

Germinação e envelhecimento acelerado na análise da qualidade fisiológica de sementes de alfavaca-cravo

Germination and accelerated aging in the analysis of the physiological quality of seeds of wild basil

Cristina Batista de Lima^{1*}; Conceição Aparecida Cossa¹; Raquel Rejane Bonato Negrelle²; João Tavares Bueno¹; Caroline Caramano de Lourenço³; Natália de Almeida Batista³; Jamile Kassem Janani³

Resumo

O estudo teve como propósito contribuir para o estabelecimento de parâmetros para análise da qualidade fisiológica de sementes de alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum* L.), uma vez que a referida espécie não se encontra entre as descritas nas Regras para Análise de Sementes. Foram utilizadas sementes de alfavaca-cravo, colhidas no Campus da UENP-CLM, Bandeirantes-PR, submetidas a análises de teor de água, germinação, envelhecimento acelerado com água e solução salina, tetrazólio e emergência de plântulas. A temperatura de 30 °C para o teste de germinação e o substrato areia para o teste de emergência de plântulas são condições e procedimentos apropriados para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *O. gratissimum*. O teste de envelhecimento, independente do tipo de solução utilizada, apresenta correlação com o teste de emergência de plântulas em solo. O baixo potencial germinativo e viabilidade das sementes de *O. gratissimum* ocorrem em função da deterioração e ausência dos tecidos internos.

Palavras-chave: *Ocimum gratissimum* L., germinação, vigor, fungos, envelhecimento acelerado

Abstract

The study aimed to contribute to establish parameters for analyzing the physiological quality of seed-clove basil (*Ocimum gratissimum* L.), since the species is not among those described in the Rules for Testing Seeds. Seeds of basil, clove, gathered on the campus of UENP-CLM, Bandeirantes, PR, analyzed for water content, germination, accelerated aging water and saline tetrazolium and seedling emergence. The temperature of 30 °C for the germination test and the sand substrate for the emergence test are conditions and procedures for evaluating the physiological quality of seeds of *O. gratissimum*. The aging test, regardless of the type of solution used, the test is correlated with seedling emergence in soil. The low germination and seed viability of *O. gratissimum* occurring due to deterioration and lack of internal tissue.

Key words: *Ocimum gratissimum* L., germination, vigor, fungi, accelerated aging

¹ Profs. da Universidade Estadual do Norte do Paraná, Campus Luiz Meneghel, UENP/CLM, C.P. 261, 86360-000, Bandeirantes, PR. E-mail: crislima@uenp.edu.br; cossa@uenp.edu.br; jtbueno@uenp.edu.br

² Prof^a da Universidade Federal do Paraná, Departamento de Botânica, Laboratório Oikos, Centro Politécnico, C.P. 19031, 81531-990. Curitiba, PR. E-mail: negrelle@ufpr.br

³ Graduadas do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual do Norte do Paraná, UENP/CLM. E-mail: ca_jau@hotmail.com; naty.dealmeida@gmail.com; jami_janani@hotmail.com

*Autor para correspondência

Introdução

A importação de sementes para produção comercial de ervas medicinais no Brasil encarece o custo de produção ou incentiva a utilização de sementes com qualidade inferior, evidenciando a necessidade de estudos que forneçam informações referentes à identificação da qualidade fisiológica dessas espécies, bem como, subsídios para o estabelecimento de programas contínuos de pesquisa nessa área (LIMA et al., 2007).

O protocolo a ser utilizado no teste de germinação varia conforme a espécie, sendo que o mesmo não está estabelecido para sementes de *Ocimum gratissimum* nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). A indicação da temperatura para condução deste teste possui fundamental importância, pois trata-se de um dos fatores ambientais decisivos no processo de germinação, especialmente por interferir na absorção de água e modificar a velocidade das reações químicas que irão acionar o transporte de substâncias para a plântula (BEWLEY; BLACK, 1994). A amplitude de temperatura ótima, para a maioria das espécies adaptadas ao ambiente tropical, encontra-se entre 15°C e 30°C (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000), fazendo com que seja necessária a condução de pesquisas, para se estabelecer a temperatura ideal do teste, de acordo com a espécie que se deseja propagar.

Os testes de vigor têm finalidades diferentes do teste de germinação, sendo estes desenvolvidos com o objetivo de identificar possíveis diferenças no grau de deterioração de sementes que apresentem potencial germinativo semelhante, podendo estimar sua capacidade de armazenamento e emergência de plântulas em campo (FRANZIN et al., 2004). Alguns desses testes, como o de envelhecimento acelerado, por exemplo, são empregados rotineiramente na análise de espécies cultivadas e tem sido alvo em trabalhos com sementes de plantas

medicinais. Porém, os procedimentos não podem ser generalizados, pois os resultados de pesquisas disponíveis são insuficientes para a definição de metodologia apropriada, levando em consideração a absorção de água e proliferação de fungos durante o teste.

A espécie *Ocimum gratissimum* L., popularmente conhecida como alfavaca-cravo, possui cheiro típico que lembra o cravo-da-índia. Seu óleo essencial rico em eugenol é empregado como anestésico odontológico, na síntese de acetato em perfumaria e aromatizante nas indústrias de bebidas (CRAVEIRO et al., 1981). A planta é indicada no tratamento de gripes, tosses, irritações da garganta e aromatizante bucal (MATTOS et al., 2000). Apresenta sementes muito pequenas com baixo percentual germinativo, dificultando o manuseio e a avaliação de sua qualidade fisiológica (LIMA; ATHANÁZIO; BELLETTINI, 2006; ROCHA et al., 2000; FIALLO; MEDINA; FERRADÁ, 1996). Desse modo, a definição de metodologia para a análise destas sementes é fundamental para subsidiar a produção de mudas de alfavaca-cravo com qualidade.

O sucesso da produção de mudas depende diretamente da qualidade da semente, que é determinada pelo somatório de atributos físicos, genéticos, fisiológicos e sanitários. Neste sentido, realizou-se o presente estudo com o objetivo de definir parâmetros para análise fisiológica de sementes de alfavaca-cravo, com ênfase na temperatura do teste de germinação, comparação entre os testes de envelhecimento acelerado com água e solução salina e a correspondência destes testes com a emergência de plântulas.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado no Laboratório de Análise de Sementes da Universidade Estadual do Norte do Paraná, Campus Luiz Meneghel

(UENP-CLM), Bandeirantes-PR. As sementes de alfavaca-cravo foram colhidas de plantas matrizes, localizadas em diversas áreas do Campus com distintas condições ambientais. Cada área constituiu um lote obtendo-se assim os dez lotes avaliados. Após cada coleta, as sementes foram limpas, beneficiadas, acondicionadas em sacos de papel Kraft, envoltas em plásticos transparentes e mantidas sob temperatura de 10°C até o início dos testes. As sementes foram submetidas a análises de **Teor de água:** método da estufa a 105±3 °C, durante 24 horas, com duas subamostras de 3 g para cada lote (BRASIL, 2009). Esse procedimento foi realizado antes e após os testes de envelhecimento acelerado. Os resultados foram expressos em porcentagem na base úmida.

Germinação: conduzido com subamostras de 100 sementes para cada lote, distribuídas equidistantes sobre papel de filtro dispostos em caixas plásticas transparentes, mantidas sob temperaturas controladas de 25 °C e 30 °C, durante 46 dias. As sementes de alfavaca-cravo são diminutas medindo em torno de 1 milímetro de comprimento. Desse modo, as sementes foram examinadas com auxílio de uma lupa, sendo consideradas germinadas, aquelas que apresentaram protusão e expansão radicular, como demonstrado na (Figura 1). **Envelhecimento acelerado:** conforme metodologia descrita por Marcos Filho (1999), utilizando-se para cada lote 400 sementes distribuídas em camada uniforme sobre tela metálica acoplada a caixas plásticas transparentes, contendo 40 cm³ de água destilada ao fundo. Os recipientes foram mantidos sob temperatura de 42 °C durante 48 horas, conforme Lima, Athanázio e Bellettini (2006). As sementes nas quais houve desenvolvimento de fungos, durante o teste de envelhecimento com água, foram examinadas sob microscópio estereoscópico e os fungos identificados com

base nas características morfológicas das suas estruturas. Os resultados foram expressos em percentual. Para o **envelhecimento acelerado com solução salina:** aplicou-se o proposto por Jianhua e McDonald (1996), substituindo a água destilada por 40 cm³ de solução saturada de sal (40g de NaCl/100 cm³ de água). Após cada procedimento de envelhecimento, foi verificado o teor de água e a germinação das sementes, durante 46 dias. **Tetrazólio:** esse teste foi realizado nas sementes que não germinaram no final dos testes de germinação e envelhecimento, a fim de verificar as prováveis causas da não germinação. As sementes passaram por um corte longitudinal lateral ao embrião, sendo imediatamente colocadas em solução de tetrazólio 0,25% durante duas horas sob 40 °C, conforme padronização prévia. Na sequência, a solução de tetrazólio foi drenada e as sementes colocadas em água destilada, por alguns minutos até o momento da avaliação, quando foram seccionadas por um corte longitudinal através do embrião para análise de sua viabilidade. **Emergência de plântulas:** utilizou-se os substratos solo e areia, previamente desinfestados conforme instruções das RAS (BRASIL, 2009). O solo utilizado foi o comumente empregado no viveiro de mudas da UENP-CLM, com as seguintes características químicas: pH (CaCl₂) = 5,1; M.O.(g dm⁻³) = 37,6; P (mg dm⁻³)= 139,1; H + Al, K, Ca, Mg, SB e CTC (mmolcdm⁻³)=3,17; 0,42; 11,7; 2,3; 14,4; 17,6 respectivamente; e V(%) = 82. As sementes foram distribuídas equidistantes a 0,5 cm de profundidade em caixas plásticas preenchidas com uma camada de 1,5 cm para cada substrato. Os substratos foram umedecidos com água destilada e as caixas mantidas sob temperatura ambiente. A verificação do número de plântulas normais emergidas e a necessidade de irrigação foram observadas diariamente durante oitenta dias.

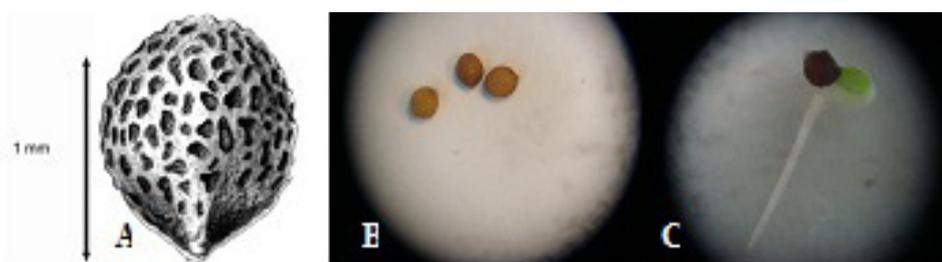


Figura 1. Descrição das sementes de alfavaca-cravo, com ilustração do tamanho real em milímetros (A), observadas com auxílio de uma lupa, intumescidas no teste de germinação (B) e consideradas germinadas (C).

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado, com quatro repetições de 100 sementes por lote. Os dados obtidos em cada teste foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5%. O grau de associação entre os resultados foi analisado por meio da correlação simples de Pearson (r). Os dados referentes ao grau de umidade não foram analisados, servindo para caracterização inicial dos lotes e monitoramento, durante os procedimentos dos testes de envelhecimento acelerado.

Resultados e Discussão

O teste de germinação conduzido a 30 °C apresentou médias percentuais significativamente maiores, comprovando que as sementes desta

espécie são estimuladas a germinar sob temperaturas elevadas. Mesmo com a significativa atuação da temperatura, a maior média de germinação observada foi de 67% (Tabela 1). Rocha et al. (2000) sugeriram que as sementes de *O. gratissimum* sejam colocadas para germinar a 25 °C, com avaliações efetuadas no 6° e 14° dia após a instalação. Entretanto, Martins et al. (2008) estudando diferentes combinações de temperatura para germinação desta espécie, concluíram que sob temperaturas próximas a 30 °C, as sementes apresentaram melhor desempenho germinativo (55%) no período de vinte e oito dias. Esse resultado aliado ao observado na germinação pós-envelhecimento com médias de 72% (Tabela 1), incentiva novas investigações com temperaturas superiores a 30 °C, como sendo capazes de favorecer a germinação de sementes dessa espécie.

Tabela 1. Percentuais médios obtidos nos testes de germinação, envelhecimento acelerado com água (EAA), com solução salina (EAS) e emergência de plântulas para sementes de *Ocimum gratissimum*.

Lote	Germinação		Envelhecimento		Emergência de plântulas	
	25 °C	30 °C	EAA	EAS	Areia	Terra
1	26 b ¹	40 a	35 a	41 a	32 a	10 b
2	60 a	66 a	72 a	71 a	42 a	16 b
3	21 b	40 a	42 a	39 a	22 a	9 b
4	6 b	67 a	56 a	61 a	24 a	12 b
5	14 b	59 a	39 a	40 a	23 a	4 b
6	6 b	52 a	31 a	35 a	29 a	6 b
7	35 a	41 a	47 a	44 a	35 a	10 b
8	36 b	67 a	44 a	52 a	30 a	16 b
9	24 b	52 a	37 a	41 a	19 a	4 b
10	35 b	53 a	22 b	38 a	20 a	3 b
CV(%)	18,9		17,6		36,0	

¹Médias seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%; CV= coeficiente de variação.

Em ambos os procedimentos para o teste de envelhecimento acelerado as sementes apresentaram comportamento semelhante e, em alguns lotes, médias superiores em relação às verificadas nos testes de germinação. Lima, Athanázio e Bellettini (2006) obtiveram percentual semelhante estudando número de horas e temperaturas de exposição para envelhecimento acelerado em alfavaca-cravo. Segundo Hilhorst et al. (2001) o teste de germinação, normalmente utilizado na avaliação da qualidade de sementes, permite que o lote expresse sua máxima porcentagem de germinação. Entretanto, em situações de campo, as circunstâncias nem sempre favoráveis, fazem com que ocorram discrepâncias em relação aos resultados obtidos em laboratório, justificando a necessidade dos testes de vigor. Ainda que os testes de envelhecimento provoquem deterioração por estresse, com resultados de germinação inferiores, no caso de plantas alógamas não domesticadas como a alfavaca-cravo, as condições da câmara de envelhecimento podem proporcionar observações diferentes das habituais, uma vez que, os fenômenos desencadeados por esses mecanismos não estão completamente elucidados.

O percentual de plântulas emersas no substrato areia superou significativamente o observado no

solo. Todavia, Ehiagbonare (2007) verificou que plântulas de *O. gratissimum* não se desenvolveram satisfatoriamente em substrato rico em areia. De acordo com Moreira et al. (2007) o substrato a base de areia, apesar de favorecer melhores condições de desempenho na germinação, velocidade e tempo médio de emergência, não forma torrão consistente dificultando o manuseio adequado das mudas para o campo, além de não fornecer quantidade suficiente de nutrientes até o momento do transplantio. Estas evidências apontam à necessidade de investigação abrangente para se promover não apenas uma melhor germinação, mas também plântulas com capacidade de produzirem mudas de alfavaca-cravo com melhor qualidade.

A diferença de umidade inicial entre os lotes foi de 1,9% (Tabela 2), não ultrapassando, a faixa de variação de 2% indicada por Marcos Filho (1999), como sendo viável, sem influência nos resultados. Variações acentuadas provocam mudanças na intensidade de deterioração, pois quanto maior a umidade das sementes, maior a sensibilidade à alta temperatura e umidade relativa do ar que ocorrem durante o teste, favorecendo na germinação plântulas anormais e mortas.

Tabela 2. Teor de água (%) inicial e após testes de envelhecimento acelerado com água (EAA) e com solução salina (EAS) em sementes de *Ocimum gratissimum*.

Teor de água	Lotes									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Inicial	12,3	11,2	11,5	12,1	11,6	10,5	12,1	11,3	10,4	11,4
EAA	30,1	29,7	31,1	30,6	30,5	30,1	28,9	29,5	33,0	29,7
Variação	17,8	18,5	19,6	18,5	18,9	19,6	16,8	18,2	22,6	18,3
EAS	13,8	13,1	13,3	13,5	13,1	12,4	14,5	13,7	12,9	12,9
Variação	1,5	1,9	1,8	1,4	1,5	1,9	2,4	2,4	2,5	1,5

As sementes absorveram maior umidade no envelhecimento acelerado com água, atingindo percentuais bem acima de 4%, que segundo Marcos Filho (1999), é o limite nesta ocasião, já que o grau de umidade final da semente é um dos principais indicadores de uniformidade durante sua execução.

A alta umidade contribuiu para o desenvolvimento de fungos dos gêneros *Penicillium* sp. (63%), *Cladosporium* sp. (30%), *Nigrospora* sp. (4%) e *Curvularia* sp. (3%), verificados em todos os lotes no final do período de exposição. Conforme Carneiro (1987) *Penicillium* sp., apesar de descrito como

saprófita, pode contaminar sementes, sendo apontado como o principal responsável pela perda da viabilidade, pois se localiza preferencialmente no embrião. (BALARDIN; LOCH, 1987) adicionaram os gêneros *Cladosporium* sp., *Nigrospora* sp. e *Curvularia* sp., entre os capazes de danificar a qualidade fisiológica de sementes.

A presença destes microrganismos no presente estudo não aparenta ter prejudicado o desempenho das sementes pós-envelhecimento, uma vez que, não se verificou diferenças significativas entre o envelhecimento acelerado tradicional (água) e com solução salina (Tabela 1). Lima, Athanázio e Bellettini (2006) estudando o efeito de tratamento fungicida sobre a germinação de sementes de *O. gratissimum* concluíram que o uso do fungicida contribuiu para o aumento da média percentual de germinação, mas não provocou modificações acentuadas nos contrastes entre lotes.

O uso de solução salina reduziu a absorção de água pelas sementes, fazendo com que os percentuais de umidade fossem inferiores aos do envelhecimento com água e, permanecessem dentro dos limites admissíveis. Além disso, impediu a proliferação de fungos constatando o exposto por Lima, Athanázio e Bellettini (2006), em sementes de alfavaca-cravo e evidenciado repetidas vezes, em inúmeros trabalhos conduzidos com sementes pequenas, consagrando a técnica apresentada por Jianhua e McDonald (1996).

No tocante a influência de fungos, Marcos Filho (1994) ressalta que temperaturas e umidade elevadas podem inibir a manifestação de alguns microorganismos, de tal forma que os dados obtidos no envelhecimento, podem ser superiores aos do teste padrão de germinação. Entretanto, Silva e Silva (2000) indicaram que os efeitos da espécie fúngica presente no pós-envelhecimento prejudicou a interpretação dos dados obtidos, por associar a expressão de causas fisiológicas e sanitárias. Segundo esses autores, a presença de fungos pode ser considerada como capaz de interferir de modo negativo, no desempenho das sementes envelhecidas artificialmente.

O teste de tetrazólio realizado nas sementes que não germinaram após os testes de germinação e envelhecimento (Tabela 3), indicou que a maior parte apresentava tecidos internos deteriorados. Conforme Panobianco e Marcos Filho (2001), as sementes pequenas, em razão de apresentarem menores quantidades de reservas, estão propensas à acentuada deterioração após a maturidade fisiológica, tanto que, habitualmente são acondicionadas em embalagens herméticas ou em ambientes especiais sob temperatura e/ou umidade relativa controladas.

Uma provável explicação para este resultado pode ser associada à presença de fungos que são capazes de provocar a deterioração do endosperma, reduzindo o poder germinativo das sementes (BOTELHO, 2006). Para Silva e Silva (2000), a simples presença destes microrganismos pode ser considerada como capaz de interferir de modo negativo, no desempenho das sementes.

As sementes vazias constituem a segunda causa da não germinação e baixa viabilidade das sementes de alfavaca-cravo. Esta característica pode ser decorrente de fatores bióticos ou abióticos, desde os que contribuem para adequada nutrição da planta, produção e polinização de suas flores, passando pelos que interferem na fertilização dos óvulos (AGUIAR; PIÑA-RODRIGUES; FIGLIOLIA, 1993), até características genéticas da progênie (FEITOSA et al., 2009), uma vez que a espécie *O. gratissimum* é alógama e pode apresentar auto-incompatibilidade entre o pólen de flores da mesma planta (BALYAN; PUSHANGADAN, 1988).

Os testes de envelhecimento acelerado se destacaram apresentando correlação altamente significativa entre seus resultados (Tabela 4). Estes testes também se correlacionaram significativamente com o teste de emergência em solo. Desse modo, o teste de envelhecimento acelerado pode ser utilizado em substituição ao de emergência de plântulas em solo, para sementes de *Ocimum gratissimum*, com a vantagem de ser realizado em menor tempo, o que indiretamente proporciona redução nos custos da análise.

Tabela 3. Percentuais médios de viabilidade das sementes de *Ocimum gratissimum* não germinadas, após os testes de germinação e envelhecimento acelerado, obtidos através do teste de tetrazólio.

Lote	Deterioradas	Vazias	Mortas	Dormentes
1	29	19	6	2
2	23	11	7	2
3	29	17	5	3
4	27	11	8	3
5	31	16	6	2
6	39	15	9	3
7	30	14	8	3
8	27	12	9	1
9	34	11	9	4
10	35	14	9	3

Tabela 4. Coeficientes de correlação simples entre os dados obtidos através de diferentes testes na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Ocimum gratissimum*.

Testes	EPS	EPA	EAS	EAA	G 30 °C
G 25 °C	0,48 ^{ns}	0,61 ^{ns}	0,50 ^{ns}	0,44 ^{ns}	0,13 ^{ns}
G 30 °C	0,39 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,63 ^{ns}	0,47 ^{ns}	-
EAA	0,77**	0,64 ^{ns}	0,91**	-	
EAS	0,79**	0,57 ^{ns}	-		
EPA	0,72*	-			
EPS	-				

A correlação não significativa entre os testes de germinação e os demais, enfatiza que os resultados obtidos no referido teste na maioria das vezes, não correspondem ao verificado no campo. A correlação positiva entre os testes de envelhecimento e a não correlação entre o teste de germinação com os demais também foi verificada por Lima e Athanázio (2009). A análise de correlação deve ser interpretada com cautela, pois conforme Lima (1993), a correlação significativa indica uma tendência de variação semelhante entre dois testes, não significando, porém, que ocorra uma correspondente precisão de estimativa da qualidade fisiológica do lote.

Conclusões

A temperatura de 30 °C para o teste de germinação

e o substrato areia para o teste de emergência de plântulas são condições e procedimentos apropriados, para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *O. gratissimum*.

O teste de envelhecimento, independente do tipo de solução utilizada, apresenta correlação com o teste de emergência de plântulas em solo.

O baixo potencial germinativo e viabilidade das sementes de *O. gratissimum* ocorrem em função da deterioração e ausência dos tecidos internos.

Referências

AGUIAR, I. B.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. *Sementes florestais tropicais*. Brasília: ABRATES, 1993. 350 p.

- BALARDIN, R. S.; LOCH, L. C. Efeito do thiran sobre a germinação de sementes de centeio e aveia. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v. 9, n. 1, p. 113-117, 1987.
- BALYAN S. S., PUSHPANGADAN, P. A study on the taxonomical status and geographic distribution of the genus *Ocimum*. *PAFAI Journal*, Mumbai, v. 10, n. 2, p. 13-19, 1988.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. *Seeds: physiology of development and germination*. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.
- BOTELHO, L. S. *Fungos associados às sementes de ipê-amarelo (Tabebuia serratifolia), ipê-roxo (Tabebuia impetiginosa), aroeira-pimenteira (Schinus terebinthifolius) e aroeira-salsa (Schinus molle): incidência, efeitos na germinação, transmissão para plântulas e controle*. 2006. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz. Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regras para análise de sementes*. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.
- CARNEIRO, J. S. Testes de sanidade de sementes de essências florestais. In: SOAVE, J.; WETZEL, M. V. S. (Ed.). *Patologia de sementes*. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 386-393.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.
- CRAVEIRO, A. A.; FERNANDES, A. G.; ANDRADE, C. H. S.; MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W.; MACHADO, M. I. L. *Óleos essenciais de plantas do nordeste*. Fortaleza: Ed. UFC, 1981. 63 p.
- EHIAGBONARE, J. E. Macropropagation of *Ocimum gratissimum* L: a multi purpose medicinal plant in Nigeria. *African Journal of Biotechnology*, Victoria Island, v. 6, n. 1, p. 13-14, 2007.
- FEITOSA, S. S.; DAVIDE, A. C.; TONETTI, O. A. O.; FABRICANTE, J. R.; LUI, J. J. Estudos de viabilidade de sementes de candeia *Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish pelos testes de germinação e raios-x. *Floresta*, Curitiba, v. 39, n. 2, p. 393-399, 2009.
- FIALLO, V. R. F.; MEDINA, N. N. R.; FERRADÁ, C. R. Acerca de la propagación de *Ocimum gratissimum* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, La Habana, v. 1, n. 1, p. 3-7, 1996.
- FRANZIN, S. M.; MENEZES, N. L.; GARCIA, D. C.; WRASSE, C. F. Métodos para avaliação do potencial fisiológico de sementes de alface. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v. 26, n. 2, p. 63-69, 2004.
- HILHORST, H. W. M.; BEWLEY, J. D.; CASTRO, R. D.; SILVA, E. A. A. *Curso avançado em fisiologia e tecnologia de sementes*. Lavras: UFLA, 2001. 74 p.
- JIANHUA, Z.; McDONALD, M. B. The saturated salt accelerated aging test for small-seeded crops. *Seed Science and Technology*, Zurich, v. 25, n. 1, p. 123-131, 1996.
- LIMA, C. B.; ATHANÁZIO, J. C. Testes de vigor para sementes de cenoura. *Scientia Agraria*, Curitiba, v. 10, n. 6, p. 455-461, 2009.
- LIMA, C. B.; ATHANÁZIO, J. C.; BELLETTINI, N. T. Germinação e vigor de sementes de alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum* L.) submetidas ao envelhecimento acelerado. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 27, n. 2, p. 159-170. 2006.
- LIMA, D. *Avaliação da viabilidade e vigor de sementes de cebola (Allium cepa L.)*. 1993. Dissertação. (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- LIMA, M. L. S.; SOUZA, B. S.; OLIVEIRA, A. M.; TORRES, S. B. Efeito da temperatura e da luz na germinação de sementes de alfavaca (*Ocimum basilicum* L.). *Revista Caatinga*, Mossoró, v. 20, n. 4, p. 31-33, 2007.
- MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: ABRATES, 1999. p. 1-24.
- _____. Teste de envelhecimento acelerado. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. (Ed.). *Teste de vigor em sementes*. Jaboticabal: FUNEP, 1994.
- MARTINS, J. R.; ALVARENGA, A. A.; CASTRO, E. M.; BATISTA, L. A.; SILVA, A. P. O. Influência da luz, temperatura e ácido giberélico na germinação de sementes de *Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae) e avaliação da qualidade fisiológica pelo teste de raios-X. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Botucatu, v. 10, n. 2, p. 44-49, 2008.
- MATTOS, S. H.; INNECCO, R.; CRUZ, G. F.; EHLERT, P. A. D. Determinação da altura de corte em alfavaca-cravo. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 18, p. 998-999, jul. 2000. Suplemento.
- MOREIRA, F. J. C.; SILVA, M. A. P.; FILHO, S. M.; INNECCO, R. Emergência e crescimento inicial de plântulas de bucha (*Luffa cylindrica* Roemer). *Revista Ciência Agronômica*, Fortaleza, v. 38, n. 2, p. 169-175, 2007.
- PANOBIANCO, M.; MARCOS FILHO, J.

Envelhecimento acelerado e deterioração controlada em sementes de tomate. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 58, n. 3, p. 525-531, 2001.

ROCHA, S. F. R.; CHAVES, F. C. M.; SCARDA, F. M.; MING, L. C. O fitocromo e a influência da luz na germinação e vigor de sementes de alfavaca-cravo sob condições de alta irradiância. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 18, p. 955-956, jul. 2000. Suplemento.

SILVA, M. A. D.; SILVA, W. R. Comportamento de fungos e de sementes de feijoeiro durante o teste de envelhecimento artificial. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 35, n. 3, p. 599-608, 2000.

