

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes



Tese

**Ajuste metodológico do teste de tetrazólio e a interferência de fungos e do
tratamento químico na viabilidade de sementes de coentro**

Raimunda Nonata Oliveira da Silva

Pelotas, 2020

Raimunda Nonata Oliveira da Silva

Ajuste metodológico do teste de tetrazólio e a interferência de fungos e do tratamento químico na viabilidade de sementes de coentro

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (Ciência e Tecnologia de Sementes).

Orientadora: Profa. Dra. Gizele Ingrid Gadotti

Comitê orientador: Dra. Ireni Leitzke Carvalho

Prof. Dr. Ivan Ricardo Carvalho

Profa. Dra. Lilian Vanussa Madruga de Tunes

Pelotas, 2020

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

S586a Silva, Raimunda Nonata Oliveira da

Ajuste metodológico do teste de tetrazólio e a interferência de fungos e do tratamento químico na viabilidade de sementes de coentro / Raimunda Nonata Oliveira da Silva ; Gizele Ingrid Gadotti, orientadora. — Pelotas, 2020.

100 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2020.

1. Qualidade fisiológica de sementes - Análise . 2. *Coriandrum sativum* L.. 3. Patologia de sementes - Fungicida. 4. *Alternaria dauci*. 5. *A. alternata*. I. Gadotti, Gizele Ingrid, orient. II. Título.

CDD : 631.521

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

Raimunda Nonata Oliveira da Silva

Ajuste metodológico do teste de tetrazólio e a interferência de fungos e do tratamento químico na viabilidade de sementes de coentro

Tese aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Doutora em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa:

Banca examinadora:

.....
Profª. Dra. Gizele Ingrid Gadotti (orientadora)
Dra. em Ciência e Tecnologia de Sementes pela Universidade Federal de Pelotas

.....
Prof. Dr. Francisco Amaral Villela
Dr. em Fitotecnia pela Universidade de São Paulo

.....
Ph.D. José de Barros França-Neto
Dr. em Fisiologia e Patologia de Sementes pela Universidade da Flórida

.....
Profª. Dra. Cândida Renata Jacobsen de Farias
Dra. em Fitossanidade pela Universidade Federal de Pelotas

.....
Profª. Dra. Leticia dos Santos Holbig Harter
Dra. em Ciência e Tecnologia de Sementes pela Universidade Federal de Pelotas

Dedico esta tese a Deus, por ser o meu melhor amigo e está comigo em todos os momentos, pois até aqui o Senhor me ajudou.

Agradecimentos

A Deus pela oportunidade de conquistar mais essa vitória, pois sem a sua ajuda eu jamais teria conseguido, sou eternamente grata pelo seu amor e cuidado.

Aos meus pais Alicio Lima da Silva e Maridete Oliveira da Silva, por todo apoio, em especial minha querida mãe que sempre esteve ao meu lado.

À toda minha família pelo apoio e incentivo nessa etapa tão importante.

À minha orientadora profa. Dra. Gizele Gadotti, pelo apoio, paciência e orientação durante a realização desse trabalho.

Ao Dr. Geri Meneghello, pela amizade, parceria e os muitos ensinamentos.

À Universidade Federal de Pelotas, em nome de todos os professores do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, pela formação concedida e todo conhecimento repassado ao longo do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

À minha grande amiga e coorientadora Dra. Ireni Leitzke, obrigada por toda ajuda, apoio e amizade durante todos esses anos. A você meus sinceros Agradecimentos!

À profa. Dra. Cândida Jacobsen e também a Rosário por todo suporte e atenção durante realização das análises.

Aos meus colegas e amigos Jerffeson Cavalcante, Joseano Graciliano, André Capilheira, Romário Pinheiro, Nander Hornke, Maria Luiza, Carla Silva e o meu Coorientador Ivan Ricardo.

A todos os estagiários do Laboratório de Agrotecnologia que contribuíram de forma significativa com o desenvolvimento desse trabalho, Jaqueline Weiser, Helena Brum, Dieli Maass, Cristofer Leão, Matheus Gatto, Nicolas Bonato, Yan Pereira, Larissa Schonhofen, Mirege Robaina, Leticia Voigt, Carolina Cabaldi, Cristina Saalfeld, Pedro Brizolara, Henrique Padão, Sthéfanie da Cunha, Isabela Moreira, Eduarda Moczulski, Ruan Bernard e Vinicius Brodt.

À família Neitzke pelo acolhimento e carinho, em especial a querida Isabel Neitzke por todos os momentos maravilhosos em família.

À Ivete Schwantes e a Renata Willrich por todo suporte, apoio e amizade.

E a todos que contribuíram direta e indiretamente com o desenvolvimento desse trabalho.

Aqueles que semeiam chorando façam a colheita com alegria! Aqueles que saíram chorando, levando a semente para semear, voltarão cantando, cheios de alegria, trazendo nos braços os feixes da colheita.

(Salmos 126: 5-6)

Resumo

SILVA, Raimunda Nonata Oliveira da. **Ajuste metodológico do teste de tetrazólio e a interferência de fungos e do tratamento químico na viabilidade de sementes de coentro**. 2020. 100p. Tese (Doutorado em Ciências) – Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2020.

O coentro é uma cultura de grande relevância no cenário nacional, no entanto, a produção de sementes de alta qualidade torna-se dificultada pela interferência negativa de patógenos que são transmitidos via sementes. Esses patógenos em condições favoráveis podem prejudicar o desempenho das plantas em campo, bem como interferir nos resultados das análises em condições de laboratório, dificultando a correta avaliação da qualidade de suas sementes. Nesse sentido, objetivou-se estabelecer ajustes metodológicos no teste de tetrazólio para a avaliação da viabilidade de sementes de coentro como alternativa complementar ao teste de germinação, além de avaliar interferência dos fungos associados às suas sementes e do tratamento de sementes com fungicida na expressão do desempenho fisiológico. O estudo foi dividido em três etapas, conduzidas de maneira independente. No estudo I, foi avaliada a influência da forma de pré-umedecimento na determinação da viabilidade de sementes de coentro pelo teste de tetrazólio. Para tal, utilizaram-se 10 lotes de sementes de coentro, cultivar Verdão. No estudo II foram propostos ajustes metodológicos no teste de tetrazólio para avaliar a viabilidade de sementes coentro. Nessa etapa, foram realizados dois experimentos conduzidos de forma independente, porém de maneira sequencial. No experimento I, as sementes foram expostas a diferentes concentrações da solução do sal de tetrazólio (0,25; 0,5; 0,75 e 1,0%). Já no experimento II foram testadas combinações de temperaturas (35; 40; e 45 °C) e diferentes tempos de exposição (3; 4; 5; e 6 horas). No estudo III avaliou-se a interferência dos fungos associados às sementes de lotes de coentro e o efeito do tratamento de sementes com o fungicida no desempenho fisiológico. O teste de tetrazólio tem influência pelo pré-umedecimento para a rápida avaliação da viabilidade em sementes de coentro, podendo ser realizado o pré-umedecimento por imersão em água ou papel, utilizando a concentração da solução do sal de tetrazólio de 0,5% por 5 horas à 40 °C. Lotes de sementes de coentro que apresentam alto potencial fisiológico podem não expressar seu máximo potencial no teste de germinação sem tratamento com fungicida, pelo efeito negativo causado pelos fungos associados às sementes, principalmente a *Alternaria dauci* e também em associação com *A. alternata*. Houve melhoria na expressão do desempenho fisiológico de sementes de coentro quando tratadas com o fungicida Metalaxil-m + Fludioxonil.

Palavras-chave: *Coriandrum sativum* L., análise de sementes, qualidade fisiológica, *Alternaria* spp., fungicida.

Abstract

SILVA, Raimunda Nonata Oliveira da. **Methodological adjustment of the tetrazolium test and interference of fungal and chemical treatment on the viability seed coriander**. 2020. 100p. Thesis (Doctorate in Science) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2020.

Coriander is a crop of high relevance on the national scene; however, the production of high-quality seeds is hampered by the harmful interference of pathogens transmitted via seeds. These pathogens under favorable conditions can impair the performance of plants in the field and interfere with the results of analyzes under laboratory conditions, making it difficult to correctly assess the quality of their seeds. In this sense, the objective of this research work was to establish methodological adjustments in the tetrazolium test to assess the viability of coriander seeds as a complementary alternative to the germination test, in addition to evaluate the interference of fungi associated with its seeds and seed treatment with fungicide in the expression of physiological performance. The study was divided into three stages, conducted independently. In Study I, efficiency of the tetrazolium test was assessed in determining the viability of coriander seeds using two forms of pre-moistening (paper and water). For this purpose, ten lots of coriander seeds, cultivar Verdão, were used. Soon after, in Study II, methodological adjustments were proposed in the tetrazolium test to assess the viability of coriander seeds. In this stage, two experiments were carried out independently, but sequentially. In experiment I, the seeds were exposed to different tetrazolium salt concentrations (0.25; 0.5; 0.75 and 1.0%). In experiment II, combinations of temperatures (35; 40; and 45 °C) and exposure time (3; 4; 5; and 6 hours) were tested. In study III, the interference of fungi associated with coriander seeds lots and the effect of seed treatment with the fungicide on physiological performance were evaluated. It is concluded that the tetrazolium test is influenced pre-moistening for the rapid assessment of viability in coriander seeds, and pre-moistening can be performed by immersion in water or paper, using the concentration of the solution of the 0.5% tetrazolium salt for 5 hours at 40 °C. Lots of coriander seeds showed high physiological potential, however, not all lots expressed their maximum potential in the germination test without treatment, due to the negative effect of fungi associated with seeds, mainly *Alternata dauci* and in association with *A. alternata*. There was an improvement in the physiological performance of coriander seeds treated with Metalaxil-m+ Fludioxonil fungicide.

Keywords: *Coriandrum sativum* L., seed analysis, physiological quality, *Alternaria* spp., fungicide.

Lista de Figuras

Artigo I		
Figura 1.	Pré-umedecimento de sementes de coentro entre papel (A) e imersão em água (B). Corte longitudinal das sementes (C) e (D) e detalhe da estrutura das sementes mostrando o diaquênio (dois embriões) e o endosperma (E).....	48
Figura 2.	Viabilidade de sementes de coentro pelo teste de tetrazólio: viáveis (A, B, C, D) e não viáveis (E, F, G, H).....	48
Artigo II		
Figura 1	Preparo das sementes de coentro nas diferentes etapas de execução do teste de tetrazólio: pré-umedecimento com imersão em água (A), corte longitudinal do fruto (B), detalhe da estrutura das sementes mostrando o diaquênio (dois embriões) e o endosperma (C) e sementes na solução do sal de tetrazólio (D)....	68
Figura 2	Classes para determinação da viabilidade de sementes de coentro pelo teste de tetrazólio: viáveis (A, B, C, D) e não viáveis (E, F, G, H e I).....	69
Figura 3	Máxima eficiência técnica da viabilidade de sementes de coentro pelo teste de tetrazólio conduzido com diferentes concentrações da solução do sal de tetrazólio.....	70
Figura 4	Figura 4. Correlação da viabilidade de sementes de coentro pelo teste de tetrazólio, utilizando a concentração de 0,5% da solução do sal de tetrazólio e o teste de germinação sem tratamento das sementes com fungicida (GST) e com tratamento (GCT).....	70
Figura 5	Viabilidade de sementes de quatro lotes de coentro (A: lote 1, B: lote 2, C: lote 3 e D: lote 4) submetidas à diferentes temperaturas e tempos de exposição na solução sal de tetrazólio.....	72
Figura 6	Coloração de sementes de coentro submetidas a quatro períodos de exposição na concentração de 0,5% da solução do sal de tetrazólio à temperatura de 35 °C.....	72
Artigo III		
Figura 1	Fungos detectados na análise sanitária de sementes de coentro: <i>A. alternata</i> (A e B), conídios de <i>A. alternata</i> (C), associação entre <i>A. alternata</i> e <i>A. dauci</i> presentes na mesma semente (D), <i>A. dauci</i> (E), conídios de <i>A. dauci</i> (F), <i>Pencillium</i> sp. (G), <i>Cladosporium</i> sp. (H) e <i>Aspergillus</i> spp. (I).....	86
Figura 2	Detalhe da associação de fungos do gênero <i>Alternaria</i> em sementes de coentro: <i>A. dauci</i> sobre a superfície das sementes de coentro (A e B) e no interior do fruto (C) e <i>A. alternata</i> aderido	89

Lista de Tabelas

Artigo I		
Tabela 1	Valores médios para o teor de água (TA), germinação de sementes com e sem tratamento químico e emergência de plântulas em areia (EPA) em diferentes lotes de sementes de coentro.....	49
Tabela 2	Viabilidade de lotes de sementes de coentro e eficiência do teste de tetrazólio (TZ) utilizando duas formas de pré-umedecimento (papel e água).....	50
Artigo II		
Tabela 1	Teor de água inicial e após pré-condicionamento e germinação de seis lotes de sementes de coentro com e sem tratamento químico fungicida.....	69
Tabela 2	Teor de água inicial e após pré-condicionamento e germinação de quatro lotes de sementes de coentro.....	71
Tabela 3	Viabilidade de sementes de coentro submetidas à diferentes temperaturas e tempos de exposição na solução de tetrazólio.....	71
Artigo III		
Tabela 1	Teor de água e viabilidade de sementes de 18 lotes de sementes de coentro.....	85
Tabela 2	Incidência e prevalência de fungos em 18 lotes de sementes de coentro.....	87
Tabela 3	Primeira contagem de germinação e germinação de sementes com e sem tratamento químico.....	88

SUMÁRIO

1	Introdução Geral	14
2	Projeto de pesquisa	18
2.1	Caracterização do problema.....	19
2.2	Objetivos e metas.....	22
2.3	Metodologia.....	23
2.4	Resultados e Impactos esperados.....	31
2.5	Cronograma do projeto.....	32
2.6	Outros projetos e financiamentos.....	33
2.7	Aspectos éticos.....	34
	Referências.....	35
3	Artigo I - Pré-umedecimento de sementes de coentro para determinação da viabilidade pelo teste de tetrazólio.....	38
1	Introdução.....	39
2	Material e Métodos.....	40
3	Resultados e Discussão.....	42
4	Considerações.....	45
	Referências.....	45
4	Artigo II - Ajuste metodológico para o teste de tetrazólio em sementes de coentro.....	51
1	Introdução.....	52
2	Material e Métodos.....	54
3	Resultados e Discussão.....	57
4	Conclusão.....	63

	Referências.....	64
5	Artigo III – Interferência de fungos e do tratamento químico na viabilidade de sementes de coentro.....	73
1	Introdução.....	74
2	Material e Métodos.....	76
3	Resultados e Discussão.....	78
4	Considerações.....	82
	Referências.....	82
6	Considerações Finais.....	90
	Referências.....	92

1 Introdução

O coentro (*Coriandrum sativum* L.) é uma hortaliça folhosa aromática da família Apiaceae (a mesma da salsa e da cenoura). É originário dos continentes Europeu e Africano, sendo levado para países das mais diversas regiões. Atualmente, é cultivado em praticamente todos os países do mundo, sendo que as maiores áreas de produção de coentro estão na China, Índia e antiga União Soviética. Nas Américas, o México se destaca como o maior produtor e exportador, com cerca de 5.000 hectares anuais cultivados para consumo interno e exportação, principalmente para os EUA, Canadá e alguns países europeus (REIS; LOPES, 2016).

No Brasil, a introdução do coentro deu-se no início da colonização, trazido pelos portugueses. Essa espécie produz folhas e frutos muito aromáticos, sendo um dos temperos básicos na culinária no Nordeste brasileiro. Nesse sentido, o cultivo dessa cultura tem sido voltado principalmente para atender à demanda por hastes e folhas frescas, com destaque para a região Nordeste (NASCIMENTO et al., 2014).

A produção de sementes é outra forma de comercialização dessa espécie. Maciel et al. (2013) destacaram que a produção de sementes se encontra em plena expansão no Brasil e as principais regiões produtoras estão localizadas nas regiões Nordeste, Sudeste, Centro Oeste e Sul. E ainda há importação de sementes dessa espécie pois o volume de sementes produzido não atende à totalidade da demanda e a qualidade fisiológica das sementes importadas é superior a parte da produção nacional.

O teste de germinação é o método oficial para avaliação da viabilidade das sementes, por ser um teste padronizado e por seus resultados serem reproduzíveis entre laboratórios. Apesar da ampla utilização, o teste de germinação pode ser influenciado por diversos fatores, tais como, influência negativa de patógenos, presença de sementes dormentes, desuniformidade de germinação, dentre outros fatores (TILLMANN; TUNES; ALMEIDA, 2019; BRASIL, 2009a).

Para a cultura do coentro, o teste de germinação tem duração de 21 dias (BRASIL, 2009a), tempo demasiadamente longo quando decisões rápidas precisam ser tomadas. Somado a isso, os fungos associados às sementes de coentro podem dificultar a interpretação do teste de germinação, subestimando o resultado do teste.

Em alternativa ao teste de germinação, muitas empresas em seus programas de controle de qualidade têm utilizado o teste de tetrazólio para a rápida avaliação da viabilidade de sementes.

O teste de tetrazólio é um teste bioquímico capaz de fornecer a rápida estimativa da viabilidade das sementes (AOSA/SCST, 2010). Para que se obtenham resultados satisfatórios na condução desse teste é essencial que a metodologia seja executada de maneira adequada (CARVALHO et al., 2017; NERY et al., 2015), visto que, fatores metodológicos, como, concentração da solução do sal de tetrazólio, temperatura e tempos de exposição são extremamente específicos para cada espécie, podendo interferir no resultado final (LIMA et al., 2018; PARAISO et al., 2019; ABBADE e TAKAKI, 2014; CERVI; MENDONÇA, 2009; LIMA et al., 2007).

Para a cultura do coentro não constam recomendações quanto a metodologia do teste de tetrazólio para sementes dessa espécie nas Regras para Análise de Sementes brasileira (BRASIL, 2009a). No entanto, existe um procedimento para a realização do teste de tetrazólio no Working Sheets on Tetrazolium Testing (ISTA, 2003), Conforme descrito nesse procedimento, as sementes devem ser pré-condicionadas por imersão em água por um período de 24 horas a 20 °C. Após, é realizado um corte transversal nas sementes antes da coloração na solução do sal de tetrazólio por mais 24 horas, utilizando a concentração de 1,0% a 30 °C. Para a avaliação é necessária a realização de um segundo corte (longitudinal) para observação das estruturas da semente.

Apesar do teste de tetrazólio ser considerado um teste rápido em comparação a outros testes que avaliam a qualidade fisiológica das sementes, ganhos significativos na redução do tempo de execução do teste podem ser obtidos por meio de ajustes metodológicos sem que haja a perda da acurácia. Nota-se que o tempo de execução da metodologia do teste de tetrazólio para sementes de coentro proposta no Working Sheets on Tetrazolium Testing é de 48 horas, tempo demasiadamente longo em comparação a duração do teste para a maioria das culturas comerciais, que em geral têm resultados obtidos com no máximo de 24 horas; também se destaca a necessidade da realização de dois cortes. Assim, visou-se nesta pesquisa estudar ajustes na metodologia do teste de tetrazólio com o intuito de facilitar a execução e reduzir o tempo para a obtenção dos resultados para sementes da cultura do coentro.

Além da necessidade da avaliação da qualidade fisiológica, a determinação da qualidade sanitária também é considerada uma ferramenta importantíssima em um

programa de controle de qualidade. A análise sanitária visa diagnosticar se os lotes a serem comercializados apresentam-se livre de patógenos, auxiliando o produtor na tomada de decisão sobre a necessidade do tratamento de sementes.

Em estudos sobre a qualidade sanitária de sementes de coentro, Trigo et al. (1997) e Reis et al. (2006) relataram que sementes dessa espécie são grandes veículos de disseminação dos fungos do gênero *Alternaria*. Esses fungos podem causar danos à cultura, tanto no estabelecimento inicial como também em estados mais avançados, causando a doença conhecida como queima-das-folhas ou queima de alternaria (NASCIMENTO et al., 2014).

A mancha de alternaria é uma doença com potencial de grandes perdas, sendo considerada uma das principais doenças da cultura do coentro. É causada pelo fungo *Alternaria dauci* (Kühn) Groves & Sholko. O principal sintoma dessa doença é o aparecimento de manchas nas folhas, que sob condições favoráveis progridem causando queima e morte das mesmas (REIS; LOPES, 2016).

O tratamento de sementes é uma prática essencial no controle de doenças, tendo como objetivo principal proteger as sementes e plântulas durante período de germinação contra o ataque de microrganismos presentes nas sementes ou no solo (NASCIMENTO et al., 2014). Apesar da importância do tratamento de sementes no manejo das culturas, para a do coentro não existem fungicidas específicos registrados para o controle de doenças no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, seja para o tratamento de sementes ou na forma de aplicação foliar, o que torna dificultado o manejo da cultura, principalmente pelo fato dos principais fungos com potencial patogênicos da cultura serem transmitidos pelas sementes (REIS; LOPES, 2016). Nesse sentido, a utilização do tratamento de sementes é fundamental para a redução do inóculo inicial.

Diante da grande relevância da cultura do coentro no cenário nacional, da dificuldade para obtenção de sementes de alta qualidade, devido à influência de patógenos associados às suas sementes, que interferem negativamente no desempenho das plantas no campo, e ainda à morosidade da execução dos testes para avaliação da qualidade fisiológica de suas sementes conduzidos em laboratório, principalmente no que se refere ao longo período requerido para a condução do teste de germinação e também a carência de estudos com fungicidas para o tratamento de sementes com diferentes mecanismos de ação. Objetivou-se estabelecer ajustes metodológicos no teste de tetrazólio para a avaliação da viabilidade de sementes de

coentro como alternativa complementar ao teste de germinação, além de avaliar interferência dos fungos associados às sementes e do tratamento de sementes com fungicida na expressão do desempenho fisiológico.

2 Projeto de Pesquisa

PRPPG – Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Aprovado pelo COCEPE em 29/11/2018 no. 9591

Qualidade fisiológica, sanitária e tratamento de sementes de coentro

Equipe:

Raimunda Nonata Oliveira da Silva
Gizele Ingrid Gadotti
Ireni Leitzke Carvalho
Ivan Ricardo Carvalho
Cândida Renata Jacobsen de Farias
Nander Ferraz Hornke
Joseano Graciliano da Silva
Romário de Mesquita Pinheiro
Helena Pegas Brum
Jaqueline Voigt Weiser
Leticia Voigt de Oliveira Côrrea
Vinicius Marth Brodt
Yan Silva Pereira
Larissa Cabreira Schonhofen

Raimunda Nonata Oliveira da Silva

Pelotas, 2018

2.1 Caracterização do Problema

O coentro (*Coriandrum sativum* L.), pertencente à família Apiácea, foi introduzido no Brasil no início da colonização, trazido pelos portugueses. Conhecido como planta aromática, medicinal e condimentar, é uma boa fonte de cálcio, ferro, vitamina C e pró-vitamina A. Produz folhas e frutos muito aromáticos, sendo um condimento amplamente usado na gastronomia, principalmente na região Nordeste do Brasil (NASCIMENTO; PEREIRA, 2005).

As sementes possuem atributos de qualidade, que podem ser divididos em genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários. Esses atributos caracterizam um lote de sementes. O atributo fisiológico é um dos mais estudados e está relacionado com metabolismo das sementes para expressar seu potencial, e pode ser representado pelo vigor e germinação (PESKE et al., 2012; RODO et al., 2000).

No Brasil, a avaliação da qualidade fisiológica de sementes é realizada com base nos resultados do teste de germinação. Porém, este necessita de um tempo considerável para sua condução, prolongando-se até 21 dias para a cultura do coentro (BRASIL, 2009a). Além disso, é conduzido em condições favoráveis, o que muitas vezes não representa a realidade do campo, fato que leva as empresas a recorrerem ao uso de testes de vigor.

A indústria de sementes exige decisões rápidas em todas as etapas de produção, mas principalmente na pré e pós-colheita. Neste sentido, tem-se procurado desenvolver e aprimorar testes que possam ser usados para estimar mais rapidamente o desempenho de lotes quanto à viabilidade e vigor ou possam ser auxiliares em rotinas de laboratório (CUSTÓDIO, 2005).

Os testes de tetrazólio e condutividade elétrica são considerados testes rápidos, sendo esses amplamente estudados para diversas culturas. No entanto, apesar do potencial de utilização do teste de condutividade elétrica, este é mais comumente utilizado em pesquisas. Já o teste de tetrazólio é empregado rotineiramente em programas de controle de qualidade.

O teste de tetrazólio é um teste bioquímico que tem como base a atividade das enzimas desidrogenases envolvidas no processo de respiração. Estas enzimas reduzem o 2-3-5-trifenil cloreto de tetrazólio nos tecidos vivos, produzindo nas células vivas uma substância vermelha, estável e não difusível, o trifênilformazan. Pela reação, é possível distinguir as partes vivas, coloridas de vermelho, daquelas mortas

que possuem a cor branca-leitosa (LAZAROTTO et al., 2011; ABBADE; TAKAKI, 2014). Na última edição das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009a) não existem procedimentos para execução do teste tetrazólio em sementes de coentro, o que justifica o desenvolvimento de estudos dos diferentes fatores que podem interferir na condução do teste.

Além do teste de tetrazólio, outros testes rápidos têm sido utilizados para determinação da qualidade fisiológica de sementes, dentre eles o teste do etanol, que tem como princípio a rota fermentativa durante o processo de respiração anaeróbica, processo que culmina com a geração de etanol e lactato (TAIZ et al., 2017). De acordo com a literatura, a determinação da quantidade de etanol liberado pela semente em meio anaeróbico pode ser um indicativo da perda de qualidade. Em função disso, alguns estudos têm mostrado que sementes com grau de deterioração mais avançado produzem uma quantidade maior de etanol do que sementes menos deterioradas (BUCKLEY; BUCKLEY, 2009; BUCKLEY, 2013), sendo possível a classificação das sementes em níveis de vigor (CAVALCANTE et al., 2017a; 2017b; VERGARA et al., 2018).

Além da qualidade fisiológica, a determinação da qualidade sanitária é importante para diagnosticar se os lotes comercializados se apresentam livre de patógenos e também para auxiliar o produtor na tomada de decisão sobre a necessidade de tratamento de sementes contra o ataque de patógenos.

De acordo com dados da literatura, sementes de coentro recorrentemente apresentam problemas relacionados à qualidade sanitária, sendo os principais patógenos do gênero *Alternaria* que são transmitido pelas sementes (REIS et al., 2006; PEDROSO et al., 2013). Fungos presentes nas sementes, ou mesmo no solo, podem causar vários prejuízos, como redução da germinação e do vigor, deterioração das sementes, podridões, dentre outros (GOULART, 2018), podendo resultar na condenação do lote. Sendo frequente a ocorrência de lotes de sementes de coentro que apresentam alta viabilidade, porém quando se realiza a germinação apresentam resultados baixos no teste de germinação. Essa situação pode ser justificada pela interferência dos fungos no teste de germinação. Segundo Tillmann e Menezes (2012), o teste de germinação pode ser influenciado negativamente pela presença de patógenos nas sementes.

O uso de sementes tratadas quimicamente tem aumentado e sido aprimorado expressivamente nos últimos anos. Essa técnica consiste na aplicação de

substâncias que preservem ou aperfeiçoem o desempenho das sementes, permitindo que as culturas expressem todo seu potencial genético. O tratamento de sementes tem como objetivo a proteção contra o ataque de patógenos que possam estar associados às sementes ou presentes no solo (MENTEN; MORAES, 2010).

Diante do exposto, tornam-se necessários estudos sobre a análise do potencial fisiológico de sementes de coentro, através da padronização de testes que avaliem rapidamente a viabilidade e vigor de sementes, bem como avaliação da qualidade sanitária e efeito de fungicidas no desempenho fisiológico de sementes de coentro.

2.2 Objetivos e Metas

Ajuste metodológico do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade de sementes de coentro.

Ajuste metodológico do teste de etanol para avaliação do vigor de sementes de coentro.

Avaliar a taxa de transmissão dos fungos *Alternaria dauci* e *Alternaria alternata* em sementes de coentro.

Avaliar o efeito do tratamento químico de sementes na qualidade fisiológica de sementes.

2.3 Metodologia

O trabalho será conduzido no Laboratório Didático de Análise de Sementes “Prof. Flávio Farias da Rocha” do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, da Universidade Federal de Pelotas, no período de 2018 a 2020.

Para condução do trabalho serão realizados três estudos separadamente, conforme descritos a seguir:

Estudo 1 – Ajustes metodológicos para avaliação da viabilidade e vigor de sementes de coentro

Estudo 1.1 - Teste de tetrazólio em sementes de coentro

Serão utilizados 15 lotes de sementes de coentro cultivar Verdão. As sementes serão inicialmente caracterizadas quanto ao teor de água, germinação, primeira contagem da germinação e emergência de plântulas em areia, conforme descrito a seguir:

Teor de água - será determinado pelo método da estufa, utilizando-se duas repetições por lote, conforme as Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 2009a).

Germinação – será conduzido utilizando-se 400 sementes por repetição, totalizando quatro repetições de 100 sementes. As sementes serão semeadas sobre folhas de papel mata-borrão umedecido com água destilada em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco e logo em seguida transferidas para sala de germinação com temperatura constante de 20 °C. A avaliação será realizada aos 21 dias após a semeadura, considerando a percentagem de plântulas normais, conforme as Regras para Análise de Sementes (RAS) (BRASIL, 2009a).

Primeira contagem de germinação – Será conduzida juntamente com o teste de germinação. A contagem será realizada aos sete dias após a semeadura de acordo com as RAS (BRASIL, 2009a). Os resultados serão expressos em porcentagens de plântulas normais.

Emergência de plântulas em areia – Será conduzida com 200 sementes, divididas em quatro repetições de 50 sementes, semeadas em bandejas contendo areia na profundidade de 1,5 cm. A contagem das plântulas emergidas será realizada aos 21 dias após a semeadura.

Para adequação do teste de tetrazólio serão realizados três experimentos separadamente, conforme descritos a seguir:

Teste de tetrazólio: experimento I – Tipos de substratos

Será realizado com 100 sementes por repetição, utilizando dois tipos de substratos (papel e água). Para o substrato em papel, as sementes serão acondicionadas entre papel por 16 horas à temperatura de 20 °C. Já em água, as sementes serão submersas totalmente em água por 16 horas à temperatura de 20 °C. Passado o tempo necessário ao pré-condicionamento, as sementes serão longitudinalmente, descartando a metade das duas sementes presentes o fruto semente e logo em seguida, serão submersas na solução de 0,5 % da solução do sal de tetrazólio durante quatro horas no escuro à 38 °C. Após esse período, as sementes serão avaliadas individualmente, levando em consideração a coloração dos tecidos. As sementes serão classificadas em viáveis e não viáveis.

O experimento será realizado em blocos ao acaso em arranjo fatorial 15x2 (lotes x tipos de substratos). Os dados serão submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$), e quando significativos serão comparados pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Teste de tetrazólio: experimento II – Concentração da solução do sal de tetrazólio

Será realizado com 100 sementes por repetição, totalizando quatro repetições. Neste experimento será utilizando o substrato que apresentar melhor desempenho no experimento I (papel ou água), por um período de 16 horas à temperatura de 20 °C. Decorrido o tempo necessário ao pré-condicionamento, as sementes serão cortadas longitudinalmente, descartando a metade das duas sementes presentes o fruto e logo em seguida, as sementes serão submersas nas diferentes concentrações da solução do sal de tetrazólio, 0,25%, 0,5%, 0,75% e 1,0%, durante quatro horas no escuro à 38 °C. Após esse período, as sementes serão avaliadas individualmente, levando em consideração a coloração dos tecidos. As sementes serão classificadas em viáveis e não viáveis.

O experimento será realizado em blocos ao acaso em arranjo fatorial 8x4 (lotes x concentrações da solução do sal de tetrazólio). Os dados serão submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$), e quando significativos, os dados qualitativos serão comparados pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade e os dados quantitativos serão submetidos à regressão polinomial.

Teste de tetrazólio: experimento III – Temperatura e tempo de exposição à solução do sal de tetrazólio

Será realizado com 100 sementes por repetição, utilizando o substrato que apresentar melhor desempenho no experimento I (papel ou água), por um período de 16 horas à temperatura de 20 °C. Passado o tempo necessário ao pré-condicionamento, as sementes serão cortadas longitudinalmente, descartando a metade das duas sementes presentes o fruto e logo em seguida, as sementes serão submersas na concentração X (que será definida após a realização do experimento II, levando em consideração a concentração que apresentar maior eficiência), por diferentes períodos de exposição (duas, três, quatro e cinco horas) e temperaturas (38; 40; e 45 °C). Após exposição por diferentes períodos e temperaturas, as sementes serão avaliadas individualmente, levando em consideração a coloração dos tecidos. As sementes serão classificadas em viáveis e não viáveis.

O experimento será realizado em blocos ao acaso em arranjo fatorial 6x4x3 (lotes x tempo de exposição x temperaturas). Os dados serão submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$), e quando significativos, os dados qualitativos serão comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e os dados quantitativos serão submetidos à regressão polinomial.

Estudo 1.2 - Ajuste metodológico do teste do etanol para avaliação do vigor em sementes de coentro

Serão utilizados dez lotes de sementes de coentro cultivar Verdão. As sementes serão inicialmente caracterizadas quanto ao teor de água, germinação, primeira contagem da germinação, envelhecimento acelerado, condutividade elétrica e emergência de plântulas em campo, como descrito a seguir:

Teor de água - conforme as Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 2009a).

Germinação – conforme as Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 2009a).

Primeira contagem de germinação - conforme as Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 2009a).

Teste de envelhecimento acelerado - será realizado com quatro subamostras de 50 sementes por repetição, no qual as sementes serão dispostas em uma camada única sobre uma tela metálica fixada na posição mediana de caixas gerbox, contendo

no fundo 40 mL de água destilada. Posteriormente, as caixas serão tampadas e levadas para incubadora do tipo BOD, regulada à temperatura de 41 °C por 48 horas (PEREIRA et al., 2015). Logo após o período de envelhecimento, as sementes serão submetidas ao teste de germinação (BRASIL, 2009a), efetuando-se a avaliação aos sete dias, considerando a porcentagem de plântulas normais.

Condutividade elétrica - será conduzido com 50 sementes por subunidades, para cada repetição. As sementes serão pesadas e em seguida imersas em 50 mL de água deionizada e mantidas, por um período de 24 horas, em incubadora tipo BOD à temperatura de 20 °C. Após esse período, será realizada a leitura da condutividade elétrica das soluções, com o auxílio de um condutivímetro digital. Os resultados serão expressos em $\mu\text{Sm}^{-1}\text{g}^{-1}$ de sementes, conforme metodologia adaptada de Vieira e Krzyzanowski (1999).

Emergência de plântulas em campo – será conduzida com 200 sementes, divididas em quatro repetições de 50 sementes, semeadas em canteiros com profundidade 1,5 cm. A contagem das plântulas emergidas será realizada aos 21 dias após a semeadura.

Teste do etanol – serão utilizadas 200 sementes por repetição. As sementes serão colocadas em garrafas plásticas tipo PET com capacidade de 500mL, sendo em seguida adicionados 50 mL de água destilada dentro de cada garrafa. Posteriormente, as garrafas serão devidamente fechadas e levadas para incubadoras BOD, em diferentes temperaturas (30; 40; e 45 °C) e por períodos de exposição (8; 16; e 24 horas). Decorrido o período de embebição, serão realizadas as medições do etanol com auxílio de um etilometro (modelo BFD-60Instruterm) adaptado, sendo uma agulha acoplada ao etilômetro responsável pela perfuração das garrafas, possibilitando as medições. Os resultados serão expressos em mg/L.

Será utilizado delineamento experimental inteiramente casualizado, em fatorial 3x3 (três temperaturas e três períodos de exposição) com quatro repetições. Os dados serão submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$), quando significativo, as médias serão comparadas utilizando o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Estudo 2 – Detecção de fungos e transmissão *A. alternata* e *A. dauci* em sementes de coentro

Estudo 2.1 Teste de sanidade

Para detecção dos fungos em sementes de coentro, será realizada avaliação da qualidade sanitária de 15 lotes de sementes de coentro através do método “Blotter Test”, utilizando 200 sementes, divididas em duas subamostras de 25 sementes para cada repetição de 50 sementes. As sementes serão semeadas em caixas plásticas do tipo “gerbox”, previamente desinfestadas com álcool 70% e hipoclorito de sódio a 1%, contendo duas folhas de papel mata-borrão esterilizado, sendo umedecidas com água destilada e esterilizada. Após esse processo, as sementes serão incubadas à 25°C, com fotoperíodo alternado (12 horas luz e 12 horas no escuro), durante sete dias (BRASIL, 2009b). Posteriormente as sementes serão analisadas com o auxílio de microscópio estereoscópio e óptico para a observação das estruturas morfológicas dos fungos com auxílio de bibliografia especializada (BARNETT; HUNTER, 1972), determinando-se o percentual de sementes infestadas por patógenos.

Estudo 2.2 - Teste de Transmissão

Após a realização da análise sanitária serão selecionados dois lotes para realização do teste de transmissão, sendo um lote para avaliação da transmissão do fungo *A. alternata* e outro para transmissão da *A. dauci*.

Para o teste de transmissão de fungos via semente, será realizado o teste de sanidade pelo método “Blotter Test”, conforme descrito em Brasil (2009b). Posteriormente, as sementes serão analisadas com o auxílio de microscópio estereoscópio e óptico para a observação das estruturas morfológicas dos fungos com auxílio de bibliografia especializada (BARNETT; HUNTER, 1972). Para o lote 1, serão selecionadas sementes sadias e sementes infestadas com fungo *A. alternata* e para o lote 2, serão selecionadas sementes sadias e infestadas com o fungo *A. dauci*. Após o término do teste de sanidade, as sementes selecionadas serão encubadas câmara úmida por diferentes temperaturas por um período de 21 dias. Decorrido esse período, será realizada observação da sintomatologia de doenças nas plântulas de acordo com a agressividade dos sintomas.

Estudo 3 – Tratamento de sementes de coentro com diferentes fungicidas

Experimento 1 - Tratamento de Sementes: Tipos de fungicidas

Serão utilizados quatro lotes de sementes de coentro cultivar Verdão. As sementes serão inicialmente caracterizadas quanto ao teor de água e após tratamento com diferentes fungicidas serão submetidas aos testes de germinação, primeira contagem da germinação, Índice de velocidade de germinação, emergência de plântulas em areia, comprimento de plântulas, massa seca de plântulas e emergência de plântulas em campo, como descrito a seguir:

As sementes serão tratadas com diferentes fungicidas, tais como, Metalaxil-m + Fludioxonil, Carboxina + Tiram e Captan+ Alquil fenol etoxilado. Será utilizado a dose de 200 mL 100 kg⁻¹ de sementes. O volume de calda utilizado será de 1,5 L 100 kg⁻¹ de sementes, o qual será composto pelo ingrediente ativo e água destilada. A mistura será aplicada diretamente no fundo de um saco plástico e espalhada até uma altura de aproximadamente 10 cm e, em seguida as sementes serão colocadas no interior do saco plástico, agitando-as por três minutos. Após o tratamento, os sacos plásticos serão abertos, para permitir a secagem das sementes em temperatura ambiente, conforme metodologia adaptada de Nunes (2005).

Teor de água - conforme as Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 2009a).

Germinação – conforme as Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 2009a).

Primeira contagem de germinação – Será conduzida juntamente com o teste de germinação, conforme as RAS (BRASIL, 2009a).

Índice de velocidade de germinação (IVG) – será conduzido juntamente com o teste de germinação. Serão computadas as plântulas normais diariamente. Tal procedimento será feito até atingir a estabilização. Ao final do teste será calculado o IVG, conforme fórmula proposta por Maguire (1962).

Emergência de plântulas em areia – Será conduzida com 200 sementes, divididas em quatro repetições de 50 sementes, semeadas em bandejas contendo areia com profundidade de 1,5 cm. A contagem das plântulas emergidas será realizada aos 21 dias após a semeadura.

Comprimento de plântulas – Será realizado juntamente com o teste de emergência em areia. Será determinado comprimento de parte aérea e raiz com o auxílio de uma régua milimetrada.

Massa seca total – Será realizado com as plântulas remanescentes do teste de comprimento de plântula, sendo levadas posteriormente para desidratar em estufa a 70 °C, até atingir peso constante, seguida de pesagem em balança analítica, com precisão de 0,0001 g.

Emergência de plântulas em campo – Será conduzida com 200 sementes, divididas em quatro repetições de 50 sementes, semeadas em canteiros com profundidade de 1,5 cm. A contagem das plântulas emergidas será realizada aos 21 dias após a semeadura.

O experimento será realizado em blocos ao acaso em arranjo fatorial 4x4 (lotes x produtos). Os dados serão submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$), e quando significativos serão comparados pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Experimento 2 - Tratamento de Sementes: doses de fungicidas

O experimento será realizado utilizando somente o fungicida que apresentar maior eficiência no controle fúngico no experimento 1 (Tratamento de Sementes: Tipos de fungicidas).

Serão utilizados quatro lotes de sementes de coentro cultivar Verdão. As sementes serão inicialmente caracterizadas quanto ao teor de água e após tratamento com diferentes fungicidas serão submetidas aos testes de germinação, primeira contagem da germinação, índice de velocidade de germinação, emergência de plântulas em areia, comprimento de plântulas e emergência de plântulas em campo, como descrito no experimento anterior.

As sementes serão tratadas com o fungicida X (fungicida que apresentar maior eficiência no controle fúngico no experimento 1). Serão testadas cinco doses, 100, 150, 200, 250, 300 mL 100 kg⁻¹ de sementes. O volume de calda utilizado será de 1,5 L 100 kg⁻¹ de sementes, o qual será composta pelo ingrediente ativo e água destilada. A mistura será aplicada diretamente no fundo de um saco plástico e espalhada até uma altura de aproximadamente 10 cm e, em seguida as sementes serão colocadas no interior do saco plástico, agitando-as por três minutos. Após o tratamento, os sacos plásticos serão abertos, para permitir a secagem das sementes em temperatura ambiente, conforme metodologia adaptada de Nunes (2005).

Teor de água - conforme as Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 2009a).

Germinação – conforme as Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 2009a).

Primeira contagem de germinação – Será conduzida juntamente com o teste de germinação, conforme as RAS (BRASIL, 2009a).

Índice de velocidade de germinação (IVG) – será conduzido juntamente com o teste de germinação. Serão computadas as plântulas normais diariamente. Tal procedimento será feito até atingir a estabilização. Ao final do teste será calculado o IVG, conforme fórmula proposta por Maguiri (1962).

Emergência de plântulas em areia – Será conduzida com 200 sementes, divididas em quatro repetições de 50 sementes, semeadas em bandejas contendo areia com profundidade de 1,5 cm. A contagem das plântulas emergidas será realizada aos 21 dias após a semeadura.

Comprimento de plântulas – Será realizado juntamente com o teste de emergência em areia. Será determinado comprimento de parte aérea e raiz com o auxílio de uma régua milimetrada.

Massa seca total – Será realizado com as plântulas remanescentes do teste de comprimento de plântula, sendo levadas posteriormente para desidratar em estufa a 70 °C, até atingir peso constante, seguida de pesagem em balança analítica, com precisão de 0,0001 g.

Emergência de plântulas em campo – Será conduzida com 200 sementes, divididas em quatro repetições de 50 sementes, semeadas em canteiros com profundidade de 1,5 cm. A contagem das plântulas emergidas será realizada aos 21 dias após a semeadura.

O experimento será realizado em blocos ao acaso em arranjo fatorial 4x5 (lotes x doses). Os dados serão submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$), e quando significativos os dados do fator qualitativo serão comparados pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade e os dados do fator quantitativos serão submetidos à regressão polinomial.

2.4 Resultados e Impactos esperados

Os resultados obtidos com este trabalho possibilitarão o desenvolvimento de ferramentas para rápida avaliação da viabilidade e vigor de sementes de coentro, através da padronização de testes, tais como, teste de tetrazólio e teste do etanol. Além de um estudo sobre a qualidade sanitária, possibilitando a identificação dos principais patógenos que afetam a cultura do coentro, bem como transmissão de doenças fúngicas e efeito do tratamento de sementes com fungicida. Os dados obtidos nesse trabalho subsidiarão os produtores de sementes na tomada de decisão em seus programas de controle de qualidade, sanando uma demanda do setor sementeiro que é imensamente carente de informações sobre o manejo das sementes de coentro durante o armazenamento.

Os resultados obtidos com este trabalho serão difundidos por meio de publicações científicas em periódicos e os resultados parciais serão apresentados em congressos e eventos da área de sementes, além de palestras em dias de campo, destinados aos produtores de sementes e agricultores.

2.5 Cronograma do Projeto

Metas/atividades	Cronograma de execução (Trimestres)					
	2018	2019	2020			
	2º sem	1º sem	2º sem		1º sem	
Pesquisa bibliográfica	X	X	X	X	X	x
Seleção dos lotes	X	X				
Coleta de dados/análises		X	X	X	X	
Análise e interpretação parcial dos dados		X	X	X	X	
Apresentação e discussão dos resultados		X	X	X	X	
Publicação parcial dos dados		X	X	X		
Publicação de artigos em Revista Científica			X	X	X	
Defesa da Tese						X

2.6 Outros Projetos e Financiamentos

(Indique outros projetos de pesquisa em andamento dos quais participem membros da equipe proponente, incluindo a origem e o valor do financiamento.)

2. 7 Aspectos Éticos (quando aplicável)

(Projeto não aplicável)

Referências Bibliográficas

- ABBADE, L.C.; TAKAKI, M. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Tabebuia roseoalba* (ridl.) sandwith - Bignoniaceae, submetidas ao armazenamento. **Revista Árvore**, v.38, n.2, p.233-240, 2014.
- BARNET, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 3.ed. Minneapolis: Burgess, 1972. 241p.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes** / Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009a. 399p.
- BRASIL - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de Análise Sanitária de Sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009b. 200p.
- BUCKLEY, W. T.; BUCKLEY, K. E. Weight volatile indicators of canola seed deterioration. **Seed Science and Technology**, v. 37, n. 3, p. 676-690, 2009.
- BUCKLEY, W.T. An On-Farm Ethanol-Based Color Test for Canola Seed Vigor. **Journal of Crop Improvement**, v. 27, n.4, p.376-390, 2013.
- CUSTÓDIO, C. C. Testes rápidos para avaliação do vigor de sementes: uma revisão. **Colloquium Agrariae**, v.1, n.1, p. 29-41, 2005.
- CAVALCANTE, J. A.; TERNUS, R. T.; ALMEIDA, T. L.; REOLON, F.; ARAÚJO, A. S.; GADOTTI, G. I.; MORAES, D. M. Ethanol vigor test to assess physiological quality of annual ryegrass seeds. **Revista Spacios**, v. 38 n. 47, p.10-19, 2017a.
- CAVALCANTE, J. A.; TERNUS, R. T.; REOLON, F.; GATTO, M.; BONATO, N.; GADOTTI, G. I.; MORAES, D. M. Vigor de sementes de arroz avaliadas pelo teste do etanol. **Revista Congrega**, v. 1, p.1-9, 2017b.
- GOULART, A. C. P. **Fungos em sementes de soja: detecção, importância e controle**. Embrapa Agropecuária Oeste, 2018. 71p.

LAZAROTTO, M., PIVETA, G., MUNIZ, M. F. B., REININGER, L. R. S. Adequação do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Ceiba speciosa*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4, p. 1243-1250, 2011.

MAGUIRE, J. D. Speeds of germination-aid and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.2, p.176-7, 1962.

MENTEN, J. O.; MORAES, M. H. D. Tratamento de sementes: histórico, tipos, características e benefícios. **Informativo ABRATES**, v. 20, p. 52-53, 2010.

NASCIMENTO W. M.; PEREIRA R.S. **Coentro: a hortaliça de mil e uma utilidades**. Horticultura Brasileira 23, n. 3, 2005.

NUNES, J. C. Tratamento de semente - qualidade e fatores que podem afetar a sua performance em laboratório. **Syngenta Proteção de Cultivos Ltda**. 16p. 2005.

PEDROSO, D. C.; MUNIZ, M. F. B.; TUNES, L. V. M.; MÜLLER, J.; JUNGES, E.; SANTOS, R. F. Influência de *Alternaria alternata* e *A. dauci* na qualidade de sementes de coentro. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 8, n. 4, p. 563-569, 2013.

PEREIRA, M. F. S.; TORRES, S. B.; LINHARES, P. C. F. Teste de envelhecimento acelerado para avaliação do potencial fisiológico em sementes de coentro. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 2, p. 595-606, 2015.

PESKE, S. T.; BARROS, A. C.S. A.; SCHUCH, L. O. B. Produção de Sementes. In: PESKE, S. T.; VILLELA, F. A.; MENEGHELLO, G.E. **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. 3ª ed. Ed. Universitária UFPel, Pelotas, 2012. p. 13-104.

REIS A; SATELIS J. F; PEREIRA R. S; NASCIMENTO W. M. Associação de *Alternaria dauci* e *A. alternata* com sementes de coentro e eficiência do tratamento químico. **Horticultura Brasileira**, v. 24, n. 1, p.107-111, 2006.

RODO, A.B.; PANOBIANCO, M.; MARCOS FILHO, J. Metodologia alternativa do teste de envelhecimento acelerado para sementes de cenoura. **Scientia Agrícola**, v.57, n.2, p.289- 292, 2000.

VERGARA, R. O.; SOARES, V. N.; SILVA, R. N. O.; MARTINS, A.B. N.; GADOTTI, I. G.; VILLELA, F. A. Teste de quantificação de etanol para avaliação da qualidade fisiológica sementes de quinoa. **Colloquium Agrariae**, v. 14, n.2, p. 143-148, 2018.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

TILLMANN, M. A. A.; MENEZES, N. L. Análise de Sementes In: PESKE, S. T.; VILLELA, F. A.; MENEGHELLO, G.E. **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. 3ª ed. Ed. Universitária UFPel, Pelotas, 2012. p. 161-268.

VIEIRA, R.D.; KRZYZANOWSKI, F.C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B. (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina, PR: ABRATES, 1999. p. 1-26.

ARTIGO I

REVISTA: Horticultura Brasileira**Pré-umedecimento de sementes de coentro para determinação da viabilidade pelo teste de tetrazólio**

RESUMO: Na busca de determinar a qualidade das sementes por meio de testes rápidos e eficazes, objetivou-se avaliar a influência da forma de pré-umedecimento na determinação da viabilidade de sementes de coentro pelo teste de tetrazólio. Foram utilizados dez lotes de sementes de coentro. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 10 x 2 (lotes x formas de pré-umedecimento) com quatro repetições. Foi avaliada a qualidade fisiológica das sementes, por meio do teor de água, da germinação com e sem tratamento químico com fungicida e da emergência de plântulas em areia. O teste de tetrazólio foi realizado utilizando duas formas de formas de pré-umedecimento. As sementes foram acondicionadas entre rolo de papel e por imersão em água, ambos por 16 horas à temperatura de 20 °C. Após o pré-condicionamento, foi realizado o corte longitudinal nas sementes, seguidas por imersão na solução de 0,5 % de sal de tetrazólio durante cinco horas a 40°C. O teste de tetrazólio tem influência pelo pré-umedecimento para a rápida avaliação da viabilidade em sementes de coentro, podendo ser realizado o pré-umedecimento por imersão em água ou papel.

Palavras-chave: *Coriandrum sativum* L., pré-condicionamento, potencial de germinação, teste rápido.

Pre-moistening of coriander seeds to determine viability by the tetrazolium test

ABSTRACT: In the search for determining seed quality by rapid and practical tests. The objective of this study was to evaluate the influence of the pre-moistening methods in determining the viability of coriander seeds using the tetrazolium test. Ten lots of coriander seeds were used. A completely randomized design was used, in a 10 x 2 factorial arrangement (lots x pre-moistening) with four replications. The physiological seed quality was evaluated by determining the seed water content, germination with and without chemical treatment with fungicide, and the emergence of seedlings in sand. The tetrazolium test was performed using two methods of pre-moistening. The seeds were placed between paper rolls and immersed in

water for 16 hours at a temperature of 20 °C. After pre-moistening, the seeds were cut longitudinally, followed by immersion in the 0.5% tetrazolium salt solution for five hours at 40 °C. The tetrazolium test is influenced pre-moistening for the rapid assessment of viability in coriander seeds, and pre-moistening can be performed by immersion in water or paper.

Keywords: *Coriandrum sativum* L., preconditioning, germination potential, quick tests.

INTRODUÇÃO

A avaliação da qualidade fisiológica de sementes, para fins de comercialização de lotes, tem sido fundamentada pelo teste de germinação. Para a cultura do coentro, o período necessário para a obtenção do resultado do teste de germinação é de até 21 dias (Brasil, 2009a; ISTA, 2012), podendo ser realizadas contagens intermediárias, visto que culturas como a do coentro apresentam prolongado período de duração do teste germinação e normalmente apresentam sementes infectadas que podem contaminar as demais plântulas no substrato durante a condução do teste (Brasil, 2009a).

Diante do período prolongado do teste de germinação, o teste de tetrazólio surge como alternativa para a avaliação rápida da viabilidade das sementes de diversas culturas, sendo muito utilizado pelas empresas produtoras de sementes nas diferentes etapas de produção, agilizando a rápida tomada de decisão (Carvalho *et al.*, 2017).

O teste de tetrazólio fundamenta-se na alteração da coloração dos tecidos da semente na presença da solução de sal de tetrazólio. Este se baseia na atividade de enzimas desidrogenases que participam do processo de respiração. Estas enzimas reduzem o sal cloreto de 2,3,5-trifenil tetrazólio nos tecidos vivos das sementes, formando uma substância de cor vermelha e insolúvel denominada trifenilformazan. Tecidos mortos apresentam ausência de coloração, pois a redução do sal ocorre apenas nas células vivas. A coloração dos tecidos pode ser utilizada para identificar sementes viáveis e não viáveis, por meio de detecção da atividade respiratória em nível celular (ISTA, 2003; AOSA/SCST, 2010; Elias *et al.*, 2012; França-Neto & Krzyzanowski, 2019).

Apesar de ser considerado um teste de simples execução, diversos fatores podem interferir na condução do teste de tetrazólio, dentre elas, a definição da metodologia adequada de pré-condicionamento (Gaspar-Oliveira *et al.*, 2011). Nesse sentido, o processo de hidratação das sementes, que é determinado em função das características morfológicas e fisiológicas de

cada espécie, é realizado para facilitar o corte das sementes, e também a ativação do metabolismo enzimático (AOSA/SCST, 2010).

Em trabalhos de adequação de metodologias do teste de tetrazólio, a escolha correta do substrato em combinação com a temperatura de embebição têm sido um dos fatores estudados, de maneira a selecionar procedimentos mais adequados para culturas como melão (Lima *et al.*, 2007), pepino (Lima *et al.*, 2010) e cenoura (Lima *et al.*, 2018). Para a cultura do coentro, o Working Sheets on Tetrazolium Testing (ISTA, 2003) sugere o pré-condicionamento em água por um período de 24 horas. Já a *Association of Official Seed Analysts* (AOSA) cita em torno de 16 horas de pré-condicionamento para a família Apiaceae (AOSA/SCST, 2010).

Diante da importância do teste de tetrazólio para a rápida estimativa da viabilidade em espécies olerícolas e poucas informações sobre a utilização desse método no Brasil para a cultura do coentro, justifica-se o desenvolvimento de estudos que abordem fatores metodológicos específicos para a espécie em estudo. Desta maneira, objetivou-se avaliar a influência da forma de pré-umedecimento na determinação da viabilidade de sementes de coentro pelo teste de tetrazólio.

MATÉRIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório Didático de Análise de Sementes da Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, da Universidade Federal de Pelotas-RS no período de 2018 a 2019. Foram utilizados dez lotes comerciais de sementes de coentro cv. Verdão, produzidos na região Sul do Rio Grande do Sul.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 10 x 2 (lotes x formas de pré-umedecimento), com quatro repetições.

Para avaliar a qualidade inicial das sementes, foram utilizados os seguintes testes:

Teor de água (TA): foi realizado em estufa à temperatura de 105 ± 3 °C por 24 horas, utilizando-se duas subamostras de 4,5 g de sementes por lote, conforme recomendações das Regras para Análise de Sementes (RAS) (Brasil, 2009a). O teor de água foi realizado antes e após o umedecimento das sementes.

Teste de germinação (G) – foi conduzido em caixas plásticas do tipo “gerbox”, utilizando 100 sementes por repetição, distribuídas sobre duas folhas de papel mata-borrão umedecidas com água destilada em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco, e mantidas em sala de germinação com temperatura constante de 20 °C. A avaliação foi realizada aos 21 dias após a semeadura, considerando a percentagem de plântulas normais, conforme Brasil (2009a). Neste estudo, optou-se por repetir o teste, porém, com as sementes tratadas com fungicida, pois

sementes de coentro frequentemente são acometidas por fungos que influenciam negativamente os resultados do teste de germinação. Para as sementes que receberam tratamento, empregou-se o uso do fungicida Metalaxil-m + Fludioxonil, utilizando a dose de 200 mL 100 kg⁻¹ de sementes. Após o tratamento, procedeu-se o teste de germinação conforme descrito anteriormente.

Emergência de plântulas em areia (EPA) - foi conduzida em sala de germinação com temperatura constante de 20 °C. Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes, semeadas em bandejas contendo areia esterilizada (granulometria média) com profundidade de semeadura de 1,5 cm. A contagem final das plântulas emergidas foi realizada aos 21 dias após a semeadura.

Para a condução do teste de tetrazólio (TZ), utilizaram-se quatro repetições de 100 sementes. Foram testadas duas formas de pré-umedecimento das sementes. No substrato de papel, as sementes foram acondicionadas entre papel Germitest[®] (Figura 1A), umedecidos com água destilada em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso seco, por 16 horas à temperatura de 20 °C. No pré-umedecimento em água (Figura 1B), as sementes foram imersas por 16 horas à temperatura de 20 °C.

Após o período de pré-umedecimento, foi realizado o corte longitudinal (Figura 1C), mantendo-se a metade das duas sementes presentes no fruto (Figura 1D). Em seguida, as sementes foram expostas à solução de 0,5% do sal de tetrazólio durante cinco horas à 40 °C.

A escolha do corte das sementes, temperatura, tempo de coloração e da concentração foi realizada com base em testes preliminares, visando encontrar alternativas mais rápidas e de simples execução para a condução do teste. No entanto, neste estudo foi dada ênfase somente às etapas de umedecimento e de execução do corte; os demais fatores metodológicos, foram abordados em outro estudo.

As recomendações do Working Sheets on Tetrazolium Testing (ISTA, 2003) propõem que seja realizada inicialmente a separação do fruto e utilização de apenas uma das sementes, seguido de 24 horas de embebição e, posteriormente, corte transversal antes da coloração na solução do sal de tetrazólio por 24 horas. E na avaliação um segundo corte (longitudinal), deve ser feito para que seja possível observar as estruturas da semente.

Morfologicamente, o fruto inteiro do coentro é classificado como um diaquênio, ou seja, constituído por dois aquênios e cada um apresenta uma semente, que geralmente é comercializado inteiro (Silva *et al.*, 2012; Nascimento *et al.*, 2014). Em função disso, neste estudo, optou-se pela avaliação das duas sementes presentes no fruto, com o intuito de diminuir um possível risco de um falso negativo, pois, se uma das sementes for viável, esta é

contabilizada no percentual de viabilidade, mesmo que a outra semente presente no fruto seja não viável, conforme demonstrado na Figura 2B, C e D.

Ainda sobre a metodologia proposta nesse estudo, destaca-se que há somente a utilização de um corte (longitudinal ao longo do fruto), sendo este realizado antes da coloração na solução do sal de tetrazólio, sugerindo a redução do tempo de execução do teste de 48 para 24 horas, além de facilitar a execução do teste e estimar com maior precisão a viabilidade, dando celeridade ao processo.

Passado o período de coloração, as sementes foram avaliadas, levando em consideração a coloração e a integridade dos tecidos, classificando-as em viáveis e não viáveis. Neste estudo foram consideradas viáveis: Classe 1) a) sementes que apresentavam tecidos com coloração vermelho brilhante e ausência de áreas descoloridas, com tecidos firmes (endosperma e embrião) nas duas metades do fruto (Figura 2A); b) pelo menos uma das sementes do fruto com coloração vermelho brilhante em toda a sua extensão (Figura 2B, C e D). Foram consideradas não viáveis: classe 2) a) sementes com ausência de coloração no embrião, mesmo que o endosperma apresentasse coloração (Figura 2E, e F); b) sementes com coloração rósea muito fraca, mostrando pouca atividade nos tecidos da semente (Figura 2G); c) sementes com vermelho carmim intenso em ambas as metades e ausência de coloração em mais de 1/3 na região crítica do endosperma (próximo ao embrião) e no embrião; d) ausência de coloração em toda a extensão em ambas as sementes do fruto (Figura 2H).

Para o cálculo dos resultados de viabilidade, somou-se o percentual de sementes consideradas viáveis na Classe 1. Posteriormente, o resultado da viabilidade foi comparado com o obtido no teste padrão de germinação, por meio da análise da eficiência do teste de tetrazólio (Carvalho *et al.*, 2017) (Eq. 1):

$$\text{Eficiência TZn} = [1 - (|G - \text{TZn}|) / G] 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde: G=% de plântulas normais obtidas no teste de germinação. TZn= % de sementes viáveis obtidas nos testes de tetrazólio.

Os dados da qualidade inicial dos lotes, bem como do teste de tetrazólio, foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$) e, quando significativos, as médias foram comparadas pelo teste de Scott- Knott a 5% de probabilidade. Para a análise estatística utilizou-se o software Sisvar, versão 5.3.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Constatou-se que houve efeito significativo de lotes no teste de teste Scott-Knott em nível de 5% de significância para a variável germinação, independentemente de a semente ser

tratada ou não. No entanto, para a variável emergência de plântulas, observou-se comportamento distinto ao da germinação, não apresentando diferença entre os lotes de sementes.

Os teores de água iniciais variaram de 9,1% a 10,5% (Tabela 1), com diferença máxima de 1,4 pontos percentuais (p.p.) entre os lotes, mostrando uniformidade dos lotes para esta variável. Essa proximidade entre os valores do teor de água inicial é primordial para que os testes não sejam afetados por diferenças na atividade metabólica (Steiner *et al.*, 2011).

Após o pré-umedecimento, as sementes apresentaram teor médio de água de 48,4% para o substrato papel e 52,2% quando imersas em água. Diversos trabalhos sobre metodologias do teste de tetrazólio mencionam teores de água entre 25 e 30% como já sendo o suficiente para ativar o metabolismo das sementes (Lima *et al.*, 2010; Carvalho *et al.*, 2019; Paraíso *et al.*, 2019). Os resultados deste estudo indicam que 16 horas são suficientes para a reativação do metabolismo enzimático das sementes de coentro, etapa essencial para que haja coloração dos tecidos vivos das sementes no teste de tetrazólio. No Working Sheets on Tetrazolium Testing (ISTA, 2003) sugere pré-umedecimento de 24 horas para a cultura do coentro, o que torna a análise mais demorada.

Ao avaliar o percentual de germinação das sementes sem tratamento químico (Tabela 1), houve uma separação em três níveis de qualidade. Os lotes 2, 4, 5, 6 e 7 apresentaram desempenho inferior aos demais, com valores variando entre 79 a 86% para os referidos lotes. De todos os lotes analisados, verificou-se que somente o lote 4 apresentou germinação inferior a 80%. No entanto, ressalta-se que todos os lotes apresentaram germinação acima do padrão mínimo exigido para a comercialização de sementes de coentro no Brasil, que é de 65% (Brasil, 2019).

Em se tratando da germinação das sementes tratadas com fungicida, houve separação em quatro níveis de qualidade (Tabela 1). Os menores valores encontrados para esta variável foram 84 e 86% para os lotes 4 e 7, respectivamente, valores superiores aos dos padrões permitidos para comercialização de sementes de coentro e 5 p.p. (pontos percentuais) superior à média geral das sementes não tratadas. Segundo Pereira *et al.* (2005), a cultura do coentro apresenta problemas relacionados à qualidade de sementes, sendo um dos fatores a associação com patógenos que influenciam negativamente na qualidade fisiológica e desenvolvimento de plântulas. Nesse sentido, o tratamento com fungicidas possivelmente contribuiu para minimizar os efeitos deletérios dos fungos no desempenho fisiológico.

O percentual médio dos lotes no teste emergência de plântulas em areia foi de 89% (Tabela 1), valor próximo ao encontrado na variável germinação com e sem tratamento com

fungicidas, que obtiveram percentuais de 93 e 88%, respectivamente, no entanto, sem diferença entre os lotes. O teste de emergência de plântulas em areia foi realizado em condições controladas e utilizado como alternativa ao teste de germinação, no entanto, ressalta-se que este substrato não é indicado para a realização do teste de germinação para a cultura do coentro (Brasil, 2009; ISTA, 2012). Porém, esse teste foi realizado com o intuito de minimizar a interferência dos patógenos aderidos na superfície do fruto.

Para a variável viabilidade pelo teste de tetrazólio, verificou-se que não houve interação entre os fatores lote e formas de pré-umedecimento das sementes de coentro. Porém, ao analisar os fatores isoladamente, verificou-se diferença significativa ($p \leq 0,05$) somente entre as formas de pré-condicionamento.

Ao serem comparadas as médias de viabilidade nas diferentes formas de pré-umedecimentos, constatou-se que as sementes imersas em água apresentaram maiores valores de viabilidade com média geral de 95% em comparação às sementes que foram pré-umedecidas entre papel, que obtiveram média de 91% (Tabela 2). É importante salientar que ambas as formas de pré-umedecimentos resultaram em valores de viabilidade próximos aos observados para a média de germinação nas sementes tratadas, que foi 93% (Tabela 1).

Para o teste de germinação conduzido com sementes não tratadas, notou-se uma maior diferença em relação aos valores de viabilidade. Apesar de ser conduzido em condições ótimas de temperatura e umidade, o teste de germinação pode ser afetado negativamente por diversos fatores, dentre eles, a infecção das sementes por patógenos, que podem interferir no desenvolvimento das plântulas no teste de germinação (Goulart, 2018), sendo este um dos possíveis motivos de diferenças entre a viabilidade obtida no teste de tetrazólio e o teste de germinação (Brasil, 2009a).

Quanto à eficiência metodológica do teste de tetrazólio, utilizando diferentes substratos (Tabela 2), Carvalho *et al.* (2017) não indicam análise estatística para discussão e assim se apresentou os dados absolutos. A eficiência da viabilidade no teste de tetrazólio em relação ao teste de germinação com sementes tratadas foi de 96% para as sementes que foram pré-umedecidas entre papel e 95% para aquelas pré-umedecidas em água. Já a eficiência da viabilidade em relação ao teste de germinação sem tratamento com fungicidas, foi de 93% para o pré-umedecimento entre papel e de 91% para a água. Em trabalhos estudando a eficiência metodológica do teste de tetrazólio em relação ao teste de germinação, Carvalho *et al.*, (2017) e Maass *et al.* (2017) encontram eficiência de 97% e 96% para as culturas do arroz e trigo, respectivamente, corroborando com os dados deste trabalho.

Apesar de ter havido diferença entre as formas de pré-umedecimento para os dados de viabilidade (Tabela 2), constatou-se por meio da análise de eficiência do teste de tetrazólio, que as diferenças nos percentuais de eficiências entre formas de pré-umedecimentos foram mínimas. Assim, pondera-se que ambas formas de pré-umedecimentos são adequadas.

Algumas empresas de sementes nos Estados Unidos permitem pré-etiquetar e enviar lotes de algumas espécies de gramíneas com base nos resultados de tetrazólio até que os resultados do teste de germinação estejam disponíveis. Com o ritmo acelerado e dinâmico da indústria de sementes, o teste de tetrazólio tornou-se uma tecnologia popular para avaliar a viabilidade de sementes por ser um método rápido e alternativo, embora não seja oficialmente reconhecido para determinar a viabilidade de sementes (Soares *et al.*, 2016), com exceção de algumas gramíneas no Brasil, como azevém e espécies de *Brachiaria* spp. e *Panicum maximum* Jacq., que atualmente podem ser comercializadas com base no percentual de viabilidade pelo teste de tetrazólio (Brasil, 2008, 2016). Dessa maneira, o procedimento descrito nesse trabalho, surge como uma alternativa para a rápida avaliação da qualidade de sementes de coentro, favorecendo a indústria de hortaliças.

O teste de tetrazólio tem influência pelo pré-umedecimento para a rápida avaliação da viabilidade em sementes de coentro, podendo ser realizado o pré-umedecimento por imersão em água ou papel.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

REFERÊNCIAS

- AOSA/SCST. Association of Official Seed Analysts and Society of Commercial Seed Technologists. 2010. *Tetrazolium Testing Handbook*. AOSA. 414p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 30 de 21 de maio de 2008. *Padrões para produção e comercialização de sementes de espécies forrageiras de clima tropical*. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 25 mai. 2008.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2009. *Regras para análise de sementes* / Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 399p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 44 de 22 de novembro de 2016. *Normas de produção e os padrões de identidade e qualidade de sementes de espécies*

forrageiras de clima temperado. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 01 dez. 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 42 de 17 de setembro de 2019. *Normas para a produção e a comercialização de sementes olerícolas, condimentares, medicinais e aromáticas*. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 19 set. 2019./

CARVALHO, IL; MENEGHELLO, GE; TUNES, LVM; JÁCOME, CJ; SOARES, VN. 2017. Methodological adjustments to the tetrazolium test in rice seeds. *Journal of Seed Science* 39: 041-049.

CARVALHO, IL; MENEGHELLO, GE; TUNES, LVM; JÁCOME, CJ; SOARES, VN. 2019. Preparo da semente de arroz para execução do teste de tetrazólio. *Colloquium Agrariae* 15: 51-63.

ELIAS, SG; COPELAND, LO; McDONALD, MB; BAALBAKI, RZ. 2012. *Seed testing: principles and practices*. 1 ed. Michigan. 364p.

FRANÇA-NETO, JB; FC. KRZYZANOWSKI. 2019. Tetrazolium: an important test for physiological seed quality evaluation. *Journal of Seed Science* 41: 359-366.

GASPAR-OLIVEIRA, CM; MARTINS, CC; NAKAGAWA, J. 2011. Pré-condicionamento das sementes de mamoneira para o teste de tetrazólio. *Acta Scientiarum Agronomy* 33: 303-311.

GOULART, ACP. 2018. *Fungos em sementes de soja: detecção, importância e controle*. 2 ed. Brasília, Embrapa Agropecuária Oeste. 71p.

ISTA. International Seed Testing Association. 2003. In: *ISTA Working Sheets on Tetrazolium Testing*. Bassersdorf: ISTA. 171p.

ISTA. International Seed Testing Association 2012. International Rules for Seed Testing. In: Chapter 5: *Germination Test*. Bassersdorf: ISTA. p.1-74.

LIMA, CB; BELLETTINI, NMT; JANANI, JK; SILVA, AS; AMADOR, TS; VIEIRA, MAV; CHEIRUBIM, AP. 2007. Metodologias do teste de tetrazólio para sementes de melão (*Cucumis melo L.*) *Revista Brasileira de Biociências* 5: 744-746.

LIMA, LB; PINTO, TLF; NOVENBRE, ADLC. 2010. Avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de pepino pelo teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes* 32: 60-68.

LIMA, CB; BOAVENTURA, AC; VILLELA, TT. 2018. Comparação de metodologias do teste de tetrazólio para estimativa do potencial germinativo de sementes de cenoura. *Horticultura Brasileira* 36: 240-245.

- MAASS, DW; CARVALHO, IL; SILVA, RNO; MENEGHELLO, GE; GATTO, M; BONATO, N; PANDOLFI, L. 2017. Eficiência do teste de tetrazolio em sementes de trigo em função da concentração do sal. *Revista da Jornada da Pós-graduação e Pesquisa* 1: 1-11.
- NASCIMENTO, WM; SILVA, PP; VILLELA, RP; WANDERLEY-JUNIOR, LJG. 2014. Produção de sementes de coentro. In: NASCIMENTO, WM. *Produção de sementes hortaliças*. 1ª ed. Ed. Embrapa hortaliças, Brasília. p. 147-167.
- PARAÍSO, HA; BRANDÃO-JUNIOR, DS; AVELAR, RIS; COSTA, CA; GOMES, LSP; NASCIMENTO, WM. 2019. Adjustments in the tetrazolium test methodology for assessing the physiological quality of chickpea seeds. *Journal of Seed Science* 41: 007-012.
- PEREIRA, RS; MUNIZ, MFB; NASCIMENTO, WM. 2005. Aspectos relacionados à qualidade de sementes de coentro. *Horticultura Brasileira* 23: 703-706.
- SILVA, MAD; COELHO-JÚNIOR, LF; SANTOS, AP. 2012. Vigor de sementes de coentro (*Coriandrum sativum* L.) provenientes de sistemas orgânico e convencional. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais* 14: 192-196.
- SOARES, VN; ELIAS, SG; GADOTTI, GI; GARAY, AE; VILLELA, FA. 2016. Can the Tetrazolium Test be Used as an Alternative to the Germination Test in Determining Seed Viability of Grass Species? *Crop Science* 56: 707-715.
- STEINER, F; OLIVEIRA, SSC; MARTINS, CC; CRUZ, JS. 2011. Comparação entre métodos para a avaliação do vigor de lotes de sementes de triticale. *Ciência Rural* 41:200-204.



Figura 1. Pré-umedecimento de sementes de coentro para o teste de tetrazólio entre papel (A) e imersão em água (B). Corte longitudinal das sementes (C) e (D) e detalhe da estrutura das sementes mostrando o diaquênio (dois embriões) e o endosperma (E). Pre-moistening of coriander seeds for the tetrazolium test between paper (A) and immersion in water (B). Longitudinal section of the seeds (C) and (D) and detail of the seed structure showing the diaquenum (two embryos) and the endosperm (E). Capão do Leão, RS, UFPel, 2020.

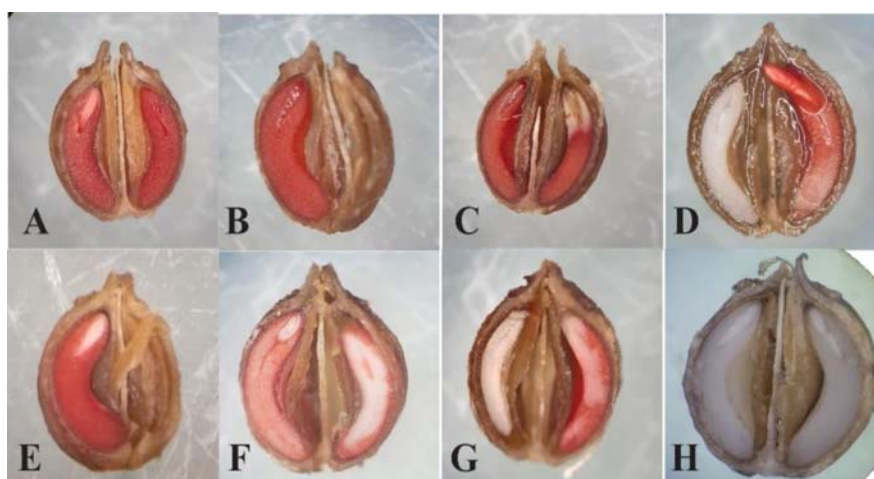


Figura 2. Viabilidade de sementes de coentro pelo teste de tetrazólio: viáveis (A, B, C, D) e não viáveis (E, F, G, H). Viability of coriander seeds by the tetrazolium test: viable (A, B, C, D) and non-viable (E, F, G, H). Capão do Leão, RS, UFPel, 2020.

Tabela 1. Valores médios para o teor de água inicial (TAI) e após umedecimento das sementes entre papel e imersas em água (TA pós-umedecimento), germinação de sementes com e sem tratamento químico e emergência de plântulas em areia (EPA) em diferentes lotes de sementes de coentro. Average values for initial water content (TAI), and after moistening the seeds between paper and immersed in water (post-moistening TA), seed germination with and without chemical treatment, and the emergence of sand seedlings (EPA) in different coriander seed lots. Capão do Leão, RS, UFPel, 2020

Lotes	TAI (%)	TA pós-umedecimento (%)		Germinação (%)		EPA (%)
		Papel	água	Não tratada	Tratada**	
1	10,5	49,3	53,0	89b*	91b	90 ^{ns}
2	9,4	47,3	52,7	81c	95a	86
3	9,1	47,2	53,2	95a	96a	94
4	10,1	47,5	52,2	79c	84d	87
5	9,8	50,9	53,2	81c	90c	84
6	9,9	48,2	53,1	84c	92b	85
7	9,1	49,2	52,0	86c	86d	92
8	9,6	47,6	51,5	97a	98a	96
9	9,7	48,5	51,0	97a	98a	96
10	9,8	48,3	50,3	90b	94b	86
Média	9,7	48,4	52,2	88	93	89
C.V%	-	-	-	5,15	3,49	7,26

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott- Knott a 5% de probabilidade; ^{ns} = não significativo; CV = coeficiente de variação; ** sementes tratadas com Metalaxil-m+ Fludioxonil (* Means followed by the same letter in the column do not differ by the Scott-Knott test at 5% probability; ns = not significant; CV = coefficient of variation; ** seeds treated with Metalaxil-m + Fludioxonil).

Tabela 2. Viabilidade de lotes de sementes de coentro e eficiência do teste de tetrazólio (TZ) utilizando duas formas de pré-umedecimento (papel e água). Viability of coriander seed lots and efficiency of the tetrazolium test (TZ) using two methods of pré-moistening (paper and water). Capão do Leão, RS, UFPel, 2020

Lotes	Pré-umedecimento (%)		Média	Eficiência do teste de TZ (%)			
	Papel	Imersão em água		Papel ¹	Água ¹	Papel ²	Água ²
1	92	95	94 ^{ns}	96	93	100	94
2	93	95	94	86	83	97	93
3	90	95	93	95	99	95	92
4	90	93	92	86	82	93	97
5	92	97	95	87	80	98	97
6	90	96	93	93	85	97	99
7	88	95	92	98	90	98	96
8	90	96	93	93	98	92	100
9	94	97	96	97	100	96	100
10	93	89	91	97	99	99	98
Média	91b	95a	-	93	91	96	95

*Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste Scott- Knott a 5% de probabilidade (Means followed by the same letter on the line do not differ by the Scott-Knott test at 5% probability).

¹ Eficiência do teste de tetrazólio utilizando duas formas de pré-umedecimento em comparação ao teste de germinação de sementes sem tratamento químico (¹ Efficiency of the tetrazolium test using two methods of pre-moistening compared to the seed germination test without chemical treatment);

² Eficiência do teste de tetrazólio utilizando duas formas de pré-umedecimento em comparação ao teste de germinação de sementes tratadas com fungicida (² Efficiency of the tetrazolium test using two methods of pre-moistening compared to the germination test of seeds treated with fungicide).

ARTIGO II

REVISTA: Journal of Seed Science**Ajuste metodológico para o teste de tetrazólio em sementes de coentro**

RESUMO – Objetivou-se adequar a metodologia do teste de tetrazólio para avaliar a viabilidade de sementes de coentro. O estudo foi dividido em dois experimentos conduzidos de maneira independente, porém, sequencial, sendo o resultado do experimento I utilizado como base para prosseguir no experimento II. Em ambos os experimentos, as sementes foram avaliadas quanto ao teor de água, germinação e viabilidade pelo teste de tetrazólio. Utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições. Para o teste de tetrazólio, as sementes foram pré-condicionadas por imersão direta em água, por 16 horas à temperatura de 20 °C. Após o pré-condicionamento foi realizado o corte longitudinal, mantendo-se a metade das duas sementes presentes no fruto. No experimento I, as sementes foram expostas a diferentes concentrações da solução do sal de tetrazólio (0,25; 0,5; 0,75 e 1,0%). No experimento II, foram testadas diferentes combinações de temperaturas (35; 40; e 45°C) e tempos de exposição (3; 4; 5; e 6 horas). O teste de tetrazólio em sementes de coentro pode ser realizado utilizando a concentração da solução do sal de tetrazólio de 0,5% por 5 horas à 40 °C.

Termos para indexação: *Coriandrum sativum* L., viabilidade, teste rápido.

Methodological adjustments to the tetrazolium test in coriander seeds

ABSTRACT – The objective of this research work was to adapt the methodology of the tetrazolium test to evaluate the viability of coriander seeds. The study was divided into two experiments conducted independently and sequentially; the results of the experiment I was

used as a basis to proceed in experiment II. In both experiments, the seeds were evaluated for water content, germination, and tetrazolium for viability. A completely randomized design with four replications was used. The seeds were preconditioned for the tetrazolium test by direct immersion in water for 16 hours at 20 °C. After preconditioning, a longitudinal cut was performed, keeping half of the two seeds present in the fruit. In experiment I, the seeds were exposed to different tetrazolium salt concentrations (0.25; 0.5; 0.75 and 1.0%). In study II, were tested combinations of temperatures (35; 40; and 45 °C) and exposure times (3; 4; 5; and 6 hours). The tetrazolium test on coriander seeds can be performed using the concentration of the 0.5% tetrazolium salt solution for 5 hours at 40 °C.

Index terms: *Coriandrum sativum* L., viability, quick test.

Introdução

O uso de sementes com alto potencial fisiológico é um requisito primordial para a obtenção de um campo homogêneo, com plantas bem estabelecidas, sendo um dos fatores que contribui para garantir o sucesso da produção agrícola (Paiva et al., 2016; França-Neto e Krzyzanowski, 2019). Diante desta exigência, o setor sementeiro está cada vez mais dinâmico e tecnológico, demandando tomadas de decisões rápidas e eficientes (Rodrigues et al., 2015), que são baseadas em resultados de testes de respostas rápidas de viabilidade e vigor de sementes.

A viabilidade de sementes pode ser determinada pelos testes de germinação e de tetrazólio (Brasil, 2009a; ISTA, 2013; AOSA/SCST, 2014). Segundo Soares et al. (2016), o teste de germinação é um teste fisiológico, onde as sementes viáveis germinam e produzem raízes e parte aérea saudáveis. Na maior parte das espécies comerciais, o teste de germinação pode durar entre uma e quatro semanas, incluindo superação de dormência. Para sementes de coentro, esse teste tem limitações, principalmente no que se refere ao tempo de execução,

considerado relativamente longo, sendo necessários 21 dias para a obtenção dos resultados (Brasil, 2009a; ISTA, 2012). E algumas vezes, este teste pode ser subestimado devido à contaminação de patógenos que causam dificuldade na leitura do teste.

Por outro lado, o teste de tetrazólio é um teste bioquímico que determina a percentagem de sementes viáveis baseado na atividade das enzimas desidrogenase em 24 a 48 horas, não importando o nível de dormência dessas sementes, e muito menos sua contaminação (Elias et al., 2012; ISTA, 2013; AOSA/SCST, 2014). Assim, o teste de tetrazólio tem assumido posição de destaque, tornando-se uma importante alternativa complementar ao teste de germinação para a avaliação de sementes de espécies que apresentam dormência, germinação lenta ou desuniforme (Brasil, 2009a; Marcos Filho, 2015), como é o caso da cultura do coentro.

Para a cultura do coentro, apesar de haver uma metodologia descrita no Working Sheets on Tetrazolium Testing (ISTA, 2003), não se tem registro da utilização desse método como rotina em programas de controle interno de qualidade no Brasil. No procedimento proposto pela ISTA, os resultados de viabilidade são obtidos em 48 horas, em decorrência do longo período de pré-condicionamento (24 horas) e tempo adicional de exposição (24 horas) para a coloração das sementes na solução de tetrazólio, sendo que para a maioria das espécies o período de pré-condicionamento tem duração máxima entre 18 e 24 horas e a coloração no sal também é realizada em curto período em comparação ao método proposto pela ISTA. Também se destaca a recomendação da concentração da solução do sal de tetrazólio de 1,0% e a necessidade da realização de dois cortes (transversal e longitudinal) para a realização e avaliação da viabilidade das sementes. Todos esses fatores tornam dificultada a execução da metodologia, pois cada vez mais almeja-se a praticidade e rapidez na realização das análises.

Diante da importância do teste de tetrazólio para o controle de qualidade de sementes, nota-se que diversas pesquisas vêm sendo realizadas com a finalidade de aprimorar os procedimentos de execução do teste de tetrazólio, visando, principalmente, à redução do tempo

de execução do teste. Lima et al. (2018), em trabalho de ajuste metodológico na cultura da cenoura, obtiveram redução do tempo de execução do teste de 42 para 4 horas e diminuição na concentração da solução do sal de 1,0 para 0,1%. Carvalho et al. (2017) alcançaram redução na duração do teste de tetrazólio em sementes de arroz de 20 para 3 horas e a concentração da solução do sal de tetrazólio de 0,5 para 0,1%. Lima et al. (2010), trabalhando com sementes de pepino, conseguiram decréscimo de 42 para 3 horas e a concentração da solução do sal de tetrazólio de 1,0 para 0,075%, entre outros trabalhos.

Tendo em vista a importância do coentro para o setor olerícola e o longo período requerido para a condução do teste de germinação, bem como a possível interferência de fungos nesse teste em sementes dessa espécie, verifica-se a importância da utilização do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade em complemento ao teste de germinação. No entanto, ressalta-se que a metodologia do teste de tetrazólio em sementes de coentro ainda pode ser aprimorada. Assim, no presente estudo, objetivou-se adequar a metodologia do teste de tetrazólio para avaliar a viabilidade de sementes de coentro.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado no Laboratório Didático de Análise de Sementes da Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, da Universidade Federal de Pelotas, RS. Foram utilizados lotes comerciais de sementes de coentro, provenientes da região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil.

O estudo foi dividido em dois experimentos, conduzidos maneira independente e sequencial. Ambos os experimentos foram conduzidos em delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições para cada tratamento. Os tratamentos do experimento I consistiram na utilização de quatro concentrações da solução do sal de tetrazólio (0,25; 0,5; 0,75; e 1,0%). No experimento II, foi utilizado esquema fatorial 3x4, com três temperaturas (35; 40; e 45°C) e quatro tempos de exposição à solução do sal de tetrazólio (3; 4; 5; e 6 horas) para coloração das sementes.

Nos dois experimentos foram utilizadas sementes de coentro da cultivar Verdão, representadas por seis e quatro lotes, respectivamente. Os lotes de sementes foram avaliados por meio das determinações de teor de água, germinação e teste de tetrazólio. O teste de germinação, no experimento I, foi conduzido com e sem tratamento químico das sementes e no experimento II, sem tratamento químico das sementes.

As metodologias utilizadas para ambos os experimentos nas determinações estão descritas a seguir:

Teor de água - foi realizado em estufa à temperatura de 105 ± 3 °C por 24 horas, utilizando-se duas subamostras de 4,5 g de sementes por lote, conforme recomendações das Regras para Análise de Sementes (RAS). Os resultados foram expressos em porcentagem média de teor de água (Brasil, 2009a).

Teste de germinação - foi conduzido utilizando 100 sementes por repetição. As sementes foram semeadas sobre folhas de papel mata-borrão umedecidas com água destilada em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco. Logo em seguida, as amostras foram transferidas para sala de germinação com temperatura constante de 20 °C. A avaliação final da germinação foi realizada aos 21 dias após a semeadura, considerando a porcentagem de plântulas normais, conforme as RAS (Brasil, 2009a). No experimento I, optou-se pela realização também do teste de germinação com tratamento químico de sementes com objetivo de isolar a interferência de patógenos. Para as sementes que receberam tratamento com fungicida, o procedimento realizado no teste de germinação foi o mesmo descrito acima. No entanto, antes da instalação do teste, as sementes foram tratadas com o fungicida com os princípios ativos Metalaxil-m+ Fludioxonil, utilizando a dose de 200 mL.100 kg⁻¹ de sementes. No experimento II, o teste de germinação foi realizado com sementes desinfestadas com hipoclorito de sódio a 1,0% durante três minutos (Brasil, 2009a; Brasil, 2009b).

Teste de tetrazólio - foi realizado com 400 sementes, 100 por repetição. As sementes foram inicialmente pré-condicionadas por imersão em água por 16 horas à temperatura de 20 °C (Figura 1A). Após o período de pré-condicionamento, foi realizado o corte longitudinal (Figura 1B), sendo executado mantendo-se a metade de cada uma das duas sementes presentes no fruto (Figura 1C). As sementes cortadas foram colocadas em bandejas de plástico contendo 50 células (orifícios), a fim de evitar que as sementes se misturassem, podendo ocorrer a separação das duas partes do fruto. Foram colocadas cinco sementes por célula. Após, com auxílio de uma micropipeta (Figura 1D) foram adicionados 1, 5 mL da solução do sal de tetrazólio. No experimento I, as sementes foram expostas a diferentes concentrações da solução do sal de tetrazólio (0,25; 0,5; 0,75; e 1,0%). No experimento II, foram testadas diferentes combinações de temperaturas (35; 40; e 45 °C) e tempos de exposição (3; 4; 5; e 6 horas). Neste experimento, optou-se pela utilização da concentração do sal de tetrazólio de 0,5% com base nos resultados obtidos no experimento I deste artigo.

Decorrido, o período de coloração, as sementes foram classificadas em viáveis e não viáveis de acordo com a coloração e a integridade dos tecidos. Neste estudo foram consideradas viáveis: 1) a) sementes que apresentavam tecidos com coloração rósea/vermelho brilhante e ausência de áreas não coloridas (no endosperma e no embrião), com tecidos firmes nas duas metades do fruto (Figura 3A); b) sementes que apresentavam pelo menos uma das sementes do fruto com coloração vermelho brilhante em toda a sua extensão (Figura 3B, C e D). Foram consideradas não viáveis 2) a) sementes com ausência de coloração no embrião, mesmo que o endosperma apresentasse coloração (Figura 3E); b) sementes com coloração rósea muito fraca, mostrando pouca atividade nos tecidos da semente (Figura 3F e 3G); c) sementes com vermelho carmim intenso em ambas as metades e/ou ausência de coloração em mais de 1/3 na região crítica do endosperma (próximo ao embrião) e no embrião (Figura 3H); d) ausência de coloração em toda a extensão em ambas as sementes do fruto (Figura 3I).

Os dados de ambos os experimentos foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$) e quando significativo, os dados do experimento I foram submetidos a regressões polinomiais. No experimento II, os dados de temperaturas foram submetidos ao teste de Tukey a 5% e os dados de tempos de exposição a regressões polinomiais.

Resultados e discussão

Experimento I – Viabilidade de sementes de coentro em função de diferentes concentrações solução do sal de tetrazólio

Na Tabela 1 são apresentados os resultados da caracterização inicial dos seis lotes de sementes de coentro. Os teores médios de água variaram de 7,6 a 9,8%, com variação máxima 2,2 pontos percentuais (p.p.). Estes valores do teor de água apresentaram-se na faixa dos valores encontrados em pesquisas realizadas com sementes de coentro, quando avaliaram sua qualidade fisiológica (Nascimento et al., 2006; Torres et al., 2015; Radke et al., 2016). E após o período de pré-condicionamento durante 16 horas a 20 °C, as sementes apresentaram teor médio de água 53,5% (Tabela 1). De acordo com Novembre et al. (2006), o percentual de água absorvido pelas sementes para a hidratação dos tecidos, pode ser utilizado como parâmetro de referência para a padronização das condições de execução do teste de tetrazólio. Nesse sentido, o teor de águas das sementes após o período de pré-condicionamento deve atingir um valor mínimo suficiente para a ativação adequada do sistema enzimático (Souza et al., 2009). Os resultados desse estudo indicam que o teor de água das sementes obtido após 16 horas de pré-condicionamento foi suficiente para a ativação do metabolismo das sementes de coentro, conforme constatado pela coloração dos tecidos.

Com relação aos percentuais de germinação das sementes de coentro sem tratamento químico com fungicida, verificou-se que os lotes 1 a 5 apresentaram germinação acima de 90%, com média de 92%. Somente o lote 6 apresentou germinação inferior a 90%, com média

de 81%, diferenciando significativamente dos demais lotes analisados (Tabela 1). No entanto, é importante salientar que em trabalhos dessa natureza é desejável lotes com níveis contrastantes de qualidade, visto que a metodologia de um teste de tetrazólio deve ser eficiente em identificar a qualidade de um lote, independentemente de ser considerado de alta, média ou baixa qualidade fisiológica (Carvalho et al., 2019).

Ao avaliar os resultados do teste de germinação de sementes de coentro submetidas ao tratamento químico com fungicida (Tabela 1), também foi observado que os lotes de 1 a 5 obtiveram maiores percentuais de germinação em comparação ao lote 6. No entanto, todos os lotes apresentaram germinação acima de 90%, com percentual médio de 95%. O tratamento de sementes com fungicida possivelmente minimizou o efeito dos patógenos nas sementes, principalmente no lote 6, que apresentou 9 pontos percentuais (p.p) a mais de germinação com sementes tratadas (90%) e esse mesmo lote sem tratamento com fungicida obteve média de germinação de 81%. Salienta-se que o tratamento de sementes com fungicida visa proteger as sementes e plântulas de possíveis ataques de patógenos presentes no solo e também aqueles que já se encontram na semente, que podem interferir nos resultados do teste de germinação (Goulart, 2018). Conforme observado no presente estudo, o uso do tratamento de sementes com fungicida previamente ao teste de germinação pode inibir a proliferação de fungos que venham comprometer a veracidade do resultado do teste.

Analisando os resultados concernentes à máxima eficiência técnica, utilizando diferentes concentrações da solução sal de tetrazólio, baseado num modelo significativo, foi possível verificar uma tendência quadrática para todos os lotes de sementes de coentro (Figura 3A e B). Considerando os lotes 1, 2 e 3, observou-se que houve acréscimos na viabilidade à medida que se aumentou a concentração da solução do sal de tetrazólio, com ponto de máxima eficiência nas concentrações de 0,58, 0,52 e 0,54%, respectivamente para cada lote, com posterior decréscimo na viabilidade até a concentração de 1,0% (Figura 3A).

Para os lotes 4, 5 e 6, as concentrações da solução do sal de tetrazólio que proporcionaram os maiores valores de viabilidade foram de 0,54, 0,59 e 0,54%, respectivamente (Figura 3B). Considerando uma média entre todos os lotes de sementes de coentro avaliados, obteve-se uma concentração média de 0,55%. No entanto, na rotina dos laboratórios de Análise de Sementes, esta concentração é pouco utilizada, sendo a concentração de 0,5% a mais indicada pela praticidade.

Destaca-se que no Working Sheets on Tetrazolium Testing (ISTA, 2003) há sugestão de utilização da concentração de 1,0% para a cultura do coentro, no entanto, neste trabalho constatou-se que o uso de concentrações mais diluídas como 0,5%, já proporcionaram a obtenção de resultados satisfatórios para a determinação do potencial máximo de viabilidade de sementes de coentro. Tampouco, diversos autores (Lima et al., 2010; Flores et al., 2015; Nery et al., 2015; Rezende et al., 2015 e Vera et al., 2019) relataram a dificuldade na interpretação quando as sementes foram expostas a concentração de 1,0%, pois as mesmas apresentaram a formação de uma coloração vermelha muito intensa, dificultando a interpretação do teste, principalmente quando associados a tempos prologados de exposição e combinação com temperaturas superiores a 40 °C. No entanto, é importante destacar que a resposta é variável entre espécies.

Durante a condução do experimento, notou-se que para a concentração 0,25%, fez-se necessário um período maior que 6 horas de exposição das sementes de coentro na solução do sal de tetrazólio para conseguir uma coloração satisfatória para a avaliação.

Para estabelecer-se a coerência dos resultados de um teste, geralmente compara-se com outros testes padrões utilizados para a espécie. No caso da viabilidade pelo teste de tetrazólio, do ponto de vista fisiológico, os dados são comparados com o teste de germinação.

Desta maneira, quando foram aplicados modelos lineares com comportamento crescente (Figura 4), verificou-se que a germinação de sementes tratadas com fungicidas

apresentaram resultados com tendência mais próxima com os da viabilidade das sementes avaliadas pelo teste tetrazólio em comparação aos valores da germinação das sementes sem tratamento, que apresentou valores de germinação inferiores aos de viabilidade obtidos no teste de tetrazólio, possivelmente interferência dos fungos no teste de germinação, justificando a equidistância entre os resultados.

Em estudo do teste de tetrazólio em sementes de algodão, Santos et al. (1992) verificaram valores de viabilidade superiores ao teste de germinação para as sementes não submetidas ao tratamento químico com fungicida. Segundo esses mesmos autores, houve uma correlação mais expressiva quando as sementes foram tratadas com fungicida.

Nesse sentido, é importante salientar que o teste de tetrazólio não considera a interferência de fungos, sendo esse um dos possíveis motivos das maiores diferenças observadas entre os valores de viabilidade determinada pelo teste de tetrazólio e os de germinação (Brasil, 2009a). Assim, só haverá a mesma tendência dos valores de germinação e de viabilidade de sementes de coentro, quando as sementes estiverem livres de patógenos ou forem tratadas quimicamente com fungicidas, já que se tem a possibilidade de inibir a ação dos fungos que infectam as sementes, um dos principais interferentes no teste de germinação de sementes de coentro em laboratório. De tal modo, o teste de tetrazólio para sementes de coentro se torna mais preciso que o de germinação, quando se busca estimar o potencial de viabilidade de um determinado lote de sementes.

Experimento II – Viabilidade de sementes de coentro pelo teste de tetrazólio em função da temperatura e tempo de exposição na solução do sal de tetrazólio

O teor médio inicial de água dos lotes de sementes foi de 9,7% e após 16 horas de pré-condicionamento, as sementes apresentaram teor médio de água de 52,7% (Tabela 2), valores próximos aos obtidos no experimento I deste estudo.

Avaliando os resultados de germinação, verificou-se que todos os lotes apresentaram germinação acima de 90%, com média de 96%. Somente o lote 1 apresentou germinação inferior a 95%, com média de 92%, se diferenciando significativamente dos demais lotes analisados (Tabela 2).

Analisando os resultados da viabilidade obtidos pelo teste de tetrazólio, verificou-se que as sementes submetidas à coloração na temperatura de 45 °C tiveram valores superiores aos obtidos na temperatura de 35 °C nos tempos de exposição de 3, 4 e 5 horas e superiores à temperatura de 40 °C, quando as sementes ficaram expostas por 3 e 4 horas (Tabela 3).

Comparando os resultados entre as temperaturas de 35 e 40 °C, observou-se que as sementes submetidas à 40 °C apresentaram valores superiores de viabilidade em comparação aos obtidos na temperatura de 35 °C nos tempos de exposição de 3, 4 e 5 horas (Tabela 3). Destaca-se ainda que a combinação de 3 e 4 horas de exposição nas temperaturas 35 e 40 °C, proporcionaram valores de viabilidade inferiores aos obtidos no teste de germinação (Tabela 2 e 3), demonstrando que sementes de coentro devem permanecer na solução de tetrazólio pelo menos 6 horas, quando se utiliza a temperatura de 35 °C e 5 horas na temperatura de 40 °C, para que sejam atingidos níveis satisfatórios de coloração.

Por outro lado, para a temperatura de 45 °C, o período mínimo de 3 horas de exposição foi suficiente para obtenção de resultados coerentes com o teste de germinação. Em suma, neste experimento constatou-se que quanto maior a temperatura, menor o tempo necessário que as sementes de coentro devem permanecer contato com a solução de tetrazólio durante o processo de coloração.

Para o tempo de exposição das sementes de coentro na solução do sal de tetrazólio por 6 horas, foi observado comportamento distinto do que foi verificado nos demais tempos de exposição, constatando-se que 6 horas de exposição proporcionou valores de viabilidade semelhantes para todas as temperaturas, com valores iguais ou superiores a 96% (Tabela 3).

Com relação aos resultados da viabilidade em função de diferentes tempos de exposição na solução do sal de tetrazólio, verificou-se para as sementes dos lotes 1, 2 e 4 submetidas à temperatura 35 °C, a viabilidade aumentou linearmente à medida que o tempo de exposição ao sal foi acrescido (Figura 5A, B e D). Para o lote 3, observou-se comportamento com tendência quadrática para a temperatura de 35 °C, com ponto de máxima eficiência com 5 horas e 54 minutos (Figura 5C).

Se tratando da temperatura de 40 °C, constatou-se comportamento com tendência quadrática para os lotes 1 e 2, com viabilidade máxima nos tempos de exposição de 5 horas e 42 min e 5 horas e 30 min, respectivamente (Figura 5A e B). Com relação aos lotes 3 e 4, ambos apresentaram tendência linear crescente (Figura 5 B e C).

Ainda se observou que para as sementes submetidas à temperatura de 45 °C por diferentes períodos de exposição, independente dos lotes de semente de coentro que foram utilizados, não houve significância para nenhum modelo polinomial testado. Para essa temperatura, o valor médio entre os lotes foi de 96% de viabilidade (Figura 5).

No procedimento descrito Working Sheets on Tetrazolium Testing (ISTA, 2003) há sugestão de 24 horas de exposição à 30 °C para coloração das sementes de coentro. Entretanto, com base neste estudo, 6 horas de exposição na solução de tetrazólio, independente da temperatura utilizada (35; 40; e 45 °C), já foram suficientes para obtenção de resultados satisfatórios de viabilidade de sementes de coentro, gerando ganhos significativos no tempo da execução do teste. Em um estudo de ajuste metodológico realizado por Lima et al. (2018) com sementes de cenoura, espécie pertencente à mesma família do coentro, verificaram que foi possível reduzir o tempo de exposição na solução do sal de tetrazólio de 24 para 2 horas. Também é importante salientar que um longo período de exposição das sementes em contato com a solução pode ocasionar o desenvolvimento de uma coloração vermelho muito intensa, dificultando a avaliação e interpretação do teste (Barros et al., 2005).

Com o intuito de demonstrar visualmente as diferenças nas colorações em função das combinações de temperatura e do tempo de exposição à solução do sal de tetrazólio, foram selecionadas cinco sementes aleatoriamente que foram submetidas a diferentes tempos de exposição, usando-se a temperatura de 35 °C como padrão. Foi possível observar que a intensidade da coloração aumentou à medida que foi acrescido o tempo de exposição, iniciando de uma coloração rósea fraco até a tonalidade de vermelho brilhante e uniforme (Figura 6). Notou-se que ao serem submetidas por períodos de três e quatro horas de exposição, as sementes apresentaram colorações mais claras, e nem todas apresentavam o mesmo padrão de coloração, gerando dúvidas na classificação. Já com 5 e 6 horas de exposição, resultaram em sementes apresentando colorações mais fortes e uniformes, seguindo a tendência de estabilização a partir de cinco horas, apresentando coerência com os dados apresentados na Tabela 3 e Figura 5.

Os dados obtidos nesse estudo indicaram que várias combinações de tempo e temperaturas de exposição podem ser utilizadas para realização do teste de tetrazólio em sementes de coentro, tais como, 3h/45 °C, 5h/40 °C ou 6h/35 °C. No entanto, neste estudo sugere a utilização de 5h/40 °C, visto que do ponto de vista de aplicação prática na rotina de laboratórios de análise de sementes esta é uma temperatura comumente mais utilizada.

Conclusão

O teste de tetrazólio em sementes de coentro deve ser realizado utilizando a concentração da solução do sal de tetrazólio de 0,5% por 5 horas à 40 °C.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Referências

- AOSA/SCST. Association of Official Seed Analysts and and Society of Commercial Seed Technologists. *Rules for testing seeds*. Vol. 1. Washington, DC. 2014.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 42 de 17 de setembro de 2019. *Padrões para a produção e a comercialização de sementes olerícolas, condimentares, medicinais e aromáticas*. Diário Oficial da União, Brasília, 19 set. 2019. <http://www.in.gov.br/web/dou/-/instrucao-normativa-n-42-de-17-de-setembro-de-2019-217039217>
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regras para análise de sementes*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA, 2009a. 395p. https://www.abrates.org.br/files/regras_analise_de_sementes.pdf
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Manual de Análise Sanitária de Sementes*. Brasília: Mapa/ACS, 2009b. 200 p. <https://www.abrates.org.br/files/manual-de-analise-sanitaria-de-sementes.pdf>
- BARROS, DI; DIAS, DCFS; BHERING, MC. Uso do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de abobrinha. *Revista Brasileira de Sementes*, v.27, n.2, p.165-171, 2005. https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0101-31222005000200024&lng=en&nrm=iso&tlng=pt
- CARVALHO, IL; MENEGHELLO, GE; TUNES, LVM; JÁCOME, CJ; SOARES, VN. Methodological adjustments to the tetrazolium test in rice seeds. *Journal of Seed Science*, v.39, n.1, p.041-049, 2017. <https://www.scielo.br/pdf/jss/v39n1/2317-1545-jss-39-01-00041.pdf>
- CARVALHO, IL; MENEGHELLO, GE; TUNES, LVM; JÁCOME, CJ; SOARES, VN. Preparo da semente de arroz para execução do teste de tetrazólio. *Colloquium Agrariae*, v.15, p. 51-63, 2019. <https://revistas.unoeste.br/index.php/ca/article/view/2276/2664>

ELIAS, SG; COPELAND, LO; McDONALD, MB; BAALBAKI, RZ. *Seed testing: principles and practices*. 1 ed. Michigan. 2012, 364p.

FLORES, MF; GRZYBOWSKI, CRS; PAZOLINI, K; POSSENTI, JC; PANOBIANCO, M. Criteria for implementation of a tetrazolium test in canola seeds. *Journal of Seed Science*, v.37, n.4, p.222-227, 2015. https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S2317-15372015000400222&script=sci_abstract&tlng=pt

FRANÇA-NETO, JB; KRZYZANOWSKI, FC. Tetrazolium: an important test for physiological seed quality evaluation. *Journal of Seed Science*, v.41, n.3, p.359-366, 2019. https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S231715372019000300359&lng=en&nrm=iso

GOULART, A.C. P. *Fungos em sementes de soja: detecção, importância e controle*. Embrapa Agropecuária Oeste, 2018. 71p. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/184748/1/LIVRO-DOENCAS-FINAL.pdf>

ISTA. International Seed Testing Association. In: *ISTA Working Sheets on Tetrazolium Testing*. Bassersdorf: ISTA, v.1, 2003. 171p.

ISTA. International Seed Testing Association. International Rules for Seed Testing. In: Chapter 5: *Germination Test*. Bassersdorf: ISTA, 2012, p.1-74.

ISTA. International Seed Testing Association. *Seed testing rules*. Bassersdorf, Switzerland. 2013.

LIMA, LB; PINTO, TL; NOVENBRE, DLC. Avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de pepino pelo teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 32, n.1 p. 060-068, 2010. https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-31222010000100007&script=sci_abstract&tlng=pt

LIMA, CB; BOAVENTURA, AC; VILLELA, TT. Comparação de metodologias do teste de tetrazólio para estimativa do potencial germinativo de sementes de cenoura. *Horticultura Brasileira*, v. 36, n. 2, p. 240-245, 2018.

<http://editor.horticulturabrasileira.com.br/index.php/HB/article/view/1109>

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

NASCIMENTO, WM; PEREIRA, RS; FREITAS, RA; BLUMER, L; MUNIZ, MFB. Colheita e armazenamento de sementes de coentro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.41, n.12, p.1793-1801, 2006. https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2006001200015

NERY, MC; NERY, FC; PIRES, RMO. Tetrazolium test to evaluate the viability of oil radish seeds. *Bioscience journal*, v. 31, n. 3, p. 663-671, 2015.

https://www.researchgate.net/publication/276424988_Tetrazolium_test_to_evaluate_the_viability_of_oil_radish_seeds

NOVEMBRE, ADLC; CHAMMA, HMCP; GOMES, RBR. Viabilidade das sementes de braquiária pelo teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes*, v.28, n.2, p.147-151, 2006. https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010131222006000200020&script=sci_arttext

PAIVA, CTC; SILVA, JB; DAPONT, EC; ALVES, CZ; CARVALHO, MAC. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes comerciais de alface e repolho. *Revista de Ciências Agroambientais*, v.14, n.1, p.53-59, 2016.

RADKE, AK; REIS, BB; GEWEHRI, EG; ALMEIDA, AS; TUNES, LM; VILLELA, F. A. Alternativas metodológicas do teste de envelhecimento acelerado em sementes de coentro. *Ciência Rural*, v.46, n.1, p. 1-5, 2016. https://www.scielo.br/pdf/cr/2015nahead/1678-4596-cr-0103_8478cr20140188.pdf

REZENDE, RG; JESUS, LL; NERY, MC; ROCHA, AS; CRUZ, SM; ANDRADE, PCR. Teste de tetrazólio em sementes de crambe. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 36, n. 4, p. 2539-2544, 2015.

https://www.researchgate.net/publication/282454083_Testes_de_tetrazolio_em_sementes_de_crambe

RODRIGUES, APMS; MENDONÇA-JÚNIOR, AF; TORRES, SB; NOGUEIRA, NW; FREITAS, RMO. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *Revista Ciência Agronômica*, v. 46, n. 3, p. 638-644, 2015.

https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1806-669020150003000638&script=sci_arttext

SANTOS, VLM; BANCI, CA; CALIL, AC; MENDOZA, RM; SILVA, RF; SANTOS, CM.

Utilização do teste de tetrazólio na avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de algodão

(*Gossypium hirsutum* L.), como um teste complementar ao teste de germinação. *Revista*

Brasileira de Sementes, v. 14, n. 2, p. 155-159, 1992. [https://www.abrates.org.br/journal-of-seed-science/artigo/utizacao-do-teste-de-tetrazlio-na](https://www.abrates.org.br/journal-of-seed-science/artigo/utizacao-do-teste-de-tetrazlio-na-avaliacao-da-germinacao-e-do-vigor-de-sementes-de-algodo-gossypium-hirsutum-il-como-um-teste-complementar-ao-teste-padrao-de-germinacao)

[avaliacao-da-germinacao-e-do-vigor-de-sementes-de-algodo-gossypium-hirsutum-il-como-um-teste-complementar-ao-teste-padrao-de-germinacao](https://www.abrates.org.br/journal-of-seed-science/artigo/utizacao-do-teste-de-tetrazlio-na-avaliacao-da-germinacao-e-do-vigor-de-sementes-de-algodo-gossypium-hirsutum-il-como-um-teste-complementar-ao-teste-padrao-de-germinacao)

[avaliacao-da-germinacao-e-do-vigor-de-sementes-de-algodo-gossypium-hirsutum-il-como-um-teste-complementar-ao-teste-padrao-de-germinacao](https://www.abrates.org.br/journal-of-seed-science/artigo/utizacao-do-teste-de-tetrazlio-na-avaliacao-da-germinacao-e-do-vigor-de-sementes-de-algodo-gossypium-hirsutum-il-como-um-teste-complementar-ao-teste-padrao-de-germinacao)

[avaliacao-da-germinacao-e-do-vigor-de-sementes-de-algodo-gossypium-hirsutum-il-como-um-teste-complementar-ao-teste-padrao-de-germinacao](https://www.abrates.org.br/journal-of-seed-science/artigo/utizacao-do-teste-de-tetrazlio-na-avaliacao-da-germinacao-e-do-vigor-de-sementes-de-algodo-gossypium-hirsutum-il-como-um-teste-complementar-ao-teste-padrao-de-germinacao)

SOARES, VN; ELIAS, SG; GADOTTI, GI; GARAY, AE; VILLELA, FA. Can the Tetrazolium Test be Used as an Alternative to the Germination Test in Determining Seed Viability of Grass Species? *Crop science*, v. 56, p. 707-715, 2016.

<https://access.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2135/cropsci2015.06.0399>

SOUZA, CR; OHLSON, OC; PANOBIANCO, M. Avaliação da viabilidade de sementes de aveia preta pelo teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 31, n. 3, p.057-062, 2009. <https://www.scielo.br/pdf/rbs/v31n3/a06v31n3.pdf>

TORRES, SB; PAIVA, EP; ALMEIDA, JPN; BENEDITO, CP; CARVALHO, SMC. Teste de condutividade elétrica na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de coentro. *Revista*

Ciência Agronômica, v. 46, n. 3, p. 622-629, 2015. <https://www.scielo.br/pdf/rca/v46n3/0045-6888-rca-46-03-062>

VERA, M. JG; AUMONDE, TZ; MENEGHELLO, GE; MARTINS, A. B. N.; AQUINO, Y. L.; PENA, P. Protocolo de análisis de viabilidad de semillas de chía mediante test de tetrazolio. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, v. 10 n. 7, p. 1481-1489, 2019. https://www.researchgate.net/publication/337091579_Protocolo_de_analisis_de_viabilidad_de_semillas_de_chia_mediante_test_de_tetrazolio

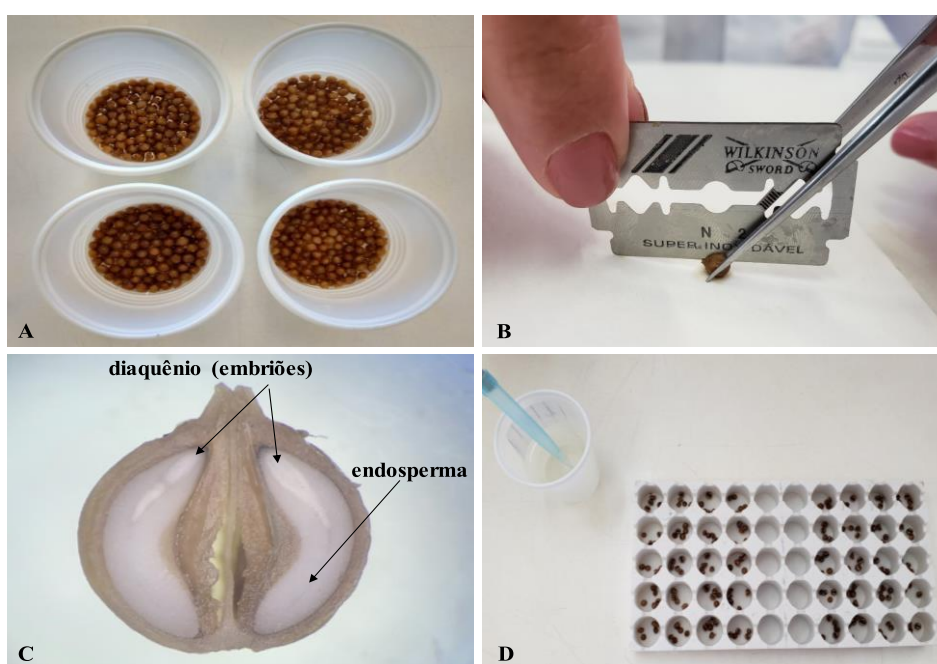


Figura 1. Preparo das sementes de coentro nas diferentes etapas de execução do teste de tetrazólio: pré-umedecimento com imersão em água (A), corte longitudinal do fruto (B), detalhe da estrutura das sementes mostrando o diaquênio (dois embriões) e o endosperma (C) e sementes na solução do sal de tetrazólio (D).

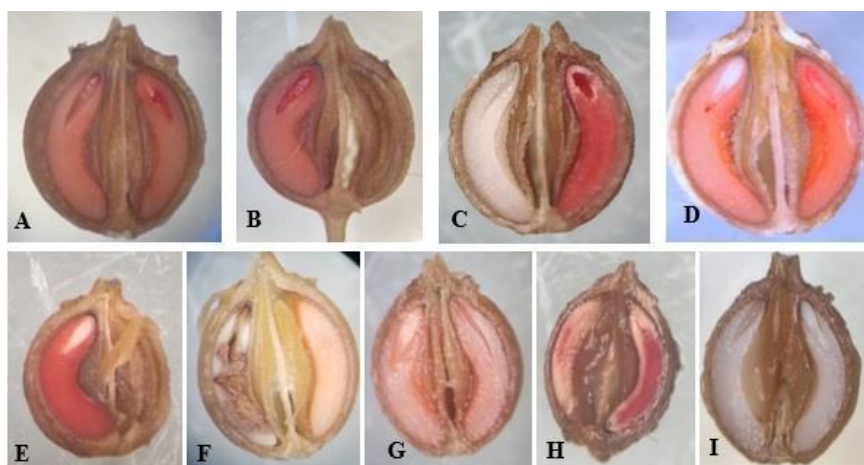


Figura 2. Classes para determinação da viabilidade de sementes de coentro pelo teste de tetrazólio: viáveis (A, B, C, D) e não viáveis (E, F, G, H e I).

Tabela 1. Teor de água inicial e após pré-condicionamento e germinação de seis lotes de sementes de coentro com e sem tratamento químico fungicida. Pelotas, RS, 2020

Lotes	Teor de água (%)		Germinação (%)	
	Inicial	Pós-embebição	Não tratada	Tratada**
1	9,1	55,2	94 a*	97 a
2	9,6	54,4	97 a	98 a
3	9,7	54,0	94 a	95 ab
4	9,8	50,3	92 a	94 ab
5	9,7	52,7	94 a	97 a
6	7,6	54,6	81 b	90 b
Média	9,3	53,5	92	95
C.V.%	-	-	2,59	2,65

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade; C.V. = coeficiente de variação ** sementes de coentro tratadas com Metalaxil-m+ Fludioxonil.

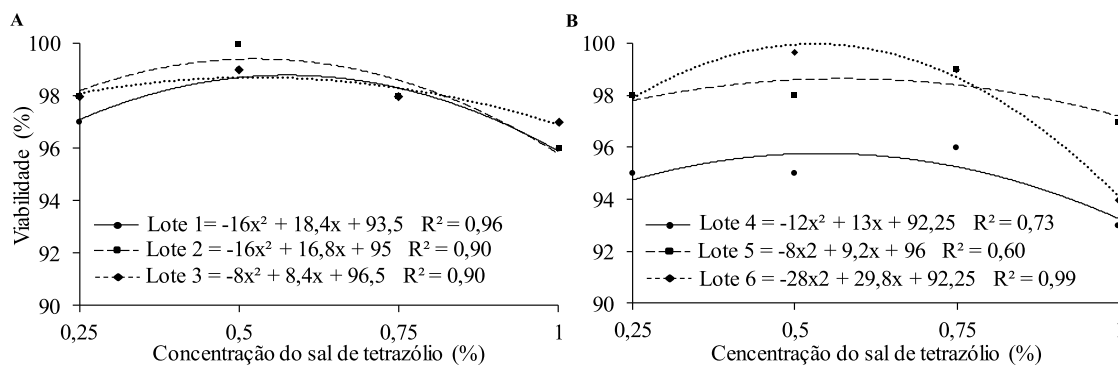


Figura 3. Máxima eficiência técnica da viabilidade de sementes de coentro pelo teste de tetrazólio conduzido com diferentes concentrações da solução do sal de tetrazólio.

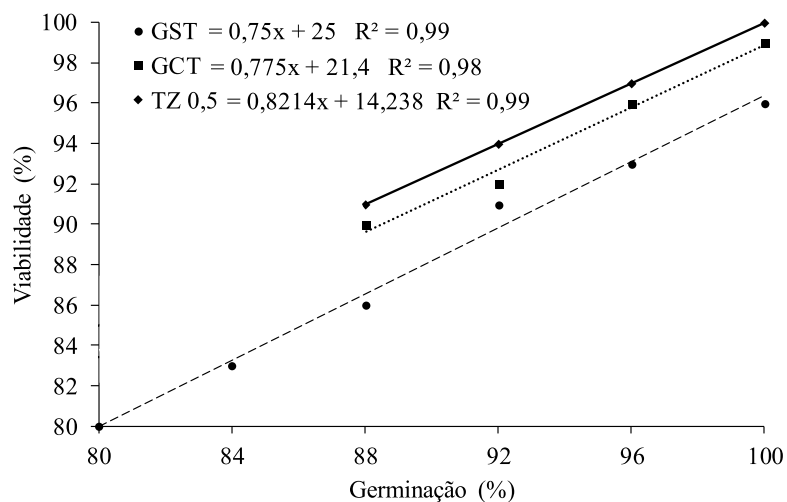


Figura 4. Correlação da viabilidade de sementes de coentro pelo teste de tetrazólio, utilizando a concentração de 0,5% da solução do sal de tetrazólio e o teste de germinação sem tratamento das sementes com fungicida (GST) e com tratamento (GCT).

Tabela 2. Teor de água inicial e após pré-condicionamento e germinação de quatro lotes de sementes de coentro. Pelotas, RS, 2020

Lotes	Teor de água (%)		Germinação (%)
	Inicial	Pós-embebição	
1	9,8	50,3	92 b*
2	9,7	52,2	97 a
3	9,7	54,0	96 a
4	9,6	54,4	97 a
Média	9,7	52,7	96
C.V.%	-	-	1,9

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade; CV = coeficiente de variação.

Tabela 3. Viabilidade de sementes de coentro submetidas à diferentes temperaturas e tempos de exposição na solução do sal de tetrazólio. Pelotas, RS, 2020

Tempo de exposição (horas)	Viabilidade (%)		
	Temperaturas (°C)		
	35	40	45
3	43 c*	69 b	94 a
4	66 c	85 b	96 a
5	86 b	93 a	96 a
6	98 a	96 a	97 a
C.V.%	8,9%		

*Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na horizontal não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade; C.V.= coeficiente de variação.

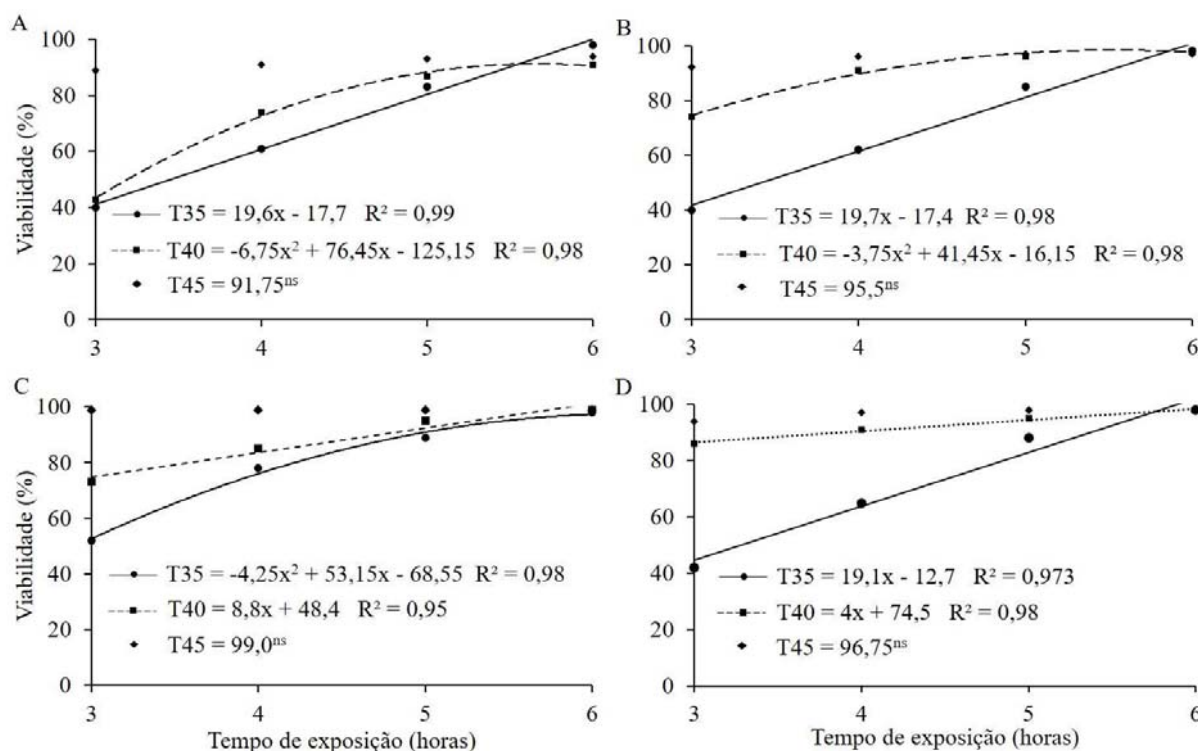


Figura 5. Viabilidade de sementes de quatro lotes de coentro (A: lote 1, B: lote 2, C: lote 3 e D: lote 4) submetidas à diferentes temperaturas e tempos de exposição na solução do sal de tetrazólio.

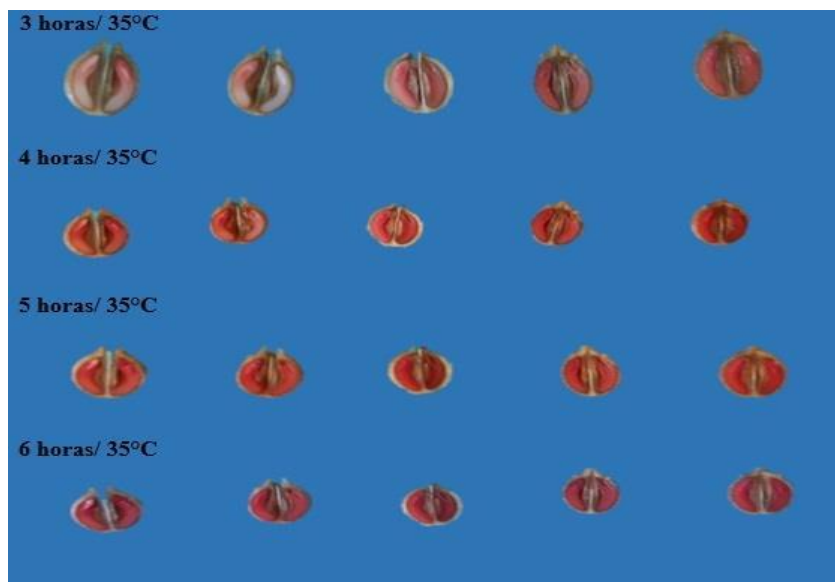


Figura 6. Coloração de sementes de coentro submetidas a quatro períodos de exposição na concentração de 0,5% da solução do sal de tetrazólio à temperatura de 35 °C.

ARTIGO III

REVISTA: Horticultura Brasileira**Interferência de fungos e do tratamento de sementes na viabilidade de sementes de Coentro**

RESUMO: Além da qualidade fisiológica, a determinação da qualidade sanitária é importantíssima para diagnosticar se os lotes comercializados se apresentam livres de patógenos e também na tomada de decisão sobre a necessidade de tratamento de sementes. Nesse sentido, objetivou-se avaliar a interferência dos fungos associados às sementes de lotes de coentro e o efeito do tratamento de sementes com o fungicida (Metalaxil-m + Fludioxonil) no desempenho fisiológico de sementes de coentro. O estudo foi realizado em duas etapas de maneira sequencial. No experimento I, realizou-se a caracterização inicial de 18 lotes de sementes de coentro, por meio dos testes, teor de água, viabilidade e análise sanitária. Posteriormente, avaliou-se se o desempenho fisiológico de sementes de coentro com e sem o tratamento com fungicida (Experimento II) por meio do teste de primeira contagem e germinação. Lotes de sementes coentro que apresentam alto potencial fisiológico podem não expressar seu máximo potencial no teste de germinação sem tratamento com fungicida, pelo efeito negativo causado pelos fungos associados às sementes, principalmente a *Alternaria dauci* e também em associação com *A. alternata*. Houve melhoria na expressão do desempenho fisiológico de sementes de coentro quando tratadas com o fungicida Metalaxil-m + Fludioxonil.

Palavras-chave: *Coriandrum sativum* L., Germinação, Sanidade, Fungicida.

Physiological and, sanitary characterization of coriander seeds treated with fungicides

ABSTRACT: The determination of the sanitary quality is extremely important to diagnose if the commercialized seed lots are free of pathogens and also when making a decision about the need for seed treatment. In this sense, the objective of this research work was to evaluate the interference of fungi associated with coriander lots seeds in their physiological performance and the effect of seed treatment with the fungicides (Metalaxil-m + Fludioxonil). The study was carried out in two steps sequentially. In experiment I, the initial characterization of 18 lots

of coriander seeds was evaluated, using the tests, water content, the tetrazolium test and seed health test. Later, it was evaluated whether the physiological performance of coriander seeds lots with and without fungicide treatment (Experiment II) using the first count and germination test. Coriander seeds have high physiological potential. Lots of coriander seeds that have high physiological potential may not express their maximum potential in the germination test without treatment, due to the negative effect caused by the fungi associated with the seeds, mainly *Alternata dauci* and in association with *A. alternata*. There was an improvement in the physiological performance of coriander seeds treated with Metalaxil-m+ Fludioxonil fungicide.

Keywords: *Coriandrum sativum* L., Germination, Seed health, Fungicide.

INTRODUÇÃO

O coentro (*Coriandrum sativum* L.), pertencente à família Apiaceae é uma espécie originária dos continentes europeu e africano. Conhecido como planta aromática, medicinal e condimentar, é uma boa fonte de cálcio, ferro, vitamina C e provitamina A. Produz folhas e frutos aromáticos, sendo um condimento amplamente usado na gastronomia, principalmente em regiões do Nordeste brasileiro para consumo fresco das hastes (Nascimento *et al.*, 2014).

A produção de sementes com alta qualidades genética, fisiológica, física e sanitária tem sido um dos principais desafios para os produtores de sementes (Bisognin *et al.*, 2016). Esses atributos caracterizam um lote de sementes.

O atributo fisiológico é um dos mais estudados pela pesquisa e está relacionado com o metabolismo das sementes para expressar seu potencial, e pode ser representado pelo vigor e pela germinação (Peske *et al.*, 2019). Além da qualidade fisiológica, a determinação da qualidade sanitária é uma importante ferramenta para diagnosticar se os lotes a serem comercializados se apresentam livre de patógenos, auxiliando o produtor na tomada de decisão sobre a necessidade do tratamento de sementes.

Dentre os microrganismos que afetam a qualidade das sementes, os fungos destacam-se como o principal grupo de patógenos associados às sementes, tanto pelos efeitos danosos, quanto em números de espécies. Esses patógenos, em associação com as sementes, podem causar deterioração, redução da germinação e do vigor, morte tanto das sementes quanto da planta em desenvolvimento, ocasionando redução no estande e no rendimento da cultura no campo (Lucca-Filho; Farias, 2019).

Na literatura são relatados os fungos do gênero *Alternaria* spp. como sendo um dos principais patógenos associados e transmitidos via sementes em espécies da família Apiaceae, da qual pertence, o coentro, a cenoura e a salsa, culturas consideradas de grande destaque no cenário de hortaliças no Brasil (Reis *et al.*, 2006; Pedroso *et al.*, 2010; Pedroso *et al.*, 2013; Töfoli *et al.*, 2015; Pedroso *et al.*, 2018; Barroso *et al.*, 2019). Dentre os principais agentes causadores de doenças na família Apiaceae, destacam-se, *Alternaria dauci* (Kühn) Groves & Sholko, *A. alternata* (Fr.) Keissl, *A. radicina* Meier, Drechsler & E.D.Eddy e *Alternaria* sp. De maneira geral, esses patógenos podem atacar diversas partes das plântulas, causando manchas foliares, lesões em pecíolos, inflorescências, danos nas raízes e tombamentos das plântulas, provocando perdas em grandes escalas (Töfoli *et al.*, 2015).

As sementes desempenham papel fundamental na sobrevivência de agentes patogênicos durante o armazenamento, bem como, o transporte e a transmissão de doenças. Assim, faz-se necessária a adoção de medidas que reduzam a incidência e a severidade dos patógenos (Lucca-Filho; Farias, 2019).

Dentre as práticas adotadas no controle de doenças, o tratamento químico de sementes constitui uma alternativa promissora e já consolidada para eliminação de patógenos associados às sementes em diversas culturas de destaque nacional, pela eficácia do método, simplicidade de execução e possibilidade de apresentar menor contaminação do meio ambiente, pela redução do número de aplicações complementares durante o desenvolvimento dos cultivos (Nascimento *et al.*, 2014).

O tratamento de sementes consiste na aplicação de substâncias que preservem ou aperfeiçoem o desempenho das sementes, permitindo que as culturas expressem todo seu potencial genético. Essa prática visa à proteção contra o ataque de patógenos que possam estar associados às sementes ou presentes no solo (Mentem & Moraes, 2010).

Conforme já foi relatado, a cultura do coentro recorrentemente é acometida por fungos que apresentam potencial de causar redução da qualidade das sementes (Trigo *et al.*, 1997; Reis *et al.*, 2006; Pedroso *et al.*, 2013), no entanto, não há fungicidas registrados no Ministério da Agricultura para o tratamento de sementes de coentro (Reis & Lopes, 2016). Diante do exposto e da importância da cultura do coentro no cenário nacional, justifica-se o desenvolvimento de estudos que estabeleçam relação entre a incidência de fungos, bem como associações de patógenos e o efeito destes no desempenho fisiológico de lotes comerciais de sementes de coentro. Ainda, como forma de contribuir com a melhoria da qualidade das sementes disponibilizadas no mercado e subsidiar a cadeia produtiva e órgãos regulamentadores, torna-se de fundamental importância, o estudo da eficiência de fungicidas

composto por diferentes grupos químicos e mecanismos de ação no controle dos principais fungos patogênicos que acometem a cultura do coentro.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar a interferência dos fungos associados às sementes de lotes de coentro e o efeito do tratamento de sementes com o fungicida (Metalaxil-m + Fludioxonil) no desempenho fisiológico das mesmas.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório Didático de Análise de Sementes “Flávio Dias da Rocha” e no Laboratório de Patologia de Sementes da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, no ano de 2018. Foram utilizados 18 lotes comerciais de sementes de coentro, cultivar Verdão, provenientes da região Sul do Rio Grande do Sul. Durante a condução do estudo, as sementes permaneceram armazenadas em câmara fria e seca (17 ± 1 °C e UR 60%).

O estudo foi realizado em duas etapas de maneira sequencial. Inicialmente realizou-se a avaliação da viabilidade e caracterização sanitária de sementes de coentro (Experimento I). Posteriormente avaliou-se o desempenho fisiológico de sementes de coentro com e sem tratamento com fungicida (experimento II).

O experimento I foi realizado em delineamento inteiramente casualizado com 18 tratamentos (lotes). No experimento II, utilizou-se delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial 18 x 2 (18 lotes e dois tratamentos com fungicida), com quatro repetições. Para ambos os experimentos foram utilizados os mesmos lotes.

Experimento I - Viabilidade e caracterização sanitária de sementes de coentro

As sementes foram submetidas aos seguintes testes: teor de água, viabilidade pelo teste de tetrazólio e sanidade.

Teor de água (TA) - foi determinado pelo método de estufa à 105 ± 3 °C por 24 horas, utilizando-se duas repetições por lote, conforme as Regras para Análise de Sementes (RAS). Os resultados foram expressos em porcentagem média de teor de água para cada lote (Brasil, 2009a).

Teste de tetrazólio (TZ) - foi realizado utilizando 100 sementes por repetição. As sementes foram pré-condicionadas entre papel por 16 horas à temperatura de 20 °C. Decorrido o tempo necessário ao pré-condicionamento, as sementes foram cortadas longitudinalmente, sendo que o corte foi executado mantendo-se a metade das duas sementes presentes no fruto. Em seguida, as sementes foram imersas na solução de 0,5 % de sal de tetrazólio durante cinco horas, no escuro, à 40 °C. Após o período de coloração, as sementes foram avaliadas, levando

em consideração a coloração e a integridade dos tecidos, classificando-as em viáveis e não viáveis.

Teste de sanidade – a detecção dos fungos em sementes de coentro foi realizada pelo método do papel filtro (“Blotter Test”). Foram utilizadas 200 sementes, divididas em subamostras de 25 sementes, nas quais foram semeadas em caixas plásticas do tipo “gerbox”, previamente desinfestadas com álcool 70% e hipoclorito de sódio a 1%, contendo duas folhas de papel mata-borrão esterilizado umedecidas com solução de restrição hídrica (06 Mpa, 3,1 g de NaCl, 4,0 g de KCl e 33,5 g de sacarose). Após a semeadura, as sementes foram incubadas à 25 °C, com fotoperíodo alternado (12 horas luz e 12 horas no escuro), durante sete dias, com adaptações de Brasil (2009b). Após o período de incubação, as sementes foram analisadas com o auxílio de microscópio estereoscópio e óptico para a observação das estruturas morfológicas dos fungos com auxílio de bibliografia (Barnett & Hunter, 1972; Massola-Júnior *et al.*, 2005; Simmons, 2007; Brasil, 2009b), determinando-se o percentual de incidência de cada fungo. Para os fungos do gênero *Alternaria* spp., as identificações foram feitas com base em características morfológicas dos conídios visualizados em lâminas semipermanentes, e com auxílio de bibliografia especializada (Simmons, 2007; Brasil, 2009b).

Experimento II - Desempenho fisiológico de sementes de coentro submetidas ao tratamento químico com fungicida

As sementes foram submetidas aos testes de primeira contagem de germinação e germinação com e sem tratamento químico com fungicida.

Primeira Contagem de Germinação (PCG) - foi conduzida juntamente com o teste de germinação, sendo realizada no sétimo dia após semeadura em papel (Brasil, 2009a). Os resultados foram expressos em percentagem de plântulas normais.

Teste de germinação (G) - foi conduzido utilizando-se 100 sementes por repetição. As sementes foram semeadas sobre folhas de papel mata-borrão umedecidas com água destilada em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco. Logo em seguida, as amostras foram transferidas para sala de germinação com temperatura constante de 20 °C. A avaliação foi realizada aos 21 dias após a semeadura, considerando a percentagem de plântulas normais, conforme as RAS (Brasil, 2009a).

Para as sementes que receberam tratamento químico com fungicida, o procedimento realizado no teste de germinação foi o mesmo descrito anteriormente. No entanto, as sementes foram tratadas com o fungicida com os princípios ativos Metalaxil-m+ Fludioxonil, utilizando a dose de 200 mL.100 kg⁻¹ de sementes. O volume de calda utilizado foi de 1,5 L.100 kg⁻¹ de sementes, o qual foi composto pelo ingrediente ativo e água destilada. A mistura foi aplicada

diretamente no fundo de um saco plástico e espalhada até uma altura de aproximadamente 15 cm e, em seguida as sementes foram colocadas no interior do saco plástico, agitando-as manualmente por três minutos. Após o tratamento, os sacos plásticos foram abertos para permitir a secagem das sementes em temperatura ambiente, conforme metodologia adaptada de Nunes (2005), sendo posteriormente submetidas ao teste de germinação. Como o produto utilizado não é registrado para a cultura do coentro, selecionou-se a dose com base na recomendação genérica para fungos do gênero *Alternaria* spp., indicada na bula desse produto.

Os dados foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$) e, quando significativos, as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. A análise estatística foi realizada com o auxílio do software Sisvar, versão 5.3.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento I – Viabilidade e caracterização sanitária de sementes de coentro

Os valores dos teores médios de água das sementes de coentro variaram entre 7,3 a 10,5% (Tabela 1). O teor de água é o fator de maior significância na prevenção da deterioração da semente durante o armazenamento. O baixo teor de água das sementes proporciona redução na atividade metabólica, o que contribui para a manutenção da sua qualidade (Cardoso *et al.*, 2012).

Analisando as médias de viabilidade determinadas pelo teste de tetrazólio (Tabela 1), verificou-se que houve diferença significativa entre os lotes. Os lotes 3, 11, 12, 14, 16, 17 e 18 apresentaram desempenho superior em comparação aos demais, com médias de viabilidade acima de 93%. De maneira geral, observou-se que todos os lotes apresentaram alta viabilidade, com valores variando de 88 a 97% entre os lotes, com média geral de 92%. O teste de tetrazólio é um teste bioquímico capaz de fornecer a rápida estimativa da viabilidade das sementes, ou seja, aquelas sementes que apresentam potencial para produzir uma plântula normal (AOSA/SCST, 2010). No entanto, é importante salientar que esse teste é realizado em menor período de tempo, uma vez que nesse teste não ocorre a germinação das sementes, o que atenua a ação de possíveis fatores adversos, como exemplo microrganismos danosos às plântulas, não permitindo que esses fatores interfiram na avaliação e nos resultados (Clemente *et al.*, 2011; Santos *et al.*, 1992).

Na Figura 1 estão ilustradas as imagens dos fungos detectados na análise sanitária em sementes de coentro.

Na análise sanitária dos 18 lotes de sementes comerciais de coentro foram identificados diversos gêneros de fungos, os quais foram agrupados em fungos potencialmente patogênicos

para a cultura, fungos considerados de armazenamento e os contaminantes (Tabela 2). Neste estudo foi dado maior ênfase aos fungos considerados com potencial patogênicos para a cultura (*Alternaria dauci* e *A. alternata*). Os fungos *Cladosporium* sp. e *Rhizopus* sp. foram detectados em baixos percentuais e por serem considerados contaminantes não foram abordados.

Foi verificada a incidência de *A. dauci* em 17 lotes dos 18 lotes avaliados, destes somente no lote 13 não foi detectado a presença desse fungo (Tabela 2). Dos lotes analisados, destacaram-se o 1, 3, 5, 16 e 17 que apresentaram percentuais acima de 50%. Destes, os lotes 1, 3 e 17 apresentaram incidência de 84, 91 e 80%, respectivamente, valores muitos superiores aos encontrados na literatura para esse fungo na cultura do coentro (Pereira *et al.*, 2005; Reis *et al.*, 2006; Pedroso *et al.*, 2013). Já os lotes 4, 7, 8, 9, 10, 11 e 12 obtiveram percentuais inferiores a 10% do fungo *A. dauci*. Esse patógeno é o agente causal da queima das folhas ou queima de alternaria, considerada uma das principais doenças que acometem as culturas do coentro, cenoura e salsa (Reis & Lopes, 2016). O principal sintoma dessa doença é o aparecimento de lesões marrons nos tecidos atacados, que em condições favoráveis, evoluem e, quando cerca de 40% da área foliar é afetada, a folha toda amarelece e morre, causando o sintoma típico de queima. Além do citado acima, outra consequência do ataque desse fungo é o tombamento de plantas “damping off” em pré ou pós-emergência (Massola-Júnior *et al.*, 2005).

Quando a prevalência da *A. alternata*, verificou-se a presença desse fungo nos 18 lotes analisados, destes doze apresentaram incidência acima de 80% (Tabela 2). Também foi verificado que um total de 17 dos 18 lotes avaliados apresentaram associação entre os fungos *A. dauci* e *A. alternata*. Esses dados reforçam que sementes de coentro são excelentes veículos de disseminação dos fungos do gênero *Alternaria*, conforme já relatado por outros autores (Trigo *et al.*, 1997; Reis *et al.*, 2006). Trabalhando com sementes de coentro, Reis *et al.* (2006) relataram a incidência desses dois patógenos em diversos lotes comerciais. No entanto, foram encontrados percentuais de incidências para ambos os patógenos muito abaixo dos encontrados neste estudo.

Ainda na Tabela 2, constatou-se a incidência de fungos do gênero *Aspergillus* spp. e *Penicillium* sp., considerados fungos de armazenamento, no entanto, em baixos percentuais variando de 1 a 10% em ambos os fungos. A baixa incidência desses fungos pode estar relacionada com as condições favoráveis de armazenamento em que as sementes se encontravam durante o período das análises. Neste estudo, as sementes permaneceram armazenadas em câmara fria com temperatura de 17 ± 1 °C e UR 60% durante a condução do estudo e ainda apresentavam baixo grau de umidade (Tabela 1), condições consideradas desfavoráveis ao desenvolvimento de fungos de armazenamento.

Experimento II – Desempenho fisiológico de sementes de coentro submetidas ao tratamento químico com fungicida

Houve interação entre lotes e tratamento químico com fungicida (Tabelas 3) para todas as variáveis estudadas. Analisando o efeito de lote dentro de cada tratamento para a variável primeira contagem da germinação (PCG), verificou-se diferença na qualidade dos lotes analisados (Tabela 3). Para as sementes que não receberam tratamento com fungicida, os lotes 1, 3, 5, 6, 14, 15, 16 e 17 apresentaram menores percentuais de plântulas normais na primeira contagem de germinação, com médias de variando entre 56 a 76%. Já os lotes, 4, 10, 11 e 13 apresentaram os maiores percentuais com médias superiores a 90%, e os demais lotes apresentaram comportamento intermediário, com médias variando entre 77 a 84%. Para as sementes dos lotes que receberam tratamento com fungicida, os lotes 1, 3, 5, 6, 14 e 15 também apresentaram os menores percentuais de plântulas normais na PCG com médias inferiores a 80%. Os demais lotes obtiveram valores acima de 80%.

Ainda na variável primeira contagem de germinação (Tabela 3), comparando o efeito entre cada tratamento no desempenho dos lotes, foi observado que os lotes responderam de forma diferenciada ao tratamento de sementes com fungicida, onde foi possível verificar que somente os lotes 3, 6, 14, 16 e 17 apresentaram incrementos significativos no percentual de plântulas normais na PCG. Para esses lotes, a utilização do fungicida minimizou o efeito negativo dos patógenos associados às sementes, possibilitando o desenvolvimento mais rápido das plântulas.

Para a variável germinação também foi observada interação entre os lotes e tratamento de sementes com fungicida (Tabela 3). Analisando o efeito de lote em função de cada tratamento, verificou-se que houve diferença na qualidade dos lotes analisados. Para as sementes que não receberam tratamento com fungicida, verificou-se uma maior variação nos percentuais de germinação entre os lotes analisados, sendo estes classificados em quatro níveis de qualidade, com médias variando entre 71 a 97%. Os lotes 1 e 6 apresentaram desempenho inferior para esta variável, com médias de 74 e 71%, respectivamente. Esses resultados apresentam coerência com os encontrados na PCG. No entanto, ressalta-se que esses lotes apesar de manifestarem baixo percentuais de germinação, estão aptos para serem comercializados, pois apresentam germinação acima do padrão mínimo exigido para a comercialização de sementes de coentro no Brasil, que é de 65% (Brasil, 2019). Para sementes tratadas com fungicida, houve menor variação entre as médias de germinação dos lotes, sendo estes ranqueados em dois níveis de qualidade, onde os lotes 1, 5, 7 e 9 apresentaram desempenho inferior aos demais (Tabela 3). No entanto, ressalta-se todos os lotes que foram tratados quimicamente com

fungicida apresentaram germinação acima de 80% e cerca de 77% dos lotes analisados apresentaram germinação superior a 90%. Esses resultados mostraram que as sementes de coentro apresentam alto potencial fisiológico, resultados estes já confirmados pelos dados da viabilidade determinados pelo teste de tetrazólio (Tabela 1 – experimento I), no entanto, nem sempre conseguem expressar o seu máximo potencial, principalmente por estas estarem infestadas predominantemente com uma alta incidência de fungos com potencial patogênico, como foi detectado na análise sanitária. Assim, a prática de tratamento de sementes possivelmente contribuiu para melhoria na expressão do desempenho fisiológico dessas sementes.

Ainda na Tabela 2, comparando os resultados do teste de germinação em função do tratamento com fungicida, verificou-se comportamento distinto dos lotes em relação à resposta ao tratamento de sementes. Assim, notou-se que, apesar do incremento no percentual de germinação de alguns lotes, observou-se que nem todos os lotes responderam significativamente ao tratamento de sementes. Mas, para os lotes 1, 3, 6, 7, 8, 14, 15 e 16 observou-se o efeito benéfico do tratamento de sementes no aumento do potencial de germinação, com incrementos variando de 8 a 22 pontos percentuais.

Os dados desse estudo revelaram o comportamento distinto dos lotes em relação à ação prejudicial dos fungos patogênicos, do desempenho fisiológico e da resposta ao tratamento das sementes com fungicida.

De acordo com os dados da qualidade sanitária, os fungos encontrados em maior proporção foram *A. dauci* e *A. alternata*. Neste estudo, foi verificada a presença do fungo *A. dauci* tanto aderido à superfície das sementes, em pedicelos, quanto no interior do fruto, quando o mesmo apresentava algum tipo de abertura, conforme demonstrado na Figura (3A, B e C). Já, o fungo *A. alternata* foi encontrado somente aderido à superfície da semente, sem penetrar no fruto (Figura 3D).

Para a definição do tratamento adequado, é fundamental o entendimento das diferentes formas de transmissão dos fungos associados às sementes. Neste estudo, apesar de ter sido testado somente um fungicida, optou-se estrategicamente pela utilização de um fungicida composto por dois grupos químicos, apresentando diferentes mecanismos de ação, onde o Fludioxonil tem ação de contato, e o Metalaxil-m atua de maneira sistêmica, visando um maior espectro de ação do produto no controle dos diferentes patógenos (Syngenta, 2020).

Este estudo é uma pesquisa exploratória, sendo que estudos mais detalhados de doses e volume de calda, se fazem necessários, já que são fatores decisivos na eficiência no produto. Durante a condução do experimento notou-se a dificuldade em se conseguir uma cobertura

satisfatória da superfície das sementes em função do volume de calda utilizado e também das próprias características morfológicas das sementes. Outra dificuldade referiu-se ao pequeno volume de sementes a ser tratado neste experimento. Assim, ainda se faz necessário o desenvolvimento de estudos que comparem não somente a eficiência de diferentes fungicidas, mas também parâmetros como doses, volume de calda, dentre outros.

Por meio dos dados obtidos nesse estudo, conclui-se que lotes de sementes coentro que apresentam alto potencial fisiológico podem não expressar seu máximo potencial no teste de germinação sem tratamento com fungicida, pelo efeito negativo causado pelos fungos associados às sementes, principalmente a *Alternaria dauci* e também em associação com *A. alternata*. Houve melhoria na expressão do desempenho fisiológico de sementes de coentro quando tratadas com o fungicida Metalaxil-m + Fludioxonil.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 00

REFERÊNCIAS

- AOSA/SCST - Association of Official Seed Analysts and and Society of Commercial Seed Technologists. 2010. *Tetrazolium Testing Handbook*. AOSA. 414p.
- BARNET, HL; HUNTER, BB. 1972. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 3.ed. Minneapolis: Burgess. 241p.
- BARROSO, FM; MUNIZ, PHPC; PEIXOTO, GHS; MILAN, MD; CARVALHO, DDC. 2019. Incidência e caracterização morfológica de *Alternaria alternata* em sementes de salsa. *Revista de Agricultura Neotropical* 6: 36-40.
- BISOGNIN, MB; KULCZYNSKI, SM; FERRARI, M; RONEI GAVIRAGHI, R; PELEGRIN, AJ; SOUZA, VQ. 2016. Desempenho fisiológico de sementes olerícolas em diferentes tempos de hidrocondicionamento. *Revista de Ciências Agrárias* 39: 349-359.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2009a. *Regras para análises de semente* / Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 399p.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2009b. *Manual de Análise Sanitária de Sementes* / Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília

lia: MAPA/ACS, 200p.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 42 de 17 de setembro de 2019. *Normas para a produção e a comercialização de sementes olerícolas, condimentares, medicinais e aromáticas*. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 19 set. 2019.

CARDOSO, RB.; BINOTTI, FFS; CARDOSO, ED. 2012. Potencial fisiológico de sementes de crambe em função de embalagens e armazenamento. *Pesquisa Agropecuária Tropical* 42: 272-278.

CLEMENTE, ACS; CARVALHO, MLM; GUIMARÃES, RM; ZEVIANI, WM. 2011. Preparo das sementes de café para avaliação da viabilidade pelo teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes* 33: 038 – 044.

LUCCA-FILHO, OA; FARIAS, CRJ. 2019. Patologia de Sementes. In: PESKE, ST.; VILLELA, FA; MENEGHELLO, GE. *Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos*. 4ª ed. Revisada, atualizada e ampliada. Pelotas: Editora Becker & Peske Ltda. Ed. Universitária UFPel, Pelotas. p. 259-353.

MASSOLA-JUNIOR., NS; MARTINS, MC; GLORIA, R; JESUS-JÚNIOR, WC. 2005. Doenças da cenoura. In: KIMATI, H; AMORIN, L; BERGAMIN-FILHO, A; CAMARGO, LEA; RESENDE, JAM. (Ed.). *Manual de fitopatologia : doenças das plantas cultivadas*. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres. p. 223-229.

MENTEN, JO; MORAES, MHD. 2010. Tratamento de sementes: histórico, tipos, características e benefícios. *Informativo ABRATES* 20: 52-53.

NASCIMENTO, WM; SILVA, PP; VILLELA, RP; WANDERLEY-JUNIOR, LJG. 2014. Produção de sementes de coentro. In: NASCIMENTO, WM. *Produção de sementes hortaliças*. 1ª ed. Ed. Embrapa hortaliças, Brasília. p. 147-167.

NUNES, JC. 2005. Tratamento de semente - qualidade e fatores que podem afetar a sua performance em laboratório. *Syngenta Proteção de Cultivos Ltda*. 16p.

PEDROSO, DC; MENEZES, VO; MUNIZ, MFB; PIVETA, G; TUNES, LVM; MULLER, J; MENEZES, NL. 2010. Métodos de inoculação de *Alternaria alternata* e *A. dauci* em sementes de salsa e sua influência na qualidade fisiológica. *Revista Brasileira de Sementes* 32: 079-085.

PEDROSO, DC; MUNIZ, MFB; TUNES, LVM; MÜLLER, J; JUNGES, E; SANTOS, RF. 2013. Influência de *Alternaria alternata* e *A. dauci* na qualidade de sementes de coentro. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias* 8: 563-569.

- PEDROSO, DC; LEMES, ES; OLIVEIRA, S; TUNES, LVM; JUNGES, E; MUNIZ, MFB. 2018. Tratamento químico e biológico: qualidade fisiológica e sanitária de sementes de cenoura durante o armazenamento. *Pesquisa agropecuária pernambucana*, 23: 01- 09.
- PEREIRA, RS; MUNIZ, MFB; NASCIMENTO, WM. 2005. Aspectos relacionados à qualidade de sementes de coentro. *Horticultura Brasileira* 23: 703-706.
- PESKE, ST; BARROS, ACSA; SCHUCH, LOB. 2019. Produção de Sementes. In: PESKE, ST; VILLELA, FA; MENEGHELLO, GE. *Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos*. 4ª ed. Revisada, atualizada e ampliada. Pelotas: Editroa Becker & Peske Ltda. Ed. Universitária UFPel, Pelotas, p. 104-143.
- REIS A; SATELIS JF; PEREIRA RS; NASCIMENTO WM. 2006. Associação de *Alternaria dauci* e *A. alternata* com sementes de coentro e eficiência do tratamento químico. *Horticultura Brasileira* 24: 107-111.
- REIS A; LOPES, CA. 2016. *Doenças do Coentro no Brasil*. Brasília, DF: Embrapa. 6p. (Embrapa Hortalças. Circular Técnica, 157). Disponível em:<<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/157359/1/CT-157.pdf>> Acesso em: maio 2020.
- SANTOS, VLM; BANCİ, CA; CALİL, AC; MENDONZA, RM; SILVA, RF; SANTOS, CM. 1992. Uso do teste de tetrazólio na avaliação da germinação e no vigor de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.), como um teste complementar ao teste padrão de germinação. *Revista Brasileira de Sementes* 14: 155-159.
- SIMMONS, EG. 2007. *Alternaria: an identification manual*. Netherlands: CBS Fungal Biodiversity Centre. 775p.
- SYNGENTA. Syngenta Crop Protection AG. 2020. *Fungicida/Tratamento de sementes/Maxim® XL*. Disponível em: <https://www.syngenta.com.br/product/crop-protection/fungicidatratoamento-de-sementes/maxim-xl>
- TÖFOLI, JG; DOMINGUES, RJ; FERRARI, JT. 2015. *Alternaria* spp. em oleráceas: sintomas, etiologia, manejo e fungicidas. *Biológico* 77: 21-34.
- TRIGO, MFOO; TRIGO, LFN; PIEROBOM, CR. 1997. Fungos associados às sementes de coentro (*Coriandrum sativum* L.) no Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Sementes* 19: 213-217.

Tabela 1. Teor de água e viabilidade de sementes de 18 lotes de sementes de coentro (Water content and seed viability of 18 coriander seed lots). Capão do Leão, RS, UFPel, 2020

Lotes	Teor de água (%)	Viabilidade (%)
1	9,8	92 b
2	10,5	92 b
3	9,4	93 a
4	9,1	91 b
5	10,1	90 b
6	9,7	92 b
7	9,8	92 b
8	9,9	90 b
9	9,1	88 b
10	9,6	90 b
11	9,7	94 a
12	9,8	93 a
13	9,7	92 b
14	7,3	94 a
15	8,6	90 b
16	9,4	97 a
17	8,1	95 a
18	7,6	95 a
Média	9,2	92
C.V.%	-	3,06

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Scott- Knott a 5% de probabilidade; CV = coeficiente de variação (Means followed by the same letter in the column do not differ by the Scott-Knott test at 5% probability; CV = coefficient of variation).

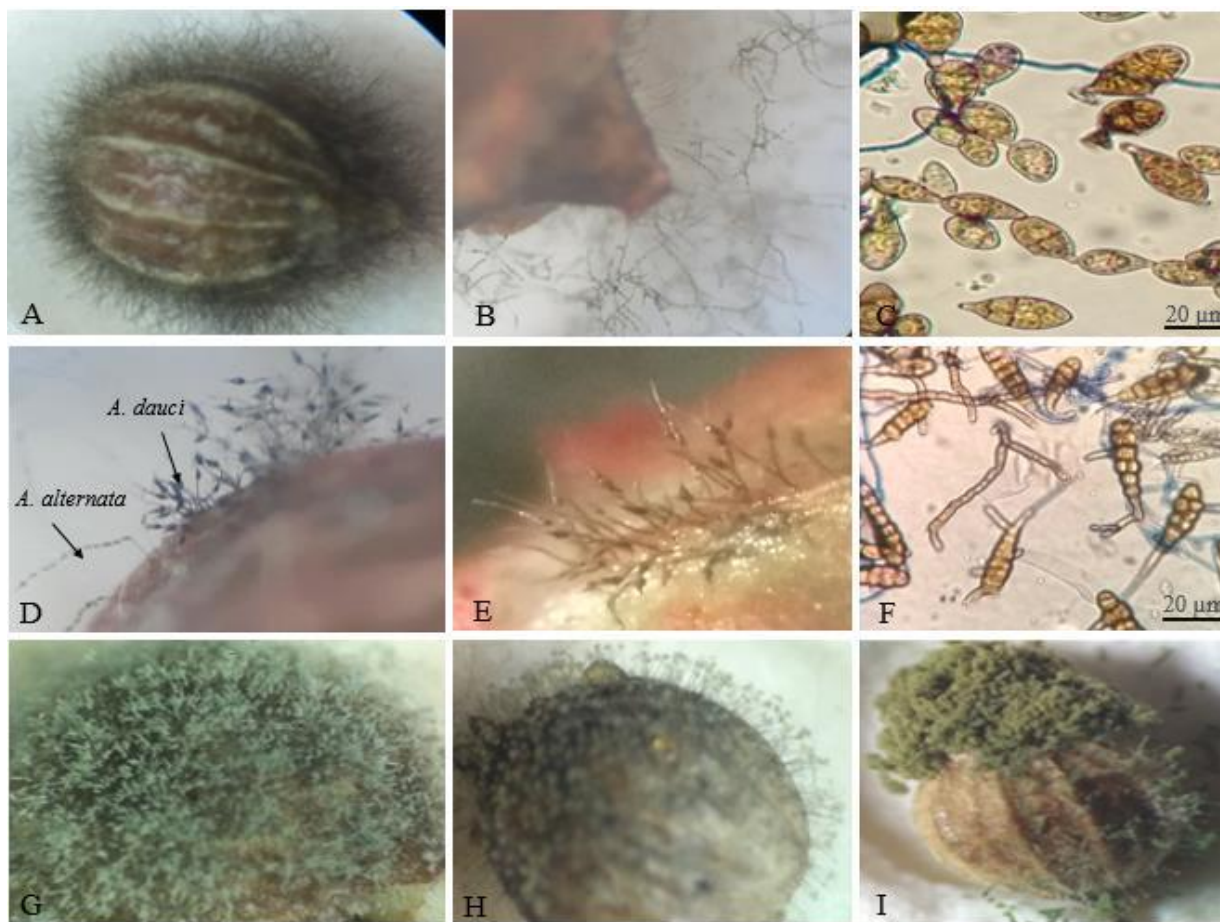


Figura 1. Fungos detectados na análise sanitária de sementes de coentro: *A. alternata* (A e B), conídios de *A. alternata* (C), associação entre *A. alternata* e *A. dauci* presentes na mesma semente (D), *A. dauci* (E), conídios de *A. dauci* (F), *Pencillium* sp. (G), *Cladosporium* sp. (H) e *Aspergillus* spp. (I). Fungi detected in the sanitary analysis of coriander seeds: *A. alternata* (A and B), conidia of *A. alternata* (C), association between *A. alternata* and *A. dauci* present in the same seed (D), *A. dauci* (E), conidia of *A. dauci* (F) *Pencillium* sp. (G), *Cladosporium* sp. (H) and *Aspergillus* spp. (I). Capão do Leão, RS, UFPel, 2020.

Tabela 2. Incidência e prevalência de fungos em 18 lotes de sementes de coentro (Incidence and prevalence of fungi in 18 coriander seed lots). Capão do Leão, RS, UFPel, 2020.

Lotes	Incidência de fungos (%)			
	<i>A. dauci</i>	<i>A. alternata</i>	<i>Aspergillus</i> spp	<i>Pencillium</i> sp.
1	84	51	3	3
2	45	68	2	6
3	91	68	0	0
4	2	87	8	8
5	69	43	10	10
6	14	80	7	5
7	2	83	0	1
8	8	89	0	2
9	4	89	0	0
10	8	81	1	1
11	4	90	1	1
12	1	79	1	1
13	0	88	0	0
14	16	86	0	1
15	42	70	0	0
16	57	81	0	0
17	80	82	2	2
18	18	96	0	0
Média	30	78	2	2
Prevalência	17	18	9	12

Tabela 3. Primeira contagem de germinação e germinação de sementes com e sem tratamento químico (First germination count and seed germination with and without chemical treatment. Capão do Leão, RS, 2020

Primeira contagem da germinação (%)				Germinação (%)		
Lotes	Produto			Produto		
	Sem tratamento	Tratada**	Média	Sem tratamento	Tratada**	Média
1	68 Da	68 Ca	68	74 Db	86 Ba	80
2	82 Ba	86 Aa	84	89 Ba	91 Aa	90
3	67 Db	79 Ba	73	82 Cb	95 Aa	88
4	90 Aa	90 Aa	90	95 Aa	96 Aa	96
5	74 Ca	76 Ca	75	79 Ca	84 Ba	81
6	56 Eb	71 Ca	64	71 Db	93 Aa	82
7	80 Ba	82 Ba	81	81 Cb	90 Ba	85
8	77 Ba	80 Ba	79	85 Cb	92 Aa	88
9	83 Ba	82 Ba	83	86 Ca	86 Ba	86
10	92 Aa	92 Aa	92	97 Aa	98 Aa	98
11	94 Aa	93 Aa	94	97 Aa	98 Aa	98
12	84 Ba	83 Ba	84	91 Ba	94 Aa	92
13	91 Aa	92 Aa	92	96 Aa	97 Aa	97
14	69 Db	79 Ba	74	88 Bb	96 Aa	92
15	76 Ca	75 Ca	76	83 Cb	93 Aa	88
16	75 Cb	88 Aa	82	88 Cb	97 Aa	93
17	75 Cb	91 Aa	83	83 Cb	97 Aa	90
18	84 Ba	88 Aa	86	89 Ba	95 Aa	92
Média	79	83		86	93	
C.V%	6,92%			5,11%		

*Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade; CV = coeficiente de variação ** sementes de coentro tratadas com Metalaxil-m+ Fludioxonil (* Means followed by the same letter, uppercase in the column and lowercase in the row, do not differ by the Scott-Knott test at 5% probability; CV = coefficient of variation ** coriander seeds treated with Metalaxil-m + Fludioxonil). Capão do Leão, RS, UFPel, 2020.

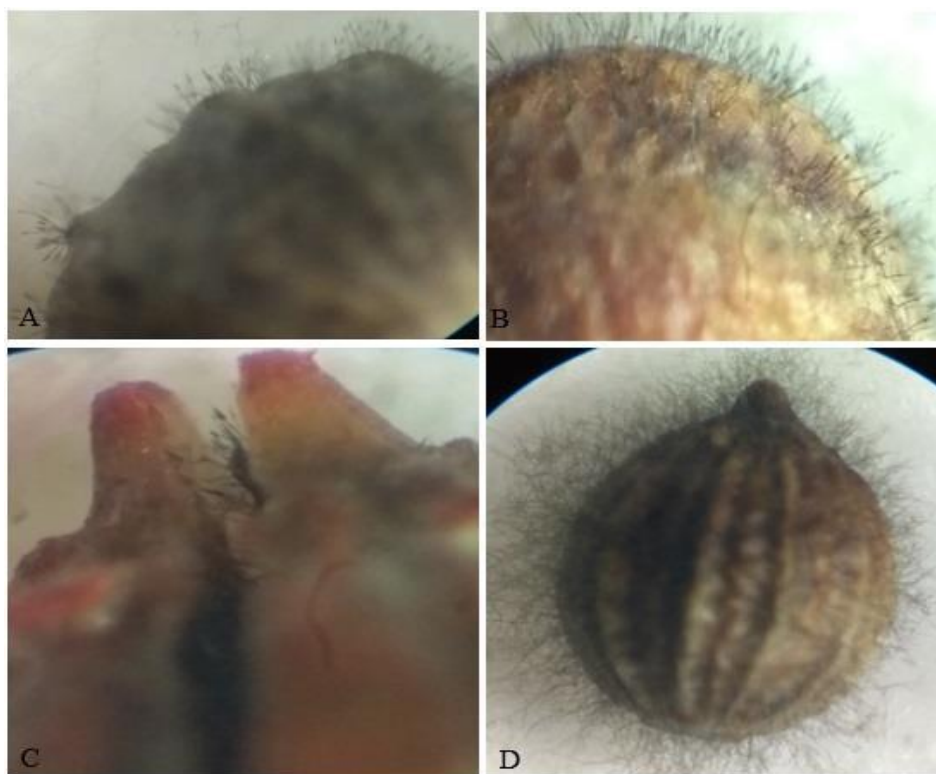


Figura 2. Detalhe da associação de fungos do gênero *Alternaria* em sementes de coentro: *A. dauci* sobre a superfície das sementes de coentro (A e B) e no interior do fruto (C) e *A. alternata* aderido superficialmente (Detail of the association of fungi of the genus *Alternaria* in coriander seeds: *A. dauci* on the surface of coriander seeds (A and B) and inside the fruit (C) and *A. alternata* adhered superficially).

Considerações Finais

Os ajustes metodológicos propostos nessa pesquisa evidenciaram que é possível a redução do tempo de execução do teste de tetrazólio em sementes de coentro, com obtenção de resultados satisfatórios em menos de 24 horas. Isso se deve principalmente pela redução no período de pré-condicionamento e tempo de exposição à solução de tetrazólio. Além da possibilidade da utilização de concentrações da solução do sal de tetrazólio menores 1,0%, tais como 0,5%. Outro ponto de destaque nessa pesquisa refere-se ao fato da possibilidade de execução de somente um único corte na semente, tornando menos dificultado o processo de execução.

Tendo em vista que os patógenos associados às sementes de coentro interferem negativamente no resultado do teste de germinação em condições de laboratório, o teste de tetrazólio apresenta-se como uma alternativa promissora para determinação da viabilidade dessas sementes, apresentando resultados similares aos obtidos no teste de germinação de sementes tratadas.

Os resultados dessa pesquisa também mostraram que sementes de coentro podem apresentar alta viabilidade, mas, no entanto, nem sempre conseguem expressar o seu máximo potencial, principalmente por estas estarem contaminadas com uma alta incidência de fungos com potencial patogênico, conforme foi detectado na análise sanitária, com destaque para o fungo *A. dauci* que mesmo em lotes com baixos percentuais também tiveram seu desempenho prejudicado. No entanto, a prática de tratamento de sementes com fungicida contribuiu para melhoria da expressão do desempenho fisiológico dessas sementes.

Apesar dos resultados positivos obtidos nesse estudo se fazendo uso do tratamento com fungicida, destaca-se que o volume de calda utilizado de 1,5 L.100kg⁻¹ de sementes, mesmo sendo considerado alto em comparação com outras culturas, não proporcionou uma cobertura uniforme nas sementes. É importante salientar a própria estrutura do aquênio pode ter dificultado o contato do produto com as sementes. Nesse sentido, além da necessidade de testar a eficiência de diferentes produtos fungicidas, também se recomenda testar misturas com produtos que facilitem a aderência dos produtos nas sementes.

Portanto, sugere-se a continuidade desse estudo em específico relacionado à parte de tratamento de sementes, visando abordar parâmetros que não foram

abordados nesse estudo, tais como, utilização de diferentes produtos químicos, doses e volume de calda.

Referências

- ABBADÉ, L.C.; TAKAKI, M. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Tabebuia roseoalba* (ridl.) sandwith - Bignoniaceae, submetidas ao armazenamento. **Revista Árvore**, v.38, n.2, p.233-240, 2014.
- AOSA/SCST. Association of Official Seed Analysts and Society of Commercial Seed Technologists. **Tetrazolium Testing Handbook**. AOSA, 2010 edition. 414p.
- AOSA/SCST. Association of Official Seed Analysts and and Society of Commercial Seed Technologists. **Rules for testing seeds**. v. 1. Washington, DC. 2014.
- BARNET, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 3.ed. Minneapolis: Burgess, 1972. 241p.
- BARROS, D. I.; DIAS, D. C. F. S.; BHERING, M. C. Uso do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de abobrinha. **Revista Brasileira de Sementes**, v.27, n.2, p.165-171, 2005.
- BARROSO, F. M.; MUNIZ, P. H. P. C.; PEIXOTO, G. H. S.; MILAN, M. D.; CARVALHO, D. D. C. Incidência e caracterização morfológica de *Alternaria alternata* em sementes de salsa. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 6, n.1, p. 36-40, 2019.
- BISOGNIN, M. B.; KULCZYNSKI, S. M.; FERRARI, M.; RONEI GAVIRAGHI, R.; PELEGRIN, A. J.; SOUZA, V. Q. Desempenho fisiológico de sementes olerícolas em diferentes tempos de hidrocondicionamento. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 39, n. 3, p. 349-359, 2016.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 30 de 21 de maio de 2008. **Padrões para produção e comercialização de sementes de espécies forrageiras de clima tropical**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 25 mai. 2008.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de semente** / Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009a. 399p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de Análise Sanitária de Sementes** / Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009b. 200 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 44 de 22 de novembro de 2016. **Normas de produção e os padrões de identidade e qualidade de sementes de espécies forrageiras de clima temperado**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 01 dez. 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº 42 de 17 de setembro de 2019. **Padrões para a produção e a comercialização de sementes olerícolas, condimentares, medicinais e aromáticas**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 19 set. 2019.

BUCKLEY, W. T.; BUCKLEY, K. E. Weight volatile indicators of canola seed deterioration. **Seed Science and Technology**, v. 37, n. 3, p. 676-690, 2009.

BUCKLEY, W.T. An On-Farm Ethanol-Based Color Test for Canola Seed Vigor. **Journal of Crop Improvement**, v. 27, n.4, p.376-390, 2013.

CARDOSO, R. B.; BINOTTI, F. F. S.; CARDOSO, E. D. Potencial fisiológico de sementes de crambe em função de embalagens e armazenamento. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.42, n. 3, p.272-278, 2012.

CARVALHO, I. L.; MENEGHELLO, G. E.; TUNES, L. V. M.; JÁCOME, C. J.; SOARES, N. S. Methodological adjustments to the tetrazolium test in rice seeds. **Journal of Seed Science**, v.39, n.1, p.041-049, 2017.

CARVALHO, I. L.; MENEGHELLO, G.E.; TUNES, L. V. M.; JÁCOME, C. J.; SOARES, V. N. Preparo da semente de arroz para execução do teste de tetrazólio. **Colloquium Agrariae**, v.15, p. 51-63, 2019.

CAVALCANTE, J. A.; TERNUS, R. T.; ALMEIDA, T. L.; REOLON, F.; ARAÚJO, A. S.; GADOTTI, G. I.; MORAES, D. M. Ethanol vigor test to assess physiological quality of annual ryegrass seeds. **Revista Spacios**, v. 38 n. 47, p.10-19, 2017a.

CAVALCANTE, J. A.; TERNUS, R. T.; REOLON, F.; GATTO, M.; BONATO, N.; GADOTTI, G. I.; MORAES, D. M. Vigor de sementes de arroz avaliadas pelo teste do etanol. **Revista Congrega**, v. 1, p.1-9, 2017b.

CERVI, F.; MENDONÇA, E. A. F. Adequação do teste de tetrazólio para sementes de algodoeiro. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n.1, p.177-186, 2009.

CLEMENTE, A. C. S.; CARVALHO, M. L. M.; GUIMARÃES, R. M.; ZEVIANI, W. M. Preparo das sementes de café para avaliação da viabilidade pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v 33, n. 1, p. 038 – 044, 2011.

CUSTÓDIO, C. C. Testes rápidos para avaliação do vigor de sementes: uma revisão. **Colloquium Agrariae**, v.1, n.1, p. 29-41, 2005.

ELIAS, S.G.; COPELAND, L. O.; McDONALD, M. B.; BAALBAKI, R. Z. **Seed testing: principles and practices**. 1 ed. Michigan. 2012, 364p.

FLORES, M. F.; GRZYBOWSKI, C. R. S.; PAZOLINI, K.; POSSENTI, J.C.; PANOBIANCO, M. Criteria for implementation of a tetrazolium test in canola seeds. **Journal of Seed Science**, v.37, n.4, p.222-227, 2015.

FRANÇA-NETO, J. B.; KRZYŻANOWSKI, F. C. Tetrazolium: an important test for physiological seed quality evaluation. **Journal of Seed Science**, v.41, n.3, p.359-366, 2019.

GASPAR-OLIVEIRA, C. M.; MARTINS, C. C.; NAKAGAWA, J. Pré-condicionamento das sementes de mamoneira para o teste de tetrazólio. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 33, n. 2, p. 303-311, 2011.

GOULART, A. C. P. **Fungos em sementes de soja: detecção, importância e controle**. Embrapa Agropecuária Oeste, 2018. 71 p.

ISTA. International Seed Testing Association. In: **ISTA Working Sheets on Tetrazolium Testing**. Bassersdorf: ISTA, v.1, 2003. 171p.

ISTA. International Seed Testing Association. International Rules for Seed Testing. In: Chapter 5: **Germination Test**. Bassesrdorf: ISTA, 2012, P.1-74.

ISTA. International Seed Testing Association. **Seed testing rules**. Bassersdorf, Switzerland. 2013.

LAZAROTTO, M., PIVETA, G., MUNIZ, M. F. B., REININGER, L. R. S. Adequação do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Ceiba speciosa*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4, p. 1243-1250, 2011.

LIMA, C. B.; BELLETTINI, N. M. T.; JANANI, J. K.; SILVA, A. S.; AMADOR, T.S.; VIEIRA, M.A.V.; CHEIRUBIM, A.P. Metodologias do teste de tetrazólio para sementes de melão (*Cucumis melo L.*) **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 744-746, 2007.

LIMA, L. B.; PINTO, T. L.; NOVENBRE, D. L. C. Avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de pepino pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n.1 p. 060-068, 2010.

LIMA, C. B.; BOAVENTURA, A. C.; VILLELA, T. T. Comparação de metodologias do teste de tetrazólio para estimativa do potencial germinativo de sementes de cenoura. **Horticultura Brasileira**, v. 36, n. 2, p. 240-245, 2018.

LUCCA-FILHO, O. A; FARIAS, C. R. J. Patologia de Sementes. In: PESKE, ST.; VILLELA, FA; MENEGHELLO, GE. **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. 4ª ed. Revisada, atualizada e ampliada. Pelotas: Editroa Becker & Peske Ltda. Ed. Universitária UFPel, Pelotas, 2019. p. 259-353.

MAASS, D. W.; CARVALHO, I. L.; SILVA, R. N. O.; MENEGHELLO. G. E.; GATTO, M.; BONATO, N.; PANDOLFI. Eficiência do teste de tetrazólio em sementes de trigo em função da concentração do sal. **Revista da Jornada da Pós-graduação e Pesquisa**, v. 1, n. 1, p. 1-11, 2017.

MACIEL, G. M.; SALA, F. C.; COSTA, C. P.; MELO, O. D. Vigor e produção de sementes de coentro em função do tipo de semente. **Scientia Plena**, v.9, n.12, p. 01-07, 2013.

MAGUIRE, J. D. Speeds of germination-aid and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.2, p.176-7, 1962.

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

MASSOLA-JUNIOR., N. S.; MARTINS, M. C.; GLORIA, R.; JESUS-JÚNIOR, W. C. Doenças da cenoura. In: KIMATI, H; AMORIN, L; BERGAMIN-FILHO, A; CAMARGO, LEA; RESENDE, JAM. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p. 223-229.

MENTEN, J. O.; MORAES, M. H. D. Tratamento de sementes: histórico, tipos, características e benefícios. **Informativo ABRATES**, v. 20, p. 52-53, 2010.

NASCIMENTO W. M; PEREIRA R. S. **Coentro: a hortaliça de mil e uma utilidades**. Horticultura Brasileira 23, n. 3. Nota de capa. 2005.

NASCIMENTO, W. M.; PEREIRA, R. S.; FREITAS, R. A.; BLUMER, L.; MUNIZ, M. F. B. Colheita e armazenamento de sementes de coentro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.12, p.1793-1801, 2006.

NASCIMENTO, W. M.; SILVA, P. P.; VILLELA, R. P.; WANDERLEY JUNIOR, L. J. G. Produção de sementes de coentro. In: NASCIMENTO, W. M. **Produção de sementes hortaliças**. 1ª ed. Ed. Embrapa hortaliças, Brasília, 2014. P. 147-167.

NERY, M.C.; NERY, F.C.; PIRES, R.M.O. Tetrazolium test to evaluate the viability of oil radish seeds. **Bioscience journal**, v. 31, n. 3, p. 663-671, 2015.

NOVEMBRE, A. D. L. C.; CHAMMA, H. M. C. P.; GOMES, R. B. R. Viabilidade das sementes de braquiária pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.2, p.147-151, 2006.

NUNES, J. C. Tratamento de semente - qualidade e fatores que podem afetar a sua performance em laboratório. **Syngenta Proteção de Cultivos Ltda**. 16p. 2005.

PAIVA, C. T. C.; SILVA, J. B.; DAPONT, E. C.; ALVES, C. Z.; CARVALHO, M. A. C. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes comerciais de alface e repolho. **Revista de Ciências Agroambientais**, v.14, n.1, p.53-59, 2016.

PARAÍSO, H. A.; BRANDÃO JUNIOR, D. S.; AVELAR, R. I. S.; COSTA, C. A.; GOMES, L. S. P.; NASCIMENTO, W. M. Adjustments in the tetrazolium test

methodology for assessing the physiological quality of chickpea seeds. **Journal of Seed Science**, v.41, n.1, p. 007-012, 2019.

PEDROSO, D. C.; MENEZES, V. O.; MUNIZ, M. F. B.; PIVETA, G.; TUNES, L. V. M.; MULLER, J.; MENEZES, N. L. Métodos de inoculação de *Alternaria alternata* e *A. dauci* em sementes de salsa e sua influência na qualidade fisiológica. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 3, p. 079-085, 2010.

PEDROSO, D. C.; MUNIZ, M. F. B.; TUNES, L. V. M.; MÜLLER, J.; JUNGES, E.; SANTOS, R. F. Influência de *Alternaria alternata* e *A. dauci* na qualidade de sementes de coentro. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 8, n. 4, p. 563-569, 2013.

PEDROSO, D. C.; LEMES, E. S.; OLIVEIRA, S.; TUNES, L. V. M.; JUNGES, E.; MUNIZ, M. F. B. Tratamento químico e biológico: qualidade fisiológica e sanitária de sementes de cenoura durante o armazenamento. **Pesquisa agropecuária pernambucana**, v. 23, n. 173, p. 01- 09, 2018.

PEREIRA, R. S.; MUNIZ, M. F. B.; NASCIMENTO, W. M. Aspectos relacionados à qualidade de sementes de coentro. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 3, p. 703-706, 2005.

PEREIRA, M. F. S.; TORRES, S. B.; LINHARES, P. C. F. Teste de envelhecimento acelerado para avaliação do potencial fisiológico em sementes de coentro. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 2, p. 595-606, 2015.

PESKE, S. T.; BARROS, A. C. S. A.; SCHUCH, L. O. B. Produção de Sementes. In: PESKE, S. T.; VILLELA, F. A.; MENEGHELLO, G.E. **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. 3ª ed. Ed. Universitária UFPel, Pelotas, 2012. p. 13-104.

PESKE, S. T.; BARROS, A. C. S. A.; SCHUCH, L. O. B. Produção de Sementes. In: PESKE, ST; VILLELA, FA; MENEGHELLO, GE. **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. 4ª ed. Revisada, atualizada e ampliada. Pelotas: Editroa Becker & Peske Ltda. Ed. Universitária UFPel, Pelotas, 2019. p. 104-143.

RADKE, A. K.; REIS, B. B.; GEWEHRI, E. G.; ALMEIDA, A. S.; TUNES, L. M.; VILLELA, F. A. Alternativas metodológicas do teste de envelhecimento acelerado em sementes de coentro. **Ciência Rural**, v.46, n.1, p. 1-5, 2016.

REIS A.; SATELIS J. F.; PEREIRA R. S.; NASCIMENTO W. M. Associação de *Alternaria dauci* e *A. alternata* com sementes de coentro e eficiência do tratamento químico. **Horticultura Brasileira**, v. 24, n. 1, p.107-111, 2006.

REIS A; LOPES, CA. **Doenças do Coentro no Brasil**. Brasília, DF: Embrapa, 2016. 6p. (Embrapa Hortaliças. Circular Técnica, 157). Disponível em:<<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/157359/1/CT-157.pdf>> Acesso em: maio 2020.

REZENDE, R. G.; JESUS, L. L.; NERY, M. C.; ROCHA, A. S.; CRUZ, S. M.; ANDRADE, P. C. R. Teste de tetrazólio em sementes de crambe. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 4, p. 2539-2544, 2015.

RODO, A.B.; PANOBIANCO, M.; MARCOS FILHO, J. Metodologia alternativa do teste de envelhecimento acelerado para sementes de cenoura. **Scientia Agrícola**, v.57, n.2, p.289- 292, 2000.

RODRIGUES, A. P. M. S.; MENDONÇA-JÚNIOR, A. F.; TORRES, S.B.; NOGUEIRA, N. W.; FREITAS, R. M. O. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 3, p. 638-644, 2015.

SANTOS, V. L. M.; BANCI, C. A.; CALIL, A. C.; MENDOZA, R. M.; SILVA, R. F.; SANTOS, C. M. Utilização do teste de tetrazólio na avaliação e no vigor de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.), como um teste complementar ao teste de germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 14, n. 2, p. 155-159, 1992.

SILVA, M. A. D.; COELHO JÚNIOR, L. F.; SANTOS, A. P. Vigor de sementes de coentro (*Coriandrum sativum* L.) provenientes de sistemas orgânico e convencional. **A Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.14, p.192-196, 2012.

SIMMONS, E. G. **Alternaria: an identification manual**. Netherlands: CBS Fungal Biodiversity Centre, 2007. 775p.

SOARES, V. N.; ELIAS, S. G.; GADOTTI, G. I.; GARAY, A. E.; VILLELA, F. A. Can the Tetrazolium Test be Used as an Alternative to the Germination Test in Determining Seed Viability of Grass Species?. **Crop science**, v. 56, p. 707-715, 2016.

SOUZA, C. R.; OHLSON, O. C.; PANOBIANCO, M. Avaliação da viabilidade de sementes de aveia preta pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 3, p.057-062, 2009.

STEINER, F.; OLIVEIRA, S. S. C.; MARTINS, C. C.; CRUZ, J. S. Comparação entre métodos para a avaliação do vigor de lotes de sementes de triticales. **Ciência Rural**, v. 41, n. 2, p. 200-204, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

TILLMANN, M. A. A.; MENEZES, N. L. Análise de Sementes In: PESKE, S. T.; VILLELA, F. A.; MENEGHELLO, G.E. **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. 3ª ed. Ed. Universitária UFPel, Pelotas, 2012. p. 161-268.

TILLMANN, M. A. A.; TUNES, L. M. V.; ALMEIDA, A. S. Análise de Sementes. In: PESKE, ST.; VILLELA, FA; MENEGHELLO, GE. **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. 4ª ed. Revisada, atualizada e ampliada. Pelotas: Editora Becker & Peske Ltda. Ed. Universitária UFPel, Pelotas, 2019. p. 147-259.

TÖFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J.; FERRARI, J.T. *Alternaria* spp. em oleráceas: sintomas, etiologia, manejo e fungicidas. **Biológico**, v 77, n. 1, p. 21-34, 2015.

TORRES, S. B.; PAIVA, E. P.; ALMEIDA, J. P.; BENEDITO, C. P.; CARVALHO, S. M. C. Teste de condutividade elétrica na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de coentro. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 3, p. 622-629, 2015.

TRIGO, M.F.O.O.; TRIGO, L.F.N.; PIEROBOM, C.R. Fungos associados às sementes de coentro (*Coriandrum sativum* L.) no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 19, n.2, p. 213-217, 1997.

VERA, M. J. G.; AUMONDE, T. Z.; MENEGHELLO, G. E.; MARTINS, A. B. N.; AQUINO, Y. L.; PENA, P. Protocolo de análisis de viabilidad de semillas de chía mediante test de tetrazolio. **Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas**, v. 10 n. 7, p. 1481-1489, 2019.

VERGARA, R. O.; SOARES, V. N.; SILVA, R. N. O.; MARTINS, A.B. N.; GADOTTI, G. I.; VILLELA, F. A. Teste de quantificação de etanol para avaliação da qualidade fisiológica sementes de quinoa. **Colloquium Agrariae**, v. 14, n.2, p. 143-148, 2018.

VIEIRA, R.D.; KRZYZANOWSKI, F.C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B. (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina, PR: ABRATES, 1999. Cap. 04, p.1-26.