INTERFERÊNCIA DA ASSEPSIA EM SEMENTES DE PIMENTÃO SUBMETIDAS AO TESTE DE ENVELHECIMENTO ACELERADO[1]

ANA LÚCIA PEREIRA KIKUTI[2], JOSÉ OTÁVIO MACHADO MENTEN[3], MARIA HELOÍSA DUARTE MORAES[4], SILVIA REGINA SILVA DE OLIVEIRA[5]

RESUMO – O objetivo desse trabalho foi avaliar a incidência de fungos e a interferência da assepsia em sementes de pimentão submetidas à incubação para o teste de envelhecimento acelerado (tradicional e com solução salina). Foram utilizadas amostras de cinco lotes de sementes de pimentão, cv. Magali R, submetidas ou não à assepsia com NaOCl 1% por três minutos, incubadas ou não a 41ºC por 72 horas em solução saturada de NaCl ou água. As avaliações foram realizadas por meio dos testes de germinação e de sanidade (papel de filtro com congelamento). As porcentagens dos fungos *Aspergillus* spp., *Rhizopus* sp. e *Cladosporium* sp., após a incubação para o teste de envelhecimento tradicional, foram muito superiores às da avaliação realizada antes da incubação, o que não ocorreu quando foi utilizada solução salina. A assepsia, quando realizada antes da incubação das sementes para o teste de envelhecimento acelerado, é eficiente para diminuir a incidência de *Aspergillus* spp. O uso de solução saturada de NaCl, em substituição à água, no teste de envelhecimento acelerado inibe o crescimento de *Aspergillus* spp., *Rhizopus* spp. e *Cladosporium* sp.

Termos para indexação: *Capsicum annuum*, vigor, sanidade.

ASEPSIS INTERFERENCE IN SWEET PEPPER SEEDS SUBMITTED TO AN ACCELERATED AGING TEST

ABSTRACT – The objective of this study was to assess the incidence of fungi and asepsis interference in sweet pepper seeds submitted to incubation for the accelerated aging test (traditional with salt solution). Samples from five different batches of Magali R cultivar sweet pepper were used, submitted or not to asepsis with 1% NaOCl for three minutes, incubated or not to 41ºC for 72 hours in saturated NaCl solution or water. The assessment was performed by means of germination and health tests (freezing filter paper). The percentage of *Aspergillus* spp., *Rhizopus* sp. and *Cladosporium* sp. fungi, after incubation for the traditional aging test, was higher than the assessment made before the incubation, that did not occur when salt solution was used. The asepsis, when accomplished before the seed incubation, was efficient in minimizing the incidence of *Aspergillus* spp. The utilization of NaCl solution in substitution to water in the accelerated aging test inhibited the growth of *Aspergillus* spp., *Rhizopus* sp. and *Cladosporium* sp.

Index terms: *Capsicum annuum*, vigor, health.

INTRODUÇÃO

O teste de envelhecimento acelerado é um dos que vem sendo mais utilizado por laboratórios públicos e privados para avaliação da qualidade de sementes, sendo empregado principalmente para soja e, juntamente com o teste de frio, para milho (Vieira et al., 2001). Esse teste foi desenvolvido com a finalidade de estimar a longevidade de sementes

[1] Submetido em 14/06/2004. Aceito para publicação 02/06/2005.

[2] Engº Agrº . M.Sc., Doutoranda do Curso de Pós-Graduação em Agronomia/ Fitotecnia ESALQ/USP, CP 09, 13 418-900, Piracicaba-SP. alkikuti@esalq.usp.br

[3] Engº. Agrº., D.Sc., Professor, Dep. Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola ESALQ/USP.

[4] Engº. Agrº., D.Sc., Dep. de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola ESALQ/USP.

[5] Engº. Agrº., M.Sc., ESALQ/USP.

armazenadas, considerando que lotes de sementes de alto vigor mantêm sua viabilidade quando submetidos, durante curtos períodos de tempo, a condições severas de temperatura e umidade relativa do ar (Delouche e Baskin, 1973). Essas condições ocasionam a deterioração das sementes e favorecem o aparecimento, na germinação subseqüente, de anormalidades ou morte (Gupta et al., 1993).

Para sementes de hortaliças, o uso do teste de envelhecimento acelerado ainda é limitado devido, principalmente, à absorção rápida de água por essas sementes. Essa rápida absorção de água leva a uma grande variação no grau de umidade após o envelhecimento (Powell, 1995). Procurando contribuir para a resolução desse problema, Jianhua e McDonald (1997) adaptaram a metodologia do teste de envelhecimento acelerado, efetuando a substituição da água por soluções saturadas de sais, como NaCl, KCl ou NaBr. Nessa situação, há redução da umidade relativa do ambiente durante a realização do teste, beneficiando a uniformidade dos resultados e diminuindo a incidência de microrganismos.

O desempenho das sementes envelhecidas artificialmente pode ser influenciado, de modo negativo, pela presença de fungos, principalmente pelos considerados saprófitas: *Rhizopus* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Nigrospora* sp., *Chaetomium* spp. e *Cladosporium* sp. Silva e Silva (2000) afirmaram que *Aspergillus* spp. é o principal causador desse baixo desempenho. Da mesma forma que a alta incidência de *Aspergillus* spp. prejudica a avaliação do teste, isso também ocorre com a alta incidência de *Rhizopus* spp. (Rosseto et al., 2001). Segundo Silva e Silva (2000) e Rosseto et al. (2001), o teste de envelhecimento acelerado, associando causas fisiológicas e sanitárias em seus resultados, apresenta limitações para as estimativas de vigor.

Faz-se necessário, então, o controle de microrganismos durante esse teste, quer seja por adaptação de metodologia, ou aplicação de produtos que possam assegurar seu controle. Resultados favoráveis foram obtidos com a aplicação de hipoclorito de sódio (1% por cinco minutos) em sementes de algodão, para controle de *Rhizopus* spp. (Lima et al., 1982). Por outro lado, Zorato et al. (2001) verificaram que a assepsia de sementes de soja, visando a eliminação da contaminação superficial por microrganismos, com aplicação de hipoclorito de sódio, não foi eficiente para eliminação dos mesmos, sendo que o hipoclorito de sódio, a partir de 3% por cinco minutos de imersão, propiciou decréscimo dos fungos de armazenamento.

Tendo em vista o exposto, os objetivos do presente trabalho foram verificar a incidência de fungos e a interferência da assepsia em sementes de pimentão submetidas à incubação para o teste de envelhecimento acelerado (tradicional e com solução salina).

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido nos Laboratórios de Patologia e Tecnologia de Sementes dos Departamentos de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola e de Produção Vegetal, respectivamente, da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ/USP).

Foram utilizadas amostras representativas de cinco lotes de sementes de pimentão (*Capsicum annuum* L.). Parte das sementes de cada amostra foi submetida a um pré-tratamento com água sanitária Candura® diluída (1% de NaOCl por 3 minutos), para eliminação de contaminantes. Em seguida, as sementes, submetidas ou não à assepsia, foram incubadas para o teste de envelhecimento acelerado tradicional e com utilização de solução salina. As avaliações foram realizadas antes e após a incubação para o teste de envelhecimento acelerado, por meio do teste de germinação e de análise sanitária. Antes e após a incubação, foi determinado o grau de umidade das sementes, visando a avaliação da uniformidade das condições do teste.

Para o teste de germinação foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes para cada amostra, colocadas para germinar sobre duas folhas de papel mata-borrão, umedecidas com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato, no interior de caixas plásticas (11,0x11,0x3,5cm), a 20-30°C. As avaliações foram realizadas aos sete e quatorze dias após a semeadura, segundo os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992).

O teste de envelhecimento acelerado (procedimento tradicional) foi conduzido conforme Marcos Filho (1999), sendo adicionados 40mL de água destilada no interior de cada compartimento; as caixas com as amostras de sementes pré-pesadas (6g) foram mantidas em incubadora durante 72h a 41°C.

O envelhecimento acelerado, utilizando solução saturada de sal, foi conduzido como descrito para o teste tradicional, substituindo-se a água destilada adicionada nas caixas plásticas por 40mL de solução saturada de NaCl (40g de NaCl diluídos em 100mL de água destilada), proporcionando ambiente com aproximadamente 76% de UR.

A avaliação da germinação, após os testes de envelhecimento acelerado tradicional e com utilização de solução salina, foi realizada 10 dias após a semeadura (recomendado 7 dias após a semeadura), devido ao desenvolvimento lento das plântulas.

O teor de água das sementes foi determinado pelo método da estufa a 105 ± 3°C, durante 24 horas (Brasil, 1992), utilizando-se duas subamostras de um grama para cada tratamento e os resultados expressos em porcentagem.

Para a análise sanitária foi utilizado o método do papel de filtro com congelamento, em oito repetições de 25 sementes, totalizando 200 sementes por tratamento, colocadas sobre três folhas de papel de filtro umedecidas com água destilada. A seguir, as placas foram incubadas a 20 ± 2°C, em regime intermitente de 12 horas de luz fluorescente branca e 12 horas de escuro por 24 horas, seguindo-se um período de 24 horas a -20°C e posterior retorno às condições iniciais de incubação por período de cinco dias. A avaliação foi realizada com utilização de microscópio estereoscópico, com ampliação de 50 a 60x, examinando-se as sementes individualmente. Os resultados foram expressos em porcentagem de sementes portadoras de fungos.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x2x2, envolvendo cinco amostras de sementes de pimentão, dois tratamentos (sementes submetidas ou não à assepsia) e duas avaliações (antes e após incubação para o teste de envelhecimento) para os testes de envelhecimento acelerado tradicional e com uso de solução salina. Os dados, expressos em porcentagem, foram transformados em arco sen de $(x/100)^{1/2}$ e a comparação das médias foi efetuada por meio de teste de Tukey, a 5 % de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Teste de Sanidade

A análise sanitária das sementes, antes do teste de envelhecimento, revelou incidência de *Cladosporium* sp., variando de 0,5 a 2,0%, dependendo da amostra, para sementes submetidas a assepsia (Tabela 1). Não foram detectados os fungos *Rhizopus* sp. e *Aspergillus* spp. em nenhuma das amostras analisadas, com sementes submetidas ou não à assepsia.

Os dados referentes à análise sanitária após incubação para o teste de envelhecimento acelerado tradicional mostraram que a porcentagem de *Aspergillus* spp. variou de 89% (amostra 5) a 100% (amostra 1) para sementes não submetidas à assepsia (Tabela 1). Segundo Silva e Silva (2000), as condições do envelhecimento acelerado favorecem o desenvolvimento de microrganismos, destacando a tendência de domínio de *Aspergillus* spp. sobre os demais fungos presentes. A assepsia diminuiu a porcentagem de *Aspergillus* spp. em todas as amostras, com exceção da amostra quatro, concordando com os resultados obtidos por Zorato et al. (2001), em que o tratamento com hipoclorito de sódio

TABELA 1. Valores médios (%) de fungos associados a cinco amostras de sementes de pimentão (*Capsicum annuum* L.) submetidas ou não à assepsia, avaliadas antes e após a incubação para o teste de envelhecimento acelerado tradicional (EAT) e com solução salina (EASS).

Amostras	Fungos	Época de avaliação					
		Antes da incubação		Após a incubação (EAT)		Após a incubação (EASS)	
		Sem assepsia	Com assepsia	Sem assepsia	Com assepsia	Sem assepsia	Com assepsia
1	*Aspergillus* spp.	0	0	100	88	1,5	2
	Rhizopus sp.	0	0	23	41	1,5	9
	Cladosporium sp.	0	2	0	6	0,5	1
2	*Aspergillus* spp.	0	0	99	77	0	0,5
	Rhizopus sp.	0	0	93	51	3	1
	Cladosporium sp.	0	0,5	1,5	46	0	2
3	*Aspergillus* spp.	0	0	99	59	1,5	1
	Rhizopus sp.	0	0	36	55,5	0	70,5
	Cladosporium sp.	0	1	2	75	1,5	62,5
4	*Aspergillus* spp.	0	0	94	99	0	1
	Rhizopus sp.	0	0	12,5	14	0	5,5
	Cladosporium sp.	0	1	8,5	4	0,5	0,5
5	*Aspergillus* spp	0	0	89	27	1	1
	Rhizopus sp.	0	0	30	68,5	2,5	0
	Cladosporium sp.	0	2	22	91	1	0,5
Médias	*Aspergillus* spp.	0,0	0,0	96,2	70,0	0,8	1,1
	Rhizopus sp.	0,0	0,0	38,9	46,0	1,5	17,2
	Cladosporium sp.	0,0	1,3	6,8	44,4	0,7	13,3

propiciou decréscimo dos fungos de armazenamento, mas não os eliminou.

A assepsia, em geral, não foi eficiente para diminuir a incidência de *Rhizopus* sp., e provocou elevado aumento na incidência de *Cladosporium* sp., com exceção da amostra quatro. Esses fungos poderiam estar localizados no interior dos tecidos de reserva e do próprio embrião das sementes, sendo seu crescimento favorecido pela utilização da assepsia, que diminuiu contaminantes como *Aspergillus* spp.

Após a incubação para o teste de envelhecimento acelerado tradicional, a incidência de *Cladosporium* sp., *Aspergillus* spp. e de *Rhizopus* sp. foi aumentada acentuadamente quando comparada à análise realizada antes da incubação, indicando, assim, que as condições impostas pelo envelhecimento acelerado podem não agir apenas no comportamento da semente, mas também, influenciar a ação e a manifestação de microrganismos (Marcos Filho e Shioga, 1981; Marcos Filho, 1994).

Após a incubação das sementes para o teste de envelhecimento acelerado com utilização de solução salina, foi observado aumento na porcentagem de *Cladosporium* sp., quando foi utilizada assepsia na maioria das amostras, quando comparado à análise realizada antes da incubação com ou sem assepsia (Tabela 1). Com relação a *Aspergillus* spp. e *Rhizopus* sp., a incidência foi bastante baixa, principalmente quando comparado ao envelhecimento acelerado tradicional. Uma vantagem da utilização de soluções saturadas de sais é que os valores de umidade relativa permanecem próximos aos do início do teste, não favorecendo, dessa forma, o desenvolvimento de microrganismos (Jianhua e McDonald, 1997).

Grau de Umidade

Na determinação do grau de umidade, efetuado antes da incubação, foram observadas elevações no teor de água das sementes para todas as amostras, em até 0,9 ponto percentual, após a assepsia (Tabela 2). Diferenças de 1 a 2% entre amostras não são comprometedoras, mas variação acentuada provoca alterações na velocidade de umedecimento durante o envelhecimento e diferenças na intensidade de deterioração, sendo as sementes mais úmidas, em geral, mais sensíveis às condições do teste (Marcos Filho, 1999).

Após a incubação para o teste de envelhecimento acelerado tradicional, as variações do teor de água das sementes, entre as amostras, foram de até 4% para sementes não submetidas à assepsia (Tabela 2). A assepsia fez com que o teor de água das sementes sofresse um aumento variando de 2,3 a 7,3 pontos percentuais, quando comparado às sementes não submetidas à assepsia, com exceção da amostra cinco. A variação do teor de água entre as amostras submetidas à assepsia ficou em torno de três pontos percentuais, com exceção da amostra cinco que foi de 6,3 pontos percentuais inferior à de maior teor de água. Segundo Marcos Filho (1999), variações de 3 a 4% no grau de umidade entre as amostras são toleráveis.

Após a incubação em solução salina o teor de água aumentou, em média, um ponto percentual, quando não se utilizou assepsia, e em 1,5 pontos percentuais quando se utilizou a assepsia (Tabela 2). Esse aumento foi menor que o aumento médio de quatro pontos percentuais, observado por Jianhua e McDonald (1997), em sementes de *Impatiens wallerana* submetidas à incubação para o teste de envelhecimento acelerado com utilização de solução saturada de NaCl a 41ºC por 72 horas.

Germinação

O teste de germinação de sementes, submetidas ou não à assepsia, avaliadas antes e após incubação das sementes para o teste de envelhecimento acelerado tradicional, apresentou diferenças significativas entre as interações amostras x assepsia x época de avaliação. Em todos os tratamentos a amostra cinco destacou-se com porcentagem de plântulas normais significativamente superior a das demais amostras, apesar de apresentar elevada porcentagem dos

TABELA 2. Valores médios (%) de grau de umidade em cinco amostras de sementes de pimentão (*Capsicum annuum* L.) submetidas ou não à assepsia, avaliadas antes e após a incubação para o teste de envelhecimento acelerado tradicional (EAT) e com solução salina (EASS).

Amostras	Época de avaliação					
	Antes da incubação		Após a incubação (EAT)		Após a incubação (EASS)	
	Sem assepsia	Com assepsia	Sem assepsia	Com assepsia	Sem assepsia	Com assepsia
1	9,7	10,4	32,9	40,2	10,7	11,4
2	9,2	10,1	35,2	42,0	10,7	11,4
3	9,4	10,0	35,3	42,0	10,7	11,3
4	9,2	10,1	35,7	38,0	10,5	11,6
5	9,6	10,5	37,1	35,7	10,6	11,3

fungos *Aspergillus* spp., *Rhizopus* sp. e *Cladosporium* sp (Tabela 3).

Na avaliação do teste de germinação após a incubação para o teste de envelhecimento acelerado tradicional sem o uso de assepsia, foi possível distinguir três categorias de sementes, sendo as amostras cinco e três de potencial fisiológico superior ao dos demais lotes, e a amostra dois de potencial fisiológico inferior a dos demais lotes. Como categoria intermediária ficaram as amostras um e quatro. O que não ocorreu no teste de germinação antes da incubação, na qual, só a amostra cinco diferiu das demais, apresentando porcentagem de plântulas normais superior às outras amostras.

O teste de germinação de sementes, submetidas ou não à assepsia, avaliadas antes e após incubação das sementes para o teste de envelhecimento acelerado com uso de solução salina, permitiu identificar diferenças significativas entre as amostras e interações entre tempo de avaliação e assepsia.

A amostra cinco destacou-se com 71% de plântulas normais e entre as demais amostras não foi observada diferença significativa, apresentando em média de 35% de plântulas normais (Tabela 4). Esse teste, não foi tão eficiente quanto o teste tradicional para distinguir lotes de diferentes níveis de vigor.

Após a incubação a porcentagem de germinação diminuiu significativamente tanto com a utilização de assepsia, como sem essa, havendo uma queda maior quando se utilizou a assepsia (Tabela 5). Antes da incubação não houve efeito da assepsia sobre a porcentagem de germinação e após a incubação a assepsia propiciou uma queda significativa nessa.

TABELA 3. Valores médios (%) de plântulas normais obtidas no teste de germinação de cinco amostras de sementes de pimentão (*Capsicum annuum* L.), submetidas ou não à assepsia, avaliadas antes e após a incubação para o teste de envelhecimento acelerado tradicional.

Época de avaliação	Amostras	Assepsia		Médias
		Sem	Com	
Antes da incubação	1	52 bA	47 bA	50
	2	54 bA	49 bA	52
	3	50 bA	60 bA	55
	4	40 bA	48 bA	44
	5	90 aA	80 aA	85
Após a incubação	1	64 abA	44 bB	54
	2	33 cA	32 bA	33
	3	78 aA	50 bB	59
	4	59 bA	47 bA	53
	5	82 aA	83 aA	83

CV=12%

Diferentes letras, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, diferem significativamente pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 4. Valores médios (%) de plântulas normais obtidas no teste de germinação de cinco amostras de sementes de pimentão (*Capsicum annuum* L.), após o teste de envelhecimento acelerado com uso de solução salina.

Amostras	Plântulas normais (%)
1	33 b
2	38 b
3	36 b
4	33 b
5	71 a

CV=13%

Diferentes letras minúsculas na coluna diferem significativamente pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 5. Valores médios (%) de plântulas normais obtidas no teste de germinação de cinco amostras de sementes de pimentão (*Capsicum annuum* L.), submetidas ou não à assepsia, avaliadas antes e após a incubação para o teste de envelhecimento acelerado com utilização de solução salina.

Tempo de avaliação	Assepsia	
	Sem	Com
Antes da incubação	59 aA	58 aA
Após a incubação	41 bA	15 bB

CV=13%

Diferentes letras, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, diferem significativamente pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade.

Resultados satisfatórios com o uso de solução salina para avaliação do vigor foram obtidos para sementes de pimentão (Panobianco e Marcos Filho, 1998), cenoura (Rodo et al., 2000), pepino (Bhering et al., 2000) e tomate (Panobianco e Marcos Filho, 2001). Porém Ribeiro e Carvalho (2001) não obtiveram bons resultados usando este teste para sementes de alface, brócolis e cenoura.

A utilização de solução salina em substituição a água no teste de envelhecimento acelerado por proporcionar um aumento pequeno no grau de umidade das sementes, não favorece o desenvolvimento de fungos saprófitas, ao contrário do que ocorre quando utiliza-se o procedimento tradicional. A assepsia aplicada antes da incubação para o teste, não foi eficiente no controle do desenvolvimento de dois dos fungos estudados, por vezes até aumentando sua incidência e diminuindo a percentagem de plântulas normais no teste de germinação.

CONCLUSÕES

A assepsia, quando realizada antes da incubação das sementes para o teste de envelhecimento acelerado, é eficiente

para diminuir a incidência de *Aspergillus* spp.

O uso de solução saturada de NaCl em substituição à água, no teste de envelhecimento acelerado inibe o crescimento de *Aspergillus* spp., *Rhizopus* spp. e *Cladosporium* sp.

REFERÊNCIAS

BHERING, M.C.; DIAS, D.C.F.S.; GOMES, J.M.; BARROS, D.K. Métodos para avaliação do vigor de sementes de pepino. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.22, n.2, p.171-175, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.

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

GUPTA, I.J.; SCHIMITTHENNER, A.F; McDONALD, M.B. Effect of storage fungi on seed vigour of soybean. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.21, n.3, p.581-591, 1993.

JIANHUA, Z.; McDONALD, M.B. The satured salt accelerated aging test for small-seeded crops. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.25, n.1, p.123-131, 1997.

LIMA, E.F.; CARVALHO, L.P.; CARVALHO, J.M.F.C. Comparação de métodos de análise sanitária e ocorrência de fungos em sementes de algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.7, n.3, p.401-406, 1982.

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes:** conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999. p.3.1-3.24.

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. (Ed.). **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 133-149.

MARCOS FILHO, J.; SHIOGA, P.S. Tratamento fungicida de sementes de soja no teste de envelhecimento rápido. **Revista de Agricultura,** Piracicaba, v.56, n.3, p.163-172. 1981.

PANOBIANCO, M.; MARCOS FILHO, J. Comparação entre métodos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de pimentão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.20, n.2, p.306-310, 1998.

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.

POWELL, A.A. The controlled deterioration test. In: VAN DER VENTER, H.A. (Ed.). **Seed vigour testing seminar**. Copenhagen: ISTA, 1995. p.73-87.

RIBEIRO, F.C.; CARVALHO, N.M. The saturated salt accelerated aging method seems to act leniently on carrot, lettuce and broccoli seeds germination. In: INTERNATIONAL SEED TESTING CONGRESS – SEED SYMPOSIUM, 26, 2001, Angers. **Abstracts**... Zürich: ISTA, 2001. p.39-40.

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

ROSSETO, C.A.V.; BASSIN, C.A.; CARMO, M.G.F.; NAKAGAWA.J. Tratamento fungicida, incidência de fungos e momento de avaliação da germinação no teste de envelhecimento acelerado em sementes de amendoim. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, n.2, p.78-87, 2001.

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.

VIEIRA, R.D.; BITTENCOURT, S.R.M.; PANOBIANCO, M. Vigor: um componente da qualidade de sementes. **Informativo ABRATES**, Londrina, v.11, n.2, p. 199, 2001.

ZORATO, M.F.; HOMECHIN, M.; HENNING, A.A. Efeitos da assepsia superficial com diferentes agentes químicos na incidência de microrganismos em sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, n.1, p.159-166, 2001.

✦✧✦✧✦