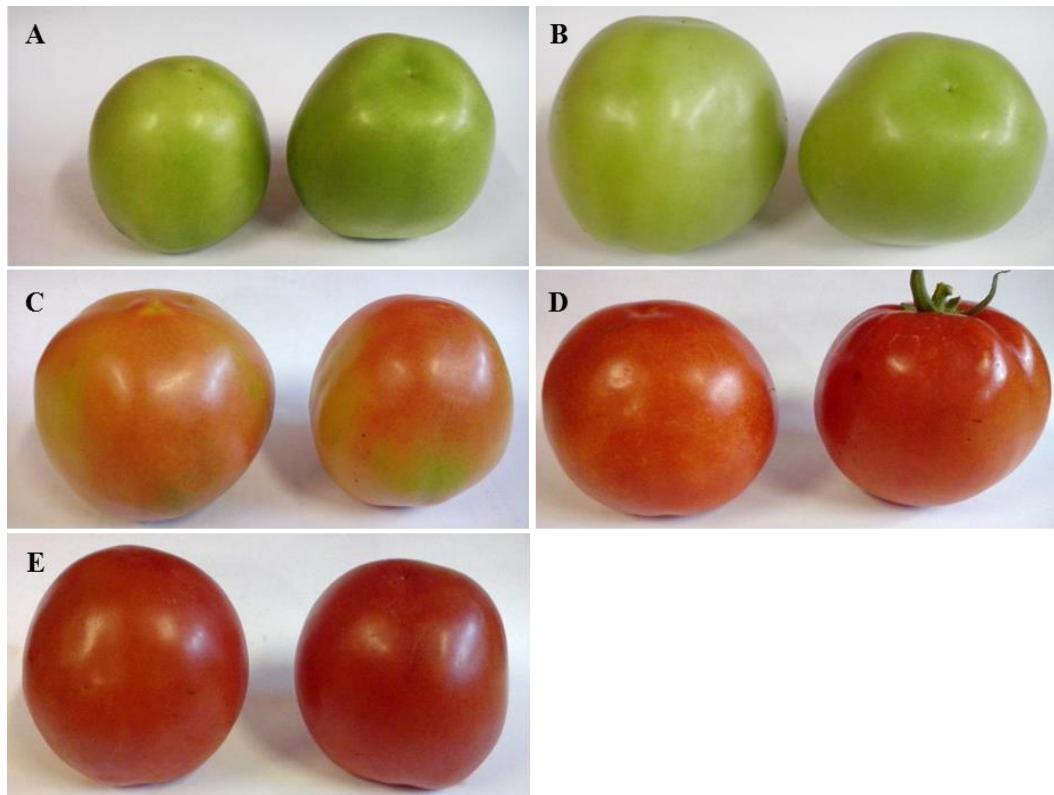


Figura 2. Aparência externa de frutos de tomate colhidos aos 30 (A), 40 (B), 50 (C), 60 (D) e 70 (E) dias após a polinização manual para produção de sementes do híbrido BRS Nagai. Brasília-DF.

Os frutos colhidos aos 80 DAP apresentavam-se extremamente maduros, com tecido flácido e apodrecido (figura 3 A) além da ocorrência de viviparidade, ou seja, germinação precoce antes da dispersão da planta-mãe, em quase todos os frutos (figura 3 B).

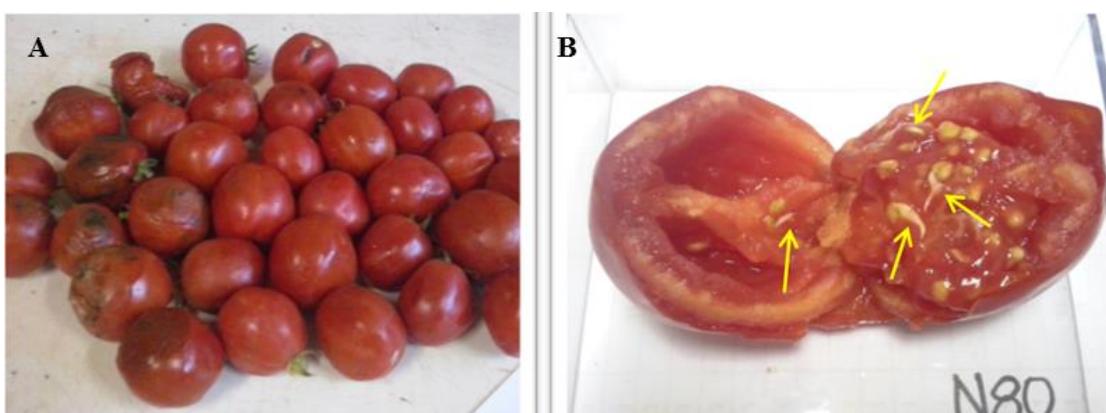


Figura 3. Aparência externa (A) e sementes geminadas dentro do fruto (B) de tomates colhidos aos 80 dias após a polinização manual para produção de sementes do híbrido BRS Nagai. Brasília DF.

Quando as sementes foram extraídas e colocadas para fermentar houve aumento no número de sementes germinadas e, portanto, optou-se pelo descarte das mesmas. No entanto, em dados ainda não publicados, verificou-se que quando as sementes são produzidas em épocas mais frias, frutos colhidos com até 90 dias após a polinização não apresentam germinação precoce das sementes. Ribeiro (2004) avaliando o rendimento e a qualidade de sementes de tomate variedade Santa Clara, observaram que os frutos colhidos em estádios mais avançados de desenvolvimento, apresentavam o pericarpo flácido e presença de viviparidade.

Durante a maturação de frutos carnosos, a concentração de solutos no seu interior gera um ambiente cuja concentração osmótica é capaz de impedir que as sementes absorvam água e atinjam potencial hídrico suficiente para desencadear o processo de germinação (DIAS, 2009) associado à presença de ácido abscísico (ABA) nas sementes, que contribui para evitar viviparidade (MARCOS-FILHO, 2015). No entanto, a ocorrência de viviparidade é característica de sementes ABA-deficientes (TAIZ; ZEIGER, 2013) devido inclusive, ao declínio natural que ocorre na maturidade, aliado ao fato da redução do potencial osmótico no interior do fruto permitindo que as sementes entrem em contato com a água e germinem (BEWLEY et al, 2013).

A secagem de sementes de diferentes estádios de maturação resultou em valores de umidade muito próximos do desejado para o armazenamento (6%), conforme recomenda Nascimento (2008) não apresentando diferenças significativas, variando de 6,8 a 7,1%. Isto é um fator importante para a execução dos testes e para avaliação do rendimento e qualidade fisiológica, considerando que a uniformidade do grau de umidade é imprescindível para a padronização das avaliações e obtenção de resultados consistentes (GAGLIARD; MARCOS-FILHO, 2011; KIKUTI; MARCOS-FILHO, 2012).

A tabela 1 apresenta o resumo da análise de variância demonstrando diferenças significativas em todas as variáveis.

Tabela 1. Resumo da análise de variância da produção e qualidade fisiológica de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, colhidas aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília-DF.

FV	GL	Quadrado médio				
		Rst	Nsf	EP	MS	TA
Bloco	3	0,001 ^{ns}	1,98 ^{ns}	0,31 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,67 ^{ns}
Época	4	0,34 [*]	1027,39 [*]	56,62 [*]	5,45 [*]	406,96 [*]
Resíduo	12	0,003	4,26	0,38	0,01	2,88
CV%		5,03	8,07	10,44	2,38	3,32

FV	GL	Quadrado médio				
		G	PC	IVG	EAS	PMS
Época	4	60,77 [*]	74,69 [*]	27,22 [*]	6718,05 [*]	7,04 [*]
Resíduo	15	1,06	0,02	0,11	24,05	0,01
CV%		14,59	2,38	10,14	10,12	2,02

FV - Fontes de variação; Rst - Rendimento de sementes; Nsf - Número de sementes por fruto; TA - Teor de água; MS - Massa seca das sementes; G - Germinação; PC - Primeira contagem de germinação; IVG - Índice de velocidade de germinação; EAS – Envelhecimento acelerado em solução saturada; PMS - Peso de 1000 sementes; EP - Emergência de plântulas; ^{ns} - não significativo, ^{*} - significativo a 5% pelo teste F.

Quando os dados foram submetidos à análise de regressão ajustaram-se aos modelos testados conforme a tabela 2 e por isso, a escolha do modelo para cada variável foi baseado na significância dos parâmetros e nos valores do R^2 (ALVAREZ V.; ALVAREZ, 2006).

Tabela 2. Resumo da análise de regressão das variáveis relativas à produção e à qualidade fisiológica de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF.

Parâmetros avaliados	Quadrado médio		
	Linear	Quadrática	Cúbica
Rendimento de sementes	5,4 ^{**}	0,3 [*]	1,3 [*]
Número de sementes por fruto	3178,1 ^{**}	237,6 ^{**}	363,4 ^{**}
Teor de água das sementes	1154,9 ^{**}	418,6 ^{**}	21,6 [*]
Massa seca das sementes	15,6 ^{**}	6,5 ^{**}	0,4 [*]
Porcentagem de germinação	26832,4 ^{**}	3150,0 ^{**}	435,6 [*]
Primeira contagem de germinação	22278,4 ^{**}	2633,1 ^{**}	2689,6 ^{**}
Índice de velocidade de germinação	88,7 ^{**}	9,5 ^{**}	5,87 ^{**}
Envelhecimento acelerado	23040,0 ^{**}	1045,8 [*]	1440,0 ^{**}
Peso de mil sementes	19,9 ^{**}	6,9 ^{**}	1,17 ^{**}
Emergência de plântulas	23280,6 [*]	385,87 [*]	1960,0 ^{**}

^{ns, **} e ^{*} correspondem a significativo a 1 e 5% respectivamente pelo teste t.

Na figura 4 estão plotados os dados médios referentes ao rendimento, em quilo por tonelada de fruto (Kg t^{-1}) e o número de sementes por fruto.

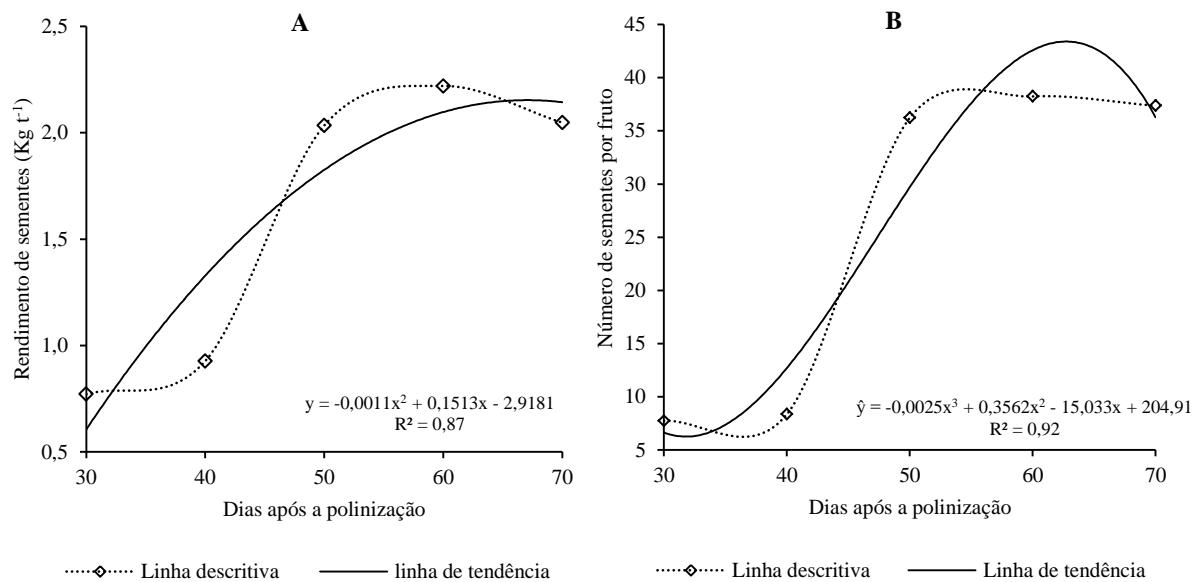


Figura 4. Rendimento de sementes (A) e número de sementes (B) oriundas de frutos de tomate colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização para a produção de sementes do híbrido BRS Nagai. Brasília-DF.

Conforme as linhas de tendência, o máximo rendimento e número de sementes são obtidos por volta dos 69 e 63 DAP, com valores em torno de $2,8 \text{ Kg t}^{-1}$ de fruto e 38 sementes por fruto, respectivamente. Sementes colhidas aos 30 e 40 DAP apresentaram respectivamente os menores valores de rendimento ($0,7$ e $0,9 \text{ Kg. t}^{-1}$). Houve um aumento acentuado na produção a partir dos 40 DAP e aquelas colhidas aos 50 e 70 DAP produziram simultaneamente $2,0 \text{ Kg t}^{-1}$ de fruto. Enquanto que, o maior rendimento de sementes observado ocorreu quando os frutos foram colhidos aos 60 DAP ($2,2 \text{ Kg. t}^{-1}$). Os valores de rendimento das três últimas épocas estão dentro do mínimo esperado, pois, geralmente a produtividade ou relação fruto/semente em híbridos varia de 0,2% a 1,0%, ou seja, para cada tonelada de fruto, obtém-se 2 a 10 kg de sementes, dependendo da cultivar (EMBRAPA, 2006).

Frutos colhidos a partir dos 50 até 70 DAP praticamente não apresentaram diferenças quanto ao número de sementes. Pela análise descritiva verifica-se que sementes colhidas aos 70 DAP tendem a diminuir o rendimento e isto pode estar relacionado ao início do processo deterioração, pois, a semente cessou completamente a conexão vascular com a planta/fruto, tornando-se fisiologicamente independente (MARCOS-FILHO, 2015) acarretando assim na

diminuição do peso e consequentemente, do rendimento. A partir de dados observacionais verificou-se que quando flores do parental feminino eram marcadas após a antese, tendo suas sementes extraídas, havia um número bem maior de sementes em comparação às obtidas do cruzamento, sugerindo a ocorrência de algum tipo de incompatibilidade entre os parentais, e por isso poucos óvulos podem estar sendo fecundados.

A deposição de matéria seca aumentou expressivamente dos 30 ($1,6 \text{ mg semente}^{-1}$) aos 40 ($3,6 \text{ mg semente}^{-1}$) dias após a polinização, refletindo ao mesmo tempo no aumento do peso de mil sementes (figura 5 A e B). Isto pode inferir que, nesse período, estavam ocorrendo as fases referentes à histodiferenciação e morfogênese, pois, elas acontecem concomitantes ao acúmulo de matéria seca (BEWLEY et al., 2013). Além disso, o peso das sementes está relacionado à quantidade de reservas armazenadas e sementes de uma mesma espécie com maior peso, apresentam qualidade fisiológica superior (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

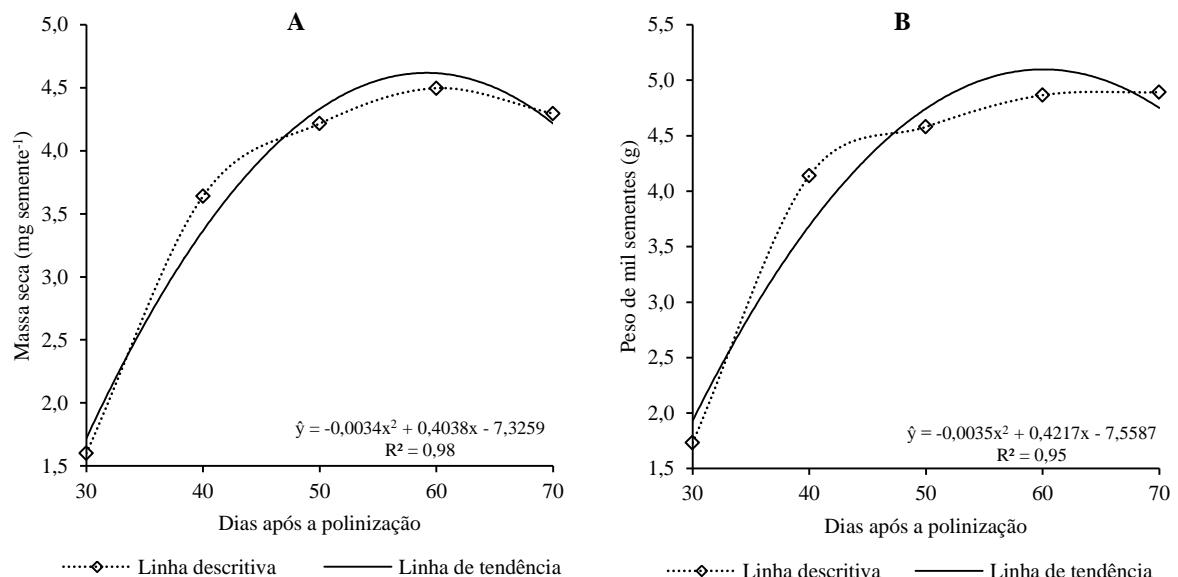


Figura 5. Massa seca (A) e peso de mil sementes (B) oriundas de frutos de tomate colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização para a produção de sementes do híbrido BRS Nagai. Brasília-DF.

Os maiores valores de massa seca e peso de mil sementes foram de aproximadamente $4,5 \text{ mg semente}^{-1}$ e $4,9 \text{ g}$, respectivamente. Sementes colhidas aos 30 e 40 DAP apresentaram os menores valores e desta forma, verifica-se que a colheita precoce resultou em decréscimo na produção devido o desenvolvimento incompleto e ao baixo acúmulo de reservas.

As linhas de tendência ajustadas indicam que o máximo conteúdo de matéria seca e peso de mil sementes ocorre aos 59 e 60 dias após a polinização, respectivamente. Além disso, é possível observar que a partir dos 70 DAP há tendência de diminuição no teor de massa seca, corroborando que a ocorrência de diminuição do rendimento pode estar relacionado ao fato das sementes terem atingido a maturidade, havendo aumento da taxa respiratória, dando início ao processo de deterioração (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

Dias et al. (2006), avaliando a maturação de sementes de tomate variedade Santa Clara, verificaram que o maior conteúdo de matéria seca das sementes ocorreu quando os frutos da posição proximal foram colhidos aos 80 dias após a antese.

Consoante ao acúmulo de matéria seca observa-se que mudanças no conteúdo de água ocorreram de forma inversa, havendo declínio no grau de umidade das sementes, com o aumento dos dias para a colheita dos frutos, chegando ao mínimo teor de água, aproximadamente 60 dias após a polinização (figura 6), comprovando-se a redução do grau de umidade das sementes ao longo do desenvolvimento, decrescendo de 68% (30 DAP) para 43% (60 DAP).

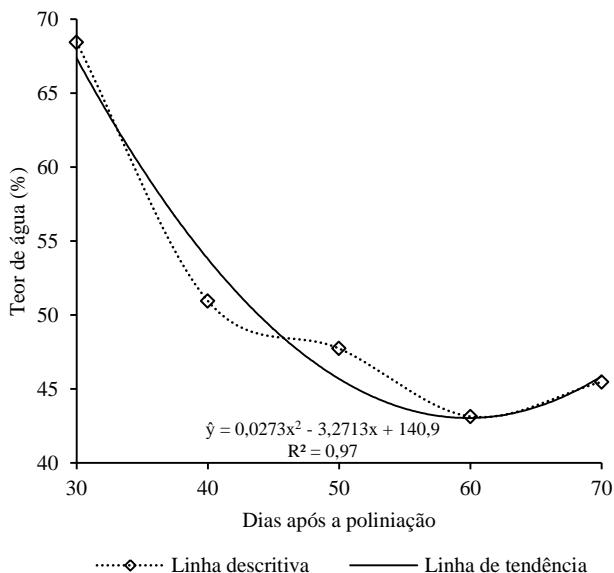


Figura 6. Teor de água das sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília-DF.

Observa-se ainda a partir de análise descritiva que o teor de água volta a aumentar nas sementes colhidas aos 70 DAP, o que remete ao surgimento de viviparidade nas sementes colhidas aos 80 DAP. Segundo Bewley et al. (2013), o alto teor de água no início da maturação é necessário tanto para a translocação de metabólicos da planta para as sementes,

quanto para a expansão celular, além de ser importante devido à necessidade de as sementes sintetizarem e metabolizarem materiais de reserva que ocorrem em meio aquoso.

Esses resultados estão de acordo com a afirmação de Marcos-Filho (2015) que, em frutos carnosos, o conteúdo máximo de massa seca é alcançado quando o teor de água das sementes é de aproximadamente 40%. Porém, esses valores são considerados relativamente altos, fato também relatado por diversos autores em trabalhos com espécies de frutos carnosos como pimentão (DEMIR; ELLIS, 1992), tomate (DEMIR; ELLIS, 1992; VALDES; GRAY, 1998; DEMIR; SAMIT, 2001; DIAS et al., 2006), berinjela (DEMIR et al., 2002) e pimenta dedo de moça (JUSTINO et al., 2015).

É importante destacar que a partir do estádio de máximo acúmulo de matéria seca, as sementes não mais recebem fotoassimilados e se tornam independentes da planta-mãe. A partir desse ponto, quando o conteúdo de água ainda é muito elevado, como relatado anteriormente, o metabolismo permanece ativo (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012) e aquelas que permanecem muito tempo no fruto, entram em contato com a água e então ocorre viviparidade.

Verifica-se que sementes colhidas aos 30 DAP não possuem capacidade germinativa (figura 7), sendo totalmente inviáveis, devido provavelmente à interrupção precoce durante o processo de formação aliado ao fato de que embriões pouco desenvolvidos não toleram a dessecação (BEWLEY et al., 2013), pois, mesmo as sementes ortodoxas têm períodos de sensibilidade à secagem durante a formação, tornando-se incapazes de germinar (BARBEDO et al., 2013; MARCOS-FILHO, 2015). A capacidade de germinação inicia-se aos 40 DAP (33%) apresentando aumento acentuado a partir desta época. As sementes das três últimas épocas (50, 60 e 70 DAP) apresentaram valores de germinação (86, 96 e 97%) respectivamente superiores ao valor especificado como padrão mínimo (80%) para sementes fiscalizadas e certificadas de tomate.

O valor máximo de germinação (97%) ocorre aos 62 dias após a polinização conforme sugere a linha de tendência, evidenciando que sementes maduras têm percentual de germinação maior que sementes imaturas (BARBEDO et al., 2004) e a manifestação do potencial fisiológico está diretamente relacionada à completude do processo de maturação das sementes. Neste caso, verifica-se que o maior percentual de germinação ocorreu três dias após, praticamente coincidindo, com o máximo conteúdo de matéria seca.

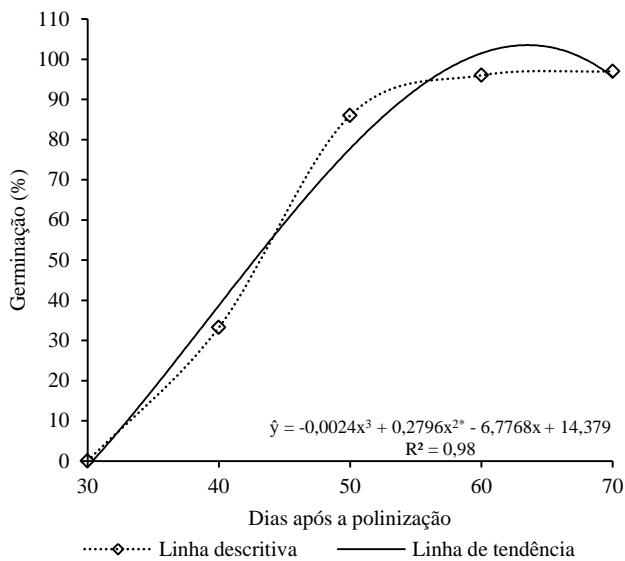


Figura 7. Porcentagem de germinação de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília-DF.

Vidgal et al. (2006) verificaram que sementes de tomate da variedade Kadá, Grupo Santa Cruz, apresentaram os valores máximos de germinação e conteúdo de matéria seca quando colhidos aos 50 e 60 dias após a antese. Dias et al. (2006) observaram que a germinação máxima de sementes de tomate variedade Santa Clara, grupo Santa Cruz, extraídas do primeiro e segundo racimos ocorreu aos 75 dias após a antese, cinco dias antes que ocorresse o maior acúmulo de matéria seca. No entanto, Demir e Ellis (1992) observaram, em dois anos de experimento, que o início da capacidade de germinação das sementes de tomate ocorreu um pouco antes, no primeiro, e um pouco depois, no segundo ano, ao máximo acúmulo de matéria seca, reforçando a disparidade sobre a identificação do ponto de maturidade fisiológica através do conteúdo de matéria seca.

Pereira (2004) constatou que a qualidade fisiológica máxima para as sementes de tomate são obtidas de frutos colhidos aos 70 dias após a antese, ocasião em que a maioria dos frutos apresentavam 90% do pericarpo vermelho. Demir e Samit (2001) verificaram que sementes extraídas de frutos colhidos aos 70 dias após a antese, com coloração vermelha e pericarpo firme, apresentaram máxima qualidade fisiológica. Por outro lado Valdes e Gray (1998) verificaram que a germinação das sementes de tomate foi máxima em frutos com coloração externa ainda verde, mas com coloração interna já avermelhada, permanecendo elevada até o estádio completamente maduro.

Com base na análise descritiva das linhas de tendência obtidas, verifica-se que sementes colhidas aos 40 DAP possuem menor vigor, verificados nos testes de velocidade (primeira contagem, IVG e emergência), indicando que, embriões muito jovens, ou seja, colhidos precocemente, levam mais tempo para completarem a germinação do que os mais velhos, pois são mais dependentes do meio nutritivo para a sobrevivência (BEWLEY et al., 2013) (figura 8 A e B). Há uma tendência de aumento progressivo na qualidade das sementes a partir dos 40 DAP, no entanto, aparentemente, o vigor começa a reduzir quando as sementes são colhidas com 70 DAP.

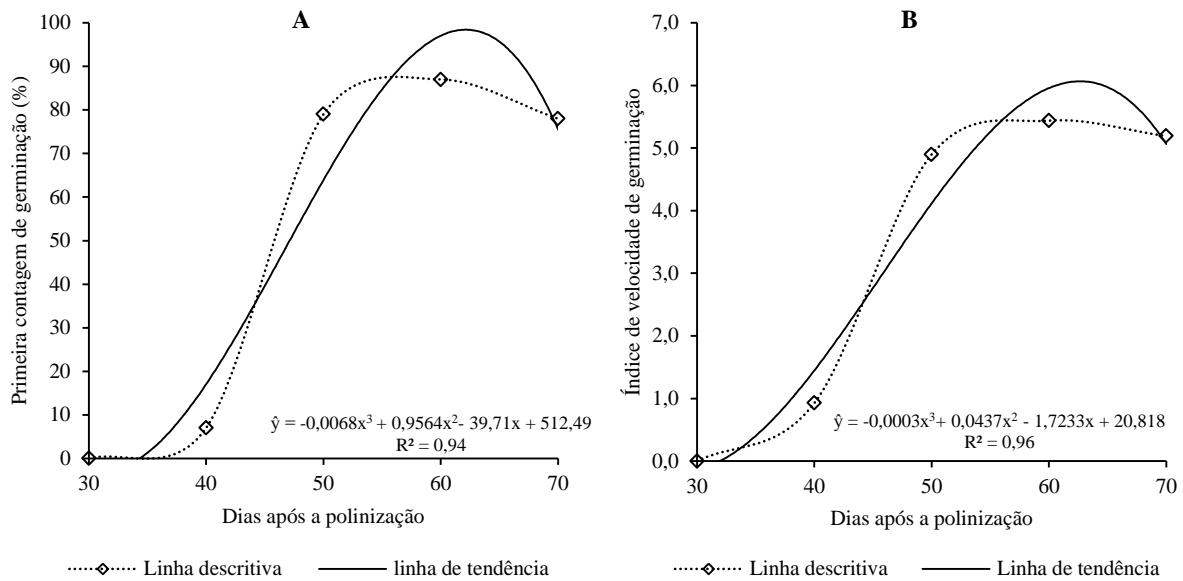


Figura 8. Primeira contagem de germinação (A) e índice de velocidade de germinação (B) de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília-DF.

Resultado similar foi observado no teste de emergência de plântulas, onde sementes colhidas aos 40 DAP apresentaram os menores percentuais de emergência (7,5 %). No entanto, verifica-se que sementes colhidas aos 50 DAP apresentaram valor de emergência inferior em relação àquelas colhidas nos dois últimos estádios (figura 9 A). Quando as sementes foram submetidas ao envelhecimento acelerado, o percentual de germinação foi reduzido, porém, as sementes em estádios mais avançados de maturação (50, 60 e 70 DAP), mostraram-se mais resistentes à condição de estresse (figura 9 B).

De modo geral, os resultados dos testes de primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado e emergência de plântulas foram concordantes quanto à indicação do momento em que o vigor das sementes foi máximo, 64 dias após a polinização, próximo

do período de ocorrência da máxima germinação (62 DAP). Enquanto que a velocidade máxima de germinação (IVG) ocorreu um pouco mais tarde, ou seja, aos 69 DAP. Nota-se, no entanto, que o máximo vigor ocorreu um pouco depois as sementes terem atingido a capacidade máxima de germinação e o máximo conteúdo de matéria seca.

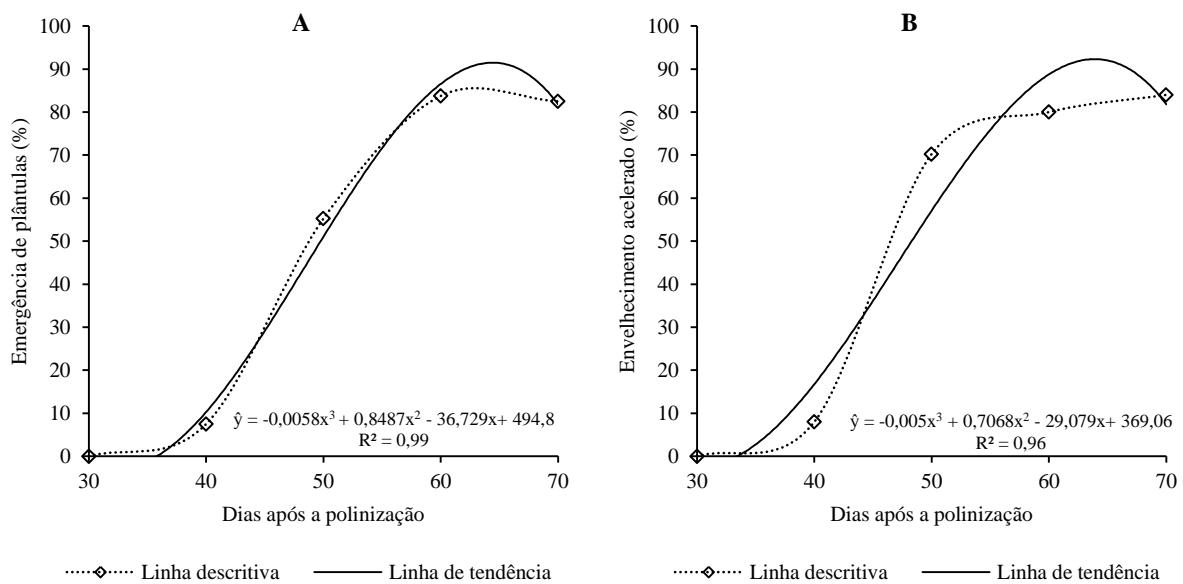


Figura 9. Emergência de plântulas (A) e envelhecimento acelerado (B) de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília-DF.

Estes resultados estão acordo com Tekrony e Egli (1997) quando afirmaram que em sementes de frutos carnosos, como o tomate, a germinação e o vigor máximos são atingidos após o máximo conteúdo de matéria seca, ao contrário do que ocorre em espécies de frutos secos, como os cereais, em que a qualidade fisiológica máxima coincide ou ocorre um pouco antes do acúmulo máximo de matéria seca.

Deste modo, observa-se que a qualidade fisiológica das sementes da cultivar BRS Nagai é mais acentuada quando os frutos se apresentam com pericarpo completamente vermelho e firme. Sementes colhidas quando o fruto encontra-se em fase transição de cor (50 DAP), praticamente não prejudica o rendimento, apresenta percentual de germinação acima de 80%, porém, pelos testes de vigor aplicados, as sementes apresentam qualidade reduzida, não sendo viável a extração logo após a colheita, pois, o baixo vigor pode estar relacionado a uma colheita precoce.

Para espécies de frutos carnosos, como as solanáceas e cucurbitáceas, o processo de maturação das sementes continua após a colheita. Na prática, é preferível que os frutos sejam colhidos antes do completo amadurecimento, pois, deixá-los na planta por um período tão longo, pode ocorrer viviparidade (BARBEDO et al., 1994; VIDGAL et al., 2006). Portanto, é provável que frutos colhidos quando ainda estejam em coloração transitória do verde para o vermelho, neste caso, aos 50 DAP, possam permanecer por um período de repouso pós-colheita, tendo suas sementes extraídas somente após a completa mudança de cor.

Vidgal et al. (2006), por exemplo, mostraram que quando frutos de tomate colhidos precocemente, cuja coloração externa apresentava-se transitória, a qualidade fisiológica das sementes foi elevada após o armazenamento por 12 dias, e a completa mudança de cor. Isto, portanto poderá permitir a realização de um menor número de colheitas, cujos frutos em diferentes estádios de maturação podem ser submetidos ao armazenamento, extraíndo-se as sementes somente após a completa maturação.

1.4. CONCLUSÕES

Os maiores rendimentos de sementes são obtidos quando os frutos são colhidos a partir de 60 dias após a polinização, não devendo ultrapassar 70 DAP.

Sementes do híbrido BRS Nagai apresentam melhor qualidade fisiológica quando os frutos são colhidos logo após apresentarem pericarpo completamente vermelho e firme.

A máxima germinação e vigor das sementes ocorreram poucos dias após o maior conteúdo de matéria seca.

1.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVAREZ V., V. H; ALVAREZ, G. A. M. Comparações de médias ou testes de hipóteses? Contrastes! **Boletim Informativo da SBCS**, v. 31, p. 24-34, 2006.

BARBEDO, C.J.; NAKAGAWA, J.; BARBEDO, A.S.C.; ZANIN, A.C.W. Influência da idade e do período de repouso pós-colheita de frutos de pepino cv, Rubi na qualidade fisiológica de sementes. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.12, n.2, p.14-18, 1994

BARBEDO, A. S. C. et al. Yield and quality of carrot seeds, cv. Brasília, as a result of plant population, gibberellic acid and stage of maturity. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 32, n. 1, p. 119-134, Apr. 2004. DOI <https://doi.org/10.15258/sst.2004.32.1.13>

BARBEDO, C.J.; CENTENO, D.C.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Do recalcitrant seeds really exist? **Hoehnea**, v.40, p.583-593, 2013.
<http://www.scielo.br/pdf/hoehnea/v40n4/01.pdf>

BEWLEY, J.D.; BRADFORD, K.J.; HILROST, H.W.M.; NONOGAKI, H. **Seeds: physiology of development, germination and dormancy**. 3. ed., New York: Springer, 2013. 392 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009, 395p.
http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/2946_regras_analise_sementes.pdf

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

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5a Ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590p.

DEMIR I e ELLIS, R. H. Development of pepper (*Capsicum annuum* L.) seed quality. **Annals of Applied Biology** 121:385-399. 1992.

DEMIR I, MAVI K, SERMENLI, T.; OZCOBAN, M. Seed development and maturation in aubergine (*Solanum melongena* L.). **Gartenbauwissenschaft** 67:148-154, 2002.
https://www.researchgate.net/publication/285885838_Seed_development_and_maturation_in_aubergine_Solanum_melongena_L

DEMIR, I.; ELLIS, R. H. Changes in seed quality during seed development and maturation in tomato. **Seed Science Research**. Wallingford, v.2, p.81-87, 1992. DOI <https://doi.org/10.1017/S0960258500001173>

DEMIR, I.; SAMIT, Y. Seed quality in relation to fruit maturation and seed dry weight during development in tomato. **Seed Science & Technology** 29:453-62, 2001.

DIAS, D.C.F.S. **Desenvolvimento, maturação e colheita de sementes de hortaliças**. In: Nascimento, W. M. (Ed.). *Tecnologia de sementes de hortaliças*. Brasília, Embrapa Hortalícias, p. 11-74, 2009.

DIAS, D.C.F.S.; RIBEIRO, F.P.; DIAS, L.A.S.; SILVA, D.H.; VIDIGAL, D.S. Tomato seed quality in relation to fruit maturation and post-harvest storage. **Seed Science and Technology**, v. 34, n.3, p.691-699, 2006.

https://www.researchgate.net/publication/233615590_Tomato_seed_quality_in_relation_to_fruit_maturation_and_post-harvest_storage

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Cultivo de Tomate para Industrialização**. Brasília: 2^a Edição. Versão Eletrônica, Dez.2006. Disponível em: https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial_2ed/coeficientestecnicos.htm

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia** 35: 1039-1042. 2011.

GAGLIARDI, B.; MARCOS-FILHO, J. Relationship between germination and bell pepper seed structure assessed by the X-ray test. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.68, n.4, p.411-416, 2011. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90162011000400004

GEORGE, R.A.T. **Vegetable seed production**. London: CABI Publishing, 2.ed. 1999. 219p.

GODOY, M. C. GODOY, A. R.; CARDOSO, A. I. I. Influência do estádio de maturação da flor na produção de sementes de pimentão com polinização manual. **Bragantia**, Campinas, v.65, n.1, p.83-87, 2006. <http://www.scielo.br/pdf/brag/v65n1/29041.pdf>

JUSTINO, Elaine V et al. Determinação da maturidade fisiológica de sementes de pimenta dedo de moça *Capsicum baccatum* var. *pendulum*. **Hortic. Bras.** [online]. 2015, vol.33, n.3, pp.324-331. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-05362015000300324&script=sci_abstract&tlang=pt

KIKUTI, A. L. P.; MARCOS-FILHO, J. Testes de vigor em sementes de alface. **Horticultura Brasileira**, 30, 2012. 44-50. <http://www.scielo.br/pdf/hb/v30n1/v30n1a08>

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

MELO, P. C. T.; MELO, A. M. T.; NASCIMENTO, W. M.; FREITAS, R. A. **Produção de sementes de tomate**. In: NASCIMENTO, W.M. (Ed.). *Produção de Sementes de Hortalícias*. Brasília 342p. 2014.

MELO, P. C. T. **Produção de sementes de tomate**: cultivares de polinização aberta e híbridos. In: *Curso sobre tecnologia de produção de sementes de hortaliças*, 5., 2005, Brasília. Palestras...Brasília: EMBRAPA Hortalícias, 2005. 1 CD Rom.

NASCIMENTO, W. M.; DIAS, D. C. F.; FREITAS, R. A. **Produção de sementes de pimentas**. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v. 27, n. 235, p. 30-39, 2006.

NASCIMENTO, W. M. **Produção de sementes de tomate**. In: curso sobre tecnologia de produção de sementes de hortaliças, 4., 2004, Brasília. Palestras... Brasília: EMBRAPA Hortaliças, 2004. 1 CD Rom.

PANOBIANCO, M.; MARCOS-FILHO, J. Envelhecimento acelerado e deterioração controlada em sementes de tomate. **Scientia Agricola**, v.58, n.3, p.525-531, jul./set. 2001. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-90162001000300014&script=sci_abstract&tlang=pt

RIBEIRO, F. P. Produção e qualidade de semente de tomate em função do estádio de maturação do fruto e da ordem de frutificação na planta. 101f. **Dissertação** (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

SHAKYA, S. M.; SCOTT, J. W. Influence of flower maturity and environment on hybrid and selfed seed production of several tomato genotypes. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 108, n. 5, p. 875-878, 1983.

SOUZA, T.V. et al. Época de colheita e qualidade fisiológica de sementes de coentro produzidas no Norte de Minas Gerais. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.13, especial, p.591-597, 2011. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-05722011000500015&script=sci_abstract&tlang=pt

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.

TEKRONY, D. M.; EGLI, D. B. **Accumulation of seed vigour during development and maturation**. In: ELLIS, R. H.; BLACK, M.; MURDOCH, A. J. (Ed.). Proceedings of the fifth international workshop on seeds. Reading, 1995. P. 369-384, 1997.

VALDES V. M.; GRAY, D. The influence of stage of fruit maturation on seed quality in tomato (*Lycopersicum lycopersicum* (L.) Karsten). **Seed Science & Technology**, 26:309-318. 1998.

VIDIGAL, D. S.; DIAS, D. C. F. S.; NAVEIRA, D. S. P. C.; ROCHA, F. B.; BHERING, M. C. Qualidade fisiológica de sementes de tomate em função da idade e do armazenamento pós-colheita dos frutos. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 28, n. 3, p. 87-93, 2006. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222006000300013

CAPÍTULO II

**ATIVIDADE RESPIRATÓRIA E ENZIMÁTICA DE SEMENTES HÍBRIDAS DE
TOMATE EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO**

RESUMO

Desde a maturidade fisiológica até a semeadura as sementes estão sujeitas à perda de qualidade em virtude das mudanças fisiológicas e bioquímicas que elas possam ser eventualmente submetidas. Desta forma, monitorar essas alterações durante o processo de maturação das sementes dentro dos frutos é uma estratégia para identificar o ponto em que elas atingem sua máxima qualidade e estão aptas a serem colhidas. Apesar da tomada de decisão ser realizada principalmente com base nos resultados dos testes de germinação, vigor e acúmulo de massa seca das sementes, outros aspectos podem ainda ser estudados como, por exemplo, os sistemas enzimáticos que atuam como mecanismos de reparo em resposta ao processo de deterioração natural que ocorre após a colheita. Partindo desses pressupostos objetivou-se com este trabalho avaliar as atividades respiratórias e enzimáticas em sementes de tomate (híbrido BRS Nagai) obtidas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização (DAP). As sementes foram submetidas aos testes de germinação, primeira contagem, IVG, condutividade elétrica, além da atividade respiratória e das enzimas antioxidativas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidases (POX) e ascorbatoperoxidase (APX). Os dados foram submetidos à análise de variância e regressão. Os resultados de condutividade encontrados no presente trabalho indicam que, nas sementes imaturas (30 e 40 DAP), ainda se mostra deficiente a organização das membranas celulares, porém, o aumento dos dias para colheita, contribuiu para redução da lixiviação de solutos. Já, a atividade respiratória revelou que sementes colhidas aos 50 DAP, apesar de apresentarem resultados de germinação e vigor próximos das sementes em estádio de maturação mais avançado, apresentou baixa atividade respiratória, indicando vigor reduzido. Apesar das sementes oriundas de frutos colhidos aos 50 DAP apresentarem um sistema de membranas praticamente bem estruturado, verificou-se que essas sementes estão mais propensas à deterioração, devido a alta atividade das enzimas, SOD, CAT e APX. Os resultados obtidos no presente trabalho reforçam a necessidade de se conhecer o ponto de maturidade fisiológica, bem como a melhor época de colheita dos frutos para obtenção de sementes com máxima qualidade. Portanto, a atividade das enzimas antioxidativas em sementes de tomate com estádio de maturação mais avançado (50, 60 e 70 DAP), apresentou comportamento mais sincronizado, sendo mais eficientes na remoção de compostos reativos. No entanto, indicou que aquelas colhidas aos 50 DAP estão mais sujeitas à deterioração.

Palavras-chaves: *Solanum lycopersicum*, maturação fisiológica, enzimas antioxidantes

ABSTRACT

From physiological maturity to sowing, the seeds may display loss of quality due to the physiological and biochemical changes that may occur to them. Therefore, monitoring these changes during the seed maturation process is a strategy to identify the point at which they reach their maximum quality and when they are in the most adequate point to be harvested. Although decision-making is performed mainly based on the results of germination, vigor and dry mass accumulation tests, other aspects can still be studied such as, for example, enzymatic systems associated with repair mechanisms and their responses to the process of natural deterioration that occurs after harvesting. The present study aimed to evaluate the respiratory and enzymatic activities in tomato seeds (hybrid BRS Nagai) obtained from fruits harvested at 30, 40, 50, 60 and 70 days after pollination (DAP). The seeds were submitted to germination, first counting, germination rate index (IVG), electrical conductivity, as well as the respiratory activity and the antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidases (POX) and ascorbate peroxidase (APX). The results were submitted to analysis of variance and regression. The results of conductivity found in this work indicate that, in the immature seeds (30 and 40 DAP), the organization of the cell membranes was still deficient, but the increase in days to harvest contributed to the reduction of solute leaching. However, respiratory activity showed that seeds harvested at 50 DAP, despite presenting germination and vigor results close to the seeds at a more advanced maturation stage, displayed low respiratory activity, indicating reduced vigor. Although seeds from fruits harvested at 50 DAP have an apparently well-structured membrane system, it was found that these seeds are more prone to deterioration, due to the high activity of the enzymes SOD, CAT, and APX. The results obtained in the present work reinforce the need to know the exact point of physiological maturity, as well as the best harvest time in order to obtain seeds with the highest quality. Therefore, the activity of the antioxidative enzymes in tomato seeds with more advanced maturation stage (50, 60 and 70 DAP) presented a more synchronized behavior, being more efficient in the removal of reactive compounds. However, it indicated that those seeds harvested at 50 DAP are more prone to deterioration.

Key words: *Solanum lycopersicum*, physiological maturation, antioxidant enzymes.

2.1. INTRODUÇÃO

Estudos relacionados à maturação e colheita das sementes são importantes, uma vez que estas alcançam sua qualidade máxima no campo. O melhor estádio de colheita minimiza os efeitos da deterioração, provocados pela permanência prolongada do fruto na planta, além de aumentar a produtividade das sementes, visto que a colheita precoce pode acarretar em grande proporção de sementes imaturas (VIDIGAL et al., 2009; RICCI et al., 2013).

A maturidade fisiológica identifica o momento onde as sementes se tornam fisiologicamente independentes e não mais ocorre transferência de matéria seca. No entanto, a partir desse momento a qualidade da semente só poderá ser mantida ou decrescer.

Recentemente a pesquisa passou a considerar a possibilidade de identificar a maturidade mediante a utilização de marcadores bioquímicos. Vidigal et al. (2009), por exemplo, estudaram perfis isoenzimáticos durante a maturação de sementes de pimenta e verificaram que a germinação e vigor foram mais elevados, assim como houve maior destaque na atividade de enzimas envolvidas na respiração e remoção de agentes tóxicos (ácool desidrogenase) e proteção contra radicais livres (superóxido dismutase) em sementes colhidas próximo à maturidade (MARCOS-FILHO, 2015).

De acordo com Marcos-Filho (2005), a deterioração é um processo determinado por uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas, físicas e citológicas, com inicio a partir da maturidade, e ocorre de maneira progressiva, determinando a queda da qualidade até a morte da semente. As principais alterações relacionadas ao processo de deterioração são degradação e inativação de enzimas (COPELAND; McDONALD, 2001), redução da atividade respiratória (Ferguson et al., 1990) e perda de integridade das membranas celulares (McDONALD, 1999).

Outros processos de oxidação são fatores importantes na elucidação dos eventos ocorridos durante a maturação. As sementes passam por processos inevitáveis de formação de radicais livres e espécies reativas de oxigênio através de desequilíbrios no transporte de elétrons da cadeia respiratória (KRANNER; BIRTIC, 2005). Portanto, durante a formação de sementes, os sistemas antioxidantes precisam estar presentes e ter eficiência. De acordo com o modelo de Barbedo et al. (2013), sementes ortodoxas imaturas podem ter falhas nos sistemas antioxidantes, principalmente em sua fase de intolerância à dessecação.

Por meio da detecção de alterações respiratórias e na composição proteica e de enzimas específicas pode-se acompanhar o controle da qualidade das sementes, permitindo diagnosticar o estado fisiológico e em determinados casos, inferir sobre as causas da perda de

sua viabilidade e vigor. Considerando que a respiração e a atividade enzimática são fundamentais para o desenvolvimento normal do processo de germinação e preparo para o crescimento subsequente do embrião, objetivou-se com este trabalho avaliar as alterações respiratórias e enzimáticas ocorridas em sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, em diferentes estádios de maturação, relacionando essas variáveis com a qualidade fisiológica das sementes.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

Sementes do híbrido BRS Nagai foram produzidas na Embrapa Hortalícias, Brasília-DF no período de fevereiro a maio de 2016. Os parentais foram cultivados em vasos mantidos em telado no campo experimental da Embrapa Hortalícias, seguindo as recomendações usuais para tomate tutorado. Os botões florais de plantas do parental feminino foram emasculados manualmente antes da maturidade e da abertura da flor e o pólen das flores de plantas do parental masculino foi coletado por meio de um vibrador. A polinização foi realizada diariamente sendo devidamente identificadas com etiquetas contendo a data de realização do cruzamento.

Aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização (DAP) foram colhidos aproximadamente 40 frutos tendo as sementes extraídas imediatamente após a colheita por processo manual e colocadas para fermentar por um período de 48 horas. Decorrido este tempo as sementes foram lavadas em água corrente, secadas à temperatura ambiente por aproximadamente 24 h e, posteriormente, transferidas para uma câmara com ventilação a 32°C por mais 24 h. Após a secagem, as mesmas foram acondicionadas em embalagens de alumínio e armazenadas em câmara fria à 7°C até a realização dos testes.

No Laboratório de sementes da Embrapa Hortalícias foram realizadas as seguintes determinações:

2.2.1. Grau de umidade

Utilizou-se o método da estufa a 105 ± 3 °C, por 24 horas com três amostras de sementes de 1,0 g para cada época e os resultados foram expressos em porcentagem (base úmida), conforme Brasil (2009).

2.2.2. Testes de germinação

Quatro repetições de 50 sementes de cada época colhida foram distribuídas sobre duas folhas de papel de germinação umedecidas com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a

massa seca do substrato, dispostas no interior de caixas de plástico tipo gerbox e expostas à faixa de temperatura 20-30°C, com fotoperíodo ajustado para 8 horas de luz e 16 horas de escuro. As avaliações foram realizadas aos cinco e 14 dias após a semeadura (Brasil, 2009)

2.2.3. Primeira contagem de germinação:.

Realizada conjuntamente com o teste de germinação, contabilizando-se o número de plântulas normais presentes no quinto dia após o início do teste. Os resultados foram expressos em porcentagem (BRASIL,2009).

2.2.4. Índice de velocidade de germinação (IVG)

Determinado conjuntamente ao teste de germinação, por meio da contagem do número de sementes germinadas, diariamente, a partir da emissão da radícula, até a estabilização do estande e calculado segundo a equação abaixo proposta por Maguirre (1962).

$$\text{IVG} = \sum \left(\frac{n_i}{t_i} \right)$$

n_i = número de sementes germinadas na primeira, na segunda e na última contagem; N_1, N_2, \dots, N_n ,

t_i = número de dias de semeadura à primeira, segunda e última contagem.

2.2.5. Condutividade elétrica

Utilizando-se quatro subamostras de 50 sementes, com massas conhecidas, imersas em 25 mL de água destilada e mantidas em incubadora BOD, a 25°C, por 24 horas (VIDIGAL et al., 2008). Após esse período, a condutividade elétrica de cada solução foi determinada em condutivímetro, e os resultados expressos em $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ de sementes (ISTA, 1995);

2.2.6. Atividade respiratória

Medida pelo volume de CO_2 liberado pelas sementes através do equipamento de cromatografia gasosa modelo GC. Quatro repetições de 50 sementes foram colocadas para germinar em duas folhas de papel de germinação com ± 4 cm de diâmetro, umedecidas com 3 ml de água destilada, e acondicionadas em frascos de vidro com capacidade de 40 ml adaptando-se a metodologia de Nascimento e Cantiliff (2000). Os frascos foram fechados com tampa metálica (interior da tampa recoberto com silicone) e vedados com parafilme, para evitar trocas gasosas. Os frascos foram incubados nas mesmas condições da germinação (30 °C) e após duas horas, 100 μl de gás foi retirado e injetado no equipamento. A concentração de

CO_2 foi quantificada comparando as áreas dos picos cromatográficos das amostras e o padrão analítico de CO_2 , tendo os resultados expressos em $\mu\text{g g}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

A cromatografia gasosa é uma técnica de separação e análise de misturas por interação dos seus componentes entre uma fase estacionária e uma fase móvel. De forma geral a técnica é aplicável para separação e análise de misturas cujos constituintes sejam voláteis e termicamente estáveis. A fase móvel não interage com a amostra, apenas a carrega através da coluna, sendo assim usualmente referida como gás de arraste. A amostra é injetada e arrastada pela fase móvel (gás de arraste) através da coluna que contém a fase estacionária (coluna aquecida), na qual ocorre a separação da mistura. As substâncias separadas saem da coluna carreadas pela fase móvel e passam por um detector que gera um sinal elétrico proporcional à quantidade de substâncias separadas na coluna (EMBRAPA, 2014).

2.2.7. Avaliação das atividades enzimáticas

Para a análise da atividade das enzimas antioxidativas, as sementes foram embebidas em água durante 8 horas. Posteriormente, foram congeladas em nitrogênio líquido e armazenados a -20°C até o momento das avaliações. Os extratos enzimáticos brutos foram obtidos por meio da maceração de 0,2 g de sementes em nitrogênio líquido, seguida de adição de 2 mL de meio de extração, tampão fosfato de potássio (0,1M, pH 6,8), contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) (0,1 mM), fluoreto de fenilmetilsulfônico (PMSF) (1,0 mM) e polivinilpolipirrolidona (PVPP) 1% (p/v) (Peixoto et al. 1999). O homogeneizado foi centrifugado a 19.000 g por 15 min., a 4°C .

2.2.7.1. Superóxido dismutase (SOD)

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi determinada pela adição de 50 μL do extrato enzimático bruto a 2,95 mL de meio de reação, constituído de tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 7,8, contendo metionina 13 mM, azul de p-nitro tetrazólio (NBT) 75 μM , EDTA 0,1 mM e riboflavina 2 μM (DEL LONGO et al., 1993). A reação foi conduzida a 25°C , em uma câmara de reação iluminada com uma lâmpada fluorescente de 15 W. Após 5 min de exposição à luz, a iluminação foi interrompida e a formazana azul, produzida pela fotorredução do NBT, foi medida pela absorvância a 560 nm. O valor da absorvância de um meio de reação igual ao anterior, mas mantido no escuro pelo mesmo período, serviu como branco e foi subtraído da leitura de cada amostra que recebeu iluminação (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977). Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para

inibir em 50% a fotorredução do NBT (BEAUCHAMP; FRIDOVICH, 1971). O resultado foi expresso em $\text{Umin}^{-1}\text{mg}^{-1}$ proteína.

2.2.7.2. Catalase (CAT)

A atividade da CAT foi determinada pela adição de 100 μL do extrato enzimático bruto a 2,90 mL de meio de reação, constituído de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,0 e H_2O_2 12,5 mM, adaptado de Havir; Mchale (1987). O decréscimo na absorbância a 240 nm a 25°C foi medido durante o primeiro minuto de reação. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de $36 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (ANDERSON et al., 1995) e o resultado expresso em $\text{nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína.

2.2.7.3. Peroxidases (POX)

A atividade das POX foi determinada pela adição de 150 μL do extrato enzimático bruto a 2,85mL de meio de reação, constituído de tampão fosfato de potássio 25 mM, pH 6,8, pirogalol 20 mM e H_2O_2 20 mM adaptado de KAR; MISHRA (1976). A produção de purpurogalina foi medida por meio do incremento da absorbância a 420 nm a 25°C. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de $2,47 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (CHANCE; MAEHLEY, 1955) e o resultado expresso em $\text{nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína.

2.2.7.4. Ascorbatoperoxidase (APX)

A atividade da ascorbatoperoxidase foi obtida por meio da adição de 150 μL do extrato enzimático bruto em 2,85 mL do meio de reação constituído de tampão fosfato de potássio (50 mM, pH 7,8), ácido ascórbico 0,5 mM, EDTA 0,1 mM e H_2O_2 1,2 mM. Foi observado o decréscimo da absorbância a 290 nm durante o primeiro minuto, a 25°C. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar $2,8 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (NAKANO; ASADA, 1981), e o resultado expresso em $\text{nmol min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ proteína.

2.2.7.5. Proteínas totais

O teor de proteínas foi determinado utilizando-se albumina bovina (BSA) como padrão (BRADFORD, 1976). Utilizou-se de 10 μL do extrato enzimático adicionado a 1mL do reagente de Bradford, seguido de agitação. Após 20 minutos, foi realizada a leitura da absorbância da amostra em espectrofotômetro a 595 nm.

2.2.8. Procedimento estatístico

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância a 5% de probabilidade pelo teste “F”. Posteriormente, as estimativas dos parâmetros da regressão foram analisadas pelo teste “t” a 5% de probabilidade com o uso do programa Sistema para Análise de Variância-SISVAR (FERREIRA, 2011). Nos casos em que não houve ajuste de modelo, optou-se pela ilustração da linha de tendência dos valores originais, realizando-se assim a análise descritiva.

2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se na tabela 1 que houve efeito significativo do fator época de colheita em todas as variáveis testadas.

Tabela 1. Resumo da análise de variância das variáveis fisiológicas e bioquímicas de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF.

FV	Quadrado médio									
	G	PC	IVG	CE	AR	SOD	CAT	POX	APX	PT
Época	60,77*	74,69*	27,22*	5181789,6*	6,37*	0,043*	15,46*	2,08*	0,047*	1,06*
Resíduo	1,06	0,02	0,11	16281,8	0,03	0,004	0,73	0,10	0,005	0,10
CV%	14,59	2,38	10,14	6,99	6,21	5,10	19,42	9,85	8,21	7,31

FV - Fontes de variação; G - Germinação; PC - Primeira contagem de germinação; IVG - Índice de velocidade de germinação; CE - Condutividade elétrica massal; AR - Atividade respiratória; SOD - Superóxido dismutase; CAT - Catalase; POX - Peroxidase; APX - Ascorbato peroxidase; PT - Proteína total; ns - não significativo e * - significativo a 5% respectivamente pelo teste F.

Quando submetidas à análise de regressão verificou-se ajuste à maioria dos modelos, logo, o modelo selecionado foi que o que apresentou significância dos parâmetros e melhores valores do coeficiente de determinação (R^2) (tabela 2).

A umidade das sementes ao final da secagem variou de 6,8 a 7,1%, não apresentando diferenças significativas entre as diferentes épocas de colheita.

Tabela 2. Resumo da análise de regressão das variáveis fisiológicas e bioquímicas de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF.

Parâmetros avaliados	Quadrado médio		
	Linear	Quadrático	Cúbico
Massa seca das sementes	15,6 ^{**}	6,5 ^{**}	0,4 [*]
Porcentagem de germinação	26832,4 ^{**}	3150,0 ^{**}	435,6 [*]
Primeira contagem de germinação	22278,4 ^{**}	2633,1 ^{**}	2689,6 ^{**}
Índice de velocidade de germinação	88,7 ^{**}	9,5 ^{**}	5,87 ^{**}
Condutividade elétrica	4239331,0 ^{**}	659843,8 ^{**}	62986,3 ^{**}
Atividade respiratória	721,0 ^{**}	6,6 [*]	86,0 ^{**}
Superóxido dismutase	223E ⁻⁵ ^{**}	395E ⁻⁶ ^{**}	599E ⁻⁶ ^{**}
Catalase	226,8 ^{**}	136,3 ^{ns}	24,29 [*]
Peroxidase	26E ⁻³ ^{**}	6E ⁻³ ^{ns}	1E ⁻⁵ [*]
Ascorbatoperoxidase	E ⁻² ^{ns}	0,4 ^{**}	3E ⁻² ^{ns}
Proteína total	297,5 ^{**}	13,4 [*]	2,1 [*]

^{ns,*} e ^{**} corresponde a significativo a 1 e 5% respectivamente pelo teste t.

A deposição de matéria seca apresentou crescimento progressivo com o aumento dos dias para a colheita dos frutos, com valores máximos obtidos aproximadamente aos 59 DAP, conforme a linha de tendência ajustada (figura 1). No entanto, verifica-se tendência de diminuição no conteúdo de matéria seca, nas sementes colhidas aos 70 DAP.

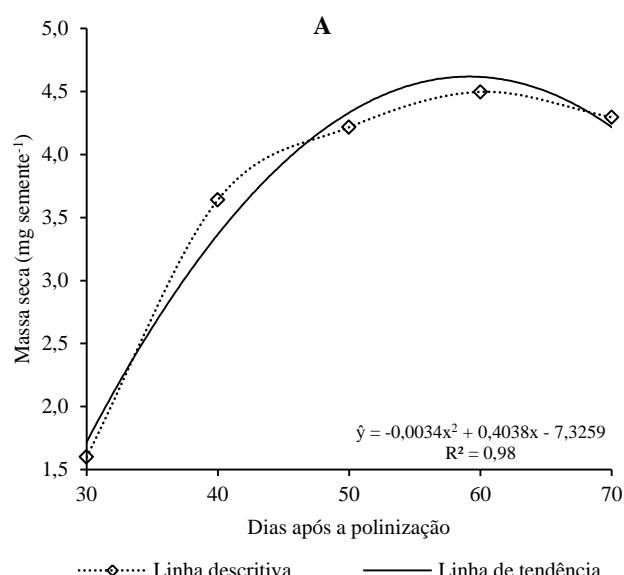


Figura 1. Massa seca de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF.

A germinação das sementes provenientes de frutos colhidos aos 30 DAP foi nula, iniciando-se aos 40 DAP. No entanto, o valor obtido foi relativamente baixo (33%) (Figura 2). Aos 50, 60 e 70 DAP os valores de germinação foram de 86, 96 e 97%.

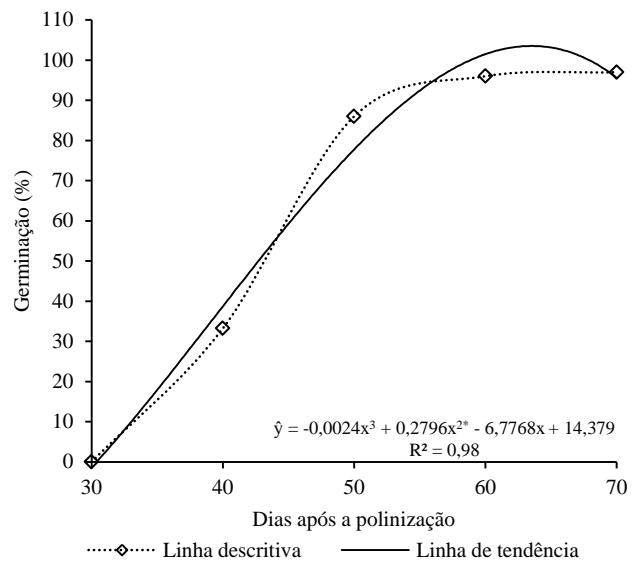


Figura 2. Porcentagem de germinação de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF.

O vigor das sementes, avaliado pela primeira contagem e velocidade de germinação (IVG), foi mais elevado para sementes colhidas nos três últimos estádios de maturação (Figura 3 A e B). Como esperado, o nível de vigor das sementes obtidas de frutos colhidos aos 40 DAP foi muito baixo, concordando com a germinação. De acordo com Carvalho e Nakagawa (2012), as sementes que não se encontram completamente maduras podem germinar, contudo não resultam em plântulas tão vigorosas como aquelas colhidas no ponto adequado.

Na primeira contagem de germinação, ocorre aumento progressivo a partir dos 40 DAP, onde sementes colhidas aos 50, 60 e 70 DAP praticamente não divergiram. Porém, verifica-se leve tendência de diminuição no vigor, para sementes colhidas aos 70 DAP. Quanto ao IVG, também é possível perceber uma sutil tendência de diminuição no vigor das sementes de frutos colhidos aos 70 DAP (figura 3 B).

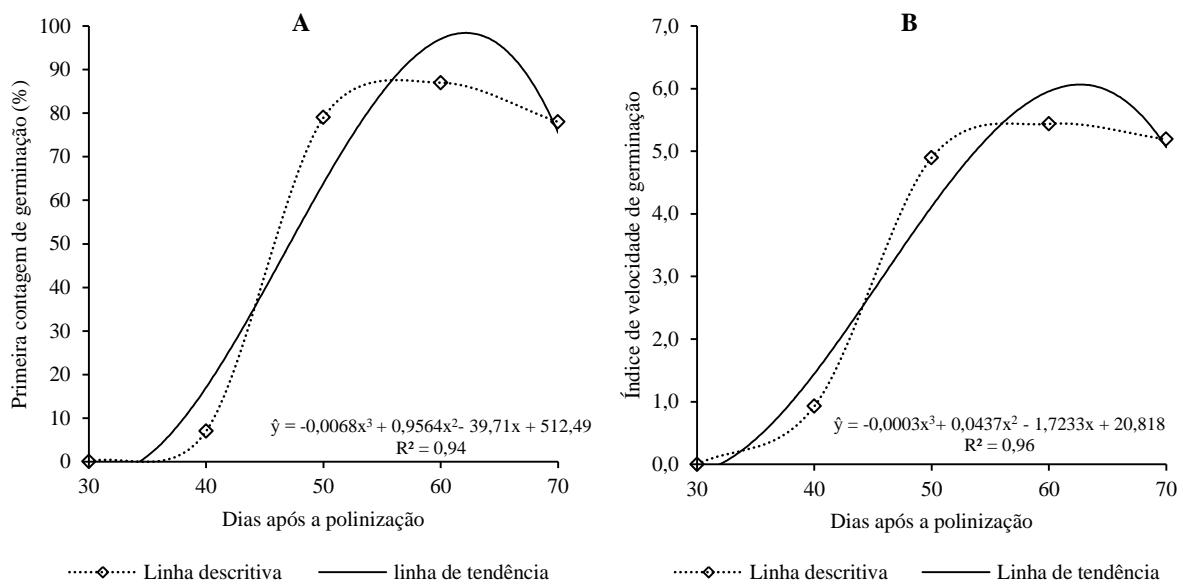


Figura 3. Primeira contagem de germinação (A) e índice de velocidade de germinação (B) de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF.

Observando o comportamento das sementes quando avaliada a condutividade elétrica (CE) verifica-se que houve redução nos valores de condutividade com o avanço da maturação, indicando aumento no vigor das sementes (Figura 4). A CE de sementes obtidas de frutos colhidos com 30 DAP foi elevada ($1327,8 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$), decrescendo gradativamente com o desenvolvimento das sementes. Sementes colhidas aos 40 DAP apesar de apresentar condutividade elétrica menor que as colhidas aos 30, obteve valor de CE ainda elevado ($935,7 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$), porém demonstrando maior organização de membranas com o aumento de 10 dias para a colheita dos frutos.

Assim como demonstrado nos testes de germinação, primeira contagem e velocidade de germinação, o teste de CE, que avalia a permeabilidade seletiva das membranas, revelou maior vigor nas sementes extraídas de frutos colhidos aos 50 ($142,2 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$) 60 ($125,9 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$) e 70 ($104,99 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$) dias após a polinização, devido à baixa lixiviação de exsudatos. Conforme Marcos-Filho (2015), em sementes mais vigorosas, os mitrocôndrios mantêm-se organizados à medida que o processo de germinação evolui, porém, em sementes não viáveis, as membranas internas permanecem completamente desestruturadas.

Os resultados de CE encontrados neste trabalho indicam que, nas sementes imaturas, ainda era deficiente a organização das membranas celulares, porém, com a permanência das sementes no fruto as membranas foram gradativamente organizadas de modo a reduzir a

lixiviação de solutos, conforme também constatado em sementes de tomate (DEMIR; ELLIS, 1992; DIAS et al., 2006), pimenta (VIDGAL et al., 2009) e pepino (NAKADA et al., 2011).

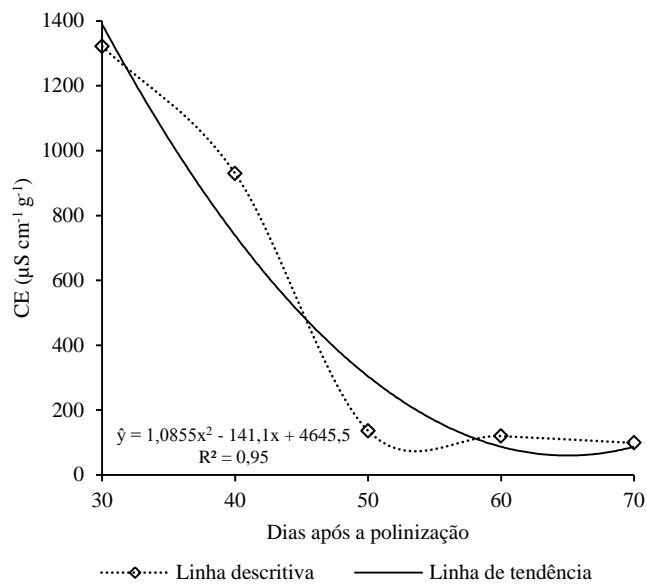


Figura 4. Condutividade elétrica em sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF.

Verifica-se nitidamente que sementes extraídas de frutos colhidos aos 30 e 40 DAP apresentam perfil respiratório muito diferente das demais (figura 5). Nota-se que, apesar das sementes colhidas aos 30 DAP apresentar atividade respiratória, elas são inviáveis. Possivelmente as causas da germinação nula estejam associadas ao pouco desenvolvimento do embrião; falta de reservas ou reservas insuficientes para oferecer suporte à germinação; intolerância à dessecação e/ou até; ao alto conteúdo de ABA, normalmente encontrado nas sementes em estado de desenvolvimento inicial (BEWLEY et al, 2013).

No entanto, a atividade respiratória revelou que sementes colhidas aos 50 DAP, apesar de apresentarem resultados de germinação e vigor próximos das sementes em estádio de maturação mais avançado, apresentou baixa atividade respiratória, indicando vigor reduzido, possivelmente pela maturação desuniforme das sementes, logo, a colheita das sementes nessa época pode comprometer a qualidade do lote. Segundo Bewley e Black (1994), a atividade e integridade dos mitocôndrios de embriões viáveis aumentam a partir do início da imersão, o que torna mais eficiente a produção de ATP, refletindo a elevação do consumo de oxigênio e consequente elevação na produção de gás carbônico. Sendo assim, o lote mais vigoroso tende a respirar mais do que um lote com menor vigor.

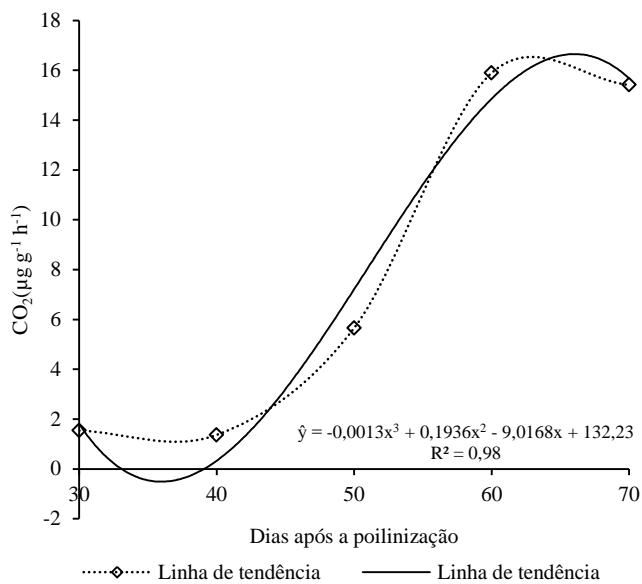


Figura 5. Atividade respiratória (CO₂) de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF.

Conforme Marcos-Filho (2015), a manifestação do vigor das sementes depende da eficiência dos processos metabólicos de síntese, apoiados por atividade respiratória eficiente. Para tanto, é fundamental a disponibilidade de reservas acumuladas durante a maturação. Miles (1986), por exemplo, constatou que sementes de soja colhidas antes da maturação fisiológica apresentam menor índice de respiração na fase inicial do processo de germinação. Além disso, segundo Oliveira et al. (2015) sementes pequenas têm menor quantidade de reservas armazenadas e possuem maior propensão à deterioração após a maturidade fisiológica, principalmente aquelas colhidas ainda imaturas.

A associação entre vigor de sementes e emissão de dióxido de carbono também foi relatada para trigo (DRANSKI et al., 2017; DODE et al., 2016), rúcula (TORRES et al., 2016) algodão (VENSKE et al., 2014), soja (MENDES et al., 2009), feijão miúdo (AUMONDE et al., 2012) e girassol (DODE et al., 2012), cujos autores verificaram alta correlação entre a respiração e os testes de vigor.

A concentração de proteínas totais foi crescente no decorrer do processo de maturação apresentando valor máximo nas sementes colhidas aos 60 DAP conforme demonstra a figura 6. Os valores de proteínas foram de 12; 16,3; 18,4; 22,7 e 22,4 mg mL⁻¹ para as sementes colhidas aos 30, 40, 50, 60 e 70 DAP respectivamente, apresentando comportamento semelhante ao de deposição de matéria seca. Verifica-se que sementes colhidas aos 50 DAP apresentaram quantidade de proteínas armazenadas inferior em comparação àquelas colhidas

nos dois últimos estádios. Pela análise descritiva verifica-se tendência de diminuição no teor de proteínas nas sementes colhidas aos 70 DAP. Conforme a linha de tendência o máximo conteúdo é obtido aos 64 DAP.

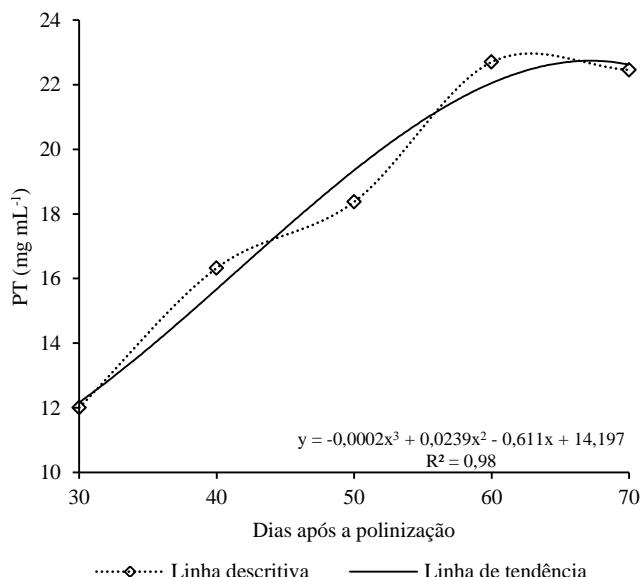


Figura 6. Concentração de proteínas totais (PT) em sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF.

As proteínas de armazenamento exercem papel importante de apoio à germinação e desenvolvimento inicial da plântula, sendo utilizadas para a formação de novos tecidos nos pontos de crescimento do embrião (PERNOLLET; MOSSÉ, 1983; MARCOS-FILHO, 2015).

Enzimas como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e peroxidase (POX) atuam como mecanismos de defesa. Em sementes viáveis a SOD é a primeira enzima produzida a partir das primeiras horas de imersão (ALSCHER et al., 2002; MARCOS-FILHO, 2015) atuando contra espécies reativas de oxigênio, anulando a ação de superóxidos (O_2^-) na oxidação das células (BEWLEY; BLACK, 1994). No entanto, ela é capaz de catalisar a formação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (GRATÃO et al., 2005; GILL; TUTEJA, 2010) que é um produto altamente tóxico para as células (ALBRECHT et al., 2009). Em consequência a CAT impede a formação de outros compostos reativos, pois, converte o peróxido de hidrogênio em espécies não reativas, como água e oxigênio. Diante disso, para o mecanismo estar de acordo e em ótima funcionalidade, essas duas enzimas devem possuir comportamentos semelhantes, já que uma termina o trabalho da outra (NAKADA et al., 2011).

Ressalta-se que não houve um bom ajuste de modelo da atividade da maioria das enzimas antioxidativas, podendo ser verificado pela linha de tendência e pelos coeficientes de determinação abaixo de 0,8 e por isso optou-se somente pela análise descritiva.

Nas sementes imaturas, colhidas aos 30 e 40 DAP a atividade da SOD acumulou peróxido de hidrogênio nas células durante a remoção de espécies reativas de oxigênio e, entretanto, a atividade da CAT provavelmente não foi eficiente para converter grande parte do H_2O_2 gerado, devido à baixa atividade desta enzima nas sementes imaturas (figura 7 A e B). Entretanto, nas sementes colhidas na primeira época (30 DAP), a atividade da SOD foi ainda mais intensa em relação às da segunda (40 DAP). Com isso, supõe-se que sementes colhidas aos 30 DAP não possuam capacidade germinativa após sofrer estresse oxidativo, havendo ativação da formação de radicais livres, provavelmente por não terem adquirido tolerância à dessecação.

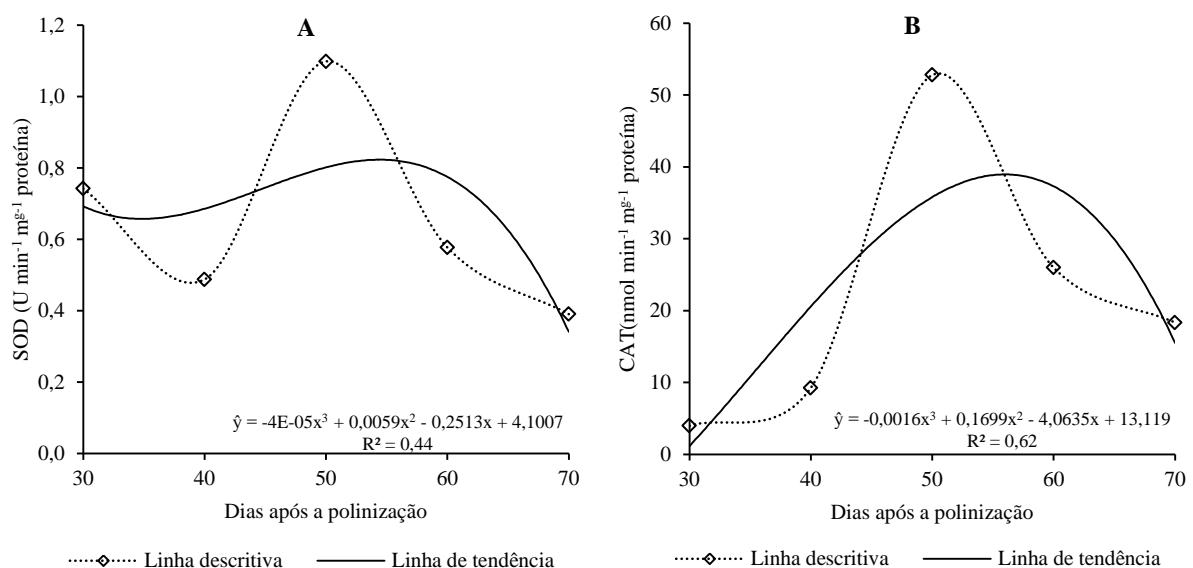


Figura 7. Atividade das enzimas superóxido dismutase - SOD (A) e catalase - CAT (B) em sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF.

Sementes dos três últimos estádios de maturação apresentaram comportamento análogo na atividade dessas enzimas, onde provavelmente a atividade da CAT, acompanhada a atividade da SOD, agindo em conjunto, sendo, portanto, eficientes para anular a ação de compostos nocivos às células. No entanto, observa-se que, tanto a atividade da enzima SOD quanto da enzima CAT foi mais intensa nas sementes oriundas de frutos colhidos aos 50 DAP. Conforme Marcos-Filho (2015) a intensa atividade de remoção de produtos tóxicos

formados, indicam que as sementes estão mais deterioradas. Esses resultados são concordantes com os obtidos pela atividade respiratória, onde apontam que sementes colhidas aos 50 DAP, apesar de constituir um sistema de membranas praticamente bem formado, apresentam menor vigor, que aquelas colhidas aos 60 e 70 DAP.

Verifica-se comportamento semelhante na atividade da APX em relação à SOD e CAT, onde a maior atividade foi encontrada nas sementes oriundas de frutos colhidos aos 50 DAP (figura 8). Pelo fato da enzima APX possuir alta afinidade pelo H_2O_2 , ela é capaz de eliminar de maneira mais eficaz esse radical durante o estresse oxidativo (HASANUZZAMAN et al. 2012). Borba et al. (2014) verificaram maior atividade dessa enzima na parte aérea e radicular de plântulas de milho indicando que essa alta atividade estava relacionado ao fato das plântulas serem oriundas de sementes que se encontravam em processo de deterioração, e portanto, de menor qualidade fisiológica.

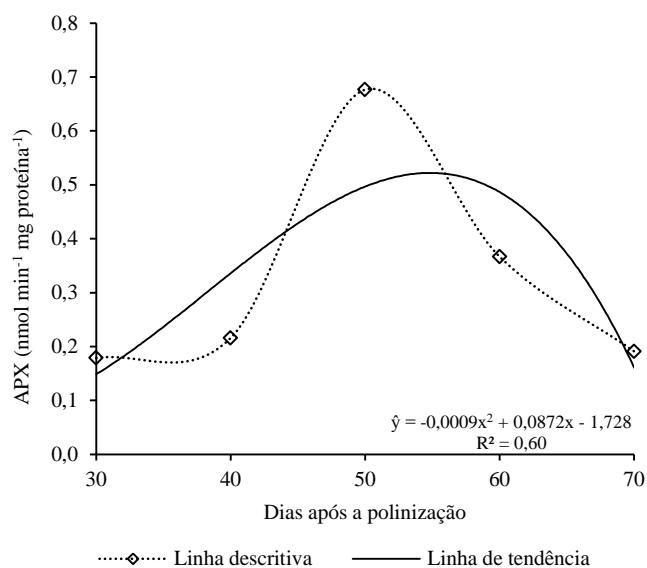


Figura 8. Atividade da enzima ascorbato peroxidase (APX) em sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF.

Silva (2014) com sementes de abóbora, Nakada et al. (2011) com pepino e Silva (2006) com soja verificaram que a atividade de enzimas antioxidativas foi mais intensa nas sementes imaturas, havendo decréscimo de ambas, com o avanço da maturação. No entanto, estas sementes têm maior capacidade de acúmulo de reservas que as de tomate e, portanto, a baixa atividade enzimática observada em sementes imaturas, colhidas aos 30 e 40 DAP, em

comparação com as colhidas aos 50 DAP, pode estar relacionada ao baixo conteúdo de reservas.

Verifica-se que, em sementes imaturas (30 e 40 DAP), a atividade da POX foi bem menor em relação às sementes colhidas em estádio de maturação mais elevado (figura 9).

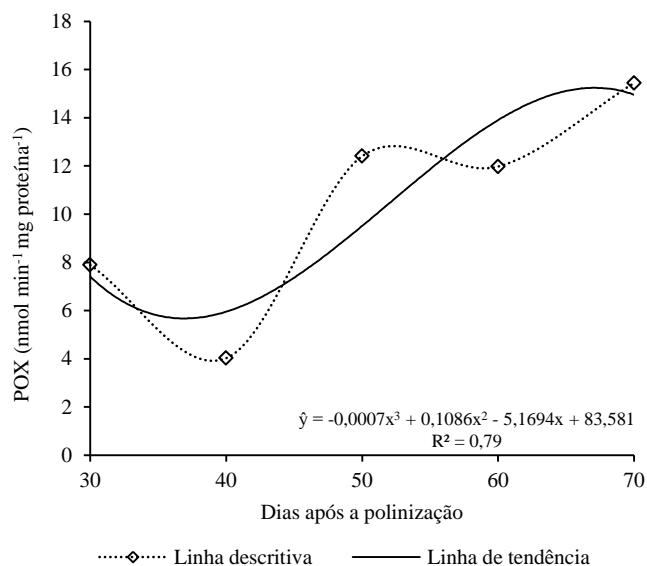


Figura 9. Atividade da enzima peroxidase (POX) em sementes híbridas de tomate, BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF.

A peroxidase desempenha um papel crítico no metabolismo das sementes, por utilizar peróxidos como acceptor de hidrogênio, podendo contribuir para o aumento dos mecanismos de defesa e prevenção de perda na qualidade reduzindo a exposição dos sistemas de membranas aos efeitos negativos dos radicais O_2^- (USHIMARU et al., 2001; MARCOS-FILHO, 2015). Portanto, a redução da atividade dessa enzima proporciona maior exposição dos sistemas de membranas aos efeitos do peróxido e em decorrência do nível de danos, o oxigênio atua de forma mais intensa, promovendo oxidação dos compostos (BEWLEY; BLACK, 1994).

Vidgal et al (2009) verificaram que sementes de pimenta de alta qualidade fisiológica, de frutos colhidos a partir de 60 dias após a antese, apresentaram menores valores de condutividade elétrica e maior atividade da enzima superóxido dismutase. No entanto não foi possível estabelecer relação entre a atividade da peroxidase ao estádio de desenvolvimento das sementes.

A grande maioria dos trabalhos consultados relacionam a influência de estresses abióticos e bióticos com as mudanças que ocorrem na atividade de enzimas antioxidantes SOD, APX e CAT em diferentes culturas como, alfafa (CAKMAK et al. 2010), cevada (MEI; SONG 2010), *Jatropa curcas* (CAI et al. 2011), trigo (CHAUHAN et al. 2011), cebola (DEMIRKAYA et al. 2010), *Melanoxylon brauna* (BORGES et al., 2015) e *Caesalpinia echinata* (ARAÚJO et al., 2017), e nesses casos a menor atividade dessas enzimas remetem sementes de baixa qualidade e vigor.

Sementes colhidas aos 30 e 40 DAP apresentam um metabolismo desordenado e isso pode ser em decorrência dos processos inevitáveis de formação de radicais livres e espécies reativas de oxigênio através de desequilíbrios no transporte de elétrons da cadeia respiratória durante a secagem (KRANNER; BIRTIC, 2005), pois, sementes imaturas, mesmo as ortodoxas, podem ter falhas nos sistemas antioxidantes em sua fase intolerante à dessecação (BARBEDO et al., 2013).

Apesar das sementes oriundas de frutos colhidos aos 50 DAP apresentarem um sistema de membranas praticamente bem estruturado, verificou-se que essas sementes estão mais propensas à deterioração, devido à colheita antecipada em relação à maturidade fisiológica. Porém, armazenou reservas suficientes para desencadear processos e atuar na linha de defesa contra a deterioração. Os resultados obtidos neste trabalho reforçam a necessidade de se conhecer o ponto de maturidade fisiológica, bem como a melhor época de colheita para obtenção de sementes com máxima qualidade.

2.4. CONCLUSÕES

A atividade das enzimas antioxidativas em sementes de tomate com estádio de maturação mais avançado (50, 60 e 70 DAP), apresentou comportamento mais ordenado, sendo mais eficientes na remoção de compostos reativos. No entanto, indicou que aquelas colhidas aos 50 DAP estão em estado de deterioração mais avançado devido à alta atividade enzimática.

As atividades respiratórias e enzimáticas constituem bons indicativos das diferenças da qualidade fisiológica das sementes de tomate em diferentes estádios de maturação.

2.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBRECHT, L. P. et al.; Aplicação de biorregulador na produtividade do algodoeiro e qualidade de fibra, **Scientia Agraria** 10: 191-198, 2009.

<http://revistas.ufpr.br/agraria/article/view/14474>

ALSCHER, R. G.; ERTURK, N.; HEATH, L. S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, p. 1331-1341, 2002.

ANDERSON, M.D.; PRASAD, T.K.; STEWART, C.R. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. **Plant Physiology**, v.109, p.1247-1257, 1995.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC157657/>

ARAÚJO, A. C. F. e BARBEDO, B. C. J. Changes in desiccation tolerance and respiratory rates of immature *Caesalpinia echinata* Lam. seeds. **Journal of Seed Science**, v.39, n.2, p.123-132, 2017. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S2317-15372017000200123&script=sci_arttext

AUMONDE, T. Z et a. Classificação do vigor de sementes de feijão-miúdo pela atividade respiratória. **Interciência**, Caracas, v.37, n.1, p. 55-58, 2012. <https://www.interciencia.net/wp-content/uploads/2018/01/055-c-AUMONDE-4.pdf>

BARBEDO, C.J.; CENTENO, D.C.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Do recalcitrant seeds really exist? **Hoehnea**, v.40, p.583-593, 2013.

<http://www.scielo.br/pdf/hoehnea/v40n4/01.pdf>

BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, v.44, p.276-287, 1971.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0003269771903708?via%3Dihub>

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds**: physiology of development and germination. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.

BEWLEY, J.D.; BRADFORD, K.J.; HILROST, H.W.M.; NONOGAKI, H. **Seeds**: physiology of development, germination and dormancy. 3. ed., New York: Springer, 2013. 392 p.

BORBA et al. Metabolismo antioxidativo para separação de lotes de sementes de diferentes graus de homogeneidade. **R. bras. Bioci.**, Porto Alegre, v. 12, n. 1, p. 20-26, jan./mar. 2014. <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/2784>

BORGES, E. E.L. et al. Alterações fisiológicas e atividade enzimática em sementes armazenadas de *Melanoxyton brauna* Schott. **CERNE**, v. 21 n. 1, p. 75-81.2015.

http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0104-77602015000100075&script=sci_abstract&tlang=pt

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0003269776905273>

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009, 395p. http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/2946_regras_analise_sementes.pdf

CAI, F., LAN-JU, M., XIAO-LONG, A., SHUN, G., LIN, T. & FANG, C. Lipid peroxidation and antioxidant responses during seed germination of *Jatropha curcas*. **Journal of Agriculture and Biology**, 13: 25-30. 2011.

http://www.fspublishers.org/published_papers/6490 ..pdf

CAKMAK, I., ATICI, O., AGAR, G. & SUNAR, S. 2010. Natural agingrelated biochemical changes in alfalfa (*Medicago sativa L.*) seeds stored for 42 years. **International Research Journal of Plant Science**, 1: 1-6.

CHANCE, B.; MAEHLEY, A.C. Assay of catalases and peroxidases. **Methods in Enzymology**, v.2, p.764-775, 1995.

CHAUHAN, D. S., DESWAL, D. P., DAHIYA, O. S. & PUNIA, R. C. 2011. Change in storage enzymes activities in natural and accelerated aged seed of wheat (*Triticum aestivum*). **Indian Journal of Agricultural Sciences**, 81(11): 1037-1040.

COPELAND, L.O.; McDONALD, M.B. **Principles of seed science and technology**. 4 ed. New York: Chapman & Hall, 2001. 467p.

DEL LONGO, O.T.; GONZÁLEZ, A.; PASTORI, G.M.; TRIPPI, V.S. Antioxidant defenses under hyperoxicenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. **Plant and Cell Physiology**, v.34, p.1023-1028, 1993.

DEMIR, I.; ELLIS, R.H. Changes in seed quality during seed development and maturation in tomato. **Seed Science Research**, v.2, p.81-87, 1992.

DEMIRKAYA, M., DIETZ, K. J. & SIVRITEPE, Ö. 2010. Changes in antioxidant enzymes during ageing of onion seeds. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici**, 38(1): 49-52.

DIAS, D.C.F.S.; RIBEIRO, F.P.; DIAS, L.A.S.; SILVA, D.H.; VIDIGAL. D.S. Tomato seed quality in relation to fruit maturation and post-harvest storage. **Seed Science and Technology**, v. 34, n.3, p.691-699, 2006.

DODE, J. D. S. et al. Respiratory activity in wheat seeds as related to physiologial quality. **Bioscience Journal**, 32, n. 5, 2016. p. 1246-1253. Disponível em: <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/33001/19011>

DODE, J. D. S. et al. Teste de respiração para avaliar a qualidade fisiológica de sementes de girassol. **Revista Brasileira de Sementes**, 34, n. 4, 12 jan. 2012. p. 686-691. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222012000400021

DRANSKI, J. A. L. et al. Carbon dioxide quantified by the infrared in evaluation of respiratory activity of wheat seeds. **Revista Ceres**, Viçosa, 64, n. 5, out. 2017. p.507-515. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0034-737X2017000500507&script=sci_arttext

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Passo a passo para o uso do cromatógrafo gasoso modelo GC-CP3800 varian para análises de gases de efeito estufa (GEEs)**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2014. 68 p.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia** 35: 1039-1042. 2011.

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutases. **Plant Physiology**, v.59, p.309-314, 1977.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, 48(12): 909-930. 2010.

GRATÃO, P. L. et al. Phytoremediation:green technology for the clean up of toxic metals in the environment. **Brazilian Journal of Plant Physiology**. v. 17, p. 53-64, 2005.

HASANUZZAMAN, M., HOSSAIN, M. A., DA SILVA, J. A. T.; FUJITA, M. **Plant response and tolerance to abiotic oxidative stress: antioxidant defense is a key factor**. In: Crop Stress and its Management: Perspectives and Strategies. Springer Netherlands, 15: 261-315. 2012.

HAVIR, E.A.; McHALE, N.A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, v.84, p.450-455, 1987.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. **Handbook of vigour test methods**. 3. ed. Zürich, 1995. 117p.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, v.57, p.315-319, 1976.

KRANNER, I.; BIRTIC, S. A modulating role for antioxidants in desiccation tolerance. **Integrative and Comparative Biology**, v.45, p.734-740, 2005.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21676824>

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

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2. ed. Londrina: ABRATES, 2015. 660 p.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.

McDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**, v.22, n.3, p.531-539, 1999.

MEI, Y. e SONG, S. Response to temperature stress of reactive oxygen species scavenging enzymes in the cross-tolerance of barley seed germination. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B Biomedicine & Biotechnology*, 11(12): 965-972, 2010.

MENDES, C. R. et al. Respiratory activity for the differentiation of vigor on soybean seeds lotes. **Revista Brasileira de Sementes**, 31, n. 2, p. 171-176, 2009.

MILES, D.F. Effects of the stage of development and the disiccation environment on soybean seed quality respiration during germination. **Sciences and Engineering**, Lexington, v.49, n.9, 1986.

NAKADA et al. Desempenho fisiológico e bioquímico de sementes de pepino nos diferentes estádios de maturação. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 33, nº 1 p. 113 - 122, 2011.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, v.22, p.867-880, 1981.

NASCIMENTO, W. M.; CANTLIFFE, D. J. Produção de etileno, atividade de endo-β-mananase e germinação de sementes de alface em resposta a luz e a temperatura. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 22, nº 2, p.1-5, 2000.

OLIVEIRA, L. M. Medição do CO₂ como método alternativo para a diferenciação do vigor de lotes de sementes de melancia. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.45, n.4, p.606-611, abr, 2015.

PEIXOTO, P.H.P.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANA, R.; MOSQUIM, P.R.; MOREIRA, M.A. Aluminum effects on lipid peroxidation and on activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.11, p.137-143, 1999.

PERNOLLET, J. C.; MOSSÉ, J. **Structure and location of legume and cereal seed proteins**. In. DUSSANT, J., MOSSÉ, J., VAUGHAN, J. *Seed Proteins*. London: Academic, 1983, p. 155-191.

RICCI, N.; PACHECO, A. C.; CONDE, A. S.; CUSTÓDIO, C. C. Qualidade de sementes de pimenta jalapenho em função da maturação e tempo de permanência nos frutos. **Pesq. Agropec. Trop.**, Goiânia, v. 43, n. 2, p. 123-129, abr./jun. 2013.

SILVA, P. P. da. Características fisiológicas, bioquímicas e morfológicas de sementes de abóbora durante o desenvolvimento. **Tese** (Doutorado). Pelotas, 2014. 112 f.

SILVA, P.A. Estudo da qualidade fisiológica, bioquímica e ultra-estrutural, durante o desenvolvimento e a secagem de sementes de soja. 2006. 66f. **Tese** (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

TORRES, S. B. et al. Avaliação do vigor de sementes de rúcula pela atividade respiratória. **Horticultura Brasileira**, 34, n. 4, dez. 2016. p.561-564.

USHIMARU, T., KANEMATSU, S., KATAYAMA, M., TSUJI, H. Antioxidative enzymes in seedling of *Nelumbo nucifera* germinated under water. **Physiologia Plantarum**, v 112, p. 39-4, 2001.

VENSKE, E. et al. Atividade respiratória como teste de vigor em sementes de algodão. **Rivista Brasileira de Ciências Agrárias**, 9, n. 2, 2014. p.174-179.

VIDIGAL, D. S., DIAS, D. C. F. S., VON PINHO, E. V. R., DIAS, L. A. S. Alterações fisiológicas e enzimáticas durante a maturação de sementes de pimenta (*Capsicum annuum* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 31, nº 2, p.129-136, 2009.

VIDIGAL, D.S.; LIMA, J.S.; BHERING, M.C; DIAS, D.C.F.S. Teste de condutividade elétrica para sementes de pimenta. **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.1, p.168-174, 2008.

CAPÍTULO III

ANÁLISE DE IMAGENS NA AVALIAÇÃO DO VIGOR DE SEMENTES DE TOMATE DURANTE O DESENVOLVIMENTO E MATURAÇÃO

BORGES, S. R. B; SILVA, P. P.; ARAÚJO, F. S; SOUZA, F.F.J. and NASCIMENTO, W. M

(Trabalho aceito para publicação na *Journal of Seed Science*)

RESUMO

O potencial fisiológico das sementes está diretamente relacionado à normalidade do processo de formação delas, sob ponto de vista morfológico, estrutural e funcional. Deste modo, os objetivos deste trabalho foram avaliar a morfologia interna de sementes de tomate do híbrido BRS Nagai, em vários estádios de desenvolvimento e maturação, por meio da análise de imagens de raios-X bem como relacionar os resultados com a germinação e o vigor das sementes. As sementes foram obtidas a partir de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização (DAP). Posteriormente, sementes foram radiografadas tendo suas imagens analisadas visualmente para a classificação da morfologia do embrião e mensuração do espaço livre entre o embrião e endosperma, com auxílio do programa de análise de imagens ImageJ. Estes resultados foram comparados com a qualidade fisiológica através do teste de germinação e vigor. As correlações envolvendo a análise de imagem de raios-X mostraram que as sementes que possuem embriões classificados como normais tendem a apresentar alto vigor, e produzir plântulas normais. E aquelas que apresentam maior área livre interna tendem a apresentar menor acúmulo de massa seca, menor vigor e produziram maiores percentuais de plântulas anormais.

Palavras-chave: *Solanum lycopersicum* L., Morfologia da semente, Raios-X.

ABSTRACT

The physiological potential of seeds is directly related to normal formation process them under morphological, structural and functional point of view. The objectives of this study were to evaluate the internal morphology of tomato seeds of the hybrid BRS Nagai, at different stages of development and maturation, through the X-ray image analysis and relate the results with the germination and vigor seeds. The seeds were from fruits harvested at 30, 40, 50, 60 and 70 days after pollination (DAP). Subsequently, seeds were x-rayed with their images analyzed visually for the embryo morphology classification and measurement of clearance between the embryo and endosperm, with the help of the ImageJ image analysis software. These results were compared with the physiological quality by germination and vigor test. The correlations involving the analysis of X-ray picture showed that the seeds have embryos classified as normal tend to have higher force and produce normal plantlets. And those with greater internal free area tend to have lower accumulation of dry mass, the less force and produced higher percentage of abnormal seedlings.

Key words: *Solanum lycopersicum* L., Seed morphology, X-ray.

3.1. INTRODUÇÃO

Muitas cultivares de tomate apresentam o hábito de crescimento indeterminado com floração contínua e desuniforme o que provoca irregularidade na maturação de frutos e sementes (RAMIREZ-ROSALES et al., 2004). Sementes colhidas em diferentes estádios de maturação podem mostrar diferenças estruturais, incluindo anomalias no embrião, que poderá afetar diretamente a germinação e vigor (SILVA et al., 2013).

O ponto de maturidade fisiológica das sementes tem sido identificado em geral por meio de diferentes características, tais como coloração do fruto (VALDES; GRAY, 1998), teor de água e acúmulo máximo de matéria seca nas sementes (NASCIMENTO et al, 2006). Este tem sido associado ao número de dias decorridos da antese até a maturidade do fruto. Entretanto, estas variáveis podem sofrer modificações devido a fatores climáticos e genéticos, não se constituindo em indicadores seguros do ponto de colheita (DIAS et al., 2006).

Atualmente, a análise de imagens de sementes e plântulas tem-se mostrado eficiente para a avaliação dos componentes fisiológicos e físicos que influenciam na qualidade dos lotes de sementes. Dentre as técnicas disponíveis, o teste de raios-X tem-se revelado eficiente na análise da morfologia interna de sementes, possibilitando o estudo da relação entre essa característica e o seu potencial fisiológico, e identificando sementes danificadas e/ou malformadas de forma rápida e precisa (SILVA et al., 2013).

O potencial fisiológico das sementes está diretamente relacionado à normalidade do processo de formação das sementes, sob ponto de vista morfológico, estrutural e funcional. As relações entre a morfologia, a estrutura e o desempenho das sementes tem sido identificadas e esclarecidas com o uso de técnicas de análise de imagens de sementes e plântulas, com destaque para informações obtidas na condução de testes de raios-X (MARCOS-FILHO, 2015).

Diversas pesquisas têm demonstrado a relação estreita entre a integridade das sementes, germinação e vigor, a partir da análise de imagens de raios-X. Esta técnica possibilita a identificação de danos que afetam a qualidade de sementes de várias espécies; uma das características passíveis de avaliação por meio de análise de imagens de raios-X, que possivelmente está relacionada com o desempenho das sementes, é o tamanho do embrião, que pode ser definido como a relação entre o desenvolvimento embrionário e a área livre no interior da semente (SILVA et al. 2012; MARCOS-FILHO, 2015).

Socolowski; Cicero (2008) observaram que a capacidade germinativa das sementes de *Tecoma stans* é maior naquelas com embriões mais desenvolvidos ou com pequenos danos. A

eficiência da análise de imagens de raios-X, também foi verificada na avaliação da morfologia interna de sementes e a associação destes resultados com a germinação e o vigor em sementes de *Cecropia pachystachya* Trec. (PUPIM et al., 2008), pimentão (GAGLIARDI; MARCOS-FILHO, 2011), berinjela (SILVA et al., 2012), abóbora (SILVA et al. 2014), *Physalis peruviana* L (FERNANDES et al., 2016) entre outras.

Desta forma, os objetivos deste trabalho foram avaliar a morfologia interna de sementes de tomate do híbrido BRS Nagai, em vários estádios de desenvolvimento e maturação, por meio da análise de imagens de raios-X bem como relacionar os resultados com a germinação e o vigor das sementes.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

Sementes do híbrido BRS Nagai foram produzidas na Embrapa Hortalícias, Brasília-DF no período de fevereiro a maio de 2015. Os parentais foram cultivados em vasos mantidos em ambiente protegido seguindo as recomendações usuais para tomate tutorado. Os botões florais de plantas do parental feminino foram emasculados manualmente antes da maturidade da abertura da flor e o pólen das flores de plantas do parental masculino foi coletado por meio de um vibrador. A polinização foi realizada diariamente sendo devidamente identificadas com etiquetas contendo a data de realização do cruzamento.

Aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização (DAP) foram colhidos aproximadamente 40 frutos tendo as sementes extraídas por processo manual e colocadas para fermentar por um período de 48 horas. Decorrido este tempo as sementes foram lavadas em água corrente, secadas à temperatura ambiente por aproximadamente 24 h e, posteriormente, transferidas para uma câmara com ventilação a 32°C por mais 24 h. Após a secagem, as mesmas foram acondicionadas em embalagens de alumínio e armazenadas em câmara fria à 7°C até a realização dos testes. No Laboratório de sementes foi determinado o grau de umidade das sementes e os testes de germinação, primeira contagem e índice de velocidade de germinação (IVG).

3.2.1. Obtenção das imagens radiográficas

As imagens foram obtidas no Laboratório de Análise de Sementes da ESALQ em Piracicaba-SP. O teste de raios-X foi realizado com cinco repetições de 20 sementes de cada tratamento (frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 DAA). As sementes foram fixadas em sobre uma fita adesiva em lâmina plástica transparente; as sementes foram numeradas de

acordo com a posição ocupada, de maneira que pudesse ser identificadas nas determinações posteriores. A lâmina plástica foi colocada no interior do equipamento digital de raios-X, marca Faxitron®, modelo MX-20 DC-12 e submetida à radiação por 20 segundos a 20 kV, as imagens geradas foram capturadas por um Scanner Umax, modelo Powerlook 1100, para ampliação e visualização em computador. Após a análise de raios-X as sementes foram submetidas ao teste de germinação, respeitando a ordem das imagens de raios-X.

As imagens de raios-X foram utilizadas para avaliação da morfologia do embrião e a presença de endosperma e para avaliação da área livre no interior da semente. Os embriões foram classificados como normal ou anormal, adaptando-se a metodologia descrita por Burg et al. (1994). Um embrião anormal apresentava-se fortemente dobrado, amassado, quebrado ou não totalmente formado. Já um embrião considerado normal continha dois cotilédones em perfeito estado, apresentando duas configurações básicas, geralmente encontrada em tomate, que são: enrolada, onde os cotilédones são laminados no mesmo sentido e em óculos, em que os cotilédones estão em sentidos opostos.

3.2.2. Teste de germinação

As sementes radiografadas foram distribuídas sobre duas folhas de papel mata-borrão umedecidas com água destilada na quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco, distribuídas em caixas de acrílico tipo “gerbox” mantidas em germinador na faixa de temperatura alternada de 20-30 °C. As leituras ocorreram aos 5 e 14 dias, conforme as regras para análise de semente (RAS). Foram avaliadas as seguintes variáveis: índice de velocidade de germinação - contagens diárias do número de plântulas normais até o 14º dia após a semeadura, sendo calculando conforme Maguire (1962); primeira contagem de germinação – contabilização das plântulas normais no quinto dia após a semeadura, sendo os valores expressos em porcentagem (BRASIL, 2009); No quinto e no décimo quarto dia após a semeadura foram contabilizadas as plântulas normais, anormais e sementes mortas (BRASIL, 2009) e os resultados foram expressos em porcentagem. Durante a contagem foram feitas imagens de todas as plântulas, com câmera fotográfica digital (pixel) e salvas em computador para posterior análise.

3.2.3. Análise da cavidade interna da semente

As imagens das sementes radiografadas foram salvas no formato tiff e analisadas com o software ImageJ, adaptando-se a metodologia utilizada por Silva et al. (2013). As etapas da análise das imagens no programa foram executadas da seguinte forma: abertura da imagem,

conversão para o tipo escala de cinza (8 bit), seleção da área de interesse para análise, e neste caso realizou-se a análise de cada semente de forma individualizada, delimitando-se cada uma, para que o programa efetuasse a análise e logo após, realizou-se a seleção da escala que foi utilizada para a calibração da imagem, sendo que, neste trabalho, foi considerado o valor de pixels em cada imagem como referência de 2368 X 2340 pixels; em seguida, determinou-se a área do objeto, o perímetro e a área percentual (*fraction area*), a qual representa as áreas livres internas das sementes (figura 1).

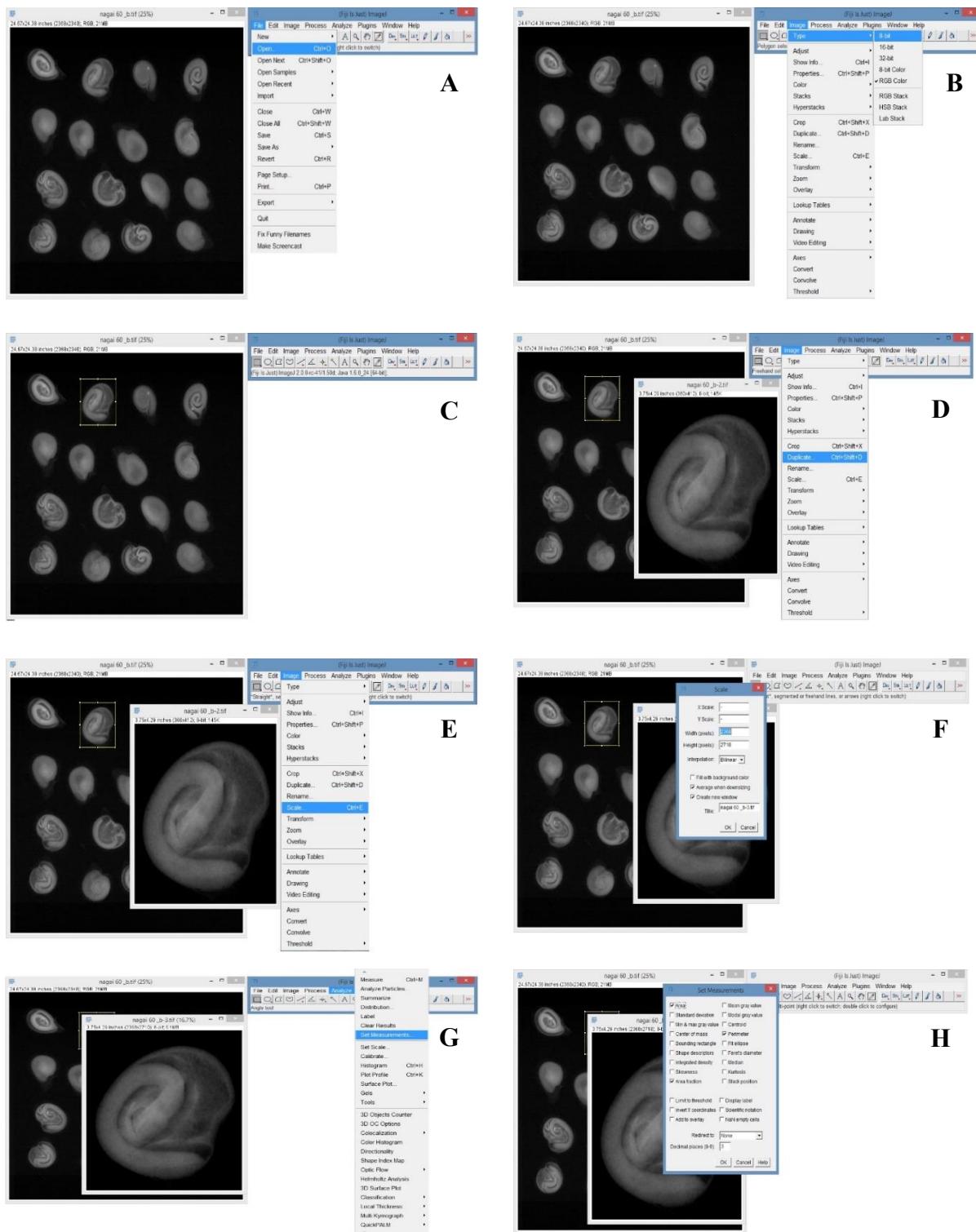


Figura 1. Exemplo de análise de imagens de sementes de tomate no programa ImageJ, mostrando as etapas de: abertura da imagem (A); conversão da imagem (B); escolha da área de interesse (C e D); escolha da escala de medição (E e F), e escolha dos parâmetros para mensuração (G e H). Brasília-DF.

Em seguida, foi realizado o ajuste de cores, para a separação das áreas de interesse dos demais constituintes da imagem; e por fim, foi efetuada a mensuração dos parâmetros supracitados e a obtenção dos resultados (figura 2).

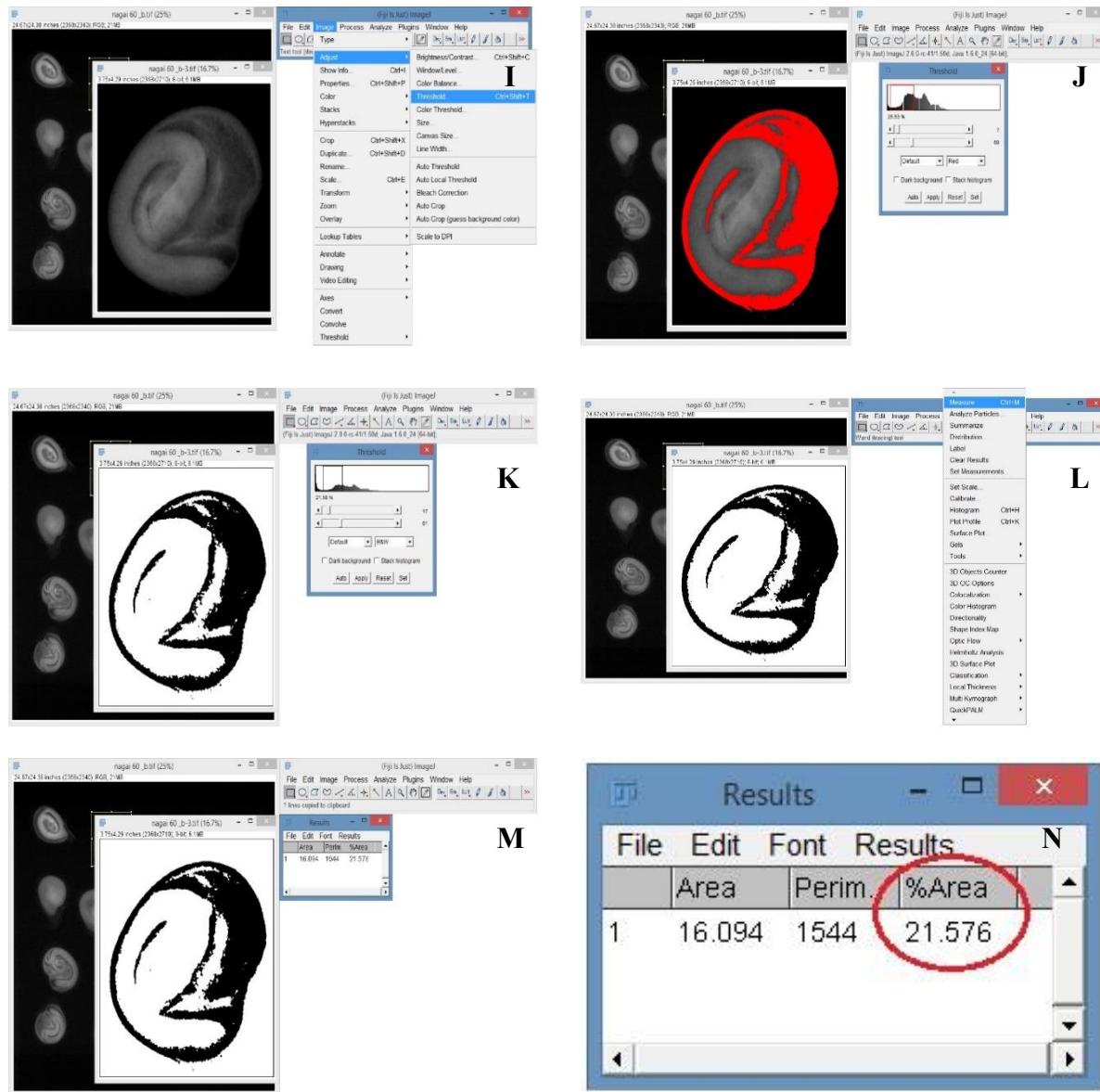


Figura 2. Exemplo de análise de imagens de sementes de tomate no programa ImageJ, mostrando as etapas de: ajuste da escala de cor (I, J e L); mensuração dos parâmetros escolhidos (M) e a obtenção dos resultados (N e O).

3.2.4. Procedimento estatístico

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições. Para as análises estatísticas todos os dados, IVG e biomassa de semente, foram

transformados em $\text{arc sen } (x/100)^{1/2}$ e em seguida submetidos à análise de variância, tendo as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade através do programa Sistema para Análise de Variância-SISVAR (FERREIRA, 2011). Também foi calculada a correlação linear de Pearson (r) entre todas as variáveis estudadas através do software estatístico SPSS Statistics 22.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 3 apresenta as imagens obtidas nas sementes oriundas dos diferentes tratamentos mostrando embriões morfológicamente anormais e normais.

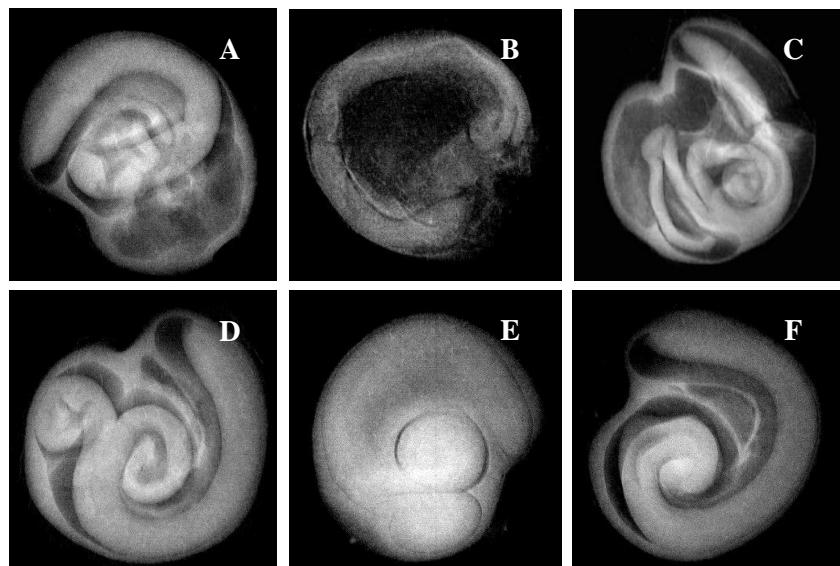


Figura 3. Imagens de raios-X de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, mostrando embrião anormal (A, B e C), normal em óculos (D e E) e normal enrolado (F). Brasília-DF.

O grau de umidade das sementes, colhidas em diferentes estádios de maturação, após a secagem, variou de 5,7 a 6,0%. Este é um fator de grande importância visto que diferenças entre o grau de umidade pode influenciar a qualidade das imagens e quanto menor o teor de água maior será a densidade ótica da semente, facilitando assim a diferenciação das estruturas através da radiografia (SIMAK, 1991; CARVALHO et al., 2009; SILVA; NASCIMENTO, 2010). Porém, em alguns casos, como em pimentão, sementes muito secas (6% de umidade), a visualização e interpretação foram dificultadas, e a quantidade mínima de água necessária para melhorar a imagem da radiografia sem promover aumentos na deterioração das sementes foi determinada em 12% (GAGLIARD; MARCOS-FILHO, 2011).

O período de exposição das sementes à radiação de 20 segundos e à intensidade de 20 kV possibilitaram uma visualização adequada das sementes de tomate nas radiografias. A tonalidade observada na análise de imagens radiográficas é definida em função do nível de absorção da radiação em regiões distintas da semente, que é determinada pela espessura, densidade e composição dos tecidos da semente (ISTA, 1993).

Na Tabela 1 encontram-se os resultados referentes à germinação de sementes de tomate colhidas em diferentes estádios de maturação, na qual é possível observar que aquelas colhidas com 30 e 40 DAP não produziram plântulas normais, indicando que nesse estádio elas não possuem capacidade germinativa.

Tabela 1. Valores médios de plântulas normais (%), sementes mortas (%), primeira contagem de germinação (%), velocidade de germinação (índice) e massa seca (mg semente⁻¹) de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF.

Variáveis	Período de colheita (DAP)					CV%
	30	40	50	60	70	
Plântula normal	0 d	0 d	30 c	52 b	70 a	1,38
Plântulas anormais	0 b	5 b	40 a	30 a	20 a	1,26
Semente morta	100 a	95 a	30 b	18 bc	10 c	1,41
Primeira contagem	0 c	0 c	19 b	65 a	68 a	2,41
Velocidade de germinação	0 c	0,1 c	1,1 b	2,3 a	2,8 a	1,18
Massa seca da semente	0,9 d	2,7 c	3,2 b	3,6 a	3,6 a	2,40

Médias seguidas de letras iguais entre linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Em muitos casos, quando se trata de frutos carnosos, o ponto de maturidade fisiológica pode ser influenciado por um período de repouso pós-colheita dos frutos, antes da extração das sementes (SILVA et al., 2014). Sementes oriundas de frutos de tomate da variedade Kadá colhidos aos 40 dias após a antese (DAA) também apresentaram germinação nula, mas o armazenamento dos mesmos por um período de 12 dias promoveu 98% de germinação (VIDGAL et al. 2006). Estes autores sugerem que o processo de maturação das sementes colhidas antecipadamente pode ser completado com o armazenamento temporário dos frutos.

Quando os frutos foram colhidos com 50 e 60 DAP as sementes produziram plântulas normais, contudo, a porcentagem apresentada foi baixa em relação às sementes colhidas em

frutos com 70 DAP. Além de apresentarem o maior percentual de plântulas normais, as sementes colhidas neste período também apresentaram os maiores valores de massa seca, primeira contagem e velocidade de germinação em relação às sementes colhidas em períodos inferiores a 50 DAP. Esses resultados indicam que estas sementes estavam próximas ou atingiram o ponto de maturidade fisiológica.

Resultados semelhantes foram obtidos por Ribeiro (2004), onde constatou que a máxima qualidade fisiológica das sementes de tomate ocorreu em frutos colhidos aos 70 DAA, ocasião em que a maioria dos frutos apresentava 90% do pericarpo vermelho. Este autor verificou, ainda, que frutos de tomate colhidos em início de amadurecimento e armazenados até estarem completamente maduros produzem sementes de melhor qualidade.

A Figura 4 mostra imagens radiográficas de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, colhidos aos 50, 60 e 70 DAP, cujo embrião é morfologicamente normal e suas respectivas plântulas normais.

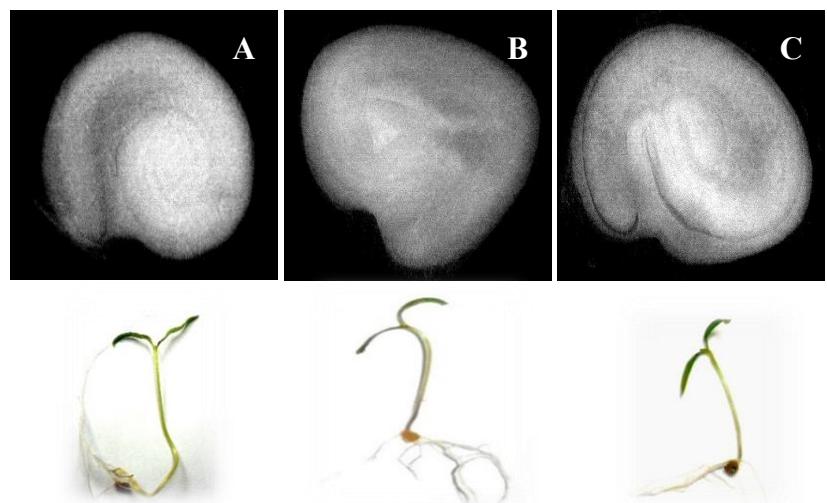


Figura 4. Imagens radiográficas de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, colhidas aos 50 (A), 60 (B) e 70 (C) dias após a polinização, com embrião morfologicamente normal e suas respectivas plântulas normais, Brasília-DF.

Demir; Samit (2001) verificaram que sementes de tomates extraídas de frutos colhidos aos 70 DAA, com coloração vermelha e firmes, apresentaram máxima qualidade fisiológica e vigor, o que não ocorreu quando os frutos foram colhidos aos 50 DAA ou a partir de 80 DAA. Na Tabela 2 estão dispostos os resultados referentes à análise de imagem de raios-X de sementes de tomate colhidas em diferentes estádios de maturação. Verifica-se que o maior percentual de embriões normais foi obtido em sementes colhidas aos 70 DAP, assim como os menores percentuais de embriões anormais e área livre total da cavidade interna.

Tabela 2. Valores médios de embriões normais (%), embriões anormais (%) e área livre total (%) de semente de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF.

Variáveis	Período de colheita (DAP)					CV%
	30	40	50	60	70	
Embrião normal	0 d	2 d	36 c	56 b	75 a	1,39
Embrião anormal	100 a	98 a	64 b	44 c	25 d	0,30
Área livre total	49 a	35 a	24 b	16 c	15 d	1,13

Médias seguidas de letras iguais nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Em sua maioria, as sementes que apresentaram maiores percentuais de área livre demonstravam anormalidades no embrião, principalmente nos cotilédones: fortemente dobrado, amassado, quebrado ou não totalmente formado. As sementes não apresentavam sinais de deterioração, no entanto, algumas das que foram colhidas aos 30 e 40 DAP apresentavam intensa área livre e o embrião não bem formado, provavelmente devido a isso, não foram capazes de produzir plântulas normais (Figura 5).

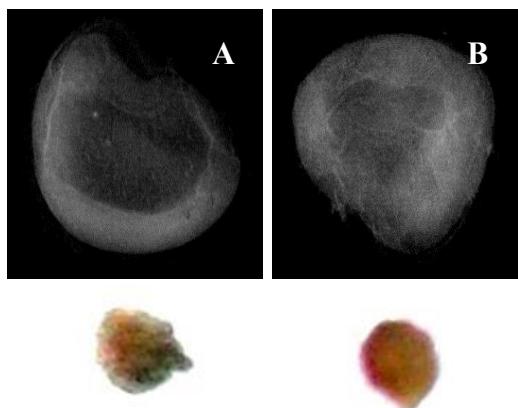


Figura 5. Imagens radiográficas de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, colhidas aos 30 (A) e 40 (B) DAP com extensa área livre e embrião anormal e suas respectivas sementes mortas. Brasília-DF.

Eventualmente, mesmo as sementes apresentando embrião morfologicamente normal, esta gerou uma plântula anormal como pode ser observado na Figura 6.

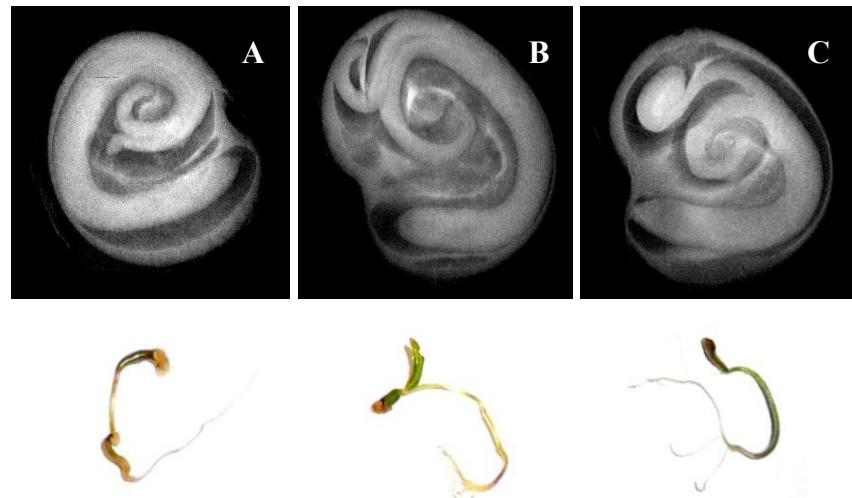


Figura 6. Imagens radiográficas de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, colhidas aos 50, 60 e 50 DAP, com embrião morfológicamente normal e suas respectivas plântulas anormais, Brasília-DF.

Conforme Burg et al., (1994) algumas sementes bem formadas e aparentemente sem nenhum problema podem dar origem a plântulas anormais ou sementes mortas, pois o teste de raios-X não consegue detectar determinados problemas fisiológicos, como, por exemplo, fases intermediárias do processo de deterioração, que poderiam estar afetando o processo de germinação.

Os resultados das correlações entre as variáveis estão apresentados na Tabela 3, onde se verifica que a maioria dos coeficientes obtidos foram altos ($r > 0,8$) e significativos.

Tabela 3. Coeficientes de correlação de Pearson (r) entre variáveis avaliadas em sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF.

	PN	PA	SM	EN	EA	IVG	PC	MS
AL	-0,88*	-0,67	0,90**	-0,89*	0,89**	-0,87**	-0,82**	-0,92**
PN		0,53	-0,93**	0,98*	-0,97*	0,97*	0,94*	0,72**
PA			0,80**	0,61*	-0,61*	0,57**	0,48**	0,66**
SM				-0,94**	0,94**	-0,92**	-0,85**	-0,80**
EN					-1,00**	0,98**	0,94**	0,74*
EA						-0,98**	-0,94**	-0,73*
IVG							0,98**	0,72*
PC								0,67**

ns (não significativo); * e ** (significativo pelo teste t a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente).

As correlações envolvendo a análise de imagem de raios-X mostraram que as sementes que possuem embriões classificados como normais tendem a apresentar alto vigor (IVG; PC), e produzir plântulas normais, ocorrendo o inverso quando possuem embriões anormais.

Soma-se a isto que aquelas sementes que apresentam maior área livre interna tendem a apresentar menor acúmulo de massa seca, menor vigor (IVG; PC) e produziram maiores percentuais de plântulas anormais.

A distribuição das sementes quanto à área livre dentro de cada tratamento pode ser visualizada na Figura 7. Observa-se que as sementes colhidas aos 60 e 70 DAP apresentaram valores de área livre inferiores à média geral que foi de 28%, enquanto nas demais épocas de colheita foram observados valores de áreas livres de até 60%. As sementes colhidas aos 30 e 40 DAP apresentaram área livre superior e não germinaram.

A média de área livre cujas sementes produziram plântulas normais foi de 20%. Este resultado pode indicar que sementes de tomate do híbrido BRS Nagai, com área livre superior a este valor, possuem embriões imaturos e com incapacidade de germinar.

Esse fenômeno também pode estar relacionado à menor quantidade de reservas armazenadas, as quais são essenciais para o fornecimento de energia para os processos iniciais de germinação, a síntese de proteínas e a atividade respiratória inicial envolvem componentes armazenados durante a maturação das sementes (NONOGAKI et al., 2010).

Sementes com áreas livres internas também mostraram-se parcialmente formadas e não foram capazes de originar plântulas normais como demonstraram em *Cecropia pachystachya* Trec (PUPIM et al., 2008) e em *Lithraea molleoides* (MACHADO; CICERO, 2003).

Estudos realizados por Downie et al. (1990) mostraram que a extensão do espaço livre não pode ser considerada por si só para estimar a capacidade germinativa das sementes. No entanto, a redução da área ocupada pela cavidade interna do embrião e endosperma em sementes de pimentão aumentou a porcentagem de plântulas anormais e sementes não germinadas (GAGLIARDI; MARCOS-FILHO, 2011), indicando que essa relação pode ser utilizada para estimar a germinação de algumas espécies.

Para pimentão, Dell’Áquila (2007) constatou que quando as sementes tinham áreas livres maiores que 2,7%, em relação à sua área total, na maioria dos casos, originaram plântulas anormais ou não germinaram. Amaral et al. (2011) utilizando análise de raios-x mostrou que a maioria das sementes de ipê roxo com danos ao eixo embrionário e cotilédones produziram plântulas anormais e quando a área livre foi superior a 50% da área total de sementes, quase não houve sementes germinadas.

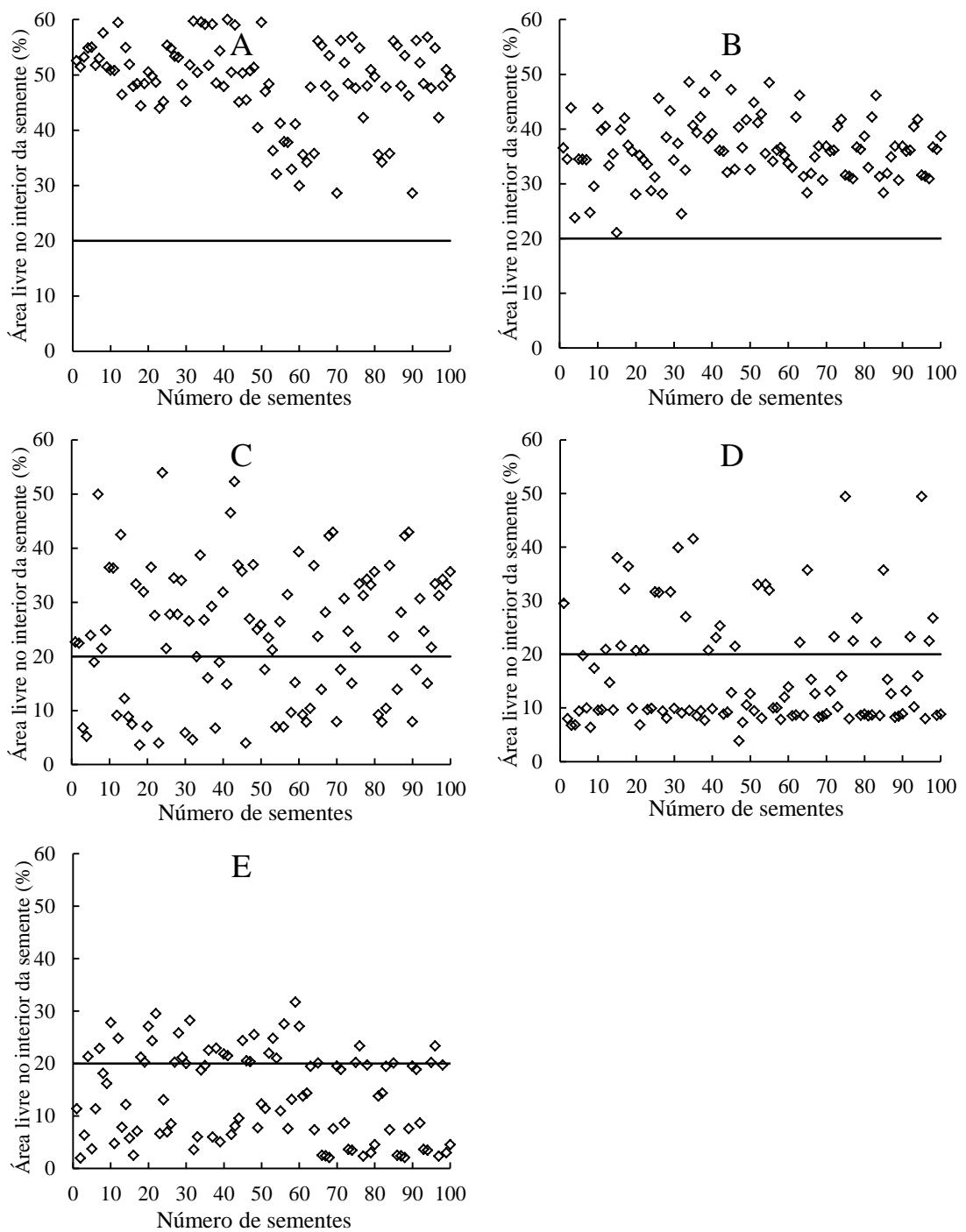


Figura 7. Distribuição de área livre no interior de cada semente de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30 (A), 40 (B), 50 (C), 60 (D) e 70 (E) dias após a polinização, numa amostra de 100 sementes, Brasília-DF.

Em sementes de milho, Cicero; Banzatto, (2003) verificaram que quando os danos de quebras transversais graves foram visíveis, a translocação do nutriente do endosperma para o eixo embrionário foi prejudicada e por isso o número de plântulas anormais aumentou.

Conforme Menezes et al. (2012) é possível que o efeito dos danos na germinação ocorra em função da interrupção na translocação de nutrientes do endosperma para o embrião.

Diante destes resultados, verifica-se que a análise de imagens radiográficas se apresenta como uma ferramenta alternativa para estudos de maturidade fisiológica de sementes de tomate, através da identificação de características internas nas sementes, como a morfologia do embrião e presença de áreas livres, as quais podem reduzir o potencial fisiológico dos lotes.

É importante ressaltar que sementes colhidas aos 70 DAP passaram pelo processo de limpeza durante a etapa de beneficiamento, antes do armazenamento, diferente das demais sementes, e isso pode ter contribuído para elas apresentarem menor número de plântulas anormais.

3.4. CONCLUSÕES

A análise de imagens através de raios-X se mostra complementar para o estudo de maturação fisiológica de sementes de tomate.

A análise de raios-X pode predizer a performance das sementes através da morfologia do embrião, permitindo a seleção de sementes de alta qualidade.

3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, J. B.; MARTINS, L.; FORTI, V. A.; CICERO, S. M.; MARCOS-FILHO, J. Teste de raios X para a avaliação do potencial fisiológico de sementes de ipê-roxo. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina-PR, v. 33, n. 4, p. 601 - 607, 2011.
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222011000400001&lng=pt&nrm=iso
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 395p. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/arquivos-publicacoes-insumos/2946_regras_analise_sementes.pdf
- BURG, W. J., ARTESE, J. W., ZOWL, R. A., JALINK, H. and BINO, R. J. predicting tomato seedling morphology bay X-ray analysis of seeds. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 119(2)258-263.1994. <http://journal.ashpublications.org/content/119/2/258.full.pdf+html>
- CARVALHO, M. L. M. de; SILVA, C. D. da; OLIVEIRA, L. M. de; SILVA, D. G.; CALDEIRA, C. M. Teste de raios x na avaliação da qualidade de sementes de abóbora. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 31, nº 2, p.221-227, 2009.
<http://www.scielo.br/pdf/rbs/v31n2/v31n2a26.pdf>
- CÍCERO, S. M.; BANZATTO JÚNIOR, H. L. Avaliação do relacionamento entre danos mecânicos e vigor, em sementes de milho, por meio da análise de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 25, n. 1, p. 25-28, jun. 2003.
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222003000100006&lang=pt
- DELL'AQUILA, A. Pepper seed germination assessed by combined X-radiography and computeraided imaging analyses. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 51, p. 777-781, 2007.
<https://link.springer.com/article/10.1007/s10535-007-0159-9>
- DELL'AQUILA, A. Digital imaging information technology applied to seed germination testing: A review. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v.29, p.213 - 221, 2009.
<https://link.springer.com/article/10.1051/agro:2008039>
- DEMIR, I.; SAMIT, Y. Seed quality in relation to fruit maturation and seed dry weight during development in tomato. **Seed Science & Technology** 29:453-62. 2001.
- DIAS, D.C.F.S.; RIBEIRO, F.P.; DIAS, L.A.S.; SILVA, D.J.H.; VIDIGAL, D.S. Maturação de sementes de tomate em função da ordem de frutificação na planta. **Revista Ceres**, v.53, n.308, p.446-456, 2006. <http://www.ceres.ufv.br/ojs/index.php/ceres/article/view/3166/1061>
- FERNANDES, J. S.; SILVA, D. F da; SANTOS, H. O.; VON PINHO, E. V. R. Teste de raios X na avaliação da qualidade de sementes de frutos de fisális em diferentes estádios de desenvolvimento. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v.15, n.2, p.165-168, 2016.
<http://revistas.udesc.br/index.php/agroveterinaria/article/view/223811711522016165>

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia** 35: 1039-1042. 2011.

GAGLIARDI, B.; MARCOS-FILHO, J. Relationship between germination and bell pepper seed structure assessed by the X-ray test. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.68, n.4, p.411-416, 2011. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90162011000400004&lang=pt

ISTA - International Rules for Seed Testing. 1993. **Seed Science and Technology** 21: 363 (ssupplement).

MACHADO, C. F.; CICERO, S. M. Aroeira-branca (*Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. Anacardiaceae) seed quality evaluation by the X-ray test. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.60, n.2, p.393-397, 2003. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90162003000200026&lang=pt

MAGUIRE J. D. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science** 2:176-177. 1962.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2 ed. Londrina, PR: ABRATES, 2015. 660p.:il.

MENEZES, N. L.; CICERO, S. M.; VILLELA, F. A.; BORTOLOTTO, R. P. Using X rays to evaluate fissures in rice seeds dried artificially. **Revista Brasileira de Sementes**, Viçosa, MG, v. 34, n.1, p. 70 - 77, 2012.
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222012000100009&lang=pt

NONOGAKI, H.; BASSEL, G. W.; BEWLEY, J. D. Germination-Still a mystery. **Plant Science**, Limerick, v. 179, p. 574-581, 2010.

PEREIRA, F.P. **Produção e qualidade de semente de tomate em função do estádio de maturação do fruto e da ordem de frutificação na planta**. 2004. 101f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa.

PUPIM TL; NOVEMBRE ADLC; CARVALHO MLM; CICERO SM. Adequação do teste de raios X para avaliação da qualidade de sementes de embaúba (*Cecropia pachystachya*). **Revista Brasileira de Sementes** 30: 28-32. 2008.
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222008000200004&lang=pt

SILVA PP; FREITAS RA; CÍCERO SM; MARCOS-FILHO J; NASCIMENTO WM. 2014. Análise de imagens no estudo morfológico e fisiológico de sementes de abóbora. **Hortic. bras.**, 32: 210-214. v. 32, n. 2, abr. - jun. 2014.
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-05362014000200210&lang=pt

SILVA, V. N., CICERO, S. M., and BENNETTT, M. Associations between X-ray visualised internal tomato seed morphology and germination. **Seed Science and Technology**, 41, 225-

234, 2013. https://www.researchgate.net/publication/262970051_Associations_between_X-ray_visualised_internal_tomato_seed_morphology_and_germination

SILVA, V. N., SARMENTO, M. B., SILVEIRA, A. C., SILVA, C. S., CICERO, S. M. Avaliação da morfologia interna de sementes de *Acca sellowiana* O. Berg. por meio de análise de imagens. **Rev. Bras. Frut.** Jaboticabal-SP, v. 35, n. 4, p. 1158-1169, 2013.
http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-29452013000400027&script=sci_abstract&tlang=pt

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

SILVA, P. P; NASCIMENTO, W. M. Definição da metodologia para realização do teste de raios-X em sementes de abóbora. 2010. Horticultura Brasileira 28: S4273-S4277.
http://www.abhorticultura.com.br/eventosx/trabalhos/ev_4/A2809_T4159_Comp.pdf

SOCOLOWSKI, F.; CICERO, S. M. Caracterização morfológica de embriões por imagens de raios x e relação com a massa e a qualidade fisiológica de sementes de tecoma stans L. Juss. Ex Kunth (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina-PR, v.30, n.2, p.200-208, 2008. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222008000200025&lang=pt

VALDES, V.M.; GRAY, D. The influence of stage of fruit maturation on seed quality in tomato (*Lycopersicon lycopersicum* (L.) Karsten). **Seed Science and Technology**, Zürich, v.26, n.2, p.309318, 1998.

VIDIGAL, D.S.; DIAS, D.C.F.S.; NAVEIRA, D.S.P.C.; ROCHA, F.B.; BHERING, M.C. Qualidade fisiológica de sementes de tomate em função da idade e do armazenamento pós-colheita dos frutos. *Revista Brasileira de Sementes*, v.28, n.3, p.87-93. 2006. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222006000300013

CAPÍTULO IV

**AVALIAÇÃO DO VIGOR DE SEMENTES DE TOMATE EM DIFERENTES
ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO POR MEIO DA ANÁLISE
COMPUTADORIZADA DE PLÂNTULA**

RESUMO

Análise computadorizada de imagens de plântulas é uma das técnicas mais recentes para detectar diferenças de vigor entre lotes de sementes. No entanto, ainda são poucos os trabalhos mostrando o uso da técnica no estudo de maturação. Por isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade fisiológica de sementes híbridas de tomate, BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos em diferentes estádios de desenvolvimento, com o auxílio da análise computadorizada de imagens de plântulas pelo SVIS®. Sementes do híbrido BRS Nagai foram produzidas através de polinização manual em telados do campo experimental da Embrapa Hortaliças. Aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização (DAP) foram colhidos frutos tendo suas sementes extraídas e colocadas para fermentar por um período de 48 horas. Posteriormente elas foram lavadas e secas à temperatura ambiente por 24 horas e transferidas para uma câmara com ventilação a 32°C por mais 24 h. Após a secagem, as mesmas foram acondicionadas em embalagens de alumínio e armazenadas em câmara fria à 7°C até a realização dos testes. No laboratório de sementes da Embrapa Hortaliças foi determinada a umidade e realizado os testes de germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado com solução saturada de sal e emergência de plântulas. A análise computadorizada de imagens com o SVIS® foi realizada no Laboratório de Análise de Imagens do Departamento de Produção de Cultivos do Colégio Agrícola "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo, localizado em Piracicaba, SP, Brasil. Os dados foram submetidos à análise de variância e posteriormente regressão. A umidade das sementes colhidas nos diferentes estádios de maturação não revelou diferenças significativas, externando a uniformidade da secagem das mesmas, variando de 5,7 a 6,0 %. A análise de regressão mostrou efeitos significativos em todas as variáveis testadas. A qualidade das sementes colhidas aos 40 DAP é baixa, não sendo possível obter resultado para os índices de análise de imagens obtidos pelo SVIS, pois, elas não germinaram até o momento de realização do teste. A análise de imagens de plântulas apresentou eficiência similar com os demais testes de vigor concordando quanto ao período de colheita para a ocorrência de máxima qualidade fisiológica das sementes de tomate (entre 60 e 70 DAP). No entanto, houve divergência na avaliação das sementes colhidas nos dois últimos estádios de maturação.

Palavras-chave: BRS Nagai, maturação, *Solanum lycopersicum*, SVIS.

ABSTRACT

Computerized analysis of seedlings images is one of the most recent techniques for detecting differences in vigor between seed lots. However, there are still few studies showing the use of the technique in the maturation study. Therefore, the objective of this work was to evaluate the physiological quality of tomato hybrid seeds, BRS Nagai, from fruits harvested at different stages of development, with the aid of SVIS ® computerized image analysis of seedlings. The seeds were produced through manual pollination on the screen of the experimental field of Embrapa Vegetable Crops. At 30, 40, 50, 60 and 70 days after pollination (DAP) fruits were harvested having their seeds extracted and placed to ferment for a period of 48 hours. Afterwards they were washed and dried at room temperature for 24 hours and transferred to a chamber with ventilation at 32 ° C for a further 24 h. After drying, they were packed in aluminum containers and stored in a cold room at 7°C until the tests were performed. In the seed laboratory of Embrapa Vegetable Crops the humidity was determined and the tests of germination, first germination count, accelerated aging with saturated solution of salt and emergence of seedlings were carried out. The computerized image analysis was performed at the Image Analysis Laboratory of the “Luiz de Queiroz” Agricultural College of the University of São Paulo, Piracicaba, SP, Brazil. Data were submitted to analysis of variance and later regression. The water content of the seeds harvested at the different maturation stages showed no significant differences, indicating the uniformity of drying of the seeds, varying from 5.7 to 6.0%. Regression analysis showed significant effects on all variables tested. The quality of the seeds harvested at the 40 DAP is low, and it is not possible to obtain results for the image analysis indices obtained by the SVIS, since they did not germinate until the moment of the test. Seedling analysis showed similar efficiency with the other vigor tests agreeing on the harvest period for the highest physiological quality of tomato seeds (between 60 and 70 DAP). However, there was divergence in the evaluation of the seeds harvested in the last two stages of maturation.

Key words: BRS Nagai, maturation, *Solanum lycopersicum*, SVIS.

4.1. INTRODUÇÃO

O uso de sementes com alto potencial fisiológico é indispensável para o sucesso na produção agrícola e contribui significativamente para o estabelecimento rápido do suporte e o desenvolvimento inicial de mudas vigorosas no campo (MARCOS-FILHO, 2015).

Tradicionalmente, o vigor das sementes tem sido avaliado por testes fisiológicos, bioquímicos e de tolerância ao estresse (CHIQUITO et al., 2012; MARCHI; CICERO, 2017). No entanto, ainda há oportunidades para incluir alternativas inovadoras como a análise informatizada de imagens de plântulas, favorecendo a padronização, precisão, objetividade e redução no tempo necessário para a realização de testes (ROCHA; SILVA; CICERO, 2015), pois, respostas rápidas e precisas do vigor são altamente desejáveis nos programas de controle de qualidade das empresas produtoras de sementes para decidir sobre o destino de lotes (GOMES- JUNIOR; CHAMMA; CICERO, 2014; WENDT et al., 2017).

Alguns testes de vigor são baseados em determinações de velocidade e uniformidade do crescimento de plântulas ou medição manual de suas partes (SILVA; CICERO, 2014). Os testes de comprimento de plântula com base na medição manual apresentam duas limitações pelo menos como, por exemplo, os resultados podem variar de laboratório a laboratório devido à natureza da matéria e levar tempo excessivo para adquirir resultados. Portanto, ao automatizar essas tarefas através do uso de programas de computador de processamento de imagem, estas duas limitações podem ser descartadas (HOFFMASTER et al., 2003; SILVA; CICERO, 2014).

A viabilidade do uso de análise de imagem computadorizada foi demonstrada pela primeira vez por McCormac et al. (1990) que determinaram o comprimento médio das raízes primárias das mudas de tomate, alface e couve-flor, evidenciando que o teste oferece a perspectiva de previsões mais precisas e menos dispendiosas sobre vigor das sementes (BAALBAKI et al., 2009). Mais recentemente o uso da análise de imagem computadorizada tem permitido obter informações objetivas em um período de tempo relativamente curto e com menos interferência humana na avaliação do vigor das sementes em várias espécies (MARCOS-FILHO et al., 2006).

Até o momento, diversos trabalhos têm sido desenvolvidos demonstrando que uso da técnica é eficiente para estratificar lotes de sementes em diferentes níveis de vigor, como, tomate (SILVA; CICERO, 2014) algodão (ALAVARENGA; MARCOS-FILHO, 2014), soja (YAGUSHI et al., 2014) cenoura (MARCHI; CICERO, 2016), cebola (GONÇALVES et al., 2017), *Crambe abyssinica* (LEÃO-ARAÚJO et al., 2017).

Silva et al. (2017) verificaram que o teste de análise de imagens foi eficiente no estudo de maturação e desenvolvimento de sementes de abóbora. Sementes colhidas em diferentes estádios de maturação podem mostrar diferenças estruturais, incluindo anomalias no embrião, que afetará diretamente a germinação e vigor (SILVA et al., 2013). Estas anomalias comprometem diretamente o desempenho das sementes, que ao emergirem podem apresentar plântulas anormais. Contudo, a análise de imagem através do software SVIS® poderá corroborar com os estudos sobre a maturação e desenvolvimento de sementes.

Conforme Silva e Cicero (2014) ainda não se tem muitos trabalhos relacionadas ao uso desta técnica para avaliações da qualidade de sementes de tomate e até o momento não se encontrou estudos utilizando-se o SVIS® para avaliar sementes de tomate em diferentes estádios de maturação. Partindo desses pressupostos objetivou-se com esta pesquisa avaliar a qualidade fisiológica de sementes híbridas de tomate BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos em diferentes estádios de desenvolvimento, com o auxílio da análise de imagens de plântulas.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Produção das sementes

As sementes do híbrido BRS Nagai foram produzidas na Embrapa Hortalícias, Brasília-DF no período de fevereiro a maio de 2017. Os parentais foram cultivados em vasos mantidos em ambiente protegido seguindo as recomendações usuais para tomate tutorado. Os botões florais de plantas do parental feminino foram emasculados manualmente antes da maturidade da abertura da flor e o pólen das flores de plantas do parental masculino foi coletado por meio de um vibrador. A polinização foi realizada diariamente sendo devidamente identificadas com etiquetas contendo a data de realização do cruzamento.

Aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização (DAP) foram colhidos aproximadamente 60 frutos tendo as sementes extraídas por processo manual e colocadas para fermentar por um período de 48 horas. Decorrido este tempo as sementes foram lavadas em água corrente, secas à temperatura ambiente por aproximadamente 24 horas e, posteriormente, transferidas para uma câmara com ventilação a 32°C por mais 24 horas. Após a secagem, as mesmas foram acondicionadas em embalagens de alumínio e armazenadas em câmara fria à 7°C até a realização dos testes.

Os testes de análise de imagens de plântulas foram realizados nos laboratórios de Análise de Sementes e de Análise de Imagens da Escola Superior de Agronomia – ESALQ, em

Piracicaba-SP e os demais testes no Laboratório de Sementes da Embrapa Hortaliças, Brasília - DF.

4.2.2. Análises fisiológicas

A qualidade fisiológica das sementes foram determinadas por meios dos seguintes testes:

4.2.2.1. Umidade

Utilizou-se o método da estufa a 105 ± 3 °C, por 24 horas com três amostras de sementes de 1,0 g para cada época e os resultados foram expressos em porcentagem (base úmida), conforme Brasil (2009).

4.2.2.2. Germinação

Quatro repetições de 50 sementes de cada época colhida foram distribuídas sobre duas folhas de papel de germinação umedecidas com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa seca do substrato, no interior de caixas de plástico e expostas à 20-30°C, com fotoperíodo ajustado para 8 horas de luz e 16 horas de escuro. As avaliações foram realizadas aos 14 dias após a semeadura (Brasil, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

4.2.2.3. Primeira contagem de germinação

Realizada conjuntamente com o teste de germinação, contabilizando-se o número de plântulas normais presentes no quinto dia após o início do teste. Os resultados foram expressos em porcentagem.

4.2.2.4. Índice de velocidade de germinação (IVG)

Determinado conjuntamente ao teste de germinação, por meio da contagem do número de sementes germinadas, diariamente, a partir da emissão da radícula, até a estabilização do estande e calculado segundo a equação abaixo proposta por Maguirre (1962).

$$\text{IVG} = \sum \left(\frac{n_i}{t_i} \right)$$

n_i = número de sementes germinadas na primeira, na segunda e na última contagem; N_1 , N_2 ,

t_i = número de dias de semeadura à primeira, segunda e última contagem.

4.2.2.5. Envelhecimento acelerado

Duzentas sementes de cada época foram uniformemente distribuídas sobre uma tela de alumínio, dispostas em caixas plásticas tipo “gerbox”, contendo no fundo, 40mL de solução

de cloreto de sódio (NaCl) 40%. As caixas foram fechadas e mantidas a 41°C, por 72 horas em câmara de envelhecimento. Após esse período, as sementes foram submetidas ao teste de germinação, conforme descrito anteriormente e as avaliações feitas aos cinco dias após a semeadura.

4.2.3. Análise computadorizada

Para a obtenção das plântulas foi adotada a exposição de 25 sementes a 20-30°C, em rolo de papel toalha umedecidos com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa seca do papel, por quatro dias, conforme (SILVA; CICERO, 2014). Posteriormente, as plântulas foram transferidas do papel toalha para uma folha de cartolina com coloração preta e as imagens obtidas com scanner modelo HP Scanjet 2004, montado de maneira invertida no interior de uma caixa de alumínio com resolução de 100 dpi. Em seguida, as imagens de plântulas foram analisadas com o uso do software *Seed Vigor Imaging System* (SVIS[®]) instalado em computador operado por sistema *Windows XP Professional*. Após a análise e a avaliação de cada plântula, o software forneceu valores referentes aos índices de vigor (IV) e de uniformidade de crescimento (IUC) variando de 0 a 1000 e comprimento de plântulas (CP). Os dados de comprimento de plântulas foram fornecidos pelo programa em pixels e, após a tabulação, foram transformados para cm, considerando-se que um pixel equivale a 0,02645 cm.

4.2.4. Procedimento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Inicialmente os dados foram analisados quanto à normalidade de distribuição de resíduos e uniformidade da variância e aqueles que não apresentaram distribuição normal e homogeneidades foram transformados em arc sen $(x/100)^{1/2}$. Posteriormente foram submetidos à análise de variância a 5% de probabilidade pelo teste “F” e as estimativas dos parâmetros de regressão foram analisadas pelo teste “t” a 5% de probabilidade através do programa Sistema para Análise de Variância-SISVAR (FERREIRA, 2011).

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A umidade das sementes colhidas nos diferentes estádios de maturação não revelou diferenças significativas, externando a uniformidade da secagem das mesmas, variando de 5,7 a 6,0 %. Isto é importante, considerando que uma grande diferença entre os lotes quanto ao

teor de umidade, poderia influenciar os resultados de vigor (TEKRONY, 2003; ALAVRENGA; MARCOS-FILHO, 2014).

A tabela 1 apresenta o resumo da análise de variância (ANOVA) das variáveis fisiológicas e do índice de vigor, índice de uniformidade e comprimento de plântulas, obtidos a através do SVIS®. Verifica-se que houve diferença significativa em todas as variáveis analisadas.

Tabela 1. Resumo da ANOVA da qualidade fisiológica de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização, através da análise computadorizada de imagens de plântulas pelo SVIS®. Brasília, DF.

FV	Quadrado médio							
	G	PC	IVG	EAS	EP	IV	IUC	CP
Época	58,15*	6769,20*	2,62*	6694,05*	57,52*	850,28*	836,18*	1,42*
Resíduo	0,86	4,40	0,02	15,32	0,41	0,49	0,44	0,002
CV%	13,58	4,62	7,78	8,43	11,24	4,53	4,29	3,92

FV - Fontes de variação; G - Germinação; PC - Primeira contagem de germinação; IVG - Índice de velocidade de germinação; EAS - Envelhecimento acelerado em solução saturada; EP - Emergência de plântulas; IV - Índice de vigor; IUC - Índice de uniformidade no crescimento; CP - Comprimento de plântulas; ns - não significativo, * - significativo a 5% respectivamente pelo teste F.

A tabela 2 apresenta o resumo da análise de regressão demonstrando efeitos significativos para a maioria das variáveis testadas, exceto no quadrático para o índice de vigor, índice de crescimento e comprimento de plântulas e no cúbico para o índice de velocidade de germinação.

Tabela 2. Resumo da análise de regressão do potencial fisiológico e análise de imagens de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília, DF.

Parâmetros avaliados	Quadrado médio		
	Linear	Quadrático	Cúbico
Porcentagem de germinação	236,3 ^{**}	54,7 ^{**}	10,1 [*]
Primeira contagem de germinação	237,1 [*]	41,7 ^{**}	8,2 ^{**}
Índice de velocidade de germinação	6,9 ^{**}	0,9 ^{**}	0,3 ^{ns}
Envelhecimento acelerado	206,4 [*]	19,0 [*]	7,6 ^{**}
Emergência de plântulas em campo	23280,6 [*]	385,87 [*]	1960,0 ^{**}
Índice de Vigor	1847712,1 ^{**}	66822,3 ^{ns}	151413,0 ^{**}
Índice de Crescimento	1621651,3 ^{**}	115600,0 ^{ns}	163328,4 ^{**}
Comprimento de Plântulas	4,7 [*]	0,0 ^{ns}	0,8 ^{**}

^{ns,*} e ^{**} corresponde a significativo a 1 e 5% respectivamente pelo teste t.

Observando a figura 1, verifica-se que sementes colhidas aos 30 DAP não possuem capacidade germinativa, sendo totalmente inviáveis (figura 1). A germinação inicia-se aos 40 DAP (27 %) apresentando um aumento expressivo a partir de então.

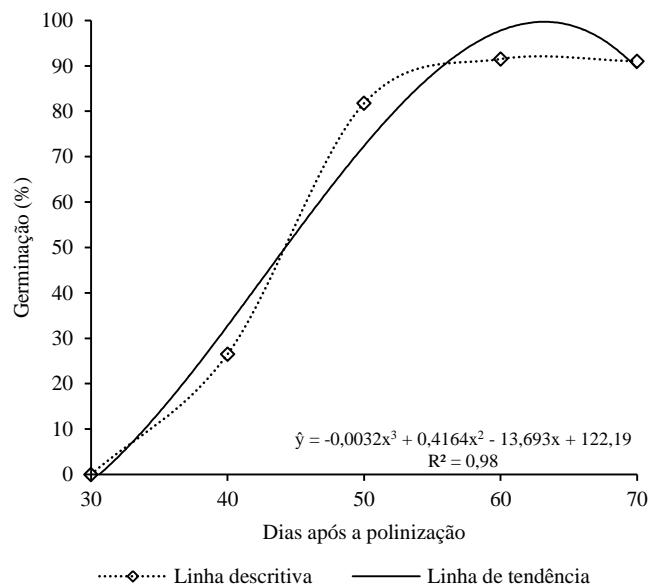


Figura 1. Porcentagem de germinação de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília-DF.

Sementes colhidas aos 50, 60 e 70 dias após a polinização apresentaram os maiores percentuais de germinação, 82, 92 e 91%, respectivamente, valores estes, superiores ao especificado como padrão mínimo (80%) para sementes fiscalizadas e certificadas de tomate. O valor máximo de germinação (95%) ocorre entre 60 e 70 DAP, evidenciando que sementes maduras e bem formadas, têm percentual de germinação maior que sementes imaturas (BARBEDO et al., 2004).

A indicação do momento em que o vigor das sementes foi máximo, conforme o modelo ajustado foi de aproximadamente 64 dias após a polinização, sendo concordante entre os testes.

Nota-se que, assim como na germinação, o vigor, representado pelos testes de primeira contagem (figura 2 A), velocidade de germinação (figura 2 B) e envelhecimento acelerado (figura 2 C), foi maior para as sementes colhidas aos 50, 60 e 70 dias após a polinização. Sementes colhidas aos 40 DAP tem velocidade de germinação reduzida e não toleram estresse, como mostra os testes de primeira contagem, IVG e envelhecimento acelerado. O vigor das sementes colhidas aos 50 DAP reduziu drasticamente, no teste de emergência de plântulas, diferenciando-se daquelas colhidas aos 60 e 70 DAP (figura 2 D). Observando ainda os testes de primeira contagem, IVG e emergência, verifica-se leve tendência de diminuição do vigor quando as sementes são colhidas aos 70 DAP.

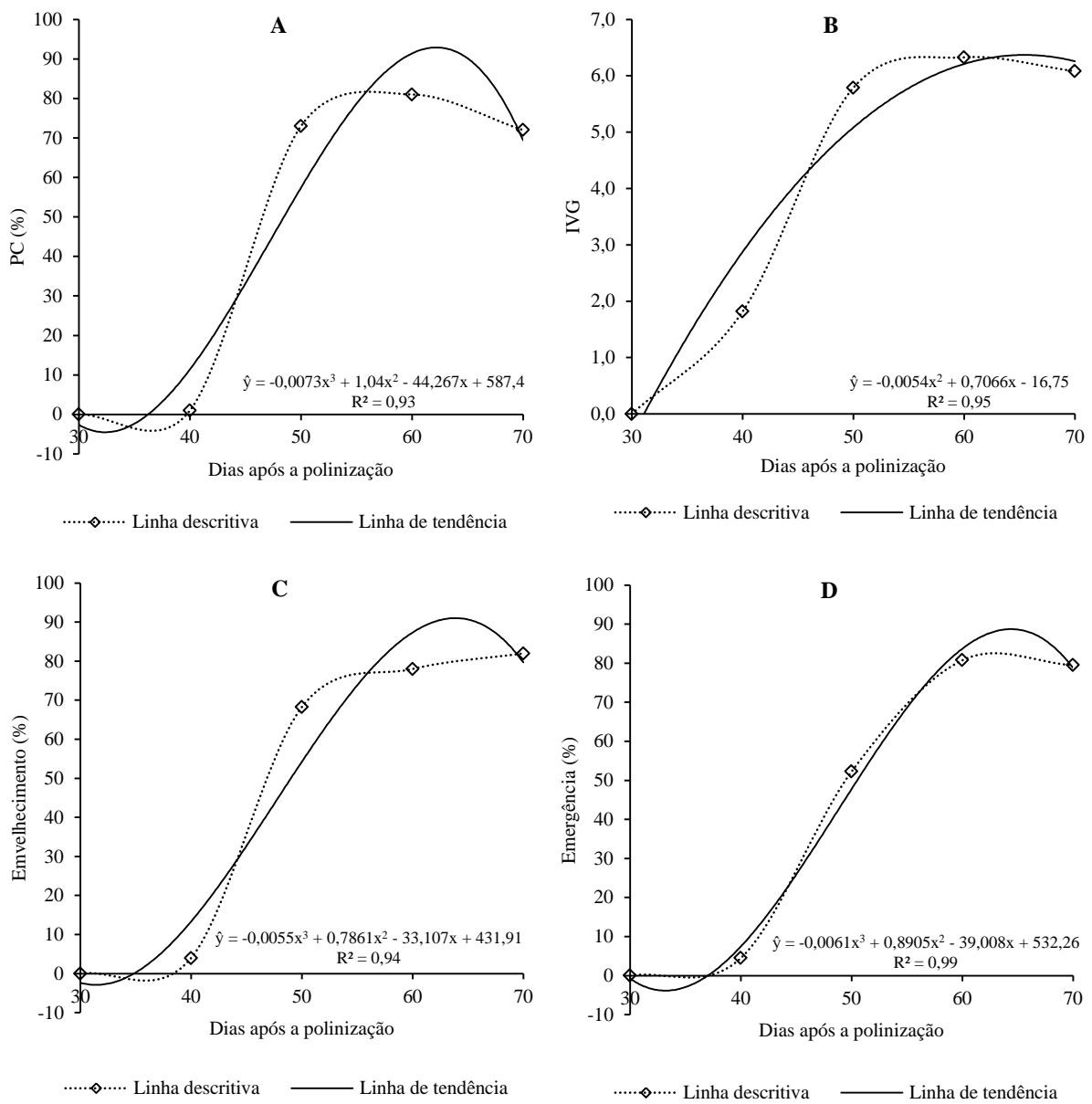


Figura 2. Primeira contagem de germinação (A), índice de velocidade de germinação (B), envelhecimento acelerado com solução saturada (C) e porcentagem de emergência de plântulas (D) de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília-DF.

Com relação aos resultados da análise de imagens de plântulas obtidos pelo SVIS®, foi observado que à medida que as sementes adquirem maturidade, com o aumento dos dias para a colheita dos frutos, o índice de vigor (IV) e de uniformidade de crescimento (IUC) aumentam (figura 3 A e B). É importante ressaltar que sementes colhidas aos 40 DAP tem uma germinação lenta, como observado nos testes anteriores, contudo, aos quatro dias após a semeadura, momento da realização do teste, não havia número suficientes de sementes

germinadas capaz de produzir resultados, por isso, os valores dos parâmetros foram considerados zero, na análise dos dados.

Pelas linhas de tendência ajustadas verifica-se que os IV e IUC máximos ocorrem aos 68 e 66 dias após a polinização, respectivamente, próximo dos obtidos pelos testes de vigor supracitados. No entanto, esses dois parâmetros mostraram tendência de crescimento linear no vigor das sementes, sugerindo que aquelas colhidas aos 70 DAP seriam possivelmente mais vigorosas.

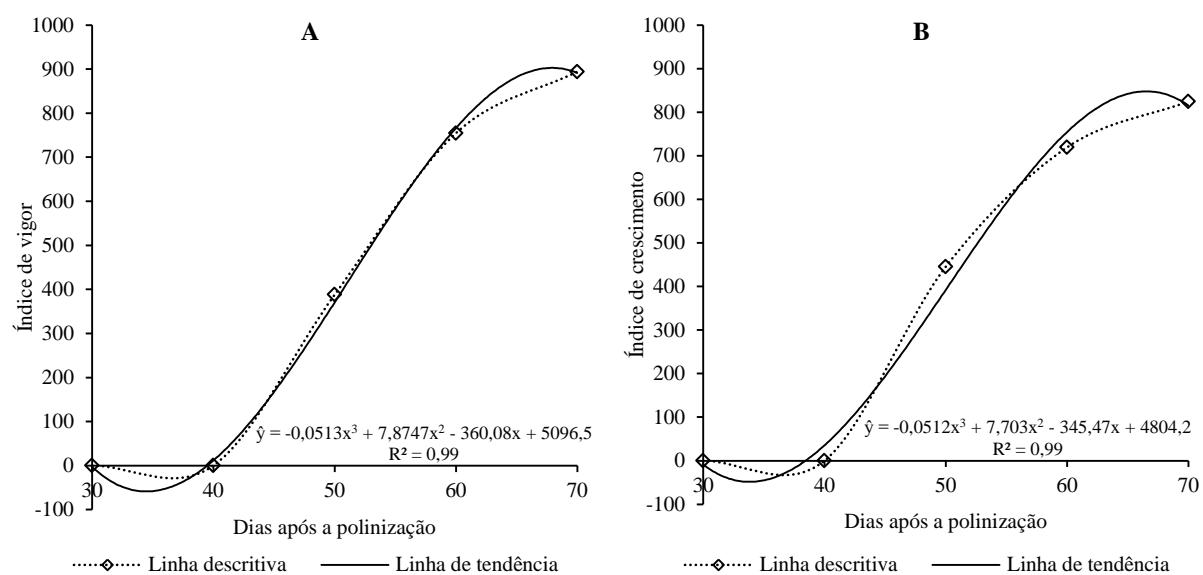


Figura 3. Índice de vigor (A) e de uniformidade no crescimento (B) de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília-DF.

Para soja, a *Ohio Crop Improvement Association*, entidade certificadora de sementes nos Estados Unidos da América, desenvolveu uma escala onde lotes são classificados com vigor excepcional (800-1000), alto (600-799), bom (400-599) e baixo (200-399) através da análise de imagens de plântulas pelo SVIS® (WENDT et al., 2017; MARCOS-FILHO, 2015), no entanto, ainda não existe uma escala para avaliar o vigor em sementes de tomate. Os valores do índice de vigor foram de 388, 754 e 894 para sementes colhidas aos 50, 60 e 70 DAP, respectivamente. Já os valores do índice de uniformidade no crescimento foram de 445, 719 e 824, para sementes colhidas nas mesmas épocas. Nota-se, portanto, que as sementes colhidas aos 70 DAP são aparentemente mais vigorosas. Silva; Cicero (2014) verificaram que

lotes de sementes de tomate com maior vigor apresentavam valores de IV entre 604 e 642, e de IUC entre 566 a 594.

É importante ressaltar que as empresas que produzem sementes têm a necessidade de desenvolver testes específicos que garantam análises rápidas e adequadas para identificar lotes com maior nível de qualidade e esse tipo de informação tecnológica, pode ser incluída como uma chave para a agricultura global de precisão e sustentabilidade, e para a transferência padronizada de dados para analistas de sementes com intuito de auxiliar na tomada de decisão (DELL'ÁQUILA, 2009).

A avaliação do crescimento de plântulas para análise do vigor é indicada pelas normas internacionais para análise de sementes (ISTA, 2011) e vários trabalhos de pesquisa utilizando a análise computadorizada de imagens relatam sua eficiência para separar lotes em diferentes níveis de vigor como em melão (MARCOS-FILHO et al., 2006), canola (TOHIDLOO; KRUSE, 2009), pepino (CHIQUITO, et al., 2012), tomate (SILVA; CICERO, 2014), brócolis (ABUD et al., 2017) e soja (MARCOS-FILHO et al., 2009; WENDT et al., 2017).

Em soja, Wendt et al., (2017) observaram que os índices de vigor e uniformidade de crescimento determinado pela análise de imagens de plântulas com o SVIS® possui maior capacidade em predizer o estabelecimento de plântulas em campo. No entanto, em amendoim, Marchi et al. (2011) verificaram que a uniformidade de crescimento não foi um parâmetro eficiente na avaliação do potencial fisiológico, apresentando resultados similares aos testes de envelhecimento acelerado e emergência de plântulas em campo.

Considerando o índice de comprimento de plântulas (CP) (figura 4), observa-se que sementes colhidas aos 50 DAP obtiveram os menores valores de CP (0,4 cm), aumentando progressivamente até os 60 DAP. Há, portanto, tendência de diminuição do vigor das sementes colhidas aos 70 DAP, concordando com os resultados obtidos nos testes de primeira contagem, IVG e emergência de plântulas. O CP máximo estimado pelo modelo ocorre em torno de 60 dias.

Para Nakagawa (1999), a avaliação do comprimento da plântula é considerada eficiente para detectar diferenças no potencial fisiológico das sementes de várias espécies. Simultaneamente, além desta sensibilidade, esses resultados podem mostrar relação com o surgimento de mudas no campo (VANZOLINI et al., 2007).

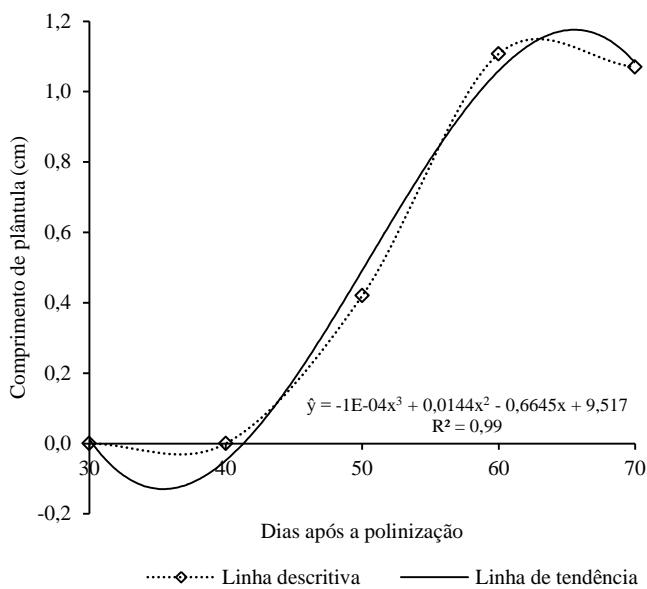


Figura 4. Comprimento de plântulas obtidas pelo SVIS de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização. Brasília-DF.

Quanto ao período em que ocorre máximo vigor (entre 60 e 70 DAP), houve concordância entre todos os testes, incluindo os de análise de imagens de plântulas pelo SVIS®. Porém, na avaliação da qualidade fisiológica, verifica-se que os índices de vigor e uniformidade de crescimento foram concordantes somente com o teste de emergência, para distinguir a baixa qualidade das sementes colhidas aos 50 DAP, enquanto que o índice comprimento de plântulas revelou informações mais coerentes tanto com o teste de emergência quanto com os demais testes de vigor, permitindo identificar diferenças significativas no desempenho das sementes.

Vale salientar, portanto, que o uso do SVIS® não se restringe apenas à comparação direta do vigor de diferentes lotes através da análise do crescimento das plântulas, mas envolve a possibilidade de sua introdução como complemento de outros testes (SEKHARAM et al., 2005; SILVA; CICERO, 2014).

Rocha et al. (2015) verificaram que lotes de sementes de girassol apesar de apresentarem mesma classificação no teste de germinação, os testes de vigor corriqueiros foram concordantes com os de análise de imagens de plântulas pelo SVIS® demonstrando diferenças de desempenho dos lotes. No entanto, Silva et al (2012) verificaram que, em sementes de crotalária, somente o teste de condutividade elétrica mostrou concordância com os resultados da análise de imagens de plântulas obtidos pelo SVIS®. Isso reforça a premissa de que o

potencial fisiológico deve ser avaliado por mais de um teste, baseando-se em princípios diferentes, possibilitando assim uma informação mais completa sobre o potencial de desempenho das sementes (ROCHA; SILVA; CÍCERO, 2015).

No caso dos estudos sobre maturação, os testes de vigor têm o intuito de auxiliar na identificação da qualidade das sementes, contribuindo ainda para a tomada de decisão sobre o momento adequado para a realização da colheita de modo a se obter sementes com máxima qualidade fisiológica. Ademais, observa-se que os testes de análise de imagens foram complementares para detectar diferenças na qualidade das sementes de tomate, principalmente daquelas colhidas aos 50 DAP, que apesar de apresentar germinação acima de 80 %, o vigor das sementes colhidas nesta época é reduzido.

Silva et al. (2017) avaliando a qualidade fisiológica de sementes híbridas de abóbora, em diferentes estádios de maturação, verificaram eficiência no uso software SVIS® para avaliar a qualidade das sementes.

4.4. CONCLUSÕES

A análise de imagens de plântulas apresentou eficiência similar com os demais testes de vigor concordando quanto ao período de colheita para a ocorrência de máxima qualidade fisiológica das sementes híbridas de tomate (entre 60 e 70 dias após a polinização). No entanto, houve divergência na avaliação das sementes colhidas nos dois últimos estádios de maturação.

4.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABUD, Haynna Fernandes; CICERO, Silvio Moure; GOMES JUNIOR, Francisco Guilhien. Computerized image analysis of seedlings to evaluate broccoli seed vigor. **Journal Of Seed Science**, [s.l.], v. 39, n. 3, p.303-310, set. 2017. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2317-15372017000300303 Acesso em: 10 jan. 2018.
- ALVARENGA, R. O.; MARCOS-FILHO, J.. Vigor evaluation of stored cotton seeds, including the Seed Vigor Imaging System (SVIS®). **Journal Of Seed Science**, [s.l.], v. 36, n. 2, p.222-230, jun. 2014.. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S2317-15372014000200011&script=sci_abstract&tlang=en . Acesso em: 10 jan. 2018
- BAALBAKI, R.; ELIAS, S.; MARCOS-FILHO, J.; MCDONALD. M.B. 2009. **Seed Vigor Testing Handbook**. Association of Official Seed Analysts, Washington, DC, USA.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009, 395p.
http://www.agricultura.gov.br/ark_editor/file/2946_regras_analise_sementes.pdf
- CHIQUITO, A.A.; GOMES-JUNIOR, F.G.; MARCOS-FILHO, J. 2012. Assessment of physiological potential of cucumber seeds using the Seed Vigor Imaging System®. **Revista Brasileira de Sementes** 34: 255-263. Disponível em http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222012000200010 Acesso em: 10 de jan. 2018.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia** 35: 1039-1042. 2011.
- GOMES-JUNIOR, F. G.; CHAMMA, H. M. C. P.; CICERO, S. M. Automated image analysis of seedlings for vigor evaluation of common bean seeds. **Acta Scientiarum. Agronomy**, [s.l.], v. 36, n. 2, p.195-200, 29 abr. 2014. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1807-86212014000200008 . Acesso em: 10 jan. 2018.
- GOMES-JUNIOR, F. G.; MONDO, V. H. V.; CICERO, S. M.; McDONALD, M. B.; BENNET, M. A. Evaluation of priming effects on sweet corn seeds by SVIS. **Seed Technology**, v.31, n.1, p.95-100, 2009.
- HOFFMASTER, A.L.; XU, L.; FUJIMURA, K.; McDONALD, M.B.; BENNET, M.A.; EVANS, A.F. The Ohio State University seed vigor imaging system (SVIS) for soybean and corn seedlings. **Seed Science and Technology**, v.27, n.1, p.7-26, 2005.
http://seedbiology.osu.edu/People_pdf/miller_abstractSVIScorn.pdf
- HOFFMASTERAL; FUJIMURAK ;MCDONALD MB; BENNETT MA. 2003. An automated system for vigour testing threeday-old soybean seedlings. **Seed Science and Technology** 31: 701-713. DOI: <https://doi.org/10.15258/sst.2003.31.3.19>

LEÃO-ARAÚJO, Erica Fernandes et al. Controlled deterioration test and use of the Seed Vigor Imaging System (SVIS®) to evaluate the physiological potential of crambe seeds. **Journal Of Seed Science**, [s.l.], v. 39, n. 4, p.393-400, dez. 2017. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2317-15372017000400393&lng=en&nrm=iso Acesso em: 10 jan. 2018.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.2, p.176-177, 1962. DOI <http://dx.doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>

MARCHI, José Luís de; CICERO, Silvio Moure. Use of the software Seed Vigor Imaging System (SVIS®) for assessing vigor of carrot seeds. **Scientia Agricola**, [s.l.], v. 74, n. 6, p.469-473, dez. 2017. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90162017000600469&lng=en&tlang=en . Acesso em: 10 jan. 2018.

MARCHI, J. L. de; CICERO, S. M. and GOMES JUNIOR, F. G. Utilização da análise computadorizada de plântulas na avaliação do potencial fisiológico de sementes de amendoim tratadas com fungicida e inseticida. **Rev. bras. sementes** [online]. 2011, vol.33, n.4, pp.652-662. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-31222011000400007&script=sci_abstract&tlang=pt

MARCOS-FILHO, J. **Seed Physiology of Cultivated Plants**. ABRATES, Londrina, PR, Brazil. 2016.

MARCOS-FILHO, J.; BENNETT, M.A.; MCDONALD, M.B.; EVANS, A.F.; GRASSBAUGH, E.M. 2006. Assessment of melon seed vigour by an automated computer imaging system compared to traditional procedures. **Seed Science and Technology** 34: 485-497. DOI <http://dx.doi.org/10.15258/sst.2006.34.2.23>

MCCORMAC, A.C.; KEEFE, P.D.; DRAPER, S.R. 1990. Automated vigor testing of field vegetables using image analysis. **Seed Science and Technology** 18: 103-112.

ROCHA, C. R. M. D.; SILVA, V. N.; CICERO, S. M. Avaliação do vigor de sementes de girassol por meio de análise de imagens de plântulas. **Ciência Rural**, Santa Maria, 45, n. 6, jun. 2015. 970-976. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cr/v45n6/1678-4596-cr-45-06-00970.pdf> .

SILVA, P. P. da et al. Assessment of squash seed vigor using computerized image analysis. **Journal Of Seed Science**, [s.l.], v. 39, n. 2, p.159-165, jun. 2017.. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2317-15372017000200159 Acesso em: 10 jan. 2018.

SILVA, P. P. da. Características fisiológicas, bioquímicas e morfológicas de sementes de abóbora durante o desenvolvimento. **Tese** (Doutorado). Pelotas, 2014. 112 f.

SILVA, V. N.; CICERO, S. M. Image seedling analysis to evaluate tomato seed physiological potential. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 45, n. 2, p.327-334, jun. 2014.

Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-05362014000200145&script=sci_abstract&tlang=pt . Acesso em: 10 jan. 2018.

SILVA, C. B. da; LOPES, M. M.; MARCOS-FILHO, J. and VIEIRA, R. D.. Automated system of seedling image analysis (SVIS) and electrical conductivity to assess sun hemp seed vigor. **Rev. bras. sementes** [online].., vol.34, n.1, pp.55-60, 2012.
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222012000100007.

TEKRONY, D.M. Precision is an essential component in seed vigour testing. **Seed Science and Technology**, v.31, n.3, p.435-447, 2003. Disponível em:
<http://www.ingentaconnect.com/content/ista/sst/2003/00000031/00000002/art00020?crawler=true> Acesso em: 10 de jan. 2018.

TOHIDLOO, G.; KRUSE, M. Development of an image analysis aided seedling growth test for winter oilseed rape and verification as a vigor test. **Seed Science and Technology**, v. 37, p. 98-109, 2009. DOI <http://dx.doi.org/10.15258/sst.2009.37.1.12>

WENDT, Letícia et al. Relação entre testes de vigor com a emergência a campo em sementes de soja. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife,pe, v. 12, n. 2, p.166-171, mar. 2017. Disponível em: [http://agraria.pro.br/ojs-2.4.6/index.php?journal=agraria&page=article&op=view&path\[\]&agraria_v12i2a5435](http://agraria.pro.br/ojs-2.4.6/index.php?journal=agraria&page=article&op=view&path[]&agraria_v12i2a5435)
Acesso em: 10 jan. 2018.

CAPÍTULO V

**RESPOSTA FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE TOMATE EM DIFERENTES
ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO SUBMETIDAS AO CONDICIONAMENTO
OSMÓTICO**

RESUMO

Considerando que sementes colhidas em distintos estádios de maturação apresentam diferenças no potencial fisiológico, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do condicionamento osmótico em sementes híbridas de tomate (BRS Nagai) oriundas de frutos colhidos em diferentes dias após a polinização (DAP). As sementes foram produzidas em telados no campo experimental da Embrapa Hortaliças através de cruzamento manual. Aos 30, 40, 50, 60 e 70 DAP foram colhidos frutos tendo suas sementes extraídas e colocadas para fermentar por um período de 48 horas. As sementes foram posteriormente lavadas e secas à temperatura ambiente durante 24 horas, sendo posteriormente transferidas para uma câmara com ventilação a 32°C por mais 24 horas. Após a secagem, as mesmas foram acondicionadas em embalagens de alumínio e armazenadas em câmara fria à 7°C, permanecendo armazenadas por aproximadamente 15 meses até a realização dos testes. Em condição de laboratório, as sementes foram submetidas ao condicionamento osmótico, em sistema aerado, utilizando-se solução de nitrato de potássio (KNO₃) a 0,3 mol L⁻¹ durante sete dias. Após o condicionamento, as sementes foram lavadas em água corrente por dois minutos, e colocadas para secar em BOD a 20°C durante dois dias. O grau de umidade inicial foi determinado e também após a secagem. Em seguida, foi realizado o teste de germinação, primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação e massa seca de plântulas. Antes das sementes serem armazenadas, o percentual de germinação nos estádios 30, 40, 50, 60 e 70 DAP foi de 0, 33, 86, 96 e 97%, respectivamente. Após o período de um ano (quando as sementes foram então submetidas ao condicionamento osmótico) esses valores foram de 0, 8, 54, 91 e 84%, indicando o avanço do processo de deterioração. A umidade das sementes após o condicionamento variou de 7,2 a 7,9% entre os diferentes estádios de maturação, não sendo, portanto, um fator limitante para o desempenho nos testes. Sementes colhidas aos 50, 60 e 70 DAP aumentaram significativamente a velocidade. O tempo médio para germinação total das sementes foi reduzido de três dias para aquelas colhidas aos 40 e 50 DAP e de cinco dias para as sementes colhidas aos 60 e 70 DAP. Em sementes de tomate com estádio de maturação mais avançado, o condicionamento osmótico não influenciou na germinação, porém, promoveu maior velocidade e uniformidade. Em sementes imaturas (40 DAP), por sua vez, o condicionamento osmótico, além de aumentar a velocidade de germinação, propiciou maior transferência/mobilização de matéria seca durante o crescimento das plântulas.

Palavras-chave: BRS Nagai, maturação fisiológica, semente híbrida, *Solanum lycopersicum*.

ABSTRACT

Considering that seeds harvested at different maturation stages display differences in their physiological potential, this study aimed to evaluate the effects of osmotic conditioning on hybrid tomato (BRS Nagai) seeds obtained from fruits harvested at different times. The seeds were produced under plastic house conditions in the experimental field of Embrapa Vegetable Crops by manual crossing. Fruits were harvested at 30, 40, 50, 60 and 70 days after pollination (DAP). Seeds were extracted and placed for fermentation together with fragments of the locular fruit jelly during 48 hours. The seeds were then washed and dried at room temperature for 24 hours, and then transferred to a chamber with ventilation at 32°C for additional 24 hours. After drying, seeds were packed in aluminum foil envelopes and stored in a cold room at 7°C, remaining stored for approximately 15 months until testing. In the laboratory, the seeds were submitted to priming in an aerated system using 0.3 mol L⁻¹ potassium nitrate solution (KNO₃) for seven days. After conditioning, seeds were washed in running water for two minutes, and placed to dry in BOD at 20 °C for two days. The seed moisture content was determined at once and also after drying. Then, the germination test, the first germination count, the germination speed index (IVG), the mean germination time and the dry mass of the seedlings were carried out. Before the seeds were stored, the percentage of germination at stages 30, 40, 50, 60 and 70 DAP was 0, 33, 86, 96 and 97%, respectively. After the period of one year (when the seeds were submitted to priming) these percentages were 0, 8, 54, 91 and 84%, indicating the advancement of the deterioration process. Seed moisture content after conditioning ranged from 7.2 to 7.9% among the different stages of maturation, not being, therefore, a limiting factor for the performance of the tests. Seeds harvested at 50, 60 and 70 DAP significantly increased the speed. The mean times for total seed germination was reduced from three days for those harvested at 40 and 50 DAP and from five days for the seeds harvested at 60 and 70 DAP. In tomato seeds with more advanced stage of maturation, the priming did not influence the germination, however, it promoted greater speed and uniformity. On the other hand, in immature seeds (40 DAP), the osmotic conditioning, in addition to increasing the germination speed, allowed for a greater dry matter transfer/mobilization during the growth of the seedlings.

Key words: BRS Nagai, physiological maturation, hybrid seeds, *Solanum lycopersicum*.

5.1. INTRODUÇÃO

Na produção de tomate (*Solanum lycopersicum* L.), o período compreendido entre a semeadura e a emergência das plântulas representa uma das fases mais críticas do ciclo da cultura. Portanto, os tratamentos para indução das sementes (antes da semeadura), visando obter uma emergência rápida e uniforme (FRETT et al., 1991; PILL et al., 1991) são desejáveis, especialmente no caso de híbridos (MAUROMICALE; CAVALLARO, 1995).

Diferentes tratamentos têm sido estudados no sentido de melhorar a qualidade das sementes e propiciar um rápido e uniforme estabelecimento de plântulas no campo e/ou na estufa. Entre esses tratamentos destaca-se o condicionamento osmótico, que consiste na hidratação controlada das sementes, suficiente para promover atividades pré-metabólicas, sem, contudo, permitir a emissão da raiz primária (HEYDECKER; HIGGINS; GULLIVER, 1973; NASCIMENTO 2004). Em geral, esse tratamento consiste em embeber as sementes em uma solução osmótica por determinado período e após isso, secá-las para o grau de umidade original (NASCIMENTO, 1998), possibilitando, desta forma, o manuseio e a armazenagem das sementes tratadas (NASCIMENTO, 2005).

O condicionamento osmótico proporciona uma ampla gama de benefícios bioquímicos tais como, aumento na expressão das proteínas LEA (*Late Embryogenesis Abundant*) (SOEDA et al., 2005), aumento na atividade de enzimas antioxidantes (CHE; ARORA, 2011; KIBINZA et al., 2011), aumento na quantidade de adenosina trifosfato (ATP) (CORBINEAU et al., 2000), bem como um estímulo para a divisão celular até a fase G2 (CATRO et al., 2000). Além disso, o condicionamento osmótico induz mudanças no metabolismo de reservas e na homeostase celular (FAROOQ et al., 2010). Esses benefícios possibilitam um melhor potencial fisiológico, refletido através do aumento da velocidade de germinação, uniformidade e vigor das plântulas (VARIER; VARI; DALANI, 2010).

Vários fatores podem afetar à técnica do condicionamento osmótico e entre eles destaca-se a qualidade das sementes. Tem-se sugerido o uso de sementes de alto vigor como pré-requisito para se obter um bons resultados. Entretanto, o condicionamento osmótico tem “revigorado” lotes de sementes de baixa qualidade fisiológica, pois, o sucesso do tratamento depende ainda do estádio de maturação em que as sementes se encontram, pois, sementes imaturas terão melhor resposta ao tratamento (NASCIMENTO, 2004).

Albuquerque et al. (2009) verificaram que o condicionamento osmótico com KNO_3 , favoreceu a velocidade de emergência de sementes de pimentão em diferentes estádios de maturação, principalmente daquelas oriundas de frutos colhidos no início do amadurecimento.

Deste modo, objetivou-se com este trabalho avaliar as respostas fisiológicas de sementes de tomate híbrido BRS Nagai em diferentes estádios de maturação submetidas ao condicionamento osmótico.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Sementes da Embrapa Hortalícias, Brasília, DF. Sementes do híbrido BRS Nagai foram produzidas de fevereiro a maio de 2016. Os parentais foram cultivados em vasos mantidos em ambiente protegido seguindo as recomendações usuais para tomate tutorado. Os botões florais de plantas do parental feminino foram emasculados manualmente antes da maturidade e da abertura da flor e o pólen das flores de plantas do parental masculino foi coletado por meio de um vibrador. A polinização foi realizada diariamente sendo devidamente identificadas com etiquetas contendo a data de realização do cruzamento.

Aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização (DAP) foram colhidos aproximadamente 60 frutos (para cada época) tendo as sementes extraídas por processo manual e colocadas para fermentar por um período de 48 horas. Decorrido este tempo as sementes foram lavadas em água corrente, seca à temperatura ambiente por aproximadamente 24 horas e, posteriormente, transferidas para uma câmara com ventilação a 32°C por mais 24 horas. Após a secagem, as mesmas foram acondicionadas em embalagens de alumínio e armazenadas em câmara fria à 7°C, por aproximadamente 15 meses até a realização dos testes. Antes do armazenamento quantidades suficientes de sementes foram retiradas e caracterizadas quanto ao percentual de germinação incial.

Em condição de laboratório, as sementes foram submetidas ao condicionamento osmótico, em sistema aerado, utilizando-se solução de nitrato de potássio (KNO_3) a 0,3 mol L^{-1} durante sete dias (NASCIMENTO, 2005). Após o condicionamento, as sementes foram lavadas em água corrente por dois minutos, e colocadas para secar em temperatura inicialmente em temperatura ambiente durante 24 horas e posteriormente, à temperatura de 20°C em BOD por mais 48 horas. O grau de umidade foi determinado inicial e posterior à secagem. Em seguida, realizaram-se os seguintes testes:

5.2.1. Germinação

Quatro subamostras de 50 sementes foram distribuídas em caixas plásticas do tipo gerbox, sobre duas folhas de papel filtro umedecidas com água destilada na proporção de 2,5

vezes o peso do papel e mantidas sob 8 horas de luz, à temperatura de 30°C e, sob 16 horas de escuro, à temperatura de 20°C, sendo que as avaliações foram realizadas aos quatorze dias, seguindo-se a metodologia descrita em Brasil (2009).

5.2.2. Primeira contagem (PC)

Realizada conjuntamente com o teste de germinação, computando-se as porcentagens médias de plântulas normais, no quinto dia após a instalação do teste.

5.2.3. Índice de velocidade de germinação (IVG)

Determinado conjuntamente ao teste de germinação, por meio da contagem do número de sementes germinadas, diariamente, a partir da emissão da radícula, até a estabilização do estande e calculado segundo a equação abaixo proposta por Maguirre (1962).

$$IVG = \sum \left(\frac{ni}{ti} \right)$$

ni = número de sementes germinadas na primeira, na segunda e na última contagem; N₁, N₂...N_n.

ti = número de dias de semeadura à primeira, segunda e última contagem.

5.2.4. Tempo médio de germinação (TMG)

Obtido através de contagens diárias das sementes germinadas até o 14º dia após a semeadura e calculado através da equação abaixo, proposta por Labouriau (1983), tendo os resultados expressos em dias.

$$TMG = \frac{\sum niti}{\sum ni}$$

ni = número de sementes germinadas no intervalo entre cada contagem.

ti = tempo decorrido entre o início da germinação e a i-ésima contagem.

5.2.5. Massa seca de plântulas (MS)

20 plântulas de cada repetição por tratamento, provenientes do teste de germinação foram acondicionadas em sacos de papel e mantidas em estufa a 60°C, por 24h. Em seguida, as plântulas foram pesadas em balança de precisão 0,001g e o valor obtido em cada repetição foi dividido pelo número de plântulas utilizadas. Os resultados foram expressos em mg plântula⁻¹.

5.2.6. Procedimento estatístico

O delineamento experimental em bloco ao acaso. Inicialmente os dados foram analisados quanto à normalidade de distribuição de resíduos e uniformidade da variância e aqueles que

não apresentaram distribuição normal e homogeneidades foram transformados em arc sen ($x/100$)^{1/2}. Posteriormente foram submetidos à análise de variância a 5% de probabilidade pelo teste “F” e as estimativas dos parâmetros de regressão, entre os fatores época de colheita (30, 40, 50, 60 e 70 DAP) e condicionamento osmótico (submetidas e não submetidas ao condicionamento), foram analisadas pelo teste “t” a 5% de probabilidade através do programa Sistema para Análise de Variância – SISVAR (FERREIRA, 2011).

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O grau de umidade após o condicionamento variou de 7,2 a 7,9% entre as sementes dos diferentes estádios de maturação não apresentando diferenças significativas e por isso não foram um fator limitante para o desempenho dos testes.

A interação entre os fatores, época de colheita e condicionamento, apresentou diferença estatística em todas as variáveis avaliadas, sendo influenciadas significativamente pelo método de condicionamento osmótico conforme demonstra a tabela 1.

Tabela 1. Resumo da análise de variância da resposta fisiológica de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização e submetidas ou não, ao condicionamento osmótico com KNO_3 (nitrato de potássio). Brasília, DF.

FV	GL	Quadrado médio				
		G	PC	IVG	TMG	MSP
Bloco	3	0,16 ^{ns}	1,48 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,015 ^{ns}	0,0006 ^{ns}
Época	4	127,85 ^{**}	67,54 ^{**}	13,29 ^{**}	8,433 ^{**}	3,1468 ^{**}
Método	1	1,59 [*]	123,53 ^{**}	18,22 ^{**}	4,863 ^{**}	0,0967 ^{**}
Época x Método	4	0,74 [*]	13,03 [*]	2,94 ^{**}	0,338 ^{**}	0,0704 ^{**}
Resíduo	27	0,30	2,24	0,14	0,024	0,0018
CV%		8,93	14,13	10,90	8,51	3,96

FV - Fontes de variação; GL - Grau de liberdade; G - Germinação (%); PC - Primeira contagem de germinação (%); IVG - Índice de velocidade de germinação (adimensional); TMG - Tempo médio de germinação (dias); MSP - Massa seca de plântulas (mg plântula^{-1}); ^{ns} - não significativo, ^{**;*} - significativo a 1 e 5% respectivamente pelo teste F.

Quando submetidas à análise de regressão verificou-se que todas as variáveis ajustaram-se à maioria dos modelos testados conforme demonstra a tabela 2. Portanto, o modelo selecionado para cada variável baseou-se na significância dos parâmetros e nos valores do R^2 (coeficiente de determinação) conforme Alvarez V. e Alvarez (2006).

Tabela 2. Resumo da análise de regressão da germinação (G), primeira de germinação (PC), índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação (TMG) e massa seca de plântulas (MSP) de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriudas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização e submetidas ou não, ao condicionamento osmótico com KNO_3 (nitrato de potássio). Brasília, DF.

Condicionamento osmótico	Parâmetros avaliados	Quadrado médio		
		Linear	Quadrático	Cúbico
Condicionadas	G	221,21 **	35,92 **	8,50 **
	PC	212,13 **	29,71 **	7,97 ns
	IVG	47,45 **	2,20 **	7,57 **
	TMG	4,06 **	4,57 **	2,81 **
	MSP	4,27 **	1,72 **	0,39 **
Não condicionadas	G	210,72 **	18,40 **	6,09 **
	PC	37,89 **	4,55 ns	18,72 **
	IVG	6,80 **	0,16 ns	0,60 *
	TMG	11,38 **	8,46 **	3,57 **
	MSP	5,01 **	1,34 **	0,01 *

ns, * e ** corresponde a significativo a 1 e 5% respectivamente pelo teste t.

Antes do armazenamento as sementes foram caracterizadas, apresentando percentual de germinação, nos estádios 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização (DAP), de 0, 33, 86, 96 e 97%, respectivamente. Após o período de 15 meses (antes das sementes serem submetidas ao condicionamento osmótico) os valores de germinação apresentados foram de 0, 8, 54, 91 e 84, indicando avanço do processo de deterioração principalmente das sementes colhidas aos 40, 50 e 70 DAP.

Verifica-se, na figura 1, o efeito benéfico promovido pelo condicionamento osmótico no percentual de germinação e na primeira contagem, principalmente para aquelas sementes oriundas de frutos colhidos aos 50 DAP, havendo um aumento de 35 e 47% respectivamente

na germinação e na primeira contagem de germinação nas sementes condicionadas em relação às não submetidas ao tratamento. Sementes imaturas, colhidas aos 30 DAP não possuem capacidade de germinação e, portanto, não responderam ao tratamento. As sementes colhidas aos 40 DAP como também as colhidas aos 60 e 70 DAP não apresentaram respostas significativas, na porcentagem de germinação, após o condicionamento osmótico, no entanto através de análise descritiva verifica-se que os valores de germinação para as sementes condicionadas foram superiores em todas as épocas de colheita. Observa-se ainda que o condicionamento também propiciou um melhor desempenho, na primeira contagem de germinação, nas sementes colhidas aos 60 DAP.

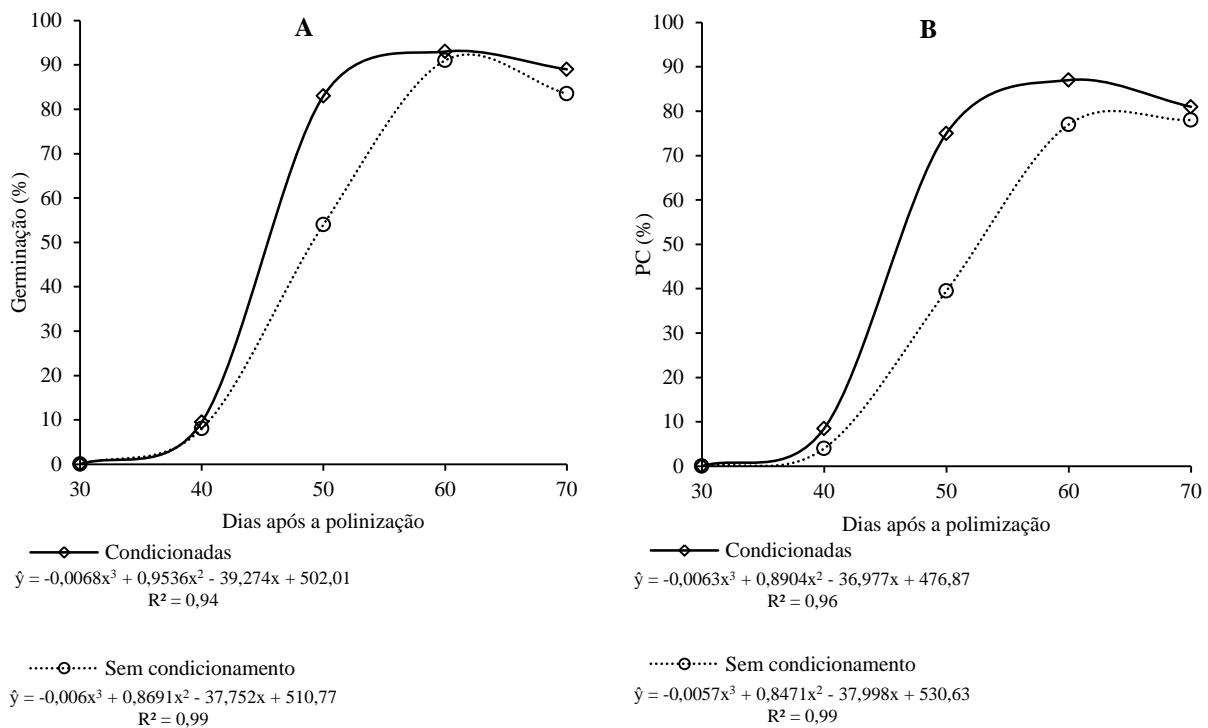


Figura 1. Porcentagem de germinação (A) e primeira contagem de germinação - PC (B) de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização, submetidas ou não, ao condicionamento osmótico com KNO_3 (nitrato de potássio). Brasília-DF.

As respostas ao condicionamento estão diretamente relacionadas ao estado fisiológico das sementes e, em algumas espécies, as sementes imaturas apresentam melhor resposta ao tratamento (NASCIMENTO, 2004). Considerando isto e que as sementes colhidas aos 50 DAP ainda não haviam atingido a maturidade fisiológica, verifica-se, portanto, que o

condicionamento osmótico proporcionou melhor desempenho para este grupo de sementes, não sendo observadas respostas para sementes colhidas nos estádios anteriores (30 e 40 DAP).

Albuquerque et al (2009) verificaram que houve aumento na germinação das sementes de pimentão oriundas de frutos colhidos em estádios mais avançados de desenvolvimento e o favorecimento da germinação, ocasionada pelo condicionamento osmótico, deve-se ao acúmulo de solutos provenientes do início do metabolismo da semente, promovendo a emergência da radícula e a formação da plântula em menor espaço de tempo.

Na avaliação dos testes de vigor empregados verifica-se que houve aumento significativo na velocidade de germinação das sementes como pode ser observado na figura 2. Sementes colhidas aos 50, 60 e 70 DAP aumentaram significativamente a velocidade de germinação (figura 2 A) e o tempo médio para germinação total das sementes foi reduzido de três dias para aquelas colhidas aos 40 e 50 DAP e de cinco dias para as sementes colhidas aos 60 e 70 DAP (figura 2 B).

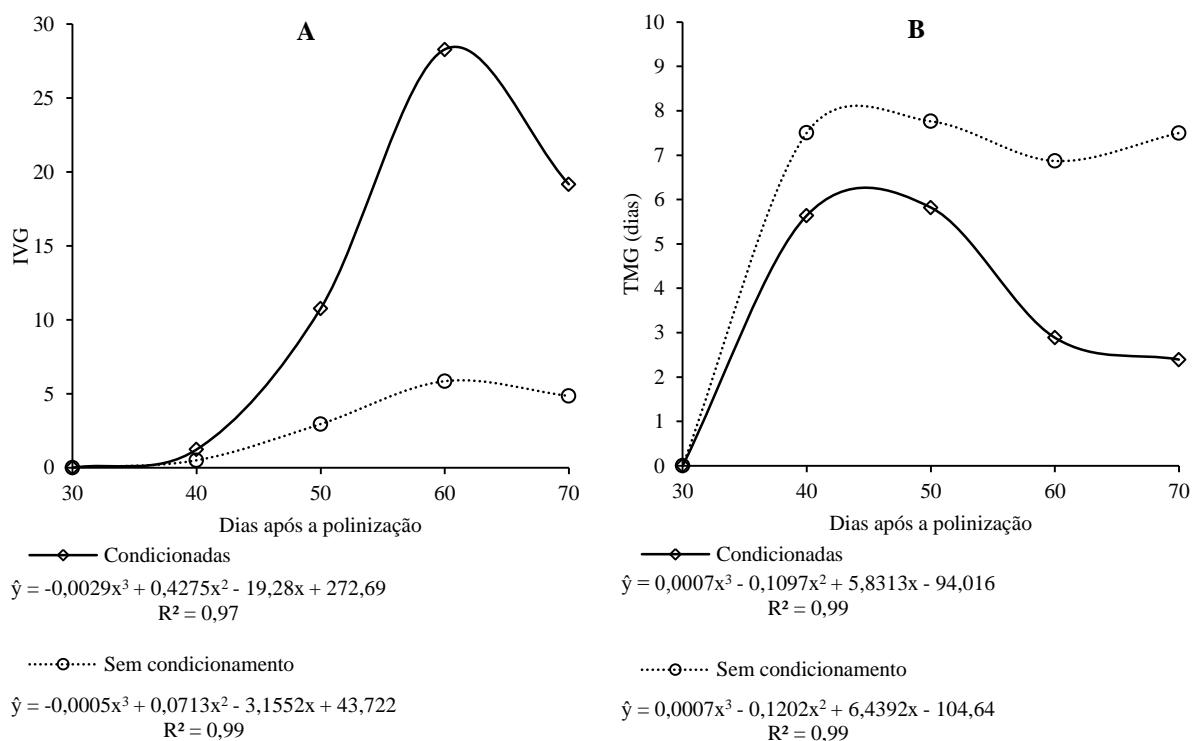


Figura 2. Índice de velocidade de germinação - IVG (A) e tempo médio de germinação - TMG (B) de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização, submetidas ou não, ao condicionamento osmótico com KNO_3 (nitrato de potássio). Brasília-DF.

A velocidade de germinação é um dos sintomas mais evidentes do declínio do potencial fisiológico de uma semente (MARCOS-FILHO, 2015). A rapidez na germinação favorece o estabelecimento da cultura, reduzindo os riscos, uma vez que as etapas de germinação e emergência das plântulas podem ser marcadamente reduzidas pela ação de microrganismos e condições ambientais adversas (AGRIOS, 1988; NASCIMENTO, 2005; MENEZES et al., 2006).

Segundo Nascimento (2005), as sementes de tomate osmoticamente condicionadas além de germinarem mais rapidamente apresentam uma maior percentagem de germinação do que aquelas não tratadas. Para Nakada et al. (2011) e Ricci et al (2013) a velocidade de germinação das sementes apresenta relação direta com a idade e maturação do fruto devido à formação completa dos sistemas bioquímico, morfológico e estrutural.

Para Bradford (1986) o aumento na germinação e vigor das sementes após o condicionamento osmótico pode ser explicado pela retenção de subprodutos resultantes da degradação das reservas durante o tratamento, isto é, o condicionamento osmótico levaria a um acúmulo de solutos (açúcares, ácidos orgânicos e íons) provenientes do início do metabolismo da semente, resultando em maior turgor na reidratação e promovendo a emergência da radícula primária em menor espaço de tempo.

Em sementes de pimentão o condicionamento osmótico com KNO_3 foi eficiente para melhorar o desempenho de sementes, verificado nos testes de velocidade de germinação e estresse (KIKUT; MINAMI, 2005). Em sementes de sorgo, Oliveira e Gomes-Filho (2010) verificaram que o condicionamento osmótico não influenciou na germinação, porém promoveu benefícios no vigor das sementes, principalmente daquelas de qualidade fisiológica inferior, que foram envelhecidas artificialmente.

Na avaliação da massa seca de plântulas não foram observados diferenças significativas nas sementes colhidas nos estádios mais avançados de desenvolvimento (figura 3).

No entanto, verifica-se que as sementes imaturas colhidas aos 40 DAP apresentaram aumento acentuado no teor de massa seca de plântulas. Esses resultados indicam que o condicionamento osmótico, de alguma forma, propiciou melhoria no vigor e por isso houve maior transferência da matéria seca dos tecidos de reserva para o eixo embrionário, refletindo-se no crescimento das plântulas. De acordo com Nakagawa (1994) e Seneme, et al. (2012), sementes vigorosas proporcionam maior transferência de matéria seca, originando plântulas com maior massa. Em cenoura, Magalhães et al., (2004) verificaram que o condicionamento osmótico com PEG 6000 e KNO_3 também proporcionou aumento na massa seca de plântulas.

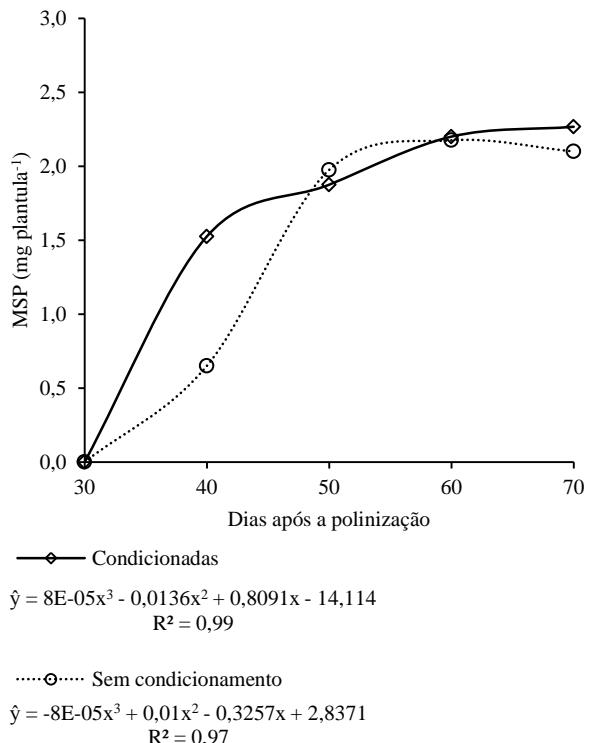


Figura 3. Massa seca de plântulas (MSP) de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos aos 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização, submetidas ou não, ao condicionamento osmótico com KNO_3 (nitrato de potássio). Brasília-DF.

Ao realizar o desdobramento do fator condicionamento, dentro de cada época de colheita (tabela 3), constata-se que o condicionamento osmótico apresentou efeito significativo e positivo na germinação, na primeira contagem, na velocidade (IVG) e no tempo médio de germinação das sementes colhidas aos 50, 60 e 70 DAP e que o vigor das sementes colhidas aos 40 DAP melhorou, após o condicionamento osmótico, como demonstra o IVG, o TMG e a massa seca de plântulas, apresentando diferenças significativas entre as sementes condicionadas e não condicionadas.

Tabela 3. Valores médios de Germinação (G), primeira contagem de germinação (PC), índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio de germinação (TMG) e massa seca de plântulas (MSP) de sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, oriundas de frutos colhidos ao 30, 40, 50, 60 e 70 dias após a polinização (DAP) e submetidas ou não ao condicionamento osmótico com KNO_3 (nitrato de potássio). Brasília, DF.

DAP	Condicionamento	G	PC	IVG	TMG	MSP
30	C	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
	NC	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
40	C	9,50 a	8,50 a	1,23 a	7,50 a	1,52 a
	NC	9,00 a	0,50 a	0,50 b	3,90 b	0,65 b
50	C	83,00 a	75,00 a	10,76 a	7,76 a	1,97 a
	NC	54,00 b	10,50 b	2,95 b	4,19 b	1,87 a
60	C	92,00 a	87,00 a	28,27 a	6,87 a	2,22 a
	NC	84,00 b	39,00 b	5,85 b	2,40 b	2,10 a
70	C	84,00 a	81,00 a	19,16 a	7,50 a	2,27 a
	NC	82,50 b	13,50 b	4,85 b	3,26 b	2,10 a

Médias seguidas de mesma letra na coluna, dentro de cada época de colheita, não difere estatisticamente entre si pelo teste de Scott Knott a 5 % de probabilidade. C - condicionadas; NC - não condicionadas.

5.4. CONCLUSÕES

Em sementes de tomate com estádio de maturação mais avançado, o condicionamento osmótico influenciou a germinação, promovendo ainda maior velocidade e uniformidade, reduzindo o tempo para a germinação.

Em sementes imaturas (40 DAP), o condicionamento osmótico não influenciou a germinação, porém, aumentou a velocidade, propiciando ainda maior transferência de matéria seca durante o crescimento das plântulas.

5.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G.N. *Plant Pathology*. 3 ed. Academic Press. San Diego, 1988. 803 p.

ALBUQUERQUE et al. Condicionamento osmótico e giberelina na qualidade fisiológica de sementes de pimentão colhidas em diferentes estádios de maturação. *Revista Brasileira de*

Sementes, vol. 31, nº 4, p.100-109, 2009. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-31222009000400012&script=sci_abstract

ALVAREZ V., V. H; ALVAREZ, G. A. M. Comparações de médias ou testes de hipóteses? Contrastes! **Boletim Informativo da SBCS**, v. 31, p. 24-34, 2006.

BRADFORD, K.J. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. **HortScience**, v.21, n.5, p.1105-1112, 1986.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009, 395p.
http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/2946_regras_analise_sementes.pdf

CASTRO, R. D. et al. Cell division and subsequent radicle protusion in tomato seeds are inhibited by osmotic stress but DNA synthesis and formation of microtubular cytoskeleton are not. **Plant Physiology**. Minneapolis, v. 122, p. 327-336, 2000.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC58870/pdf/pp000327.pdf>

CHE, K. ARORA, R. Dynamics of the antioxidant system during seed osmopriming, post-priming germination and seedling establishment in Spinach (*Spinacia olearacea*). **Plant Science**, Limerick, v. 180, n. 2, p. 212-220, 2011. DOI
<http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.08.007>

CORBINEAU, F. et al. Improvement of tomato seed germination by osmopriming as related energy metabolism. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON SEEDS, 6. 1999, Merida. **Proceedings...**Cambridge: CABI, 2000, p. 467-474.

FAROOQ, M. et al. Changes in nutrient-homeostasis and reserves metabolism during seed priming: consequences for seedling emergence and growth. **Agricultural Science in China**. Beijing, v. 9, p. 191-198, 2010.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1671292709600833>

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia** 35: 1039-1042. 2011.

FRETT, J.J.; PILL, W.G.; MORNEAU, D.C. A comparison of priming agents for tomato and asparagus seeds. **HortScience**, v. 26, n. 9, p. 1158-1159, 1991.

<http://hortsci.ashpublications.org/content/26/9/1158.full.pdf+html>

OLIVEIRA, B. de.; GOMES-FILHO, E. Efeito do condicionamento osmótico na germinação e vigor de sementes de sorgo com diferentes qualidades fisiológicas1alexandre. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 32, n. 3, p. 25-34, 2010.

<http://www.scielo.br/pdf/rbs/v32n3/v32n3a03.pdf>

HEYDECKER, W.; HIGGINS, J.; GULLIVER, R. L. Accelerated germination by osmotic seed treatment. **Nature**, v. 246, p. 42-44, nov. 1973.

<https://www.nature.com/articles/246042a0>

KIBINZA, S. et al. Catalase is a key enzyme in seed recovery from ageing during priming. **Plant Science**, Limerick, v. 181, n. 3, p. 309-315, 2011.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016894521100166X?via%3Dihub>

KIKUTI, A. L. P., KIKUTI, H. E MINAMI, K. Condicionamento fisiológico em sementes de pimentão. **Revista Ciência Agronômica**, Vol. 36, No 2, maio - ago., 2005: 243-248.
<http://www.ccarevista.ufc.br/seer/index.php/ccarevista/article/view/270>

LABOURIAU, L. G. **A germinação de sementes**. Whashington: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, 1983. 174p.

MAGALHÃES, F. H. L.; MACHADO, J. C.; VIEIRA, M. G. G. C.; GUIMARÃES, R. M.; OLIVEIRA, J. A.; LEDO, C. A. S. Desempenho de sementes de cenoura portadoras de espécies de Alternaria após o condicionamento fisiológico com adição de Thiram. **Ciência Agropecuária**, v.28, n.5, p.1007-1014, 2004.
http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-70542004000500006&script=sci_abstract&tlang=pt

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

MAUROMICALE, G.; CAVALLARO, V. Effects of seed osmoprimer on germination of tomato at different water potential. **Seed Science and Technology**, v. 23, n. 2, p. 393-403, 1995.

MENEZES, N. L. de et al. Associação de tratamentos pré-germinativos em sementes de alface. **Revista da FZVA**. Uruguaiana, v.13, n.1, p. 1-11. 2006.
<http://revistaseletronicas.pucrs.br/ojs/index.php/fzva/article/view/2334>

NAKADA et al. Desempenho fisiológico e bioquímico de sementes de pepino nos diferentes estádios de maturação. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 33, nº 1 p. 113 - 122, 2011.
http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-31222011000100013&script=sci_abstract&tlang=pt

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. (Eds.). **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p.49-86.

NASCIMENTO, W. M. Germination of primed lettuce seeds after storage. **Proceeding of Florida State for Horticultural Society**, v. 111, p. 96-99, 1998. [https://fshs.org/proceedings-o/1998-vol-111/96-99%20\(NASCIMENTO\).pdf](https://fshs.org/proceedings-o/1998-vol-111/96-99%20(NASCIMENTO).pdf)

NASCIMENTO, W. M. Muskmelon seed priming in response to seed vigor. **Scientia Agricola**. v. 61, n. 1, p. 114-117, 2004.
http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90162004000100019

NASCIMENTO, W.M. Condicionamento osmótico de sementes de hortaliças visando a germinação em condições de temperaturas baixas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.2, p.211-214, abr-jun 2005.
<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/778234/1/B456D8A9d01.pdf>

NASCIMENTO, W. M. FREITAS, R. A; CRODA, M. D. Conservação de sementes de hortaliças na agricultura familiar. Brasília: Comunicado técnico 54, p. 1-5. 2008.

PILL, W.G.; FRETT, J.J.; MORNEAU, D.C. Germination and seedling emergence of primed tomato and asparagus seeds under adverse conditions. **HortScience**, v. 26, n. 9, p. 1160-1162, 1991.

RICCI, N.; PACHECO, A. C.; CONDE, A. S.; CUSTÓDIO, C. C. Qualidade de sementes de pimenta jalapenho em função da maturação e tempo de permanência nos frutos. **Pesq. Agropec. Trop.**, Goiânia, v. 43, n. 2, p. 123-129, abr./jun. 2013.
http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1983-40632013000200008&script=sci_abstract&tlang=pt

SENEME, A. M.; POSSAMAI, E.; VANZOLINI, S.; MARTINS, C.C. Germinação, qualidade sanitária e armazenamento de sementes de canafístula (*Peltophorum dubium*). **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.36, n.1, p.01-06, 2012.
http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-67622012000100001&script=sci_abstract&tlang=pt

SOEDA, Y. et al. Gene expression programs during *Brassica oleracea* seed maturation, osmoprimering, and germination are indicators of progression of the germination process and the stress tolerance level. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 137, p. 354-368, 2005.
<http://www.plantphysiol.org/content/137/1/354>

VARIER, A; VARI, A. K.; DADLANI, M. The subcellular basis of seed priming. **Current Science**, Bangalore, v. 99, n. 4, p. 450-456, 2010.
https://www.researchgate.net/publication/228624142_The_subcellular_basis_of_seed_priming

5.6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- De modo geral, considerando as condições em que o experimento foi realizado, as sementes de tomate, híbrido BRS Nagai, apresentam qualidade fisiológica máxima poucos dias após o máximo acúmulo de matéria seca, momento em que os frutos apresentam pericarpo completamente vermelho e firme. Porém, essas características são influenciadas pelas condições ambientais.
- O número de sementes por fruto encontra-se abaixo do mínimo considerado normal ($40 \text{ sem. fruto}^{-1}$), logo, este pode ser considerado um dos gargalos apresentados no processo de produção das sementes deste híbrido, pois, contribui para elevar o preço de venda das sementes. Com isso, sugere-se que novos trabalhos sejam desenvolvidos, visando contribuir para melhorar o processo de produção, como por exemplo, investigar se há ocorrência de algum tipo de incompatibilidade entre os parentais; avaliar a viabilidade dos estigmas e/ou influência do estádio de maturação da flor para determinar o melhor período de realização da polinização.
- Colher os frutos em estádio de maturação adequado, além de proporcionar melhor rendimento e qualidade fisiológica, observa-se que as sementes apresentam um aparato enzimático mais organizado capaz de proteger às células contra danos causados pela formação inevitável de radicais livres.
- Sementes colhidas imaturas, ou antes, da maturidade fisiológica, estão mais propensas aos processos de deterioração, pois, o armazenamento por aproximadamente um ano reduziu a germinação em 75 e 35% respectivamente para sementes colhidas aos 40 e 50 DAP. Enquanto que sementes colhidas em estádio de maturação mais avançado, a germinação foi reduzida em apenas 5% para as colhidas aos 60 DAP e 13% para 70 DAP, denotando-se que a melhor época de colheita dos frutos ocorreu aos 60 DAP.