

---

**Avaliação da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de feijão-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) produzidas sob manejo orgânico e submetidas ao congelamento.**

Physiological and Sanitary Quality Evaluation of Organic Seeds of Snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Subjected to Freezing.

BRITO, Renata<sup>1</sup>; LOPES, Higino Marcos<sup>2</sup>; FERNANDES, Maria do Carmo de Araújo<sup>3</sup>; AGUIAR, Luiz Augusto de<sup>4</sup>; CEARÁ, Paula Senna<sup>5</sup>

1 Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica/RJ – Brasil, renatabrito26@yahoo.com.br; 2 higinomlopes@gmail.com; 3 Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro(PESAGRO-RIO), Rio de Janeiro/RJ – Brasil, araujofernandes@gmail.com; 4 Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro(PESAGRO-RIO), Rio de Janeiro/RJ – Brasil, laaguiar86@gmail.com; 5 Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica/RJ – Brasil, paulaceara1@yahoo.com.br

---

**RESUMO:** Com o avanço da agricultura orgânica, cresce a demanda por sementes de qualidade oriundas desse sistema de produção. A utilização de fungicidas químicos é vetada em todo o manejo do sistema orgânico de produção e tratamentos alternativos devem ser utilizados com eficiência, preservando a qualidade física, fisiológica e sanitária das sementes. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade fisiológica e sanitária de sementes de feijão vagem produzidas sob o cultivo orgânico e submetidas ao congelamento. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Controle de Qualidade de Sementes, do Instituto de Agronomia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, e no laboratório de Análises de Sementes do Centro Estadual de Pesquisa em Agricultura Orgânica (CEPAO) /Empresa de pesquisa agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (PESAGRO-RIO RJ), ambos localizados no município de Seropédica-RJ. Dois lotes de sementes orgânicas de feijão-vagem, com teores de água de 9 e 12% foram acondicionados em garrafas PET (politereftalato de etileno) no freezer, à uma temperatura de -18° C por 24 e 48 horas. Avaliou-se a qualidade fisiológica por meio dos testes de germinação e vigor (primeira contagem e condutividade elétrica) e a sanidade através do Blotter test. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições em esquema fatorial 2x2x2 (dois lotes x dois teores de água x dois períodos de exposição à temperatura de -18°C). Sementes com teores de água 9 e 12 % submetidas à temperatura de -18°C não apresentaram redução da qualidade fisiológica quando o tempo de exposição utilizado foi de 24 horas. O congelamento durante o período de 24 horas diminuiu a incidência de fungos nas sementes dos dois lotes avaliados.

**PALAVRAS-CHAVE:** Agricultura orgânica, *Phaseolus vulgaris* L., Congelamento.

**ABSTRACT:** With the advancement of organic agriculture, the demand for quality seed by this system of production are. The use of Chemical fungicide are banned throughout the handling of the organic system, them, the alternative treatments should be used efficiently, preserving the physical, physiological and sanitary quality of the seed. This study aimed to evaluate the physiological and sanitary quality of bean seed pods produced under organic cultivation and submitted to freezing. The experiments were conducted at the Laboratory of Seed Quality Control by Institute of Agronomy in the University Federal Rural do Rio de Janeiro, and in the laboratory of Seed Analysis of the State Center for Research in Organic Agriculture (CEPAO) Agricultural research undertaking in the State of Rio de Janeiro (RJ PESAGRO-RIO), both located in the district of Seropédica-RJ. Two seed lots of organic green beans, with moisture of 9 and 12% were placed in PET bottles (polyethylene terephthalate) in the freezer at -18 ° C for 24 and 48 hours. We evaluated the physiological quality through germination and vigor tests (first count and electrical conductivity) and sanity through Blotter test. It was used a completely randomized design with four repetitions in a factorial scheme 2 x 2 x 2 (two lots x two moisture x two periods of exposure to exposure to -18°C). Seeds with moisture content 9 and 12% submitted to -18 ° C showed no reduction in the physiological quality when the exposure time used was 24 hours. The freezing during 24 hours decreased the incidence of fungi on seeds of both lots evaluated.

**KEY WORDS:** Organic agriculture, *Phaseolus vulgaris* L., Freezing.

Correspondências para: renatabrito26@yahoo.com.br

Aceito para publicação em 22/07/2013

## Introdução

O Feijão-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma hortaliça de grande aceitação e consumo em todo o Brasil, com destaque para a região sudeste, especialmente o Rio de Janeiro. Está entre as principais hortaliças, sendo a terceira melhor opção como fonte de cálcio entre 39 plantas (frutos e vegetais) analisadas por Stevens (1994). Seu cultivo é destinado ao consumo de vagens verdes, que possuem quantidades consideráveis de vitaminas e sais minerais (JASSEM, 1992; PINTO et al., 2001). No estado do Rio de Janeiro, o cultivo de feijão-vagem é realizado por pequenos agricultores e agricultores orgânicos, o que aumenta a necessidade da geração de tecnologias voltadas para o sistema de produção orgânico.

Considerando-se que o padrão de germinação, vigor, qualidade sanitária e pureza para sementes orgânicas é regido pelas mesmas condições das sementes produzidas em sistemas convencionais (Lei nº 10.711, de 5 de Agosto de 2003), conclui-se que os desafios têm início no campo, e se estendem ao longo de todo o processo de produção, chegando à etapa de tratamento, conservação e armazenamento adequados dessas sementes nas propriedades.

O uso de agroquímicos como fungicidas e inseticidas é empregado no controle de insetos e patógenos no sistema convencional de produção de sementes, desde a semeadura ao armazenamento. No entanto, no sistema orgânico é vetado o uso de qualquer agroquímico em todas as etapas de produção. A Instrução Normativa nº 38 de 2 de Agosto de 2011, foi criada a partir de uma consulta pública e surgiu para regulamentar essa proibição (BRASIL, 2011). Características peculiares do sistema orgânico de produção exigem maiores estudos de metodologias alternativas às convencionais para o tratamento de sementes. Dentre as metodologias alternativas de tratamento de sementes pode-se citar o uso de métodos físicos para o combate de insetos e

patógenos associados às sementes. Um destes métodos, chamado de termoterapia, consiste na exposição de sementes a temperaturas letais ao patógeno sem afetar a germinação das mesmas (OLIVEIRA et.al., 2005). Deve-se considerar o uso de temperaturas subzero como uma alternativa viável, por ser uma técnica isenta de substâncias químicas e de baixo custo, uma vez que as sementes são expostas às baixas temperaturas, eliminando ou diminuindo possíveis insetos e patógenos presentes nas sementes. No entanto, não devem comprometer a qualidade fisiológica das sementes, inviabilizando-as para a semeadura.

Para sementes ortodoxas, que toleram a secagem e o congelamento, as sementes podem ser armazenadas a -20°C (EIRA & MELLO, 1997; SALOMÃO, 2002). Sementes com alto teor de água também não podem ser armazenadas em temperaturas abaixo de zero, porque o rápido declínio da temperatura pode conduzir ao super-resfriamento das soluções aquosas celulares, acarretando a formação de gelo intracelular, com várias consequências, como a formação de cristais de gelo e seus distúrbios na integridade do protoplasma, que são instantaneamente letais (BURKE et al., 1976). O gelo ocupa maior volume que a água líquida, mas nas plantas forma-se principalmente, em espaços vazios. Se o teor de água dos tecidos vegetais for elevado, o excesso de água levará ao congelamento extracelular e intracelular, podendo ocasionar vários distúrbios nas células, tecidos e nas plantas como um todo (GUY, 2003). Portanto, são necessários estudos relativos à temperatura, ao teor de água das sementes e ao tempo de exposição às temperaturas subzero.

Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar a qualidade fisiológica e sanitária de sementes orgânicas de feijão-vagem com dois teores de água diferentes, expostas por dois períodos (24 e 48 horas) à temperatura de -18°C.

## Material e Métodos

O trabalho foi conduzido no período de Agosto de 2011 a Julho de 2012. Os experimentos foram realizados no laboratório de Controle de Qualidade de Sementes, do Instituto de Agronomia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e no laboratório de Análises de Sementes do Centro Estadual de Pesquisa em Agricultura Orgânica (CEPAO) /Empresa de pesquisa agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (PESAGRO-RIO RJ), ambos localizados no município de Seropédica-RJ.

Neste experimento foram utilizados dois lotes de sementes de feijão-vagem, cultivar Alessa (LEAL & BLISS, 1990) produzidos sob manejo orgânico no campo experimental do Centro Estadual de Pesquisa em Agricultura Orgânica (CEPAO) /Empresa de pesquisa agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (PESAGRO-RIO, RJ), município de Paty do Alferes, RJ. Os lotes foram colhidos em épocas distintas, com diferença de 30 dias entre eles. O lote colhido em Agosto de 2011 foi denominado Lote 1, e o lote colhido em Setembro de 2011, foi chamado de Lote 2. Para caracterização da qualidade fisiológica dos lotes antes do congelamento, foram realizados testes de germinação e condutividade elétrica e para qualidade sanitária foi utilizado o Blotter test, conforme metodologias descritas adiante. Os lotes 1 e lote 2 apresentavam germinação inicial de 96% e 87% respectivamente, e ambos com 12% de teor de água. Foram retiradas amostras dos dois lotes para o ajuste do teor de água das sementes de 12 % para 9%.

Para a obtenção de sementes com 9% de teor de água, as sementes foram submetidas à secagem em estufa com circulação de ar na temperatura de 35°C. Foi realizado, periodicamente, o monitoramento da quantidade de água retirada das sementes por meio de pesagens e posterior comparação com os pesos necessários para atingir o teor de água desejado de 9%.

As amostras de sementes de cada lote com 9 e 12% de teor de água foram acondicionadas em garrafas plásticas do tipo PET ( politereftalato de etileno) e submetidas ao congelamento no freezer a uma temperatura de -18°C, por 24 e 48 horas. Para evitar o contato direto das garrafas com o fundo do freezer, colocou-se sob elas um suporte de isopor, proporcionando assim isolamento adequado das sementes. Após a submissão das mesmas ao congelamento, as garrafas foram retiradas do freezer e mantidas por 24 horas em caixa de isopor para o descongelamento gradual das sementes. Anteriormente ao procedimento citado, determinou-se o teor de água de amostras dessas sementes. A temperatura durante o período de descongelamento foi monitorado por meio de termômetro digital. Após o descongelamento das sementes por 24 horas, procederam-se as avaliações.

Determinação do teor de água: o teor de água foi determinado pelo método da estufa a 105±3°C, durante 24 horas, utilizando-se 4 repetições, seguindo-se as Regras para Análises de Sementes (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem.

Teste de germinação: conduzido com quatro sub amostras de 50 sementes que foram semeadas no substrato areia. A areia foi previamente peneirada, lavada, esterilizada em autoclave a 120°C e umedecida e mantida a 70% da sua capacidade de campo. As sementes foram levadas para o germinador tipo BOD à temperatura constante de 25°C. As contagens foram realizadas no quinto e nono dia após a montagem do teste, sendo computado o percentual de plântulas normais, seguindo-se as Regras para Análises de Sementes (BRASIL, 2009).

Primeira contagem de germinação: realizado em

conjunto com o teste de germinação, consiste na contagem das plântulas normais no quinto dia após a instalação do teste, conforme metodologia descrita por Marcos Filho et al (1999).

**Condutividade elétrica:** foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes para cada tratamento. Após a pesagem, as sementes foram submersas em 75 mL de água destilada, no interior de copos plásticos e, a seguir, mantidas por 24 horas em BOD (câmara) regulada a temperatura de 25°C. Ao final desse período, efetuaram-se as leituras de condutividade elétrica, expressando-se os resultados em  $\mu\text{hos. cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$  de sementes para cada tratamento (VIEIRA & KRYZANOWSKI, 1999).

**Avaliação da qualidade sanitária:** a detecção de fungos foi realizada em substrato de papel. Foram utilizadas 400 sementes por tratamento. As amostras foram distribuídas em caixas gerbox, contendo duas folhas de papel de filtro esterilizado e umedecido com água esterilizada. Em seguida, as caixas foram colocadas para incubação sob BOD, à temperatura de  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , com 2000 lux no regime de 12 horas de luz e 12 horas de escuro por um período de sete dias, quando se procedeu a

identificação dos patógenos. A avaliação da incidência de fungos nas sementes foi realizada sete dias após a instalação do experimento, com auxílio de microscópios estereoscópico e ótico, e os resultados foram expressos em percentagem de incidência de fungos, seguindo as Regras para Análises de sementes (BRASIL, 2009).

**Análise estatística:** O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições em esquema fatorial  $2 \times 2 \times 2$  (dois lotes  $\times$  dois teores de água  $\times$  dois períodos de exposição). Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de probabilidade de 5 %.

## Resultados e Discussão

A Tabela 1 apresenta os resultados das avaliações de qualidade fisiológica dos dois lotes de sementes de feijão-vagem antes do congelamento. Na Tabela 1 são apresentados os resultados de germinação, primeira contagem de germinação e condutividade elétrica antes do congelamento. A ocorrência de microorganismos em sementes de feijão-vagem produzidas sob manejo orgânico antes do congelamento pode ser

Tabela 1: Primeira contagem, germinação e condutividade elétrica em dois lotes de sementes de feijão-vagem produzidos sob manejo orgânico antes do congelamento.

Lotes	1° Contagem	Germinação	Condutividade elétrica
	(%)	(%)	( $\mu\text{s. cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$ )
1	74 A	96 A	56,22 A
2	63 A	87 B	62,82 B

Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey, a 5 % de probabilidade.

verificada na Tabela 5. Avaliando-se os testes de qualidade fisiológica, percebe-se diferença significativa entre os lotes 1 e 2, identificando o maior potencial fisiológico do lote 1. De acordo com a Tabela 1, as sementes do lote 2 apresentaram maiores valores para condutividade. Conforme afirmaram Delouche & Baskin (1973), a danificação das membranas e a consequente lixiviação de eletrólitos estão entre os primeiros eventos do processo de deterioração das sementes. De acordo com os resultados (Tabela 1), verificou-se que a porcentagem de germinação no lote 1 foi maior, no entanto os dois lotes apresentaram germinação superior ao padrão (80%) para comercialização de sementes de feijão-vagem, estabelecido pela

legislação (BRASIL, 2005).

Depois de retiradas do freezer à temperatura de  $-18^{\circ}\text{C}$ , determinou-se o teor de água das amostras dos dois lotes, com dois teores de água (9 e 12 %), submetidas ao congelamento por 24 e 48 horas. Não houve alteração no teor de água das sementes. Portanto, conclui-se que a garrafa PET manteve-se impermeável, impedindo a ocorrência de trocas de vapor de água entre as sementes e a atmosfera do ambiente.

Para a primeira contagem do teste de germinação, foram observadas interações entre os lotes e o período de exposição e período de exposição e teor de água (Tabela 2). Comparando os resultados, as sementes do lote 1 apresentaram

Tabela 2: Porcentagem de plântulas normais na primeira contagem da germinação de sementes de feijão-vagem produzidas sob manejo orgânico, em função dos lotes e do período de exposição ao congelamento à  $-18^{\circ}\text{C}$ ; e em função do período de exposição ao congelamento à  $-18^{\circ}\text{C}$  e do teor de água

Lotes	Período de exposição	
	24 horas	48 horas
1	91,50 A a	77,00 Ba
2	61,00 Ab	57,50 Ab

  

Período de exposição	Teor de água	
	9%	12%
24 horas	92,50 Aa	61,00 Ba
48 horas	76,00 Ab	57,50 Ba

Letras minúsculas discriminam médias nas colunas e letras maiúsculas discriminam médias nas linhas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

maior porcentagem de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação quando a expostas ao período de 24 horas de congelamento. Apesar de não acusada a diferença significativa no lote 2 quanto ao tempo de exposição, observa-se que no período de 24 horas, a porcentagem de plântulas normais na primeira contagem é maior do que no período de 48 horas. E quando comparado o lote 1 ao lote 2, pode-se constatar maior vigor no lote 1, mesmo após o congelamento nos dois períodos de exposição à temperaturas subzero. O tempo de exposição das sementes a  $-18^{\circ}\text{C}$ , neste caso (48 horas) pode ter alterado as estruturas celulares, os tecidos, principalmente do embrião, diminuindo assim o vigor. Portanto, para o congelamento devem ser escolhidos lotes de sementes com maior porcentagem de germinação e vigor inicial.

Ainda avaliando-se a primeira contagem do teste de germinação, verificou-se resultado significativo para a interação período de exposição e teor de água. No tempo de exposição de 24 horas, foi observado melhor resultado das sementes com teor de água de 9%. E no tempo de exposição de 48 horas, a maior porcentagem de plântulas normais na primeira contagem ocorreu também nas sementes com teor de água mais baixo. Baixos teores de água nas sementes reduzem a possibilidade de formação de cristais de gelo nas estruturas intracelulares das sementes quando expostas às temperaturas subzero, atenuando assim, danos decorrentes do congelamento. Resultados semelhantes para a primeira contagem do teste de germinação foram encontrados por José et al. (2010), quando submeteram sementes de girassol à temperatura subzero de  $-20^{\circ}\text{C}$  com diferentes teores de água. As sementes com teores de água 4,7% tiveram desempenho superior àquelas com 10,2 % quando submetidas à temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Na avaliação da germinação, foram encontradas interações significativas entre os fatores lote e

período de exposição, e lote e teor de água na porcentagem de germinação das sementes, representados aqui pela Tabela 3. No lote 1 observa-se que houve redução da porcentagem de germinação quando o tempo de exposição à temperatura subzero foi de 48 horas. Apesar disso, o lote 1 manteve os padrões exigidos para comercialização (porcentagem de germinação acima de 80%) quando exposto ao congelamento nos dois períodos. Na avaliação do lote 2 verificou-se que o tempo de exposição de 48 horas favoreceu a germinação. Apesar de reduzir a porcentagem de plântulas normais na primeira contagem da germinação, o maior tempo de exposição do lote 2 à  $-18^{\circ}\text{C}$  pode ter eliminado alguns fungos existentes na superfície da semente, ocasionando aumento na porcentagem de germinação. No entanto, os resultados revelaram que o no lote 2, a porcentagem de germinação se manteve abaixo da permitida para comercialização, quando submetida a 24 e 48 horas de congelamento. Os resultados obtidos evidenciaram a inviabilidade do congelamento para as sementes do lote 2 que apresentou baixo vigor desde a caracterização de seus atributos fisiológicos sanitários. Portanto, lotes de sementes de feijão-vagem com médio e baixo vigor, não devem ser submetidos ao congelamento, salvo exceções para manutenção de variedades e bancos de germoplasma em que a germinação e o vigor não são prioridades. Na interação lote e teor de água das sementes (Tabela 3), apesar de não haver diferenças significativas no lote 1 quanto ao teor de água das sementes, observa-se o aumento na porcentagem de germinação quando as sementes encontravam-se com teor de água de 12 %. Embora também não tenham sido detectadas diferenças significativas no lote 2 em relação ao teor de água da sementes, o teor de água 9% promoveu melhor resultado na porcentagem de germinação. Porém estes resultados de germinação do lote 2 também não atendem ao

Tabela 3: Porcentagem de germinação das sementes de feijão-vagem produzidas sob manejo orgânico, em função do lote e do período de exposição ao congelamento à -18° C; e em função do lote e do teor de água das sementes.

Lote	Tempo de exposição	
	24 horas	48 horas
1	95,00 Aa	87,00 Ba
2	64,50 Bb	73, 50 Ab

  

Lote	Teor de água	
	9%	12%
1	81,00 Aa	86,50 Aa
2	78,50 Aa	74, 00 Ab

Letras minúsculas discriminam médias nas colunas e letras maiúsculas discriminam médias nas linhas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

permitido para a comercialização de sementes de feijão (BRASIL, 2005).

No teste de condutividade elétrica, foram encontradas diferenças significativas apenas para o fator lote, não houve interação entre os fatores. De acordo com a Tabela 4, estes resultados podem indicar que não ocorreram alterações principalmente no tegumento das sementes, frequentemente responsáveis por maior lixiviação de solutos na solução, mantendo os resultados semelhantes aos originalmente obtidos.

Diante dos resultados obtidos através da avaliação da qualidade fisiológica, optou-se por

realizar o Blotter test nos dois lotes para as sementes com teor de água 12% expostas ao congelamento pelo período de 24 horas. Na Tabela 5 encontra-se a incidência de fungos (%) nos dois lotes de sementes antes e após o congelamento por 24 horas. Antes do congelamento, observou-se maior porcentagem de sementes infectadas no lote 2. Analisando-se os dados da qualidade fisiológica juntamente com os da incidência de fungos, pode-se inferir que a contaminação por microorganismos não influenciou a qualidade fisiológica do lote 1. Antes do congelamento (Tabela 5), destacou-se a incidência de *Cladosporium* sp.

Tabela 4: Valores médios de condutividade elétrica ( $\mu\text{s. cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$ ) nos dois lotes de sementes de feijão-vagem produzidos sob manejo orgânico, com teores de água 9 e 12 % e expostas a 24 e 48 horas à  $-18^{\circ}\text{C}$ .

Lote	Teor água(%)	Tempo de exposição	
		24 horas	48 horas
1	9	53,75 Aa	55,25 Aa
1	12	50,5 Aa	52,25 Aa
2	9	62,5 Bb	60,75 Bb
2	12	57,75 Bb	68,00 Bb

Letras minúsculas discriminam médias nas colunas e letras maiúsculas discriminam médias nas linhas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Tabela 5: Incidência de fungos (%) em dois lotes de sementes de feijão-vagem produzidas sob manejo orgânico com teor de água 12%, antes e após o congelamento por 24 horas.

A. Incidência de fungos (%) antes do congelamento						
Lotes	<i>Cladosporium</i> sp	<i>Fusarium</i> sp	<i>Aspergillus</i> sp	<i>Alternaria</i> sp	<i>Curvularia</i> sp	<i>Rhizopus</i> sp
1	60	4	8	4	4	0
2	80	4	36	4	8	4
B. Incidência de fungos (%) após o congelamento						
1	32	0	0	0	0	0
2	44	0	4	0	0	4

Muniz (2001) verificou, dentre outros fungos, a alta incidência de *Cladosporium fulvum* em sementes de tomate sem danos ao potencial fisiológico. Neste experimento a alta incidência de *Cladosporium* sp. não influenciou na qualidade fisiológica dos lotes de sementes de feijão-vagem. Após o congelamento, pode-se observar a redução da incidência de fungos nos dois lotes avaliados (Tabela 5). As baixas temperaturas não são favoráveis para o desenvolvimento dos fungos encontrados.

### Conclusões

Sementes de feijão-vagem podem ser submetidas à temperatura de -18°C com teores de água de 9 e 12 % , expostas ao período de 24 horas sem comprometimento da qualidade fisiológica.

A exposição das sementes à temperatura de -18°C pelo período de 48 horas diminui a qualidade fisiológica das sementes de feijão-vagem.

A temperatura de -18°C pelo período de 24 horas proporcionou a redução da incidência de fungos nas sementes dos dois lotes avaliados.

### Referências Bibliográficas

BRASIL; **Lei nº 10.711, de 5 de Agosto de 2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.** Dispõe sobre o Sistema Nacional de Sementes e Mudas e dá outras providências, 2003.

BRASIL; **Instrução Normativa nº 25, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento,** B ANEXO V; 2005.

BRASIL; **Instrução Normativa nº 38 de 2 de Agosto de 2011 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento,** 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes /** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.

BURKE, M.J. et al. Freezing injury in plants. **Annual Review of Plant Physiology.** 27: 507-528, 1976.

DELOUCHE, J.C.; BASKIN, C.C. Accelerated aging

tecchiques for predicting the relative storability of seeds lots. **Seed science and technology,** Zurich, v.1, n.2, p.427-452, 1973.

EIRA, M.T.S.; MELLO, C.M.C. Bixa Orellana L. Seed germination and conservation. **Seed Science and Technology,** Zurich, v.25, n.3, p.373-380, 1997.

GUY, C.L. Freezing tolerance of plants: current understanding and selected emerging concepts. **Canadian Journal of Botany.** 81: 1216-1223, 2003.

JASSEN, W. Snap bean consumptions in less developed countries. In: Snap bean in developing world. In: **Proceedings of the International Conference,** Cali, Colombia: CIAT. p.47-63, 1992.

JOSÉ, S.C.B. SALOMÃO, A. N.; & COSTA, T.S.A. Armazenamento de sementes de girassol em temperaturas subzero: aspectos fisiológicos e bioquímicos. **Revista Brasileira de Sementes,** Brasília, v.32, nº 4 p.029-038, 2010.

LEAL, N.R.; BLISS, F. Alessa: nova cultivar de feijão-de-vagem. **Horticultura Brasileira,** Brasília, v. 8, n. 1, p. 29-30, mai. 1990.

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. cap.3, p.1-24.

MUNIZ, M.F.B. Controle de microrganismos associados às sementes de tomate através do uso do calor seco. **Revista Brasileira de Sementes,** v.23, n.1, p.276-280, 2001.

OLIVEIRA, J.R.; MOURA, A.B.; SOUZA, R.M. Transmissão e controle de fitobactérias em Sementes. IN :ZAMBO. **Sementes: Qualidade Fitossanitária.** Viçosa, UFV, 2005, p.113-134.

PINTO, C.M.F.; VIEIRA, R.F. ; VIEIRA, C.; CALDAS, M. T. Comportamento de cultivares de feijão-vagem anão em diferentes épocas de plantio na Zona da Mata de Minas Gerais. **Horticultura Brasileira,** v.19, Suplemento CD-ROM, julho 2001.

SALOMÃO, A.N. Tropical seed species responses to liquid nitrogen exposure. **Brasilian Journal of Plant Physiology,** Campinas, v.14, n.2, p.133-138, 2002.

STEVENS, M.A. Varietal influence on Nutritional Value. In: White, D.L e SELVEY, N. (ed) **Nutritional Quality of Fresh fruits and Vegetables.** New York: Futura Publishing, 1994. p.87

VIEIRA, R.D.; KRZYZANOWSKI, F.C. Teste de Condutividade elétrica. In: Krzyzanowski F.C, Vieira RD, França-Neto JB (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap. 4: 4-26.