

RAFAELA MARQUES DE MIRANDA

**QUALIDADE FISIOLÓGICA, ANATOMIA E HISTOQUÍMICA DURANTE
O DESENVOLVIMENTO DE SEMENTES DE CENOURA (*Daucus carota* L.)**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Fitotecnia, para obtenção do título de
Magister Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2015

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

M672q
2015
Miranda, Rafaela Marques de, 1988-
Qualidade fisiológica, anatomia e histoquímica durante o
desenvolvimento de sementes de cenoura (*Daucus carota* L.) /
Rafaela Marques de Miranda. – Viçosa, MG, 2015.
ix, 27f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f.24-27.

1. Sementes - Análise. 2. *Daucus carota*. 3. Colheita.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Fitotecnia.
Programa de Pós-graduação em Fitotecnia. II. Título.


CDD 22. ed. 631.521

RAFAELA MARQUES DE MIRANDA

**QUALIDADE FISIOLÓGICA, ANATOMIA E HISTOQUÍMICA DURANTE
O DESENVOLVIMENTO DE SEMENTES DE CENOURA (*Daucus carota* L.)**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Fitotecnia, para obtenção do título de
Magister Scientiae.

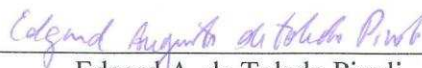
APROVADA: 25 de fevereiro de 2015.



Marcelo Coelho Sekita



Warley Marcos Nascimento
(Coorientador)



Edgard A. de Toledo Picoli
(Coorientador)



Denise C. Fernandes dos Santos Dias
(Orientadora)

A Deus,
ao Henrique,
meus familiares e amigos.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre me guiar no caminho da luz e por me dar forças nos momentos de fragilidade.

Aos meus pais, Maria da Cruz e Jair, exemplos de pessoas que dedicaram suas vidas a cuidar da família maravilhosa que hoje constituímos. Aos meus irmãos, cunhados e sobrinhos pelo companheirismo e união.

Aos amigos da graduação, da pós-graduação e as amigas de república que contribuíram para meu crescimento profissional e principalmente pessoal.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), ao Departamento de Fitotecnia, ao Departamento de Botânica e a todos os professores que fizeram parte da minha formação acadêmica.

À professora Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias, pela orientação, atenção, paciência e ensinamentos.

Aos coorientadores Edgard Augusto de Toledo Picoli e Warley Marcos Nascimento por toda atenção e colaboração com a pesquisa.

À professora Marília Ventrella pelos ensinamentos, paciência, atenção e dedicação durante minha graduação.

Aos colegas, funcionários e professores do Laboratório de Análise de Sementes e Laboratório de Anatomia Vegetal que sempre me apoiaram.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Aos colegas da Secretaria Municipal de Agropecuária de Ouro Preto, especialmente ao Érico Couto pelo incentivo na busca por aprendizagem e crescimento profissional.

BIOGRAFIA

Rafaela Marques de Miranda, filha de Jair Gonçalves de Miranda e Maria da Cruz Fonseca de Miranda, nasceu na cidade de Piranga, Minas Gerais, no dia 09 de março de 1988.

Em 2007 iniciou o curso de graduação em Agronomia na Universidade Federal de Viçosa, graduando-se em novembro de 2012.

Ainda em 2012 ingressou no curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, na área de Tecnologia e Produção de Sementes.

Em 2013 foi contratada pela Prefeitura Municipal de Ouro Preto para atuar como Engenheira Agrônoma na Secretaria Municipal de Agropecuária.

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	6
2.1 Avaliação da qualidade fisiológica.....	7
2.1.1 Grau de umidade.....	7
2.1.2 Matéria seca de semente	7
2.1.3 Germinação.....	7
2.1.4 Primeira contagem de germinação	7
2.1.5 Envelhecimento acelerado	7
2.1.6 Emergência	8
2.1.7 Índice de velocidade de emergência	8
2.1.8 Matéria seca de plântula.....	8
2.1.9 Delineamento experimental e análise estatística	9
2.2 Caracterização anatômica e histoquímica	9
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	11
4. CONCLUSÕES	23
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24

RESUMO

MIRANDA, Rafaela Marques, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2015. **Qualidade fisiológica, anatomia e histoquímica durante o desenvolvimento de sementes de cenoura (*Daucus carota* L.).** Orientadora: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias. Coorientadores: Edgard Augusto de Toledo Picoli e Warley Marcos Nascimento.

A determinação do ponto de maturidade fisiológica e o momento ideal para a colheita das sementes são fundamentais para a obtenção de sementes de elevada qualidade fisiológica. Este fator é crucial em sementes de cenoura, uma vez que a planta não tolera o transplântio sendo o estabelecimento da cultura feito obrigatoriamente por meio de semeadura direta no campo. O objetivo do presente trabalho foi avaliar as alterações físicas, fisiológicas, anatômicas e histoquímicas em sementes de cenoura colhidas em diferentes estádios de desenvolvimento e estabelecer a época mais adequada para a colheita das sementes. As sementes foram produzidas em Brasília, DF, onde foram colhidas 10 umbelas secundárias, ao acaso, de diferentes plantas de cenoura cultivar Brasília, em oito épocas distintas: aos 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 e 63 dias após a antese (DAA). Para a caracterização anatômica e histoquímica, as sementes foram processadas de acordo com as técnicas usuais em microscopia de luz e os cortes foram corados com Azul de toluidina, Xylidine Ponceau (XP), Lugol, Sudan black B e submetidos à luz polarizada. Para avaliação das alterações físicas e fisiológicas, as sementes foram submetidas aos seguintes testes e determinações: grau de umidade, matéria seca de semente, germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, emergência de plântula, índice de velocidade de emergência (IVE) e matéria seca de plântula. Os dados foram submetidos à análise de variância e regressão. Sementes de cenoura cultivar Brasília, aos 14 DAA, encontram-se em fase de divisão e expansão celular e apesar da reduzida matéria seca de sementes, substâncias de reservas como lipídios foram identificados no endosperma. Aos 21 DAA, além de lipídios, substâncias de reserva como proteína e amido foram identificadas. Com o processo de desenvolvimento das sementes ocorre deposição de lignina nas células do endocarpo, esta camada colapsada e lignificada representa a camada de resistência das sementes. Na maturidade fisiológica, o endosperma ocupa praticamente todo volume das sementes, onde são armazenadas substâncias de reserva com lipídios, proteínas e carboidratos na forma de amido. O embrião ocupa uma pequena região cilíndrica e o

tegumento apresenta uma única camada de células. A maturidade fisiológica de sementes de cenoura, representada pelo máximo acúmulo de matéria seca, ocorreu os 35 DAA. Nesta fase, as sementes apresentaram 56% de grau de umidade e a coloração do pericarpo era verde-amarelo. A máxima qualidade fisiológica das sementes, representada pela germinação e vigor máximos, ocorreu aos 30 DAA, um pouco antes da maturidade fisiológica. Assim, a época ideal para a colheita das sementes de cenoura cultivar Brasília nas condições de Brasília, DF, é a partir dos 35 DAA, onde as sementes apresentam máximo conteúdo de matéria seca e máxima qualidade fisiológica.

ABSTRACT

MIRANDA, Rafaela Marques, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2015. **Physiological quality, anatomy and histochemical during development of carrot seeds (*Daucus carota* L.)**. Adviser: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias. Co-advisers: Edgard Augusto de Toledo Picoli and Warley Marcos Nascimento.

The determination of physiological maturity and the ideal harvest time are essential for obtaining high physiological seed quality. This factor is crucial for carrot seeds due to crop establishment be done through direct seeding, since the plants do not tolerate transplanting. The objective of this study was to evaluate the physical, physiological, anatomical and histochemical changes in carrot seeds harvested at different stages of development and establish the most appropriate time for harvesting the seeds. The seeds were produced in Brasilia, DF, where they were harvested 10 secondary umbels at random from different carrot cultivar Brasilia, in eight different times: at 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 and 63 days after anthesis (DAA). The seed anatomical and histochemical characterization were processed according to the usual techniques in light microscopy and the sections were stained with Toluidine blue, Xylidine Ponceau (XP), Lugol, Sudan Black B and submitted to polarized light. In order to physical and physiological changes, the seeds were submitted to the following tests and determinations: moisture content, seed dry weight, germination, first count of germination, accelerated aging, seedling dry weight, speed emergence index and seedling of emergence. The data were subjected to analysis of variance and regression. Carrot seed cultivar Brasilia, at 14 DAA, are in division and cell expansion phase. In addition, substances such as lipids were identified in the endosperm, despite the low dry matter seed reserve. At 21 DAA, also identified reserve substances such as protein and starch. Along with the seed development process, occurs the deposition of lignin in the endocarp cells, and this collapsed lignified layer represents the resistance layer of the seeds. In physiological maturity, the endosperm occupies almost all volume of seeds, which are stored reserve substances with lipids, proteins and carbohydrates in the form of starch. The embryo occupies a small cylindrical region and the integument shows a single layer of cells. The physiological maturity of carrot seeds, represented by the maximum dry matter accumulation, occurs at 35 DAA. At this time, the seeds have 56% moisture content

and the color of the pericarp is yellow-green. The maximum seed quality, represented by the germination and vigor maximum, occurred at 30 DAA, just before physiological maturity is reached. Thus, the ideal time to harvest the seeds grow in the conditions of Brasilia, DF, is from 35 DAA, where the seeds have maximum dry matter content and maximum physiological quality.

1. INTRODUÇÃO

A cenoura (*Daucus carota* L.) é uma hortaliça de grande relevância econômica, estando entre as dez mais produzidas no Brasil. Em 2012, foram produzidas aproximadamente 700 mil toneladas. Neste mesmo ano, o mercado de sementes de cenoura movimentou 42,7 milhões de reais, o que representa o terceiro lugar em movimentação de capital entre as sementes de hortaliças no país (ABCSEM, 2014).

A cenoura pertence à família Apiaceae, possui planta com crescimento indeterminado e inflorescência tipo umbela composta. O fruto é um di-aquênio, em que os dois aquênios se separam na maturidade e cada um dá origem ao que se denomina de semente (Viggiano, 1990).

As cultivares de cenoura necessitam de baixas temperaturas e fotoperíodo crescente para indução ao florescimento e produção de sementes. As necessidades em temperatura e fotoperíodo são específicas para cada cultivar e cultivares de verão são menos exigentes em frio que as cultivares de inverno. No Brasil, em condições naturais, apenas sementes de cultivares de verão podem ser produzidas e as sementes de cultivares de inverno são supridas com importação (Carvalho et al., 2014).

Induzida ao florescimento, a planta passa da fase vegetativa para a fase reprodutiva, emitindo uma haste ou pendão floral que termina em uma inflorescência tipo umbela, denominada umbela central, primária ou de primeira ordem. A partir desta, surgem ramificações que terminarão em umbelas secundárias ou de segunda ordem. Dessas ramificações surgem novas que serão as umbelas terciárias ou de terceira ordem, e assim sucessivamente. As umbelas de diferentes ordens têm florescimento, antese e maturação de sementes em épocas cronologicamente diferentes, iniciando pela umbela primária, seguida pelas secundárias e assim sucessivamente (Hawthorn et al., 1962). Além disso, o florescimento dentro de cada umbela individual não é uniforme (Carvalho et al., 2014).

Quanto à contribuição da ordem das umbelas na produção total de sementes de uma planta, as umbelas secundárias são responsáveis pela maior parte da produção, em função do número de umbelas por planta e do tamanho das sementes (Panayotov, 2010). Nascimento (1991) relatou que as umbelas primárias, secundárias e terciárias contribuíram com 11,0%, 58,0% e 31,0%, respectivamente,

da produção total de sementes da cultivar Brasília. Relatou também que a germinação e o vigor das sementes decresceram à medida que aumentava a ordem das umbelas.

O sucesso da produção de olerícolas depende, dentre outros aspectos, de um adequado estabelecimento de plântulas no campo, fator diretamente relacionado com a qualidade das sementes. O estabelecimento da cultura da cenoura é feito obrigatoriamente por meio de sementeira direta, já que a planta não tolera o transplante. Neste caso, as sementes são semeadas diretamente no local definitivo, sobre canteiros. Assim, a utilização de sementes de elevada qualidade fisiológica e sanitária é fundamental neste sistema de plantio para se assegurar um estande adequado, uniforme, o qual terá reflexos positivos sobre o desenvolvimento das plantas e, conseqüentemente, sobre a produção final e padronização do produto colhido.

Um dos fatores que influencia a qualidade das sementes é a colheita na época adequada, que pode minimizar os efeitos da deterioração causados pela permanência das sementes no campo, além de diminuir a proporção de sementes imaturas no lote devido à colheita precoce (Vidigal et al., 2009). Assim, estudos relacionados ao processo de maturação de sementes são fundamentais para se estabelecer o ponto em que as sementes atingem a máxima qualidade fisiológica e determinar a época ideal de colheita.

O ponto de maturidade fisiológica tem sido caracterizado por alguns autores como o momento em que as sementes atingem o máximo acúmulo de matéria seca, caracterizando que cessou a translocação de assimilados da planta para a semente (Harrington, 1972; Tekrony et al., 1980; Demir e Ellis, 1992). Neste ponto, a deterioração da semente é mínima, podendo ou não coincidir com a máxima qualidade fisiológica, ou seja, máximo de germinação e vigor (Carvalho e Nakagawa, 2000).

Gray et al. (1984), avaliando o desenvolvimento do endosperma e do embrião da semente de cenoura, relatam que o máximo conteúdo de matéria seca ocorre aos 35 dias após antese (DAA). Neste momento, o pericarpo apresenta-se verde e menos de 50% das sementes apresentam-se viáveis. As sementes adquirem capacidade de

germinar entre 21 e 35 DAA e a porcentagem de germinação aumenta gradativamente até 79 DAA.

Em estudos com cultivares de cenoura desenvolvidas no Brasil, Pessoa et al. (1987) relataram que o melhor momento para a colheita de sementes de cenoura da cultivar Brasília situa-se entre 49 e 63 DAA. Sementes da cultivar Alvorada em condições tropicais apresentaram máximo acúmulo de matéria seca aos 49 DAA e nesta fase o grau de umidade é elevado, aproximadamente 64%. A máxima qualidade fisiológica é atingida entre 49 e 56 DAA, quando a germinação e o vigor são máximos e o grau de umidade das sementes está próximo a 10% (Nascimento et al., 2003).

A família Apiaceae apresenta plantas com crescimento indeterminado, apresentando sementes com maturação desuniforme e de tamanhos diferentes, além disso, o embrião é pouco desenvolvido, o que reflete diretamente na porcentagem e velocidade de germinação. Assim, um lote de sementes apresenta diferentes níveis de maturação e sementes de diversos tamanhos, o que dificulta a determinação da época ideal de colheita e a produção de sementes de elevada qualidade fisiológica, sendo necessárias pesquisas sobre maturação de sementes que busquem esclarecer a melhor época para colheita de sementes de elevada qualidade fisiológica.

Estudos sobre maturação de sementes com outras espécies da família Apiaceae também tem sido realizados. Em sementes de coentro (*Coriandrum sativum*), a maturidade fisiológica ocorreu entre 42 e 44 dias após o florescimento quando as sementes apresentaram grau de umidade em torno de 28,0%. No entanto, a colheita das sementes pode ser realizada até 50 dias após o florescimento, quando as sementes apresentavam 14,0% de umidade (Sousa et al., 2011). Sementes de chicória da Amazônia (*Eryngium foetidum* L.) atingem máximo de matéria seca e germinação simultaneamente aos 40 DAA. Nesta fase, as sementes ainda apresentam alto grau de umidade (aproximadamente 25,0%), sendo recomendada a colheita após a maturidade fisiológica e antes da degrana que se inicia após 65 DAA (Ekpong e Sukprakarn, 2006). Sementes de endro (*Anethum graveolens* L.) atingem o máximo de matéria seca aos 35 DAA com grau de umidade 67% (Ekpong e Sukprakarn, 2008).

Características físicas como a cor das sementes têm sido utilizadas como ferramenta para determinar o melhor momento para a colheita. George (1985) e Rubatzky et al. (1999) utilizam a cor das sementes como indicativo prático da maturidade fisiológica de sementes de cenoura e afirmaram que estas são marrons quando maduras. Perleberg et al. (2001) observaram que sementes de cenoura com menor teor de clorofila no pericarpo apresentam maior germinação. Sementes de chicória da Amazônia (*Eryngium foetidum* L.) (Ekpong e Sukprakarn, 2006), endro (*Anethum graveolens* L.) (Ekpong e Sukprakarn, 2008) e erva-doce (*Foeniculum vulgare* Mill.) (Azevedo et al., 2010) também possuem coloração marrom na maturidade fisiológica. Sementes de salsa (*Petroselinum crispum*) têm o pericarpo com coloração amarela e preta na maturidade fisiológica (Oliveira et al., 2013).

O processo de desenvolvimento das sementes envolve além das alterações físicas e fisiológicas, as quais são mais estudadas, mudanças morfológicas, histoquímicas e bioquímicas até que a maturidade fisiológica seja atingida. Segundo Bewley et al. (2013), o desenvolvimento das sementes pode ser dividido em três fases distintas após a fertilização do óvulo: histodiferenciação, durante a qual são formados os tecidos da semente, sendo intensas as divisões celulares; deposição de reserva, caracterizada pelo acúmulo de matéria seca; secagem ou dessecação, caracterizada por perda de água e redução do metabolismo das sementes.

Para compreender o processo de maturação das sementes é importante também considerar as mudanças anatômicas e histoquímicas que ocorrem desde a fecundação do óvulo até o momento da colheita. Estudo do desenvolvimento floral, relacionado com a formação e arranjo das peças florais, foi desenvolvido por Borthwick et al. (1931). O desenvolvimento do macrogametófito, com a sequência em que as células embrionárias se dividem e o desenvolvimento do tubo polínico em cenoura foram realizados por Borthwick (1931) e Lackie e Yeung (1996). Contudo, são escassos os estudos que descrevem as mudanças anatômicas, estruturais e histoquímicas que ocorrem durante o processo de desenvolvimento das sementes de cenoura e suas relações com as alterações físicas e fisiológicas.

Saenz de Rivas e Heywood (1974), em trabalho de caráter taxinômico sobre o gênero *Daucus*, descreveram características anatômicas dos frutos e das sementes deste gênero. Corner (1976), em extensa publicação sobre anatomia das sementes de Dicotiledôneas, relatou os aspectos gerais dos óvulos e das sementes da família

Umbelliferae (Apiaceae). Em estudos mais recentes, Bercu e Broască (2012) compararam características anatômicas de frutos de cinco espécies da família Apiaceae, dentre elas a cenoura.

De acordo com Panayotov (2010), sementes de cenoura provenientes de umbelas secundárias apresentam na maturidade, aproximadamente, 14% de proteína, 11% de açúcar e 17% de lipídios. Estes dados foram obtidos a partir de análises químicas, não constando informações sobre a localização celular destas reservas e a caracterização histoquímica durante as diferentes fases de desenvolvimento das sementes de cenoura.

Diante do exposto, o objetivo desta pesquisa foi avaliar as alterações anatômicas, histoquímicas, físicas e fisiológicas que ocorrem durante o processo de maturação de sementes de cenoura da cultivar Brasília, e estabelecer a época mais adequada para a colheita das sementes em condições de Brasília, DF, visando à produção de sementes de elevada qualidade fisiológica.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas sementes de cenoura da cultivar Brasília provenientes de um campo de produção de sementes básicas instalado na área experimental da Embrapa Hortaliças - Brasília, DF a 1.004 metros de altitude com as seguintes coordenadas 15°55'46,58"S e 48°08'26,84"W. O campo de produção foi conduzido segundo recomendações básicas para a produção de sementes de cenoura.

Em uma primeira etapa, foi instalado um campo para a produção de raízes, sendo a semeadura realizada em canteiros em 20 de novembro de 2012. Antes da semeadura foi feita a adubação de plantio baseada nos resultados da análise de solo, empregando-se 160 g/m² da fórmula NPK 04-30-16 + B e Zn. A adubação de cobertura foi feita aos 35 dias após a semeadura com sulfato de amônio na dosagem de 40 kg/ha. Aos 33 dias após a semeadura foi feito o desbaste nas linhas de semeadura deixando-se uma planta a cada 10 cm. A irrigação foi feita por aspersão, quando necessária, não tendo sido utilizados produtos para o controle de pragas e doenças. As plantas daninhas foram controladas com a aplicação do herbicida Afalon (Linuron) na dose de 2,2 L/ha, aos quatro dias após a semeadura. A colheita das raízes foi realizada em 27 de fevereiro de 2013. As raízes foram selecionadas para o padrão Nantes de raízes, ou seja, as menos cônicas, lisas, sem ombro verde, comprimento entre 16-22 cm e diâmetro aproximado de 3,0 cm.

No dia seguinte à colheita, as raízes foram vernalizadas em câmara fria sob temperatura próxima a 6° C e 90% de umidade relativa por 50 dias. Após este período, as raízes foram plantadas no campo em 18 de abril de 2013, utilizando-se o sistema de plantio em leiras com 30 cm de altura, as quais foram levantadas com o auxílio de um sulcador. A adubação de plantio foi feita conforme resultados da análise do solo. Assim que as plantas emitiram as primeiras folhas iniciou-se a irrigação por gotejamento, adotando-se um turno de rega de cerca de quatro horas semanais até o início da maturação das umbelas. O campo foi mantido livre de plantas daninhas com capina manual.

Por ocasião do florescimento, iniciado em junho de 2013, as umbelas foram marcadas previamente na antese (estigma bifido). Na emissão das primeiras umbelas foi realizada a adubação de cobertura com sulfato de amônio na dosagem de 15 g/metro linear.

Foram colhidas 10 umbelas secundárias, ao acaso, de diferentes plantas, em oito estádio de desenvolvimento: aos 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56 e 63 dias após a antese (DAA). As umbelas permaneceram 72 h em estufa de secagem, a 32°C, e após esse período foi realizada manualmente a trilha e a limpeza das sementes.

2.1 Avaliação da qualidade fisiológica

A avaliação da qualidade fisiológica foi realizada no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa/MG. As sementes obtidas nos diferentes estádios de desenvolvimento foram submetidas aos seguintes testes e determinações:

2.1.1 Grau de umidade

Determinado pelo método da estufa a 105 ± 3 °C por 24 horas, com três subamostras, segundo as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem (base úmida).

2.1.2 Matéria seca de semente

Foi determinada juntamente com o grau de umidade das sementes (Brasil, 2009), e consistiu do peso médio final das subamostras após secagem a 105 ± 3 °C por 24 horas. Os resultados foram expressos em mg/semente.

2.1.3 Germinação

Conduzido com quatro subamostras de 50 sementes, distribuídas sobre duas folhas de papel germitest umedecidas com água destilada, na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco, em caixas plásticas (tipo gerbox). As caixas foram mantidas em germinador à temperatura de 20°C, computando-se a porcentagem de plântulas normais no sétimo e décimo quarto dia após a semeadura. As avaliações foram efetuadas de acordo com as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009).

2.1.4 Primeira contagem de germinação

Conduzido juntamente com o teste de germinação, computou-se a porcentagem de plântulas normais aos sete dias após a semeadura.

2.1.5 Envelhecimento acelerado

Foram utilizadas caixas tipo gerbox com compartimento individual, possuindo no interior uma bandeja com tela onde as sementes, após pesadas em

balança de precisão, foram distribuídas de maneira a formarem uma camada uniforme. Dentro de cada caixa gerbox foram adicionados 40 mL de água destilada, e as caixas colocadas em uma câmara tipo BOD, regulada à temperatura constante de 41° C por um período de 24 horas. Decorrido este período, as sementes foram submetidas ao teste de germinação, conforme descrito anteriormente, realizando-se a avaliação no sétimo dia após a semeadura. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

2.1.6 Emergência de plântulas

Conduzido em casa de vegetação, sendo a semeadura realizada em bandejas de isopor contendo solo e areia na proporção 1:1, utilizando-se quanto subamostras de 50 sementes. O resultado foi expresso em porcentagem de plântulas normais emergidas no décimo quarto dia após a semeadura.

2.1.7 Índice de velocidade de emergência

Conduzido juntamente com o teste anterior onde, a partir do início da emergência foram realizadas avaliações diárias, computando-se o número de plântulas emergidas até a estabilização do estande que ocorreu no décimo quarto dia após a semeadura. O cálculo do índice de velocidade de emergência de plântulas foi efetuado usando-se a formula de Maguire (1962):

$$IVE = \frac{E1}{N1} + \frac{E2}{N2} + \dots + \frac{En}{Nn}$$

Em que:

IVE – Índice de Velocidade de Emergência;

E1, E2,... En - Número de plântulas normais emergidas contabilizadas na primeira, segunda, até a última contagem;

N1, N2,... Nn - Número de dias decorridos da semeadura ao primeiro, segundo, até o último dia.

2.1.8 Matéria seca de plântula

Conduzido com as plântulas provenientes do teste anterior (IVE), consistiu da secagem das plântulas em estufa com circulação de ar, a 60° C até peso constante. Em seguida, as plântulas foram pesadas em balança com precisão de 0,0001g. Os resultados foram expressos em mg/plântula.

2.1.9 Delineamento experimental e análise estatística

Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições para a maioria das variáveis analisadas, exceto para o grau de umidade e massa de matéria seca por semente, realizado com três repetições. As análises foram realizadas com auxílio do programa estatístico SAS (Delwiche e Slaughter, 2003). Os valores obtidos para cada uma das variáveis foram submetidos a teste de normalidade e homogeneidade, que indicaram a não necessidade de transformação dos dados. Em seguida, foram submetidos à análise de variância e regressão, em nível de 5% de probabilidade, pelo teste “F”. As estimativas dos parâmetros da regressão foram analisadas pelo teste “t” em nível de 5% de probabilidade.

2.2 Caracterização anatômica e histoquímica

As análises anatômicas e histoquímicas foram realizadas no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia Vegetal, da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa/MG.

As sementes obtidas nos diferentes estádios de desenvolvimento foram fixadas em FAA₇₀ por 72 h e estocadas em etanol 70% (Johansen, 1940). Posteriormente, foram desidratadas em série etílica crescente e incluídas em metacrilato (Historesin – Leica) de acordo com as recomendações do fabricante. O material foi seccionado em cortes transversais e longitudinais em micrótomo rotativo com 5 µm de espessura. Para caracterização anatômica, os cortes foram corados com Azul de toluidina (O’Brien et al., 1964) e montado sob lamínula com resina sintética (Permount). Para as análises histoquímicas, os cortes foram submetidos aos seguintes reagentes/corantes: dupla coração de Azul de toluidina com reagente de Lugol para detecção de amido (Johansen, 1940); Xylidine Ponceau (XP) para detecção de proteínas totais (Vidal, 1977). Os cortes transversais também foram submetidos à luz polarizada para detecção de amido (Johansen, 1940).

Para detecção de lipídios, as sementes fixadas em FAA₇₀ foram seccionadas transversalmente a 40 µm em criomicrotomo. Para este procedimento, as amostras foram transferidas e estocadas em solução de sacarose “overnight”, com o intuito de aumentar o potencial osmótico das células, evitando possíveis danos aos tecidos durante o congelamento em que o material vegetal é submetido durante o

procedimento. Os cortes dos diferentes estádios de desenvolvimento foram corados com Sudan black B (Pearse, 1972).

A observação e a obtenção de imagens (parte anatômica/estrutural e histoquímica) foram realizadas em fotomicroscópio (modelo AX70 TRF, Olympus Optical, Tokyo, Japão) com sistema U-PHOTO, acoplado a uma câmera digital (modelo AxionCan, Carl Zeiss, Gena, Alemanha) e a um microcomputador.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A figura 1 apresenta o aspecto visual das sementes de cenoura, da cultivar Brasília, colhidas aos 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63 DAA. Aos 14 DAA as sementes apresentavam-se verde claro, de 21 a 28 DAA as sementes eram verdes, aos 35 DAA verde-amarelas e a partir dos 42 DAA apresentavam-se completamente marrons.

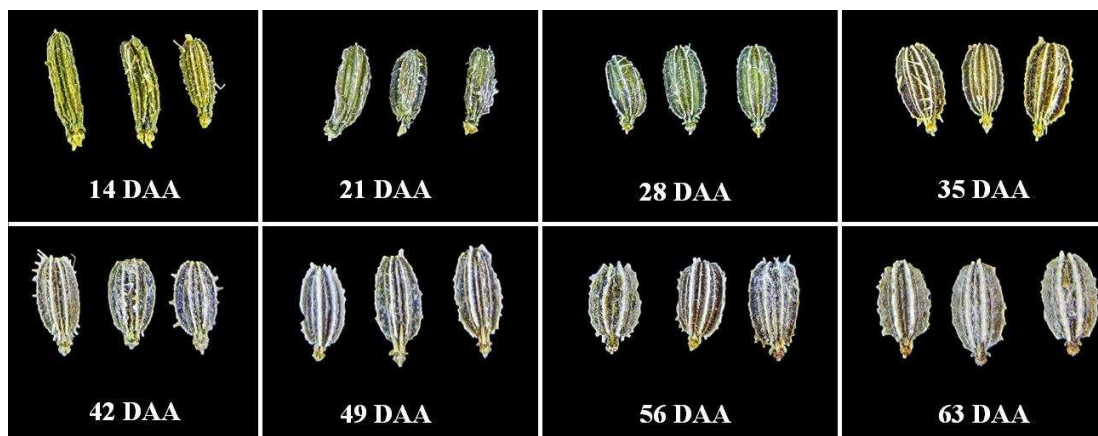


Figura 1. Aspecto visual das sementes de cenoura, cultivar Brasília, colhidas em diferentes estádios de desenvolvimento (DAA).

As sementes de cenoura são envoltas por pericarpo formado por epicarpo, mesocarpo e endocarpo, estas peças são fundidas e unidas parcialmente à semente (Bercu e Broască, 2012). Aos 14 DAA é possível identificar cada uma dessas camadas de células do pericarpo (Figuras 2 A e C). Nesta fase, as sementes em início de desenvolvimento não ocupam todo espaço delimitado pelo pericarpo (Figura 2 A), o tegumento apresenta uma única camada de células (Figura 2 A, seta) e o endosperma encontra-se em na fase de divisão e expansão celular. O embrião, em início de formação, ocupa um pequeno volume da semente, nele pode ser reconhecido o suspensor, voltado para a região micropilar, e o embrião propriamente dito na porção mais distal (Figuras 2 B e D).

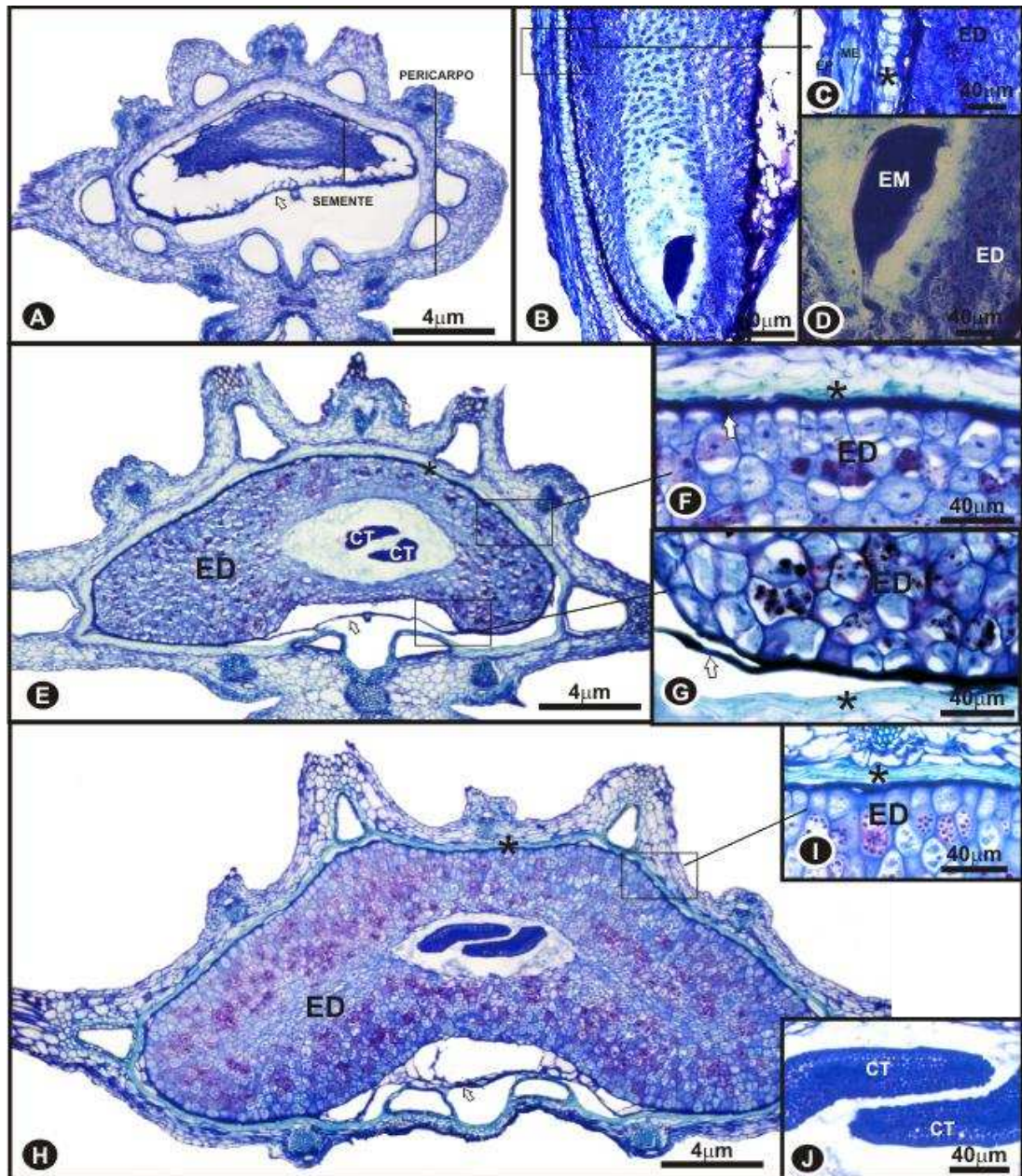


Figura 2. Cortes de sementes de cenoura corados com Azul de toluidina em diferentes estádios de desenvolvimento: 14 DAA (A-D), 21 DAA (E-G), 28 DAA (H-J). Aspecto geral das sementes em corte transversal aos 14 DAA (A), 21 DAA (E), 28 DAA (H). Aspecto geral das sementes em corte longitudinal aos 14 DAA (B). Detalhe do pericarpo e endosperma em corte longitudinal aos 14 DAA (C). Detalhe do embrião em corte longitudinal aos 14 DAA (D). Detalhe da lignificação do endocarpo em corte transversal aos 21 DAA (F) e 28 DAA (I). Detalhe do tegumento da semente aos 21 DAA (G). Detalhe do embrião em corte transversal aos 28 DAA (J). CT, cotilédone; ED, endosperma; EM, embrião; EP, epicarpo, ME, mesocarpo; seta, tegumento; (*), endocarpo.

Aos 21 DAA inicia-se o processo de deposição de lignina nas paredes celulares do endocarpo (Figuras 2 E e F, coloração esverdeada). O endosperma continua em divisão e expansão celular, e o embrião, mais desenvolvido que na fase

anterior, apresenta os dois cotilédones evidentes (Figura 2 E). O tegumento não multiplicativo apresenta uma única camada de células até as sementes maduras. Aos 28 DAA o endosperma apresenta-se bem desenvolvido (Figura 2 H) e intensifica-se a deposição de lignina nas células do endocarpo, onde as células apresentam-se colapsadas e lignificadas (Figura 2 I), sendo esta a camada de resistência das sementes. Dos 28 DAA aos 35 DAA praticamente não ocorrem alterações anatômicas nas sementes, o que pode ser evidenciado pela comparação das figuras 2 H e 3 A.

Aos 35 DAA o endosperma ocupa praticamente todo volume da semente, com exceção de uma pequena região cilíndrica ocupada pelo embrião (Figura 3 A). O embrião apresenta eixo hipocótilo-radícula reto e cilíndrico, plúmula indiferenciada e cotilédones, protoderme e procâmbio distinguíveis (Figuras 3 A, C, D e E). Aos 63 DAA o pericarpo apresenta-se parcialmente colapsado (Figuras 3 F e G).

Através das análises histoquímicas foi possível observar que os compostos de reserva são armazenados principalmente no endosperma. Em fases iniciais de desenvolvimento, as 14 DAA, a presença de grãos de amido não foi identificada pela dupla coloração de Azul de toluidina e Lugol e também não foi identificada com a luz polarizada (Figuras 4 A e B). Aos 21 DAA, é possível observar a presença de pequenos e pontuais grãos de amidos dispersos nas células do endosperma (Figuras 4 C e D). Aos 28 DAA os grãos de amido apresentam-se mais evidentes, indicando um possível aumento no acúmulo de tais substâncias no endosperma (Figuras 4 E e F). Este composto permanece presente no endosperma durante o desenvolvimento das sementes (Figuras 4 G, H, I e J). A identificação dos grãos de amido foi realizada através da dupla coloração com Azul de toluidina mais o reagente de Lugol, corando os grãos de amido de negro (Figuras 4 A, C, E, G e I). Com a luz polarizada é possível identificar os grãos de amido através da visualização de estruturas esféricas brilhantes com uma cruz escura no centro (Figuras 4 B, D, F, H e J) (Banks e Muir, 1980).

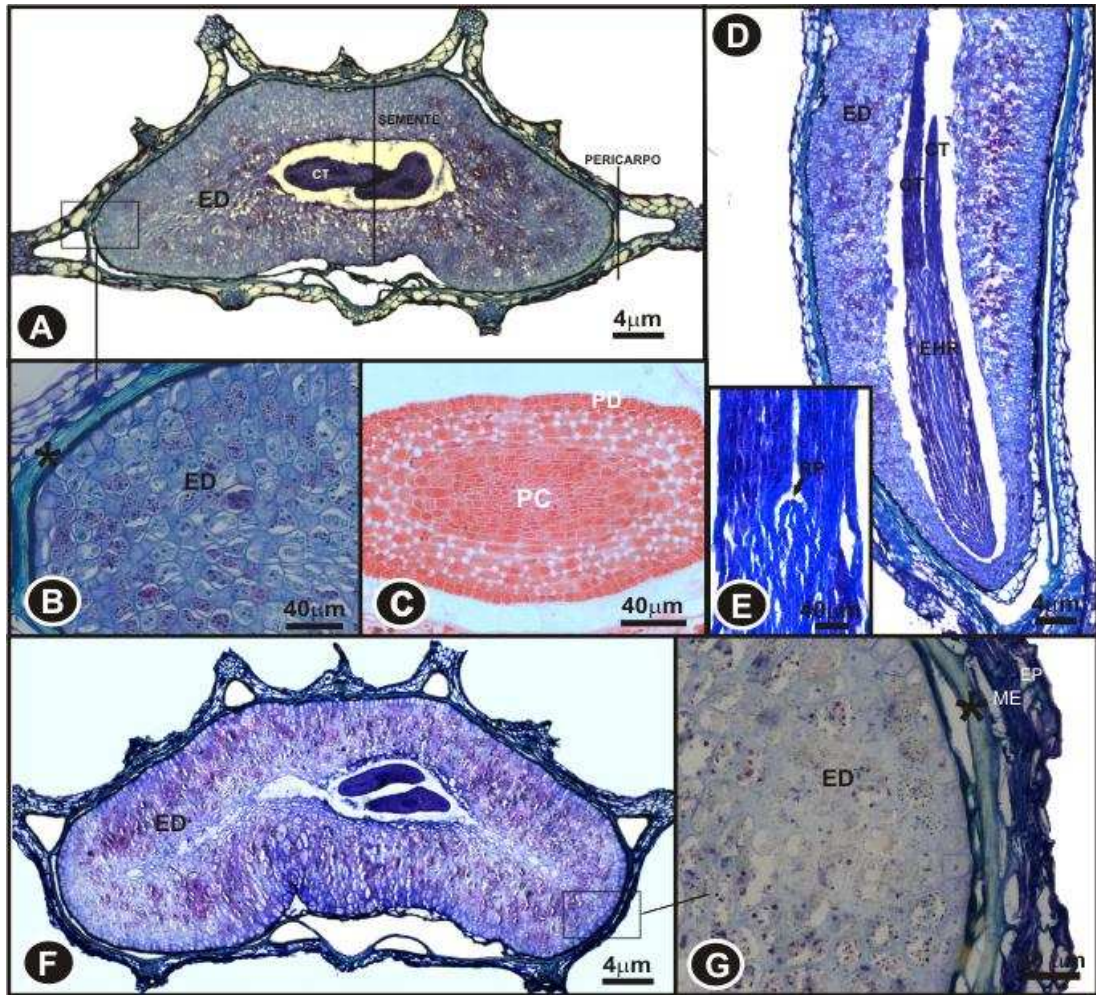


Figura 3. Cortes transversais de sementes de cenoura colhidas aos 35DAA corados com Azul de toluidina (A e B) e corado com XP (C). Cortes longitudinais de sementes de cenoura colhidas aos 49 DAA corados com Azul de toluidina (D e E). Cortes transversais de sementes de cenoura colhidas aos 63 DAA corados com Azul de toluidina (F e G). Aspecto geral da semente em corte transversal (A) e em corte longitudinal (D). Detalhe da lignificação do endocarpo (B). Detalhe do embrião em corte transversal (C) e em corte longitudinal (E). Aspecto geral da semente em corte transversal aos 63 DAA (F). Detalhe do pericarpo colapsado (G). CT, cotilédone; ED, endosperma; EHR, eixo hipocótilo radícula; EP, epicarpo; ME, mesocarpo; PC, procâmbio; PD, protoderme; RP, região da plúmula; (*), endocarpo.

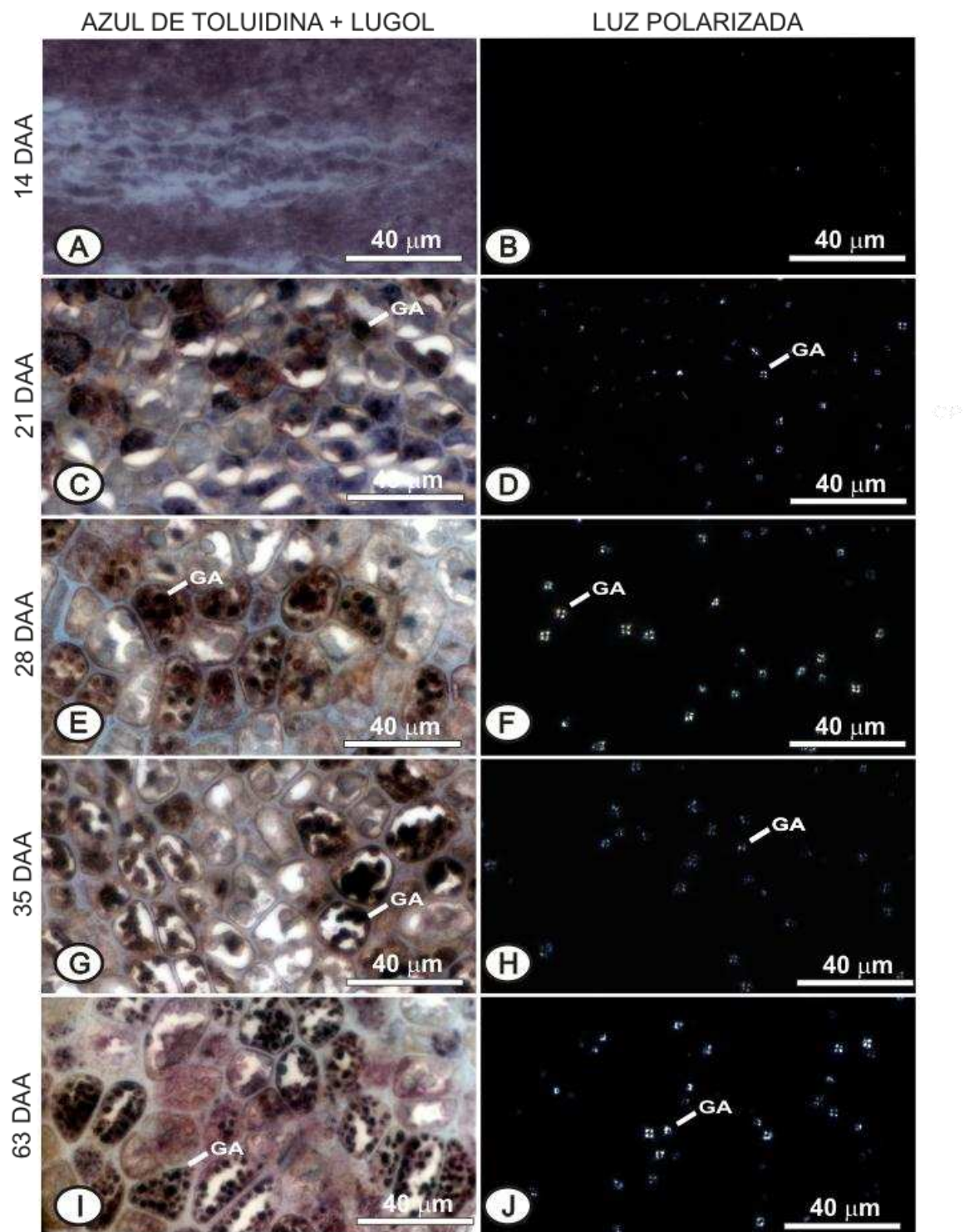


Figura 4. Cortes transversais do endosperma de sementes de cenoura colhidas aos 14 DAA (A e B), aos 21 DAA (C e D), aos 28 DAA (E e F), aos 35 DAA (G e H) e aos 63 DAA (I e J). Cortes corados Azul de toluidina mais reagente de Lugol para identificação de amido (A, C, E, G e I) e cortes submetidos à luz polarizada para identificação de amido (B, D, F, H e J). GA, grão de amido.

Há uma tendência de aumento de conteúdo proteico durante os estádios de desenvolvimento das sementes. As proteínas são acumuladas em corpos proteicos e podem ser observadas nas células parenquimáticas do endosperma a partir de 21 DAA (Figura 5 C). Aos 28 DAA pode ser observada uma grande quantidade de material proteico disperso pelo citoplasma das células (Figura 5 E), e o mesmo padrão de deposição é mantido durante o processo de maturação das sementes (Figura 5 G e I).

As sementes de cenoura são reconhecidas por possuir endosperma rico em óleo (Corner, 1976), assim como outras sementes da família (Ross e Murphy, 1992). Assim, os lipídios representam a principal fonte de reserva em sementes de cenoura, estando presente nas sementes logo nas fases iniciais de desenvolvimento, aos 14 DAA (Figuras 5 B). Esta fonte de reserva está presente durante o processo de desenvolvimento e mantém-se presente nas sementes até 63 DAA (Figura 5 J). O lipídio é acumulado nas células do endosperma em corpos lipídicos (Graham, 2008). Parte do citoplasma onde se localizam os corpos lipídicos (não visíveis em microscopia de luz) reage com o corante Sudan Black B (Figuras 5 B, D, F, H e J) e gotas lipídicas são formadas durante o seccionamento do material. Segundo Dutta et al. (1991), um rápido aumento da deposição de lipídios começa cerca de 21 dias após a polinização e continua até 35 dias após a polinização.

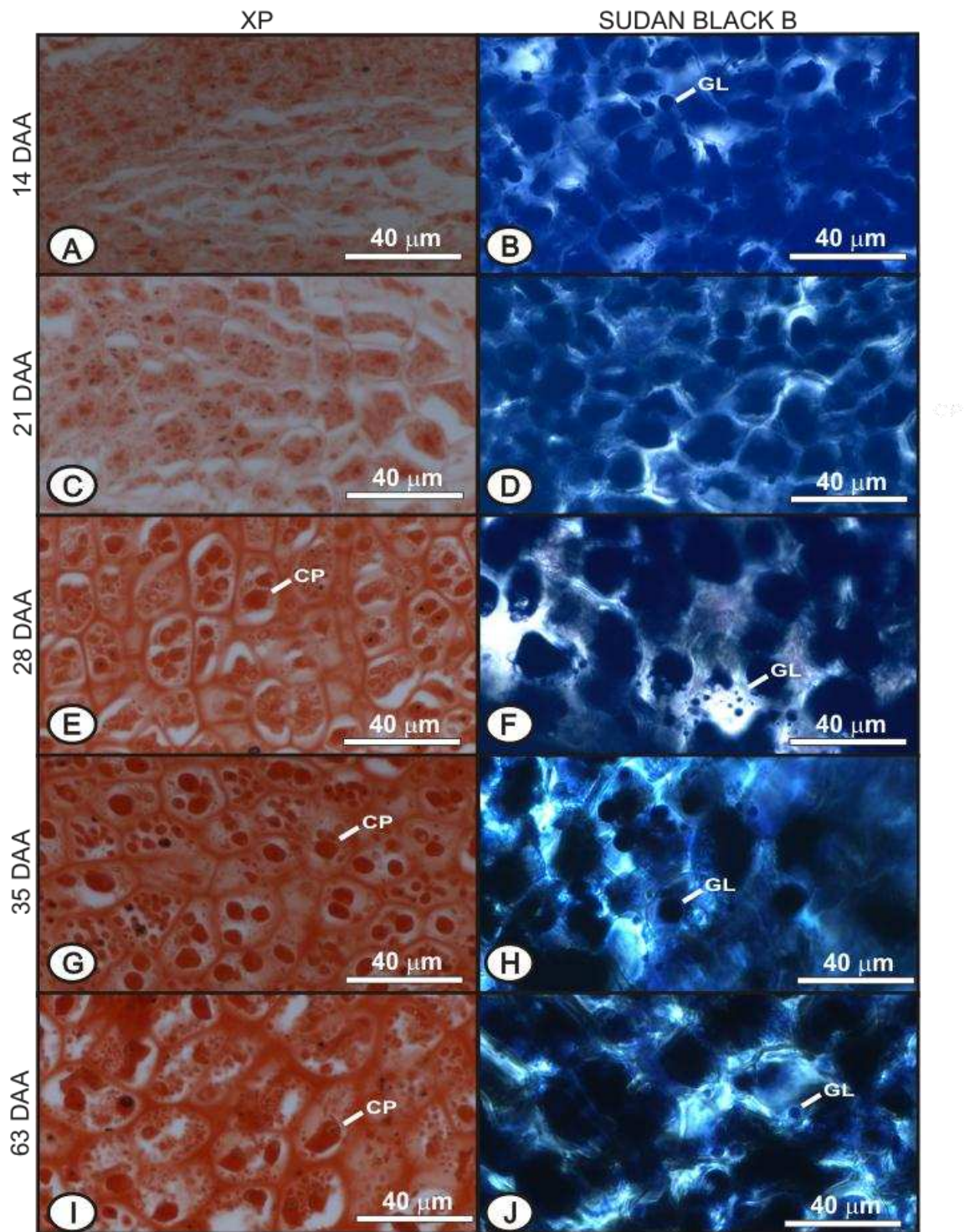


Figura 5. Cortes transversais do endosperma de sementes de cenoura colhidas aos 14 DAA (A e B), aos 21 DAA (C e D), aos 28 DAA (E e F), aos 35 DAA (G e H) e aos 63 DAA (I e J). Cortes corados com XP para identificação de proteínas (A, C, E, G e I) e Sudan black B para identificação de lipídeos (B, D, F, H e J). CP, corpo proteico e GL, gota lipídica.

A massa de matéria seca de sementes (Figura 6) inicialmente era baixa, abaixo de 0,5 mg/semente aos 14 DAA estando as sementes com coloração verde claro (Figura 1). Observa-se um aumento progressivo da matéria seca com o decorrer do processo de maturação até aproximadamente 35 DAA, quando foi atingido o valor máximo (cerca de 1,8 mg/semente), indicando não haver mais translocação de assimilados da planta para as sementes. Como não houve mais acréscimo no conteúdo de matéria seca a partir de 35 DAA, pode-se afirmar que as sementes atingiram a maturidade fisiológica, não havendo mais conexão vascular entre a planta e as sementes. Assim pode-se afirmar que, de acordo com os critérios relatados por Harrington (1972), Tekrony et al. (1980) e Demir e Ellis (1992), as sementes de cenoura atingiram a maturidade fisiológica aos 35 DAA. Segundo George (1985) e Rubatzky et al. (1999), sementes de cenoura são marrons quando maduras, porém aos 35 DAA, ou seja, na maturidade fisiológicas, as sementes apresentam-se verde-amarelas discordando dos dados obtidos por estes autores.

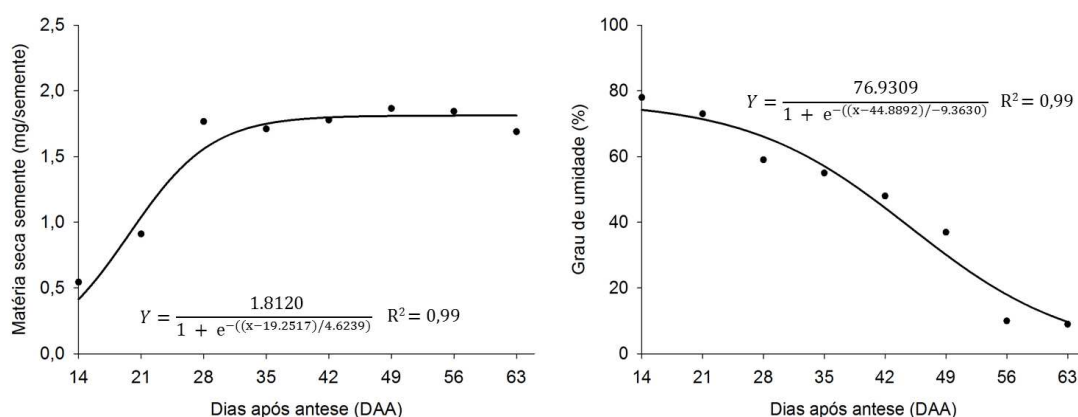


Figura 6. Alterações na matéria seca de semente e grau de umidade de sementes de cenoura, cultivar Brasília, colhidas em diferentes estádios de desenvolvimento (DAA).

Na fase inicial de desenvolvimento, aos 14 DAA, o grau de umidade das sementes era elevado, próximo a 80% (Figura 6). Durante grande parte do processo de desenvolvimento das sementes o teor de água permanece alto, pois a água é o veículo fundamental para translocação de assimilados da planta para a semente (Carvalho e Nakagawnta, 2000). Com o avanço do processo, o teor de água diminui de forma lenta e contínua e aos 35 DAA as sementes apresentam grau de umidade cerca de 56%, ou seja, na maturidade fisiológica as sementes ainda apresentam elevado grau de umidade. Resultados semelhantes foram observados em sementes de

cenoura da cultivar Alvorada que apresentaram grau de umidade em torno de 64% na maturidade fisiológica (Nascimento et al., 2003). O grau de umidade das sementes não é considerado um bom indicador da maturidade fisiológica, visto que pode ser afetado pelo genótipo e principalmente pelas condições ambientais (Vidigal et al., 2011). Porém, o seu monitoramento é de extrema importância para compreensão do processo de maturação.

Durante o processo de maturação, à medida que ocorre o acúmulo de matéria seca, a água é substituída pelas substâncias de reserva que vão sendo sintetizadas pelas sementes em desenvolvimento. Aos 14 DAA, substâncias de reservas como lipídios encontram-se presentes nas sementes de cenoura (Figura 5 B), porém, nesta fase, a matéria seca de semente ainda é reduzida (0,5 mg/semente). Aos 21 DAA, além dos lipídios, outras substâncias de reserva como proteínas e carboidratos na forma de amido foram identificadas (Figuras 4 C e D e 5 C). O acúmulo destas substâncias intensifica-se aos 28 DAA (Figuras 4 E, F e 5 E, F), sendo que nesta fase a matéria seca é elevada (1,5 mg/semente), próxima a atingida na maturidade fisiológica (1,8 mg/semente) (Figura 6).

A germinação das sementes de cenoura foi nula aos 14 DAA (Figura 6). Neste ponto o conteúdo de matéria seca era baixo (0,5 mg/semente), estando as sementes em início de formação (Figuras 2 A, B, C e D), de modo que o embrião, muito pequeno, não tinha adquirido ainda a capacidade de germinar e o endosperma ainda não possuía quantidades significativas de reservas para ser mobilizada durante a germinação (Figuras 4 A, B e 5 A). As sementes adquiriram a capacidade de germinar a partir de 21 DAA, o que também foi observado por Gray et. al. (1984). Nesta fase, o embrião encontra-se um pouco mais desenvolvido (Figura 2 E) e substâncias de reservas estão presentes no endosperma (Figuras 4 C, D, e 5 C, D). Verifica-se que, a partir de 21 DAA a germinação aumenta de forma exponencial atingindo valor máximo aos 30 DAA (78%).

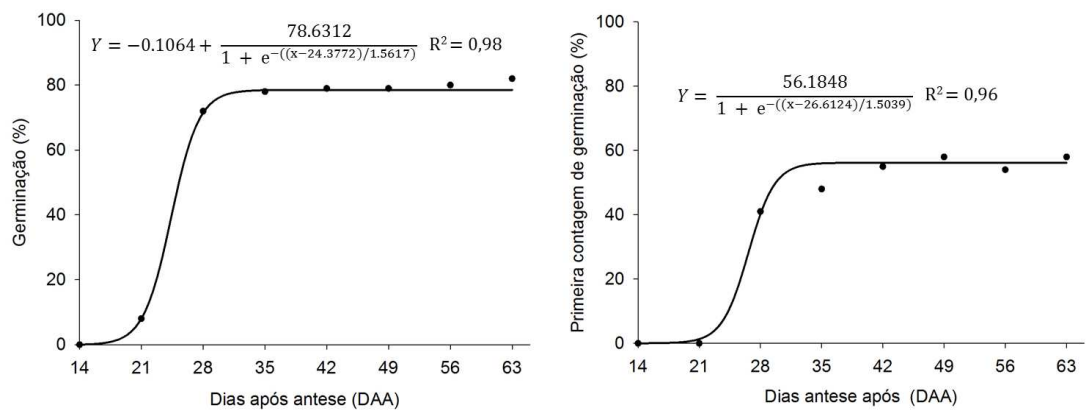


Figura 6. Alterações na germinação e primeira contagem de germinação de sementes de cenoura, cultivar Brasília, colhidas em diferentes estádios de desenvolvimento (DAA).

A primeira contagem de germinação pode ser utilizada como um indicativo do vigor das sementes, sendo um teste simples realizado simultaneamente ao teste de germinação e, que se baseia no pressuposto de que as sementes mais vigorosas irão germinar mais rápido. Na Figura 6 observa-se que até 21 DAA, a primeira contagem de germinação foi nula, aumentando de forma exponencial a partir daí e atingindo o valor máximo aos 30 DAA (50%). A partir deste ponto, houve uma estabilização dos valores obtidos até 63 DAA.

O teste de envelhecimento acelerado é um teste de vigor que avalia o desempenho das sementes expostas ao estresse por altas temperaturas e alta umidade. Verificou-se que sementes de cenoura colhidas a partir dos 40 DAA apresentou maior resistência ao estresse, indicando que a partir deste momento o vigor das sementes foi máximo (Figura 7).

O teste de emergência de plântulas indica que maior número de sementes adquire capacidade de emergir quando são colhidas a partir dos 28 DAA (Figura 7).

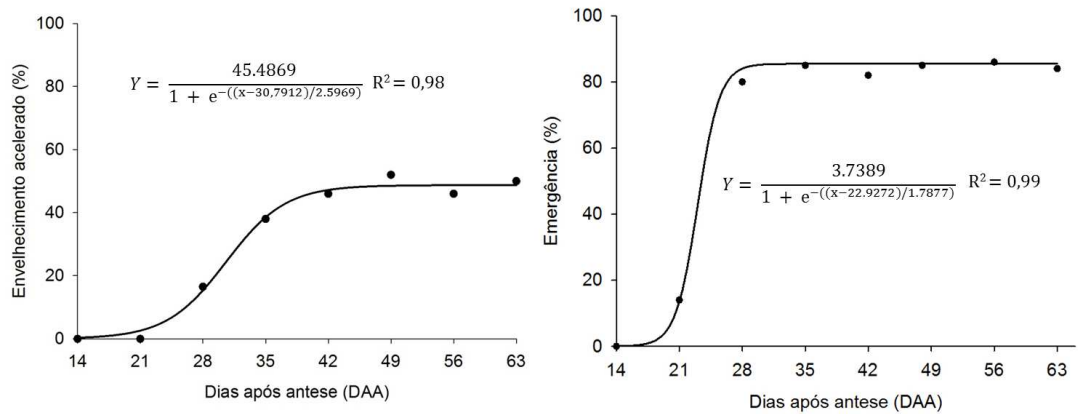


Figura 7. Envelhecimento acelerado e emergência de plântula de cenoura, cultivar Brasília, em função do estágio de desenvolvimento das sementes (DAA).

A velocidade de germinação avaliada pelo IVE foi nula aos 14 DAA (Figura 8), aumentando a partir deste ponto até atingir o valor máximo aos 32 DAA, seguindo tendência semelhante aos valores observados para a germinação das sementes (Figura 6).

O teste baseado no desempenho de plântulas mostra que valores máximos de massa seca de plântula (3,7 mg/plântula) foi observada quando as sementes foram colhidas aos 30 DAA (Figura 8).

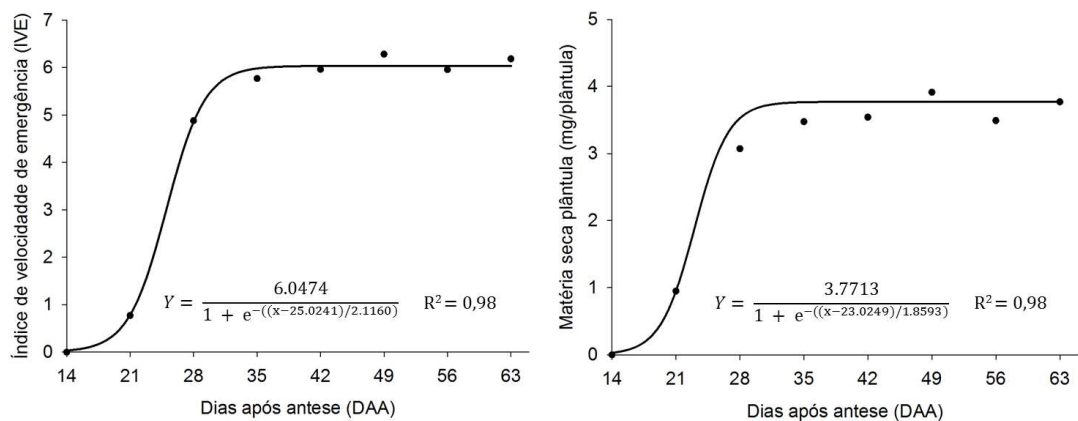


Figura 8. Índice de velocidade de emergência (IVE), matéria seca de plântula de cenoura, cultivar Brasília, em função do estágio de desenvolvimento das sementes (DAA).

Analisando os dados da avaliação da qualidade fisiológica, verifica-se que os valores máximos de germinação e de vigor das sementes de cenoura ocorrem a partir de 30 DAA e se mantém até 63 DAA e o máximo conteúdo de matéria seca de

semente, ou seja, a maturidade fisiológica ocorre próximo aos 35 DAA. Assim, verificou-se que a qualidade máxima das sementes, representada pela germinação e vigor máximos, ocorreu um pouco antes da maturidade fisiológica ser atingida. Estes dados diferem dos dados obtidos por Nascimento et al. (2003), que afirmam que sementes de cenoura da cultivar Alvorada atingem a maturidade fisiológica entre 49 e 56 DAA e Pessoa et al. (1987) que observaram em sementes da cultivar Brasília que a maturidade fisiológica ocorre aos 49 DAA. Porém, os dados obtidos nesta pesquisa estão de acordo com Gray et al. (1984) que afirmam que o máximo conteúdo de matéria seca ocorre aos 35 DAA.

Assim, a época ideal para a colheita de sementes de cenoura cultivar Brasília é aos 35 DAA onde as sementes apresentam máximo conteúdo de matéria seca e máxima qualidade fisiológica. Neste estágio de desenvolvimento, as sementes possuem coloração verde-amarela e 56% de grau de umidade. Na maturidade fisiológica, o endosperma ocupa praticamente todo volume das sementes onde são armazenadas substâncias de reserva com lipídios, proteínas e carboidratos na forma de amido. O embrião ocupa uma pequena região cilíndrica e o tegumento apresenta uma única camada de células, sendo o endocarpo lignificado a camada de resistência das sementes de cenoura.

4. CONCLUSÕES

Sementes de cenoura cultivar Brasília, cultivadas nas condições de Brasília, DF, aos 14 DAA, encontram-se em fase de divisão e expansão celular e apesar da reduzida matéria seca de sementes, substâncias de reservas como lipídios foram identificados no endosperma. Aos 21 DAA, além de lipídios, substâncias de reserva como proteína e amido também foram identificados.

Com o processo de desenvolvimento das sementes ocorre deposição de lignina nas células do endocarpo, esta camada colapsada e lignificada representa a camada de resistência das sementes. Na maturidade fisiológica, o endosperma ocupa praticamente todo volume das sementes, onde são armazenadas substâncias de reserva com lipídios, proteínas e carboidratos na forma de amido. O embrião ocupa uma pequena região cilíndrica e o tegumento apresenta uma única camada de células.

A máxima qualidade fisiológica das sementes de cenoura, representada pela germinação e vigor máximos, é atingida cerca de 30 DAA. O máximo acúmulo de matéria seca das sementes é atingido aos 35 DAA, ou seja, a maturidade fisiológica ocorre aos 35 DAA. Neste momento o grau de umidade das sementes é de aproximadamente 56% e a coloração do pericarpo é verde-amarelo. Assim, a época ideal para a colheita das sementes é a partir de 35 DAA, onde as sementes apresentam máximo conteúdo de matéria seca e máxima qualidade fisiológica.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABCSEM. Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudanças. **Projeto para o levantamento dos dados socioeconômicos da cadeia produtiva de hortaliças no Brasil**, 2012. Holambra, 2014. Disponível em: <<http://www.abcsem.com.br>> Acesso em: 19 set. 2014.
- AZEVEDO C. F.; BRUNO R. L. A.; REGO E. R.; QUIRINO Z. G. M. Influência da coloração do tegumento na produção e na qualidade fisiológica de sementes de erva-doce. **Horticultura Brasileira**, v. 28, p. 4173-4180, 2010.
- BANKS W.; MUIR D. D. Structure and chemistry of the starch granule. In: Preiss J, ed. **The biochemistry of plants**, New York: Academic Press, v. 3, p. 321-329, 1980.
- BERCU, R.; BROASCĂ, L. Comparative histoanatomical aspects of the fruit of some Apiaceae Lindl. Fruit used for therapeutic purposes. **Analele Societății Naționale de Biologie Celulară**, v. 17, n. 1, p. 265-270, 2012.
- BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M.; NONOGAKI, H. **Seeds: physiology of development, germination and dormancy**. Springer. Third Edition, 2013. 392p.
- BORTHWICK, H. A. Development of the macrogametophyte and embryo of *Daucus carota*. **Botanical Gazette**, v. 92, n. 1, p. 23-44, 1931.
- BORTHWICK, H. A.; PHILLIPS, M.; ROBBINS, W. W. Floral development in *Daucus carota*. **American Journal of Botany**, v. 18, n. 9, p. 784-796, 1931.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009. 395p.
- CARVALHO, A. D. F.; VIEIRA, J. V.; SILVA, G. O.; NASCIMENTO, W. M. Produção sementes de cenoura. In: Curso sobre tecnologia de produção de sementes de hortaliças, XIV, 2014, Uberlândia. **Produção sementes de cenoura**. 19p. 2014.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.
- CORNER, E. J. H. **The Seeds of Dicotyledons**. Cambridge University Press, v. 2, p. 311, 1976.

- DELWICHE, L. D.; SLAUGHTER, S. J. **The little SAS book: A Primer**. Cary: SAS Institute, 2003. 268p.
- DEMIR, I.; ELLIS, R. H. Changes in seed quality during seed development and maturation in tomato. **Seed Science Research**, v. 2, p. 81-87, 1992.
- DUTTA, P. C.; APPELQVIST, L. A.; GUNNARSSON, S.; VON HOFSTEN, A. Lipid bodies in tissue culture, somatic and zygotic embryo of *Daucus carota* L.: a qualitative and quantitative study. **Plant Science**, v. 78, n. 2, p. 259-267, 1991.
- EKPONG, B.; SUKPRAKARN S. Seed development and maturation of eryngo (*Eryngium foetidum* L.). **Kasetsart Journal (Natural Science)**, v. 40, p. 26-32, 2006.
- EKPONG, B.; SUKPRAKARN.S. Seed physiological maturity in dill (*Anethum graveolens* L.). **Kasetsart Journal (Natural Science)**, v. 42, p. 1-6, 2008.
- ELLIS, R. H.; PIETA FILHO, C. Seed development and cereal seed longevity. **Seed Science Research**, v. 2, n. 1, p. 9-15, 1992.
- GEORGE, R. A. T. **Vegetable seed production**. Longman: New York, p.318, 1985.
- GRAHAM, I. A. Seed storage oil mobilization. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 115-142, 2008.
- GRAY, D.; WARD, J. A.; STECKEL, J. R. A. Endosperm and embryo development in *Daucus carota* L. **Journal of Experimental Botany**, v. 35, n. 153, p. 459-465, 1984.
- HARRINGTON, J. F. Seed storage longevity. In: KOZLOWSKY, T. T. (Ed.) **Seed biology**. New York: Academic Press, v. 3, 1972. p. 145-245.
- HAWTHORN, L. R.; TOOLE, E. H.; TOOLE, V. K. Yield and viability of carrot seeds as affected by position of umbel and time of harvest. **Proceedings American Society Horticultural Science**, v. 80, p. 401-407, 1962.
- JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. London New York: McGraw-Hill, 1940. 523p.
- LACKIE, S.; YEUNG, E. C. Zygotic embryo development in *Daucus carota*. **Canadian Journal of Botany**, v. 74, n. 7, p. 990-998, 1996.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.
- NASCIMENTO, W. M. Efeito da ordem das umbelas na produção e qualidade de sementes de cenoura. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 13, n. 2, p. 131-133, 1991.

- NASCIMENTO, W. M.; VIEIRA J. V.; ALVARES M. C. Physiological maturity of carrot seeds cv. Alvorada under tropical conditions. **Acta Horticulturae**, v. 607, p. 49-51, 2003.
- O'BRIEN, T. P., FEDER, N., MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, p. 368-373, 1964.
- OLIVEIRA S. F.; COSTA D. S.; MELLO S. C.; NOVEMBRE A. D. L. C.; GOMES-JUNIOR F. G. Germination of parsley seeds influenced by mericarps color and internal morphology. **Horticultura Brasileira**, v. 31, p. 231-235, 2013.
- PANAYOTOV, N. Heterogeneity of carrot seeds depending on their position on the mother plant. **Folia Horticulturae**, v. 22, n. 1, p. 25-30, 2010.
- PEARSE, A. G. E. Histochemistry, theoretical and applied, v. 2, third ed. London: Churchill-Livingstone 1972.
- PERLEBERG C. S.; CÍCERO S. M.; JALINK H; HEIJDEN G. Uso de fluorescência de clorofila para avaliar a qualidade fisiológica de sementes de cenoura. **Informativo Abrates**, v. 11, p. 293, 2001.
- PESSOA, H. B. S. V.; NASCIMENTO W. M.; CUNHA, M. M. 1987. Maturação de sementes de cenoura (*Daucus carota* L.). **Horticultura Brasileira**, Maio (resumo).
- ROSS, J. H. E; MURPHY D. M. Biosynthesis and localization of storage proteins, lesion and lipids during seed development in *Coriandrum sativum* and other Umbelliferae. **Plant Science**, n. 86, p. 59-70, 1992.
- RUBATZKY, V. E.; QUIROS C. F.; SIMON P. W. **Carrots and related vegetable Umbelliferae**. Crop Production Science in Horticulture Series: 10. CABI Publishing. Wallingford. UK. p. 304, 1999.
- SAENZ DE RIVAS, C.; HEYWOOD, V. H. Estudio preliminar sobre los *Daucus* de la Espana peninsular. **Anales del Instituto Botánico AJ Cavanilles**, v. 31, p. 97-118, 1974.
- SOUSA, T.; ALKIMIM, E.; DAVID, A.; SÁ, J.; PEREIRA, G.; AMARO, H.; MOTA, W. Época de colheita e qualidade fisiológica de sementes de coentro produzidas no Norte de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, especial, p. 591-597, 2011.
- TEKRONY, D. M.; EGLY, D. B.; PHILLIPS, A. D. Effects of field weathering on the viability and on vigor of soybean seed. **Agronomy Journal**, v. 72, n. 5, p. 749-753, 1980.

- VIDAL, B. C. Acid glycosaminoglycans and endochondral ossification: microspectrophotometric evaluation and macromolecular orientation. **Cellular and Molecular Biology**, v. 22, p. 45-64, 1977.
- VIDIGAL, D. S.; DIAS, D. C. F. S.; DIAS, L. A. S.; FINGER, F. L. Changes in seed quality during fruit maturation of sweet pepper. **Scientia Agricola**, v. 68, n. 5, p. 535-539, 2011.
- VIDIGAL, D. S.; DIAS, D. C. F. S.; VON PINHO, E. R. D.; DIAS, L. A. S. Alterações fisiológicas e enzimáticas durante a maturação de sementes de pimenta (*Capsicum annum* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 2, p. 129-136, 2009.
- VIGGIANO, J. Produção de sementes de cenoura. In: CASTELLANE, P. D.; NICOLSI, W. D.; HASHEGAWA, M. **Produção de sementes de hortaliças**. Jaboticabal: FCAV/FUNEP, 1990. p. 61-76.