

Lucas K. S. Lima<sup>1\*</sup>

Alek S. Dutra<sup>2</sup>

Camila C. Santos<sup>3</sup>

Geovânio, L. Barros<sup>4</sup>

\*Autor para correspondência

Recebido para publicação em 12/03/2013. Aprovado em 23/08/2013.

<sup>1</sup> Lic. em Ciências Agrárias – UFPB – Mestrando do Programa de Pós-graduação em Agronomia Fitotecnia na Universidade Federal do Ceará. E-mail. Lucas18kennedy@gmail.com

<sup>2</sup> Eng. Agro. Professor Adjunto III da – UFC – Universidade Federal do Ceará, Caixa-postal: 12168. E-mail alekdutra@ufc.br

<sup>3</sup> Aluna do Curso de Agronomia da UFC – Universidade Federal do Ceará, E-mail. camilacastro30@hotmail.com

<sup>4</sup> Eng. Agro. Pela UFERSA, Universidade Federal do Semi Árido, Mestrando do Programa de Pós-graduação em Agronomia Fitotecnia na Universidade Federal do Ceará. E-mail.geovanio\_05@yahoo.com.br.



## Utilização de Técnicas na Avaliação de Sementes por Imagem

### RESUMO

A tecnologia de sementes tem evoluído constantemente nos ultimo ano, com isso, o potencial fisiológico e vigor segue o mesmo ritmo impulsionado pelos avanços tecnológicos e de pesquisas. No entanto no processo de colheita, transporte e beneficiamento, varias injurias são ocasionadas as sementes em função do atrito direto de sua estrutura com o transporte e nas unidades de beneficiamento de sementes, além disso, altos ou baixos teores de água, associados a esses processos podem intensificar essas lesões. Dente as técnicas utilizadas para avaliação, surge como principais o teste de Raio X, Tetrazólio e Hipoclorito de sódio. Através dessas técnicas podem-se identificar lesões no tegumento, embrião e rachaduras ocasionadas pelo baixo teor de água ou se as sementes estão amassadas, associando assim a alto teor de água. Além disso, tem sido utilizada em sementes florestais para caracterização da morfologia interna de algumas espécies. Essas técnicas, tem si mostrado promissoras, na área de tecnologia de sementes, porem se faz necessário a redução nos custos operacionais de algumas das delas, para que tornem mais difundidas.

**Palavras-Chaves:** Lesões, Raio X, Hipoclorito de sódio, Tetrazólio.

### *Use of Assessment Techniques in Seed Imaging*

### ABSTRACT

**SUMMARY:** The seed technology has evolved steadily over the past year, with that, the physiological effect and follows the same pace driven by technological advances and research. However in the process of collection, transportation and processing, many injuries are caused seeds depending on the structure of direct friction with the transportation and processing units of seeds, furthermore, high or low water contents, associated with these processes may intensify these lesions. Tooth techniques used for evaluation, the test appears as a main X-ray, Tetrazolium and sodium hypochlorite. Through these techniques can identify lesions in the integument, embryo and cracks caused by low water content or if the seeds are crushed, thus associating the high water content. Moreover, it has been used in forestry seed for characterizing internal morphology of some species. These techniques have shown promise you, in the area of seed technology, however it is necessary to reduce the operating costs of some of them, to become more widespread.

**Key words:** Injury, X-Ray, Sodium Hypochlorite, Tetrazolium.

## INTRODUÇÃO

A tecnologia de sementes tem evoluído constantemente nos últimos anos, com isso, o potencial fisiológico segue o mesmo ritmo impulsionado pelos avanços tecnológicos influenciados pela pesquisa. No entanto no processo de colheita, transporte e beneficiamento várias injúrias são ocasionadas à semente pelo atrito direto com a colheitadeira, caminhões e nas UBS, essas lesões podem ser intensificadas quando associadas a altos ou baixos teores de água. Para identificar quais as partes da semente são mais afetadas, novos testes e técnicas surgem constantemente, proporcionando cada vez, maior exatidão nas análises realizadas.

No processo de produção de sementes, estas são submetidas a uma série de etapas, para a obtenção de lotes de alta qualidade. Os impactos e os danos ocasionados em sementes são praticamente inevitáveis, pois podem ocorrer em várias etapas mecanizadas e ser agravados a cada dia, haja vista a demanda crescente por mecanização do setor agrícola, o que mantém o dano mecânico como um dos problemas mais sérios na área de tecnologia de sementes (PINTO et al., 2012).

Um dos requisitos básicos para a identificação de problemas associados com o potencial fisiológico de sementes é a avaliação da sua morfologia interna. Para algumas espécies, como a soja e o milho, o conhecimento sobre a morfologia interna das sementes proporciona eficiente apoio aos programas de controle de qualidade. Entretanto, para espécies ainda pouco exploradas pela pesquisa, como as florestais, a caracterização da morfologia interna das sementes, com a identificação das partes que as compõem, são fundamentais para a elucidação de dúvidas sobre a anormalidade de plântulas ou a presença de sementes não germinadas.

Nos últimos anos os estudos dirigidos para a avaliação da morfologia interna de sementes têm sido apoiados em técnicas de análise de imagens (GOMES JUNIOR, 2010). Estas técnicas visam principalmente a análise da estrutura interna da semente, procurando identificar quais as partes afetadas e se esses danos irão influenciar direta ou indiretamente no desenvolvimento da planta.

O presente trabalho tem o objetivo expor as principais técnicas utilizadas para avaliação de sementes por imagem, bem como mostrar as principais vantagens e desvantagens de cada técnica.

## TESTE DE RAIOS X

O pioneirismo da utilização da análise de raios X para a avaliação da morfologia interna de sementes é atribuído a Simak & Gustafsson (1953), com a identificação de anormalidades no embrião de sementes de espécies florestais.

O teste de raios X propicia rápida e eficiente avaliação das partes constituintes da semente da maioria das espécies. O estudo da morfologia interna de sementes por

meio da análise de raios X tem gerado informações importantes para o processamento de sementes, principalmente para as espécies florestais, com a eliminação de sementes vazias e mal formadas. A pesquisa sobre este tema tem priorizado o desenvolvimento de metodologias para a análise de sementes por meio de radiografias para espécies florestais, principalmente com o objetivo de aprimorar a qualidade dos lotes de sementes no que diz respeito aos seus atributos físico e fisiológico (GOMES JUNIOR, 2010).

A utilização dos raios X não afeta a germinação da semente e apresenta vantagem, por ser um teste não destrutivo, rápido e de simples execução (MENEZES et al., 2005). Nesta análise as sementes são colocadas entre uma fonte de baixa energia de raios X e um filme fotossensível. Quando os raios X atravessam a semente e atingem o filme, é criada uma imagem latente. Após o processamento do filme, uma imagem de sombras claras e escuras é formada, criando uma imagem permanente no filme radiográfico. As áreas mais escuras da radiografia correspondem àquelas partes em que os raios-X penetram mais facilmente, enquanto que áreas mais claras representam partes mais densas da semente (SIMAK, 1991).

Quando os raios X passam através de uma semente, a radiação é absorvida em vários graus, dependendo da espessura, da densidade, da composição da semente e do comprimento de onda da radiação, criando assim uma imagem permanente em filme radiográfico. Embora os raios X sejam potencialmente nocivos à semente, a baixa dose absorvida durante o teste não causa mutações genéticas e não afeta seu poder germinativo (BINO et al., 1993). O desenvolvimento da técnica de raios X em sementes também tem permitido a previsão de plântulas anormais pela análise de imagens de embriões imaturos ou com aberrações (MONDO & CICERO, 2005).

A análise radiográfica também é considerada vantajosa para associar aspectos morfológicos das sementes possivelmente associados com a viabilidade (COPELAND & MCDONALD, 1985). Como a viabilidade das sementes submetidas ao comprimento de onda dos raios X não é comprometida devido às baixas doses de radiação utilizadas, possibilitando a realização de testes adicionais com a mesma semente (BINO et al., 1993)

Portanto, a possibilidade de utilização da técnica de análise de imagens, para avaliar a qualidade de sementes é promissora; sendo um método precioso, onde 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).

A técnica de raios-X também permitiu relacionar a morfologia de sementes com a germinação ou morfologia das plântulas de diversas espécies agrícolas e florestais (PUPIM et al., 2008; SANTOS et al., 2009; CARVALHO et al., 2010; GAGLIARDI & MARCOS FILHO, 2011), identificar injúrias por umidade em sementes de soja e por percevejo em sementes de soja (PINTO et al., 2009) e de

feijão (FORTI et al., 2008), além de injúrias mecânicas em sementes de milho (CICERO e BANZATTO JUNIOR, 2003).

Pesquisa desenvolvida por Carvalho&Novembre, (2012) com o objetivo de avaliar a eficiência dos testes de raios X, de hipoclorito de sódio e de tetrazólio, para detectar a ocorrência de diferentes graus de injúrias mecânicas em sementes de soja colhidas manual e mecanicamente, com diferentes teores de água, concluiu que a utilização dos raios X possibilita a identificação das injúrias mecânicas, de efeito imediato, nas sementes de soja das cultivares Embrapa 48 e FTS Águia, colhidas com teores de água distintos. Como também a utilização em conjunto dos testes de raios X, hipoclorito de sódio e de tetrazólio, permitiu uma avaliação eficiente das injúrias mecânicas das sementes das cultivares Embrapa 48 e FTS Águia.

Koboriet al. (2012) desenvolvendo pesquisa com a cultura da mamona com o objetivo de verificar a eficiência do teste de raios X na avaliação da qualidade de sementes de mamona colhidas de forma parcelada ou única e o armazenamento por seis meses em condições ambientais não controladas, concluiu que o teste de raios X é eficiente para avaliar a qualidade (por meio da morfologia interna) de sementes de mamona e seus reflexos no potencial fisiológico.

No caso das variações no grau de desenvolvimento do embrião identificadas por meio de radiografias, uma preocupação atual da pesquisa é a automatização desta determinação no sentido de estabelecer maior precisão, eliminando interpretações subjetivas (GOMES JUNIOR, 2010).

### TESTE DE HIPOCLORITO DE SÓDIO

O uso de hipoclorito de sódio como forma de assepsia de sementes ou outras unidades de dispersão é bastante comum, no entanto essa substância pode afetar a germinação das sementes de algumas espécies, estimulando ou inibindo o processo. Em algumas espécies o tratamento com hipoclorito de sódio estimula a germinação, mas, em tratamento prolongado ela é reduzida (CARNELOSSI et al., 1995).

O teste de hipoclorito pode ser usado para determinar rapidamente o percentual de dano mecânico (ruptura do tegumento) em sementes de soja ocasionada durante a operação de colheita ou trilha. Pode, também, ser utilizado no momento da recepção da semente na Unidade de Beneficiamento de Semente (UBS), bem como ao longo da linha de beneficiamento para avaliação de danos mecânicos ocasionados pelos equipamentos de transporte (KRZYZANOWSKI et al., 2004). Além de distinguir as sementes com injúrias físicas relacionadas ao rompimento dos tecidos (CARVALHO, 2009).

A escarificação feita pelo hipoclorito de sódio também evita a termo dormência de sementes, pois além de aumentar a permeabilidade do tegumento ao oxigênio, água e solutos, também pode facilitar a remoção ou

oxidação de inibidores de germinação, e utilizada para a quebra de dormência em sementes (FERREIRA & RANAL, 1999).

Em relação aos resultados da avaliação de injúrias mecânicas em sementes de soja pelo teste de hipoclorito de sódio, descrito por Krzyzanowskiet al.(2004) os autores afirmaram que se a porcentagem de sementes embebidas for superior a 10%, a semente está muito danificada e haverá prejuízo econômico.

Trabalho desenvolvido por Carvalho, (2009) objetivando avaliar os danos causados a semente de soja em função da colheita (manual e mecânica) com duas cultivares (Embrapa 48, FTS Águia) sob diferentes teores de água através do teste de hipoclorito de sódio, mostrou que em ambas as cultivares, as sementes colhidas à mão e a máquina com os maiores teores de água, tiveram as menores porcentagens de injúrias mecânicas. A comparação da colheita manual com a mecânica indicou que os níveis de danos são superiores para a mecânica, independentemente do teor de água das sementes.

Segundo a mesma as porcentagens de injúrias mecânicas das sementes foram maiores que 10% para as sementes da cultivar Embrapa 48, colhida a mão, com 11,6% de água, e as colhidas à máquina, com 12,0% e 15,0% de água, e para as sementes da cultivar FTS Águia colhidas à máquina, com 12,7% de água. Esses valores são considerados críticos por (KRZYZANOWSKI et al., 2004).

### TESTE DE TETRAZÓLIO

A avaliação da qualidade de sementes por meio de testes rápidos que proporcionem resultados reproduzíveis tem sido uma busca constante dos tecnologistas de sementes (MARCOS FILHO, 2005) e pode auxiliar na tomada de decisões quanto ao uso ou descarte de lotes, principalmente para espécies que demandam longo período para a germinação (ANEZ et al., 2007).

As informações gerais para a realização do teste de tetrazólio estão indicadas nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009) e têm sido aprimoradas para diversas espécies. Este teste tem como objetivo avaliar rapidamente a viabilidade de sementes, particularmente, daquelas que apresentam dormência, das espécies recalcitrantes e as que germinam lentamente em testes de rotina (BRASIL, 2009).

O teste de tetrazólio vem se destacando por ser uma alternativa viável para fornecer informações aos agricultores ou viveiristas. O teste vem sendo empregado, rotineiramente, na avaliação rápida da viabilidade de sementes de várias espécies, principalmente daquelas que necessitam de longos períodos para germinar, como é o caso de algumas frutíferas, forrageiras e florestais (GUEDES et al., 2010).

Tunes et al. (2009), afirma que o teste de tetrazólio é importante no controle de qualidade de sementes, uma vez que permite uma estimativa rápida da capacidade de germinação, incluindo os inativos. Que resulta na

formação de um composto estável e não-difusível de coloração avermelhada, o formazan. Essa formação, indica atividade respiratória nas mitocôndrias e permite delimitar tecidos vivos a partir desses tecidos que permanecem não corados ou apresentam coloração anormal (MARCOS-FILHO, 2005).

A eficácia do teste em avaliar o vigor e a viabilidade das sementes está relacionada à aplicação de metodologias apropriadas para cada espécie, bem como a definir as condições mais apropriadas para o preparo, pré-condicionamento e coloração das sementes (GUEDES et al., 2010).

A demora na obtenção dos resultados de germinação resulta numa séria limitação ao processo de tomada de decisões na indústria de sementes. Além da demora em sua execução, este teste, na sua forma de avaliação tradicional, não fornece informações quanto ao vigor, não permite de maneira precisa a identificação dos fatores que afetam a qualidade das sementes, e seus resultados são frequentemente mascarados pela ocorrência de danos de embebição (FRANÇA NETO et al., 1998).

O teste de tetrazólio é um teste bioquímico que pode ser usado quando as sementes necessitam ser semeadas logo após a colheita. Também pode ser usado para avaliar o vigor, determinar a viabilidade das sementes após tratamentos pré-germinativos, danos por secagem, por insetos e por umidade bem como, para detectar danos mecânicos de colheita e/ou beneficiamento (BRASIL, 2009).

Para otimização do teste, se faz necessário a exposição dos tecidos à solução, a metodologia mais utilizada nos laboratórios de análise de sementes é o corte longitudinal seccionado transversal através do meio do embrião. A avaliação é, então, realizada sobre as duas metades da semente, a fim de melhorar a interpretação do teste, uma vez que as sementes são pequenas, assim prejudicando a seccionamento transversal exatamente no meio do eixo embrionário (GRZYBOWSKI et al., 2012).

O início do preparo da semente para o teste de tetrazólio é o pré-condicionamento que visa hidratar as sementes, provocando o amolecimento das mesmas facilitando o preparo e a penetração da solução de tetrazólio, bem como a ativação do sistema enzimático permitindo o desenvolvimento de coloração adequada para a interpretação da sua viabilidade; a forma de exposição dos tecidos à coloração (se com ou sem tegumento), a concentração da solução do sal de tetrazólio, a temperatura e o tempo de condicionamento e a avaliação adequada de coloração das sementes são fundamentais para que se obtenham resultados confiáveis sobre a qualidade das sementes (AZERÊDO et al., 2011).

No teste topográfico de tetrazólio as sementes são embebidas em uma solução incolor de 2,3,5-trifenil cloreto ou brometo de tetrazólio que é usada como um indicador para revelar o processo de redução que acontece dentro das células vivas. Neste processo, os íons de  $H^+$  liberados durante a respiração dos tecidos vivos são transferidos por um grupo de enzimas, particularmente, a

desidrogenase do ácido málico, e interagem com o tetrazólio, o qual é reduzido a um composto vermelho, estável e não difusível chamado de trifenílformazan. Como esta reação se processa no interior das células vivas e o composto não se difunde, há nítida separação dos tecidos vivos e coloridos que respiram, daqueles mortos e que não colorem (BRASIL, 2009).

No processo de avaliação das sementes os tecidos acentuadamente deteriorados liberam quantidades muito pequenas de íons de hidrogênio, insuficientes para que ocorra a reação normal com o sal de tetrazólio (MARCOS FILHO, 2005). A formação de um vermelho carmim claro indica tecido viável e um vermelho carmim intenso revela o tecido em deterioração (ROVERSI & THEISEN, 2005).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação de sementes por imagem surge como uma técnica promissora, por apresentar resultados rápidos e precisos, como no teste de raio x que além de manter as características das sementes, fornece dados precisos sobre a estrutura interna da semente, como é uma técnica não destrutiva permite avaliações subsequentes.

O teste de Hipoclorito de sódio também permite que sejam realizadas análises posteriores, no entanto altas concentrações dessa solução podem inibir o potencial fisiológico das sementes, quando utilizado de maneira adequada pode suspender a ação de compostos químicos que promovem a dormência em algumas espécies. Já o teste de tetrazólio é um método destrutivo, mais permite tanto a avaliação de danos mecânicos quanto o vigor das sementes através da coloração dos tecidos em contato com a solução.

## REFERÊNCIAS

- AÑEZ, L. M. M.; COELHO, M. F. B.; Albuquerque, M. C. F.; Mendonça, E. A. F.; Dombroski, J. L.D. Padronização da metodologia do teste de tetrazólio para sementes de *Jatropha elliptica* M. Arg. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.9, n.3, p.82-88, 2007.
- AZERÊDO, G. A. DE; PAULA R. C. DE; VALERI, S. V. VIABILIDADE DE SEMENTES DE *Piptadenia moniliformis* Benth. PELO TESTE DE TETRAZÓLIO. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 33, nº 1 p. 061 - 068, 2011.
- BINO, R. J.; ARTSE, J. W.; VANDERBURG, W. J. Non-destructive X-ray analysis of *Arabidopsis* embryo mutants. **Seed Science Research**, v.3, n.3, p.167-170, 1993.
- 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**, 399 p, 2009.
- CARNELOSSI, M. A. G.; LAMOUNIER, L.; RANAL, M. A. Efeito da luz, hipoclorito de sódio, escarificação e estratificação na germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.), cv. maioba e moreninha-de-uberlandia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.30, n.6, p.779-787. 1995.
- CARVALHO, M. L. M.; ALVES, R. A.; OLIVEIRA, L. M. Radiographic analysis in castor bean seeds (*Ricinus communis* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.1, p.170-175, 2010.
- CARVALHO, T. C DE; NOVENBRE, A. D. de L. C. Comparação de métodos para avaliação de injúrias mecânicas em sementes de duas cultivares de soja. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** v.7, n.3, p.372-379, jul.-set., 2012.
- CARVALHO, T. C. Sensibilidade de Análise de Raio X para a detecção de injúrias mecânicas, imediatas e latentes, em sementes de soja e relação com o potencial fisiológico. **Dissertação de Mestrado**, Piracicaba, 2009.
- CICERO, S. M.; BANZATTO JUNIOR, H. L. Avaliação do relacionamento entre danos mecânicos e vigor, em sementes de milho, por meio da análise de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, v.25, n.1, p.29-36, 2003.
- COPELAND, L. O.; MC DONALD, M.B. Principles of seed science and technology. 2.ed. New York: **Macmillan**, 1985. 321p.
- FERREIRA, W. R.; RANAL, M. A. Germinação de sementes e crescimento de plântulas de *Brassicachinensis* L. var. *Parachinensis* (Bailey) Sinskaja (couve-da-malasia). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.3, p.353-361. 1999.
- 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.
- FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; COSTA, N. P. da. O teste de tetrazólio em sementes de soja. Londrina: **EMBRAPACNPSO**, 1998. 72p. (EMBRAPA-CNPSO. Documentos, 116).
- GAGLIARDI, B; MARCOS FILHO, J. Relationship between germination and bell pepper seed structure assessed by the X-ray test. **Scientia Agrícola**, v. 68, n.4, p. 411-416, 2011.
- GOMES JUNIOR, F. G. Aplicação da Análise de Imagens para Avaliação da Morfologia Interna de Sementes. **Informativo ABRATES**. vol. 20, nº.3, 2010.
- GRZYBOWSKI, C. R. DE S.; OHLSON, O. de C.; SILVA, R. C. da, Panobianco. M. Viability of barley seeds by the tetrazolium test. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 34, nº 1 p. 047 - 054, 2012
- GUEDES, R. S.; ALVES, E.U.; GONÇALVES, E. P.; VIANA, J. S.; SILVA, K. B.; GOMES, M. S. S. Metodologia para teste de tetrazólio em sementes de *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.12, n.1, p.120-126, 2010.
- KOBORI, N. N.; CICERO, S. M.; Medina, P. F.; Teste de raios-X na avaliação da qualidade de sementes de mamona. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 34, nº 1 p. 125 - 133, 2012.
- KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, J. B.; COSTA, N. P. Teste do hipoclorito de sódio para semente de soja. Londrina: Embrapa, 2004. 4 p. (Circular Técnica, 37).
- MARCOS FILHO, J. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. **Piracicaba: FEALQ**, 2005. 495p.
- MENEZES, N. L.; CICERO, S. M.; VILLELA, F. A. Identificação de fissuras em sementes de arroz, após a secagem artificial, por meio de raios X. **Ciência Rural**, v.35, n.5, p.1194-1196, 2005.
- MONDO, V. H. V.; CICERO, S. M. Análise de imagens na avaliação da qualidade de sementes de milho localizadas em diferentes posições na espiga. **Revista Brasileira de Sementes**, v.27, n.1, p.9-18, 2005.
- PINTO, T. L. F.; CICERO, S. M.; FRANÇANETO, J. B.; FORTI, V. A. An assessment of mechanical and stink bug damage in soybean seed using X-ray analysis test. **Seed Science and Technology**, v.37, n.1, p.110-120, 2009.
- PINTO, T. L. F.; MONDO, V. H. V. GOMES JÚNIOR, F. G. CICERO, S. M. Análise de imagens na avaliação de danos mecânicos em sementes de soja. **Pesq. Agropec. Trop.**, Goiânia, v. 42, n. 3, p. 310-316, jul./set. 2012.
- PUPIM, T. L.; NOVENBRE, A. D. L. C.; CARVALHO, M. L. M.; CICERO, S. M. Adequação do teste de raios-X para avaliação da qualidade de sementes de embaúba (*Cecropiapachystachya* Trec). **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.2, p.28-32, 2008.
- ROVERSI, T.; THEISEN, G. Teste de tetrazólio. **Informativo Fundacep**, v.12, n.1, p.1-2, 2005.
- SANTOS, M. A. O. Avaliação do potencial fisiológico de sementes de tomate através do teste de tetrazólio. 2003. 68f. **Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)** – Escola

Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

SANTOS, S. A.; SILVA, R. F.; PEREIRA, M. G.; MACHADO, J. C.; MACHADO, C. F.; BOREM, F. M.; GOMES, V. M.; TONETTI, O. A. O. X-ray technique application in evaluating the quality of papaya seeds. **Seed Science and Technology**, v.37, n.3, p.776-780, 2009.

SIMAK, M. A method for removal of filled-dead seeds from a sample of *Pinus contorta*, **Science and technology**, v12, n3, p.767-775, 1991.

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

TUNES, L.M.; OLIVO, F.; BADINELLI, P.G.; CANTOS, A.; BARROS, A.C.S.A. Testes de vigor em sementes de aveia branca. *Revista da FZVA, Uruguaiana*, v.15, n.2, p.94-106. 2008.