

Potencial fisiológico de sementes de alface submetidas a diferentes tratamentos físicos para controle de patógenos

Physiological potential of lettuce seeds submitted to different physical treatments for pathogen control

Ananda C. da Silva^{1,*}, Helio F. Ibanhes Neto¹, Denis S. da Costa² e Lúcia S. A. Takahashi³

¹Universidade Estadual de Londrina, Londrina - Pr, Brasil

²Departamento de Agronomia do Instituto Federal do Mato Grosso do Sul, Campus de Nova Andradina, Nova Andradina, MS, Brasil

³Departamento de Agronomia/Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina, Londrina-PR, Brasil

(*E-mail:ananda_covre@hotmail.com)

<https://doi.org/10.19084/rca.19167>

Recebido/received: 2020.01.02

Aceite/accepted: 2020.08.18

RESUMO

A propagação vegetal por meio de sementes pode ser uma fonte de transmissão de doenças, por isso, a utilização de métodos de tratamento de sementes é de grande importância. O objetivo deste estudo é avaliar o potencial fisiológico e sanitário de diferentes lotes de sementes de alface submetidas a vários tratamentos físicos. O delineamento experimental em blocos aleatórios incluiu a termoterapia e a exposição ao gás ozônio durante 100 e 200 minutos para avaliar os índices de germinação, envelhecimento acelerado, comprimento, massa seca, emergência total, índice de velocidade de emergência, e sanidade (Blotter- test). A termoterapia aumentou a percentagem de germinação de sementes de alface e acelerou a formação de plântulas normais com maior massa seca de parte aérea e raízes. Ambos tratamentos com ozônio aceleraram a velocidade de germinação e formação de raízes. A exposição ao ozônio durante 200 minutos aumentou a massa seca da parte aérea de plântulas. O tratamento térmico foi eficiente no controle do fungo *Alternaria* sp., entretanto favoreceu o desenvolvimento de *Aspergillus* sp.

Palavras- chaves: *Lactuca sativa*, Ozônio, Termoterapia.

ABSTRACT

Plant propagation through seeds can be a source of disease transmission, so the use of seed treatment methods is of paramount importance. The objective of this study was to evaluate the physiological and sanitary potential of different batches of lettuce seeds submitted to physical treatment methods. Thermotherapy and exposure to ozone gas were tested for 100 and 200 minutes. The efficiency and level of physiological damage caused by the treatments were evaluated by germination, accelerated aging, length, dry mass, total emergence, emergency speed index (LVI), and health (Blotter test) tests. The experimental design was completely randomized with four replications, and the results submitted to analysis of variance and Tukey test at 5% probability. Thermotherapy increased lettuce seed germination and accelerated the formation of normal seedlings with higher dry mass of shoots and roots. Both ozone treatments accelerated germination speed and root formation. Exposure to ozone for 200 minutes increased the shoot dry mass. The heat treatment was efficient in the control of *Alternaria* sp. Fungus, however favored the development of *Aspergillus* sp.

Keywords: *Lactuca sativa*, Ozone, Thermotherapy.

INTRODUÇÃO

A alface é uma das hortaliças mais consumidas no Brasil (Mogharbel e Masson, 2005), o consumo em fresco dessa hortícola torna a sua aparência um requisito importante para comercialização, por isso aspectos como cor, tamanho, textura, a presença de sintomas de doenças e anomalias nas folhas influenciam a qualidade do produto.

A propagação da alface para produção comercial é realizada através da sementeira em tabuleiros de alvéolos (Silva *et al.*, 2002). As doenças causadas por fungos (Lopes *et al.*, 2010) podem ser transmitidas através da semente, por isso a utilização de um material livre de patógenos é de suma importância para a prevenção dessas doenças (Machado e Souza, 2009).

O tratamento de sementes é realizado através de métodos classificados como físicos químicos ou biológicos. O tratamento químico utiliza produtos químicos de síntese que protegem as sementes (Pereira *et al.*, 2015). Por sua vez, o tratamento biológico utiliza microrganismos antagonistas (Brand, 2009), enquanto que o tratamento físico consiste na exposição das sementes a agentes como o calor ou a radiação (Santos *et al.*, 2016).

A termoterapia e a ozonização podem ser considerados tratamentos físicos, o primeiro é realizado através da exposição das sementes a elevadas temperaturas através de calor húmido (água quente), calor seco (estufa) ou a mistura dos dois que atuam na desativação de algumas enzimas do patógeno causando a sua morte (Oliveira *et al.*, 2011; Pereira *et al.*, 2015).

A ozonização é um importante agente higienizante de frutas, legumes e da água para consumo humano, pois este gás causa danos à membrana celular dos microrganismos matando-os por oxidação (Güzel-Seydim *et al.*, 2004; Lanita e Silva, 2008).

Conforme as diretrizes da produção agroecológica a utilização de produtos químicos e formas de radiação não são permitidas na agricultura biológica, assim, métodos como a termoterapia e a ozonização são alternativas para este sistema de produção (Faria, 2007).

O objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial fisiológico e sanitário de diferentes lotes de sementes de alface submetidas a vários métodos de tratamento físico.

MATERIAL E MÉTODOS

A alface (*Lactuca sativa* L. cv. Mimosas- Salad Bowl) da empresa Isla Sementes foi semeada em tabuleiros de 288 alvéolos com o substrato comercial (Turfa Fértil®) da empresa Turfa Fertil Agro no dia 10/01/2017 e mantida em estufa sob irrigação diária por aspersão até atingirem de duas a três folhas. Após 30 dias as mudas obtidas foram transplantadas para os talhões experimentais de 80 cm de largura numa área aberta de cultivo orgânico, anteriormente em pousio. A floração plena da alface (50% das plantas com flor) ocorreu 83 dias após o transplantio, e o início da maturação das sementes foi verificada 20 dias após o início da floração, momento ao qual realizou-se a colheita das sementes a partir de capítulos inteiros.

Durante o período de produção das sementes que incluiu a obtenção de plântulas em estufa e o cultivo das plantas no campo, as temperaturas foram as seguintes: Na transplantação a temperatura máxima ($T^{\circ}\text{C Máx}$) = 30,8 °C, temperatura mínima ($T^{\circ}\text{C Min}$) = 21,0 °C e humidade relativa de 68%. No período de floração e maturação as $T^{\circ}\text{C Máx}$ foram de 27,5 °C e 22,4 °C e a $T^{\circ}\text{C Min}$ 15,7 °C e 15,2 °C, respectivamente. A humidade relativa foi de 71% durante a floração e de 79% na maturação.

Após a colheita, as sementes foram debulhadas manualmente e peneiradas recorrendo a um crivo com rede oval (2,0 mm) e um crivo com rede de malha fina (1,0 mm). Seguidamente, um ventilador (De Leo, modelo General) com abertura igual a 3,0 cm foi utilizado para retirar as impurezas e assim constituir um lote. Após esse processamento foi verificado o teor de água inicial das sementes pelo método de secagem em estufa a $105 \pm 3^{\circ}\text{C}/24\text{h}$, observando o valor de 9,0%, considerado ideal para o armazenamento em câmara fria a 12 °C até o momento da aplicação dos tratamentos (Brasil, 2009).

Os tratamentos do ensaio incluíram: (i) termoterapia; (ii) exposição ao gás ozono durante 100 minutos; (iii) exposição ao gás ozono durante 200

minutos e (iv) um tratamento controle sem aplicação de qualquer tratamento físico.

No tratamento de termoterapia as sementes foram colocadas em pequenos sacos confeccionados com tecido de malha e atados com cordão de algodão para seguidamente serem pré-aquecidas a 43 °C em estufa com ventilação durante 5 minutos. Após o pré-aquecimento, as sementes foram submetidas a um tratamento térmico em banho-maria a 49 °C durante 30 minutos segundo a metodologia usada por Soave e Wetzel (1987). Após o tratamento as sementes foram imediatamente utilizadas para a montagem dos testes.

Os tratamentos de ozono consistiram na exposição das sementes a este gás durante 100 e 200 minutos. As sementes foram alocadas dentro de uma câmara feita com uma caixa organizadora de plástico com dimensão 41×29×25 cm e capacidade de 20 litros. O ozono produzido pelo equipamento Ozone Generator era levado até o interior da câmara através de uma mangueira. No interior da caixa foi inserido um sistema de arrefecimento (cooler) para uniformizar a circulação do gás (Figura 1).

A avaliação da eficiência e nível de danos fisiológicos causados pelos diferentes tratamentos foi realizada através dos testes de germinação,

envelhecimento acelerado, comprimento e massa seca de plântula, emergência total, e índice de velocidade de emergência. A sanidade das sementes foi avaliada através do Blotter-test.

A experiência foi conduzida com um delineamento experimental em blocos casualizados com quatro repetições. Utilizou-se 20 sementes por repetição para os testes de comprimento e massa seca de plântula, e para os demais testes, 50 sementes por repetição.

O teste de germinação foi realizado através da distribuição das sementes provenientes de cada tratamento sobre papel mata borrão, humedecido com água destilada em 2,5 vezes sua massa seca, dentro de caixas Gerbox® com tampas, e mantidos em germinador do tipo Mangelsdorf, a 20°C sob luz branca constante. A primeira contagem de plântulas normais (plântulas com estruturas de raiz e parte aérea bem desenvolvidas, proporcionais e saudáveis) foi realizada após quatro dias de instalação do teste, e após sete dias foi feita a contagem final (Brasil, 2009).

O envelhecimento acelerado foi realizado através da distribuição das sementes de maneira uniforme, sobre uma tela de alumínio fixada no interior de caixas plásticas tipo Gerbox® (mini-câmaras).

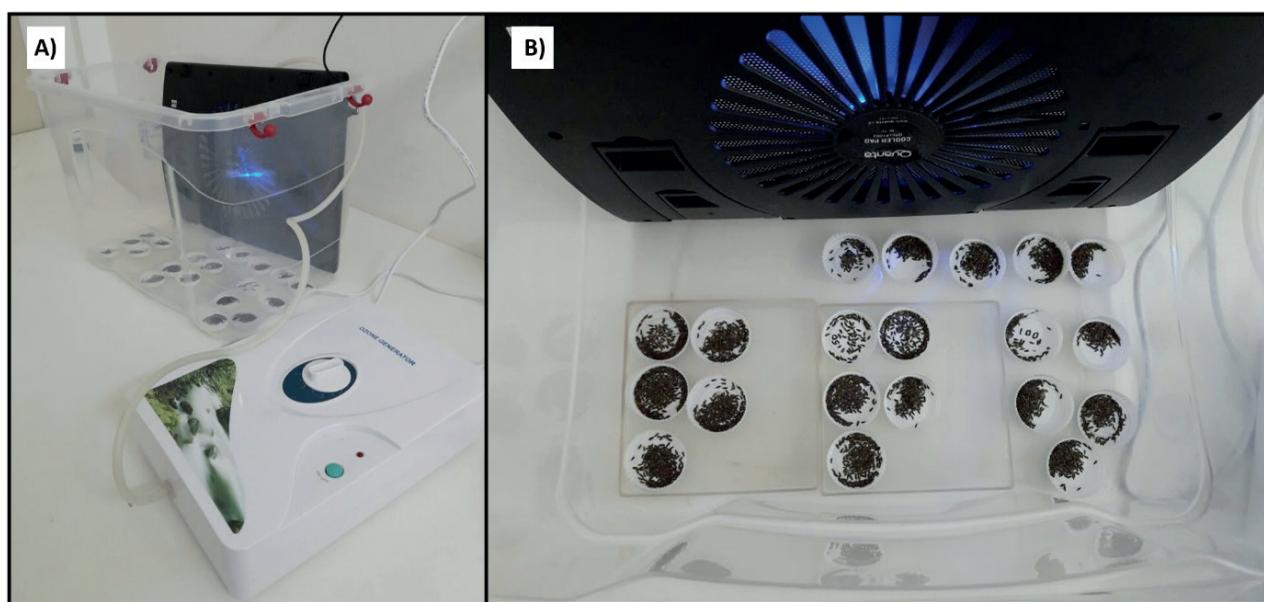


Figura 1 - Caixa organizadora acoplada ao Ozone Generator (A). Interior da caixa com o cooler e as sementes em copos de plástico recortados (B).

No interior de cada mini-câmara foi adicionado 40 ml de solução salina de NaCl (na concentração de 40g/100ml de água destilada) e estas mantidas em incubadora regulada a 41°C durante 72 horas (Barbosa *et al.*, 2011). Após esse período, as sementes foram submetidas ao teste de germinação seguindo os parâmetros descritos nas Regras de Análise de Sementes (Brasil, 2009).

O comprimento das plântulas foi avaliado por meio da distribuição das sementes sobre papel mata borrão, humedecido com água destilada em 2,5 vezes sua massa seca, dentro de caixas Gerbox® que foram mantidas inclinadas a 45° em germinador do tipo Mangelsdorf no escuro a 20°C durante sete dias. Após esse período, o comprimento das plântulas foi medido com o auxílio de régua milimétrica (Nakagawa, 1999).

A massa seca foi realizada através da separação da raiz e parte aérea das plântulas provenientes do teste de comprimento. Estas foram alocadas em sacos de papel do tipo Kraft, e em seguida, submetidas em estufa a 80 °C por 24h. As plântulas foram pesadas em balança de precisão e os resultados expressos em mg/plântula (Nakagawa, 1999).

Para determinação da emergência total e índice de velocidade de emergência as sementes foram semeadas em bandejas de plástico retangular, utilizando areia como substrato. As bandejas foram mantidas no laboratório e realizou-se o molhamento uma vez ao dia. Diariamente foi feita a avaliação do índice de velocidade de emergência através da contagem do número de plântulas emersas durante o período que compreende a instalação até a estabilização da emergência das plântulas, e os resultados foram calculados através da fórmula proposta por Maguire (1962). A emergência total foi registrada após 14 dias a partir da sementeira observando-se as características de plântula normal para parte aérea, sendo os resultados expressos em porcentagem de plântulas emersas.

Para o teste de patologia (Blotter test) as sementes foram distribuídas sobre duas folhas de papel mata borrão esterilizado e umedecido com água destilada esterilizada (2,5 vezes o peso do papel) dentro de caixas plásticas do tipo Gerbox® previamente desinfetadas com solução de álcool 70%. As caixas com as sementes foram incubadas a 20°C durante

sete dias sob luz branca fluorescente, e fotoperíodo de 12 horas, para posterior identificação dos fungos através da observação de suas estruturas em microscópio estereoscópico e ótico, metodologia adaptada de Brasil (2009).

A análise estatística dos resultados experimentais realizou-se utilizando a análise de variância com o programa Sisvar. Os dados obtidos foram testados quanto aos pressupostos estatísticos de homogeneidade (Hartley), e normalidade (Shapiro Wilk). A comparação entre os tratamentos realizou-se com base na menor diferença significativa ($P < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste de germinação demonstrou que a termoterapia se diferenciou estatisticamente dos demais tratamentos ao obter o maior número de plântulas normais (Quadro 1). Para a primeira contagem de germinação, além da termoterapia, as sementes tratadas com ozono 100 e ozono 200 também apresentaram maior velocidade de germinação e formação de plântulas devido seus resultados superiores com relação ao controle.

Não se verificaram diferenças significativas nos testes de envelhecimento acelerado, emergência total, índice de velocidade de emergência, e comprimento de parte aérea e radicular em comparação com o tratamento controle. No entanto, a massa seca de parte radicular aumentou sob o efeito dos diferentes tratamentos. Por sua vez, a massa seca de parte aérea apenas aumentou sob o efeito dos tratamentos de termoterapia e ozono 200.

No teste de patologia (Quadro 2) realizado através do Blotter test verificou-se que a termoterapia foi eficiente no controle de *Alternaria* spp., contudo favoreceu o desenvolvimento do patógeno *Aspergillus* spp. em relação aos tratamentos com ozono. Quando avaliada a porcentagem de sementes sadias e da presença de *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *Rhizopus* sp., *Cladosporium* sp., *Epicocum* sp., *Phoma* sp., *Cercospora* sp., e bacterioses encontrados nos lotes tratados foi possível observar que não houve diferença estatística entre os tratamentos.

Espécies reativas de oxigênio como o ozono, podem causar o afrouxamento da parede celular

Quadro 1 - Testes de germinação(G), primeira contagem de germinação (PC), envelhecimento acelerado (EA), emergência total (E), índice de velocidade de emergência (IVE) comprimento de parte aérea (Cpa), comprimento de parte radicular (Cr), massa seca de parte aérea (Mpa), massa seca de parte radicular (Mr), e em resposta aos tratamentos de termoterapia (Term), ozono100 (Oz100), ozono 200 (Oz200) e um tratamento controle (Cont)

Trat	G (%)	PC (%)	EA (%)	E (%)	IVE (%)	Cpa (cm)	Cr (cm)	Mpa (mg)	Mr (mg)
Cont	26 b	17 b	27 a	32.5 a	12,64 a	1,00 a	2,23 a	0,0048 b	0,0024 b
Termo	61 a	48 a	16 a	44.0 a	15,54 a	1,95 a	3,96 a	0,0103 a	0,0062 a
Oz100	55 ab	46 a	23 a	48.5 a	19,79 a	2,14 a	4,35 a	0,0080 ab	0,0050 a
Oz200	55 ab	46 a	37 a	36.5 a	14,59 a	1,58 a	3,30 a	0,0090 a	0,0061 a
Pr**	0,0244	0,0047	0,1379	0,0466	0,0807	0,1053	0,1173	0,005	0,0001
DMS***	30,805	23,424	24,181	16,005	7,483	1,314	2,504	0,003	0,001
CV (%)****	29,63	28,15	44,5	18,88	22,78	37,44	34,43	21,87	16,48

*Médias seguidas por letras diferentes nas colunas são diferentes estatisticamente (P < 0,05).

** P- Valor da análise de variância.

*** Diferença mínima significativa (DMS)

**** Coeficiente de variação (CV)

Quadro 2 - Testes de patologia obtidos com o equipamento Blotter test: *Aspergillus* spp. (ASP), *Penicillium* spp. (PEN), *Alternaria* spp. (ALT), *Fusarium* spp. (FUS), *Rhizopus* spp. (RHI), *Cladosporium* spp. (CLA), *Epicocum* sp. (EPI), *Phoma* sp. (PHO), *Cercospora* sp. (CER), bacterioses (BAC), e sementes sem qualquer patologia em resposta aos tratamentos de termoterapia (Term), ozono100 (Oz100), ozono 200 (Oz200) e um tratamento controle (Cont)

Trat	ASP	ALT	PEN	FUS	RHI	CLA	EPI	PHO	CER	BAC	SADIAS
Cont	0,00 a	31,00 b	1,50 a	4,50 a	0,00 a	2,00 a	2,50 a	0,00 a	0,50 a	1,00 a	58,00 a
Termo	5,00 b	0,00 a	15,00 a	0,50 a	0,50 a	0,50 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	1,50 a	73,00 a
Oz100	0,00 a	21,00 ab	0,00 a	1,00 a	0,50 a	0,00 a	2,00 a	1,00 a	0,00 a	1,50 a	66,50 a
Oz200	0,50 a	18,50 ab	0,00 a	4,50 a	0,00 a	2,00 a	72,50 a				
Pr**	0,005	0,009	0,036	0,430	0,589	0,243	0,122	0,073	0,426	0,921	0,280
DMS***	3,786	21,917	15,420	9,174	1,485	3,150	3,587	1,212	1,050	4,287	24,446
CV (%)****	131,11	59,21	178,01	166,42	282,84	240,00	151,81	230,94	400,00	136,08	17,25

*Médias seguidas por letras diferentes nas colunas são diferentes estatisticamente (P < 0,05).

** P- Valor da análise de variância.

*** Diferença mínima significativa (DMS)

**** Coeficiente de variação (CV)

favorecendo processos como a germinação (Fry, 1998). Violleau (2008) também concluiu à semelhança do que sucedeu neste trabalho que o tratamento de sementes de milho com ozono favoreceu o processo germinativo, e, além disso, o stress oxidativo promovido pela exposição ao gás permitiu aumentar a velocidade de germinação.

A germinação acelerada das sementes submetidas ao gás ozono também pode estar relacionada com a sua ação na degradação da lignina, composto normalmente encontrado no tegumento de sementes e que lhes confere proteção (Bodmer, 1991). Esse gás é capaz de oxidar compostos que possuem ligações duplas em sua estrutura molecular (García-Cubero *et al.*, 2009), e a lignina possui esse tipo de ligação (Perrone, 2015).

O tegumento influencia na capacidade de absorção de água pela semente, o que pode ser um obstáculo para a germinação (Santarém e Aquila, 1995). Entre os vários métodos usados para superar a impermeabilidade do tegumento e da dormência, a ação oxidante do ozono sobre a lignina pode ser útil para transpor a barreira imposta pelo tegumento permitindo o início da germinação (Almeida *et al.*, 2004).

O endosperma das sementes de alface é constituído principalmente de galactomananas (Nascimento *et al.*, 2004). As galactomananas são polissacarídeos componentes da hemicelulose que fazem parte da parede celular (Bon *et al.*, 2008). Ben-Ghedalia e Miron (1981) e Sun & Cheng (2002) referem que o ozono tem sido utilizado como agente

na degradação de hemicelulose em tecido vegetal como na palha de trigo. Estes resultados sugerem que a germinação pode ser facilitada pela ação do ozono não apenas sobre o tegumento, mas também sobre o endosperma das sementes.

Com relação ao efeito positivo do ozono sobre a produção massa seca Yvin e Coste (1997) destacaram que no tratamento de sementes de diversas espécies vegetais, o gás promoveu aumento no peso de matéria seca de plântulas. Violleau *et al.* (2008) também observou que a ozonização proporcionou um maior crescimento das raízes de plântulas de milho devido à produção de ácido jasmônico resultante do stress oxidativo da semente exposta ao ozono.

Diante disso, percebe-se que tais afirmações corroboram aos resultados obtidos nesse trabalho, principalmente em relação a massa de matéria seca de parte radicular das plântulas provenientes de sementes expostas ao ozono, as quais alcançaram médias superiores ao controle.

Com relação ao efeito benéfico da termoterapia sobre a germinação das sementes Vazquez-Yanes (1975) afirma que a imersão em água quente é capaz de modificar a permeabilidade do tegumento e estimular a germinação. Isso ocorre pois o tratamento potencializa absorção de água pela semente, e a ação do calor combinado com o tempo de exposição facilita a quebra da rigidez do tegumento (Martins *et al.*, 2011) devido a desnaturação dos tecidos superficiais da semente (Pereira *et al.*, 2015).

É importante salientar também que a elevação da temperatura promove alterações na velocidade das reações de mobilização e degradação de reservas armazenadas que afetam o crescimento das plântulas (Bewley e Black, 1994). Sendo assim, vale ressaltar, que a maior translocação de matéria seca de reserva em direção ao eixo embrionário origina plântulas mais pesadas (Nakagawa, 1999).

Um item importante a ser discutido antes da avaliação da patologia propriamente dita, diz respeito aos valores de coeficiente de variação (cv) obtidos neste teste. Em ensaios relacionados a patologia vegetal é comum encontrar coeficientes de

variação altos. Poletto (2010) ao avaliar população de *Fusarium* sp. em erva-mate trabalhou com cv de 64,6%. Kingelfuss e Yorinori (2001) trabalharam com cv de 87,83% ao avaliar níveis de colonização por *Colletrotrichum* sp. e *Cercospora* sp. em folíolos de soja tratados com fungicida.

O efeito da termoterapia no controle do fungo *Alternaria* spp, foi referido por Cunha *et al.* (2017) num ensaio realizado com sementes de abóbora e por Costa *et al.* (2011) com sementes de tomate cereja. O desenvolvimento do fungo *Aspergillus* spp. devido ao efeito da termoterapia também foi referido por Cunha *et al.* (2017) em sementes de abóbora. Estes autores sugerem que o aumento da temperatura pode ter contribuído para reduzir a competição com fungos de crescimento rápido que poderiam inibir o crescimento do *Aspergillus* spp. Por outro lado, Lazaroto *et al.* (2009) atribuíram a alta incidência de *Aspergillus niger* no tratamento de sementes de cedro com água a 50°C durante 30 minutos, ao aumento do teor de humidade e de temperatura que terão favorecido o desenvolvimento de fungos deterioradores.

CONCLUSÃO

O tratamento de termoterapia aumenta a porcentagem de germinação de sementes de alface e o teor de matéria seca de parte aérea e radicular das plântulas.

A ozonização das sementes de alface pelo período de 100 minutos contribui para aumentar o teor de matéria seca da parte radicular. Por sua vez, se o período de exposição ao gás ozono duplicar o teor de matéria seca da parte aérea também aumenta em comparação com controle.

O tratamento térmico é eficiente no controle do fungo *Alternaria* sp., entretanto favorece o desenvolvimento de *Aspergillus* sp.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, CNPq e Fundação Araucária pelo apoio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, E.; Assalin, M.R.; Rosa, M.A. & Durán, N. (2004) - Tratamento de efluentes industriais por processos oxidativos na presença de ozônio. *Química Nova*, vol. 27, n. 5, p. 818-824. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000500023>
- Barbosa, R.M.; Costa, D.S. & Sá, M. (2011) - Envelhecimento acelerado em sementes de alface. *Ciência Rural*, vol. 41, n. 11, art. 18991902. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782011005000138>
- Ben-Ghedalia, D. & Miron, J. (1981) - Effect of sodium hydroxide, ozone and sulphur dioxide on the composition and in vitro digestibility of wheat straw. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 32, n. 3, p. 224-228. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740320304>
- Bewley, J.D. & Black, M. (1994) - *Seeds*. 2ª ed, Boston, MA. p. 1-33.
- Bodmer, R.E. (1991) - Strategies of seed dispersal and seed predation in Amazonian Ungulates. *Biotropica*, vol. 23, n. 3, p. 255-261. <https://doi.org/10.2307/2388202>
- Bon, E.P.S.; Ferrara, M.A. & Corvo, M.L. (2008) - *Enzimas em biotecnologia: produção, aplicações e mercado*. Rio de Janeiro: Interciência: UFRJ: CAPES: FAPERJ: FCT (Portugal).
- Brand, S.C.; Antonello, L.M.; Muniz, M.F.B.; Blume, E.; Santos, V.J. & Reininger, L.T.R.S. (2009) - Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de soja submetidas a tratamento com bioprotetor e fungicida. *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 31, n. 4, p. 87-94. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222009000400010>
- Brasil (2009) - *Regras para análise de sementes*. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Brasília, DF. 365 p.
- Costa, I.J.S.; Soares, E.P.S.; Sales, N.L.P.; Azevedo, D.M.Q.; Rocha, A.P. & Aquino, C.F. (2011) - Tratamento de sementes de tomate cereja visando sanidade e germinação através da termoterapia. *Cadernos de Agroecologia*, vol. 6, n. 2.
- Cunha, R.P.; Carvalho, I.L.; Olsen, D.; Vieira J.F.; Soares, V.N. & Tunes, L.M. (2017) - Termoterapia no controle de patógenos associados às sementes de abóbora. *Tecnologia e Ciência Agropecuária*, vol. 11, n. 2, p. 53-57.
- Faria, A.N. (2007) - *Agricultura orgânica*. Dossiê técnico, 23 p.
- Fry, S.C. (1998) - Oxidative scission of plant cell wall polysaccharides by ascorbate-induced hydroxyl radicals. *Biochemical Journal*, vol. 332, n. 2, p. 507-515. <https://doi.org/10.1042/bj3320507>
- García-Cubero, M.T.; González-Beniro, G.; Indacochea, I.; Coca, M. & Bolado, S. (2009) - Effect of ozonolysis pretreatment on enzymatic digestibility of wheat and rye straw. *Bioresource Technology*, vol. 100, n. 4, p. 1608-1613. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.09.012>
- Güzel-Seydim, Z.; Bever, P.I. & Greene, A.K. (2004) - Efficacy of ozone to reduce bacterial populations in the presence of food components. *Food Microbiology*, vol. 21, n. 4, p. 475-479. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2003.10.001>
- Klingelfuss, L.H. & Yorinori, J.T. (2002) - Latent infection by *Colletotrichum truncatum* and *Cercospora kikuchii* in soybean. *Fitopatologia Brasileira*, vol. 26, n. 2, p. 158-164. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-41582001000200007>
- Lanita, C.S. & Silva, S.B. (2008) - Uso de ozônio em câmara industrial para controle de bolores e leveduras durante a maturação de queijo tipo parmesão. *Brazilian Journal of Food Technology*, vol. 11, n. 3, p. 182-189.
- Lazaroto, M.; Giradi, L.B.; Mezzono, R.; Piveta, G.; Muniz, M.F.B. & Blume, E. (2009) - Tratamentos alternativos para o controle de patógenos em sementes de cedro (*Cedrela fissilis*). *Revista Brasileira de Agroecologia*, vol. 4, n. 2, p. 75-78.
- Lopes, C.A.; Quezado-Durval, A.M. & Reis, A. (2010) - *Doenças da alface*. Brasília: Embrapa Hortaliças, ed. 1, p.7-38.
- Machado, J.C. & Souza, R.M. (2009) - Tratamento de sementes de hortaliças para controle de patógenos: princípios e aplicações. In: Nascimento, W.M. (Ed.) - *Tecnologia de sementes de hortaliças*. 1. ed. Brasília: Embrapa Hortaliças. p. 247- 271.
- Maguire, J.D. (1962) - Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, vol. 2, n. 2, p. 176-177. <https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>
- Martins, C.A.S.; Lopes, J.C. & Macedo, C.M.P. (2011) - Pre-germinative treatments in okra seeds in different stadiums of fruit maturation. *Semina: Ciências Agrárias*, vol. 32, n. 4, p. 1759-1770. <http://dx.doi.org/10.5433/16790359.2011v32n4Sup1p1759>
- Mogharbel, A.D.I. & Masson, M.L. (2005) - Perigos associados ao consumo da alface (*Lactuca sativa*), in natura. *Jornal de Alimentação e Nutrição*, vol. 16, n. 1, p. 83-88.

- Nakagawa, J. (1999) - Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: Vieira, R.D. & Carvalho, N.M. (Eds.) - *Testes de vigor em sementes*. Jaboticabal: FUNEP. p. 49-85.
- Nascimento, W.M.; Cantliffe, D.J. & Huber, D.J. (2004) - Ethylene evolution and endo-beta-mannanase activity during lettuce seed germination at high temperature. *Scientia Agricola*, vol. 61, n. 2, p. 156-163. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90162004000200006>
- Pereira, R.B.; Silva, P.P.; Nascimento, W.M. & Pinheiro, J.B. (2015) - *Tratamento de Sementes de Hortaliças*. Embrapa Hortaliças. Brasília, p.20.
- Perrone, O.M. (2015) - *Avaliação térmica e estrutural do bagaço de cana de açúcar pré-tratado com ozônio, ultrassom e micro-ondas para produção de etanol celulósico por hidrólise enzimática*. Dissertação de mestrado. São José do Rio Preto. Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho. 65 p.
- Poletto, I. (2010) - *Caracterização e manejo do patossistema erva-mate/podridão-de-raízes*. Tese de Doutorado. Santa Maria. Universidade Federal de Santa Maria.
- Santarém, E.R. & Aquila, M.E.A. (1995) - Influência de métodos de superação de dormência e do armazenamento na germinação de sementes de *Sennamacranthera* (Colladon) Irwin & Barneby (Leguminosae). *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 17, n. 2, p. 205-209.
- Oliveira, M.D.M.; Nascimento, L.C.; Alves, E.U.; Gonçalves, E.P.; Guedes, R.S. & Neto, J.J.S. (2011) - Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de *Amburana cearensis* A.C. Smith submetidas à termoterapia e tratamento químico. *Acta Scientiarum. Agronomy*, vol. 33, n. 1, p. 45-50. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v33i1.5645>
- Santos, L.A.; Faria, C.M.D.R.; Marek, J.; Duhatschek, E. & Martinichen, D. (2016) - Radioterapia e Termoterapia como tratamentos de sementes de Soja. *Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science*, vol. 9, n. 2, p. 37-44. <https://doi.org/10.5935/PAeT.V9.N2.04>
- Silva, J.B.C.; Santos, P.E.C. & Nascimento, W.M. (2002) - Desempenho de sementes peletizadas de alface em função do material cimentante e da temperatura de secagem dos péletes. *Horticultura Brasileira*, vol. 20, n. 1, p. 67-70. <https://doi.org/10.1590/S0102-05362002000100013>
- Soave, J. & Wetzel, M.M.V. da S. (1987) - *Patologia de sementes*. Campinas: Fundação Cargill, 480 p.
- Sun, Y. & Cheng, J. (2002) - Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology*, vol. 83, n. 1, p. 1-11. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00212-7](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00212-7)
- Vazquez-Yanes, C. (1975) - The use of a thermogradient bar in the study of seed germination in *Ochroma lagopus* SW. *Turrialba*, vol. 25, n. 3, p. 328-330.
- Violleau, F.; Hadjeba, K.; Albert, J.; Casalis, R. & Surel, O. (2008) - Effect of oxidative treatment on corn seed germination kinetics. *Ozone: Science and Engineering*, vol. 30, n. 6, p. 418-422. <https://doi.org/10.1080/01919510802474631>
- Yvin, J.C. & Coste, C. (1997) - *Method and system for the treatment of seeds and bulbs with ozone*. U.S. Patent n. 5,703,009.