

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
GOIANO – CAMPUS MORRINHOS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM OLERICULTURA

EFEITOS DO TEMPO DE VERNALIZAÇÃO NO  
CRESCIMENTO E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE  
BULBILHOS-SEMENTE NA CULTIVAR ITO DE *Allium*  
*sativum*

Autor: Ana Carolina de Lima Ribeiro  
Orientador: Dr. Alexandre Igor de Azevedo Pereira

Morrinhos-GO

2019

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
GOIANO – CAMPUS MORRINHOS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM OLERICULTURA

EFEITOS DO TEMPO DE VERNALIZAÇÃO NO  
CRESCIMENTO E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE  
BULBILHOS-SEMENTE NA CULTIVAR ITO DE *Allium*  
*sativum*

Autor: Ana Carolina de Lima Ribeiro  
Orientador: Dr. Alexandre Igor de Azevedo Pereira

Dissertação apresentada, como parte das exigências para a obtenção do título de MESTRE EM OLERICULTURA, no Programa de Pós-Graduação em Olericultura do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Morrinhos - Área de Concentração Ciências Agrárias

Morrinhos-GO

2019

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM OLERICULTURA

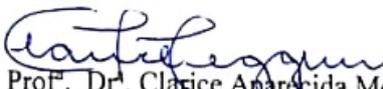
EFEITOS DO TEMPO DE VERNALIZAÇÃO NO  
CRESCIMENTO E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE  
BULBILHOS-SEMENTE NA CULTIVAR ITO DE *Allium*  
*Sativum*

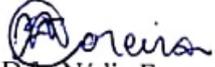
Autora: Ana Carolina de Lima Ribeiro  
Orientador: Alexandre Igor Azevedo Pereira

TITULAÇÃO: Mestre em Olericultura-Área de Concentração em Manejo  
Fitossanitário em Olerícolas.

APROVADA em 24 de maio de 2019

  
Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira  
Presidente da Banca

  
Prof. Dr. Clarice Aparecida Megguer  
Avaliadora Interna  
IF Goiano – Campus Morrinhos

  
Dr. Nádia Fernandes Moreira  
Avaliadora Externa  
Pós-Doutoranda- IF Goiano – Campus Morrinhos

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por essa oportunidade de agregar possibilidades acadêmicas não antes pensadas por mim e estabilidade emocional proporcionada por uma estrutura familiar sólida.

Aos meus pais Kleber França e Rosangela França, por todo o apoio e conselhos durante toda a minha formação acadêmica.

Ao meu irmão Kleber Ribeiro, pelo incentivo nos dias difíceis.

Aos meus Avós paternos Ana Maria França Ribeiro e Carlos Antônio Ribeiro *in memoriam*, e avós maternos Alecy Elias de Lima e Antônio José de Lima, por todo o incentivo aos estudos.

As minhas madrinhas Roberta Macêdo e Dinair Francisco, pelo incentivo e felicidade nas minhas conquistas

Ao meu padrinho Pe. Kleibe França *in memoriam*, aonde estiver, sei que nos momentos de desânimo, em que eu não enxergava minhas pegadas, você estava me carregando em seus braços.

Ao meu orientador Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira, por ter aceitado me orientar em tempos difíceis, por sua paciência e prestatividade.

A banca examinadora, Prof. Dr.<sup>a</sup> Clarice Aparecida Megguer e a Dr.<sup>a</sup> Nádia, por aceitarem e poderem colaborar no enriquecimento do trabalho.

Aos meus amigos Matheus Barros e Thais Cristina, que apesar da distância, a tela de um celular pôde transmitir muito encorajamento nesse desafio.

Aos meus amigos Alinne Tizo e Everton Tizo, pelo estímulo e ajuda para iniciar essa jornada.

Aos amigos e parceiros do laboratório de Fisiologia Vegetal e Pós-Colheita: Wallace, Ygor, Iara, Natália, Divina, Vitor, Marina, Tuane, Beatriz, Marcelo, Letícia e Lucas, por tornarem meus dias ruins em inesquecíveis e engraçados.

Aos amigos de mestrado: Livia e Vanderli.

Em especial agradeço ao Rhaif Eduardo Rodrigues, Murilo Alberto dos Santos e João Pedro Elias Gondim, pela convivência, companheirismo, os bons e maus momentos compartilhados, e principalmente pela paciência e ajuda na realização desse trabalho.

A Karina, por sua disposição e competência em solucionar todos os meus problemas burocráticos.

Ao Instituto Federal Goiano – Campus Morrinhos, pela oportunidade de ingressar e terminar o curso de Pós-Graduação em Olericultura.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente, pessoalmente ou virtualmente me ajudaram a concluir esse trabalho.

A todos vocês, meu muito obrigada!

## BIOGRAFIA DO AUTOR

Ana Carolina de Lima Ribeiro, nasceu em Morrinhos (GO) em 07 de maio de 1995, filha de Kleber França Ribeiro e Rosangela Elias de Lima França Ribeiro. Irmã de Kleber França de Lima Ribeiro.

Em 2011, concluiu o curso Técnico em Alimentos pelo Instituto Federal de Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Morrinhos.

Em 2012, concluiu o Ensino Médio no Instituto Federal de Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Morrinhos.

Em 2016, concluiu o curso de Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Goiás – Campus Morrinhos.

Em 2017, iniciou o curso de Mestrado no programa de Pós-Graduação em Olericultura no Instituto Federal de Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Morrinhos, submetendo sua defesa em maio de 2019.

## ÍNDICE

	Páginas
LISTA DE TABELAS .....	VII
LISTA DE FIGURAS .....	VIII
RESUMO .....	X
ABSTRACT .....	XII
1. INTRODUÇÃO GERAL .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	2
2.1 Cultura do alho .....	2
2.2 Produção comercial de alho .....	3
2.3 Dormência .....	5
2.4 Vernalização .....	6
2.5 Fotoperíodo e temperatura .....	8
2.6 Teste de tetrazólio .....	10
2.7 Referências .....	12
3. CAPÍTULO I .....	16
RESUMO .....	16
ABSTRACT .....	18
3.1 Introdução .....	20
3.2 Material e métodos .....	22
3.2.1 Local experimental .....	22
3.2.2 Vernalização .....	22
3.2.3 Teste de emergência .....	23
3.2.4 Análises de Crescimento .....	23
3.2.5 Teste de Tetrazólio .....	24

3.2.6 Variáveis analisadas .....	27
3.3 Resultados .....	27
3.4 Discussão.....	36
3.5 Conclusão.....	41
3.6 Referências bibliográficas .....	42

## LISTA DE TABELAS

	Páginas
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
Tabela 1: Classes de Alho conforme o maior diâmetro transversal do bulbo, expresso milímetros .....	3
Tabela 2: Limites máximos em percentuais de tolerâncias de defeitos por tipo .....	3
Tabela 3: : Área plantada e Área Colhida em hectares (ha) na safra de 2018 .....	3
Tabela 4:Custo de produção do alho na safra de 2017 em reais.....	4
Tabela 5: Escala fenologia descritiva da cultura do alho.....	9
3.3 Resultados.....	27
Tabela 1. Parâmetros de crescimento (Média $\pm$ EP <sup>1</sup> ) das plantas de alho ( <i>Allium sativum</i> L.) (Liliaceae) que tiveram seus bulbilhos submetidos a diferentes dias de vernalização (5 °C e 51% de umidade relativa). .....	34

## LISTA DE FIGURAS

	Páginas
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
Figura 2: Efeitos da temperatura e período de vernalização em bulbilhos-semente (12t/ha) .....	7
3.1 Introdução .....	20
Figura 1: Estrutura de um bulbilho semente de <i>Allium sativum</i> .....	24
Figura 2: Estrutura de custos da produção de alho (12t/ha) .....	25
Figura 3: : Escala de cor para teste de Tetrazólio em alho .....	26
Figura 4: : Escala de cor em bulbilhos-semente vernalizados (A, B e C) correspondente as imagens feitas em lupa no aumento.... (D, E, F); A e D (bulbilho viável vigoroso); B e E (bulbilho viável não-vigoroso); C e F (bulbilho não-viável) .....	26
3.3 Resultados.....	27
Figura 6. Ocorrência qualitativa (%), mensuradas através do teste de tetrazólio, de bulbilhos de alho ( <i>Allium sativum</i> L.) (Liliaceae) submetidos a diferentes dias em câmara fria (5 °C e 51% de umidade relativa).....	29
Figura 7. Parâmetros de emergência de bulbilhos de alho ( <i>Allium sativum</i> L.) (Liliaceae) submetidos a diferentes dias de vernalização (5 °C e 51% de umidade relativa). Figura 6 A Percentual de emergência (% E) e 2 B: Tempo médio de emergência (TME).....	30
Figura 8. Índice de velocidade de dormência (IVD) (%) de bulbilhos de alho ( <i>Allium sativum</i> L.) (Liliaceae) submetidos a diferentes dias em câmara fria (5 °C e 51% de umidade relativa).....	31
Figura 9. Quantidade (%) de plantas de alho ( <i>Allium sativum</i> L.) (Liliaceae) que tiveram seus bulbilhos submetidos a diferentes dias em câmara fria (5 °C e 51% de umidade relativa). .....	32
Figura 10. Diferença visual do comprimento de raiz de plantas oriundas de bulbilhos- semente vernalizados a 40,45,50,55,60 e 65.....	33

Figura 11. Massas fresca e seca (g) da parte aérea, do bulbo e da raiz de plantas de alho (*Allium sativum* L.) (Liliaceae) que tiveram seus bulbilhos submetidos a diferentes dias em câmara fria (5 °C e 51% de umidade relativa)..... 35

## RESUMO

RIBEIRO, ANA CAROLINA DE LIMA. Instituto Federal Goiano - Campus Morrinhos, maio de 2019. **Efeitos do tempo de vernalização no crescimento e qualidade fisiológica de bulbilhos-semente na cultivar Ito de *Allium sativum*.** Orientador: Dr. Alexandre Igor de Azevedo Pereira.

O cultivo de alho no Brasil tem alcançado destaque, uma vez que, técnicas de manejo e cultivo são desenvolvidas para aumentar a produtividade, como a vernalização. Avaliações dos efeitos do tempo de vernalização na viabilidade e vigor, de bulbilhos-sementes, fornece informações que podem sanar dúvidas em relação ao crescimento inicial de plantas de alho. O estabelecimento de menor tempo de vernalização sem danos no alho-semente, pode diminuir custos com energia elétrica e mão de obra. Portanto, o objetivo desse estudo foi (i) avaliar a qualidade fisiológica dos bulbilhos-semente de alho nobre em relação ao tempo de vernalização, desenvolvendo uma escala de cor para o teste de tetrazólio, bem como (ii) avaliar o crescimento inicial de plantas. Foi utilizado a cultivar Ito de alho (*Allium sativum* L.) (Liliaceae) nobre. Os bulbos foram vernalizados a temperatura entre 3 e 5°C e umidade relativa de 50 a 60%. Os bulbos de alho foram submetidos a diferentes períodos de vernalização (40, 45, 50, 55, 60 e 65 dias). Foi avaliado para crescimento de planta: Porcentagem de emergência (%E); Tempo médio de emergência (TME); Índice visual de dormência (IVD); Quantidade de plantas normais, anormais e podres; Área Foliar (AF); Comprimento da parte aérea; Comprimento de raiz; Número de folhas e Porcentagem de massa seca e fresca de bulbilho, raiz e parte aérea. Para a avaliação bioquímica das sementes foi utilizado o teste de tetrazólio. Foi encontrado alta %E, maior TME, IVD, AF, PA, CR, períodos de 55,60 e 65 dias. Maiores teores de massa seca em 40 e 45 dias, e no teste de tetrazólio aos 60 dias obteve mais sementes viáveis vigorosas. De acordo com os resultados obtidos a

retirada dos bulbilhos-semente de alho cv. Ito, durante 50 dias de vernalização, não prejudica o desempenho inicial do crescimento de planta e a qualidade fisiológica das sementes.

**PALAVRAS-CHAVE:** Câmara fria, teste bioquímico, frigorificação, vigor de semente, crescimento de planta.

## ABSTRACT

The garlic production in Brazil, despite of require specific photoperiod and temperature, showed a significant increase in productivity and quality of garlic grown, due to break dormancy techniques in bulbs seed, as the adoption of vernalization practice. The effects evaluations in vernalization time and seeds vigor, provide important information about initial growth of seedlings in garlic. Thus, the establishment of less time in vernalization, without damage the bulb-seed, may decrease electricity and decrease manpower. The objective of this experiment was to evaluate the bulbs seeds physiology quality in relation to vernalization time, developing a color scale for tetrazolium test and evaluate initial growth of seedlings. There was used the cultivar Ito (*Allium sativum* L.) (Liliaceae). The bulb-seeds underwent vernalization process, cold stored at temperature of  $3\pm 5^{\circ}\text{C}$  and relative humidity of  $50\pm 60\%$  and submitted to different vernalization periods (40, 45, 50, 55, 60, and 65 days). The characteristics evaluated for seedlings growth were: Plant emergency (E%); Average emergency time (AET), Visual index of dormancy (VID), Amount of normal, abnormal and rotten plants, leaf area (LA), part area lenth (PA), root length (RL), sheets number; dry weight and fresh in bulbs, root and part area. For seeds biochemical evaluation the tetrazolium test was carried out. There was found high %E, bigger AET, VID, LA, PA and RL, in the periods of 55,60 and 65 days. Higher dry mass content in 40 and 45 days, and in the tetrazolium test at 60 days there was more viable seeds vigorous. According to the observed results the removal of the garlic seed bulbs cv. Ito, during 50 days of vernalization, does not affect the initial performance of seedling growth and seeds physiological quality.

**KEYWORDS:** Cold Chamber, biochemical test, Refrigeration, seeds vigor, seedlings growth

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O alho (*Allium sativum* L.) é considerado a segunda espécie do gênero *Allium* com alta importância econômica (Lopez-Bellido et al., 2016). O desenvolvimento do alho pode ser dividido em duas etapas, a indutiva, que necessita de fotoperíodo curto e temperatura baixa para diferenciação dos bulbilhos e crescimento do bulbo, e a etapa morfogênica, que necessita de fotoperíodo longo com temperaturas mais elevadas que favorece o transporte de fotoassimilados e crescimento dos bulbilhos (Wingler et al., 2012).

O cultivo de alho no Brasil, apesar das dificuldades fotoperiódicas, tem alcançado destaque, uma vez que, técnicas de manejo e cultivo são desenvolvidas com a finalidade de aumentar a produtividade (Lucena et al., 2016). A vernalização é uma técnica adotada para a quebra de dormência em sementes, em que o alho-semente é acondicionado em estruturas do tipo câmara fria, na temperatura de 3 a 5°C (Resende et al., 2011).

O acondicionamento do bulbilho-semente sob baixas temperaturas pode afetar rotas de carboidrato, e está relacionado com o tempo de emergência do broto, a senescência e conseqüentemente na época de colheita (Guevara-Figueroa et al., 2015). Além da vernalização, a análise de semente é uma técnica adotada para que se utilize sementes de alta qualidade, pois estas têm o valor aquisitivo alto. O teste de tetrazólio é uma opção eficaz e rápida para se obter resultados de viabilidade e vigor (Cotrim et al., 2016).

Estudos com intervalos de tempo de vernalização atrelados a avaliações de potencial fisiológico de sementes, possibilitam entender os efeitos do acondicionamento de bulbos de alho em condição de baixa temperatura, bem como, tentar estabelecer um período ideal para a vernalização de alho nobre no cerrado, podendo interferir nos gastos de energia elétrica das propriedades rurais que mantêm suas sementes sob câmaras frias.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Cultura do alho

O alho (*Allium sativum*) é uma planta herbácea pertencente à família Alliaceae, e apresenta reprodução assexuada por propagação vegetativa (Embrapa, 1993). Originário da Ásia Central e introduzido na costa do Mar mediterrâneo é considerada uma planta aromática, podendo crescer de 50 a 70 centímetros e suas raízes atingirem em torno de 50 centímetros, dependendo da variedade (Cruz, 2018). Suas folhas exibem um formato lanceolado, recobertas com uma cera e possuem um pseudocaulo que, em condições climáticas favoráveis desenvolvem um bulbo, constituído por bulbilhos, e sua quantidade se difere de cultivar para cultivar. O bulbo tem um formato boleado e os bulbilhos possuem formato ovoide arqueado, envoltos por folhas protetoras denominadas túnicas (Trani, 2009).

A planta do alho é caracterizada por um bulbo subdividido em bulbilhos que apresentam cerca de 60% de água, 29% de carboidratos, 6,3% de proteínas e 0,1 % de lipídeos, sendo utilizado não só na alimentação (consumido *in natura*, desidratado, em pasta e processado) como também apreciado pelos atributos medicinais (Puiatti and Ferreira 2005).

O *Allium sativum* é classificado em grupos, subgrupos, classes e tipos. Os grupos são divididos em dois em função da coloração da túnica, os brancos que apresentarem coloração branca e os roxos que exibem coloração roxa. Os subgrupos são divididos de acordo com o número de bulbilhos que é produzido por bulbo, é considerado um bulbo Nobre quando este apresentar de 5 a 20 bulbilhos por bulbo, sendo mais exigente em fotoperíodo, e um alho comum com mais de 20 bulbilhos por bulbo. As classes de bulbos são segregadas em sete, e são feitas de acordo com a medida transversal do bulbo (Tabela 1). Os tipos de alho (Tabela 2) são independentes da classificação de grupos, subgrupos e classes, são classificados em três: Extra, Especial e Comercial (Brasil, 1992).

Tabela 1: Classes de Alho conforme o maior diâmetro transversal do bulbo, expresso milímetros

Classes	Diâmetro Transversal (mm)
7	mais de 56
6	mais de 47 até 56
5	mais de 42 até 47
4	mais de 37 até 42
3	mais de 32 até 37

Fonte: Brasil (1992).

Tabela 2: Limites máximos em percentuais de tolerâncias de defeitos por tipo

Tipo	Defeitos Graves					Defeitos Gerais	
	Bulbo Chocho	Chocham. Parcial	Dano por Praga e/ou Doença	Brotado	Mofado	Bulbo Aberto	Agregados
Extra	0	2	0	0	0	2	5
Especial	2	6	2	2	2	3	15
Comercial	2	6	2	2	2	3	20

Fonte: Brasil (1992).

## 2.2 Produção comercial de alho

O Brasil é o segundo maior importador de alho do mundo (Oliveira et. al., 2010). A produção nacional atende 40% da demanda (cerca de 290 mil toneladas por ano), sendo que a China e Argentina complementam a oferta de alho comercializado no mercado interno. Os estados de Goiás, Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Minas Gerais apresentam maior produção desse bulbo e grande parcela de áreas plantadas (Tabela 3) no Brasil, nessas regiões o alho nobre é explorado e assemelha-se fisicamente com o alho oriundo da China e Argentina e, portanto, capaz de rivalizar comercialmente com o alho importado. Nas últimas décadas a produção de alho aumentou significativamente em Goiás, totalizando 30% da produção do Brasil (Pereira et. al., 2015).

Tabela 3: Área plantada e área colhida em hectares (ha) na safra de 2018

	Brasil	Goiás	Minas Gerais	Rio Grande do Sul	Santa Catarina	Unidade de Medida
Área Plantada	78.837.093	6.487.177	5.953.973	8.957.928	1.471.915	ha
Área Colhida	76.150.511	6.359.762	5.437.420	8.927.925	1.471.428	ha

Fonte: IBGE (2019).

A produção de alho na safra de 2017/2018, em âmbito nacional, poderá chegar a 14 milhões de caixas, na qual 10 milhões de caixas de alho são oriundas da produtividade do alho do cerrado, que corresponde pelos estados de Minas Gerais, Goiás, Distrito Federal e Bahia, ressaltando a produtividade de Goiás que de 246 municípios goianos, apenas 10 cidades são produtoras de alho (ANAPA, 2017).

O aumento da produção do alho nobre no Brasil, por meio do cultivo em outras regiões, como no Cerrado, muito se deve a vernalização e uso de alho-sementes livres de vírus, tal possibilidade de produção vem atrelada aos altos custos de produção (Tabela 4). O custo de produção do alho no Brasil é elevado em relação a outros países como Argentina e, principalmente, China onde há indícios, segundo a OMC de práticas ilegais de comercialização, como o *roaming* (Filho and Camargo, 2017).

Tabela 4: Custo de produção do alho na safra de 2017 em reais.

	Custo de produção	Unidade de Medida
Brasil	997.050,00	(x1000) R\$
Goiás	349.472,00	(x1000) R\$
Minas Gerais	335.922,00	(x1000) R\$
Rio Grande do Sul	108.676,00	(x1000) R\$
Santa Catarina	112.561,00	(x1000) R\$

Fonte: IBGE (2018).

Embora ocorrendo o crescimento e popularização do cultivo dessa cultura, a importação do Brasil ainda é alta, evidenciando dessa forma a carência de estudos voltados para a otimização do tempo de vernalização, para a quebra de dormência do alho-semente, sem prejudicar a produtividade (Piva et al., 2017).

### 2.3 Dormência

O ciclo completo da cultura do alho tem sucessivas mudanças nas fases fisiológicas, desde a bulbificação até a senescência e armazenamento. Tais mudanças, como a indução do repouso fisiológico em sementes e bulbos, podem ser influenciadas pelas condições ambientais em que a cultura está submetida e balanços hormonais (Silva et al., 2008).

A dormência pode ser caracterizada pela incapacidade de retomar o crescimento e não exclusivamente pela ausência de crescimento, pois há a presença de um embrião, e o início do processo germinativo pode ser estimulado ou retardado por fatores que podem ser endógenos ou exógenos à semente (Fernandes-De-Campos et al., 2015; Gillespie and Volaire, 2017). Para se entender melhor o processo do repouso fisiológico em bulbos, tem-se adotado técnicas para estudar essa fase fisiológica, expondo assim, bulbos a radiação e a água corrente por determinados períodos de tempo (Silva et al., 2013).

O período de dormência desaparece gradativamente com o tempo, mas foi observado que em temperaturas mais baixas esse processo acelera, causando estímulos que mudam gradativamente as composições fisiológicas do bulbo. Benkeblia and Shiomi, (2004) avaliaram a submissão de bulbos de cebola a 0°C por quatro semanas, que contribuiu para a quebra de dormência e tal temperatura causou diminuição em compostos fenólicos totais e na peroxidase, que supostamente participam indiretamente do processo de dormência, mas não se sabe a natureza exata desses sinais bioquímicos que quebram esse período de repouso fisiológico.

A dormência pode ser dividida em três classes: endo-dormência, que tem a inibição do crescimento por sinais internos e depende do tempo, independentemente das condições ambientais; a para-dormência, inibição do crescimento depende de sinais bioquímicos de órgãos distais, ou seja, em estruturas distintas da que se manifesta a dormência; e a eco-dormência ou quiescência, a inibição do crescimento se dá por fatores desfavoráveis ao crescimento, como os fatores ambientais, que determinam a superação de dormência (Carvalho and Zanette, 2004).

A quebra da dormência em alho, usualmente se deve pelo acondicionamento de bulbilhos de alho em câmara fria, que é feito quando o Índice Visual de Dormência está em 40% (Figura ?). Tal procedimento estimula a síntese de citocininas e giberelinas, desse modo, o bulbilho-semente colocado em condições ótimas para seu desenvolvimento

brotará precocemente e conseqüentemente a planta terá maior desenvoltura no campo (Yuri et al., 2004).

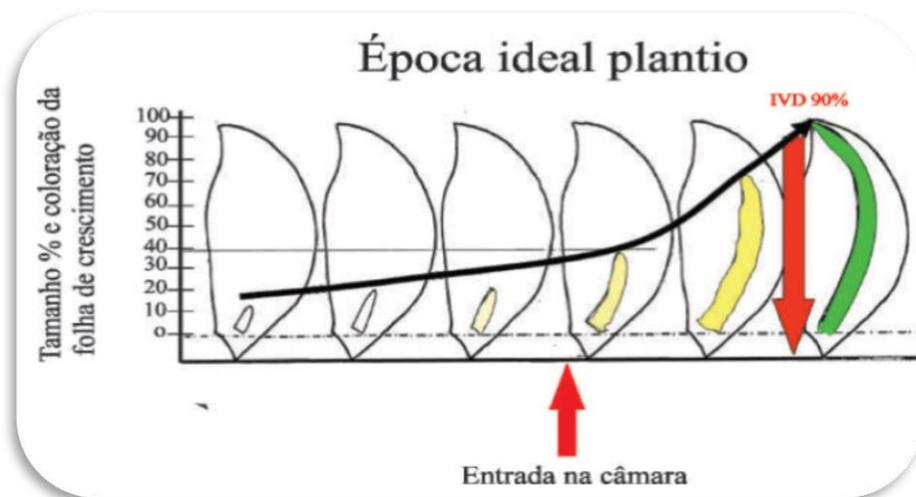


Figura 1: Período de entrada do alho-semente na câmara fria (Fonte: Lucine, 2010).

#### 2.4 Vernalização

O cultivo de alho nobre em regiões tropicais depende do armazenamento do alho sob refrigeração em câmara fria (Wu et. al., 2016). Essa alternativa, tem sido umas das técnicas adotadas para aumento da produção, pois possibilita o cultivo de alho em locais em que o fotoperíodo e temperatura não favorecem a bulbificação (Wu et al., 2015). Nesse sentido, proporciona o cultivo do alho nobre em novas fronteiras agrícolas, melhorando a disponibilidade comercial, viabilizando o plantio em entressafas e possibilitando colheitas precoces, abastecendo parte do mercado interno (Macêdo et al., 2006).

A vernalização é um processo feito em câmara de resfriamento, em que o bulbo é submetido a baixas temperaturas para que haja o estímulo da quebra de dormência do alho-semente, reduzindo a exigência das cultivares a fotoperíodo e a temperatura (Mota et al., 2003). Consiste no armazenamento do alho-semente em temperatura de 3 a 5°C, pelo período de 40 a 60 dias, com umidade de 70 a 80% que auxilia na quebra de dormência, antecipação da formação de bulbos e redução do ciclo (Resende et. al., 2011).

Apesar da vernalização possibilitar o plantio em áreas não favoráveis para a bulbificação do alho, a temperatura e o tempo em que o alho é submetido pode interferir morfológicamente (Figura 1), ocasionando uma pseudobulbificação, resultando em um produto indesejável para o mercado, depreciando seu valor comercial (Lopes et. al., 2016). Em algumas cultivares é frequente que a vernalização cause o superbrotamento do bulbo, o que foi evidenciado por de Souza and Macêdo (2004), grande variabilidade na

ocorrência de tal anomalia, entre nove espécies diferentes de alho estudados, demonstrando que cada cultivar tem uma resposta diferente ao processo de refrigeração em câmara fria.

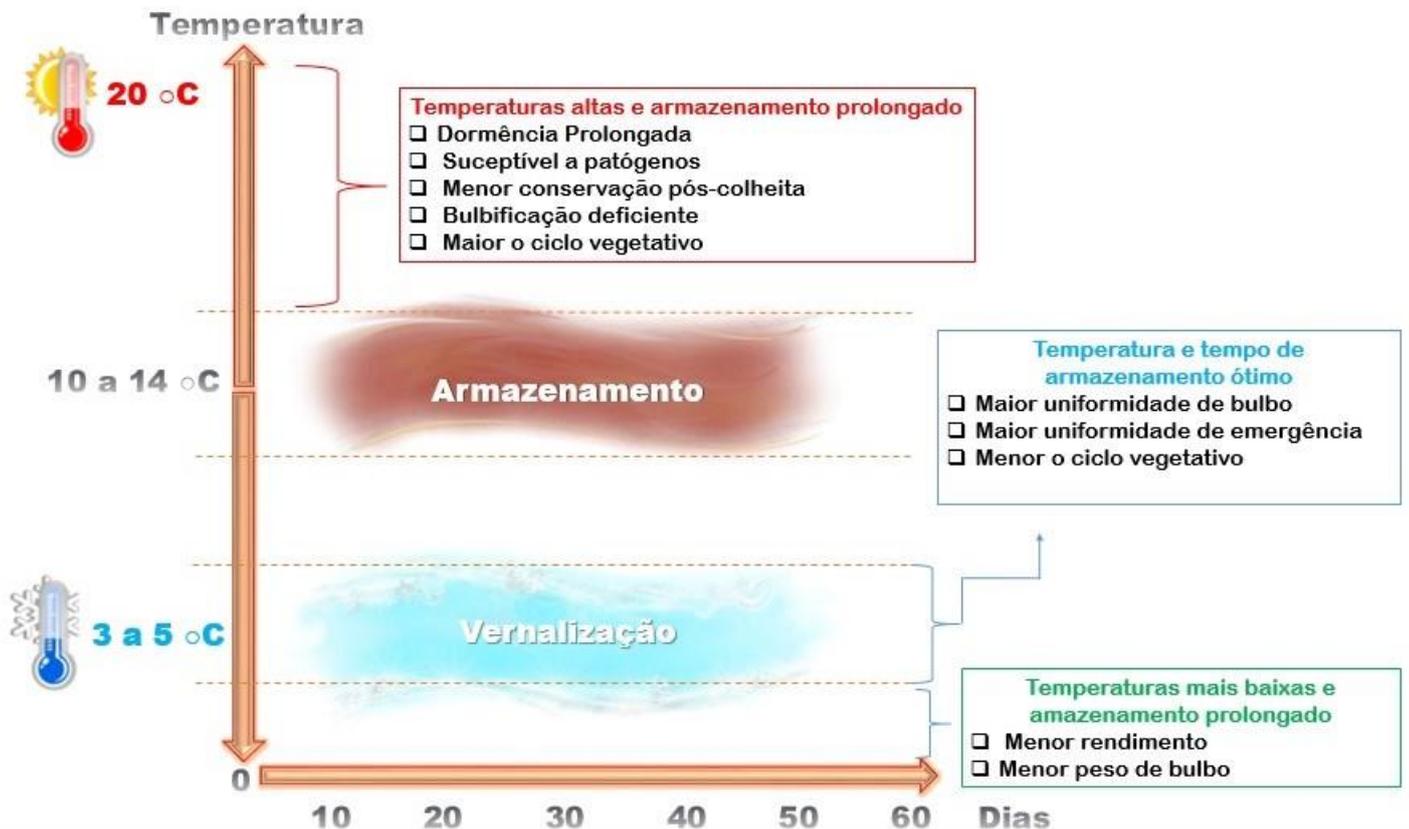


Figura 2: Efeitos da temperatura e período de vernalização em bulbilhos-semente (Fonte: Ribeiro, 2019).

Sedoguchi et al. (2002) obteve resultados diferentes para cada cultivar em relação à altura de planta, peso da matéria seca em função dos dias de vernalização (0, 20 e 35 dias), sugerindo que para cada cultivar seja estabelecido uma época de plantio em associação ao local a ser plantado o alho-semente.

A técnica de vernalização se mostra presente em outras culturas como o morango, Verdial et al. (2007) vernalizou cinco cultivares de morango por 28 dias, que resultou no florescimento e frutificação precoce. Em plantas ornamentais, observou-se em Lírios que a vernalização acelerou o tempo de emergência da planta em função do aumento de dias de vernalização, e foi sugerido estar relacionado com a mobilização de reservas que favoreceu o crescimento rápido do broto (Nardi et al., 2004).

Além das limitações de se obter um alho-semente em condições ótimas para plantio, sementes viáveis e livres de vírus, o custo com a manufatura, maquinários e

energia elétrica para a vernalização é alto, por causa do tempo necessário que o alho-semente deve permanecer em câmara fria: em torno de 55 dias (Macêdo et. al., 2009). No Chile, Del Pozo and Gonzalez (2005) obtiveram resultados positivos reduzindo o tempo de armazenamento para 30 dias, sob temperatura de 4°C e fotoperíodo de 14 horas em câmara com dois clones de alho (cv. Akuli e cv. Rosado).

Portanto, a adoção dessa tecnologia exige pesquisas que apontem para intervalos de tempo do alho-semente na câmara fria mais competitivos, sem prejudicar na qualidade da semente gerada e no desenvolvimento da planta.

## 2.5 Fotoperíodo e temperatura

Para que ocorra a bulbificação, o fotoperíodo e temperatura são fatores limitantes na cultivar do alho nobre (Souza and Macedo, 2004). Assim, sabendo que o fotoperíodo e a temperatura mudam de um local para o outro, tal exigência, implica em mudanças no comportamento de cada cultivar em lugares com climas diferentes, não podendo aplicar os mesmos métodos de cultivo para todas as cultivares de alho (Resende et al., 2003).

Além do fotoperíodo, temperaturas baixas estimulam a síntese de giberelinas, que está relacionada com a emergência e crescimento da planta através do seu ciclo. As giberelinas promovem crescimento celular, por meio de divisão (na germinação) e expansão celular (desenvolvimento da planta). Os processos que envolvem a promoção do crescimento ainda não são compreendidos, mas, provavelmente estão envolvidas mudanças na expressão de vários genes, que provocam alterações na parede celular. A emergência da radícula está associada a síntese de giberelinas, aumentando o crescimento do embrião e enfraquecendo o endosperma, pela estimulação de hidrolases da parede celular (Hooley, 1994).

O fotoperíodo é um estímulo que induz sinais internos na planta, regulando assim, a resposta da planta através de alterações hormonais (Mathew et al., 2011). A formação de bulbos está relacionada com as temperaturas mais baixas e fotoperíodos longos, sendo que o armazenamento do bulbo de alho nobre em temperaturas frias pode encurtar o fotoperíodo crítico de 13 horas e o ciclo do alho (Silva et al., 2008). Em condições de não vernalização e com a incidência de temperaturas mais altas, a formação do bulbo por ser induzida por fotoperíodos mais longos ou luz contínua, pois o fotoperíodo pode substituir o estímulo da temperatura fria para a bulbificação, porém essa alternativa aumenta o ciclo da cultura (Wu et al., 2016).

O desenvolvimento do alho pode ser dividido em indutivo, que necessita de fotoperíodo curto e temperatura baixa, para diferenciação dos bulbilhos e crescimento do bulbo, e morfogênico (vegetativo e reprodutivo), que necessita de fotoperíodo longo com temperaturas mais elevadas que favorece o transporte de fotoassimilados e crescimento dos bulbilhos (Tabela 5). Além disso, para que haja a formação do bulbo a planta começa a perder peso e os fotoassimilados são direcionados a formação dos bulbilhos, sendo transformados em frutos oligossarídeos e frutanos até a senescência da planta (Wingler et al., 2012).

Tabela 5: Escala fenológica descritiva da cultura do alho

<b>Fase</b>	<b>Estádio</b>	<b>Código</b>	<b>Descrição</b>
<b>Dormência</b>	Bulbilhos dormentes	S0	Bulbilho junto ao bulbo e recoberto por capa e túnica.
<b>Indutiva</b>	Início da modificação dos bulbilhos	S1	Início do crescimento da folha de brotação do bulbilho
<b>Vegetativa</b>	Emergência	EM	Surgimento do prófalo acima do solo e início do crescimento radicular
	Duas, três e quatro folhas	V2,V3 e V4	Surgimento da segunda, terceira e quarta folha.
	Cinco e seis folhas	V5 e V6	Surgimento da quinta e sexta folha e mudança no formato do bulbilho
	Sete folhas	V7	Surgimento da sétima folha e senescência parcial das primeiras folhas
	Oito folhas	V8	Surgimento da oitava folha, senescência total das primeiras folhas e aumento do diâmetro do bulbo.
	Nove, dez, onze, doze e enésima folha	V9,V10, V11,V12 e Vn	Surgimento da nona, décima, décima primeira, décima segunda e enésima folha
<b>Reprodutiva</b>	Diferenciação	R1	Momento da diferenciação do bulbo formando os bulbilhos
	¼ do crescimento reprodutivo	R2	Crescimento dos bulbilhos ocupando 25% da área total do bulbo
	2/4 do crescimento reprodutivo	R3	Crescimento dos bulbilhos ocupando 50% da área total do bulbo e surgimento da última folha
	¾ do crescimento reprodutivo	R4 (HF)	Crescimento dos bulbilhos ocupando 75% da área total do bulbo e surgimento da haste floral.
	Maturação	R5	Bulbilhos ocupando 95% da área total do bulbo e ponto de colheita (PC). Possui 3 a 5 folhas ainda verdes
<b>Cura</b>	Pré-cura	PC	Permanência de 1 a 3 dias do bulbo a campo para cicatrização de ferimentos e secagem da planta
	Bulbo completo	C	Secagem do alho em galpão, onde ocorre a perda de umidade da planta e a continuação de transferência de substâncias orgânicas da folha para o bulbo

Fonte: Wilpert (2018).

## 2.6 Teste de tetrazólio

A qualidade fisiológica da semente se encontra dentre os aspectos importantes no cultivo de qualquer cultivar. Uma semente de alta qualidade proporciona maior porcentagem de germinação, emergência homogênea de plântulas, e conseqüentemente aumento de produtividade (Cotrim et al., 2016).

Para se obter avaliação da qualidade de sementes, é usualmente utilizado o teste de germinação, é um teste padronizado que pode ser repetido, seguindo as regras para análise de semente (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009), desse modo o teste não é conduzido em campo, pois os resultados seriam dificilmente reproduzidos (Sbrussi and Zucareli, 2015).

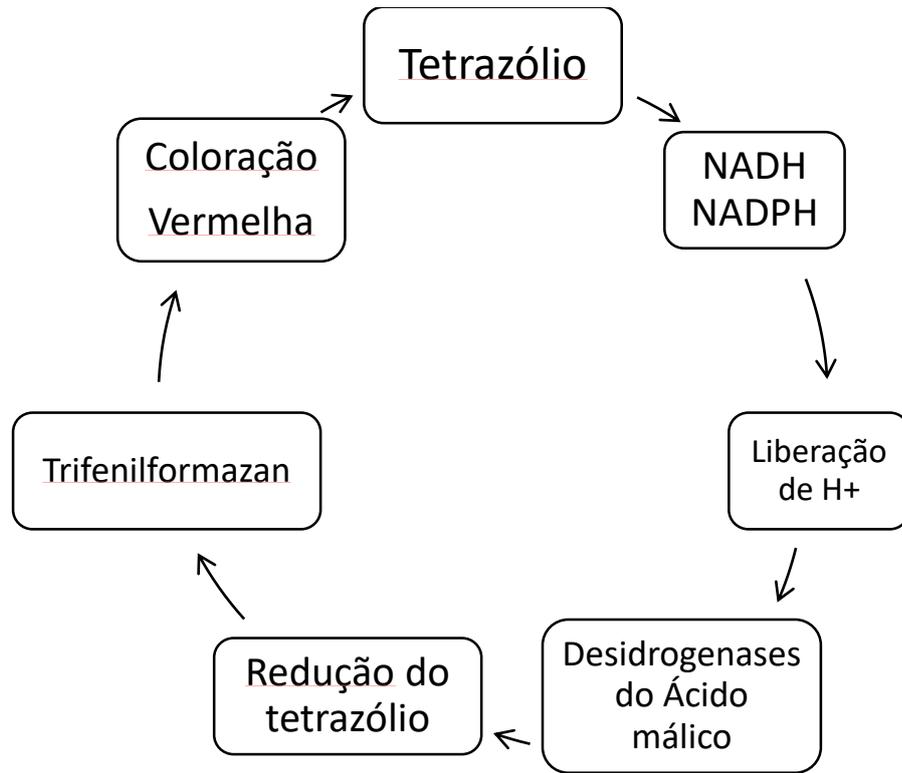
Apesar de comumente utilizado o teste de germinação se mostra eficaz mas, demanda um tempo maior para execução e obtenção de resultados (Caldeira et al., 2015). Desse modo, os testes rápidos para avaliação de semente têm ganhado espaço, como, os testes de envelhecimento acelerado e o teste de tetrazólio, que se destaca pela praticidade e rapidez em se obter resultados (Carvalho et al., 2013).

O tetrazólio é um teste bioquímico usado para se avaliar vigor e viabilidade de sementes que vão ser semeadas logo após a colheita, de sementes dormentes ou para justificar resultados no teste de germinação, como por exemplo, alto número de plantas anormais (Flores et al., 2015).

A ação do sal 2, 3, 5 trifênil cloreto de tetrazólio se baseia na atividade das enzimas desidrogenases, porém não agem somente nessas enzimas, mas também com o produto da reação na respiração celular que são o NADH ou NADPH (Nery et al., 2015). Durante o processo de respiração dos tecidos vivos, na mitocôndria, são liberados íons de  $H^+$  e transferidos para um grupo de enzimas, particularmente, a desidrogenase do ácido málico, e interagem com o tetrazólio (Costa and Santos, 2010).

Quando há o contato da semente na solução de tetrazólio, essas desidrogenases interagem com o tetrazólio, ocorrendo a reação de redução do composto para o trifênil formazan, um composto vermelho e não difusível (Figura 3). A coloração indica atividade respiratória nas mitocôndrias, conseqüentemente sinalizando que o tecido colorido é viável e o não colorido inviável (Carvalho et al., 2014).

Figura 3: Esquema do teste bioquímico tetrazólio, utilizado para avaliar vigor e viabilidade de sementes.



Fonte: Ribeiro, (2019).

A literatura descreve diferentes procedimentos para aplicação do tetrazólio. As regras para análise de semente (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009), descrevem três metodologias para se conduzir o teste de tetrazólio em *Allium* spp., as quais se diferenciam no corte e tempo de coloração. Existem condições diferentes em cada metodologia aplicada para cada material de estudo, estas fazem com que a eficiência e precisão do teste sejam elevadas, visando uma coloração satisfatória para a interpretação do teste. São necessários pré-testes para que haja conhecimento sobre o pré-condicionamento, se é preciso retirada de tegumento, tempo para coloração, além de concentrações específicas do sal de tetrazólio e temperatura ótima para que ocorra a coloração (Zorzal et al., 2015; Carvalho et al., 2017).

## 2.7 Referências

- ANAPA. Associação Nacional dos Produtores de Alho. 2017. Produção De Alho No Estado De Goiás. Disponível em: [http://anapa.com.br/wp-content/uploads/2016/12/Producao\\_Alho\\_GOIAS-1.pdf](http://anapa.com.br/wp-content/uploads/2016/12/Producao_Alho_GOIAS-1.pdf). Acessado: 13 de março de 2018.
- Benkeblia, N., and N. Shiomi. 2004. Chilling effect on soluble sugars, respiration rate, total phenolics, peroxidase activity and dormancy of onion bulbs. *Scientia Agricola*. 61:281-285.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento Portaria 242/1992. 1992. Sistema Integrado de Legislação. Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=1429352813>. Acessado: 27 de março de 2019.
- Caldeira, C.M., M.L.M. Carvalho, J.A. Oliveira, V.Y. Kataoka, and A.I. Freire. 2015. Reduced time for evaluation of the germination test for sunflower seeds. *Journal of Seed Science*. 37(1): 070-075.
- Carvalho, R.I.N., and F. Zanette. 2004. Dinâmica da dormência de gemas de macieira ‘Imperial Gala’ durante o outono e inverno em região de baixa ocorrência de frio. *Revista Brasileira de fruticultura*. 26: 65-68.
- Carvalho, T.C., F.C. Kryzanowski, O.C. Ohlson and M. Panobianco. 2013. Tetrazolium test adjustment for wheat seeds. *Journal of Seed Science*. 35(3): 361-367.
- Carvalho, T.C., C.R.S. Grzybowski, O.C. Ohlson., and M. Panobianco. 2014. Adaptation of the tetrazolium test method for estimating the viability of sorghum seeds. *Journal of Seed Science*. 36(1): 246-252.
- Carvalho, I.L., G.E. Meneghello, L.M. Tunes, C.C. Jácome, and V.N. Soares. 2017. Methodological adjustments to the tetrazolium test in rice seeds. *Journal of Seed Science*. 39(1): 041-049.
- Camargo Filho, W.P., and F.P. Camargo. 2017. A quick review of the production and commercialization of the main vegetables in Brazil and the world from 1970 to 2015. *Horticultura Brasileira*. 35: 160-166.
- Costa, C.J., and C.P. Santos. 2010. Teste de Tetrazólio em sementes de Leucena. *Revista Brasileira de Sementes*. 32(2): 066-072.
- Cotrim, M.F., R.C.F. Alvarez, and A.C.C. Seron. 2016. Qualidade fisiológica de sementes de trigo em resposta a aplicação de *Azospirillum brasilense* e ácido húmico. *Brazilian Journal of Biosystems Engineering*. 10: 349-357.
- Cruz, R.F.P. 2018. Morfofisiologia de folhas de alho cultivado nas condições edafoclimáticas de Curitiba, SC. *Revista Nosso Alho*. 29: 40-48.
- Del Pozo, A.L., and M.I.A González. 2005. Developmental Responses of Garlic to Temperature and Photoperiod. *Agricultura Técnica*. 65:119-126.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 1993. Coleção Plantar – Alho. 1: 9-12.

Fernandes-de-Campos, K. A., J.R. Sapatini, and C. Pedroso-De-Moraes. 2015. Superação de dormência em sementes de *Bombax malabaricum* D.C. (Malvaceae). Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, 17: 515-520.

Flores, M.F., C.R. Souza, K. Pazolini, J.C. Possent, and M. Panobianco. 2015. Criteria for implementation of a tetrazolium test in canola seeds. Journal of Seed Science. 37(4):222-227.

Gillespie, L.M., and F. A. Voltaire. 2017. Are winter and summer dormancy symmetrical seasonal adaptive strategies? The case of temperate herbaceous perennials. Annals of Botany. 119: 311–323.

Guevara-Figueroa, T., L. López-Hernández, M.G. Lopez, M. D. Dufofo Hurtado, M.E. Vázquez-Barrios, L. Guevara-Olvera, R.G. Guevara González, D.M. Rivera-Pastrana, H. Torres-Robles, and E.M. Mercado-Silva. 2015. Conditioning garlic “seed” cloves at low temperature modifies plant growth, sugar, fructan content, and sucrose sucrose fructosyltransferase (1-SST) expression. Scientia Horticulturae. 189: 150–158.

Hooley, R. 1994. Gibberellins: perception, transduction and responses. Plant Molecular Biology 26: 1529-1555.

Lopes, W.A.R., M.Z. Negreiros, F.V. Resende, R.R.M. Lucena, A.M. Soares, O.M.P. Silva, and J.F. Medeiros. 2016. Produção de alho submetido a períodos de vernalização e épocas de plantio em região de clima semiárido. Horticultura Brasileira 34: 249-256.

Lopez-Bellido, F.J., R.J. Lopez-Bellido, V. Muñoz-Romero, P. Fernandez-Garcia, and L. Lopez-Bellido. 2016. New phenological growth stages of garlic (*Allium sativum*). Association of Applied Biologists. 169: 423–439

Lucini, M.A. 2010. Excelentes perspectivas para a safra 2010. Nosso Alho. 7: 30-35.

Lucena, R.R.M., M.Z. Negreiros, F.V. Resende, W.A.R. Lopes, and O.M.P. Silva. 2016. Productive Performance Of Vernalized Semi-Noble Garlic Cultivars In Western Rio Grande Do Norte State, Brazil. Revista Caatinga. 29: 327 – 337.

IBEG - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. 2018. Indicadores IBGE: Levantamento sistemático da produção agrícola. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/14/10193?indicador=10198>>. Acesso em. 18 jan. 2019.

IBEG - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. 2019. Indicadores IBGE: Levantamento sistemático da produção agrícola. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1618#resultado>>. Acesso em. 18 jan. 2019.

Macêdo, F.S., R.J. Souza, and G.M. Pereira. 2006. Controle de superbrotamento e produtividade de alho vernalizado sob estresse hídrico. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 41: 629-635.

Macêdo, F.S., R.J. Souza, J.G. Carvalho, B.R. Santos, and L.V.R. Leite. 2009. Produtividade De Alho Vernalizado Em Função De Doses De Nitrogênio E Molibdênio. *Bragantia*. 68: 657-663.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2009. Regras de Análise de Sementes. 1: 147-224.

Mota, J.H., J.E. Yuri, R.J. Souza, G.M. Resende, and M. Pasqual. 2003. Efeito de períodos de vernalização de alho (*Allium sativum* L.) sobre a cultivar Roxo Pérola de Caçador "in vitro". *Horticultura Brasileira*. 21(2).

Mathewa, D., Y. Forer, H.D. Rabinowitch, and R. Kamenetsky. 2011. Effect of long photoperiod on the reproductive and bulbing processes in garlic (*Allium sativum* L.) genotypes. *Environmental and Experimental Botany*. 71:166–173.

Nardi, C., G.A. Buriol, R.A. Bellé, N.A. Streck, and M. Schuh. 2004. Vernalização afeta a mobilização de reservas de açúcares e nitrogênio e a emergência de plantas de lírio (*Lilium longiflorum* Thunb.) 'snow queen'. *Ciência Rural*. 34: 1027-1033.

Nery, C.M., F.C. Nery, and R.M.O. Pires. 2015. Tetrazolium test to evaluate the viability of oil radish seeds. *Bioscience Journal*. 31(3): 663-671.

Oliveira, F.L., H. Doria, R.B. Teodoro, and F.V. Resende. 2010. Características agronômicas de cultivares de alho em Diamantina. *Horticultura Brasileira*. 28: 355-359.

Pereira, M.A.M., A. Pelá, R.U. Bento, R.C.D. Silva, L.V. Pereira, and S.J.S. Cruz. 2015. Agronomic and economic efficiency of nitrogen fertilization in garlic culture. *African Journal of Agricultural Research*. 10: 3650-3656.

Piva, J.T., M.R. Besen, R.H. Ribeiro, A.C.M. Bastos, S.C. Ronsani, and C.A.G. Piva. 2017. Viabilidade técnica de fontes alternativas de adubação para o alho (*Allium sativum* L.) vernalizado no planalto Catarinense. *Revista de Ciências Agroveterinárias*. 16: 239-246.

Puiatti, M., and F.A. Ferreira. 2005. Cultura Do Alho. In: Fontes P.C.R. (Eds.). *Olericultura: Teoria E Prática*. 1: 299- 322.

Resende, G.M., S.J.R. Chagas, and L.V. Pereira. 2003. Características produtivas e qualitativas de cultivares de alho. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 21, n. 4, p. 686-689.

Resende, J.T.V., R.G.F. Morales, F.V. Resende, M.V. Faria, R.J. Souza, and A. Marchese. 2011. Garlic vernalization and planting dates in Guarapuava. *Horticultura Brasileira*. 29.

Silva, K.M.P., R.S.A. Leite, F.V. Resende, and A.R. Tavares. 2008. Desempenho de cultivares de alho nobre em sistema orgânico no Cerrado. *Horticultura Brasileira*. 26:1752-1756.

Silva, L.C.A.S., M.N.C. Harde, and V. Arthur. 2013. Uso da técnica da radiohormese para aumento no desenvolvimento de plantas de alho. *Revista Verde*. 8: 18 – 20.

- Sedoguchi, T., M.G.F. Carmo, M.S. Parraga, R. Tozani, and M.L. Araújo. 2002. Características morfológicas, De Produção E Efeitos Da Vernalização Sobre Cultivares De Alho Em Duas Épocas De Plantio Em Seropédica-Rj. *Agronomia*. 36: 42-47.
- Souza, R.J., and F.S. Macêdo. 2004. Vernalização de cultivares de alho nobre na região de Lavras. *Horticultura Brasileira*. 22: 51-654.
- Sbrussi, C.A.G., and C. Zucareli. 2015. Germinação sob altas temperaturas para avaliação do potencial fisiológico de sementes de milho. *Ciência Rural*. 45 (10): 1736-1741.
- Trani, P.E. 2009. Cultura do Alho (*Allium Sativum*): Diagnostico e Recomendações para seu cultivo no estado de São Paulo. *Nosso Alho*. 2: 32-38
- Verdial, M.F., J.T. Neto, K. Minami, J.A.S. Filho, P.J. Christoffoleti, F.V. Scarpate, J.F. Barela, J.S. Aguilã, and R.A. KlugeI. 2007. Vernalização em cinco cultivares de morangueiro. *Ciência Rural*. 37: 976-981.
- Wingler, A., E.J. Stangberg, T. Saxena, and R. Mistry. 2012. Interactions between temperature and sugars in the regulation of leaf senescence in the perennial herb *Arabis alpina* L. *J. Integrative Plant Biology*. 54: 595–605.
- Wilpert, L.S., L.C. Bosco, R.C. Rebelato, R. Rosa, R.P. Coltini, and S. Zanelatto. 2018. Fenologia de alho nobre na região sul do Brasil. *Nosso Alho*. 29: 34-38.
- Wu, C., M. Wang, Y. Dong, Z. Cheng, and H. Meng. 2015. Growth, bolting and yield of garlic (*Allium sativum* L.) in response to clove chilling treatment. *Scientia Horticulturae*. 194: 43–52.
- Wu, C., M. Wang, Z. Cheng, and H. Meng. 2016. Response of garlic (*Allium sativum* L.) bolting and bulbing to temperature and photoperiod treatments. *The Company of Biologists*. 5: 507-518.
- Yuri, J.E., J.H. Mota, J.R. Souza, G.M. Resende, and M. Pasqual. 2004. Vernalização do alho para o cultivo in vitro. *Horticultura Brasileira*, Brasília, 22: 585-588,
- Zorzal, T.A., D.E. Fantinato, L.M. Campos, A.C.C. Luz, and V.B. Corte. 2015. Teste do tetrazólio para estimativa da viabilidade de sementes. *Natureza online*. 13(3): 144-149.

### 3. CAPÍTULO I

#### EFEITOS DO TEMPO DE VERNALIZAÇÃO NO CRESCIMENTO E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE BULBILHOS-SEMENTE NA CULTIVAR ITO DE *Allium Sativum*

(Normas de acordo com a revista Agronomy Journal)

#### RESUMO

A produção do alho (*Allium sativum*) no Brasil tem grande relevância econômica e seu consumo pode ser *in natura* ou processado. A vernalização de sementes de alho permite a quebra da dormência dos bulbos, reduzindo o ciclo, porém o custo de uso de câmaras frias e a obtenção de sementes de qualidade é alto. Objetivou-se avaliar os efeitos do acondicionamento de bulbos-sementes da cultivar Ito, em baixas temperaturas, avaliando a qualidade fisiológica, dos bulbos-sementes em relação ao tempo de vernalização e desenvolvendo uma escala de cor para o teste de tetrazólio. Foi utilizado a cultivar Ito de alho, os bulbos foram vernalizados em temperatura entre 3 e 5°C e umidade relativa de 50 a 60%, em diferentes períodos de vernalização (40, 45, 50, 55, 60 e 65 dias). Para crescimento de planta foi avaliado: Porcentagem de emergência (%E); Tempo médio de emergência (TME); Índice visual de dormência (IVD); Quantidade de plantas normais, anormais e podres; Área Foliar (AF); Comprimento da parte aérea (PA); Comprimento de raiz (CR); Número de folhas (NF) e, por fim, Porcentagem de massa seca e fresca de bulbo, raiz e parte aérea. Para a avaliação bioquímica foi feito o tetrazólio. Os períodos de vernalização interferiram na qualidade das sementes. Foi encontrado alta %E, maior TME, IVD, AF, PA, CR, períodos de 55,60 e 65 dias. No teste de tetrazólio o período de 60 dias obteve mais sementes viáveis vigorosas. Maiores teores de massa seca foram encontrados em 40 e 45 dias. Apesar de 55 e 60 dias ter maiores %E,

a retirada dos bulbilhos-semente de alho cv. Ito aos 50 dias de vernalização, não prejudica o desempenho inicial do crescimento de planta e a qualidade fisiológica das sementes.

**PALAVRAS-CHAVE:** Frigorificação de bulbos, Viabilidade de semente, Dormência, Alho Nobre, Maturidade fisiológica.

EFEITOS DO TEMPO DE VERNALIZAÇÃO NO CRESCIMENTO E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE BULBILHOS-SEMENTE NA CULTIVAR ITO DE *Allium Sativum*

ABSTRACT

The garlic (*Allium sativum*) production in Brazil has great economic relevance and its consumption can be in natura or processed. The garlic seeds vernalization allows the dormancy brake in bulbs-seeds, reducing the cycle, however the cost of using cold rooms and the quality seeds production is high. The aim of this study was to evaluate the conditioning effects of Ito cultivar bulb-seeds at low temperatures, evaluating the bulb-seeds physiological quality in relation to the vernalization time and developing a color scale for tetrazolium test. There was used the Ito (*Allium sativum* L.) (Liliaceae) cultivar. The bulb-seeds underwent vernalization process, cold stored at temperature of  $2\pm 4^{\circ}\text{C}$  and relative humidity of  $50\pm 60\%$  and submitted to different vernalization periods (40, 45, 50, 55, 60, and 65 days). The characteristics evaluated for seedlings growth were: Plant emergency (E%); Average emergency time (AET), Visual index of dormancy (VID), Amount of normal, abnormal and rotten plants, leaf area (LA), length of part area length (PA), root length (RL), sheets number; dry weight and fresh in bulbs, root and part area. For seeds biochemical evaluation, the tetrazolium test was carried out. Vernalization periods interfered in seed quality. There was found high %E, higher AET, VID, LA, PA and RL, in the periods of 55,60 and 65 days. Higher dry mass contents was found in 40 and 45 days, and the tetrazolium test at 60 days had more viable seeds vigorous. Although 55 and 60 days have larger %E, the removal of the garlic seed bulbs cv. Ito after 50 days

of vernalization does not affect the initial performance of seedling growth and seeds physiological quality.

**KEYWORDS:** Bulb refrigeration, Seed viability, Dormancy, Noble Garlic, Physiological maturity.

### 3.1 Introdução

A produção do alho (*Allium sativum*) no Brasil e em outros países, como na China e Argentina, tem grande relevância tanto economicamente como socialmente. O consumo pode ser *in natura* ou processado com ingestão de compostos nutricionais e medicinais importantes. O cultivo e processamento do alho requer grande dependência de mão de obra, gerando postos de trabalho diretos e indiretos (Lima et al., 2008). O cultivo de alho nobre no Centro-Oeste do Brasil tem ganhado espaço entre os produtores, uma vez que, o processo de vernalização do alho permite a produção, dessas cultivares mais exigentes, em locais onde a temperatura e o fotoperíodo não são satisfatórios para o desenvolvimento da planta (Trani et al., 2008).

A vernalização de sementes de alho permite a quebra da dormência dos bulbilhos, ocasionando redução do ciclo, com emergência uniforme. Porém, cada cultivar de alho tem uma resposta fisiológica diferente, em relação ao tempo de submissão dos bulbilhos-sementes sob baixas temperaturas. Tal comportamento reflete no desempenho da planta no campo, são necessários estudos com diferentes tempos de vernalização, para obter um período mínimo de submissão dos bulbilhos-sementes a baixas temperaturas, visto que a manutenção e uso de câmaras frias são de custo elevado (Zanin et al., 2010)

Além do custo de uso de câmaras frias para a técnica de vernalização do alho, o custo para obtenção das sementes de alho é alto (Coimbra et al., 2007). Desse modo, torna-se imprescindível garantir que as sementes sejam de elevada qualidade. Segundo Kreuz and Souza (2005) a manutenção de bulbilhos-semente de qualidade é um dos fatores que interferem na produtividade da lavoura e qualidade do produto final.

Para a produção de alho-semente, uma parcela da safra anterior é armazenada e em regiões onde o fotoperíodo é curto e a temperatura mais elevada, são submetidas a vernalização. Portanto, após a colheita, o alho entra em estado de dormência, e para a quebra desse estado de repouso fisiológico, quando o IVD (Índice Visual de Dormência) está entre 30-40% (Figura 2), os bulbos-sementes são submetidos a refrigeração em câmara fria (Lucini, 2010).

Para se avaliar a qualidade fisiológica de sementes, usualmente se impregna o teste de germinação. Esse teste proporciona os resultados máximos da porcentagem de germinação de sementes sob condições controladas (Mondo et al., 2008). Além disso, requer um tempo maior para ser executado quando aplicado em sementes que necessitam de quebra de dormência, como por exemplo nas sementes de alho (Bittencourt, 2012).

Entre as metodologias para se avaliar a qualidade fisiológica de sementes, o teste de tetrazólio se destaca pela rapidez no fornecimento de informações e se fundamenta na mudança de coloração da semente (Souza et al., 2017). Desse modo, essa técnica tem se mostrado uma alternativa para se avaliar mais rapidamente o potencial fisiológico de sementes, sendo um teste bioquímico que utiliza o sal 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio (Hossel et al., 2013; Garlet et al., 2015).

Na presença do sal de tetrazólio, as enzimas desidrogenases, que estão envolvidas no processo de respiração celular, formam um composto vermelho estável e não difusível chamado de trifenil formazan. Esse composto fornece uma variação de colorações desde o rosa-avermelhado até o vermelho-carmim, e tecidos mortos não são coloridos, apresentando coloração branca (Rodrigues et al., 2015).

O teste de Tetrazólio além de ser uma avaliação rápida, fornece os resultados de vigor e viabilidade das sementes. Esse teste é muito utilizado em soja (Neves et al., 2016), milho (Chamma and Novembre, 2007), feijão (Hubner Junior and Toledo, 2016), porém há poucos estudos para o desenvolvimento de padronizações de metodologias que sejam empregadas em *Allium* spp.

Além disso, uma escala de cor para a determinação de resultados na interpretação do teste se faz necessário, uma vez que, o critério de avaliação de vigor em sementes é dado pela coloração (Junior et al., 2014). A atribuição de cor pelos olhos humanos pode ser subjetiva, apesar de muito boa, a tomada de decisão para definir a coloração depende de quanta luminosidade ou a falta de luz chega no objeto, e quantas superfícies variadas existem no objeto, tais fatores inferem na capacidade visual de perceber a cor de um objeto estável, tornando a avaliação relativa e individual (Xiao, 2015).

O desenvolvimento de uma escala de cor seria eficaz na interpretação da coloração do 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio em *Allium sativum*, pois, não há na literatura um suporte de imagens digitalizadas para auxiliar na realização do teste de tetrazólio (Lima et al., 2013). Desse modo, pode-se obter uma padronização na coloração, o que resulta em informações mais precisas, tornando o teste de viabilidade e vigor reprodutível, objetivo e padronizado (Fredes et al., 2017).

As avaliações dos efeitos do tempo de vernalização na viabilidade e vigor, de bulbilhos-sementes, fornece informações que podem sanar dúvidas em relação ao crescimento inicial de plantas de alho, e também a necessidade de se obter um período de vernalização para as diferentes cultivares de alho. Desse modo, o estabelecimento de um menor tempo possível de vernalização sem danos no alho-semente, pode diminuir custos

com a câmara fria e mão de obra. Contudo, objetivou-se com esse estudo avaliar os efeitos do acondicionamento de bulbilhos-sementes da cultivar Ito, em baixas temperaturas, bem como avaliar qualidade fisiológica, dos bulbilhos-sementes em relação ao tempo de vernalização, desenvolvendo uma escala de cor para o teste de tetrazólio.

## 3.2 Material e métodos

### 3.2.1 Local experimental

O experimento foi conduzido sob condições de câmara fria e de casa de vegetação. A etapa de câmara fria foi realizada na safra 2018, na fazenda Paineiras Lote 05, localizada no município de Campo Alegre de Goiás (GO), Brasil. Posteriormente o material estudado foi transportado para o Instituto Federal Goiano – Campus Morrinhos para a realização do plantio em casa de vegetação e realização de análises bioquímicas de sementes.

### 3.2.2 Vernalização

Os bulbos de alho da cultivar Ito de alho (*Allium sativum* L.) (Liliaceae) foram mantidos em câmara fria sob diferentes intervalos de tempo para observação do efeito do intervalo de armazenamento na qualidade morfológica e fisiológica do alho-semente. Nessa etapa, os lotes de bulbos de alho, que foram oriundos da própria fazenda, foram armazenados em câmara fria a uma temperatura entre 3 e 5°C e umidade relativa de 50 a 60%. Os tratamentos foram em função do tempo de vernalização: 40 dias de armazenamento (T1), 45 dias (T2), 50 dias (T3), 55 dias (T4), 60 dias (T5) e 65 dias (T6). O tratamento utilizado como controle foi o T4, que é correspondente ao período usual de armazenamento dos bulbos-sementes para posterior plantio do alho nobre no Cerrado goiano.

As coletas foram realizadas nos meses de março e abril de 2018. Em cada coleta foram coletados 120 bulbilhos-semente do lote 21, para o plantio em casa de vegetação e análise bioquímica de qualidade fisiológica. No ato da coleta foi realizada a avaliação do índice visual de dormência (IVD), que consistiu na retirada de dez bulbilhos da amostra e em cada bulbilho foi feito um corte transversal. Dessa forma, com o embrião visível, foi utilizado um paquímetro digital para medir o comprimento do embrião, e depois que foram mensurados os dez bulbilhos, foi estimado o IVD por meio de regra de três. Cada tratamento foi disposto em saco plástico, transportado para o Instituto Federal Goiano – Campus, em uma caixa de isopor com gelo. No laboratório de fisiologia vegetal e pós-

colheita os bulbilhos foram dispostos em bandejas plásticas e imediatamente acondicionados em uma B.O.D. a 25°C, por quatro dias. Esse período foi necessário para simular as condições realizadas nas áreas comerciais antes do plantio.

### 3.2.3 Teste de emergência

O experimento foi instalado em fevereiro de 2018 e as avaliações realizadas entre março e abril de 2018. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente ao acaso (DIC), com seis tratamentos 40, 45, 50, 55, 60 e 65 e dias de vernalização, cinco repetições e cada repetição com 20 unidades experimentais, totalizando 100 sementes plantadas por tratamento. As sementes foram semeadas em bandejas de plástico, entre areia (EA), tendo como substrato areia autoclavada (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009). A temperatura na casa de vegetação foi mantida em 30°C e irrigação foi automatizada duas vezes ao dia por dois minutos.

O experimento permaneceu em casa de vegetação durante 41 dias. Cada tratamento foi retirado da casa de vegetação 14 dias após a emergência, esse tempo foi estipulado por causa do aparecimento de manchas amareladas nas folhas no décimo quarto dia, sugerindo deficiência de nutrientes, uma vez que o substrato utilizado foi somente areia.

### 3.2.4 Análises de Crescimento

Os tratamentos foram retirados da casa de vegetação nos meses de abril e maio de 2018. Em cada tratamento foi feita a lavagem das plantas em água corrente, com o auxílio de uma peneira, para que não fosse perdido material vegetal da raiz. Após a limpeza das plantas (parte aérea e raiz), foram dispostas em bandejas com papel toalha, para retirada o excesso de água. Em seguida os bulbilhos foram classificados como normais, anormais e podres, contados o número de folhas, medido com uma régua: a área foliar, comprimento de raiz e comprimento de parte aérea. As plantas foram separadas em: parte aérea, bulbilho e raiz, o material foi acondicionado em saco de papel e pesado em uma balança semianalítica para obtenção da massa fresca. Posteriormente foram colocados para secagem em estufa de circulação forçada, a 65°C por cinco dias. Depois de estabilizada a massa, as amostras foram colocadas no dessecador por uma hora e logo após foram pesadas para obtenção da massa seca, e os valores expressos em gramas.

### 3.2.5 Teste de Tetrazólio

#### 3.2.5.1 Preparo da Solução

Em laboratório foi preparada a solução de Tetrazólio 1%. Para o preparo da solução foram pesados 2 gramas de sal 2,3,5 trifênil cloreto de tetrazólio, o sal foi transferido para um balão volumétrico e em seguida o foi misturado com 200 mL de água deionizada. Foi armazenado em B.O.D a 4°C até a etapa de coloração.

#### 3.2.5.2 Pré-condicionamento e preparo do alho-semente

O preparo para coloração do bulbilho-semente iniciou 24 horas após cada intervalo de remoção da câmara fria (T1, 40 dias; T2, 45 dias; T3, 50 dias; T4, 55 dias; T5, 60 dias e T6, 65 dias). Os bulbilhos-sementes foram submetidos a imersão em água *overnight*. Em seguida foi feito um corte longitudinal no bulbilho expondo o embrião (Figura 1).

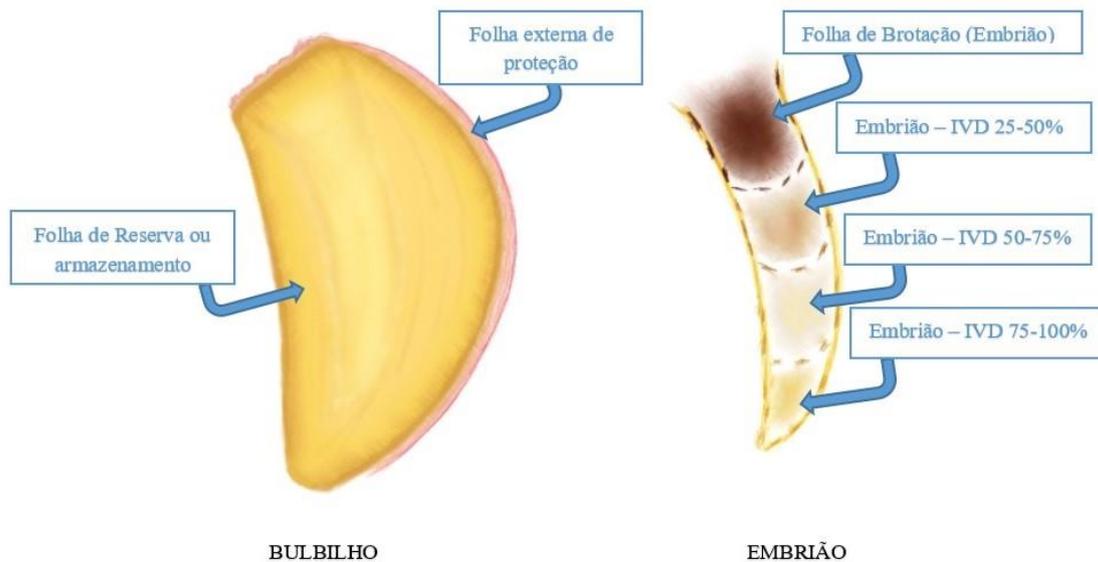


Figura 1: Estrutura de um bulbilho semente de *Allium sativum*. (Fonte: Ribeiro, 2018).

#### 3.2.5.3 Coloração das sementes

Após o pré-condicionamento e exposição do embrião, os bulbilhos-semente foram colocados em uma placa de petri, e o embrião ficou em contato com 15 mL da solução de 2,3,5 trifênil cloreto de tetrazólio 1%, durante 18h ao abrigo da luz, em uma incubadora B.O.D. a 30°C, conforme esquema detalhado na figura 1. Após terminadas as etapas de coloração os bulbilhos-semente foram avaliados quanto a vigor e viabilidade.

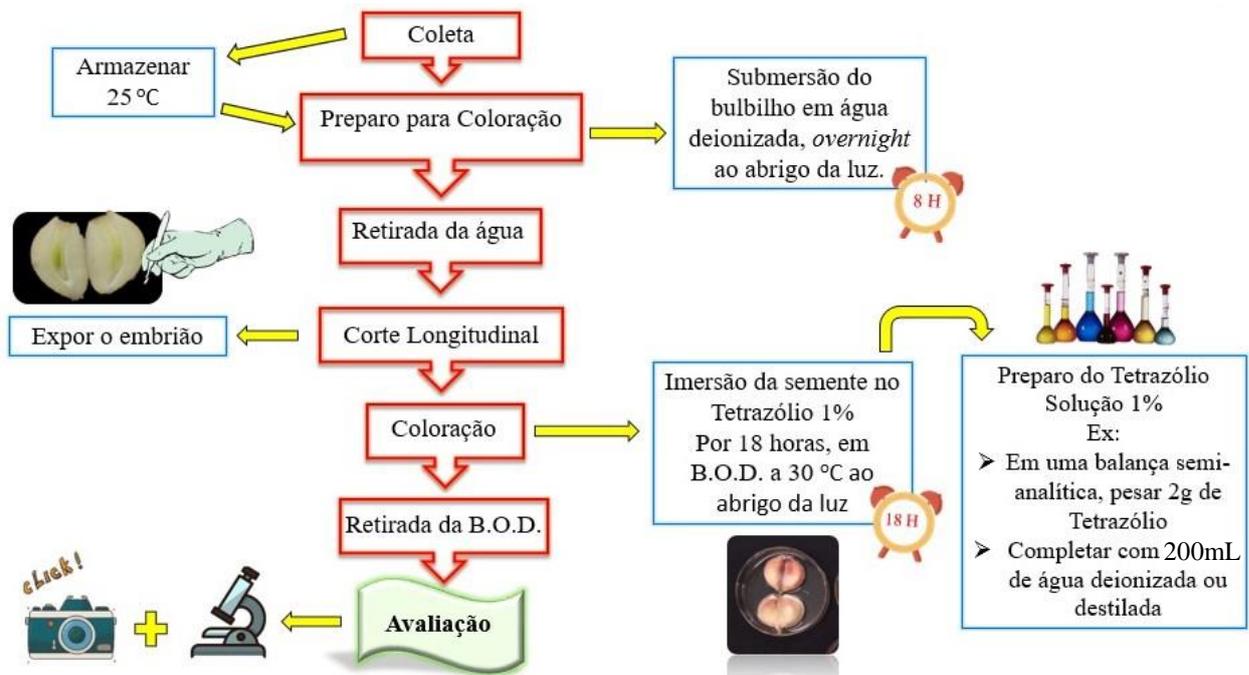


Figura 2: Fluxograma para o teste de Tetrazólio em alho-semente. (Fonte: Ribeiro, 2018).

#### 3.2.5.4 Interpretação do teste

A interpretação do teste foi feita através do auxílio de uma lupa com 10x de aumento. As sementes foram analisadas individualmente e externamente, de acordo com a coloração e aspectos visuais do embrião. Na regra de análise de sementes (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009), é considerado um alho-semente viável quando o embrião e endosperma estiverem completamente coloridos, porém, pequenas áreas superficiais do endosperma não coloridas podem ser toleradas.

Para as diferenças de coloração dos tecidos (Figura 4) foi adotado o critério de classificação de acordo com Lima et al. (2016), ou seja: coloração rosa, túrgida, brilhante e sadia (tecido viável/vigoroso), coloração vermelho escuro com aspecto sadio (tecido viável/não vigoroso) e não colorido com aspecto flácido, parcialmente ou totalmente necrosado (tecido não viável). Todas as sementes passaram pela classificação de viáveis ou não viáveis e ainda classificadas como vigorosas ou não.

Sementes consideradas vigorosas são aquelas que podem originar plantas normais no teste de germinação, por outro lado, sementes consideradas não vigorosas são aquelas capazes de originar plantas com pequenos defeitos, por exemplo, parte aérea menor e pouco desenvolvimento de raízes, mas ainda são caracterizadas como normais. Após a avaliação as sementes foram fotografadas, para posterior elaboração de pranchas ilustradas (Figura 5).

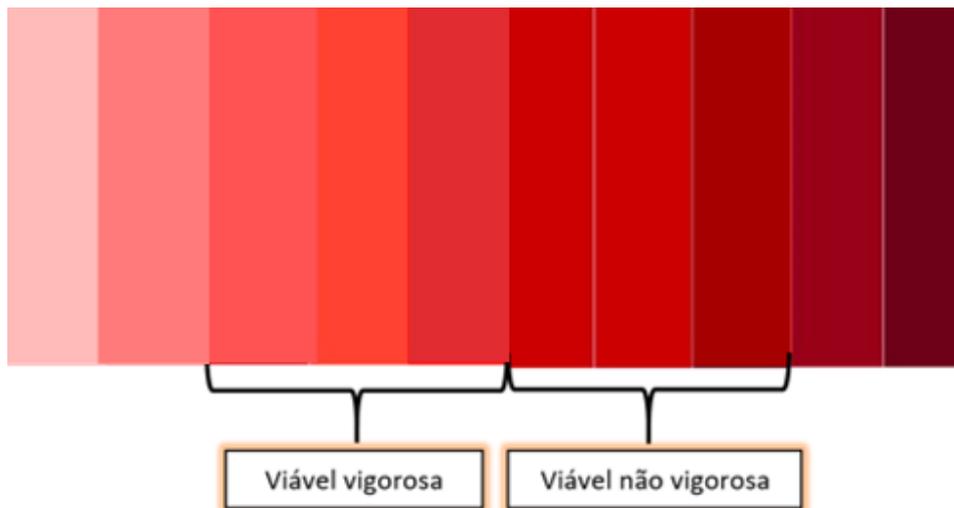


Figura 3: Escala de cor para teste de Tetrazólio em alho (Fonte: Ribeiro, 2018).

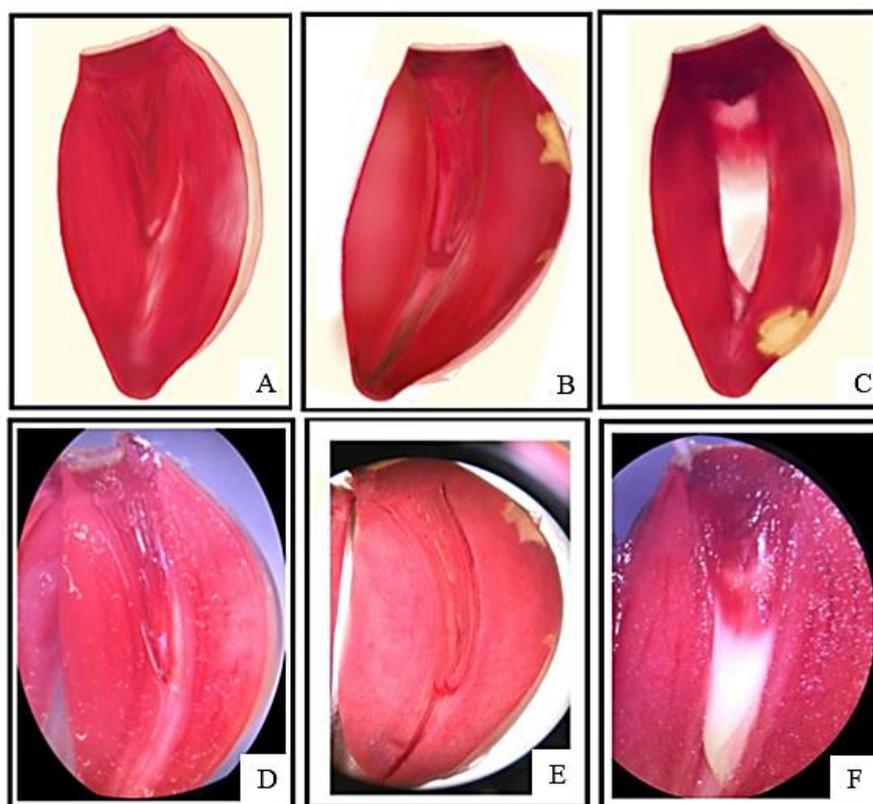


Figura 4: Escala de cor em bulbilhos-semente vernalizados (A, B e C), com escala de 1:10, correspondente as imagens feitas em lupa com aumento de 10x (D, E, F); A e D (bulbilho viável vigoroso); B e E (bulbilho viável não vigoroso); C e F (bulbilho não viável); (Fonte: Ribeiro, 2018).

### 3.2.6 Variáveis analisadas

De acordo com os dados obtidos foi possível avaliar:

- I. A qualidade fisiológica dos bulbilhos-semente pelo teste de Tetrazólio;
- II. Porcentagem de emergência (%E):  $E = \left(\frac{N}{100}\right) \times 100$ , em que o N é o número de sementes emergidas no final do teste, a unidade de medida é %;
- III. Tempo médio de emergência (TME):  $TME = \frac{(\sum ni \times ti)}{\sum ni}$ , em que o ni é o número de sementes germinadas por dia, o ti é o tempo de incubação, a unidade de medida é em dias;
- IV. Índice visual de dormência (IVD):  $IVD = \frac{A}{B} \times 100$ , em que o A é o comprimento da folha de brotação e o B o comprimento do bulbilho, a unidade de medida é em %;
- V. Quantidade de plantas normais, anormais e podres;
- VI. Área Foliar (AF):  $A = (c \times L) \times 0,7458$ , em que A é a Área Foliar, C é o comprimento da folha, L é a Largura da folha e 0,7458 é o fator de correção.
- VII. Comprimento da parte aérea, expressa em cm;
- VIII. Comprimento de raiz, expressa em cm;
- IX. Número de folhas;
- X. Porcentagem de massa seca e fresca de bulbilho, raiz e parte aérea.

### 3.3 Resultados

Os períodos em que os bulbilhos de alho permaneceram em condições de câmara fria interferiram na qualidade das sementes (Figura 5), o que foi observado através das análises realizadas pelo teste de tetrazólio (Figura 6). Para bulbilhos classificados como viáveis vigorosos (escala 2), houve maior quantidade de sementes no período de 60 dias de câmara fria (60%), seguida por 45 e 65 dias (50%), 50 dias (30%), 40 dias (20%) e, por fim, 55 dias (10%) ( $F= 98,75$ ,  $P= 0,00$ ) observados na Figura 6.

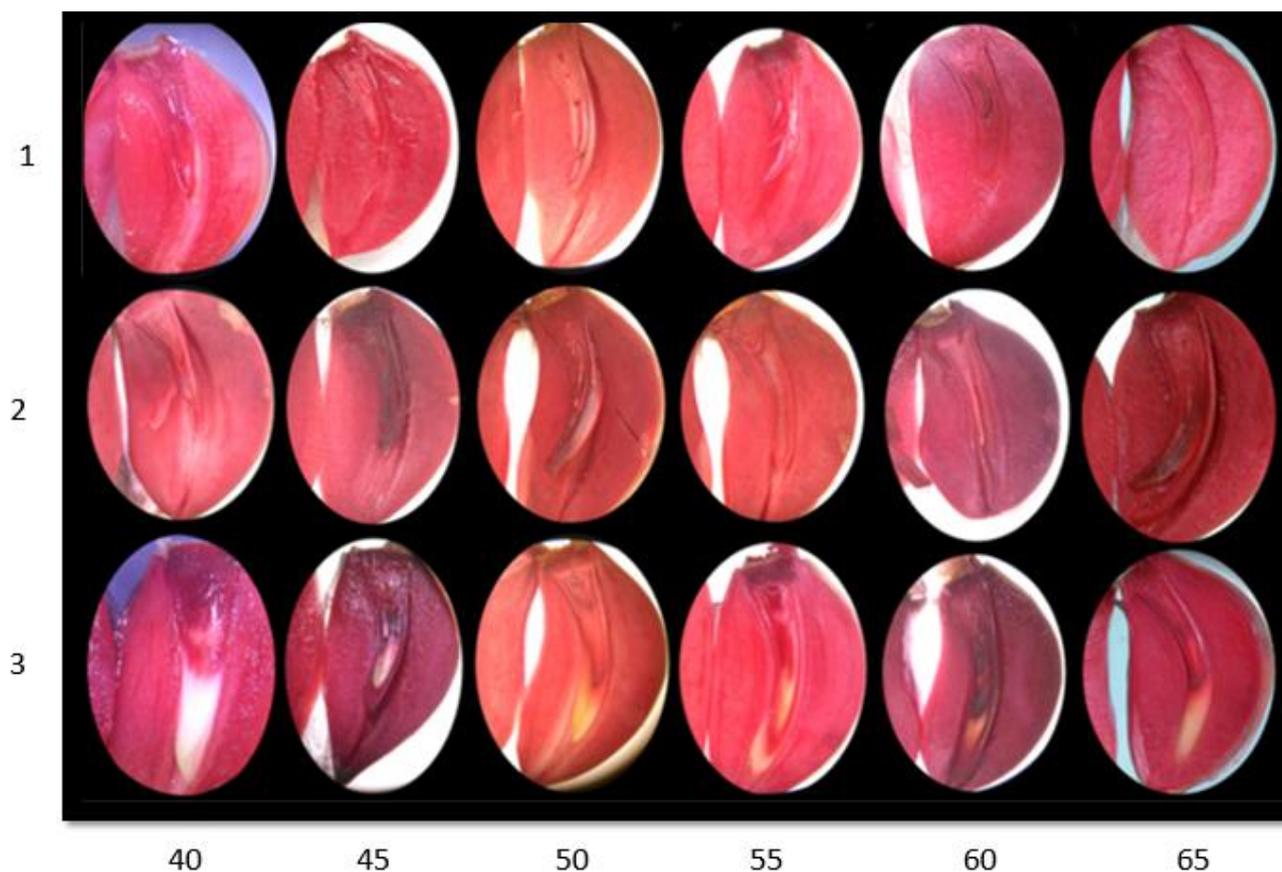


Figura 5: Diferença visual dos bulbilhos-semente de *Allium sativum* vernalizados a 40, 45, 50, 55, 60 e 65 dias, submetidos ao teste de tetrazólio. Viáveis vigorosos (1), viáveis não vigorosos (2) e não viáveis (3).

Os Bulbilhos classificados como viáveis não vigoroso (escala 1) foram associados em maior quantidade para 40 e 50 dias em câmara fria (ambos 40%), seguidos pelos intervalos de 45 dias (30%), 55 dias (20%), 65 dias (10%) e, por fim, 60 dias (0%) ( $F=101,32$ ,  $P=0,01$ ). Para a terceira classificação adotada, não viável (escala 3), os bulbilhos armazenados por 55 dias em câmara fria apresentaram 70% das ocorrências, seguido por 40, 60 e 65 dias em câmara fria (todos 40%), 50 dias (30%) e, por fim, 45 dias (20%) ( $F=91,68$ ,  $P=0,02$ ) (Figura 6).

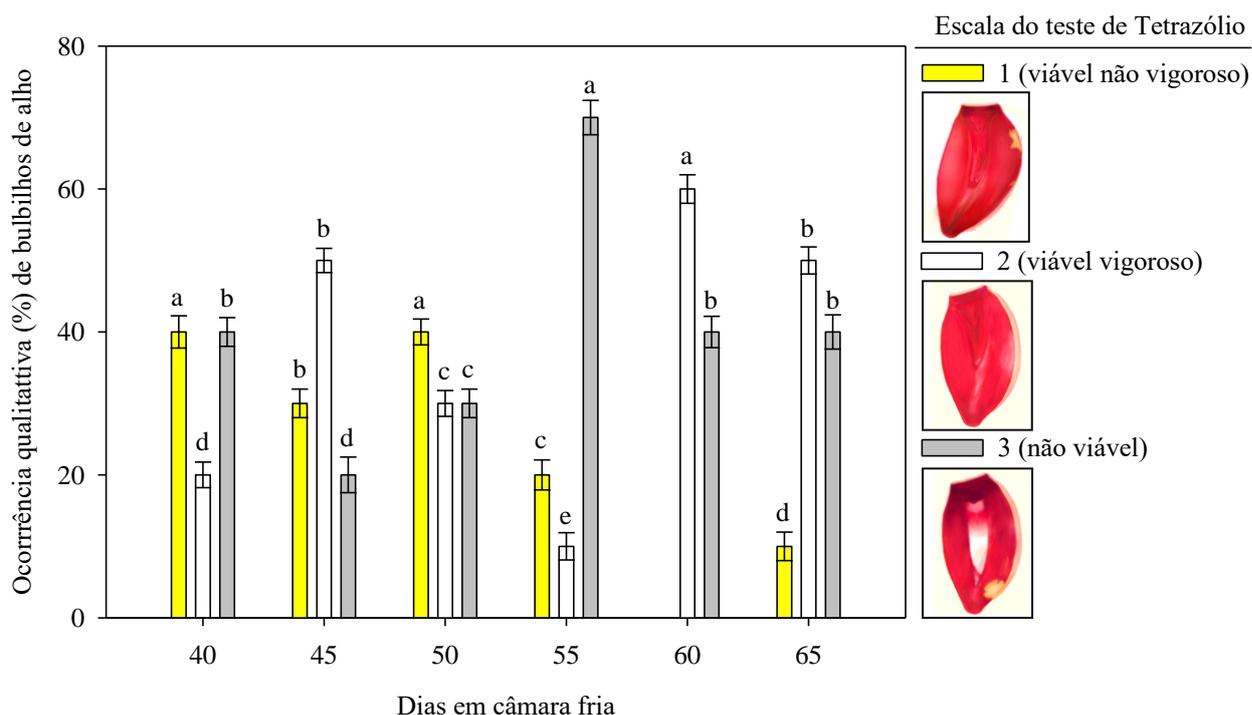


Figura 6: Ocorrência qualitativa (%) (Média  $\pm$  EP<sup>1</sup>), mensuradas através do teste de tetrazólio, de bulbilhos de alho (*Allium sativum* L.) (Liliaceae) submetidos em diferentes dias em câmara fria (5°C e 51% de umidade relativa). <sup>1</sup>Médias dentro de cada escala (apresentada à direita), ao longo dos diferentes dias de câmara fria, seguidas pela letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey, Morrinhos, (2018).

O percentual de emergência (%E) dos bulbilhos de alho diferiu significativamente entre os tratamentos avaliados ( $F= 58,31$ ,  $P= 0,02$ ) (Figura 7A). Maiores percentuais de emergência, com valores acima de 90% foram atingidos para aqueles bulbilhos submetidos a 55, 60 e 65 dias em câmara fria (Figura 7A). Um segundo grupo de bulbilhos de alho, submetidos aos intervalos entre de 40 e 45 dias em câmara fria, tiveram valores de emergência abaixo de 60%. Por outro lado, os bulbilhos de alho submetidos a 50 dias de câmara fria obtiveram emergência média de  $76,00 \pm 6,51\%$ , configurando como grupo intermediário (Figura 7A).

No presente trabalho, o tempo médio de emergência (TME) sofreu influência dos dias submetidos a vernalização ( $F= 57,25$ ,  $P= 0,01$ ) (Figura 7B). Os menores tempos requeridos pelos bulbilhos de alho para emergência, ocorreram na condição de 65 dias em câmara fria ( $9,48 \pm 0,32$  dias) (Figura 7B). Aos 55 e 60 dias de vernalização, verificaram-se valores médios de  $11,33 \pm 0,34$  dias e  $11,16 \pm 0,33$  dias, respectivamente.

Aos 50 dias em câmara fria os bulbilhos de alho demoraram cerca de  $12,49 \pm 0,40$  dias, demonstrando valores superiores comparados aos 55, 60 e 65 dias. Por outro lado, quando os bulbilhos foram submetidos aos períodos de 40 e 45 dias em câmara fria, configurando como os maiores tempos médios de emergência, observaram-se valores de  $16,02 \pm 0,36$  dias e  $15,98 \pm 0,31$  dias de duração para emergência, respectivamente (Figura 7B).

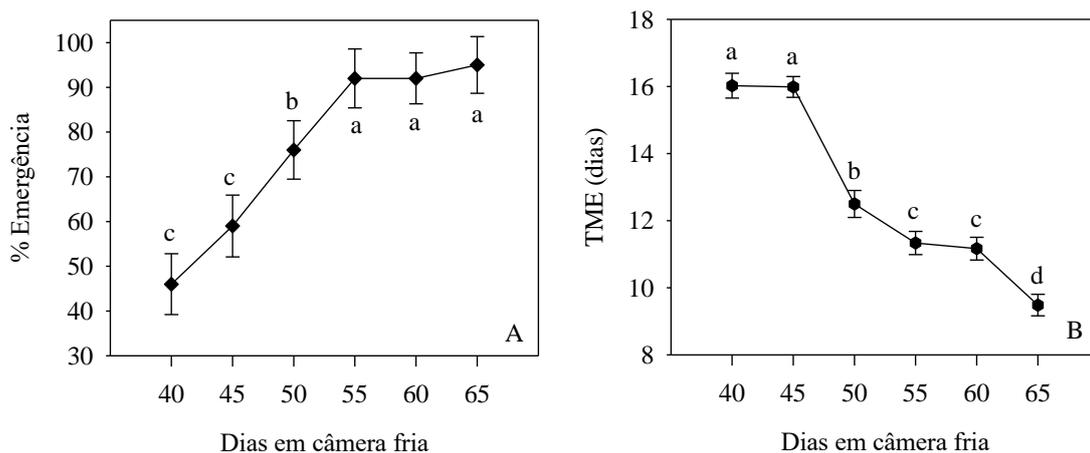


Figura 7: Parâmetros de emergência (Média  $\pm$  EP<sup>1</sup>) de bulbilhos de alho (*Allium sativum* L.) (Liliaceae) submetidos a diferentes dias de vernalização (5°C e 51% de umidade relativa). Figura 7 A: Percentual de emergência (% E) e 7 B: Tempo médio de emergência (TME). <sup>1</sup>\*Médias, para cada parâmetro, seguidas pela mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A partir das médias encontradas para os valores observados do IVD, em função dos tratamentos, foram  $69,48 \pm 10,15$  % (para 40 dias em câmara fria),  $68,77 \pm 7,29$  % (para 45 dias),  $77,47 \pm 6,39$  % (para 50 dias),  $83,85 \pm 8,64$ % (para 55 dias),  $81,15 \pm 6,02$  % (para 60 dias) e  $83,52 \pm 4,47$  % (para 65 dias) (Figura 8).

Na figura 8, os valores para o índice visual de dormência (IVD) para os bulbilhos de alho em função de diferentes dias em vernalização seguiram um modelo significativo de regressão cúbica a  $P = 0,01$ . Nesse caso, pôde-se observar maior quebra de dormência no intervalo de 40 a 60 dias de vernalização. Já a partir dos 60 dias verificou-se decréscimo na dormência dos bulbilhos.

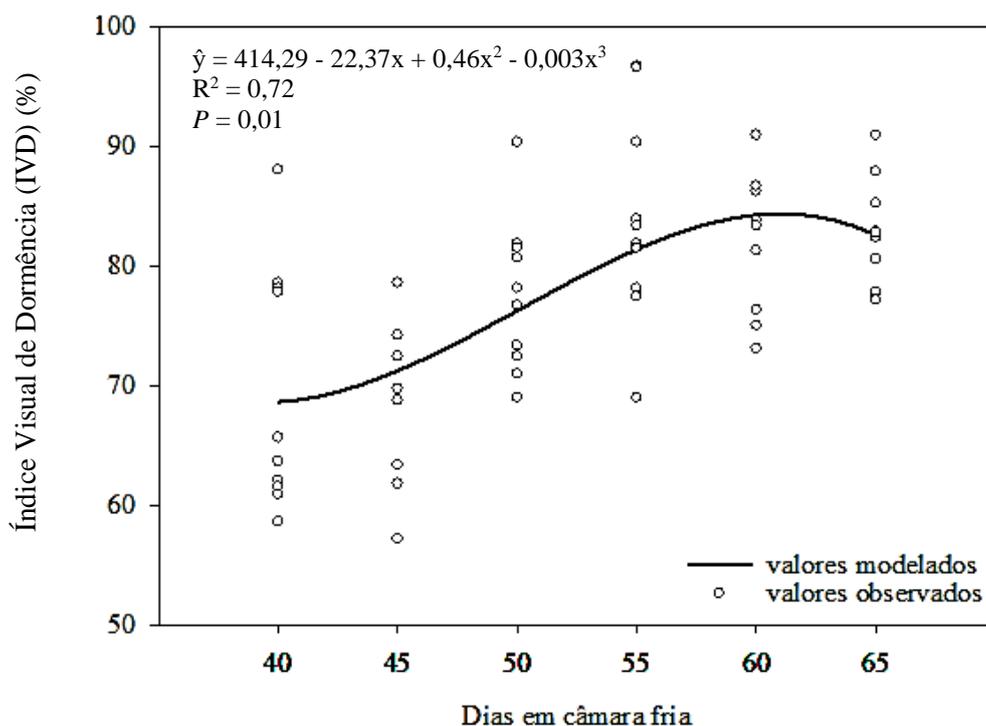


Figura 8: Índice visual de dormência (IVD) (%) de bulbilhos de alho (*Allium sativum* L.) (Liliaceae) submetidos a diferentes dias em câmara fria (5°C e 51% de umidade relativa). Equação de regressão cúbica, coeficiente de regressão e valor de  $P$ , respectivamente:  $y = 414,29 - 22,37x + 0,46x^2 - 0,003x^3$ ;  $R^2 = 0,72$ ;  $P = 0,01$ .

Os modelos matemáticos que melhor se ajustaram aos dados qualitativos das plantas de alho (oriundas de bulbilhos submetidos a diferentes intervalos de tempo de vernalização) foram ajustados por uma regressão cúbica (Figura 9).

Os bulbilhos de alho submetidos a 55, 60 e 65 dias de vernalização tiveram emergência acima de 90% de plantas classificadas normais, com máximo valor de  $98,00 \pm 2,73\%$  para o intervalo de 60 dias de câmara fria (Figura 9). A quantidade de plantas podres foi superior às plantas anormais, sendo que maiores valores percentuais foram encontrados para aqueles bulbilhos de alho submetidos a 40 e 45 dias de câmara fria (Figura 8). Por outro lado, a menor quantidade de plantas de alho consideradas como anormais e podres foram observadas nos intervalos de 60 e 65 dias de vernalização. Sendo que no intervalo de 45 a 60 dias ocorreu aumento do número de plantas normais em relação as podres e anormais. Já em 65 dias é possível notar uma tendência de aumento de plantas podres e anormais, e uma tendência a diminuição de plantas normais.

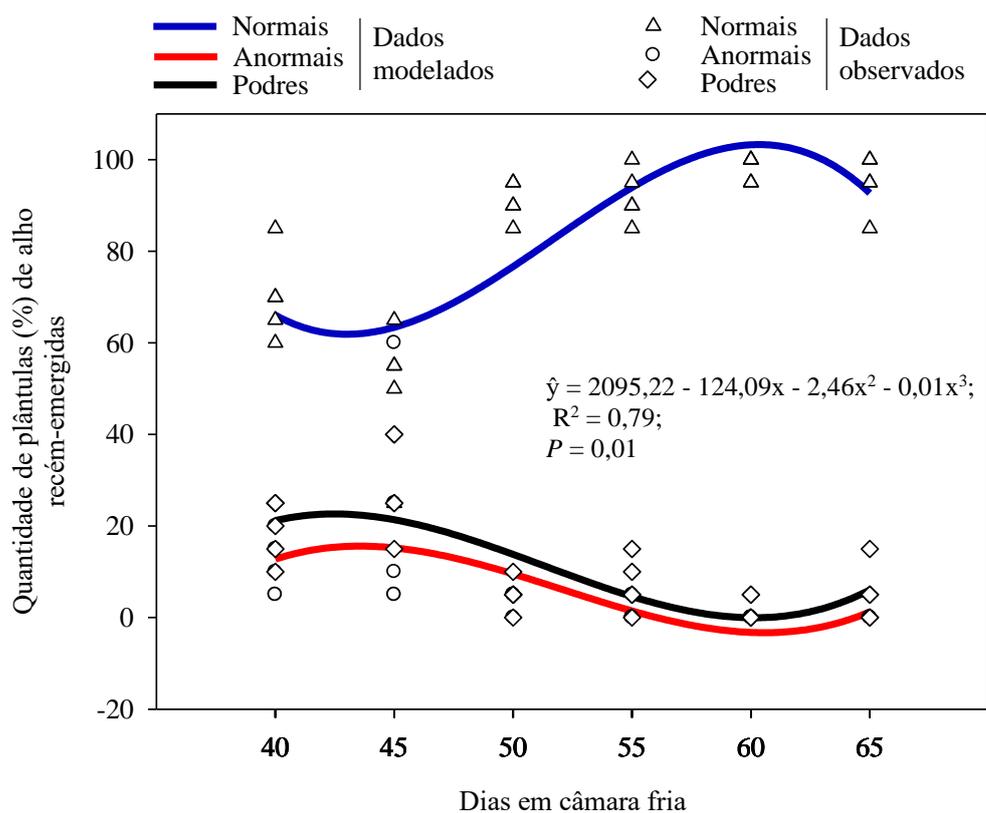


Figura 9: Quantidade (%) de plantas de alho (*Allium sativum* L.) (Liliaceae) que tiveram seus bulbilhos submetidos a diferentes dias em câmara fria (5°C e 51% de umidade relativa). Equação de regressão cúbica, coeficiente de regressão e valor de  $P$ , respectivamente, para plantas de alho avaliadas como normais:  $y = 2095,22 - 124,09x - 2,46x^2 - 0,01x^3$ ;  $R^2 = 0,79$ ;  $P = 0,01$ . Equação de regressão cúbica, coeficiente de regressão e valor de  $P$ , respectivamente, para plantas de alho avaliadas como anormais:  $y = -994,38 + 60,98x - 1,20x^2 + 0,07x^3$ ;  $R^2 = 0,77$ ;  $P = 0,01$ . Equação de regressão cúbica, coeficiente de regressão e valor de  $P$ , respectivamente, para plantas de alho avaliadas como podres:  $y = -1000,83 + 63,02x - 1,26x^2 + 0,08x^3$ ;  $R^2 = 0,73$ ;  $P = 0,01$ .

A área foliar das plantas de alho, oriundas de bulbilhos-semente, submetidas a 60 e 65 dias de câmara fria foi significativamente superior ( $F= 21,24$ ,  $P= 0,01$ ) em comparação com os demais períodos de armazenagem em câmara fria (Tabela 1). O comprimento da parte aérea das plantas de alho foi menor quando os bulbilhos foram

submetidos a 40, 45 e 50 dias de câmara fria ( $F= 35,24$ ,  $P= 0,02$ ), bem como o comprimento da raiz (Figura 10) ( $F= 18,52$ ,  $P= 0,02$ ) (Tabela 1).

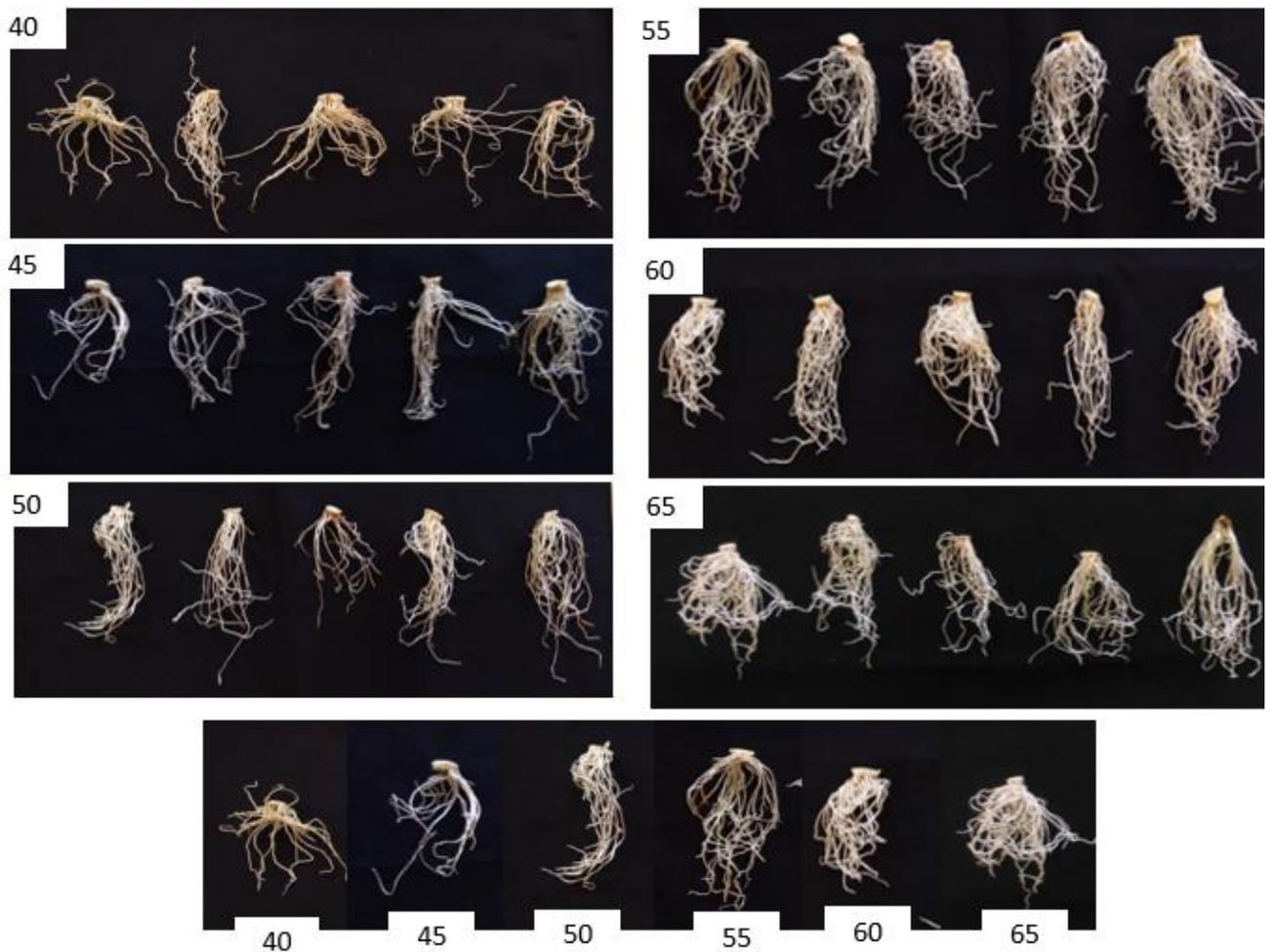


Figura 10: Diferença visual do comprimento de raiz de plantas oriundas de bulbilho-semente vernalizados a 40, 45, 50, 55, 60 e 65 dias.

O número de folhas por planta também sofreu interferência dos dias de câmara fria aos quais os bulbilhos-semente foram submetidos ( $F= 37,58$ ,  $P= 0,01$ ) (Tabela 1). Para esse caso, o maior número de folhas foi encontrado nos bulbilhos submetidos a 60 dias de vernalização (Tabela 1).

Tabela 1. Parâmetros de crescimento (Média  $\pm$  EP<sup>1</sup>) das plantas de alho (*Allium sativum* L.) (Liliaceae) que tiveram seus bulbilhos submetidos a diferentes dias de vernalização (5 °C e 51% de umidade relativa).

Dias em câmara fria	Área foliar (cm <sup>2</sup> )	Comprimento parte aérea (cm)	Comprimento raiz (cm)	Número de folhas
40	12,76 $\pm$ 2,56 b	11,28 $\pm$ 1,97 b	7,00 $\pm$ 1,18 b	1,9 $\pm$ 0,3 b
45	11,62 $\pm$ 1,50 b	11,98 $\pm$ 1,62 b	5,47 $\pm$ 1,32 c	1,0 $\pm$ 0,3 c
50	10,39 $\pm$ 1,67 b	10,64 $\pm$ 1,35 b	10,31 $\pm$ 1,05 a	2,0 $\pm$ 0,2 b
55	13,06 $\pm$ 1,62 ab	15,41 $\pm$ 1,33 a	11,44 $\pm$ 1,00 a	2,1 $\pm$ 0,2 b
60	15,45 $\pm$ 1,56 a	16,33 $\pm$ 1,05 a	10,99 $\pm$ 0,70 a	2,4 $\pm$ 0,2 a
65	16,40 $\pm$ 1,55 a	16,73 $\pm$ 1,11 a	10,03 $\pm$ 0,70 a	2,0 $\pm$ 0,2 b

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

A massa fresca da parte aérea de plantas de alho, oriundas de bulbilhos-semente submetidos a diferentes dias em câmara fria diferiu entre os intervalos de tempo avaliados (F= 12,54, P= 0,03) (Figura 11A). Maiores valores de massa fresca da parte aérea foram observados aos 60 e 65 dias em câmara fria (Figura 11A). Para a massa seca da parte aérea, que também foram encontradas diferenças significativas entre tratamentos (F= 19,25, P= 0,02), os maiores valores foram observados aos 40 e 45 dias em câmara fria (Figura 11B).

A massa fresca do bulbilho de alho, mostrou variações em função dos intervalos de em câmara fria (F= 17,35, P= 0,02), bem como a massa seca desses bulbilhos (F= 35,24, P= 0,03). Maiores valores de massa fresca dos bulbilhos foram apresentados aos 40, 50 e 65 dias em câmara fria (Figura 11C), enquanto para a massa seca dos bulbilhos, apenas aos 60 dias de câmara fria foi encontrado menor valor em comparação aos demais tratamentos (Figura 11D).

Por fim, a massa fresca da raiz dessas plantas de alho diferiu entre os tratamentos avaliados (F= 28,36, P= 0,01), bem como a massa seca da raiz (F= 41,27, P= 0,03). Para a massa fresca da raiz, maiores valores foram observados aos 55 e 65 dias (Figura 11E),

enquanto para a massa seca da raiz, o maior valor foi observado no tempo de armazenamento em câmara fria de 40 dias (Figura 11F).

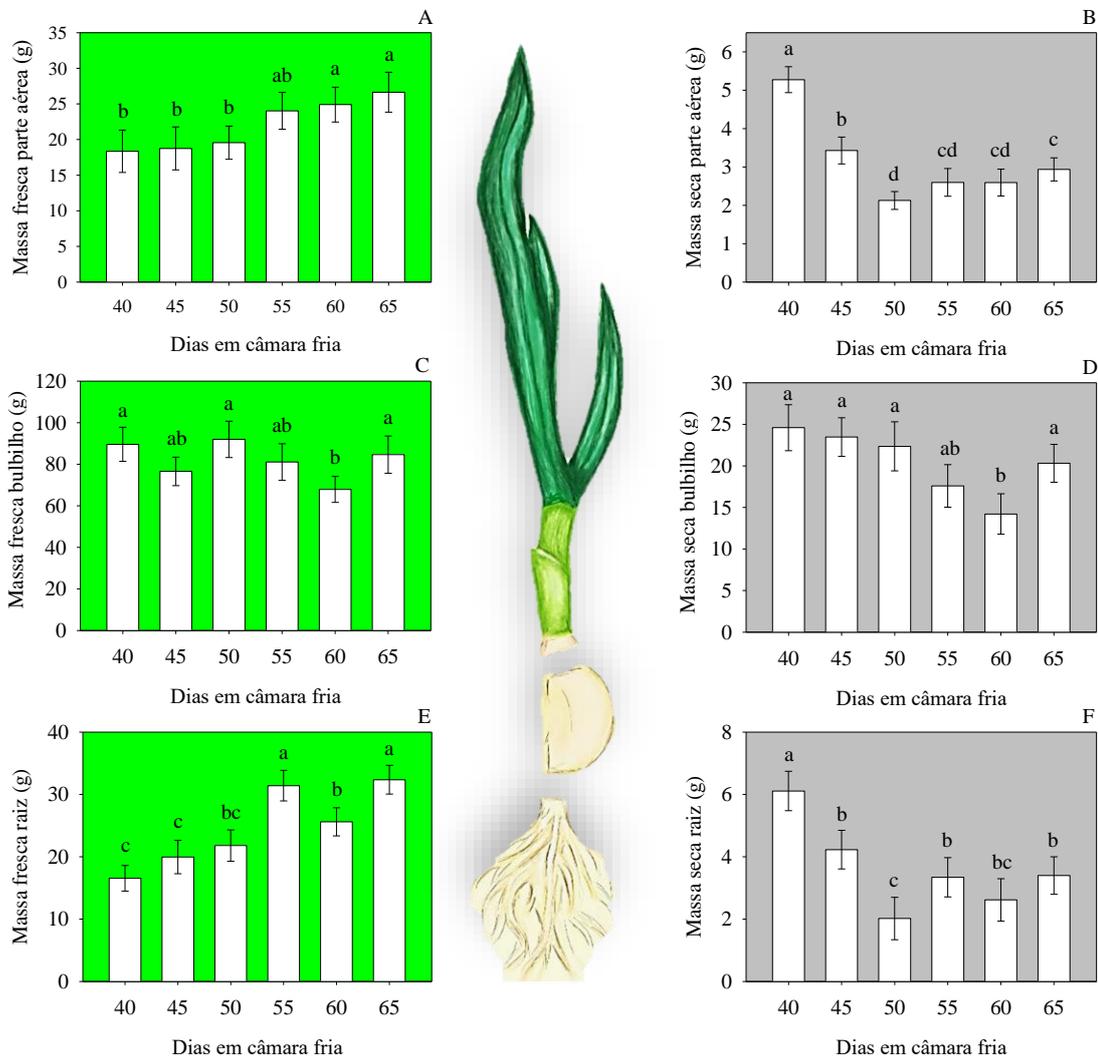


Figura 11: Massas fresca (g) (Média  $\pm$  EP<sup>1</sup>) (Figura 11A) e seca (g) (Média  $\pm$  EP<sup>1</sup>) (Figura 11B) (g) (Média  $\pm$  EP<sup>1</sup>) da parte aérea, massas fresca (g) (Média  $\pm$  EP<sup>1</sup>) (Figura 11C) e seca (g) (Média  $\pm$  EP<sup>1</sup>) (Figura 11D) (g) (Média  $\pm$  EP<sup>1</sup>) do bulbo e massas fresca (g) (Média  $\pm$  EP<sup>1</sup>) (Figura 11E) e seca (g) (Média  $\pm$  EP<sup>1</sup>) (Figura 11F) (g) (Média  $\pm$  EP<sup>1</sup>) da raiz de plantas de alho (*Allium sativum* L.) (Liliaceae) que tiveram seus bulbilhos submetidos a diferentes dias em câmara fria (5°C e 51% de umidade relativa). <sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra, para cada parâmetro avaliado, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Tukey. Desenho da planta de alho sem escala, meramente ilustrativo, (Ribeiro, 2019).

### 3.4 Discussão

Os resultados encontrados nesse trabalho, sugerem que mesmo dentro da cultivar estudada, Ito, há variações no crescimento de plantas submetidas a diferentes dias de vernalização. Visto isso, os resultados vêm para contribuir, tanto no âmbito acadêmico, facilitando a interpretação do teste bioquímico de tetrazólio, quanto em áreas comerciais de produção, tentando estabelecer um período menor de vernalização, do que o período usual de 55 dias de vernalização, para a cultivar Ito.

Os percentuais obtidos no teste de tetrazólio corroboram com os valores encontrados no teste de emergência. Bulbilhos submetidos a 40 e 45 dias de vernalização mostraram taxa de germinação inferior ao que foi estimado no teste de tetrazólio, porém, tais bulbilhos apresentavam IVD baixo. Visto isto, apesar dos bulbilhos apresentarem atividade de respiração e serem considerados vivos, estes não germinaram por não terem superado a dormência, evidenciando que esse período de vernalização é insuficiente para a quebra de dormência (Dias and Alves, 2008).

Os bulbilhos-semente submetidos a 55, 60 e 65 dias de câmara fria, apresentaram percentuais mais altos de sementes não viáveis, porém os resultados do teste de emergência refutam tal resultado. A regra de análise de sementes (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009), sugere que sejam consideradas sementes viáveis somente as que estiverem com todo o embrião colorido. Por outro lado, os resultados do teste de emergência nesse trabalho evidenciaram que, sementes que tiverem leves descolorações no embrião são capazes de emergir, como em trabalhos com outras culturas, como a Melancia (Bhering et al., 2005) e o Milho (Bittencourt, 2012).

A capacidade de regeneração de tecidos e órgãos é dada pela formação de calos embriogênicos, um processo denominado de calogênese. A formação desses calos ocorre quando há algum tipo de estresse nos tecidos e/ou órgãos, como lesões, e tal comportamento tem capacidade de regenerar até embriões possibilitando a brotação (Stein et al., 2010).

Esses calos são induzidos pelo balanço de citocinina/auxina, desse modo, a concentração de citocininas induzem a diferenciação celular e as auxinas, são responsáveis pelo crescimento e alongamento celular. As auxinas sinalizam a transcrição de RNAs mensageiros que codificam proteínas de crescimento celular, as quais, fazem com que haja o crescimento desordenado de células formando o aparecimento de calos (Cunha et al., 1994; Navroski et al., 2012).

Segundo Barboza et al. (2014) e Souza et al. (2018) na formação de calos são produzidos compostos secundários que é comumente encontrado em espécies aromáticas, que apresentem atividades antioxidantes, antitumoral, produção de alcaloides dentre outros, usado na fabricação de fármacos, que também é encontrado no alho. A indução de calos no cultivo *in vitro* de alho é muito utilizada, pois permite a produção de bulbilhos-semente livre de vírus (Júnior, 2011).

A porcentagem de emergência está relacionada com o IVD, pois, sementes que apresentam o IVD alto, têm maiores probabilidade de emergir, por causa da maturidade do embrião e o tempo médio para a emergência é menor se comparado as sementes com o IVD baixo. Os períodos de 55,60 e 65 dias tiveram maiores porcentagens de emergência, melhor tempo médio para emergir, e foi obtido pelo IVD alto. Segundo Soares et al. (2015), as cultivares de alho Branco Mossoró, Centenário, Cateto Roxo e Mexicano apresentaram maiores porcentagens de IVD (87% a 94%), o que favoreceu as taxas de emergências dessas cultivares em relação as que apresentaram IVD baixo.

Os trabalhos de Lima et al. (2012) e Resende et al. (2011) mostram que o IVD pode ser considerado um bom parâmetro de superação da dormência, e corrobora com os resultados obtidos nesse estudo. Os períodos de 40 e 45 dias obtiveram os menores percentuais de emergência, sugerindo que esse tempo de câmara fria, para a cultivar Ito, não favorece a quebra de dormência.

Em estudos com *Allium sativum* L. Woldeyes et al. (2017) obteve maiores porcentagens de emergências em sementes refrigeradas a 4°C do que sementes não refrigeradas. Segundo o mesmo autor, provavelmente a quebra de dormência por temperaturas baixas e o uso de giberelinas (GA<sub>3</sub>) pode aumentar o conteúdo de aminoácidos no embrião, que por sua vez, induz a produção de enzimas hidrolíticas, as quais são responsáveis pela digestão de amido endospermico quando as sementes reiniciam o seu processo de crescimento.

Plantas que demonstram um arranque inicial rápido, ou seja, um tempo médio de emergência menor, como observado nos períodos de 55, 60 e 65, o seu estabelecimento em campo é mais acelerado garantindo maiores chances de sobrevivência. Segundo Meira et al. (2017) quanto menor o tempo médio de emergência, há melhor adaptação da planta, que fica menos vulnerável as condições ambientais adversas e reduz o tempo de desenvolvimento nos estádios iniciais. Desse modo, plantas com melhor arranque inicial apresentam sementes que alcançam maturidade precoce, permitindo a brotação uniforme dos bulbilhos-sementes e colheitas antecipadas.

Apesar de apresentarem grande número de sementes não viáveis, pela classificação do tetrazólio, os bulbilhos-semente submetidos a 55, 60 e 65 dias de vernalização emergiram percentual alto de plantas normais. Tal fato se deve por estratégias fisiológicas, como a calogênese e pelo tempo de vernalização que permitiu a superação da dormência do bulbilho-semente.

A quantidade de plantas podres nos períodos de 40 e 45 dias seria justificada pela não superação de dormência das sementes. Winiarczyk et al. (2014) encontrou resultados semelhantes em *Allium victorialis* L., obteve-se alta quantidade de sementes não germinadas apesar de haver condições favoráveis para a germinação. Segundo o mesmo autor, algumas sementes não germinam sob condições propícias por causa da imaturidade do embrião, que exhibe dormência profunda e pelo acúmulo de hormônios inibidores de germinação, como o ácido abscísico. Segundo Lima et al. (2011), sementes pequenas, apesar de terem superado a dormência, apresentam quantidades baixas reservas, ficando assim, propensas a deterioração após a maturidade fisiológica.

Apesar da quantidade de plantas podres e anormais nos períodos de 40 e 45, obteve-se porcentagens altas de plantas normais quando houve aumento no período vernalização. Porém, para Santos et al. (2012), a cultivar de cebola Baia Periforme decresceu o número de plantas normais germinadas, quando vernalizada a 90 dias por 8 °C.

A capacidade fotossintética de plantas normais está relacionada com a área foliar, que pode influenciar o acúmulo de matéria seca, e como consequência o rendimento da colheita. Observa-se que nos resultados de área foliar quanto maior o tempo de vernalização maior a área foliar, e deve-se à relação da área foliar com a diminuição do peso seco dos bulbilhos, indicando que quanto maior área foliar, o peso seco dos bulbilhos tende a cair. De acordo com o Pinzón-Torres and Schiavinato (2008), em espécies arbóreas as alterações na morfologia foliar estão relacionadas com a idade da planta, quanto maior a idade, maior a capacidade de adaptação das folhas, e refletirá ao incremento em AF refletindo maior área disponível para absorção de luz.

Os baixos resultados, em relação ao comprimento da parte aérea, dos dias de 40, 45 e 50 evidenciam que bulbilhos de alho-semente submetidos a menores períodos de vernalização, apresentam baixos crescimento inicial de parte aérea. Segundo Resende et al. (1999) não há grandes diferenças de crescimento vegetativo nas fases iniciais, entre alho propagado de forma convencional ou em cultura de tecidos. O crescimento se intensifica somente entre 50 e 90 dias após o plantio, sendo que aos 110 dias há

decréscimo do número de folhas vivas e uma paralisação no crescimento da planta, indicando que a planta se encontra na fase final de crescimento vegetativo e começa a intensificar o crescimento dos bulbos.

Porém nesse estudo, apesar do pouco tempo em que as plantas estiveram em casa de vegetação, foram evidenciadas diferenças de crescimento vegetativo. Uma vez que, foram observados maiores comprimentos de parte aérea nos dias de 55, 60 e 65 de vernalização, podendo sugerir uma projeção do arranque inicial da planta em campo, indicando que para a cultivar Ito, quanto maior o tempo em vernalização maior crescimento vegetativo. De acordo com Lucena et al. (2016), foi observado que a vernalização da cultivar BRS Hozan, por 10 dias, foi o suficiente para atingir maior altura de planta em relação a cultivar Gigante do Núcleo, desse modo, plantas de alho que apresentam maiores alturas são capazes de produzir bulbos maiores, pela translocação de nutrientes e fotoassimilados das folhas para o bulbo.

Para Souza et al. (2017) plantas que se sobressaem em relação a altura indicam maior investimento em produção vegetativa, e concede condições para a planta se estabelecer e desenvolver com maior facilidade no campo. Segundo afirmado pelo mesmo autor, tal ocorrência seria por altas concentrações de auxinas, giberelinas e citocininas. Visto isto, a quebra de dormência pelo acondicionamento a frio estimula a síntese de citocinina e giberelina, logo como foi observado, longos períodos de vernalização favorecem a quebra de dormência, podendo ter facilitado a produção desses fitohormônios e obteve maior incremento no comprimento de parte aérea nos períodos de 55, 60 e 65 dias de vernalização.

O comprimento de raiz é um parâmetro que está relacionado com o crescimento da parte aérea, o qual bulbos-plantas com maior tempo de vernalização obtiveram maiores comprimentos de raízes. Segundo Marana et al. (2008), em um estudo com crescimento inicial de café, uma planta que não teve bom desenvolvimento de parte aérea consequentemente não terá bom crescimento radicular. Para Fernandes and Silva (2011), o crescimento radicular está relacionado a citocinina, pois, em aplicação exógena de extrato de alga *Ascophyllum nodosum*, no café, houve maior em produção do sistema radicular.

O número de folhas está associado as condições ambientais e o manejo em que é submetida a planta. Lopes et al. (2016) encontrou decréscimo de número de folhas em período de vernalização maior que 60 dias, corroborando com os resultados encontrados nesse trabalho, em que no período de 65 dias foi observado redução no número de folhas,

como consequência de alterações metabólicas. Foi encontrado também por Schuh et al. (2005), resultados similares em plantas de Lírio, em que, quanto maior o tempo de dias efetivos de vernalização, houve decréscimo no número de folhas por planta.

No parâmetro massa seca de bulbilho, observa-se que aos 40 e 45 a massa é maior, depois tende a cair. Visto isso, nos períodos de menor vernalização, os fotoassimilados parecem ser distribuídos igualmente entre os drenos, de acordo com Alexandrino et al., (2005) na fase de desenvolvimento vegetativo, quando a planta é pequena e há proximidade dos drenos tornando a distribuição de fotoassimilados igual. Nos períodos de 50, 55, 60 e 65, observa-se que a massa dos bulbilhos tende a decrescer e a massa das raízes e da parte aérea tende a subir pelo maior investimento em produção de parte aérea e sistema radicular, para posteriormente as folhas começarem a redistribuir fotoassimilados e iniciar a bulbificação.

Os resultados de massa seca de bulbilho e raiz, foram semelhantes aos encontrados por Seno et al. (2009), em trabalho com a cultivar de alho Roxo Pérola de Caçador, o período de 45 dias de vernalização propiciou maiores incrementos desses parâmetros avaliados. Para a massa seca da parte aérea foi observado pelo autor maiores pesos em 53 dias de vernalização, tal incremento foi justificado pelo maior número de folhas nesse período. De acordo com Andrioli et al. (2008), o acúmulo de massa seca da parte aérea inicial é equivalente à metade da massa seca da planta, de 53 a 59%, obtendo investimento maior produção vegetal, porém, as avaliações foram feitas a partir de 30 dias após o plantio. Desse modo, as variações encontradas nos resultados podem ter acontecido, pelas plantas terem sido retiradas para avaliação depois de 14 dias, após o plantio.

A massa fresca do bulbilho, embora a variação nos resultados seja pequena, pode-se observar que há tendência a aumentar, à medida que aumenta o tempo de vernalização. Reghin et al. (2005), relataram que cebola vernalizada a 5°C durante 25, 35 e 45 dias, houve aumento de massa dos bulbos quando se aumentou os dias de vernalização.

### 3.5 Conclusão

A manutenção dos bulbilhos-semente sob 50 dias de vernalização não prejudicou o crescimento das plantas, nem a qualidade fisiológica das sementes da cultivar Ito, nas condições avaliadas. Porém, o acondicionamento a frio por mais tempo (55 e 60 dias) também se mostra uma alternativa, uma vez que não se mostra prejudicial nas avaliações de crescimento. Essa interpretação no sentido de prorrogar o tempo em câmara fria para os produtores pode ser uma importante informação, uma vez que, o plantio do alho é dependente das condições climáticas. Contudo, mais estudos devem ser realizados para avaliar todo o ciclo do alho e seu desenvolvimento no campo.

### 3.6 Referências bibliográficas

Andrioli, F.F., R.M. Prado, I. Andrioli, and L.P. Saes. 2008. Curva de crescimento e marcha de absorção de nutrientes pela cultura do alho sob condições de campo. *Scientia Agraria*. 9(3):385-393.

Alexandrino, E., J.A. Gomide, J.A. Oliveira, A.C.B. Teixeira, and D.C.F. Lanza. 2005. Distribuição dos Fotoassimilados em Plantas de *Panicum maximum* cv. Mombaça. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 34(5): 1449-1458.

Barboza, T.J.S., D.A. Lage, V.B. Moss, C.A. Souza, and N. Albarello. 2014. Efeito de diferentes meios nutritivos e fitorreguladores visando à otimização da calogênese de *Annona mucosa* (Jacq.). *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s. 16(4):905-911.

Bittencourt, S.R.M., C.R.S. Grzybowkin, M. Panobianco, and R.D. Vieira. 2012. Metodologia alternativa para condução do teste de envelhecimento acelerado em sementes de milho. *Ciência Rural*. 42(8):1360-1365.

Bhering, M.C., D.C.F.S. Dias, and D.I. Barros. 2005. Adequação da metodologia do teste de Tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de Melancia. *Revista Brasileira de Sementes*. 27(1):176-182.

Coimbra, R.A., C.A. Tomaz, C.C. Martins, and J. Nakagawa. 2007. Teste de germinação com acondicionamento dos rolos de papel em sacos plásticos. *Revista Brasileira de Sementes*. 29(1): p.92-97.

Chamma, H.M.C.P., and A.D.L.C. Novembre. 2007. Teste de Tetrazólio para as sementes de milho: Períodos de hidratação e de coloração das sementes. *Revista Brasileira de Sementes*. 29(2):125-129.

Cunha, M.B., J.T. Paranhos, L.T. Dorneles, and E.T.H. Franco. 1994. Efeitos da Interação de auxinas e sistemas de cultivo in vitro na indução de calos a partir de embriões de arroz. *Ciência Rural*. 24(1): 87-90.

Dias, M.C.L.L., and S.J. Alves. 2008. Avaliação da Viabilidade de Sementes de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich) Stapf pelo teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes*. 30(3):145-151.

Fernandes, A.L.T., and R.O. Silva. 2011. Avaliação do extrato de algas (*Ascophyllum nodosum*) no desenvolvimento vegetativo e produtivo do cafeeiro irrigado por gotejamento e cultivado em condições de cerrado. *Enciclopédia biosfera*. 7(13):147-157.

Fredes, C., M. Mora, and M. Carrasco-Benavides. 2017. An Analysis of Seed Colour During Ripening of Cabernet Sauvignon Grapes. *South African Journal for Enology and Viticulture*. 38(1): 38-45.

Garlet, J., G.F. Souza, and P. Delazeri. 2015. Teste de tetrazólio em sementes de *Cassia leptophylla*. *Enciclopédia Biosfera*. 11(21):1800-1808.

- Hossel, C., J.S.M.A. Oliveira, K.C. Fabiane, A.W. Júnios, and I. Citadin. 2013. Conservação e Teste de Tetrázolio em sementes de Jabuticabeira. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 35(1):255-261.
- Hubner Junior, S., and M.Z. Toledo. 2016. Viabilidade de sementes de feijão-caupi colhidas em diferentes épocas em áreas dessecadas em pré- colheita. *A Revista Eletrônica da Faculdade de Ciências Exatas e Agrárias*. 5(8): 75-86.
- Junior, F.G.G., H.M.C.P. Chamma, and S.M. Cicero. 2014. Automated image analysis of seedlings for vigor evaluation of common bean seeds. *Acta Scientiarum*. 36(2):195-200.
- Júnior, F.O.G.M. 2011. Cultivo *in vitro* do alho visando a limpeza clonal. *Revista de Ciências Agroveterinárias*. 10(2):158-167.
- Kreuz, C.L., A. Souza, Florianópolis. 28-30 Nov. 2005. IX Congresso Internacional de Custos, Brasil, SC.
- Lima, C.B., C.A. Cossa, R.R.B. Negrelle, J.T. Bueno, C.C. Lourenço, N.A. Batista, and J.K. Janani. 2011. Germinação e envelhecimento acelerado na análise da qualidade fisiológica de sementes de alfavaca-cravo. *Semina: Ciências Agrárias*. 32(3):865-874.
- Lima, C.B., A.C. Boaventura, A.P. Jorge, L.L.A. Rentschler, And G.M. Domingos. 2012. Altura de plantas e brotação de bulbilhos de alho tratados com ácido giberélico. *Horticultura Brasileira*. 30(2): 3255-3259.
- Lima, L.S., A.S. Dutra, C.C. Santos, and G.L. Barros. 2013. Utilização de Técnicas na Avaliação de Sementes por Imagem. *Agropecuária Científica no Semiárido*. 9(3): 01-06.
- Lima, C.B., T.T. Villela, A.C. Boaventura, C.A. Michetti, and K.A. Colaboni. Foz do Iguaçu. 29 de ago a 1 de set. 2016. Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia – CONTECC, Brasil, PR.
- Lopes, W.A.R., M.Z. Negreiros, F.V. Resende, R.R.M. Lucena, A.M. Soares, O.M.P. Silva, and J.F. Medeiros. 2016. Produção de alho submetido a períodos de vernalização e épocas de plantio em região de clima semiárido. *Horticultura Brasileira* 34: 249-256.
- Lucena, R.R.M., M.Z. Negreiros, F.V. Resende, W.A.R. Lopes, and O.M.P Silva. 2016. Productive Performance Of Vernalized Semi-Noble Garlic Cultivars In Western Rio Grande Do Norte State, Brazil. *Revista Caatinga*. 29: 327 – 337.
- Lucini, A.M. 2010. Excelentes perspectivas para a safra de 2010. *Nosso alho*. 7:30-35.
- Marana, J.P., E. Miglioranza, E.P. Fonseca, R.H. Kainuma. 2008. Índices de qualidade e crescimento de mudas de café produzidas em tubetes. *Ciência Rural*. 38(1):39-45.
- Meira, A.L., L.G. Santos, H.T.A. Mendes, A.P.B. Públio, U.O. Souza, and C.L.F Amaral. 2017. Estimativa de parâmetros genéticos para germinação de sementes e emergência de lântulas em Feijão-Caupi. *Scientia Agraria Paranaensis*. 16(3):353-359.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2009. Regras de Análise de Sementes. 1: 147-224.

Mondo, V.H.V., P.H.S. Brancalion, S.M. Cicero, A.D.L.C. Novembre, and D.D. Neto. 2008. Teste de Germinação de sementes de *Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan (Fabaceae). *Revista Brasileira de Sementes*. 30(2):177-183.

Neves, J.M.G., J.A. Oliveira, H.P. Silva, R.G.E. Reis, J. Zuchi, and A.R. Vieira. 2016. Quality of soybean seeds with high mechanical damage index after processing and storage. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*. 20(11): 1025-1030.

Navroski, M.C., D.A.G. Waldow, M.O. Pereira, and A.O. Pereira. 2012. Calogênese *in vitro* de segmentos apicais caulinares e intermodais em segurelha (*Satureja hortensis* L.). *Revista Agro@ambiente Online*. 6(3):228-234.

Pinzón-Torres, J.A., and M.A. Schiavinato. 2008. Crescimento, eficiência fotossintética e eficiência do uso da água em quatro espécies de leguminosas arbóreas tropicais. *Hoehnea*. 35(3): 395-404.

Resende, J.T.V., R.G.F. Morales, F.V. Resende, R. Carminatti, L.L.C. Bertuzzo, and A.S.T. Figueiredo. 2011. Aplicação complementar de enxofre em diferentes doses na cultura do alho. *Horticultura Brasileira* 29: 217-221.

Resende, F.V., R.J. Souza, V. Faquin, and J.T.V. Resende. 1999. Comparação do crescimento e produção entre alho proveniente de cultura de tecidos e de multiplicação convencional. *Horticultura Brasileira*. 17(2):118-124.

Reghin, M. Y., R.F. Otto, J.R. Olinik, C.P.S. Jacoby, R.P. Oliveira. 2005. Vernalização em bulbos e efeito no rendimento e potencial fisiológico de sementes de cebola. *Horticultura Brasileira*. 23(2):294-298.

Rodrigues, A.P.M.S., A.F.M. Júnior, S.B. Torres, N.W. Nogueira, and R.M.O. Freitas. 2015. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *Revista Ciência Agronômica*. 46(3):638-644.

Santos, M.G.P., W.F. Mota, J.C.B. Vieira, V.J.G.M. Filho, and R.P. Madureira. 2012. Vernalização e corte do terço apical dos bulbos na produção e qualidade de sementes de cebola. *Semina: Ciências Agrárias*. 33(3): 989-996.

Seno, S., A. Seleguini, and P.S. Kog. 2009. Tempo de Vernalização pré-plantio e época da aplicação do Nitrogênio na cultura do Alho. *Cultura Agronômica*. 18(4):75-82

Souza, B.G.A., L.A.F. Pereira, J.V.G.A. Souza, J.R.T. Albuquerque, L.V. Sousa, and A.P.B. Júnior. 2017. Crescimento e desenvolvimento de mudas de tomate sob efeito de extrato. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*. 12(4):712-716.

Souza, D.M.M., R.L.A. Bruno, K.R.G. Silva, S.B. Torres, and A.P. Andrade. 2017. Viabilidade e vigor de sementes de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz pelo teste de tetrazólio. *Revista Ciência Agronômica*. 48(2): 381-388.

- Stein, V.C., R. Paiva, D.P. Vargas, F.P. Soares, E. Alves, and G.F. Nogueira. 2010. Ultrastructural Calli Analysis of *Inga vera* willd. Subsp. *Affinis* (DC.) T.d. Penn. Revista Árvore. 34(5): 789-796.
- Souza, J.C., C.L.S. Rescarolli, and C.V. Nunes. 2018. Produção de metabólitos secundários por meio da cultura de tecidos vegetais. Revista Fitos. 12(3): 269-280.
- Soares, A.M., M.Z. Negreiros, F.V. Resende, W.A.R. Lopes, J.F. Medeiros, and L.C. Grangeiro. 2015. Avaliação de cultivares de alho no município de Governador Dix-sept Rosado-RN, Brasil. Revista Agro@mbiente Online. 9(4):423-430.
- Schuh, M., N.A. Streck, C. Nardi, G.A. Buriol, R.A. Belle, and A. Brackmann. 2005. Vernalização afeta o filocrono em Lírio. Bragantia. 64(1): 25-32.
- Trani, P.E., D.E. Foltran, M.C. Sartori, S.W. Tivelli, and F.A. Passos. 2008. Produtividade de Cultivares de Alho na região Paulista de Tietê. Bragantia, 67: 713-716.
- Winiarczyk, K., K. Skrzypczak, J. Jaroszek-Ścisła, and J. Bocianowski. 2014. Investigations of the capacity and strength of seed germination in *Allium victorialis* L. Acta Societatis Botanicorum Poloniae. 83(3):219-228.
- Woldeyes, F., K. W/tsadik., and G.Tabor. 2016. Emergence of Garlic (*Allium sativum* L.) as Influenced by Low Storage Temperature and Gibberellic Acid Treatments. Journal of Agriculture and Ecology Research International. 10(2). ISSN: 2394-1073.
- Xiao, B. 2015. Color Constancy. Encyclopedia of Color Science and Technology. DOI 10.1007/978-3-642-27851-8\_266-1.
- Zanin, D.S., R.G.F. Morales, J.T. Paula, K. Schwarz, A.M.S Gouveia, J.C. Marodin, J.T.V. Resende. 28 a 30 Out. 2010. XIX Encontro anual de Iniciação Científica, Brasil, PR.