



**CAMILA APARECIDA LOPES**

**CONDICIONAMENTO FISIOLÓGICO E CONSERVAÇÃO  
DE SEMENTES DE TABACO**

**LAVRAS - MG**

**2019**

**CAMILA APARECIDA LOPES**

**CONDICIONAMENTO FISIOLÓGICO E CONSERVAÇÃO DE  
SEMENTES DE TABACO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras,  
como parte das exigências do Programa de Pós-  
Graduação em Agronomia/Fitotecnia, para a obtenção  
do título de Doutor.

Orientadora

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho

**LAVRAS - MG**

**2019**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Lopes, Camila Aparecida.

Condicionamento fisiológico e conservação de sementes de  
tabaco / Camila Aparecida Lopes. - 2019.

141 p.

Orientador(a): Maria Laene Moreira de Carvalho.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2019.  
Bibliografia.

1. *Nicotiana tabacum*. 2. Armazenamento. 3. Vigor. I.  
Carvalho, Maria Laene Moreira de. II. Título.

**CAMILA APARECIDA LOPES**

**CONDICIONAMENTO FISIOLÓGICO E CONSERVAÇÃO DE  
SEMENTES DE TABACO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras,  
como parte das exigências do Programa de Pós-  
Graduação em Agronomia/Fitotecnia, para a obtenção  
do título de Doutor.

Aprovada em 19 de fevereiro de 2019.

Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães	UFLA
Prof. Dr. Anderson Cleiton José	UFLA
Prof <sup>a</sup> Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho	UFLA
Prof <sup>o</sup> . Dr. Humberto Pereira da Silva	SOUZA CRUZ

Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho  
Orientadora

**LAVRAS - MG**

**2019**

*Aos meus pais Jair e Fátima, pelo amor, apoio e força incondicionais.*

*Ao meu irmão Gui, pelo incentivo e carinho.*

*Ao Fe, pelo amor, força e companheirismo.*

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pelas bênçãos em minha vida e a Nossa Senhora Aparecida pela intercessão e proteção.

Aos meus pais, Jair e Fátima; e meu irmão, Gui, pelo amor, incentivo e força incondicionais.

Ao Fernando, meu noivo, pelo amor, companheirismo, força e compreensão.

Agradeço à minha orientadora, Prof<sup>a</sup> Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho, pelo exemplo, pela paciência, ensinamentos e confiança nesses quase cinco anos de colaboração para meu crescimento pessoal e profissional.

Aos professores do Setor de Sementes, Renato, João Almir, Édila e Heloísa, pelos conhecimentos transmitidos durante todo meu mestrado e doutorado.

Aos funcionários do Laboratório de Sementes, do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, Jaqueline, Dalva, Geraldo, Rafa, Rosi e Viviana, e à secretária do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Marli, pela disposição em nos auxiliar.

Aos pós-doutorandos e aos demais pós-graduandos do Setor de Sementes, pelo companheirismo e auxílio nos momentos de dúvidas; e aos alunos de iniciação científica e estagiários, pelo auxílio na execução dos trabalhos.

Aos amigos do laboratório de sementes, da UFLA e às meninas da República 301, que foram essenciais durante o curso e me proporcionaram momentos de muita alegria e que estarão sempre nos meus agradecimentos, pensamentos e no coração.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), ao Departamento de Agricultura e ao programa de pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia, pela oportunidade de realização do curso e por toda a formação.

À empresa Souza Cruz Ltda, pelo fornecimento das sementes para a realização da pesquisa e pela colaboração ao longo do desenvolvimento dos projetos.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

A todos que, de algum modo, contribuíram para a realização deste trabalho,

MUITO OBRIGADA.

*“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo.*

*Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis”.*

*(José de Alencar)*

## RESUMO

A utilização da técnica de condicionamento fisiológico de sementes permite uniformizar e reduzir o período de germinação e emergência de plântulas, mas seu efeito é influenciado por diversos fatores como: o tempo para o condicionamento, o agente condicionante, a espécie, a cultivar e a qualidade fisiológica inicial do lote de sementes. Além disso, apresenta como possível limitação a perda de qualidade das sementes e dos benefícios do tratamento ao longo do armazenamento. Quatro experimentos foram realizados com os objetivos de analisar metodologias para o condicionamento fisiológico de sementes de tabaco, definir o agente condicionante mais indicado e avaliar diferentes formas de armazenamento (câmara fria e criopreservação) para a manutenção da qualidade fisiológica de lotes de sementes condicionadas de diferentes níveis de vigor. De acordo com os resultados, o condicionamento fisiológico com hipoclorito de sódio não afeta o percentual de germinação, mas possibilita maior velocidade e emergência de plântulas quando se utiliza a concentração de 1% por 180, 30 e 15 minutos. O agente condicionante, a qualidade inicial do lote e o tempo de armazenamento interferem na qualidade fisiológica de sementes de tabaco condicionadas e armazenadas em câmara fria. A água, a espermidina ( $0,5 \text{ mmol.L}^{-1}$ ) e o nitrato de potássio ( $-1 \text{ MPa}$ ) são agentes condicionantes indicados para o condicionamento fisiológico das sementes de tabaco que podem ser mantidas, após condicionamento em câmara fria a  $10^{\circ}\text{C}$ , por dezesseis meses sem perda de sua qualidade fisiológica. O condicionamento proporciona maior atividade das enzimas catalase, esterase, álcool desidrogenase e malato desidrogenase até o décimo segundo mês de armazenamento. Sementes de tabaco condicionadas com espermidina e água podem ser criopreservadas, sem perda de qualidade fisiológica inicial, quando secadas rapidamente em sílica gel e reaquecidas em banho-maria por 2 minutos.

**Palavras-chave:** Armazenamento. Criopreservação. Enzimas. *Nicotiana tabacum*. Vigor.

## ABSTRACT

Seeds priming or conditioning are commercial techniques that allow standardize and reduce the time of germination and emergence of seedlings, but its effect is influenced by several factors such as: conditioning time, conditioning agent, species, cultivar and initial physiological seed lot quality. In addition, it presents as possible limitation the seed quality loss and the benefits of treatment throughout the storage. Four experiments were carried out with the objective of analyzing methodologies for the tobacco seeds priming, defining the most suitable conditioning agent and evaluating different storage forms (cold room and cryopreservation) for the maintenance of the physiological quality of conditioned seed lots from different vigor levels. According to the results, the priming with sodium hypochlorite does not affect the percentage of germination, but it allows a greater speed and emergence of seedlings when using the concentration 1% for 180, 30 and 15 minutes. The conditioning agent, initial lot quality and storage time interfere with the physiological quality of conditioned tobacco seeds stored in a cold room. Water, spermidine ( $0.5 \text{ mmol.L}^{-1}$ ) and potassium nitrate (-1 MPa) are suitable conditioning agents for the tobacco seeds priming that can be maintained after conditioning in a cold room at  $10 \text{ }^{\circ}\text{C}$  for sixteen months without loss of its physiological quality. The conditioning provides greater activity of the enzymes catalase, esterase, alcohol dehydrogenase and malate dehydrogenase until the 12<sup>th</sup> month of storage. Tobacco seeds conditioned to spermidine and water can be cryopreserved without loss of initial physiological quality when they are rapidly dried on silica gel and reheated in a water bath for 2 minutes.

**Keywords:** Storage. Cryopreservation. Enzymes. *Nicotiana tabacum*. Vigor.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### CAPÍTULO 2

#### LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Comparação entre a testemunha adicional e cada tratamento resultante do fatorial nos testes de primeira contagem de germinação (PC), germinação (G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de tabaco submetidas ao condicionamento fisiológico com hipoclorito de sódio.....	36
Tabela 2	Comparação entre a testemunha adicional e cada tratamento resultante do fatorial para estande inicial (EI), estande final (EF) e índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de tabaco submetidas ao condicionamento fisiológico com hipoclorito de sódio. ....	37
Tabela 3	Condutividade elétrica (CE) em sementes de tabaco submetidas ao condicionamento fisiológico com hipoclorito de sódio.....	38

### CAPÍTULO 3

#### LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Caracterização da qualidade fisiológica de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704.....	49
Tabela 2	Determinação do teor de água de sementes de tabaco, cultivar CSC4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria. ....	50
Tabela 3	Germinação (%), primeira contagem de germinação (%) e índice de velocidade de germinação de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4707, logo após o condicionamento fisiológico das sementes. ....	51
Tabela 4	Índice de velocidade de emergência de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, logo após o condicionamento fisiológico das sementes.....	53
Tabela 5	Emergência inicial e final (%) e condutividade elétrica ( $\mu\text{s. cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ ) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente.....	54
Tabela 6	Germinação (%), emergência inicial (%) e índice de velocidade de emergência de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, armazenadas por quatro meses em câmara fria.....	55
Tabela 7	Primeira contagem de germinação (%) e índice de velocidade de germinação de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas por quatro meses em câmara fria. ....	56
Tabela 8	Emergência final (%) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas por quatro meses em câmara fria. ...	56
Tabela 9	Condutividade elétrica ( $\mu\text{S. cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ ) de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas por quatro meses em câmara fria. ....	57
Tabela 10	Germinação (%), primeira contagem de germinação (%) e índice de velocidade de germinação de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas por oito meses em câmara fria. ...	58
Tabela 11	Emergência inicial (%) e índice de velocidade de emergência de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas por oito meses em câmara fria. ....	60

Tabela 12	Emergência final (%) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, armazenados por oito meses em câmara fria. ....	61
Tabela 13	Condutividade elétrica ( $\mu\text{S.cm}^{-1}\text{.g}^{-1}$ ) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas por oito meses em câmara fria. ....	61
Tabela 14	Germinação (%), primeira contagem de germinação (%) e índice de velocidade de germinação de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria por doze meses.....	62
Tabela 15	Emergência inicial (%) e índice de velocidade de emergência de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria por doze meses. ....	64
Tabela 16	Emergência final (%) e condutividade elétrica ( $\mu\text{S. cm}^{-1}\text{.g}^{-1}$ ) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, armazenadas por doze meses em câmara fria. ....	65
Tabela 17	Condutividade elétrica ( $\mu\text{S. cm}^{-1}\text{.g}^{-1}$ ) de sementes de tabaco, cultivar CSC, condicionadas fisiologicamente e armazenadas por doze meses.....	65
Tabela 18	Germinação (%) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria por dezesseis meses.....	66
Tabela 19	Primeira contagem de germinação (%) e índice de velocidade de germinação de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, armazenadas em câmara fria por dezesseis meses.....	67
Tabela 20	Índice de velocidade de germinação de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria por dezesseis meses.....	67
Tabela 21	Emergência inicial (%), emergência final (%) e índice de velocidade de emergência de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria por dezesseis meses. ....	69
Tabela 22	Condutividade elétrica ( $\mu\text{S.cm}^{-1}\text{.g}^{-1}$ ) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria por dezesseis. ....	70

#### **CAPÍTULO 4**

##### **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1	Caracterização da qualidade fisiológica de lotes de sementes de tabaco da cultivar CSC 4704.....	82
Tabela 2	Germinação (%) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionados fisiologicamente e armazenados em câmara fria.....	84
Tabela 3	Primeira contagem de germinação (%) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionados fisiologicamente e armazenados em câmara fria.....	88
Tabela 4	Índice de velocidade de germinação de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionados fisiologicamente e armazenados em câmara fria. ....	91
Tabela 5	Índice de velocidade de germinação de sementes de tabaco, lote 2, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente. ....	92

Tabela 6	Emergência inicial (%) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionados fisiologicamente e armazenados em câmara fria.....	96
Tabela 7	Índice de velocidade de emergência de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionados fisiologicamente e armazenados em câmara fria. ....	101
Tabela 8	Condutividade elétrica de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente.....	104
Tabela 9	Condutividade elétrica de sementes de tabaco, lote 3, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria. ....	105

#### **LISTA DE FIGURAS**

Figura 1	Germinação (%) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria.....	86
Figura 2	Primeira contagem de germinação (PCG - %) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionados fisiologicamente e armazenados em câmara fria.....	90
Figura 3	Índice de velocidade de germinação (IVG) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria.....	94
Figura 4	Emergência inicial (EI - %) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionados fisiologicamente e armazenados em câmara fria.....	98
Figura 5	Emergência final (EF - %) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, armazenados em câmara fria. ....	99
Figura 6	Índice de velocidade de emergência (IVE) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionados fisiologicamente e armazenados em câmara fria.....	102
Figura 7	Condutividade elétrica (CE) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria. ....	106
Figura 8	Condutividade elétrica (CE) de sementes de tabaco, lote 3, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria .....	107
Figura 9	Expressão da enzima catalase (CAT) em sementes de tabaco, lote 1, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria.....	108
Figura 10	Expressão da enzima catalase (CAT) em sementes de tabaco, lote 2, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria.....	67
Figura 11	Expressão da enzima catalase (CAT) em sementes de tabaco, lote 3, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria.....	110
Figura 12	Expressão da enzima esterase (EST) em sementes de tabaco, lote 1, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria.....	112
Figura 13	Expressão da enzima esterase (EST) em sementes de tabaco, lote 2, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria.....	113
Figura 14	Expressão da enzima esterase (EST) em sementes de tabaco, lote 3, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria.....	114
Figura 15	Expressão da enzima álcool desidrogenase (ADH) em sementes de tabaco, lote 1, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria .....	115

Figura 16	Expressão da enzima álcool desidrogenase (ADH) em sementes de tabaco, lote 2, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria .....	116
Figura 17	Expressão da enzima álcool desidrogenase (ADH) em sementes de tabaco, lote 3, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria .	117
Figura 18	Expressão da enzima malato desidrogenase (MDH) em sementes de tabaco, lote 1, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria. ....	118
Figura 19	Expressão da enzima malato desidrogenase (MDH) em sementes de tabaco, lote 2, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria .....	119
Figura 20	Expressão da enzima malato desidrogenase (MDH) em sementes de tabaco, lote 3, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria .....	120

## **CAPÍTULO 5**

### **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1	Teor de água (%) das sementes de tabaco ( <i>Nicotiana tabacum</i> ) da cultivar BAT2101, após diferentes formas de condicionamento fisiológico e secagem. ...	131
Tabela 2	Condutividade elétrica ( $\mu\text{S. cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ ) de sementes de tabaco ( <i>Nicotiana tabacum</i> ) da cultivar BAT2101 condicionadas fisiologicamente e criopreservadas para os fatores condicionamento e reaquecimento (A) e para o fator secagem (B).....	132
Tabela 3	Primeira contagem de germinação (%) de sementes de tabaco ( <i>Nicotiana tabacum</i> ) da cultivar BAT2101 condicionadas fisiologicamente e criopreservadas para os fatores condicionamento e reaquecimento (A) e para o fator secagem (B).....	133
Tabela 4	Germinação (%) de sementes de tabaco ( <i>Nicotiana tabacum</i> ) da cultivar BAT2101 condicionadas fisiologicamente e criopreservadas para os fatores condicionamento e reaquecimento (A) e para o fator secagem (B).....	134
Tabela 5	Índice de velocidade de germinação de sementes de tabaco ( <i>Nicotiana tabacum</i> ) da cultivar BAT2101 condicionadas fisiologicamente e criopreservadas para os fatores condicionamento e reaquecimento (A) e para o fator secagem (B).....	135
Tabela 6	Emergência inicial (%) de sementes de tabaco ( <i>Nicotiana tabacum</i> ) da cultivar BAT2101 condicionadas fisiologicamente e criopreservadas para os fatores condicionamento e reaquecimento (A) e para o fator secagem (B).....	136
Tabela 7	Emergência final (%) de sementes de tabaco ( <i>Nicotiana tabacum</i> ) da cultivar BAT2101 condicionadas fisiologicamente e criopreservadas para os fatores condicionamento e reaquecimento (A) e fator secagem (B). ....	137
Tabela 8	Índice de velocidade de emergência de sementes de tabaco ( <i>Nicotiana tabacum</i> ) da cultivar BAT2101 condicionadas fisiologicamente e criopreservadas para os fatores condicionamento e reaquecimento (A) e para o fator secagem (B).....	138

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	15
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	17
<b>2.1</b>	<b>A espécie <i>Nicotiana tabacum</i> L. e a qualidade fisiológica de suas sementes</b> .....	17
<b>2.2</b>	<b>Condicionamento fisiológico</b> .....	18
<b>2.3</b>	<b>Armazenamento de sementes condicionadas</b> .....	21
<b>2.4</b>	<b>Atividade enzimática</b> .....	22
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	26
	<b>CAPÍTULO 2</b> .....	31
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	32
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	34
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	36
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	39
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	40
	<b>CAPÍTULO 3</b> .....	42
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	44
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	46
<b>3</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	49
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	71
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	72
	<b>CAPÍTULO 4</b> .....	75
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	77
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	79
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	82
<b>4</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	121
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	122
	<b>CAPÍTULO 5</b> .....	126
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	127
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	129
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	131
<b>4</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	139
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	140

## CAPÍTULO 1

### 1 INTRODUÇÃO GERAL

O tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) pertencente à família Solanaceae e ao gênero *Nicotiana* está presente na história da sociedade pelo menos desde o século XV, tendo sido, ao longo do tempo, consumido de diferentes formas (SOUZA CRUZ, 2018).

O principal uso da espécie *Nicotiana tabacum* é para a produção de cigarros pela indústria tabacaleira, mas o óleo extraído de suas sementes pode ser usado na indústria farmacêutica, na alimentação animal e para o biodiesel, além do tabaco servir como planta modelo em estudos de engenharia genética (OLIVEIRA et al., 2016).

A indústria mundial do tabaco movimentava economicamente mais de 200 países, sendo altamente relevante para milhões de pessoas envolvidas direta ou indiretamente na sua complexa cadeia produtiva (SOUZA CRUZ, 2018). No cenário mundial, o Brasil é o segundo maior produtor de tabaco e o principal exportador. De acordo com a Associação dos Fumicultores do Brasil, a produção nacional registrada na safra de 2017/2018 foi de 707,034 toneladas (ASSOCIAÇÃO DOS FUMICULTORES DO BRASIL - AFUBRA, 2018). A região sul do país é responsável pela maior parte da produção (97%). O país também é o maior exportador de sementes de tabaco.

As sementes de tabaco caracterizam-se pela cor marrom, formato oblongo e tamanho reduzido (MAJDI et al., 2012), sendo que, em um grama de sementes, tem-se aproximadamente dezesseis mil unidades (BRASIL, 2009). Apresentam germinação desuniforme, devido a maturação desigual entre e dentro dos frutos na colheita, dormência induzida pelo ABA endógeno (GMACH et al., 2014) e também pela resistência mecânica exercida pela testa e o endosperma (ONELLI et al., 2017). A técnica de condicionamento fisiológico pode contribuir significativamente para uniformizar e aumentar a velocidade de germinação, além de, em alguns casos, contribuir para a superação da dormência das sementes (VARIER et al., 2010).

O condicionamento fisiológico foi testado para sementes de tabaco, com resultados promissores, porém não há um consenso sobre a metodologia mais adequada para esse procedimento. Yan et al. (2003) verificaram que o condicionamento de sementes de tabaco em solução de polietileno glicol (PEG) promoveu a germinação. Os pesquisadores Wen-Guang et al. (2009) observaram que o condicionamento fisiológico com água promoveu

incrementos na germinação, com aumento no comprimento e peso seco de plântulas. Caldeira et al. (2014) observaram que o condicionamento fisiológico melhora o vigor das sementes sendo que o condicionamento com água foi o mais eficiente enquanto o PEG não foi um bom agente condicionante para sementes dessa espécie. Oliveira (2016) verificou incrementos no vigor das sementes de tabaco quando foram condicionadas com água e nitrato de potássio.

Sem uma metodologia adequada para o tratamento das sementes, torna-se difícil a utilização do condicionamento fisiológico pelas empresas produtoras de sementes de tabaco, pois muitos fatores podem interferir na eficiência da técnica, como o método de condicionamento, o tempo a ser empregado, o agente condicionante, a espécie a ser trabalhada, a cultivar e até mesmo a qualidade do lote de sementes.

Outra limitação para que as empresas de sementes de tabaco utilizem a técnica de condicionamento comercialmente é a falta de informação sobre o comportamento das sementes condicionadas durante o armazenamento. Alguns pesquisadores relatam que as sementes condicionadas de diferentes espécies se deterioram mais rápido do que as não condicionadas e perdem os efeitos benéficos do tratamento ao longo do armazenamento (VARIER et al., 2010; WANG et al., 2018; YAN et al., 2017). Por outro lado, outros autores observaram que o armazenamento das sementes condicionadas pode ser realizado sem prejuízos à sua qualidade fisiológica (LOPES et al., 2011). Para sementes de tabaco, sabe-se apenas que o armazenamento das sementes condicionadas em câmara fria, por três meses, não afeta a sua qualidade (CALDEIRA et al., 2014). Mas, não se sabe qual o comportamento destas sementes no armazenamento a longo prazo.

A criopreservação é uma alternativa para a conservação das sementes a longo prazo. Nesta técnica, as sementes de diversas espécies, incluindo tabaco, são conservadas por longos períodos em temperaturas extremamente baixas (PÉREZ-RODRIGUES et al., 2017). No entanto, não existem informações sobre o efeito da criopreservação em sementes de tabaco condicionadas.

Desta forma, há a necessidade do desenvolvimento de pesquisas, nas quais serão analisadas metodologias para o condicionamento fisiológico de sementes de tabaco com a definição do melhor agente condicionante e avaliação de diferentes formas de armazenamento para a preservação da qualidade de lotes de sementes condicionadas.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 A espécie *Nicotiana tabacum* L. e a qualidade fisiológica de suas sementes

Uma das culturas agrícolas não alimentícias mais importantes do mundo é o tabaco; esse, contribui substancialmente para as economias de mais de 200 países, sendo o Brasil, o segundo maior produtor e o principal exportador de tabaco processado (SOUZA CRUZ, 2018) e de sementes do mundo.

O principal uso do tabaco se dá na indústria tabagista, para produção de cigarros, mas a planta de tabaco é considerada modelo, com aplicabilidade na engenharia genética. O óleo extraído de suas sementes pode ser usado na indústria farmacêutica, na alimentação animal e até mesmo como biodiesel (OLIVEIRA, 2016; STANISAVLJEVIC; LAZIC; VELJKOVIC, 2007).

O tabaco pertence à família *Solanaceae* e ao gênero *Nicotiana*. Com base nas características bioquímicas da planta, tem-se diversos grupos varietais de *Nicotiana tabacum* (FRICANO et al., 2012). Cada grupo varietal é constituído de várias cultivares comerciais, o que torna mais difícil o controle de qualidade, pois cada cultivar possui características próprias e distintas (OLIVEIRA, 2016).

Algumas peculiaridades da cultura do tabaco, como a desuniformidade da maturação (de flores, frutos e de sementes), as dimensões reduzidas das sementes (aproximadamente 16 mil unidades em 1 grama) e a dormência primária induzida pelo ABA endógeno e também pela resistência mecânica exercida pela testa e pelo endosperma das sementes dificultam a obtenção de lotes de alta qualidade (SILVA, 2014). Mas, devido à importância econômica da cultura do tabaco em âmbito nacional e internacional, a demanda por sementes de qualidade é alta, já que influencia sobremaneira a produção de mudas vigorosas e saudáveis.

No sistema de produção de tabaco, após a obtenção das mudas, ocorre o transplante para o campo e as perdas proporcionadas por sementes não germinadas e plântulas pouco vigorosas afetam a uniformidade do estande e a produtividade da cultura (SILVA, 2014). Uma alternativa para minimizar a desuniformidade de germinação das sementes de várias espécies é a utilização da técnica de condicionamento fisiológico que permite maior velocidade e uniformidade de germinação.

## 2.2 Condicionamento fisiológico

Para iniciar a germinação, é necessária a embebição de água pela semente e esse processo é dividido em três fases. Na fase I, ocorre rápida hidratação dos tecidos, controlada essencialmente pelo potencial matricial da semente até que a matriz e o conteúdo celular estejam completamente hidratados. Em seguida, há um período de pouca embebição, que é o que caracteriza a fase II, quando membranas e organelas celulares tornam-se funcionais, iniciando a mobilização de reservas e a reativação do metabolismo. Na fase III, a semente recomeça a absorção de água e é possível visualizar o crescimento do embrião, ocorrendo a protrusão da radícula (BEWLEY; BLACK, 1994; REIS, 2013b).

A técnica do condicionamento fisiológico consiste no controle da embebição de água pelas sementes, com uso de soluções osmóticas ou outro artifício qualquer, que possibilite o ajuste do potencial hídrico do substrato em um nível em que as sementes absorvam água suficiente para ocorrência de processos fisiológicos iniciais da germinação, sem atingir umidade suficiente para que ocorra a alongação celular e, conseqüentemente, a emergência da radícula, ou seja, a fase III da embebição (VARIER et al., 2010). As sementes permanecem nessa condição de restrição hídrica durante o tempo de condicionamento e, em seguida, são lavadas e secadas até atingirem o teor de água original, estando prontas para serem semeadas (REIS et al., 2013a). Diversos eventos fisiológicos da germinação acontecem durante o condicionamento e são conservados em um nível adiantado, mesmo após a secagem das sementes, de tal maneira que a germinação subsequente acontece de forma mais rápida e uniforme.

O aumento da velocidade de germinação acontece porque as sementes, após o tratamento, estarão adiantadas no processo de germinação e a uniformidade é conseguida, já que o tempo de condicionamento deve ser suficiente para que as sementes menos vigorosas avancem no processo até alcançarem o estágio de germinação, no qual as sementes mais vigorosas foram paralisadas pela restrição hídrica. É importante ressaltar que, até o momento da protrusão da radícula, as sementes ortodoxas, como as de tabaco, são tolerantes à dessecação e depois desse evento perderão a capacidade germinativa se forem secadas. Portanto, o grau de umidade máximo que as sementes devem atingir durante o condicionamento fisiológico é sempre um pouco inferior àquele na qual a semente germina.

A restrição hídrica necessária para o controle da embebição das sementes durante o condicionamento pode ser conseguida de diferentes formas. Entretanto, tem sido utilizada a restrição por meio de submersão das sementes em soluções osmoticamente ativas, a restrição

por meio de matrizes sólidas e a restrição por meio do controle da quantidade de água fornecida às sementes (REIS et al., 2012).

O condicionamento tem sido amplamente utilizado em sementes de menor tamanho, como olerícolas, floríferas entre outras (BATISTA et al., 2015; LARA et al., 2014; REIS et al., 2013a). Isto, devido à resposta favorável ao condicionamento observada nesse tipo de sementes em pesquisas e também pelo alto valor de mercado e pelo grau de tecnologia envolvido no processo produtivo, justificando o valor do investimento. A eficiência do condicionamento fisiológico foi testada para tabaco e os resultados obtidos foram positivos, com incrementos na germinação e no vigor das sementes (CALDEIRA et al., 2014; OLIVEIRA, 2016; WEN-GUANG et al., 2009; YAN et al., 2003).

Vários agentes condicionantes podem ser utilizados no condicionamento fisiológico das sementes, dentre eles estão a água (YAN et al., 2017), o hipoclorito de sódio (RODRIGUES et al., 2012), o nitrato de potássio (LARA et al., 2014) e a espermidina (WANG et al., 2018). O tipo de soluto utilizado pode influenciar no sucesso do tratamento, sendo que o melhor agente condicionante varia entre as espécies (OLIVEIRA, 2016).

O uso da água como agente condicionante é bastante relatado (FARAJOLHAHI; EISAND, 2016; SINGH; GUPTA; DHINGRA, 2018; YAN et al., 2017), e especialmente em sementes de tabaco, a água tem se destacado com resultados promissores (CALDEIRA et al., 2014; OLIVEIRA, 2016). A absorção de água é essencial para que ocorram reparos de danos nas sementes e o restabelecimento dos mecanismos necessários para a germinação (REIS et al., 2013a). Outra vantagem é a não utilização de produtos químicos, evitando possível interferência de substâncias indesejáveis à semente, durante a embebição.

O uso do hipoclorito de sódio como forma de desinfestação de sementes ou outras unidades de dispersão é bastante comum, no entanto, a utilização desta substância como agente condicionante pode afetar a germinação, estimulando ou inibindo o processo (RODRIGUES et al., 2012). Segundo Carnellosi et al. (1995), em algumas espécies o tratamento com hipoclorito de sódio estimula a germinação, mas em tratamento prolongado ela é reduzida. Ferreira e Ranal (1999) observaram que o tratamento com hipoclorito de sódio reduziu a germinação das sementes de *Brassica chinensis* L. var. *Parachinesis Sinskaja* (couve-da-malásia) e teve ação negativa no crescimento de plântulas. No entanto, o tratamento com este mesmo agente condicionante favoreceu a germinação de sementes de alface (RODRIGUES et al., 2012).

Os efeitos positivos do condicionamento fisiológico com nitrato de potássio são bem relatados na literatura para diversas espécies, inclusive para tabaco (CALDEIRA et al., 2014; LARA et al., 2014; NAWAZ et al., 2017; OLIVEIRA, 2016; REIS et al., 2013a). Segundo Reis et al. (2013a), uma das vantagens do condicionamento com  $\text{KNO}_3$  está relacionada ao fato de este atuar como fonte adicional de potássio e nitrogênio durante a germinação das sementes. Além disso, com o uso do nitrato de potássio como agente condicionante, íons de  $\text{K}^+$  ficam presentes no conteúdo celular. Estes íons atuam como cofatores em numerosos sistemas enzimáticos e a sua absorção pela semente pode favorecer a germinação (NAWAZ et al., 2017; OLIVEIRA, 2016). O condicionamento com nitrato de potássio pode ainda ter efeito na superação da dormência de sementes (LARA et al., 2014) e, para sementes de tabaco, o seu uso com esta finalidade é indicado nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

O condicionamento fisiológico com poliaminas tem se mostrado eficiente para melhorar a germinação e o vigor das sementes de várias espécies, entre elas o tabaco, e aumentar a tolerância ao estresse abiótico das plantas (AFZAL et al., 2009; PAUL; ROYCHOUDHURY, 2017; WANG et al., 2018; XU; HU; LI, 2011). As poliaminas (PAs), incluindo putrescina (Put), espermidina (Spd) e espermina (Spm), são aminas alifáticas de baixo peso molecular e estão envolvidas em vários processos bioquímicos e fisiológicos relacionados à regulação do crescimento e desenvolvimento das plantas (XU; HU; LI, 2011). Várias evidências provam que as poliaminas participam da regulação das respostas das plantas a vários estresses ambientais como seca, calor, resfriamento ou estresse osmótico como a salinidade, por ligação direta dos fosfolipídios de membrana, captando radicais livres, fazendo o ajuste osmótico, mantendo o cátion em equilíbrio e ligando-os as enzimas antioxidantes para aumentar suas atividades (LI et al., 2014).

A qualidade inicial do lote de sementes é outro fator importante a ser considerado antes do condicionamento, sendo que a resposta ao tratamento pode ser afetada (ARMONDES et al., 2016; BATISTA et al., 2015). Mas, existem controvérsias quanto à influência do potencial fisiológico dos lotes de sementes submetidos ao tratamento. Em algumas pesquisas, tem sido demonstrado que o condicionamento pouco beneficia os lotes de baixo vigor (FESSEL et al., 2002). Outros trabalhos relatam o contrário, que os maiores benefícios do condicionamento fisiológico das sementes são observados em lotes de baixo e médio vigor (ARMONDES et al., 2016; CORREIO et al., 2017; MARTINEZ, 2013; OLIVEIRA; GOMES FILHO, 2010). Também existem trabalhos nos quais os benefícios do tratamento de condicionamento são observados, independentemente do nível de qualidade

fisiológica das sementes (BITTENCOURT et al., 2004). Em outros, não se observou resposta significativa após o condicionamento de sementes de alto potencial fisiológico (MARCOS FIHO; KIKUTI, 2008). Em sementes de tabaco, Oliveira (2016) constatou que o condicionamento fisiológico beneficiou lotes de menor qualidade. Segundo Powell (1998), os mecanismos de reparo metabólico ocorrem durante o condicionamento fisiológico de sementes envelhecidas ou deterioradas, aumentando a velocidade e uniformidade de germinação; assim, durante o condicionamento de lotes de sementes de médio e baixo vigor, o reparo metabólico proporcionado pela lenta embebição poderia auxiliar a reverter determinados mecanismos relacionados à deterioração. Contudo, este processo de reversão ainda não pode ser generalizado, pois depende das condições de condicionamento fisiológico, espécie e propriedades intrínsecas da semente (MARTINEZ, 2013).

Um outro ponto importante a ser considerado é o armazenamento das sementes condicionadas. As sementes condicionadas de determinadas espécies têm redução acentuada da longevidade e perdem os efeitos benéficos do condicionamento durante o armazenamento (YAN et al., 2017), o que é mais expressivo em sementes de alto vigor (VARIER et al., 2010). Os pesquisadores Rodrigues et al. (2012) enfatizam a necessidade de estudos que busquem ao mesmo tempo alcançar um efeito positivo do condicionamento e minimizar os efeitos deletérios durante o armazenamento.

### **2.3 Armazenamento de sementes condicionadas**

Um importante desafio é manter a qualidade fisiológica de sementes durante o armazenamento, uma vez que melhorá-la não é possível mesmo em condições ideais (REIS et al., 2013a).

O tabaco produz sementes consideradas longevas, podendo ser armazenadas durante anos, desde que as condições de baixa umidade relativa e baixa temperatura sejam mantidas no armazenamento (AGACKA et al., 2013). O tipo de embalagem utilizada, a umidade relativa do ambiente e a temperatura de conservação e o acondicionamento das sementes durante o armazenamento assumem relevante importância na manutenção da sua viabilidade e vigor (CARVALHO et al., 2018). No entanto, pouco se sabe sobre o comportamento das sementes de tabaco condicionadas fisiologicamente e armazenadas.

Segundo Wang et al. (2018), a perda da viabilidade de sementes condicionadas durante o armazenamento é um fator limitante para não se adotar amplamente a técnica de

condicionamento. Recentemente, alguns pesquisadores têm procurado estudar o armazenamento sob diversas condições para a conservação de sementes condicionadas e os resultados tem sido diversos, devido à condição de armazenamento (ambiente e câmara fria), à espécie e à qualidade do lote, o tipo de agente condicionante utilizado no tratamento, entre outros (HUSSAIN et al., 2015; WANG et al., 2018; YAN et al., 2017). Para tabaco, o único relato de armazenamento de sementes condicionadas é dos pesquisadores Caldeira et al. (2014), que apesar dos bons resultados observados na pesquisa, trabalharam com o armazenamento das sementes por apenas três meses.

Uma outra alternativa para o armazenamento de sementes condicionadas, principalmente as de menor tamanho, seria a criopreservação, uma vez que essa permite conservar o material por longos períodos em temperaturas extremamente baixas (FARIA et al., 2016). Vários estudos sobre criopreservação foram realizados em todo o mundo para complementar os métodos tradicionais de armazenamento de sementes (PÉREZ-RODRIGUES et al., 2017; VEIGA-BARBOSA et al., 2013), porém, existem poucos relatos sobre a criopreservação de sementes de tabaco (PÉREZ-RODRIGUES et al., 2017; TOUCHELL; DIXON, 1994) e nenhum trabalho foi encontrado na literatura consultada sobre a criopreservação de sementes de tabaco condicionadas fisiologicamente.

Verifica-se, portanto, a necessidade de se desenvolver pesquisas sobre o armazenamento das sementes condicionadas, independentemente deste armazenamento ser de forma convencional (câmara fria ou em temperatura ambiente) ou alternativa, como no caso da criopreservação. A disponibilidade de métodos práticos é relevante para a evolução do conhecimento científico e pode proporcionar a utilização dessa tecnologia em empresas produtoras de sementes e aumentar a oferta de sementes condicionadas aos produtores de tabaco.

O estudo das alterações na atividade enzimática durante o condicionamento e armazenamento das sementes de tabaco pode possibilitar um conhecimento mais avançado das reações que ocorrem durante o processo de deterioração destas sementes.

## **2.4 Atividade enzimática**

Vários fatores podem evidenciar a deterioração das sementes, entre esses estão as alterações na atividade enzimática e síntese proteica (REIS et al., 2013a). Dentre as alterações enzimáticas mais frequentes durante o processo de deterioração, destacam-se: alterações na estrutura das enzimas; inativação progressiva das enzimas; redução ou paralisação da síntese de certas enzimas; menor atividade de enzimas respiratórias (MARCOS FILHO, 2015).

Dentre as enzimas envolvidas na deterioração das sementes, principalmente as removedoras de radicais livres, as que atuam no processo de respiração e na peroxidação dos lipídeos, a peroxidase (PO), a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), a álcool desidrogenase (ADH), a malato desidrogenase (MDH), e a esterase (EST) são consideradas como possíveis marcadores da qualidade fisiológica das sementes (SILVA, 2014; VEIGA et al., 2010).

Um dos benefícios do condicionamento fisiológico mais citados na literatura é o aumento na eficiência do sistema antioxidante de defesa das sementes (WANG et al., 2018; YAN et al., 2017; ZHENG et al., 2016). Enzimas antioxidantes como a catalase são consideradas eficientes na eliminação das espécies reativas de oxigênio (ROS), protegendo as sementes de reações oxidativas (LEE et al., 2010). A principal função da catalase é catalisar a reação de conversão de peróxido de hidrogênio em água. Devido à baixa afinidade da enzima CAT ao  $H_2O_2$ , essa enzima é apontada como responsável direta pela remoção de ROS. A alta atividade da catalase em sementes mais vigorosas pode indicar melhor funcionamento do sistema antioxidante na prevenção de danos entre o armazenamento e a retomada do metabolismo na germinação (SANO et al., 2016). Segundo Albuquerque et al. (2009), a redução na atividade da catalase predispõe as sementes aos efeitos deletérios dos radicais livres sobre os ácidos graxos insaturados da membrana. Yan et al. (2017) verificaram aumento na atividade de várias enzimas, entre elas a catalase, quando as sementes foram condicionadas com água. No entanto, Wang et al. (2018) trabalharam com o condicionamento de sementes de arroz (com PEG, água e espermidina) e observaram que a atividade das enzimas SOD e CAT diminuiu rapidamente com o armazenamento das sementes condicionadas, prejudicando a qualidade das sementes. Em tabaco, Crivellari et al. (2016) relatam que lotes de sementes de menor vigor têm maior expressão da enzima. Mas estes autores não trabalharam com o condicionamento das sementes e nem mesmo com o armazenamento. Na literatura faltam informações de como o condicionamento fisiológico atua no sistema antioxidante das sementes de tabaco condicionadas e armazenadas.

A enzima álcool desidrogenase (ADH) está envolvida na reação de redução de acetaldeído a etanol e sua atuação está relacionada à respiração anaeróbica (VEIGA et al., 2010). Segundo Crivellari (2016), que trabalhou com sementes de tabaco, quanto maior a qualidade fisiológica das sementes, menor a quantidade de acetaldeído nas células e menor a expressão da ADH. No entanto, de acordo com Silva (2014), que também trabalhou com sementes de tabaco, com o aumento da atividade da álcool desidrogenase, as sementes ficam mais protegidas contra a ação deletéria do acetaldeído e, conseqüentemente, a maior atividade

dessa enzima denota maior vigor das sementes. Porém, nada se sabe da expressão desta enzima em sementes condicionadas de tabaco. Para outras espécies, tem-se relatos de que o condicionamento altera a atividade da ADH. Albuquerque et al. (2009) e Reis et al. (2013a), observaram alterações no padrão da enzima ADH em sementes de berinjela e pimentão submetidas ao condicionamento.

A conversão de malato em oxalacetato é catalisada pela enzima malato desidrogenase (MDH). Esta enzima tem a importante função de produzir NADH para o ciclo de Krebs e geração de oxalacetato para biossíntese de aminoácidos (SILVA, 2014; TUNES et al., 2011). A redução da atividade está relacionada à desestruturação das membranas, diminuindo a produção de ATP e a absorção de oxigênio (BRAY; BAILEY-SERRES; WERETILNYK, 2000). Segundo Crivellari (2016), a maior intensidade de deterioração, gera maior taxa de respiração das sementes e conseqüentemente maior atividade da MDH. De acordo com este autor, em lotes mais vigorosos de sementes de tabaco foi verificada menor expressão da enzima malato desidrogenase do que os lotes menos vigorosos. É importante ressaltar que a interpretação das enzimas da respiração deve estar associada aos resultados de germinação e vigor, pois sementes vigorosas respiram mais e apresentam maior expressão da MDH, assim como sementes muito deterioradas respiram muito e conseqüentemente também expressam bastante esta enzima.

A enzima esterase (EST) atua no metabolismo dos lipídeos e geralmente está envolvida nas reações de hidrólise de ésteres (SILVA, 2014). Segundo Silva (2014), a atividade dessa enzima está relacionada à perda de viabilidade. Enzimas hidrolíticas como a esterase, liberam ácidos graxos dos lipídeos que serão utilizados na  $\beta$ -oxidação como fonte de energia no metabolismo germinativo (FARIA et al., 2013). Crivellari (2016) verificou que lotes de sementes de tabaco menos vigorosos apresentavam maior expressão da EST. Ao trabalhar com sementes condicionadas de berinjela, Reis et al. (2013a) observaram em sementes condicionadas maior expressão da enzima esterase do que as sem condicionamento. Segundo Diniz et al. (2009), as alterações nos padrões da EST podem ser evidências de que estão ocorrendo eventos deteriorativos, pois essa enzima está associada a reações de hidrólise de ésteres, estando intimamente relacionados à degradação de lipídios de membranas. No entanto, Castro et al. (2017), sugerem que incrementos na atividade da enzima esterase podem estar relacionados a maiores valores de germinação, pois a esterase está envolvida no desdobramento de lipídeos durante o processo de germinação das sementes.

A técnica de eletroforese de proteínas se destaca na avaliação dos processos de deterioração que ocorrem em sementes, pois pode ser verificada a atividade das enzimas

associada à degradação e oxidação dos materiais de reservas bem como a biossíntese de novas substâncias (SPINOLA; CÍCERO; MELO, 2000).

## REFERÊNCIAS

- AFZAL, I. et al. Changes in antioxidant enzymes, germination capacity and vigour of tomato seeds in response of priming with polyamines. **Seed Science & Technology**, Zurich, v. 37, n. 3, p. 765-770, 2009.
- AGACKA, M. et al. Viability of *Nicotiana* spp. Seeds stored under ambient temperature. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 41, p. 474-478, 2013.
- ALBUQUERQUE, K. S. et al. Alterações fisiológicas e bioquímicas durante a embebição de sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 31, n. 1, p. 249-258, 2009.
- ARMONDES, K. A. P. et al. Condicionamento osmótico e desempenho de sementes de repolho com diferentes níveis de vigor. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 1, p. 428-434, 2016.
- ASSOCIAÇÃO DOS FUMICULTORES DO BRASIL. **Fumicultura no Brasil**. 2018. Disponível em: <<https://afubra.com.br/fumicultura-brasil.html>>. Acesso em: 14 dez. 2018.
- BATISTA, T. B. et al. Aspectos fisiológicos e qualidade de mudas da pimenteira em resposta ao vigor e condicionamento das sementes. **Bragantia**, Campinas, v. 74, n. 4, p. 367-373, 2015.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Plenum, 1994. 455 p.
- BITENCOURT, M. L. C. et al. Efeito do condicionamento osmótico das sementes na germinação e no crescimento das plântulas de aspargo. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 50-56, 2004.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 220 p.
- BRAY, E. A.; BAILEY-SERRES, J.; WERETILNYK, E. Responses to abiotic stresses. In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. (Ed.). **Biochemistry and molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. p. 1158-1203.
- CALDEIRA, C. M. et al. Physiological priming and pelleting of tobacco seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 42, n. 2, p. 180-189, 2014.
- CARNELOSSI, M. A. G. et al. Efeito da luz, hipoclorito de sódio, escarificação e estratificação na germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) c.v. Maioba e Moreninha – de – Uberlândia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 6, p. 779-787, 1995.
- CARVALHO, M. L. M. et al. Could packing and pelleting keep the quality of tobacco seeds during storage? **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 40, n. 3, p. 296-303, 2018.

- CASTRO, D. G. et al. Qualidade fisiológica e expressão enzimática de sementes de soja RR. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 40, n. 1, p. 222-235, 2017.
- CORREIO, D. L. R. et al. Embebição e germinação de sementes de cenoura condicionadas fisiologicamente sob situações ambientais adversas. **Revista Científica Rural**, Bagé, v. 19, n. 2, p. 205-216, 2017.
- CRIVELLARI, R. P. L. **Metodologias para a avaliação do potencial fisiológico de sementes de tabaco**. 2016. 103 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.
- DINIZ, K. A. et al. Qualidade de sementes de alface enriquecidas com micronutrientes e reguladores de crescimento durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 31, n. 1, p. 228-238, 2009.
- FARAJOLHAHI, Z.; EISVAND, H. R. Storage duration and temperature of hydropriming seeds affects some growth indices and yield of wheat. **Iranian Journal of Plant Physiology**, Saveh, v. 7, n. 1, p. 1909-1907, 2016.
- FARIA, C. V. N. et al. Criopreservação de sementes de *Physalis angulata* L. por meio da desidratação em sílica gel. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, Lavras, v. 12, n. 2, p. 27-33, 2016.
- FARIA, M. A. V. R. et al. **Marcadores moleculares da qualidade fisiológica de sementes**. Lavras: UFLA/FAPE, 2013. 51 p.
- FERREIRA, W. R.; RANAL, M. Germinação de sementes e crescimento de plântulas de Brassica chinenses L. var. Parachinensis (Bailey) Sinskaja (couve-da-malásea). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 3, p. 353-361, 1999.
- FESSEL, S. A. et al. Germinação de sementes de alface submetidas a condicionamento osmótico durante o armazenamento. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n. 1, p. 73-77, 2002.
- FRICANO, A et al. Molecular diversity, population structure, and linkage disequilibrium in a worldwide collection of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) germplasm. **BMC Genetics**, London, v. 13, n. 18, p. 1-13, 2012.
- GMACH, J. R. et al. Métodos para superação de dormência em sementes de tabaco. **Informativo Abrates**, Curitiba, v. 24, n. 1, p. 18-23, 2014.
- HUSSAIN, S. et al. Benefits of rice priming are offset permanently by prolonged storage and the storage conditions. **Scientific Reports**, London, v. 1, n. 1, p. 1-12, 2015.
- LARA, T. S. et al. Potassium nitrate priming affects the activity of nitrate reductase and antioxidant enzymes in tomato germination. **Journal of Agricultural Sciences**, Toronto, v. 6, n. 2, p. 72-80, 2014.

- LEE, Y. P. et al. Tobacco seeds simultaneously over-expressing Cu/Zn superoxide dismutase and ascorbate peroxidase display enhanced seed longevity and germination rates under stress conditions. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 61, n. 9, p. 2499-2506, 2010.
- LI, Z. et al. Exogenous spermidine improves seed germination of white clover under water stress via involvement in starch metabolism, antioxidant defenses and relevant gene expression. **Molecules**, Basel, v. 19, n. 1, p. 18003-18024, 2014.
- LOPES, H. M. et al. Condicionamento fisiológico de sementes de cenoura e pimentão. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v. 17, n. 3/4, p. 296-302, 2011.
- MAJDI, S. et al. Supercritical fluid extraction of tobacco seed oil and its comparison with solvent extraction methods. **Journal of Agricultural Science and Technology**, Tehran, v. 14, p. 1053-1065, 2012.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2015. 660 p.
- MARCOS FILHO, J.; KIKUTI, A. L. Condicionamento fisiológico de sementes de couve-flor e desempenho das plantas em campo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 2, p. 165-169, 2008.
- MARTINEZ, P. A. H. **Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de repolho (*Brassica oleraceae* Var. Capitata) osmocondicionadas**. 2013. 44 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2013.
- NAWAZ, F. et al. Seed priming with KNO<sub>3</sub> mediates biochemical process to inhibit lead toxicity in maize (*Zea mays* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, New York, v. 97, p. 4780-4789, 2017.
- OLIVEIRA, A. B.; GOMES FILHO, E. Efeito do condicionamento osmótico na germinação e vigor de sementes de sorgo com diferentes qualidades fisiológicas. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 32, n. 3, p. 25-34, 2010.
- OLIVEIRA, A. S. **Condicionamento fisiológico de sementes de tabaco**. 2016. 60 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.
- ONELLI, E. et al. Retarded germination of *Nicotiana tabacum* seeds following insertion of exogenous DNA mimics the seed persistent behavior. **Plos One**, San Francisco, v. 12, n. 12, p. 1-32, 2017.
- PAUL, S.; ROYCHOUDHURY, A. Seed priming with spermidine and spermine regulates the expression of diverse groups of abiotic stress-responsive genes during salinity stress in the seedlings of indica rice varieties. **Plant Gene**, Kidlington, v. 11, n. 1, p. 124-132, 2017.
- PÉREZ-RODRÍGUES, J. L. et al. Effect of desiccation on physiological and biochemical indicators associated with the germination and vigor of cryopreserved seeds of *Nicotiana tabacum* L. cv. Sancti Spiritus 96. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, Columbia, v. 53, p. 440-448, 2017.
- POWELL, A. A. Seleção e envigoramento como técnicas para o aprimoramento do desempenho de sementes. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, p. 126-133, 1998.

REIS, R. G. E. et al. Physiological quality of osmoprimed eggplant seeds. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 36, n. 5, p. 526-532, 2012.

REIS, R. G. E. et al. Qualidade fisiológica de sementes de berinjela osmocondicionadas submetidas à secagem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, n. 11, p. 1507-1516, 2013a.

REIS, R. G. E. **Métodos de secagem e armazenamento de sementes de berinjela submetidas ao condicionamento fisiológico**. 2013. 82 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013b.

RODRIGUES, D. L. et al. Embebição, condicionamento fisiológico e efeito do hipoclorito de sódio na germinação de sementes de alface. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, Boa Vista, v. 6, n. 1, p. 52-61, 2012.

SANO, N. et al. Staying alive: molecular aspects of seed longevity. **Plant Cell Physiology**, Kyoto, v. 57, n. 4, p. 660–674, 2016.

SILVA, H. P. **Colheita, secagem e extração de sementes de tabaco**. 2014. 106 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

SINGH, K.; GUPTA, N.; DHINGRA, M. Effect of temperature regimes, seed priming and priming duration on germination and seedling growth on American cotton. **Journal of Enviromental Biology**, Lucknow, v. 39, n. 1, p. 83-91, 2018.

SOUZA CRUZ. **Tabaco**. 2018. Disponível em: <[http://www.souzacruz.com.br/group/sites/SOU\\_AG6LVH.nsf/vwPagesWebLive/DO9YAEUN](http://www.souzacruz.com.br/group/sites/SOU_AG6LVH.nsf/vwPagesWebLive/DO9YAEUN)>. Acesso em: 14 dez. 2018.

SPINOLA, M. C. M. et al. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de milho causadas pelo envelhecimento acelerado. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 57, n. 2, p. 263-270, 2000.

STANISAVLJEVIC, I. T.; LAZIĆ, M. L.; VELJKOVIĆ, V. B. Ultrasonic extraction of oil from tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) seeds. **Ultrasonics Sonochemistry**, Oxford, v. 14, n. 5, p. 646-652, 2007.

TUNES, L. M. et al. Influência dos diferentes períodos de colheita na expressão de isoenzimas em sementes de cevada. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 41, n. 2, p. 178-184, 2011.

VARIER, A. et al. The subcellular basis of seed priming. **Current Science**, Bangalore, v. 99, n. 4, p. 450-456, 2010.

VEIGA, A. D. et al. Influência do potássio e da calagem na composição química, qualidade fisiológica e na atividade enzimática de sementes de soja. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 4, p. 953-960, 2010.

VEIGA-BARBOSA, L. et al. Seed germination, desiccation tolerance and cryopreservation of *Passiflora* species. **Seed Science Technology**, Londrina, v. 41, p. 89–97, 2013.

WANG, W. et al. The effect of storage condition and duration in the deterioration of primed rice seeds. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 9, n. 172, p. 1-17, 2018.

WEN-GUANG, M. A. et al. Effects of water priming duration and different drying methods of pelleted seed on germination of tobacco pelleted seeds and seedling growth. **Acta Agriculturae Jiangxi**, Beijing, n. 7, 2009. Disponível em: <[http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-JXNY200907010.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-JXNY200907010.htm)>. Acesso em: 23 jan. 2018.

XU, S.; HU, J.; LI, Y. Chilling tolerance in *Nicotiana tabacum* induced by seed priming with putrescine. **Plant Growth Regulation**, New York, v. 63, n. 3, p. 279-290, 2011.

YAN, M. et al. Prolonged storage reduce the positive effect of hydropriming in Chinese cabbage seeds stored at diferente temperatures. **South African Journal of Botany**, Pretoria, v. 111, n. 1, p. 313-315, 2017.

YAN, Z. et al. The effects on increasing seed vigor of tobacco by PEG. **Seed**, Beijing, n. 6, 2003. Disponível em: <[http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-ZHZI200306008.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-ZHZI200306008.htm)>. Acesso em: 23 jan. 2018.

ZHENG, M. et al. Seed priming in dry direct-seeded rice: consequences for emergence, seedling growth and associated metabolic events under drought stress. **Plant Growth Regulation**, New York, v. 78, p. 167-178, 2016.

## CAPÍTULO 2

### Uso do hipoclorito de sódio no condicionamento fisiológico de sementes de tabaco

(Nota científica aceita para publicação em 13/12/2018 na revista Journal of Seed Science, classificação B1 pela CAPES)

#### RESUMO

Devido à maturação desuniforme de frutos e sementes de tabaco, a técnica de condicionamento fisiológico tem sido utilizada pela indústria tabacaleira como forma de aumentar a uniformidade e velocidade de germinação das sementes. Alguns aspectos podem afetar o condicionamento, como o tempo e o meio em que o tratamento é realizado. Para avaliar o efeito do hipoclorito de sódio como agente condicionante em diferentes concentrações e o período de condicionamento sobre a qualidade fisiológica das sementes de tabaco, foi utilizado um lote de sementes da cultivar comercial CSC 439 do grupo varietal Virgínia. As sementes foram submetidas ao condicionamento fisiológico em solução aerada em diferentes períodos de condicionamento (180, 60, 30, 15 e 5 minutos) e concentrações de hipoclorito de sódio (1%; 0,50%, 0,25% e 0,10%). A qualidade fisiológica das sementes foi avaliada por meio dos testes de germinação, primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação, estande inicial, estande final, índice de velocidade de emergência e condutividade elétrica. O condicionamento com hipoclorito de sódio não afeta a germinação, mas possibilita maior velocidade e percentual de emergência de plântulas quando se utiliza a concentração de 1% por 180, 30 e 15 minutos.

**Palavras-chave:** *Nicotiana tabacum* L. NaClO. Osmocondicionamento. Vigor.

#### ABSTRACT

Due to the non-uniform maturation of tobacco fruits and seeds, the priming technique has been used by the tobacco industry as a way of increasing the uniformity and germination speed of seeds. Several factors can affect priming, including the time and environment in which the treatment is performed. In order to evaluate the effect of sodium hypochlorite as priming agent at different concentrations and the priming period on the physiological quality of the tobacco seeds, it was used a seed lot of commercial cultivar CSC 439 from the Virginia varietal group, widely used by the producing companies. The seeds were subjected to priming in aerated solution at different priming periods (180, 60, 30, 15, and 5 min) and concentrations of sodium hypochlorite (1%, 0.50%, 0.25%, and 0.10 %). The physiological quality was evaluated by the water contents, germination tests, first count, germination index, initial and final stands, emergence index and electrical conductivity. The priming with sodium hypochlorite did not affect germination, but allowed a higher percentage and speed of emergence when using the 1% concentration for 180, 30 and 15 min.

**Index terms:** *Nicotiana tabacum* L., NaClO, Osmopriming. Vigor

## 1 INTRODUÇÃO

O tabaco é a cultura agrícola não alimentícia mais importante do mundo e contribui significativamente para a economia de mais de 200 países. O Brasil é o maior exportador e o segundo maior produtor de *Nicotiana tabacum* L. do mundo (SINDICATO INTERESTADUAL DA INDÚSTRIA DO TABACO - SINDITABACO, 2016).

A espécie *Nicotiana tabacum* é usada principalmente na indústria do tabaco para a produção de cigarros, mas seu uso está relacionado também ao desenvolvimento de pesquisas em diversas áreas, como a farmacêutica, fisiológica e transgenia (OLIVEIRA, 2016).

Pertencente à família Solanaceae, gênero *Nicotiana*, o tabaco é uma planta autógama, herbácea, anual e com um ciclo aproximado de 190 dias. As suas sementes apresentam coloração marrom, formato oblongo e tamanho bastante reduzido, sendo que em uma grama encontra-se aproximadamente 16 mil sementes (BRASIL, 2009).

O estabelecimento da lavoura de tabaco no campo é realizado por meio do transplântio de mudas (VENCATO et al., 2011). O sistema de produção de mudas é realizado por meio do sistema *float*, no qual bandejas de isopor ou plásticas com substrato são depositadas, após a semeadura, sob uma lâmina de água (SOUZA CRUZ, 2013). Nessa etapa, a utilização de sementes com baixa qualidade (germinação e vigor reduzidos) dificulta o processo, sendo necessário a realização de repicagem e podas frequentes.

O sucesso na produção de mudas vigorosas e uniformes depende de sementes com alta porcentagem de emergência de plântulas e que apresentem crescimento rápido e uniforme. No entanto, a desuniformidade de maturação de frutos e sementes tem sido um problema para a indústria tabacaleira (OLIVEIRA, 2016). A utilização da técnica de condicionamento fisiológico, possibilita maior uniformidade e velocidade de germinação (VARIER et al., 2010), sendo uma alternativa viável para resolver este entrave.

Vários solutos podem ser utilizados como agentes condicionantes nas sementes, entre eles, o hipoclorito de sódio (FERREIRA; RANAL, 1999; RODRIGUES et al., 2012). Apesar de o hipoclorito de sódio ser pouco citado na literatura para esta finalidade, o seu uso pode proporcionar a desinfestação das sementes e favorecer a germinação e o vigor. No entanto, é preciso atentar-se para o seu efeito tóxico, pois segundo Carnelossi et al. (1995), em algumas espécies, o tratamento com hipoclorito de sódio estimula a germinação, mas, em tratamento prolongado, a germinação é reduzida e a utilização de altas concentrações deste agente pode induzir a dormência das sementes.

Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito do hipoclorito de sódio como agente condicionante e o período de condicionamento sobre a qualidade fisiológica das sementes de tabaco.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido com sementes de tabaco do grupo varietal Virgínia, cultivar CSC 439 da safra 2013/2014, cedidas pela empresa Souza Cruz.

As sementes foram submetidas ao condicionamento fisiológico em solução aerada em diferentes períodos de condicionamento (180, 60, 30, 15 e 5 minutos) e concentrações de hipoclorito de sódio (1; 0,50, 0,25 e 0,10%). Logo após o tratamento, as sementes foram lavadas em água corrente e secadas a 30° C, em estufa de circulação de ar, até atingirem o teor de água inicial de 6,03%. Posteriormente, foram realizadas as avaliações fisiológicas.

No teste de germinação, foram utilizadas quatro repetições de 100 sementes, semeadas em caixa de acrílico com tampa (11x11x3,5), tipo gerbox, sobre substrato de papel mata-borrão, umedecido com água destilada em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco. As sementes foram mantidas em BOD (Biological Oxygen Demand) com temperatura alternada 20-30°C, fotoperíodo de oito horas e intensidade de luz acima de 2.000lux (BRASIL, 2009). O número de sementes germinadas foi avaliado diariamente para a obtenção do índice de velocidade de germinação (MAGUIRE, 1962). Os resultados de germinação foram expressos em porcentagem de plântulas normais com avaliação aos sete dias após a instalação do teste, para obtenção da primeira contagem de germinação, e aos dezesseis dias para germinação (BRASIL, 2009).

O teste de emergência foi conduzido em sistema *float*, sendo a semeadura realizada em substrato comercial Carolina®, previamente umedecido (aproximadamente um litro de água por kg de substrato), colocado em placas acrílicas com células individualizadas perfuradas com 96 células. Após a semeadura, as placas acrílicas foram mantidas flutuando sobre uma lâmina de água de aproximadamente dois centímetros e mantidas em BOD com temperatura de 30°C ± 2. A avaliação do número de plântulas emergidas e com o primeiro par de folhas foi realizada diariamente, para a obtenção do índice de velocidade de emergência (MAGUIRE, 1962). Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas emergidas com o primeiro par de folhas com avaliação no sétimo dia, para obtenção do estande inicial, e no décimo sexto dia para o estande final.

No teste de condutividade elétrica, foram avaliadas quatro repetições de 0,01 gramas de semente. Estas sementes foram colocadas em recipiente contendo 5,0 mL de água deionizada e mantidas em BOD a 25°C, no escuro. A leitura da condutividade foi realizada após 12 horas de embebição, utilizando o condutivímetro MS TECNOPON®. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ .

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial  $(4 \times 5) + 1$ , sendo quatro concentrações de hipoclorito de sódio (1%, 0,50%, 0,25%, 0,10%), cinco períodos de condicionamento (180, 60, 30, 15, 5 minutos) e uma testemunha (sementes secas).

Para a comparação do grupo fatorial com a testemunha adicional, aplicou-se o teste F a 5% de probabilidade, utilizando-se o *software* computacional SAS 9.4®. A comparação da testemunha adicional com os tratamentos resultantes do fatorial foi realizada pelo teste de Dunnett, aos 5% de probabilidade (OLIVEIRA, 2016; REIS et al., 2012).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os dados apresentados na Tabela 1, não foram observadas diferenças estatísticas significativas nos percentuais de primeira contagem de germinação, germinação e índice de velocidade de germinação para as sementes condicionadas fisiologicamente em diferentes concentrações de hipoclorito de sódio e diferentes tempos de condicionamento quando comparadas com a testemunha. Nascimento e Lima (2008) e Reis et al. (2012) relatam que o teste de germinação é realizado em condições ótimas de temperatura e disponibilidade de água; desta forma, as sementes com viabilidade semelhante e com diferentes níveis de vigor não difeririam por meio deste teste. Mas, segundo Rodrigues et al. (2012), o uso de hipoclorito de sódio favoreceu a germinação de sementes de alface na primeira contagem de germinação e na germinação.

**Tabela 1** Comparação entre a testemunha adicional e cada tratamento resultante do fatorial nos testes de primeira contagem de germinação (PC), germinação (G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de tabaco submetidas ao condicionamento fisiológico com hipoclorito de sódio.

Concentração de NaClO (%)	Tempo de condicionamento (minutos)	PC (%)	G (%)	IVG
1,00	180	92	94	7,70
	60	83	89	7,50
	30	90	92	7,76
	15	91	92	7,61
	05	81	84	6,98
0,50	180	93	94	7,08
	60	87	92	7,48
	30	89	91	7,74
	15	84	88	7,39
	05	88	95	7,77
0,25	180	81	86	7,07
	60	86	91	7,32
	30	89	95	7,71
	15	93	95	7,70
	05	90	95	7,79
0,10	180	89	92	7,37
	60	81	91	7,26
	30	92	94	7,58
	15	85	93	7,40
	05	82	88	7,29
Testemunha		83	91	7,20
DMS		26,18	12,09	1,41

Os valores seguidos por \* diferem da testemunha pelo teste de Dunnett aos 5% de probabilidade.

Quando as sementes condicionadas foram comparadas com a testemunha, observou-se um aumento na porcentagem do estande inicial, estande final e no índice de velocidade de emergência para alguns tratamentos avaliados (Tabela 2), destacando-se, principalmente, as sementes condicionadas em 1% de hipoclorito de sódio por 180, 30 e 15 minutos, que apresentaram as melhores porcentagens nos três testes citados. Este resultado corrobora com os obtidos por Caldeira et al. (2014) e Oliveira (2016), que verificaram que o condicionamento fisiológico tem efeito positivo na emergência de plântulas de tabaco.

**Tabela 2** Comparação entre a testemunha adicional e cada tratamento resultante do fatorial para estande inicial (EI), estande final (EF) e índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de tabaco submetidas ao condicionamento fisiológico com hipoclorito de sódio.

Concentração de NaClO (%)	Tempo de condicionamento (minutos)	EI (%)	EF (%)	IVE
1,00	180	85 *	87 *	7,99 *
	60	62	69	5,84
	30	82 *	89 *	7,71 *
	15	86 *	92 *	8,31 *
	05	79	84 *	7,50 *
0,50	180	78	87 *	7,64 *
	60	60	86 *	6,44
	30	76	88 *	7,12
	15	62	79	6,36
	05	76	82	7,17
0,25	180	72	88 *	6,71
	60	79	85 *	7,51 *
	30	54	87 *	6,28
	15	54	84 *	5,81
	05	76	82	7,38 *
0,10	180	60	88 *	6,47
	60	51	86 *	6,28
	30	64	83	6,54
	15	68	74	6,29
	05	50	78	5,72
Testemunha		57	80	5,47
DMS		23,43	14,23	1,89

Os valores seguidos por \* diferem da testemunha pelo teste de Dunnett aos 5% de probabilidade.

No teste de condutividade elétrica foi observada diferença significativa apenas para dois tratamentos em relação a testemunha (Tabela 3). No entanto, na concentração de 0,50% de hipoclorito de sódio, no tempo de sessenta minutos e na concentração de 0,25%, também

por sessenta minutos, o efeito do condicionamento foi negativo em relação a testemunha (1601,70  $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ ). Estes tratamentos podem ter causado danos à membrana celular, causando maior lixiviação de eletrólitos. Sementes mais deterioradas e menos vigorosas, quando submetidas à embebição, lixiviam maior quantidade de solutos (açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, proteínas e íons), para o meio externo, em virtude da menor velocidade de reparação da membrana celular (CARVALHO; NOVENBRE, 2011).

**Tabela 3** Condutividade elétrica (CE) em sementes de tabaco submetidas ao condicionamento fisiológico com hipoclorito de sódio.

Concentração de NaClO (%)	Tempo de condicionamento (minutos)	CE ( $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ )
1,00	180	695,42
	60	845,86
	30	1328,23
	15	845,98
	05	910,37
0,50	180	613,71
	60	3610,57 *
	30	554,52
	15	748,84
	05	669,27
0,25	180	694,62
	60	2170,35 *
	30	554,87
	15	558,83
	05	848,41
0,10	180	741,48
	60	543,18
	30	882,33
	15	784,90
	05	824,81
Testemunha		1601,70
DMS		101,10

Os valores seguidos por \* diferem da testemunha pelo teste de Dunnett aos 5% de probabilidade.

#### **4 CONCLUSÃO**

O condicionamento com hipoclorito de sódio não afeta a germinação das sementes de tabaco, mas possibilita maior velocidade e percentual de emergência quando se utiliza a concentração de 1% por 180, 30 e 15 minutos.

## REFERÊNCIAS

- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 220 p.
- CALDEIRA, C. M. et al. Physiological priming and pelleting of tobacco seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, n. 42, p. 180-189, 2014.
- CARNELOSSI, M. A. G. et al. Efeito da luz, hipoclorito de sódio, escarificação e estratificação na germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) c.v. Maioba e Moreninha-de-Uberlândia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 6, p. 779-787, 1995.
- CARVALHO, C.; NOVENBRE, A. D. L. C. Avaliação da qualidade de sementes de fumo, nuas e revestidas, pelo teste de condutividade elétrica. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 33, n. 1, p. 177-185, 2011.
- FERREIRA, W. R.; RANAL, M. A. Germinação de sementes e crescimento de plântulas de *Brassica chinensis* L. var. *Parachinensis* (Bailey) Sinskaja (couve-da-malásia). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 3, p. 353-361, 1999.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, p. 176-177, 1962.
- NASCIMENTO, W. M.; LIMA, L. B. Condicionamento osmótico de sementes de berinjela visando à germinação sob temperaturas baixas. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 224-227, 2008.
- OLIVEIRA, A. S. **Condicionamento fisiológico de sementes de tabaco**. 2016. 60 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.
- REIS, R. G. E. et al. Physiological quality of osmoprimed eggplant seeds. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 36, n. 5, p. 526-532, 2012.
- RODRIGUES, D. L. et al. Embebição, condicionamento fisiológico e efeito do hipoclorito de sódio na germinação de sementes de alface. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, Boa Vista, v. 6, n. 1, p. 52-61, 2012.
- SINDICATO DA INDÚSTRIA DO FUMO DA REGIÃO SUL DO BRASIL. **Dimensões do setor**. Disponível em: <<http://sinditabaco.com.br/sobre-o-setor/dimensoes-do-setor/>>. Acesso em: 25 abr. 2017.
- SOUZA CRUZ. **Fases da produção de fumo: plantio 2013**. Disponível em: <[http://www.souzacruz.com.br/group/sites/SOU\\_7UV24.nsf/vwPagesWebLive/DO7V9KLC](http://www.souzacruz.com.br/group/sites/SOU_7UV24.nsf/vwPagesWebLive/DO7V9KLC)>. Acesso em: 25 abr. 2017.

VARIER, A. et al. The subcellular basis of seed priming. **Current Science**, Bangalore, v. 99, n. 4, p. 450-456, 2010.

VENCATO, A. Z. et al. **Anuário brasileiro de tabaco**. Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz, 2011. 176 p.

## CAPÍTULO 3

### Condicionamento e desempenho fisiológico de lotes de sementes de tabaco durante o armazenamento

#### RESUMO

O condicionamento fisiológico de sementes é empregado com o objetivo de reduzir o período de germinação, bem como sincronizar e melhorar a emergência de plântulas. Fatores como o agente condicionante, a espécie e a qualidade das sementes dos lotes utilizados pode interferir nos resultados obtidos com o condicionamento. Outro fator importante é o período em que as sementes condicionadas ficarão armazenadas, pois geralmente estas sementes se deterioram mais rápido e perdem os efeitos benéficos do condicionamento ao longo do armazenamento. Objetivou-se investigar o efeito do condicionamento na qualidade fisiológica de seis lotes de sementes de tabaco de qualidade distintas, da cultivar CSC4704, em cinco épocas de armazenamento, com diversos agentes condicionantes. As sementes foram condicionadas com água destilada (por 24 h), espermidina (na concentração de 0,5 mmol.L<sup>-1</sup> por 24 h), nitrato de potássio (na concentração de -1 MPa por 24 h) e hipoclorito de sódio (na concentração de 1% por 3 h) e armazenadas por dezesseis meses em câmara fria. Sementes sem condicionamento foram utilizadas como testemunha. Foi feita a caracterização inicial da qualidade das sementes dos lotes utilizados e as avaliações, logo após o condicionamento fisiológico, aos 4, 8, 12 e 16 meses de armazenamento. Foram determinados os teores de água das sementes, germinação, primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação e emergência, emergência inicial e final, condutividade elétrica e análise de crescimento de plântulas. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 6x5 (seis lotes, e quatro agentes condicionantes mais a testemunha), para cada época de armazenamento. O agente condicionante, a qualidade inicial do lote e o tempo de armazenamento interferem na qualidade fisiológica de sementes de tabaco condicionadas e armazenadas em câmara fria. A água, a espermidina e o nitrato de potássio são agentes condicionantes indicados para o condicionamento fisiológico das sementes de tabaco. Lotes de sementes de tabaco de diferentes qualidades fisiológicas, condicionados com água, espermidina e nitrato de potássio podem ser mantidos em câmara fria a 10°C por dezesseis meses sem perda de sua qualidade fisiológica.

**Palavras-chave:** Água. Espermidina. *Nicotiana tabacum*. Nitrato de potássio. Vigor.

## Priming and performance of tobacco seed lots during storage

### ABSTRACT

Seeds priming is used aiming to reduce the germination period, as well as synchronizing and improving seedlings emergence. Factors such as the conditioning agent, species and seeds lots quality used may interfere in the results obtained with the conditioning. Another important factor is the period in which the conditioned seeds will be stored, as these seeds generally deteriorate faster and lose the beneficial conditioning effects throughout storage. The objective in this study was to investigate the physiological quality conditioning effect of six different quality tobacco seed lots from CSC4704 cultivar, in five storage seasons, with several conditioning agents. Seeds were conditioned with distilled water (per 24h), spermidine (at a concentration  $0.5 \text{ mmol.L}^{-1}$  per 24h), potassium nitrate (at a concentration  $-1 \text{ MPa}$  per 24h) and sodium hypochlorite (at a concentration 1% per 3h) and stored for sixteen months in a cold room. Seeds without conditioning were used as control. The initial characterization of the seed lot quality used and evaluations were done, after priming at 4, 8, 12 and 16 months of storage. Seed water contents, germination, first germination count, germination and emergence speed index, initial and final emergence, electrical conductivity and seedling growth analysis were determined. The design was completely randomized, in a 6x5 factorial scheme (six lots, and four conditioning agents plus the control), for each storage period. The conditioning agent, initial lot quality and storage time interfere in the tobacco seeds physiological quality conditioned and stored in a cold room. Water, spermidine and potassium nitrate are the conditioning agents indicated for the tobacco seeds priming. Tobacco seeds lots of different physiological qualities, conditioned with water, spermidine and potassium nitrate can be kept in a cold room at  $10 \text{ }^{\circ}\text{C}$  for sixteen months without loss of their physiological quality.

**Keywords:** Water. Spermidine. *Nicotiana tabacum*. Potassium nitrate. Vigor.

## 1 INTRODUÇÃO

O tabaco (*Nicotiana tabacum*) é uma das culturas não alimentícias mais importantes do mundo, contribuindo diretamente para a economia de mais de duzentos países, sendo que o Brasil se mantém em destaque no cenário mundial, ocupando as posições de segundo maior produtor e de maior exportador (SOUZA CRUZ, 2018). No entanto, há entraves encontrados no cultivo do tabaco relacionados ao tamanho reduzido, desuniformidade de maturação e dormência das sementes (MAJDI et al., 2012), o que pode afetar a velocidade e a uniformidade de germinação das sementes dos lotes. Uma alternativa para aumentar a velocidade e uniformidade de germinação é a utilização da técnica de condicionamento fisiológico das sementes.

O condicionamento fisiológico de sementes é uma técnica utilizada comercialmente e tem como objetivo reduzir o período de germinação, bem como sincronizar e melhorar a emergência de plântulas, submetendo as sementes a um controle de hidratação suficiente para permitir os processos respiratórios essenciais à germinação, porém insuficiente para propiciar a protrusão da radícula (VARIER et al., 2010).

O uso de substâncias químicas osmoticamente ativas como forma de controlar a embebição na semente tem sido amplamente difundido. Os solutos usados não podem ser tóxicos ou causar alterações estruturais, penetrar no sistema de membranas da célula, ser metabolizado e nem estarem sujeitos à deterioração microbiana durante o condicionamento das sementes (BRADFORD, 1986; SANTOS et al., 2008). Dentre os agentes condicionantes utilizados, incluem-se os sais ( $\text{KNO}_3$ ,  $\text{NaClO}$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{K}_3\text{PO}_4$ ), as poliaminas (espermidina, espermina, putrescina), açúcares (manitol, sorbitol) e o potietileno glicol (PEG). O tipo de solução osmótica utilizada pode influenciar no sucesso da técnica, sendo que o melhor agente osmótico varia entre as espécies (CALDEIRA et al., 2014).

As poliaminas, incluindo as putrescinas (Put), espermidina (Spd) e espermina (Spm) são aminas alifáticas de baixo peso molecular e estão envolvidas em vários processos bioquímicos e fisiológicos relacionados à regulação do crescimento e desenvolvimento das plantas (LI et al., 2014). Vários estudos têm demonstrado os efeitos benéficos do condicionamento fisiológico de sementes de várias espécies com as poliaminas (LI et al., 2014; PAUL; ROYCHOUDHURY, 2017; WANG et al., 2018), inclusive em sementes de tabaco (XU; HU; LI, 2011). O uso dos sais como agente condicionante também é bastante relatado na literatura, principalmente o uso de nitrato de potássio (BATISTA et al., 2015; LARA et al., 2014; NAWAZ et al., 2017). Segundo Lara et al. (2014), o condicionamento

fisiológico das sementes com soluções de nitrato estimula a germinação. A maior eficiência do nitrato de potássio no condicionamento fisiológico está possivelmente relacionada à presença de íons de  $K^+$  no conteúdo celular; estes íons atuam como cofatores em numerosas atividades enzimáticas e a sua absorção pela semente pode ativar rotas metabólicas que, naturalmente, não seriam ativadas, podendo favorecer a germinação (OLIVEIRA, 2016; TAIZ; ZEIGER, 2006). Oliveira (2016) concluiu que o condicionamento com solução de  $KNO_3$  promove incrementos no vigor de sementes de tabaco. Outro sal que pode ser utilizado para o condicionamento fisiológico das sementes é o hipoclorito de sódio, pois além do condicionamento, este agente pode atuar na desinfestação das sementes. No entanto, existem relatos de efeitos tóxicos deste agente na germinação e vigor das sementes de algumas espécies (FERREIRA; RANAL, 1999; RODRIGUES et al., 2012).

A resposta obtida pelo condicionamento fisiológico de sementes varia entre espécies, cultivares e mesmo entre lotes de uma mesma espécie ou cultivar (MARCOS FILHO, 2015). Em vários trabalhos, foram relatados que os incrementos mais perceptíveis do condicionamento foram observados em lotes de sementes de médio e baixo vigor (ARMONDES et al., 2016; BATISTA et al., 2015; VARIER et al., 2010), fato observado também para sementes de tabaco (OLIVEIRA, 2016).

Apesar do condicionamento fisiológico ser promissor, a redução da longevidade das sementes condicionadas durante o armazenamento pode ser um fator limitante para a adoção da técnica na indústria sementeira (WANG et al., 2018). Rodrigues et al. (2011) enfatizam a necessidade de estudos que busquem, ao mesmo tempo, alcançar um efeito positivo do condicionamento e minimizar os efeitos deletérios durante o armazenamento. Pouco se sabe sobre o comportamento das sementes condicionadas de tabaco após o armazenamento. Em toda a literatura consultada, apenas Caldeira et al. (2014) armazenaram sementes condicionadas de tabaco em câmara fria e observaram a manutenção da qualidade fisiológica por três meses.

Embora muitos sejam os relatos na literatura sobre o uso da técnica do condicionamento para diversas espécies, ainda existe a necessidade de aprimoramento do conhecimento, envolvendo a identificação das alterações metabólicas provocadas pelo tratamento e o desenvolvimento de métodos para o armazenamento das sementes condicionadas.

Desta forma, objetivou-se com o trabalho, verificar o efeito do condicionamento na qualidade fisiológica de sementes de diferentes lotes, em cinco épocas de armazenamento, com diversos agentes condicionantes.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório Central de Sementes, localizado no setor de Sementes do Departamento de Agricultura na Universidade Federal de Lavras. As sementes de tabaco (*Nicotiana tabacum*) foram produzidas pela Empresa Souza Cruz LTDA, localizada em Rio Negro – Paraná.

Foram utilizados seis lotes de sementes do grupo varietal Virgínia, da cultivar CSC 4704, produzidos nas safras de 2013/2014, 2014/2015 e 2015/2015, que foram submetidos aos seguintes testes para a caracterização de sua qualidade inicial: teor de água, teste de germinação, primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação, emergência inicial e final, índice de velocidade de emergência e condutividade elétrica.

As sementes de tabaco foram condicionadas em água destilada (por 24 horas), solução de nitrato de potássio (concentração de -1 MPa por 24 horas), solução de espermidina (concentração de 0,5 mmol.L<sup>-1</sup> por 24 horas) e solução de hipoclorito de sódio (concentração de 1% por 3 horas). As concentrações e os tempos de condicionamento utilizados para os agentes condicionantes foram definidos conforme resultados de pesquisas anteriores, como de Caldeira et al. (2014) e Oliveira (2016) para a água destilada; Hussain et al. (2015) para espermidina; Oliveira (2016) para nitrato de potássio e para o hipoclorito de sódio foram utilizados os melhores resultados obtidos em experimento preliminar (capítulo 2, desta tese).

O condicionamento das sementes foi realizado em BOD regulada a 25°C, sem luz e adaptada com um compressor de ar, responsável por manter as soluções aeradas. As sementes utilizadas como testemunha não foram condicionadas. Após a aplicação dos tratamentos, as sementes foram lavadas em água corrente e secadas a 30 °C em estufa de circulação de ar, até atingirem teor de água de 6%.

As sementes de tabaco condicionadas e a testemunha dos seis lotes foram armazenadas em embalagem impermeável (micro tubos de polipropileno), em câmara fria (10°C e umidade relativa de 50%), pelo período de 16 meses.

O teor de água das sementes foi determinado, durante todo o armazenamento, pelo método da estufa a 130 °C por 2 horas (BRASIL, 2009), utilizando-se duas repetições de 0,1g de sementes. Os resultados foram expressos em porcentagem de teor de água (base úmida).

A avaliação do potencial fisiológico das sementes foi realizada em diferentes épocas: logo após o condicionamento fisiológico, aos quatro meses, aos oito meses, aos doze e aos dezesseis meses de armazenamento, realizando-se os seguintes testes:

No teste de germinação, quatro repetições de 50 sementes foram semeadas em substrato papel mata-borrão, umedecido com água destilada em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco, em caixas de acrílico tipo gerbox. As sementes foram mantidas em BOD, com temperatura alternada de 20-30 °C (16 horas a 30 °C com luz e 8 horas a 20 °C no escuro) e intensidade de luz acima de 2000 lux (BRASIL, 2009). O número de plântulas com a radícula protruída e o primeiro par de folhas aberto foi avaliado diariamente, para a obtenção do Índice de Velocidade de Germinação (MAGUIRE, 1962). Os resultados de germinação foram expressos em porcentagem de plântulas normais com avaliação aos 7 dias após a semeadura para obtenção da Primeira Contagem de Germinação e aos 16 dias (BRASIL, 2009).

O teste de emergência foi conduzido com quatro repetições de 48 sementes, em sistema “float” e em condição controlada. A semeadura foi realizada sobre o substrato comercial Carolina®, de fibra de coco, previamente umedecido (aproximadamente 1 litro de água por Kg de substrato), colocado em placas de acrílico perfuradas no fundo, contendo 96 células. As placas contendo as sementes foram colocadas sobre uma lâmina de água de aproximadamente três centímetros, em bandejas plásticas, e estas foram mantidas em BOD com temperatura alternada de 20-30 °C (16 horas a 30 °C com luz e 8 horas a 20 °C no escuro) e intensidade de luz acima de 2000 lux. A avaliação do número de plântulas emergidas e com o primeiro par de folhas foi realizado diariamente, para a obtenção do Índice de Velocidade de Emergência (MAGUIRE, 1962) e, no sétimo dia e décimo sexto dia, para a obtenção da Emergência Inicial e Emergência Final.

O teste de condutividade elétrica foi conduzido com quatro repetições de 0,01g de sementes, colocadas em recipiente com 4 mL de água deionizada e mantidas a uma temperatura de 25 °C, em câmara tipo BOD. Após 12 horas de embebição, foi realizada a leitura da condutividade elétrica em um condutímetro Digimed CD-21 e os resultados foram expressos em  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ .

A análise de crescimento de plântulas foi realizada por meio de análise de imagens com quatro repetições de dez sementes para cada tratamento. As sementes condicionadas e a testemunha de cada lote de sementes de tabaco foram colocadas para germinar sobre duas folhas de papel mata-borrão de coloração azul, umedecidas com água destilada equivalente a 2,5 vezes a massa seca dos papéis, colocados em caixas acrílicas tipo gerbox. As sementes foram mantidas em BOD, com temperatura alternada de 20-30 °C (16 horas a 30 °C com luz e 8 horas a 20 °C no escuro) e intensidade de luz acima de 2000 lux (BRASIL, 2009). As

avaliações foram realizadas aos sete e aos dezesseis dias após a semeadura. Para a captura das imagens, foi utilizado o sistema GroundEye®, versão S120. As plântulas sobre o papel mata-borrão azul foram inseridas na bandeja do módulo de captação para a obtenção de imagens de alta resolução. Na configuração da análise para a calibração da cor de fundo foi utilizado o modelo de cor CIELab com índice de luminosidade de 0 a 100, dimensão “a” -13,9 a 46,1 e dimensão “b” de -57,1 a -40,6. Após a calibração de fundo, foi realizada a análise das imagens e extraídos valores médios das características das plântulas como o comprimento da parte aérea e da raiz, comprimento total de plântula e relação entre parte aérea/raiz.

Optou-se pela análise comparativa dos lotes e dos agentes condicionantes em cada época de avaliação. Realizou-se os testes de homocedasticidade e homogeneidade.

Procedimento estatístico: foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 6 x 5, sendo seis lotes de sementes submetidos ao condicionamento fisiológico com quatro agentes condicionantes e uma testemunha, em cada época de armazenamento. As avaliações foram efetuadas em cinco épocas: logo após o condicionamento, aos 4, 8, 12 e 16 meses de armazenamento.

Utilizou-se o *software* Sisvar® (FERREIRA, 2011) para análise dos dados. As médias foram submetidas à análise de variância e os resultados analisados por comparação de média, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

### 3 RESULTADOS

Na caracterização da qualidade fisiológica inicial dos lotes de sementes de tabaco, verificou-se que a qualidade das sementes do lote 6 era inferior à qualidade das sementes dos demais lotes, exceto para a condutividade elétrica (Tabela 1), no qual não foram detectadas diferenças.

Em sementes do lote 4, foi observada menor qualidade fisiológica do que as sementes dos lotes 1, 2, 3 e 5 em relação à primeira contagem de germinação e ao índice de velocidade de germinação.

Segundo Armondes et al. (2016), a utilização de lotes com diferenças no potencial fisiológico permite verificar o grau de consistência da aplicação dos métodos empregados para o condicionamento fisiológico das sementes.

**Tabela 1** Caracterização da qualidade fisiológica de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704

Lotes	Safra	PCG (%)	G (%)	IVG	EI (%)	EF (%)	IVE	CE ( $\mu$ S. cm <sup>-1</sup> . g <sup>-1</sup> )	Umidade (%)
1	2013/2014	80 A	98 A	6,78 A	82 A	98 A	6,80 A	2000,95 A	5,63
2	2014/2015	90 A	99 A	7,13 A	86 A	95 A	6,90 A	1015,31 A	5,13
3	2014/2015	85 A	98 A	6,98 A	90 A	95 A	7,15 A	1345,11 A	5,98
4	2014/2015	49 B	93 A	6,16 B	91 A	98 A	7,19 A	1596,54 A	7,46
5	2015/2015	85 A	97 A	6,90 A	88 A	99 A	7,21 A	1619,71 A	6,64
6	2015/2015	39 B	90 B	6,09 B	09 B	88 B	5,78 B	2010,63 A	6,61
CV (%)	-----	20,11	2,68	4,32	10,01	3,05	6,55	18,37	-----

As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Pequenas oscilações no grau de umidade das sementes foram constatadas durante o armazenamento, sendo a maior variação constatada de 0,35% para sementes condicionadas com espermidina do lote 6 (Tabela 2). Esta pequena oscilação era esperada, uma vez que as sementes foram armazenadas em embalagens impermeáveis, as quais impedem trocas de vapor de água entre as sementes e o ambiente, e mantém a qualidade fisiológica das sementes de tabaco por um maior período de tempo ao longo do armazenamento (CARVALHO et al., 2018).

**Tabela 2** Determinação do teor de água de sementes de tabaco, cultivar CSC4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria.

Agente Condicionante	Época (meses)	Lote					
		1	2	3	4	5	6
Água	0	5,93	5,96	5,97	6,02	5,91	5,92
Hipoclorito de Sódio	0	6,02	6,15	5,92	5,98	6,04	6,00
Nitrato de Potássio	0	5,81	5,94	6,03	5,9	5,97	5,99
Espermidina	0	6,02	5,98	6,08	5,97	6,02	6,05
Testemunha	0	6,02	6,05	5,89	6,07	6,06	6,04
Água	4	5,98	5,98	6,00	6,05	6,01	6,00
Hipoclorito de Sódio	4	5,97	6,07	5,92	6,00	6,08	5,98
Nitrato de Potássio	4	6,01	5,98	5,97	5,97	6,03	6,03
Espermidina	4	6,00	6,01	6,01	6,02	6,1	6,03
Testemunha	4	6,09	6,00	6,02	6,03	6,05	6,06
Água	8	6,02	6,05	5,97	6,03	5,99	6,01
Hipoclorito de Sódio	8	5,99	6,02	5,99	5,98	6,00	6,03
Nitrato de Potássio	8	6,02	5,97	6,04	6,03	6,02	5,99
Espermidina	8	6,05	6,01	6	6,05	6,03	6,15
Testemunha	8	6,04	5,98	6,02	6,04	5,99	6,08
Água	12	6,03	6,1	6,02	5,97	6,01	6,03
Hipoclorito de Sódio	12	6,12	6,05	6,05	5,92	6,15	6,1
Nitrato de Potássio	12	6,02	6,01	6,11	6,01	5,87	5,98
Espermidina	12	6,03	6,05	5,98	6,05	5,96	6,22
Testemunha	12	5,99	6,1	6,03	6,07	6,03	6,12
Água	16	5,78	5,63	5,92	5,87	5,92	6,02
Hipoclorito de Sódio	16	5,95	5,95	5,76	5,92	5,96	6,03
Nitrato de Potássio	16	5,89	5,89	6,08	5,69	5,75	5,92
Espermidina	16	6,05	5,74	6,10	5,81	5,74	5,87
Testemunha	16	5,91	5,96	6,00	5,81	5,96	5,96

Em avaliação realizada logo após o condicionamento fisiológico das sementes, observou-se que para as variáveis primeira contagem de germinação, germinação, índice de velocidade de germinação e índice de velocidade de emergência, a interação entre os fatores lote e agente condicionante foi significativa. Para as demais variáveis estudadas, apenas os fatores isolados interferiram significativamente nos resultados.

Na caracterização inicial da qualidade das sementes dos diferentes lotes, antes do condicionamento, a germinação das sementes do lote 6 foi inferior às das demais. No entanto, após o condicionamento fisiológico, constatou-se efeito positivo do condicionamento das sementes do lote 6 com água e nitrato de potássio (Tabela 3A). Segundo Marcos Filho (2015), isto ocorre porque a germinação é praticamente instantânea após o condicionamento fisiológico e as sementes relativamente debilitadas atingem um nível metabólico mais próximo possível ao

das que apresentam maior potencial fisiológico. As menores porcentagens de germinação foram observadas em sementes condicionadas com hipoclorito de sódio e espermidina do lote 6 e nas testemunhas dos lotes 1 e 6 (Tabela 3A).

A porcentagem de germinação das sementes condicionadas não diferiu da porcentagem das sementes sem condicionamento para a maioria dos lotes (Tabela 3A), com exceção apenas das sementes condicionadas com água e nitrato de potássio do lote 6 e sua testemunha, que tiveram maior porcentagem de germinação do que as demais sementes do mesmo lote. Segundo Lara et al. (2014), a alta qualidade fisiológica das sementes testadas pode ser a causa da falta de efeito do condicionamento fisiológico na germinação.

**Tabela 3** Germinação (%), primeira contagem de germinação (%) e índice de velocidade de germinação de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4707, logo após o condicionamento fisiológico das sementes.

A - Germinação (%)						
Agente Condicionante	Lote de sementes					
	1	2	3	4	5	6
Água	97 Aa	96 Aa	99 Aa	97 Aa	99 Aa	94 Aa
Hipoclorito de sódio	100 Aa	98 Aa	99 Aa	99 Aa	99 Aa	89 Bb
Nitrato de potássio	98 Aa	97 Aa	99 Aa	96 Aa	99 Aa	93 Aa
Espermidina	96 Aa	99 Aa	99 Aa	98 Aa	96 Aa	87 Bb
Testemunha	95 Ba	100 Aa	98 Aa	99 Aa	98 Aa	93 Ba
CV (%) = 2,74						
B- Primeira Contagem de Germinação (%)						
Agente Condicionante	Lote de sementes					
	1	2	3	4	5	6
Água	97 Aa	95 Aa	99 Aa	95 Aa	97 Aa	66 Bb
Hipoclorito de sódio	99 Aa	98 Aa	98 Aa	98 Aa	99 Aa	47 Bc
Nitrato de potássio	97 Aa	97 Aa	98 Aa	94 Aa	97 Aa	73 Ba
Espermidina	96 Aa	97 Aa	98 Aa	97 Aa	94 Aa	60 Bb
Testemunha	94 Aa	99 Aa	95 Aa	95 Aa	96 Aa	46 Bc
CV (%) = 7,02						
C - Índice de velocidade de germinação						
Agente Condicionante	Lote de sementes					
	1	2	3	4	5	6
Água	8,91 Ba	9,34 Aa	8,96 Ab	8,52 Ba	8,17 Ba	6,51 Ca
Hipoclorito de sódio	8,37 Ab	8,17 Ab	8,40 Ac	8,29 Aa	8,37 Aa	5,79 Bb
Nitrato de potássio	8,93 Ba	9,02 Ba	9,69 Aa	8,49 Ba	8,43 Aa	6,46 Ca
Espermidina	8,79 Aa	8,72 Ab	8,41 Ac	8,59 Aa	8,70 Aa	5,86 Bb
Testemunha	7,96 Ab	8,59 Ab	8,08 Ac	8,16 Aa	8,07 Aa	5,94 Bb
CV (%) = 5,59						

As médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Sementes do lote 6 deram origem à menor porcentagem de plântulas normais, aos sete dias após a sementeira, do que as sementes dos demais lotes, independentemente do agente condicionante (Tabela 3B). Verificou-se para os lotes 1, 2, 3, 4 e 5 que sementes condicionadas não diferiram de suas testemunhas na primeira contagem de germinação. Porém, para o lote 6, constatou-se que o condicionamento das sementes com nitrato de potássio teve efeito positivo na germinação quando comparada à germinação da testemunha, seguido da água e espermidina. O condicionamento com nitrato de potássio estimula a germinação, devido a seu mecanismo, que pode ser por meio da interação com vias de sinalização do fitocromo, a biossíntese de etileno e as interações entre espécies reativas de oxigênio (LARA et al., 2014).

O menor índice de velocidade de germinação (IVG) foi constatado para sementes do lote 6, independentemente do agente condicionante utilizado e do condicionamento (Tabela 3C). A velocidade de germinação das sementes condicionadas com água (lotes 1, 2 e 6), nitrato de potássio (lotes 1, 2, 3 e 6) e espermidina (lote 1) se destacou da testemunha destes lotes. Incrementos no índice de velocidade de germinação, logo após o condicionamento, são relatados na literatura para sementes de tabaco e para outras espécies (CALDEIRA et al., 2014; HUSSEI et al., 2015; MAROUFI et al., 2011), como um dos efeitos benéficos do tratamento. Para as sementes dos lotes 4 e 5, o condicionamento fisiológico não propiciou incrementos no índice de velocidade de germinação, sendo a velocidade de germinação das sementes condicionadas igual ao da testemunha.

O menor índice de velocidade de emergência de plântulas (IVE), logo após o condicionamento fisiológico das sementes, foi observado para sementes dos lotes 2 e 6, independentemente do agente condicionante utilizado (Tabela 4). Em sementes condicionadas dos lotes 1, 3, 4 e 5 foi observada maior velocidade de emergência do que as testemunhas. Desta forma, o condicionamento fisiológico se mostrou eficiente para acelerar a velocidade de emergência de plântulas da maioria dos lotes avaliados. Não houve diferença no IVE das sementes condicionadas quando comparadas às sem condicionamento dos lotes 2 e 6.

**Tabela 4** Índice de velocidade de emergência de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, logo após o condicionamento fisiológico das sementes.

Agente Condicionante	Lote de sementes					
	1	2	3	4	5	6
Água	8,67 Aa	7,81 Ba	9,31 Aa	7,59 Bb	8,23 Ab	6,38 Ca
Hipoclorito de sódio	7,03 Bb	6,54 Ba	8,98 Aa	8,48 Aa	8,42 Ab	6,47 Ba
Nitrato de potássio	8,56 Aa	7,53 Ba	8,61 Aa	9,05 Aa	9,20 Aa	6,27 Ca
Espermidina	9,19 Aa	7,30 Ca	9,13 Aa	8,23 Ba	9,45 Aa	6,23 Da
Testemunha	6,72 Ab	7,20 Aa	6,85 Ab	6,69 Ac	7,36 Ac	5,58 Ba
CV (%) = 7,96						

As médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Na avaliação realizada logo após o condicionamento das sementes, a menor emergência de plântulas aos sete dias e aos dezesseis dias após semeadura foi observada para o lote 6 (Tabela 5A). Era esperado que sementes do lote 6 tivessem menor porcentagem de emergência do que as sementes dos demais lotes, pois, em todos os testes, esse lote apresentava menor qualidade fisiológica.

A menor condutividade elétrica foi constatada também para sementes do lote 6 (Tabela 5A); possivelmente, devido a este lote de sementes ser um dos mais novos, produzidos na safra 2015/2015.

Sementes condicionadas emergiram mais aos sete dias após a semeadura do que a testemunha, independentemente do agente condicionante utilizado para o tratamento (Tabela 5B). Caldeira et al. (2014) também observaram que o efeito benéfico do condicionamento fisiológico de sementes de tabaco foi evidenciado pelos resultados de emergência inicial, pois o tratamento proporcionou incrementos no estande. No entanto, aos dezesseis dias após a semeadura, não foi observada diferença estatística nos valores de emergência de plântulas entre os tratamentos avaliados.

Sementes da testemunha lixiviaram mais eletrólitos em água do que as sementes condicionadas (Tabela 5B), evidenciando um dos efeitos do condicionamento, que é a reestruturação do sistema de membranas das sementes condicionadas. A condutividade elétrica das sementes condicionadas com nitrato de potássio e hipoclorito de sódio foram mais altas que a observada em sementes condicionadas com água e espermidina. Evidenciando, possivelmente, um efeito residual dos sais nas sementes após o condicionamento.

**Tabela 5** Emergência inicial e final (%) e condutividade elétrica ( $\mu\text{s. cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ ) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente.

A – Lote			
Lote	EI (%)	EF (%)	CE ( $\mu\text{s. cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ )
1	88 a	93 a	1131,44 b
2	85 a	95 a	923,01 b
3	92 a	97 a	985,07 b
4	89 a	95 a	1035,53 b
5	91 a	94 a	1016,64 b
6	64 b	89 b	754,83 a
CV (%)	12,39	5,83	14,47
B - Agente condicionante			
Agente condicionante	EI (%)	EF (%)	CE ( $\mu\text{s. cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ )
Água	86 a	94 a	733,10 a
Hipoclorito de sódio	84 a	93 a	854,15 b
Nitrato de potássio	89 a	95 a	1037,23 c
Espermidina	89 a	95 a	675,13 a
Testemunha	75 b	92 a	1575,00 d
CV (%)	13,39	5,83	14,47

As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Na avaliação realizada após os quatro meses de armazenamento dos lotes de sementes condicionados em câmara fria, constatou-se que, para as variáveis primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação e emergência final, houve efeito da interação entre lote e agente condicionante nos resultados. Mas, para as demais variáveis analisadas, apenas os fatores isolados foram significativos.

A menor porcentagem de germinação aos dezesseis dias após a semeadura foi observada em sementes dos lotes 4, 5 e 6 (Tabela 6). Para sementes do lote 6, também foram constatadas menor porcentagem de emergência aos sete dias após a semeadura e menor índice de velocidade de emergência quando comparada aos observados em sementes dos demais lotes, evidenciando a menor qualidade fisiológica deste lote.

**Tabela 6** Germinação (%), emergência inicial (%) e índice de velocidade de emergência de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, armazenadas por quatro meses em câmara fria.

Lotes	Germinação (%)	Emergência Inicial (%)	IVE
1	98 a	87 a	7,77 a
2	99 a	85 a	7,44 a
3	99 a	84 a	7,47 a
4	97 b	84 a	7,56 a
5	97 b	79 a	7,33 a
6	95 b	58 b	5,99 b
CV (%)	3,43	19,34	12,1

As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Verificou-se que, sementes do lote 6, deram origem a um menor número de plântulas normais na primeira contagem de germinação do que sementes dos demais lotes, independentemente do condicionamento fisiológico (Tabela 7A).

Em sementes condicionadas e da testemunha dos lotes 1, 2, 3, 4 e 5 não houve diferença significativa dos valores de germinação aos sete dias após a semeadura. No entanto, a porcentagem de plântulas normais das sementes condicionadas do lote 6 foi maior do que a da testemunha, destacando-se o condicionamento realizado com nitrato de potássio e espermidina. Segundo Armondes et al. (2016), os efeitos positivos do osmocondicionamento na germinação e no vigor das sementes são mais evidenciados em lotes de menor qualidade fisiológica.

Após os quatro meses de armazenamento, observou-se que o índice de velocidade de germinação das sementes do lote 6 foi menor que o das sementes dos demais lotes (Tabela 7B). A velocidade de germinação das sementes condicionadas do lote 6 foi maior do que de sua testemunha, independentemente do agente condicionante utilizado. Na literatura, em trabalhos realizados com diversas espécies, observou-se o envigoroamento das sementes após o condicionamento, principalmente em sementes de qualidade fisiológica inferior (ARAÚJO et al., 2011; HUSSAIN et al., 2015; RODRIGUES; LOPES; SILVA, 2017). Não foram constatadas diferenças do índice de velocidade de germinação em sementes condicionadas e da testemunha dos demais lotes.

**Tabela 7** Primeira contagem de germinação (%) e índice de velocidade de germinação de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas por quatro meses em câmara fria.

A- Primeira contagem de germinação (%)						
Agente Condicionante	Lote					
	1	2	3	4	5	6
Água	93 Aa	96 Aa	95 Aa	94 Aa	95 Aa	71 Bb
Hipoclorito de sódio	96 Aa	97 Aa	95 Aa	94 Aa	96 Aa	71 Bb
Nitrato de potássio	94 Aa	99 Aa	96 Aa	98 Aa	94 Aa	78 Ba
Espermidina	90 Ba	100 Aa	96 Aa	94 Aa	97 Aa	83 Ba
Testemunha	93 Aa	98 Aa	98 Aa	96 Aa	96 Aa	48 Bc
CV (%) = 6,59						
B- Índice de velocidade de germinação						
Agente Condicionante	Lote					
	1	2	3	4	5	6
Água	7,57 Ba	7,73 Ba	7,75 Ba	8,05 Aa	8,03 Aa	7,18 Ba
Hipoclorito de sódio	7,46 Aa	7,78 Aa	7,73 Aa	7,60 Aa	7,70 Aa	7,11 Ba
Nitrato de potássio	7,88 Aa	8,23 Aa	8,20 Aa	8,21 Aa	8,11 Aa	7,35 Ba
Espermidina	7,53 Ba	8,19 Aa	7,59 Ba	7,95 Aa	8,26 Aa	7,65 Ba
Testemunha	7,41 Aa	7,86 Aa	7,72 Aa	7,98 Aa	7,90 Aa	6,39 Bb
CV (%) = 5,05						

As médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

A porcentagem de plântulas emergidas aos dezesseis dias após a semeadura oriundas de sementes condicionadas com água e nitrato de potássio do lote 6 foi menor que das sementes dos demais lotes, condicionadas com os mesmos agentes (Tabela 8). A porcentagem de emergência de plântulas das testemunhas dos lotes 2, 3 e 6 também foram menores quando comparadas aos lotes 1, 4 e 5.

A porcentagem de emergência de plântulas, oriundas das sementes condicionadas, não diferiu das sementes não condicionadas, aos quatro meses de armazenamento. A única exceção foram as sementes condicionadas do lote 2, que deram origem a um maior estande que a testemunha aos dezesseis dias após a semeadura (Tabela 8).

**Tabela 8** Emergência final (%) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas por quatro meses em câmara fria.

Agente Condicionante	Lote					
	1	2	3	4	5	6
Água	93 Aa	95 Aa	90 Aa	96 Aa	96 Aa	82 Ba
Hipoclorito de sódio	92 Aa	90 Aa	91 Aa	87 Aa	92 Aa	84 Aa
Nitrato de potássio	92 Aa	91 Aa	94 Aa	89 Aa	90 Aa	80 Ba
Espermidina	93 Aa	91 Aa	91 Aa	88 Aa	96 Aa	87 Aa
Testemunha	94 Aa	80 Bb	86 Ba	95 Aa	96 Aa	86 Ba
CV (%) = 8,79						

As médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

A maior condutividade elétrica aos quatro meses de armazenamento foi constatada em sementes da testemunha (Tabela 9). Um dos possíveis mecanismos estimulados pelo condicionamento das sementes é o reparo de membranas celulares (NAWAZ et al., 2017) e isso explica a maior condutividade de sementes não condicionadas, uma vez que os danos em suas membranas não foram reparados e, conseqüentemente, liberam mais exsudatos para a solução.

Entre as sementes condicionadas, aquelas tratadas com nitrato de potássio foram as que exsudaram mais eletrólitos. Segundo Reis et al. (2012), esse resultado possivelmente está relacionado com a liberação de íons  $K^+$  e  $NO_3^-$  na água utilizada no teste de condutividade elétrica.

**Tabela 9** Condutividade elétrica ( $\mu S \cdot cm^{-1} \cdot g^{-1}$ ) de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas por quatro meses em câmara fria.

Agente Condicionante	CE ( $\mu S \cdot cm^{-1} \cdot g^{-1}$ )
Água	501,95 a
Hipoclorito de sódio	577,90 a
Nitrato de potássio	884,29 b
Espermidina	472,23 a
Testemunha	1436,13 c
CV (%) = 18,65	

As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Em avaliação realizada no oitavo mês de armazenamento das sementes de tabaco condicionadas, por meio da análise de variância, verificou-se que a interação entre lote e agente condicionante foi significativa para todas as variáveis analisadas. A única exceção foi o resultado de emergência final de plântulas, que foi influenciado apenas pelos lotes de sementes.

A menor porcentagem de germinação aos dezesseis dias após a semeadura foi observada em sementes do lote 6, no oitavo mês de armazenamento (Tabela 10A). Sementes condicionadas com água (lotes 4 e 5) e espermidina (lote 4) também apresentaram menor porcentagem germinação que as sementes condicionadas com estes mesmos agentes dos demais lotes.

A germinação das sementes condicionadas dos lotes 1 e 5 foi maior que a da testemunha, com exceção apenas das sementes condicionadas com água do lote 5 (Tabela 10A). Para os demais lotes de sementes não houve diferença na porcentagem de germinação das sementes condicionadas e da testemunha. Os diferentes tratamentos de condicionamento não influenciaram o teste de germinação para a maioria dos lotes, possivelmente por ser um teste realizado em condições ideais para a germinação. De acordo com Batista et al. (2015), o condicionamento não promove alterações na germinação das sementes.

**Tabela 10** Germinação (%), primeira contagem de germinação (%) e índice de velocidade de germinação de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas por oito meses em câmara fria.

A- Germinação (%)						
Agente Condicionante	Lote					
	1	2	3	4	5	6
Água	98 Aa	100 Aa	99 Aa	92 Ba	91 Bb	91 Ba
Hipoclorito de sódio	98 Aa	99 Aa	99 Aa	97 Aa	100 Aa	89 Ba
Nitrato de potássio	98 Aa	99 Aa	98 Aa	98 Aa	99 Aa	89 Ba
Espermidina	97 Aa	97 Aa	100 Aa	95 Ba	100 Aa	92 Ba
Testemunha	92 Bb	99 Aa	96 Aa	95 Aa	93 Bb	91 Ba
CV (%) = 3,48						
B - Primeira contagem de germinação (%)						
Agente Condicionante	Lote					
	1	2	3	4	5	6
Água	98 Aa	99 Aa	99 Aa	90 Ba	90 Bb	87 Ba
Hipoclorito de sódio	83 Bb	98 Aa	96 Aa	93 Aa	98 Aa	54 Cc
Nitrato de potássio	97 Aa	97 Aa	97 Aa	97 Aa	96 Aa	68 Bb
Espermidina	96 Aa	96 Aa	99 Aa	95 Aa	99 Aa	64 Bb
Testemunha	90 Ab	99 Aa	91 Aa	91 Aa	89 Ab	55 Bc
CV (%) = 7,84						
C- Índice de velocidade de germinação						
Agente Condicionante	Lote					
	1	2	3	4	5	6
Água	8,15 Ab	8,41 Aa	8,27 Aa	7,70 Bb	7,41 Bb	7,31 Ba
Hipoclorito de sódio	7,54 Bc	8,19 Aa	7,97 Ab	7,56 Bb	8,00 Aa	6,06 Cb
Nitrato de potássio	8,78 Aa	8,77 Aa	8,38 Aa	8,58 Aa	7,96 Ba	6,35 Cb
Espermidina	8,02 Ab	8,19 Aa	8,28 Aa	7,83 Ab	8,30 Aa	6,54 Bb
Testemunha	7,56 Bc	8,17 Aa	7,58 Bb	7,65 Bb	7,48 Bb	6,25 Cb
CV (%) = 4,87						

As médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

A menor porcentagem de plântulas normais aos sete dias após a semeadura também foi constatada para sementes do lote 6 (Tabela 10B). Exceções foram observadas, a porcentagem de plântulas oriundas das sementes condicionadas com água dos lotes 4 e 5 não diferiram estatisticamente da porcentagem de plântulas das sementes condicionadas com água do lote 6. A porcentagem de germinação das sementes condicionadas dos lotes 1, 5 e 6 foi maior do que das suas testemunhas, com exceções das sementes condicionadas com hipoclorito de sódio (lotes 1 e 6) e água (lote 5), que não diferiram da testemunha. Para as sementes dos demais lotes, o condicionamento não influenciou na primeira contagem de germinação.

O sucesso do condicionamento, depende, dentre outros fatores, da qualidade do lote. Em geral, lotes de alta qualidade não respondem satisfatoriamente ao tratamento, por apresentarem germinação rápida e uniforme, entretanto, o condicionamento tem uniformizado e acelerado a germinação de sementes de baixa e média qualidade de algumas espécies (ARMONDES et al., 2016), como no caso do tabaco.

No oitavo mês de armazenamento das sementes, o menor índice de velocidade de germinação foi verificado para sementes do lote 6 (Tabela 10C). Para os lotes 1, 5 e 6, o índice de velocidade de germinação das sementes condicionadas foi maior que o da testemunha. Maiores valores de índice de velocidade de germinação indicam que a germinação se deu de forma mais rápida, o que, nesse caso, está relacionado à eficiência do tratamento em uniformizar e acelerar a germinação das sementes (ARMONDES et al., 2016).

Verificou-se, também, por meio da tabela 10C, que o condicionamento com nitrato de potássio e espermidina (lotes 1, 5 e 6) e água (lotes 1 e 6) proporcionou os maiores índices de velocidade de germinação. Caldeira et al. (2014) e Oliveira (2016) também constataram incrementos no vigor de sementes de tabaco condicionadas com nitrato de potássio e água. A vantagem do condicionamento com  $KNO_3$  pode estar relacionada ao fato dele atuar como fonte adicional de potássio e nitrogênio durante a germinação das sementes (REIS et al., 2012). Outros autores afirmam que o nitrato combinado com fatores ambientais, como luz e temperatura, pode estimular a síntese de giberelinas e promover a germinação (HILHORST et al., 1986).

A menor porcentagem de emergência de plântulas aos sete dias após a semeadura foi constatada no lote 6 (Tabela 11A). Quando as sementes foram condicionadas com água, a emergência inicial das plântulas do lote 6 foi igual à dos lotes 2, 4 e 5, e inferior à dos demais lotes.

Não houve diferença na porcentagem de emergência aos sete dias quando as sementes foram condicionadas e comparadas às testemunhas dos lotes 1, 2, 3, 4 e 5 (Tabela 11A). Para sementes do lote 6, observou-se incrementos na porcentagem de plântulas emergidas aos sete dias, quando as sementes foram condicionadas, variando de 7% a 28%, valores estes expressivos quando se considera as vantagens de se obter uma população de plantas adequada em campo. A única exceção foram as sementes condicionadas com hipoclorito de sódio, as quais não diferiram da testemunha.

**Tabela 11** Emergência inicial (%) e índice de velocidade de emergência de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas por oito meses em câmara fria.

A- Emergência inicial (%)						
Agente Condicionante	Lote					
	1	2	3	4	5	6
Água	92 Aa	82 Ba	97 Aa	83 Ba	82 Ba	77 Ba
Hipoclorito de sódio	93 Aa	93 Aa	82 Aa	83 Aa	97 Aa	46 Bc
Nitrato de potássio	95 Aa	94 Aa	94 Aa	90 Aa	94 Aa	59 Bb
Espermidina	92 Aa	88 Aa	91 Aa	94 Aa	94 Aa	56 Bb
Testemunha	93 Aa	83 Aa	87 Aa	89 Aa	88 Aa	49 Bc
CV (%) = 11,34						
B- Índice de velocidade de emergência						
Agente Condicionante	Lote					
	1	2	3	4	5	6
Água	7,68 Aa	6,85 Ab	7,88 Aa	7,14 Ab	6,89 Ab	6,31 Aa
Hipoclorito de sódio	7,66 Aa	7,70 Ab	6,92 Ba	6,75 Bb	7,40 Ab	5,82 Ba
Nitrato de potássio	8,36 Aa	8,72 Aa	7,74 Aa	8,07 Aa	8,24 Aa	5,82 Ba
Espermidina	7,57 Aa	7,20 Ab	7,46 Aa	7,45 Ab	7,95 Aa	6,35 Ba
Testemunha	7,65 Aa	7,12 Ab	7,43 Aa	7,38 Ab	7,21 Ab	4,99 Bb
CV (%) = 8,36						

As médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

No oitavo mês de armazenamento das sementes, o menor índice de velocidade de emergência foi verificado para sementes do lote 6 (Tabela 11B). Maior velocidade de emergência foi observada para sementes condicionadas do lote 6 quando comparadas à observada para a testemunha. Segundo Correio et al. (2017), os benefícios do condicionamento podem ser observados de maneira mais clara em lotes de médio e baixo vigor.

Sementes condicionadas com nitrato de potássio (lotes 2, 4 e 5) e espermidina (lote 5) apresentaram maior índice de velocidade de emergência quando comparado com os observados para os outros agentes condicionantes (Tabela 11B). Resultados esses, similares aos observados por Afzal et al. (2009) e Lara et al. (2014) em sementes de tomate condicionadas com espermidina e nitrato de potássio. Apenas para os lotes 1 e 3 não houve diferença no índice de velocidade de emergência de sementes condicionadas e da testemunha.

A menor porcentagem de emergência, aos dezesseis dias após a semeadura, foi observada em sementes do lote 6 (Tabela 12). Após os oito meses de armazenamento, não houve redução do vigor dos lotes de tabaco. Os autores Agacka et al. (2013) e Caldeira et al. (2016) relatam em seus trabalhos que sementes de tabaco suportam o armazenamento por um longo período de tempo, desde que a temperatura e umidade relativa sejam controladas.

**Tabela 12** Emergência final (%) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, armazenados por oito meses em câmara fria.

Lote	EF (%)
1	95 a
2	93 a
3	93 a
4	93 a
5	95 a
6	89 b
CV (%) = 6,40	

As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

A maior condutividade elétrica foi observada em sementes condicionadas com hipoclorito de sódio dos lotes 1 e 5 e para a testemunha dos lotes 1 e 6 (Tabela 13). Verificou-se que, sementes sem condicionamento, lixiviaram mais eletrólitos do que as sementes condicionadas. Esse fato ocorre devido à reorganização das membranas celulares das sementes condicionadas, proporcionada pela embebição lenta das sementes. A diminuição da liberação de exsudatos pelas sementes é altamente vantajosa pois reduz o ataque de microrganismos que são atraídos pelos exsudatos (NASCIMENTO, 2009).

A condutividade elétrica das sementes condicionadas com nitrato de potássio e hipoclorito de sódio foram as mais altas em sementes condicionadas.

**Tabela 13** Condutividade elétrica ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}\cdot\text{g}^{-1}$ ) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas por oito meses em câmara fria.

Agente Condicionante	Lote					
	1	2	3	4	5	6
Água	481,29 Aa	425,81 Aa	338,88 Aa	360,40 Aa	291,14 Aa	199,83 Aa
Hipoclorito de sódio	733,52 Bb	505,74 Aa	472,00 Aa	545,51 Ab	698,07 Bb	446,26 Ab
Nitrato de potássio	702,50 Ab	729,02 Ab	662,25 Ab	750,95 Ac	597,33 Ab	637,91 Ac
Espermidina	351,71 Aa	372,09 Aa	314,05 Aa	306,56 Aa	215,68 Aa	224,28 Aa
Testemunha	1505,00 Cc	1260,69 Bc	970,50 Ac	1257,51 Bd	1026,14 Ac	1457,13 Cd
CV (%) = 13,83						

As médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Na avaliação realizada aos doze meses de armazenamento dos lotes de sementes de tabaco condicionados e armazenados em câmara fria (época 4), verificou-se, para a maioria das variáveis, que a interação entre lote e agente condicionante foi significativa e interferiu nos resultados. Apenas para emergência final e condutividade elétrica a interação não foi significativa.

A menor porcentagem de germinação das sementes aos dezesseis dias após a semeadura foi observada para aquelas condicionadas com água dos lotes 2, 4 e 6 e para sementes condicionadas com hipoclorito de sódio, nitrato de potássio e espermidina do lote 6 (Tabela 14A). As testemunhas dos lotes 1, 4 e 6 foram as que apresentaram menor porcentagem de germinação, quando comparada a testemunha dos demais lotes.

A porcentagem de germinação aos dezesseis dias após a semeadura não diferiu entre sementes condicionadas e a testemunha, independente do lote. A única exceção foram as sementes condicionadas com espermidina do lote 2 que germinaram menos do que as demais sementes do lote.

**Tabela 14** Germinação (%), primeira contagem de germinação (%) e índice de velocidade de germinação de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria por doze meses.

A- Germinação (%)						
Agente Condicionante	Lotes					
	1	2	3	4	5	6
Água	99 Aa	93 Ba	97 Aa	94 Ba	97 Aa	89 Ba
Hipoclorito de sódio	96 Aa	98 Aa	98 Aa	97 Aa	93 Ba	91 Ba
Nitrato de potássio	93 Aa	96 Aa	99 Aa	93 Aa	96 Aa	84 Ba
Espermidina	94 Aa	89 Bb	99 Aa	97 Aa	98 Aa	87 Ba
Testemunha	92 Ba	99 Aa	100 Aa	94 Ba	97 Aa	92 Ba
CV (%) = 4,39						
B- Primeira contagem de germinação (%)						
Agente Condicionante	Lotes					
	1	2	3	4	5	6
Água	98 Aa	92 Aa	95 Aa	92 Aa	92 Aa	80 Ba
Hipoclorito de sódio	93 Aa	94 Aa	95 Aa	94 Aa	92 Aa	50 Bc
Nitrato de potássio	93 Aa	96 Aa	98 Aa	91 Aa	96 Aa	65 Bb
Espermidina	90 Aa	88 Aa	98 Aa	97 Aa	97 Aa	55 Bc
Testemunha	88 Aa	94 Aa	98 Aa	92 Aa	95 Aa	52 Bc
CV (%) = 6,81						
C- Índice de velocidade de germinação						
Agente Condicionante	Lotes					
	1	2	3	4	5	6
Água	8,62 Aa	8,33 Aa	7,98 Aa	7,94 Aa	8,19 Aa	6,70 Ba
Hipoclorito de sódio	7,70 Ab	7,90 Aa	7,98 Aa	7,93 Aa	7,50 Ab	6,07 Ba
Nitrato de potássio	8,64 Aa	8,25 Aa	8,54 Aa	8,49 Aa	8,78 Aa	5,99 Ba
Espermidina	7,92 Ab	7,12 Aa	8,22 Aa	8,32 Aa	8,16 Aa	5,99 Ba
Testemunha	7,60 Ab	7,73 Aa	8,35 Aa	7,82 Aa	8,16 Aa	6,30 Ba
CV (%) = 6,20						

As médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

A menor porcentagem de germinação aos sete dias após a semeadura foi constatada para sementes do lote 6, independentemente do agente condicionante utilizado (Tabela 14B).

Para cinco dos seis lotes avaliados, não houve diferença na primeira contagem de germinação das sementes condicionadas e da testemunha (Tabela 14B). No entanto, sementes condicionadas com água seguida das condicionadas com nitrato de potássio do lote 6 deram origem à maior porcentagem de plântulas aos sete dias do que as condicionadas com os demais agentes condicionantes. A eficiência desses agentes condicionantes em sementes de tabaco vem sendo relatada em diversos trabalhos (CALDEIRA et al., 2014, 2016; OLIVEIRA, 2016), o que corrobora com os resultados obtidos nesta pesquisa.

Aos doze meses de armazenamento das sementes, o menor índice de velocidade de germinação foi verificado para as sementes do lote 6, independentemente do tratamento de condicionamento fisiológico (Tabela 14C). A velocidade de germinação das sementes condicionadas com água e nitrato de potássio do lote 1 foi maior do que a das sementes condicionadas com outros agentes e do que a testemunha. Para sementes condicionadas com hipoclorito de sódio do lote 5, observou-se menor IVG do que o das demais sementes do lote. Segundo Ferreira e Ranal (1999), o uso de solução de hipoclorito de sódio como forma de assepsia de sementes em laboratórios é muito comum, mas o uso dele como agente condicionante de sementes pode afetar de forma negativa a germinação. O índice de velocidade de germinação de sementes da testemunha e das sementes condicionadas dos demais lotes não variou.

A menor porcentagem de emergência aos setes dias após a semeadura ocorreu para sementes do lote 6 (Tabela 15A). Sementes condicionadas com água e nitrato de potássio do lote 6 deram origem a um maior número de plântulas emergidas do que as sementes condicionadas com os demais agentes e a testemunha do lote. A emergência inicial de plântulas oriundas de sementes condicionadas e da testemunha não diferiram para os outros cinco lotes. Reis et al. (2012) também observaram incrementos na porcentagem de emergência de sementes de berinjela quando estas foram condicionadas com água e nitrato de potássio, em relação à testemunha. Segundo Trigo, Nedel e Trigo (1999) a vantagem do condicionamento utilizando  $\text{KNO}_3$  pode estar relacionada ao fato deste atuar como fonte adicional de potássio e nitrogênio durante a germinação e emergência das sementes.

O menor índice de velocidade de emergência foi observado para sementes do lote 6, com exceção das sementes condicionadas com água deste lote que não apresentaram diferença

estatística significativa em relação ao índice de emergência das sementes dos demais lotes (Tabela 15B).

Sementes condicionadas dos lotes 1 e 2 apresentaram maior velocidade de emergência do que as testemunhas desses lotes, independente do agente condicionante (Tabela 15B). Para o lote 6, observou-se que sementes condicionadas com água e nitrato de potássio apresentavam maior IVE do que as demais sementes do lote. Pode-se afirmar que o condicionamento fisiológico foi eficiente para acelerar a velocidade de emergência das sementes destes lotes. Não houve diferença no índice de velocidade de emergência das sementes condicionadas e da testemunha dos lotes 3, 4 e 5.

**Tabela 15** Emergência inicial (%) e índice de velocidade de emergência de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria por doze meses.

A- Emergência inicial (%)						
Agente Condicionante	Lotes					
	1	2	3	4	5	6
Água	95 Aa	88 Aa	86 Aa	92 Aa	83 Aa	82 Aa
Hipoclorito de sódio	93 Aa	93 Aa	86 Aa	82 Aa	87 Aa	52 Bb
Nitrato de potássio	89 Aa	91 Aa	94 Aa	92 Aa	85 Aa	74 Ba
Espermidina	91 Aa	91 Aa	92 Aa	86 Aa	92 Aa	51 Bb
Testemunha	81 Aa	75 Aa	90 Aa	92 Aa	90 Aa	46 Bb
CV (%) = 13,14						
B- Índice de velocidade de emergência						
Agente Condicionante	Lotes					
	1	2	3	4	5	6
Água	7,92 Aa	7,43 Aa	7,27 Aa	7,74 Aa	7,00 Aa	6,92 Aa
Hipoclorito de sódio	7,87 Aa	7,81 Aa	7,11 Aa	7,08 Aa	7,43 Aa	5,07 Bb
Nitrato de potássio	7,50 Aa	7,72 Aa	7,86 Aa	7,73 Aa	7,12 Aa	6,50 Ba
Espermidina	7,70 Aa	7,68 Aa	7,83 Aa	7,34 Aa	7,80 Aa	5,28 Bb
Testemunha	6,69 Bb	6,80 Bb	7,42 Aa	7,75 Aa	7,52 Aa	5,42 Cb
CV (%) = 7,48						

As médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Aos doze meses de armazenamento das sementes, o lote que apresentou menor porcentagem de emergência de plântulas aos dezesseis dias após a semeadura foi o 6 (Tabela 16).

Sementes dos lotes 1, 4, 5 e 6 lixiviaram mais eletrólitos para água do que as sementes dos lotes 2 e 3. O teste de condutividade elétrica baseia-se no princípio de que, com o processo de deterioração, ocorra aumento da lixiviação dos constituintes celulares das sementes embebidas em água, devido à perda da integridade dos sistemas de membranas

celulares, assim considera-se o vigor das sementes inversamente proporcional aos valores de condutividade elétrica (DUTRA; VIEIRA, 2006).

**Tabela 16** Emergência final (%) e condutividade elétrica ( $\mu\text{S. cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$ ) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, armazenadas por doze meses em câmara fria.

Lote	EF (%)	CE ( $\mu\text{S. cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$ )
1	92 a	552,82 b
2	92 a	391,23 a
3	92 a	412,00 a
4	92 a	457,39 b
5	95 a	469,82 b
6	86 b	486,95 b
CV (%) =	6,95	21,45

As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Quando se comparou a média da condutividade elétrica da testemunha ( $977,32 \mu\text{S. cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$ ) com as médias das sementes condicionadas (Tabela 17), foi observada expressiva redução da condutividade, podendo-se inferir que houve reorganização de membranas das sementes submetidas ao condicionamento. O valor mais alto de condutividade elétrica, entre as sementes condicionadas, foi observado naquelas condicionadas com nitrato de potássio, seguidas pelas condicionadas com hipoclorito de sódio. Normalmente, o aumento da condutividade elétrica está relacionado com a redução do vigor, mas o incremento que foi observado na presente pesquisa está provavelmente relacionado à absorção de íons pelas sementes a partir da solução de condicionamento, uma vez que ocorreram ganhos no vigor, principalmente com nitrato de potássio, em relação a qualidade inicial das sementes.

**Tabela 17** Condutividade elétrica ( $\mu\text{S. cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$ ) de sementes de tabaco, cultivar CSC, condicionadas fisiologicamente e armazenadas por doze meses.

Agente condicionante	CE ( $\mu\text{S. cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$ )
Água	262,54 a
Hipoclorito de sódio	418,83 b
Nitrato de potássio	505,05 c
Espermidina	185,65 a
Testemunha	977,32 d
CV (%) =	21,45

As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Em avaliação realizada aos dezesseis meses das sementes de tabaco condicionadas e armazenadas em câmara fria (época 5), observou-se por meio da análise de variância que, para as variáveis primeira contagem de germinação e índice de velocidade de germinação, apenas os fatores isolados lote e agente condicionante interferiram nos resultados, porém para as demais variáveis analisadas, a interação dupla foi significativa, influenciando na qualidade das sementes.

A menor porcentagem de germinação foi observada para sementes do lote 6, quando condicionadas com água e hipoclorito de sódio (Tabela 18). Para a maioria dos lotes não houve diferença na porcentagem de germinação das sementes condicionadas e da testemunha, aos dezesseis meses de armazenamento. As exceções foram as sementes condicionadas do lote 1 que germinaram mais que sua testemunha, independentemente do agente condicionante utilizado; e sementes condicionadas com água e hipoclorito de sódio do lote 6 que tiveram uma menor porcentagem de germinação aos dezesseis dias do que as demais sementes do mesmo lote. O teste de germinação é realizado em condições ótimas, principalmente de temperatura e disponibilidade de água, desta forma, lotes de sementes com viabilidades semelhantes e com diferentes níveis de vigor não seriam diferenciados pelo teste de germinação (REIS et al., 2013).

**Tabela 18** Germinação (%) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria por dezesseis meses.

Agente Condicionante	Lote					
	1	2	3	4	5	6
Água	99 Aa	96 Aa	97 Aa	94 Aa	98 Aa	78 Bc
Hipoclorito de sódio	98 Aa	98 Aa	98 Aa	95 Aa	97 Aa	87 Bb
Nitrato de potássio	97 Aa	95 Aa	99 Aa	96 Aa	99 Aa	93 Aa
Espermidina	98 Aa	99 Aa	98 Aa	97 Aa	96 Aa	93 Aa
Testemunha	93 Ab	96 Aa	98 Aa	96 Aa	98 Aa	92 Aa
CV (%) = 3,44						

As médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Na tabela 19, observou-se que o lote 6 apresentou os menores resultados de primeira contagem de germinação, assim como o menor índice de velocidade de germinação. Por meio destes resultados, pode-se inferir que o vigor das sementes do lote 6, aos dezesseis meses de armazenamento era menor do que o dos demais lotes, pois, apesar do teste de primeira contagem de germinação e índice de velocidade de germinação serem realizados simultaneamente ao teste de germinação, estes são considerados testes de vigor.

**Tabela 19** Primeira contagem de germinação (%) e índice de velocidade de germinação de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, armazenadas em câmara fria por dezesseis meses.

Lotes	PCG (%)	IVG
1	90 a	8,39 a
2	91 a	8,28 a
3	92 a	8,36 a
4	89 a	8,20 a
5	92 a	8,23 a
6	71 b	5,69 b
CV (%) =	4,69	5,17

As médias seguidas da mesma na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Constatou-se uma maior velocidade de germinação das sementes condicionadas quando comparadas a testemunha, na avaliação realizada aos dezesseis meses de armazenamento (Tabela 20). Por meio deste resultado, pode-se afirmar que sementes condicionadas de tabaco mantêm sua qualidade durante todo o armazenamento e que os benefícios do tratamento são mantidos.

**Tabela 20** Índice de velocidade de germinação de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria por dezesseis meses.

Agente Condicionante	IVG
Água	7,76 a
Hipoclorito de sódio	7,84 a
Nitrato de potássio	7,98 a
Espermidina	8,09 a
Testemunha	7,51 b
CV (%) =	5,17

As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

A menor porcentagem de emergência, aos sete dias após a semeadura, foi observada para sementes do lote 6 (Tabela 21A).

O condicionamento fisiológico das sementes com hipoclorito de sódio prejudicou a emergência inicial das plântulas dos cinco lotes. A única emergência que não foi afetada pelo condicionamento com hipoclorito de sódio foi a de sementes do lote 2. Segundo Rodrigues et al. (2012), o uso do hipoclorito pode afetar a germinação das sementes de algumas espécies, estimulando ou inibindo o processo. No caso de sementes de tabaco, verificou-se efeito tóxico deste agente com o prolongamento do armazenamento das sementes, evidenciado na

emergência inicial. O condicionamento com água, nitrato de potássio e espermidina fez com que a porcentagem de emergência das sementes dos lotes 3 e 6, aos sete dias, fosse maior do que a emergência de suas testemunhas.

Aos dezesseis dias, constatou-se que a menor porcentagem de emergência após a semeadura foi das sementes dos lotes 1, 3 e 4 condicionadas com hipoclorito de sódio quando comparadas às demais sementes (Tabela 21B). Assim, como na emergência inicial, o condicionamento fisiológico com hipoclorito de sódio também afetou de maneira negativa a emergência final das sementes dos lotes 1 e 3.

Sementes condicionadas do lote 6 deram origem a um maior estande de plantas aos dezesseis dias do que as da testemunha, independentemente do agente condicionante utilizado. O condicionamento fisiológico não interferiu nos resultados de emergência final das sementes dos lotes 2, 4 e 5.

O menor índice de velocidade de emergência foi observado para as sementes do lote 6, seguido pelo lote 4 (Tabela 21C). O agente condicionante hipoclorito de sódio afetou negativamente a velocidade de emergência das sementes dos lotes 1,3,4 e 5. Verificou-se que, aos dezesseis meses de armazenamento, o índice de velocidade de emergência das sementes condicionadas com espermidina e nitrato de potássio foi maior do que o da testemunha para os lotes 1,3,4 e 6, demonstrando que os efeitos benéficos do condicionamento com estes agentes não foram perdidos com o do armazenamento.

**Tabela 21** Emergência inicial (%), emergência final (%) e índice de velocidade de emergência de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria por dezesseis meses.

A- Emergência inicial (%)						
Agente Condicionante	Lote					
	1	2	3	4	5	6
Água	84 Aa	77 Aa	85 Aa	75 Aa	79 Aa	66 Ba
Hipoclorito de sódio	64 Bb	85 Aa	66 Bb	57 Bb	55 Bb	32 Bb
Nitrato de potássio	83 Aa	79 Aa	81 Aa	82 Aa	85 Aa	50 Ba
Espermidina	83 Aa	78 Aa	84 Aa	86 Aa	83 Aa	60 Ba
Testemunha	71 Aa	79 Aa	66 Ab	79 Aa	84 Aa	26 Bb
CV (%) = 15,03						
B- Emergência final (%)						
Agente Condicionante	Lote					
	1	2	3	4	5	6
Água	91 Aa	89 Aa	90 Aa	89 Aa	87 Aa	85 Aa
Hipoclorito de sódio	71 Cb	91 Aa	80 Bb	81 Ba	90 Aa	90 Aa
Nitrato de potássio	89 Aa	86 Aa	91 Aa	88 Aa	91 Aa	83 Aa
Espermidina	89 Aa	88 Aa	89 Aa	91 Aa	89 Aa	89 Aa
Testemunha	88 Aa	86 Aa	86 Aa	89 Aa	89 Aa	74 Ab
CV (%) = 6,18						
C- Índice de velocidade de emergência (%)						
Agente Condicionante	Lote					
	1	2	3	4	5	6
Água	7,97 Aa	7,87 Aa	7,74 Aa	5,98 Bb	7,16 Aa	5,64 Ba
Hipoclorito de sódio	5,65 Bb	7,08 Aa	6,33 Ab	5,35 Bb	5,80 Bb	5,07 Ba
Nitrato de potássio	8,13 Aa	7,26 Aa	7,22 Aa	7,49 Aa	7,47 Aa	5,28 Ba
Espermidina	7,81 Aa	6,85 Ba	7,55 Aa	8,13 Aa	7,83 Aa	5,80 Ca
Testemunha	6,43 Bb	7,55 Aa	6,01 Bb	6,41 Bb	8,05 Aa	4,66 Cb
CV (%) = 8,79						

As médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Sementes condicionadas com  $KNO_3$  do lote 1 exsudaram mais eletrólitos do que as sementes condicionadas com o mesmo agente dos demais lotes (Tabela 22). A leitura mais baixa da condutividade elétrica, entre as testemunhas dos seis lotes, foi observada para sementes do lote 3. Para os demais tratamentos, não houveram diferenças significativas na condutividade elétrica.

Sementes sem condicionamento lixiviaram mais solutos do que as sementes condicionadas, seguidas por aquelas sementes condicionadas por nitrato de potássio e hipoclorito de sódio, independentemente do lote. Segundo Lopes et al. (2011) é comum observar altos valores de condutividade em condicionamento osmótico com soluções salinas, pois os íons dissociados

dessas soluções podem penetrar nos tecidos das sementes e posteriormente serem liberados na solução de embebição, contribuindo para alterar os resultados.

**Tabela 22** Condutividade elétrica ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}\cdot\text{l}\cdot\text{g}^{-1}$ ) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria por dezesseis.

Agente Condicionante	Lote					
	1	2	3	4	5	6
Água	315,27 Aa	220,83 Aa	321,57 Aa	265,41 Aa	297,01 Aa	199,04 Aa
Hipoclorito de sódio	675,83 Ab	509,06 Ab	445,83 Ab	499,11 Ab	505,76 Ab	481,25 Ab
Nitrato de potássio	967,73 Bc	645,13 Ab	601,52 Ab	728,65 Ac	730,00 Ac	736,88 Ac
Espermidina	289,89 Aa	320,33 Aa	184,44 Aa	164,58 Aa	172,99 Aa	122,23 Aa
Testemunha	1975,07 Cd	1341,85 Bc	1148,38 Ac	1456,83 Bd	1458,20 Bd	1437,00 Bd
CV (%) = 14,78						

As médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

No caso das avaliações de crescimento de plântulas, por análise de imagens, os resultados (não mostrados) foram inconsistentes em todas as épocas não havendo uma tendência de alteração do comprimento da parte aérea, radícula, comprimento total de plântula e relação parte aérea/radícula ao longo do armazenamento. Além disso, na comparação dos agentes condicionantes não houve destaque do seu efeito no desenvolvimento das plântulas. Resultado muito semelhante foi observado por Andrade (2017), que não conseguiu distinguir diferenças na qualidade dos lotes de sementes de tabaco, por meio de crescimento de plântulas, em análises de imagens.

De modo geral, a água, a espermidina e o nitrato de potássio são agentes condicionantes indicados para o condicionamento fisiológico das sementes de tabaco. No entanto, o nitrato de potássio se destacou em todas as avaliações efetuadas do início até o final do armazenamento para maioria dos lotes avaliados.

#### **4 CONCLUSÃO**

O agente condicionante, a qualidade inicial do lote e o tempo de armazenamento interferem na qualidade fisiológica de sementes de tabaco, condicionadas e armazenadas em câmara fria.

A água, a espermidina e o nitrato de potássio são agentes condicionantes indicados para o condicionamento fisiológico das sementes de tabaco.

Lotes de sementes de tabaco da cultivar CSC 4704, de diferentes qualidades fisiológicas, condicionados com água, espermidina e nitrato de potássio podem ser mantidos em câmara fria a 10°C por dezesseis meses sem perda de sua qualidade fisiológica.

## REFERÊNCIAS

- AFZAL, I. et al. Changes in antioxidante enzymes, germination capacity and vigour of tomato seeds in response of priming with polyamines. **Seed Science & Technology**, Zurich, n. 37, v. 1, p. 765-770, 2009.
- AGACKA, M. et al. Viability of *Nicotiana spp.* seeds stored under ambient temperature. **Seed Science & Technology**, Zurich, v. 41, p. 474-478, 2013.
- ANDRADE, D. B. **Evaluation of the physiological of tobacco seeds through image analyses**. 2017. 48 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2017.
- ARAÚJO, P. C. et al. Condicionamento fisiológico e vigor de sementes de maxixe. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 33, n. 3, p. 482-489, 2011.
- ARMONDES, K. A. P. et al. Condicionamento osmótico e desempenho de sementes de repolho com diferentes níveis de vigor. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 1, p. 428-434, 2016.
- BATISTA, T. B. et al. Aspectos fisiológicos e qualidade de mudas da pimenteira em resposta ao vigor e condicionamento das sementes. **Bragantia**, Campinas, v.74, n. 4, p. 367-373, 2015.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 220 p.
- CALDEIRA, C. M. et al. Physiological priming and pelleting of tobacco seeds. **Seed Science & Technology**, Zurich, v. 42, n. 2, p. 180-189, 2014.
- CALDEIRA, C. M. et al. Qualidade de sementes de tabaco durante o processo de pelotização e armazenamento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 46, n. 2, p. 221-230, 2016.
- CARVALHO, M. L. M. et al. Could packing and pelleting keep the quality of tobacco seeds during storage? **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 40, n. 3, p. 296-303, 2018.
- CORREIO, D. L. R. et al. Embebição e germinação de sementes de cenoura condicionadas fisiologicamente sob situações ambientais adversas. **Revista Científica Rural**, Bagé, v. 19, n. 2, p. 205-216, 2017.
- DUTRA, A. S.; VIEIRA, R. D. Condutividade elétrica para avaliação do vigor do vigor de sementes de abobrinha. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 28, n. 2, p. 117-122, 2006.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- FERREIRA, W. R.; RANAL, M. Germinação de sementes e crescimento de plântulas de *Brassica chinensis* L. var. *Parachinensis* (Bailey) Sinskaja (couve-da-malásia). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 3, p. 353-361, 1999.

- HUSSAIN, S. et al. Benefits of rice priming are offset permanently by prolonged storage and the storage conditions. **Scientific Reports**, London, v. 1, n. 1, p. 1-12, 2015.
- LARA, T. S. et al. Potassium nitrate priming affects the activity of nitrate reductase and antioxidant enzymes in tomato germination. **Journal of Agricultural Sciences**, Toronto, v. 6, n. 2, p. 72-80, 2014.
- LI, Z. et al. Exogenous spermidine improves seed germination of white clover under water stress via involvement in starch metabolism, antioxidant defenses and relevant gene expression. **Molecules**, Basel, v. 19, n. 1, p. 18003-18024, 2014.
- LOPES, H. M. et al. Condicionamento fisiológico de sementes de cenoura e pimentão. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v. 17, n. 3-4, p. 296-302, 2011.
- MAJDI, S. et al. Supercritical fluid extraction of tobacco seed oil and its comparison with solvent extraction methods. **Journal of Agricultural Science and Technology**, Tehran, v. 14, p. 1053-1065, 2012.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2015. 660 p.
- MAROUFI, K. et al. Effect of hydropriming on germination in rapeseed (*Brassica Napus L.*). **Advances in Environmental Biology**, Amman, v. 5, n. 8, p. 2208-2211, 2011.
- NASCIMENTO, W. M. **Tecnologia de sementes de hortaliças**. Brasília: EMBRAPA, 2009. 432 p.
- NAWAZ, F. et al. Seed priming with  $KNO_3$  mediates biochemical process to inhibit lead toxicity in maize (*Zea mays L.*). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, New York, v. 97, p. 4780-4789, 2017.
- OLIVEIRA, A. S. **Condicionamento fisiológico de sementes de tabaco**. 2016. 60 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.
- PAUL, S.; ROYCHOUDHURY, A. Seed priming with spermidine and spermine regulates the expression of diverse groups of abiotic stress-responsive genes during salinity stress in the seedlings of indica rice varieties. **Plant Gene**, Kidlington, v. 11, n. 1, p. 124-132, 2017.
- REIS, R. G. E. et al. Physiological quality of osmoprimed eggplant seeds. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 36, n. 5, p. 526-532, 2012.
- REIS, R. G. E. et al. Qualidade fisiológica de sementes de berinjela osmocondicionadas submetidas à secagem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, n. 11, p. 1507-1516, 2013.
- RODRIGUES, A. P. D. C. et al. Armazenamento de sementes de salsa osmocondicionadas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 6, p. 978-983, 2011.

RODRIGUES, D. L. et al. Embebição, condicionamento fisiológico e efeito do hipoclorito de sódio na germinação de sementes de alface. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, Boa Vista, v. 6, n. 1, p. 52-61, 2012.

RODRIGUES, D. L.; LOPES, H. M.; SILVA, E. R. Embebição e germinação de sementes de cenoura condicionadas fisiologicamente sob condições ambientais adversas. **Revista Científica Rural**, Bagé, v. 19, n. 2, p. 205-216, 2017.

SANTOS, M. C. A. et al. Condicionamento osmótico de sementes. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 21, n. 2, p. 1-6, 2008.

SOUZA CRUZ. **Fases da produção de fumo**: plantio 2013. Disponível em: <[http://www.souzacruz.com.br/group/sites/SOU\\_7UV24.nsf/vwPagesWebLive/DO7V9KLC](http://www.souzacruz.com.br/group/sites/SOU_7UV24.nsf/vwPagesWebLive/DO7V9KLC)>. Acesso em: 25 abr. 2017.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

TRIGO, M. F. O. O.; NEDEL, J. L.; TRIGO, L. F. N. Condicionamento osmótico em sementes de cebola: I, efeitos sobre a germinação. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 4, p. 1059-1067, 1999.

VARIER, A. et al. The subcellular basis of seed priming. **Current Science**, Bangalore, v. 99, n. 4, p. 450-456, 2010.

WANG, W. et al. The effect of storage condition and during on the deterioration of primed rice seeds. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 9, n. 172, p. 1-17, 2018.

XU, S.; HU, J.; LI, Y. Chilling tolerance in *Nicotiana tabacum* induced by seed priming with putrescine. **Plant Growth Regulation**, New York, v. 63, n. 3, p. 279-290, 2011.

## CAPÍTULO 4

### Análise fisiológica e enzimática de sementes de tabaco condicionadas e armazenadas

#### RESUMO

O condicionamento fisiológico é utilizado por meio da embebição controlada de sementes e tem como benefícios, uniformizar e aumentar a velocidade de germinação e emergência de plântulas. Os efeitos do condicionamento são influenciados por muitos fatores, entre eles o método utilizado, a espécie, a cultivar e a qualidade fisiológica inicial do lote. Outra possível limitação é o armazenamento das sementes condicionadas, devido à perda de viabilidade das mesmas e dos efeitos benéficos imediatos do condicionamento. Objetivou-se investigar o efeito do condicionamento sobre a qualidade fisiológica e a expressão enzimática em três lotes de sementes de tabaco com diferentes níveis de vigor da cultivar CSC4704, grupo varietal Virgínia, antes e ao longo do armazenamento por dezesseis meses em câmara fria, com diversos agentes condicionantes. Os agentes condicionantes utilizados foram água destilada (por 24 h), espermidina (concentração de  $0,5 \text{ mmol.L}^{-1}$  por 24 h), nitrato de potássio (concentração de  $-1 \text{ MPa}$  por 24 h) e hipoclorito de sódio (concentração de 1% por 3 h). Determinou-se a qualidade inicial dos lotes de sementes não condicionados e realizaram-se avaliações logo após o condicionamento fisiológico e aos 4, 8, 12 e 16 meses de armazenamento. Foram avaliados em todos os tempos de armazenamento: o teor de água das sementes, germinação, primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação e emergência, emergência inicial e final, condutividade elétrica, e expressão das enzimas catalase, esterase, álcool desidrogenase e malato desidrogenase. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, para cada lote de sementes, em esquema fatorial 5x5 (cinco tempos de armazenamento e quatro agentes condicionantes mais a testemunha). A água, a espermidina e o nitrato de potássio são indicados para o condicionamento de sementes de tabaco. Em lotes de sementes de alta e média qualidade, os benefícios do condicionamento e a longevidade das sementes condicionadas são mantidos por 16 meses em câmara fria. O condicionamento fisiológico das sementes de tabaco proporciona maior atividade das enzimas catalase, esterase, álcool desidrogenase e malato desidrogenase até o décimo segundo mês de armazenamento. Há redução na expressão das enzimas catalase, esterase, álcool desidrogenase e malato desidrogenase ao longo do armazenamento das sementes condicionadas.

**Palavras-chave:** Conservação. Condicionamento. Enzima. *Nicotiana tabacum*. Vigor.

## Physiological and enzymatic analysis of conditioned and stored tobacco seeds

### ABSTRACT

Priming is used by means of the seeds controlled imbibition and it has as benefits, to standardize and increase seedling germination and emergence speed. The conditioning effects are influenced by many factors, including the method used, species, cultivar and the initial physiological seed lot quality. Another possible limitation is the storage of the conditioned seeds, due to the loss of their viability and the immediate beneficial conditioning effects. The objective in this study was to investigate the physiological quality conditioning effect and enzymatic expression in three different vigor levels tobacco seed lots from CSC4704 cultivar, in varietal group Virginia before and during storage for sixteen months in a cold room with several conditioning agents. Conditioning agents used were: distilled water (per 24h), spermidine (at a concentration  $0.5 \text{ mmol.L}^{-1}$  per 24h), potassium nitrate (at a concentration -1 Mpa per 24h) and sodium hypochlorite (at a concentration 1% per 3h). The initial quality of unconditioned seed lots was determined and evaluations were carried out shortly after priming and at 4, 8, 12 and 16 months of storage. Seed water content, germination, first germination count, germination and emergence speed index, initial and final emergence, electrical conductivity, and expression of the enzymes catalase, esterase, alcohol dehydrogenase and malate dehydrogenase were evaluated in all storage period. A completely randomized design was used for each seeds lot, in a 5x5 factorial scheme (five storage times and four conditioning agents plus the control). Water, spermidine and potassium nitrate are indicated for the tobacco seeds conditioning. In seed lots of high and medium quality, the conditioning benefits and seeds longevity conditioned are maintained for 16 months in a cold room. Tobacco seeds priming provides greater activity of the enzymes catalase, esterase, alcohol dehydrogenase and malate dehydrogenase until the 12<sup>th</sup> month of storage. There is reduction in the expression of the enzymes catalase, esterase, alcohol dehydrogenase and malate dehydrogenase throughout the conditioned seeds storage.

**Keywords:** Conservation. Conditioning. Enzyme. *Nicotiana tabacum*. Vigor.

## 1 INTRODUÇÃO

O condicionamento fisiológico de sementes tem como objetivo reduzir o período de germinação, bem como uniformizar e melhorar a emergência de plântulas, submetendo as sementes a um controle de hidratação suficiente para permitir os processos respiratórios essenciais à germinação, porém insuficiente para propiciar a protrusão da radícula (VARIER et al., 2010). Mecanismos de reparo, como o de membranas, são ativados durante o condicionamento, reduzindo a liberação de exsudatos (HUANG et al., 2008). O sistema enzimático antioxidante e as enzimas mobilizadoras de reservas são favorecidos com o condicionamento (SUN et al., 2011) e mudanças na biossíntese e sinalização de hormônios, principalmente ácido abscísico, giberelinas e etileno também têm sido relatadas com o condicionamento fisiológico das sementes (LUTTS et al., 2016).

Os efeitos do condicionamento são influenciados por muitas variáveis, como o método utilizado, período do tratamento, o agente condicionante, a espécie, a cultivar e o potencial fisiológico do lote utilizado, de forma que não há um procedimento único para o condicionamento de sementes de diferentes espécies (LIMA; MARCOS FILHO, 2010).

Os tratamentos de condicionamento mais utilizados são o osmocondicionamento, que consiste na hidratação controlada das sementes, utilizando polímeros hidrofílicos que aumentam o potencial osmótico na solução e limitam a absorção de água das sementes (ARAUJO et al., 2017) e o hidrocondicionamento, que envolve a hidratação com água por período específico de tempo (PEREIRA et al., 2012). Segundo Caldeira et al. (2014), o tipo de solução osmótica pode influenciar no sucesso da técnica, sendo que o melhor agente condicionante varia entre espécies. Dentre os agentes condicionantes utilizados incluem-se os sais ( $KNO_3$ ,  $NaClO$ ,  $NaCl$ ,  $K_3PO_4$ ), as poliaminas (espermidina, espermina, putrescina), açúcares (manitol, sorbitol) e o potietileno glicol (PEG) (MARCOS FILHO, 2015).

De acordo com Lima e Marcos Filho (2010), a utilização de lotes com diferentes níveis de qualidade também é importante para o estudo da relação entre o potencial fisiológico e a resposta das sementes ao condicionamento. Segundo esses autores, lotes compostos por sementes em avançado estágio de deterioração podem não responder adequadamente ao tratamento, da mesma forma, geralmente, não há como beneficiar lotes altamente vigorosos. Os resultados mais expressivos do condicionamento fisiológico têm sido relatados para sementes de médio e baixo vigor (ARMONDES et al., 2016; BATISTA et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2016).

Em sementes de tabaco, pesquisadores concluíram que o condicionamento, com diferentes agentes condicionantes como água, nitrato de potássio e com poliaminas, é eficaz para melhorar o vigor (CALDEIRA et al., 2014; LI, 2011; WEN-GUANG et al., 2009; XU; HU; YAN et al., 2003), até mesmo em lotes de sementes de baixa qualidade (OLIVEIRA, 2016). No entanto, existem vários grupos varietais de tabaco, como o Virgínia, o Burley e o Dark, dentre outros (FRICANO et al., 2012), e cada grupo é constituído de várias cultivares comerciais, o que se torna um entrave no controle de qualidade das sementes e conseqüentemente na aplicação da técnica de condicionamento, uma vez que cada cultivar possui características próprias e distintas (OLIVEIRA, 2016).

A utilização da técnica de condicionamento fisiológico também apresenta limitações, como a manutenção da viabilidade das sementes e dos efeitos benéficos do tratamento durante o armazenamento. Os mecanismos de deterioração das sementes condicionadas durante o armazenamento ainda não são bem compreendidos (YAN et al., 2017), existindo a necessidade de estudos que busquem ao mesmo tempo alcançar um efeito positivo do condicionamento e minimizar os efeitos deletérios durante o armazenamento. Segundo Wang et al. (2018), a perda da viabilidade de sementes condicionadas durante o armazenamento pode ser um fator limitante na adoção da técnica. Para sementes condicionadas de tabaco, o armazenamento por três meses não foi prejudicial à qualidade (CALDEIRA et al., 2014), mas pouco se sabe sobre o armazenamento destas sementes a longo prazo.

Para elucidar os efeitos do condicionamento na deterioração das sementes, os marcadores enzimáticos têm se destacado, pois além de auxiliar no processo de identificação do nível de qualidade fisiológica das sementes, podem também auxiliar na compreensão dos fatores que resultam na redução de vigor e viabilidade (ANDRADE et al., 2018; VEIGA et al., 2010).

O objetivo com este trabalho foi investigar o efeito do condicionamento sobre a qualidade fisiológica e a expressão enzimática em três lotes de sementes de tabaco com diferentes níveis de vigor da cultivar CSC4704, grupo varietal Virgínia, antes e ao longo do armazenamento por dezesseis meses em câmara fria, com diversos agentes condicionantes.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados três lotes de sementes de tabaco (*Nicotiana tabacum*) do grupo varietal Virgínia, de qualidade fisiológica distintas, selecionados a partir do experimento realizado no Capítulo 3 dessa tese, da cultivar CSC 4704, produzidos nas safras de 2013/2014 e 2015/2015, cedidas pela Empresa Souza Cruz S/A. Os lotes de sementes 1 e 2 foram considerados de alta qualidade, e o lote 3 foi considerado de média qualidade.

Os três lotes de sementes foram submetidos aos seguintes testes e determinações para a caracterização de sua qualidade fisiológica inicial: teor de água, teste de germinação, primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação, emergência inicial e final, índice de velocidade de emergência e condutividade elétrica.

As sementes de tabaco foram submetidas ao hidrocondicionamento, sendo condicionadas em água destilada (por 24 horas), e ao osmocondicionamento, em solução de nitrato de potássio (na concentração de -1 MPa por 24 horas), solução de espermidina (na concentração de 0,5 mmol.L<sup>-1</sup> por 24 horas) e solução de hipoclorito de sódio (na concentração de 1% por 3 horas). O condicionamento fisiológico das sementes foi realizado em BOD regulada a 25°C, sem luz e adaptada com um compressor de ar, responsável por manter as soluções aeradas. As sementes utilizadas como testemunha não foram condicionadas. Após a aplicação dos tratamentos, as sementes foram lavadas em água corrente e secas a 30 °C em estufa de circulação de ar, até atingirem teor de água de 6%.

As sementes de tabaco condicionadas e a testemunha dos três lotes foram armazenadas em embalagem impermeável (micro tubos de polipropileno) em câmara fria (10°C e umidade relativa do ar de 50%) pelo período de 16 meses. A avaliação do potencial fisiológico das sementes foi realizada logo após o condicionamento fisiológico e aos 4, 8, 12 e 16 meses de armazenamento, realizando-se as seguintes determinações e testes: o teor de água das sementes foi determinado pelo método da estufa a 130 °C por 2 horas (BRASIL, 2009), utilizando-se duas repetições de 0,1g de sementes. Os resultados foram expressos em porcentagem de teor de água.

No teste de germinação, quatro repetições de 50 sementes foram semeadas em substrato papel mata-borrão, umedecido com água destilada em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco, em caixas de acrílico tipo gerbox. As sementes foram mantidas em BOD, com temperatura alternada de 20-30 °C (16 horas a 30 °C com luz e 8 horas a 20 °C no escuro) e intensidade de luz de 2000 lux (BRASIL, 2009). O número de

plântulas com a radícula protruída e o primeiro par de folhas aberto foram avaliados diariamente, para a obtenção do Índice de Velocidade de Germinação (MAGUIRE, 1962). Os resultados de germinação foram expressos em porcentagem de plântulas normais com avaliação aos 7 dias após a semeadura para obtenção da Primeira Contagem de Germinação e aos 16 dias (BRASIL, 2009).

O teste de emergência foi conduzido com quatro repetições de 48 sementes, em sistema “float” e em condição controlada. A semeadura foi realizada em substrato comercial Carolina®, de fibra de coco, previamente umedecido (aproximadamente 1 litro de água por Kg de substrato), colocado em placas de acrílico perfuradas no fundo, contendo 96 células. As placas contendo as sementes foram colocadas sobre uma lâmina de água de aproximadamente três centímetros, em bandejas plásticas, e estas foram mantidas em BOD com temperatura alternada de 20-30 °C (16 horas a 30 °C com luz e 8 horas a 20 °C no escuro) e intensidade de luz acima de 2000 lux. A avaliação do número de plântulas emergidas e com o primeiro par de folhas foi realizada diariamente, para a obtenção do Índice de Velocidade de Emergência (MAGUIRE, 1962) e, no sétimo dia e décimo sexto dia, para a obtenção da Emergência Inicial e Emergência Final.

O teste de condutividade elétrica foi conduzido com quatro repetições de 0,01g de sementes, colocadas em recipiente com 4 mL de água deionizada e mantidas a uma temperatura de 25 °C, em câmara tipo BOD. Após 12 horas de embebição, foi realizada a leitura da condutividade elétrica em um condutivímetro Digimed CD-21. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ .

Para a análise isoenzimática, 0,1 gramas de sementes de tabaco de cada tratamento foram maceradas com antioxidante polivinilpirrolidona (PVP) em nitrogênio líquido. Ao material macerado foi acrescido 250  $\mu\text{L}$  do tampão de extração (Tris HCl 0,2M pH 8,0 + 0,1% de  $\beta$ -mercaptoetanol). O material foi colocado em geladeira (4 °C) por 12 horas e depois centrifugado a 14000 rpm por 30 minutos a 4 °C. A eletroforese em géis de poliacrilamida foi desenvolvida em sistema descontínuo (4,5% gel de concentração e 7,5% gel de separação). Foi utilizado Tris-glicina pH 8,9 como sistema tampão gel/eletrodo. Para proceder a corrida eletroforética, foram aplicados nas canaletas dos géis 55  $\mu\text{L}$  do sobrenadante de cada amostra e a corrida foi realizada a 4 °C por quatro horas a uma voltagem constante de 150 V. Ao término da corrida, os géis foram revelados para as enzimas Catalase (CAT), Esterase (EST), Malato desidrogenase (MDH) e Álcool desidrogenase (ADH), conforme protocolos contidos em Alfenas (2006).

Procedimento estatístico: optou-se pela análise comparativa dos agentes condicionantes e do tempo de armazenamento das sementes para cada lote. Adotou-se um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x5, sendo quatro agentes condicionantes e uma testemunha e armazenamento por cinco tempos distintos (0, 4, 8, 12, 16 meses), para cada lote de sementes. As médias foram submetidas à análise de variância e os resultados analisados por meio de análise de regressão ou comparação de média, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico Sisvar®.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quanto à caracterização inicial dos lotes de sementes de tabaco (Tabela 1), verificou-se que a qualidade fisiológica das sementes dos lotes 1 e 2 era superior à das sementes do lote 3, exceto para a condutividade elétrica. A utilização de lotes com diferentes níveis de vigor é importante para o estudo da relação entre o potencial fisiológico e a resposta das sementes ao condicionamento (LIMA; MARCOS FILHO, 2010).

**Tabela 1** Caracterização da qualidade fisiológica de lotes de sementes de tabaco da cultivar CSC 4704

Lotes	Safra	PCG (%)	G (%)	IVG	EI (%)	EF (%)	IVE	CE ( $\mu\text{S. cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ )	Umidade (%)
1	2013/201			7,13			6,90		
	4	90 A	99 A	A	86 A	95 A	A	1015,31 A	5,13
2	2015/201			6,90			7,21		
	5	85 A	97 A	A	88 A	99 A	A	1619,71 A	6,64
3	2015/201			6,09			5,78		
	5	69 B	90 B	B	63 B	88 B	B	2010,63 A	6,61
CV (%)	-----	20,11	2,68	4,32	10,01	3,05	6,55	18,37	-----

As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Ocorreram pequenas oscilações no grau umidade das sementes, sendo a maior variação constatada de 0,35% para as sementes condicionadas com espermidina do lote 3 (dados não mostrados). O armazenamento das sementes ocorreu em embalagem impermeável e, por isso, essa oscilação foi pequena, pois um dos maiores benefícios deste tipo de embalagem é oferecer resistência à troca de vapor de água entre a semente e o ambiente (CARVALHO et al., 2018).

Por meio da análise de variância, constatou-se que para as sementes de tabaco dos lotes 1, 2 e 3 a interação entre agente condicionante e o tempo de armazenamento foi significativa para a germinação.

A porcentagem de germinação das sementes de tabaco condicionadas do lote 1 não diferiu da testemunha em quatro dos cinco tempos de armazenamento avaliados (Tabela 2A). Apenas no décimo segundo mês de armazenamento, houve redução da porcentagem de germinação das sementes condicionadas com água e com espermidina, quando comparados aos observados para os demais agentes condicionantes.

Para o lote 2, a porcentagem de germinação das sementes condicionadas também não se diferenciou da testemunha em quatro das cinco avaliações realizadas ao longo dos dezesseis meses de armazenamento (Tabela 2B). Apenas no oitavo mês de armazenamento, a

porcentagem de germinação das sementes condicionadas com hipoclorito de sódio, nitrato de potássio e espermidina foi maior do que a das sementes condicionadas com água e a testemunha.

A porcentagem de germinação das sementes condicionadas do lote 3 não diferiu da sua testemunha durante os dezesseis meses de armazenamento (Tabela 2C), com exceção das sementes condicionadas com água que, ao final do armazenamento, deram origem a menor porcentagem de plântulas que os demais tratamentos.

Por meio dos resultados obtidos para os três lotes, pode-se inferir que os agentes condicionantes não influenciaram o resultado do teste de germinação, exceto no oitavo mês (lote2) e no décimo segundo mês (lote 1). Segundo Reis et al. (2013), quando um lote de sementes apresenta elevada qualidade fisiológica e é submetido a diferentes tratamentos de condicionamento, o teste de germinação pode não ser sensível para detectar diferenças dos efeitos dos tratamentos, por ser um teste realizado em condições ideais.

**Tabela 2.** Germinação (%) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionados fisiologicamente e armazenados em câmara fria.

A) Lote 1 B) Lote 2 C) Lote 3

A- Lote 1					
Agente condicionante	Tempo de armazenamento (meses)				
	0	4	8	12	16
Água	97 a	98 a	100 a	93 b	96 a
Hipoclorito de sódio	99 a	99 a	99 a	98 a	98 a
Nitrato de potássio	97 a	100 a	100 a	97 a	95 a
Espermidina	99 a	100 a	98 a	92 b	98 a
Testemunha	100 a	99 a	99 a	99 a	96 a
CV (%) = 2,61					
B- Lote 2					
Agente condicionante	Tempo de armazenamento (meses)				
	0	4	8	12	16
Água	100 a	98 a	87 c	97 a	98 a
Hipoclorito de sódio	100 a	98 a	100 a	93 a	97 a
Nitrato de potássio	99 a	97 a	99 a	97 a	99 a
Espermidina	96 a	98 a	100 a	98 a	96 a
Testemunha	98 a	98 a	94 b	97 a	98 a
CV (%) = 3,04					
C- Lote 3					
Agente condicionante	Tempo de armazenamento (meses)				
	0	4	8	12	16
Água	95 a	97 a	91 a	90 a	78 b
Hipoclorito de sódio	90 a	97 a	89 a	91 a	91 a
Nitrato de potássio	93 a	96 a	89 a	86 a	87 a
Espermidina	87 a	94 a	92 a	88 a	91 a
Testemunha	89 a	90 a	91 a	90 a	90 a
CV (%) = 4,76					

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Foram observadas variações na porcentagem de germinação ao longo do armazenamento para as sementes condicionadas com água, nitrato de potássio e espermidina do lote 1 (Figura 1A). A germinação das sementes condicionadas com hipoclorito de sódio e as da testemunha se manteve constante. Houve uma pequena redução na porcentagem de germinação das sementes condicionadas com água e nitrato de potássio a partir do décimo mês de armazenamento das sementes, no entanto, constatou-se uma redução bastante acentuada na porcentagem de germinação das sementes condicionadas com espermidina, do oitavo para o décimo segundo mês de conservação das sementes.

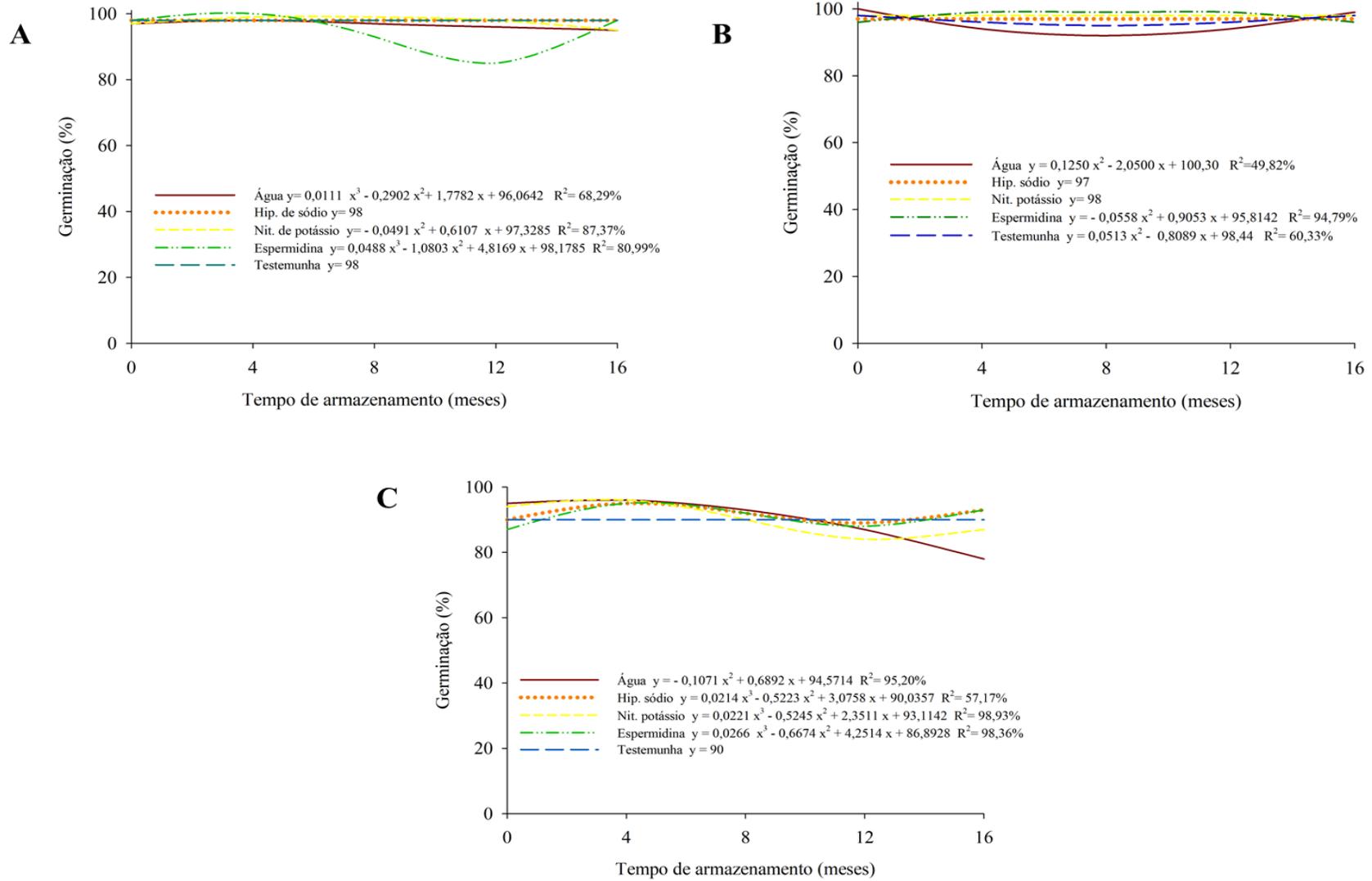
Não houve variação na porcentagem de germinação das sementes condicionadas com hipoclorito de sódio (97%) e nitrato de potássio (98%) do lote 2 ao longo do armazenamento (Figura 1B). Para os demais tratamentos, a variação na germinação foi pequena no período de conservação.

Para o lote 3, logo após o condicionamento fisiológico das sementes, a porcentagem de germinação das sementes condicionadas com água, nitrato de potássio e hipoclorito de sódio foi maior do que a da testemunha (Figura 1C). Até o oitavo mês de armazenamento das sementes, constatou-se que a germinação das sementes condicionadas foi superior à da testemunha, independentemente do agente condicionante utilizado. Após este período, foi observada um decréscimo na germinação destas sementes, enquanto a germinação da testemunha permaneceu constante durante todo o período de conservação. Os decréscimos mais acentuados na porcentagem de germinação após o armazenamento foram verificados para as sementes condicionadas com água e com nitrato de potássio.

Apesar do decréscimo na porcentagem de germinação das sementes condicionadas, ao longo do tempo, verificaram-se médias muito altas de germinação mesmo com o armazenamento por longo prazo, contrariando os resultados observados em algumas pesquisas (FARAJOLHALI et al., 2016; WANG et al., 2018; YAN et al., 2017) nas quais houve perda da viabilidade das sementes condicionadas após o armazenamento.

Os resultados obtidos para os três lotes evidenciam que a resposta ao armazenamento das sementes condicionadas depende do agente condicionante, do tempo de armazenamento e da qualidade inicial do lote.

**Figura 1** Germinação (%) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria.  
 A) Lote 1 B) Lote 2 C) Lote 3



Para todos os lotes, na análise de variância, a interação entre agente condicionante e o tempo de armazenamento foi significativa para a variável primeira contagem de germinação.

Independentemente do condicionamento fisiológico, a germinação das sementes do lote 1, aos sete dias após a semeadura, não se diferenciou estatisticamente durante os dezesseis meses de armazenamento (Tabela 3A). A exceção foi verificada para sementes condicionadas com espermidina, no décimo segundo mês, quando se observou menor porcentagem de germinação das sementes em relação aos demais tratamentos.

Para o lote 2, na primeira contagem de germinação, aos sete dias após a semeadura, não foram observadas diferenças significativas entre a porcentagem de plântulas germinadas das sementes condicionadas e da testemunha (Tabela 3B). Assim como na germinação, a única exceção foi a menor porcentagem de germinação das sementes condicionadas com água e da testemunha no oitavo mês de armazenamento.

Sementes de alta qualidade, como no caso dos lotes 1 e 2, independente do condicionamento, germinam de maneira rápida e uniforme, e este pode ser o motivo por não terem sido observados os efeitos do condicionamento na primeira contagem de germinação. No entanto, mesmo não havendo incrementos na porcentagem de germinação, o condicionamento e posterior armazenamento das sementes também não reduziu a sua longevidade.

O condicionamento com água e nitrato de potássio promoveu resultados benéficos para germinação das sementes, aos sete dias após a semeadura, do lote 3 e foram superiores aos demais tratamentos (Tabela 3C).

Durante o armazenamento das sementes, verificou-se que as sementes condicionadas com água, nitrato de potássio e espermidina deram origem à maior porcentagem de plântulas normais, aos sete dias após a semeadura, do que as sementes condicionadas com hipoclorito de sódio e a testemunha (Tabela 3C). Apenas no décimo sexto mês, não houve diferença nos valores de germinação das sementes da testemunha e nas dos demais tratamentos. Esse resultado é importante porque indica não só possíveis vantagens do condicionamento sobre o estabelecimento de plântulas, como também a manutenção dos benefícios do condicionamento durante o armazenamento das sementes.

**Tabela 3** Primeira contagem de germinação (%) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionados fisiologicamente e armazenados em câmara fria. A) Lote 1 B) Lote 2 C) Lote 3

A- Lote 1					
Agente condicionante	Tempo de armazenamento (meses)				
	0	4	8	12	16
Água	97 a	96 a	99 a	94 a	96 a
Hipoclorito de sódio	98 a	97 a	98 a	95 a	98 a
Nitrato de potássio	97 a	99 a	97 a	96 a	95 a
Espermidina	98 a	100 a	96 a	88 b	97 a
Testemunha	99 a	98 a	99 a	96 a	95 a
CV (%) = 2,87					
B- Lote 2					
Agente condicionante	Tempo de armazenamento (meses)				
	0	4	8	12	16
Água	97 a	95 a	85 b	94 a	96 a
Hipoclorito de sódio	99 a	96 a	98 a	94 a	96 a
Nitrato de potássio	98 a	95 a	96 a	96 a	98 a
Espermidina	95 a	97 a	99 a	97 a	95 a
Testemunha	96 a	96 a	89 b	95 a	96 a
CV (%) = 3,78					
C- Lote 3					
Agente condicionante	Tempo de armazenamento (meses)				
	0	4	8	12	16
Água	74 a	71 b	68 a	70 a	75 a
Hipoclorito de sódio	48 b	72 b	55 b	50 b	71 a
Nitrato de potássio	76 a	81 a	68 a	66 a	76 a
Espermidina	58 b	83 a	65 a	61 a	75 a
Testemunha	54 b	49 c	54 b	52 b	70 a
CV (%) = 6,49					

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Para o lote 1, a porcentagem de plântulas na primeira contagem de germinação, originadas das sementes condicionadas se manteve constante ao longo do armazenamento (Figura 2A), independente do agente condicionante utilizado. Verificou-se um pequeno decréscimo, de 4%, na porcentagem de plântulas germinadas aos sete dias após a semeadura, para sementes não condicionadas, com prolongamento do armazenamento.

Para o lote 2, a porcentagem de plântulas germinadas, aos sete dias após a semeadura, oriundas das sementes condicionadas com hipoclorito de sódio (96%) e nitrato de potássio (97%) não sofreu alteração durante todo o armazenamento (Figura 2B). Para as sementes condicionadas com espermidina houve um incremento na porcentagem de germinação até o décimo primeiro mês de armazenamento e depois deste período uma redução. No entanto, em sementes condicionadas com água e nas da testemunha, o armazenamento fez com que

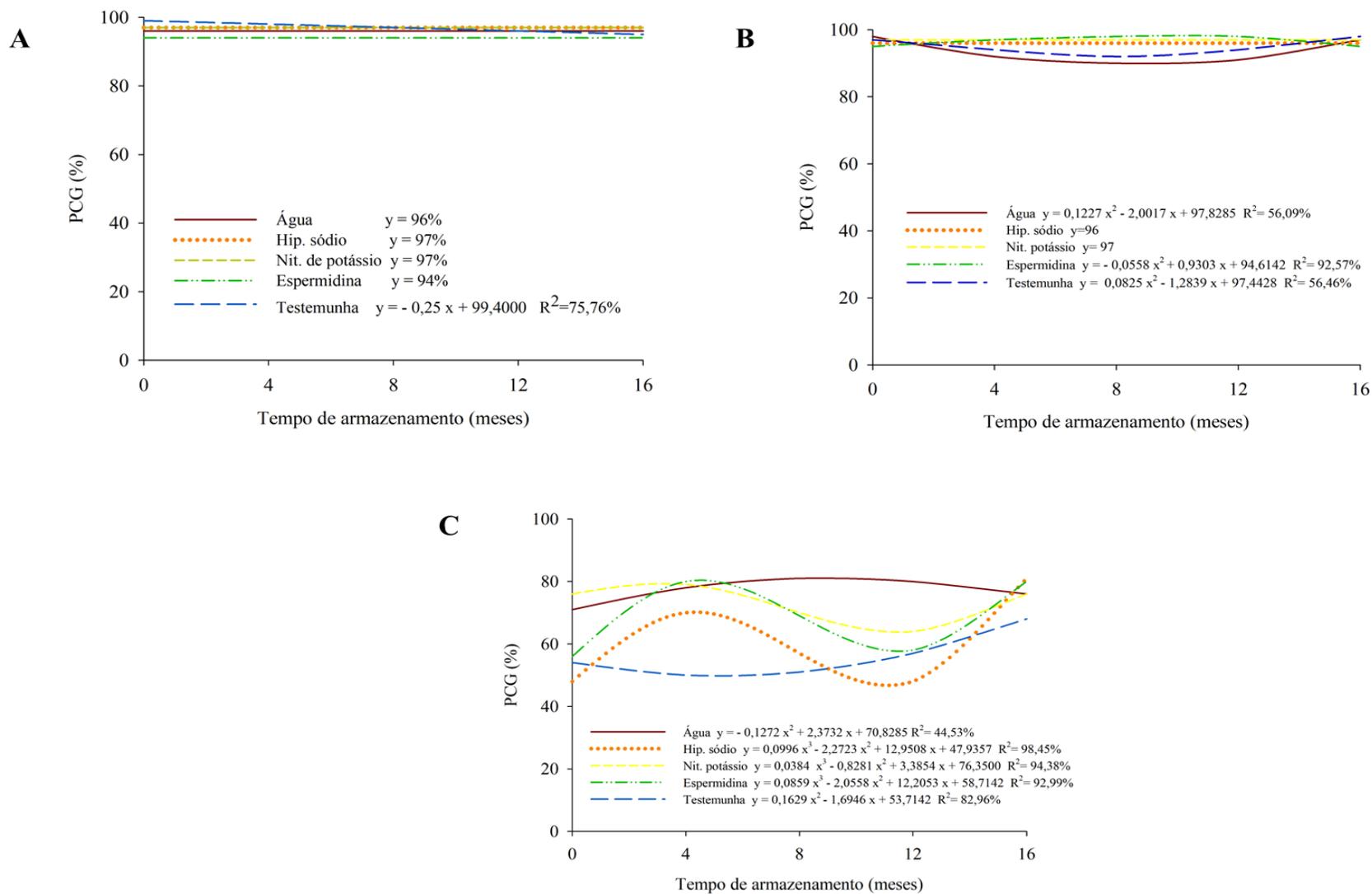
houvesse uma queda mais expressiva na porcentagem de germinação aos sete dias até aproximadamente o nono mês de armazenamento, com recuperação da germinação nos meses seguintes de armazenamento.

Logo após o condicionamento fisiológico das sementes, foi possível observar o efeito positivo desse na primeira contagem de germinação das sementes condicionadas em relação à testemunha do lote 3 (Figura 2C). Esse efeito positivo se estendeu por todo o armazenamento. A única exceção foi a germinação das sementes condicionadas com hipoclorito de sódio que foi menor do que as da testemunha, logo após o condicionamento e entre o nono e décimo quarto mês de armazenamento.

Verificou-se também por meio da figura 2C, variações na porcentagem de germinação aos sete dias após a semeadura, para todos os tratamentos, durante os dezesseis meses de armazenamento. Este resultado pode estar relacionado à qualidade inicial do lote. Lotes de menor qualidade fisiológica, apresentam grandes variações entre os resultados individuais das sementes, o que pode levar a uma grande variação também nos resultados finais.

Deve-se ressaltar que o condicionamento beneficiou a germinação aos sete dias após a semeadura, independentemente da qualidade do lote e os efeitos positivos do tratamento foram mantidos mesmo com o armazenamento das sementes em câmara fria. Caldeira et al. (2014) e Oliveira (2016) também verificaram os benefícios do condicionamento na primeira contagem de germinação de sementes de tabaco.

**Figura 2** Primeira contagem de germinação (PCG - %) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionados fisiologicamente e armazenados em câmara fria. A) Lote 1 B) Lote 2 C) Lote 3



Houve interação significativa entre agente condicionante e tempo de armazenamento nos resultados do Índice de Velocidade de Germinação (IVG) para os lotes de sementes 1 e 3. No IVG do lote 2, os fatores atuaram de forma isolada.

Logo após o condicionamento fisiológico, foram observados incrementos no índice de velocidade de germinação das sementes condicionadas com água e nitrato de potássio do lote 1 em relação aos demais tratamentos (Tabela 4A). Este resultado corrobora com o de Oliveira (2016), que destacou a água e o nitrato de potássio como os melhores agentes condicionantes para diferentes lotes de sementes de tabaco do grupo varietal Virgínia. O uso do nitrato de potássio é conhecido há vários anos como método químico adequado para melhorar a germinação de várias espécies; de acordo com Delac et al. (2018), o  $KNO_3$  produz um equilíbrio hormonal e reduz a concentração de substâncias que inibem a germinação.

Com o armazenamento das sementes do lote 1 em câmara fria, a velocidade de germinação das sementes condicionadas não se diferenciou das sementes da testemunha, até o décimo segundo mês. Na avaliação realizada aos dezesseis meses de armazenamento, verificou-se que sementes condicionadas tinham maior velocidade de germinação que a testemunha, evidenciando que os efeitos benéficos do tratamento foram mantidos durante o período de armazenamento das sementes.

**Tabela 4** Índice de velocidade de germinação de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionados fisiologicamente e armazenados em câmara fria.

A) Lote 1 B) Lote 3

Agente condicionante	A- Lote 1				
	Tempo de armazenamento (meses)				
	0	4	8	12	16
Água	9,59 a	7,73 a	8,41 a	8,33 a	8,29 a
Hipoclorito de sódio	8,17 b	7,78 a	8,19 a	7,90 a	8,58 a
Nitrato de potássio	9,03 a	8,23 a	8,77 a	8,25 a	8,32 a
Espermidina	8,72 b	8,19 a	8,77 a	6,62 b	8,63 a
Testemunha	8,59 b	7,86 a	8,17 a	7,73 a	7,77 b
CV (%) = 5,07					
Agente condicionante	B- Lote 3				
	Tempo de armazenamento (meses)				
	0	4	8	12	16
Água	6,51 a	7,18 a	7,31 a	6,70 a	6,28 a
Hipoclorito de sódio	5,79 b	7,11 a	6,06 b	6,07 a	6,09 a
Nitrato de potássio	6,46 a	7,35 a	6,35 b	5,99 a	6,58 a
Espermidina	5,86 b	7,65 a	6,54 b	5,99 a	7,04 a
Testemunha	5,94 b	6,39 b	6,25 b	6,30 a	6,25 a
CV (%) = 6,12					

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

O índice de velocidade de germinação das sementes de tabaco do lote 3, condicionadas com água e nitrato de potássio também foi superior ao da testemunha e das sementes condicionadas com hipoclorito de sódio e espermidina, logo após o condicionamento (Tabela 4B). Aos quatro meses de armazenamento, verificou-se que o IVG das sementes condicionadas foi maior do que os da testemunha, independentemente do agente condicionante utilizado. No oitavo mês, destacou-se a velocidade de germinação das sementes condicionadas com água em relação aos demais tratamentos e nos demais tempos de armazenamento não houve diferença no índice de velocidade de germinação das sementes condicionadas e da testemunha. Segundo Pereira et al. (2012), sementes que apresentam maior IVG são mais vigorosas. De acordo com estes mesmos autores, o condicionamento fisiológico promove efeitos mais significativos em lotes de menor vigor, como é o caso do lote 3. O que se observou nas sementes do lote 3 foi que, apesar do benefício do condicionamento ser evidente no índice de velocidade de germinação até o oitavo mês de conservação das sementes, ele não foi mantido por todo o armazenamento, como no caso do lote 1, que apresentava maior qualidade fisiológica inicial. Mas, o tratamento também não foi prejudicial à qualidade das sementes do lote 3 com o prolongamento do armazenamento, mantendo a qualidade das sementes condicionadas igual à da testemunha.

Incrementos do índice de velocidade de germinação das sementes do lote 2 foram observados no condicionamento realizado com nitrato de potássio e espermidina (Tabela 5). Na literatura existem diversos relatos de aumento no índice de velocidade de germinação após o uso destes agentes condicionantes para sementes de arroz (HUSSAIN et al., 2015; WANG et al., 2018), tomate (AFZAL et al., 2009; LARA et al., 2014), pimenta (BATISTA et al., 2015) e tabaco (OLIVEIRA, 2016).

**Tabela 5** Índice de velocidade de germinação de sementes de tabaco, lote 2, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente.

Agente Condicionante	IVG
Água	8,30 b
Hipoclorito de sódio	8,17 b
Nitrato de Potássio	8,61 a
Espermidina	8,60 a
Testemunha	8,07 b
CV (%) = 5,14	

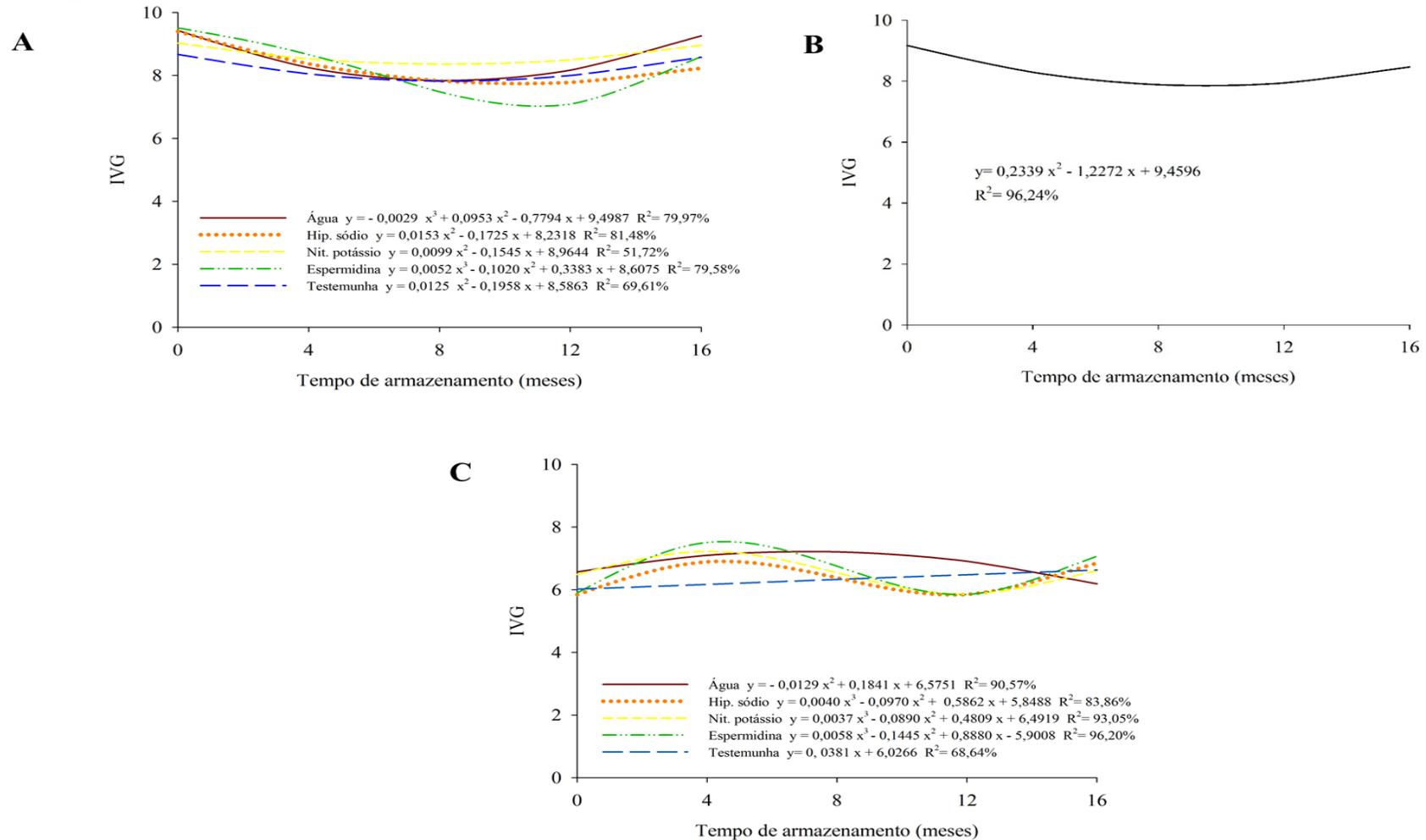
As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Logo após o condicionamento das sementes do lote 1, a maior velocidade de germinação foi observada em sementes condicionadas com espermidina e a menor para a testemunha (Figura 3A). Com o armazenamento das sementes, houve redução da velocidade de germinação das sementes de todos os tratamentos, de forma mais evidente para as sementes condicionadas com hipoclorito de sódio, espermidina e água, até o décimo mês. Após esse período, independentemente do condicionamento, houve aumento do índice. Uma possível explicação para esse aumento no IVG após o décimo mês de armazenamento das sementes é a maior síntese de giberelinas pelas sementes. Caldeira et al. (2016) sugerem que o armazenamento das sementes de tabaco à baixa temperatura e no escuro pode favorecer o aumento da síntese de giberelinas. Segundo os mesmos autores, em espécies fotoblásticas positivas, como o tabaco, a giberelina pode substituir a luz na germinação das sementes, o aumento do seu nível durante o armazenamento pode ter favorecido a germinação e consequentemente o índice de velocidade. Lutts et al. (2016) relatam que o condicionamento pode levar a mudanças na biossíntese e sinalização de hormônios, principalmente ácido abscísico, giberelinas e etileno.

O maior índice de velocidade de germinação das sementes de tabaco do lote 2 foi expresso logo após o condicionamento fisiológico das sementes (Figura 3B). Com o armazenamento, o índice de velocidade de germinação caiu até o décimo mês. Após esse período, a velocidade de germinação das sementes voltou a crescer até o décimo sexto mês de armazenamento das sementes. O maior IVG logo após o condicionamento era um resultado esperado, uma vez que um dos benefícios mais evidentes do tratamento inclui o estímulo à velocidade de germinação.

Para o lote 3, logo após o condicionamento fisiológico das sementes, constatou-se maior índice de velocidade de germinação para sementes condicionadas com água e nitrato de potássio (Figura 3C). Com o início do armazenamento, o IVG das sementes de todos os tratamentos teve um aumento que permaneceu até aproximadamente o sétimo mês para as sementes condicionadas com hipoclorito de sódio, nitrato de potássio e espermidina, o nono mês para as sementes condicionadas com água e até o décimo sexto mês para a testemunha. Após esse período, o IVG das sementes condicionadas com hipoclorito, nitrato e espermidina decresceu e tornou-se menor que o da testemunha. Apenas a partir do décimo terceiro mês, constatou-se recuperação do IVG das sementes condicionadas igualando-se ao da testemunha no final do armazenamento. Sementes condicionadas com água tiveram queda constante do índice de velocidade de germinação a partir do nono mês de armazenamento.

**Figura 3** Índice de velocidade de germinação (IVG) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria. A) Lote 1 B) Lote 2 C) Lote 3



Por meio da análise de variância, verificou-se que a interação dupla entre agente condicionante e o tempo de armazenamento foi significativa para todos os lotes de sementes de tabaco em relação a variável emergência inicial.

Os benefícios do condicionamento fisiológico foram evidenciados nos resultados de emergência inicial de plântulas, logo após o condicionamento e aos quatro meses de armazenamento das sementes do lote 1 (Tabela 6A). Logo após o condicionamento, os maiores estandes iniciais foram observados para as sementes condicionadas com água (91%), nitrato de potássio (94%) e espermidina (89%). No quarto mês de armazenamento das sementes, independentemente do agente condicionante utilizado, a emergência inicial das sementes condicionadas foi maior do que a da testemunha. Nos demais períodos de armazenamento, o estande inicial de plântulas provenientes das sementes condicionadas não diferiu do estande da testemunha.

Para a emergência inicial de plântulas do lote 2, verificou-se que até o quarto mês de armazenamento não houve diferença entre o estande oriundo das sementes condicionadas em relação ao da testemunha (Tabela 6B). No oitavo mês de armazenamento, o estande inicial das sementes condicionadas com hipoclorito de sódio, nitrato de potássio e espermidina foi maior que o estande dos demais tratamentos. A porcentagem de plântulas emergidas, aos sete dias após a semeadura, das sementes condicionadas com água aos doze meses e com hipoclorito de sódio aos doze e dezesseis meses de armazenamento foi menor do que das demais. Por meio dos resultados pode-se inferir que o prolongamento do armazenamento para as sementes condicionadas com hipoclorito de sódio foi bastante prejudicial para o lote 2, reduzindo o estande inicial de plântulas em aproximadamente 17%. Esses resultados corroboram com os obtidos por Ferreira et al. (1999), que observaram que a ação do hipoclorito de sódio na germinação das sementes de *Brassica chinensis* foi prejudicial, provocando atrasos na germinação e redução de 12% na porcentagem de plântulas.

Para o lote 3, em relação a emergência inicial, não houve diferença estatística entre as sementes condicionadas e a testemunha logo após o condicionamento e aos quatro meses de armazenamento (Tabela 6C). A partir do oitavo mês de conservação das sementes foi constatado efeito positivo do condicionamento sobre a emergência inicial, independentemente do agente condicionante. Aos doze e dezesseis meses de armazenamento, o maior estande inicial de plântulas foi verificado para as sementes condicionadas com água, nitrato de potássio e espermidina.

Pelos resultados obtidos para os três lotes, pode-se inferir que o condicionamento fisiológico teve efeito positivo na emergência inicial de plântulas. De acordo com Batista et al. (2015), pelo fato de o teste de emergência ser conduzido em condições ambientais adversas em comparação ao de germinação, o nível de vigor das sementes ou os métodos que possibilitem a melhor expressão do vigor influênciam no resultado.

**Tabela 6** Emergência inicial (%) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionados fisiologicamente e armazenados em câmara fria.

A) Lote 1 B) Lote 2 C) Lote 3

A- Lote 1					
Agente condicionante	Tempo de armazenamento (meses)				
	0	4	8	12	16
Água	91 a	93 a	84 a	88 a	89 a
Hipoclorito de sódio	82 b	87 a	93 a	93 a	92 a
Nitrato de potássio	94 a	87 a	94 a	92 a	92 a
Espermidina	89 a	86 a	88 a	92 a	88 a
Testemunha	84 b	78 b	88 a	86 a	89 a
CV (%) = 6,49					
B- Lote 2					
Agente condicionante	Tempo de armazenamento (meses)				
	0	4	8	12	16
Água	87 a	86 a	85 b	71 b	89 a
Hipoclorito de sódio	91 a	84 a	94 a	76 b	78 b
Nitrato de potássio	96 a	84 a	94 a	90 a	94 a
Espermidina	98 a	95 a	95 a	92 a	93 a
Testemunha	89 a	88 a	88 b	90 a	90 a
CV (%) = 7,68					
C- Lote 3					
Agente condicionante	Tempo de armazenamento (meses)				
	0	4	8	12	16
Água	68 a	58 a	67 a	72 a	69 a
Hipoclorito de sódio	67 a	60 a	59 a	45 b	27 b
Nitrato de potássio	68 a	58 a	60 a	64 a	60 a
Espermidina	67 a	70 a	51 a	41 b	61 a
Testemunha	53 a	68 a	30 b	46 b	26 b
CV (%) = 16,95					

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Durante os dezesseis meses, a emergência inicial de plântulas provenientes das sementes condicionadas foi maior do que a da testemunha do lote 1 (Figura 4A). O estande inicial de plântulas das sementes condicionadas com água, nitrato de potássio e espermidina

se manteve durante todo o armazenamento, enquanto o estande inicial das sementes condicionadas com hipoclorito de sódio e a testemunha decresceu com o aumento no tempo de armazenamento.

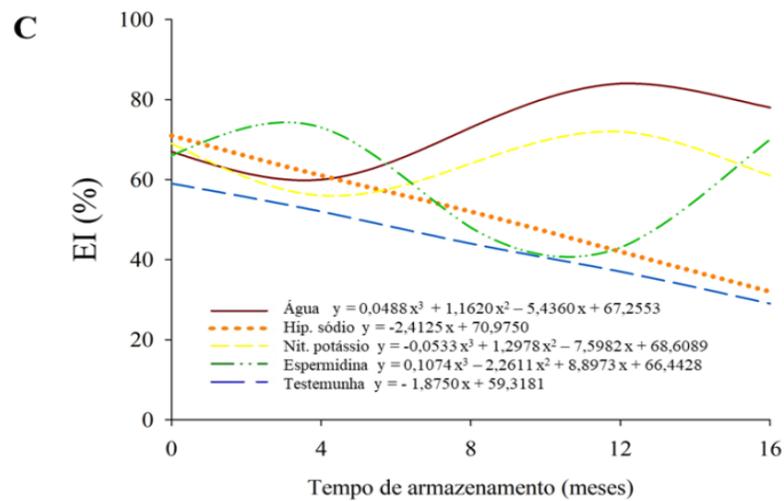
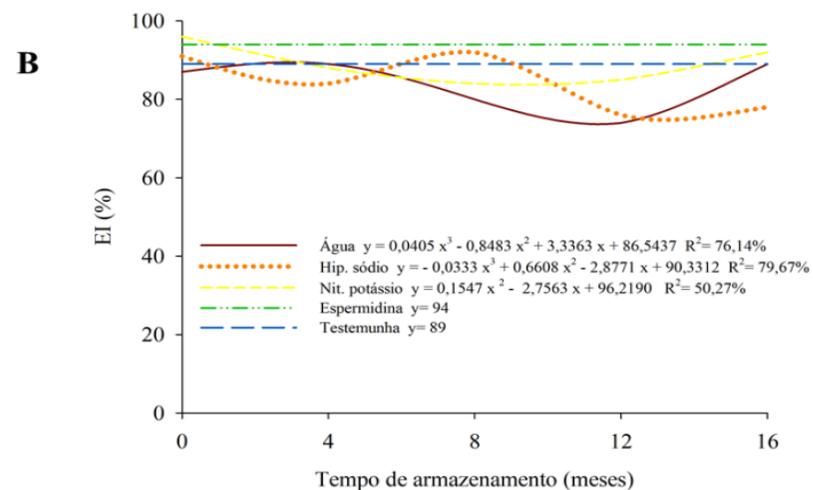
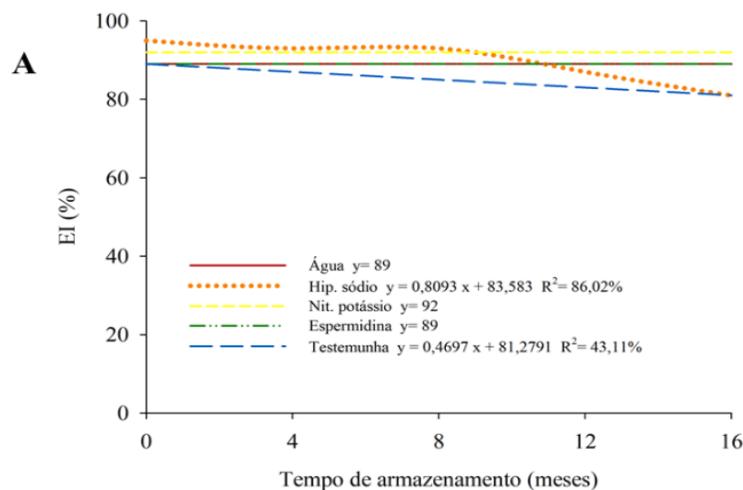
Logo após o condicionamento fisiológico das sementes do lote 2, o maior estande inicial foi observado para as sementes condicionadas com nitrato de potássio, seguido pelo estande oriundo das sementes condicionadas com espermidina (Figura 4B). Com o armazenamento das sementes, verificou-se uma queda na emergência inicial das sementes condicionadas com nitrato de potássio, assim como foram constatadas quedas mais expressivas no estande inicial das sementes condicionadas com água e hipoclorito de sódio em determinados tempos de armazenamento. Apenas para as sementes condicionadas com espermidina e para a testemunha não houve variação da porcentagem de emergência inicial ao longo dos dezesseis meses de conservação. A espermidina é apontada em pesquisas como um agente condicionante de grande potencial, justamente por permitir que sementes condicionadas possam ser armazenadas por períodos mais longos sem perder sua qualidade (AFZAL et al., 2009; HUSSAIN et al., 2015; WANG et al., 2018).

As sementes condicionadas do lote 3 deram origem a um maior estande inicial de plântulas do que o observado em sementes da testemunha, independentemente do tempo de armazenamento (Figura 4C). Pode-se inferir, com este resultado, que o condicionamento promove vantagens no estabelecimento rápido das plântulas no campo, principalmente em lotes de menor qualidade.

Por meio da Figura 4C observou-se, também, grande variação na emergência inicial de plântulas provenientes de sementes condicionadas com água, nitrato de potássio e espermidina nos diferentes tempos de armazenamento das sementes. As sementes condicionadas com hipoclorito de sódio e a testemunha deste lote apresentaram queda acentuada e constante da porcentagem de emergência inicial ao longo do armazenamento.

Observou-se, para os três lotes, que o condicionamento fisiológico das sementes de tabaco com o hipoclorito de sódio tem efeitos negativos na emergência inicial das plântulas com o aumento do tempo de armazenamento das sementes. Segundo Rodrigues et al. (2012), em algumas espécies, o tratamento com hipoclorito de sódio pode estimular a germinação, mas em tratamento prolongado a germinação é reduzida, provavelmente devido ao efeito tóxico deste agente.

**Figura 4** Emergência inicial (EI - %) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionados fisiologicamente e armazenados em câmara fria. A) Lote 1 B) Lote 2 C) Lote 3



O tempo de armazenamento influenciou no resultado de emergência final de plântulas provenientes das sementes dos lotes 1 e 3. O tempo de armazenamento e o agente condicionante utilizado não tiveram efeito sobre os resultados de emergência final do lote 2.

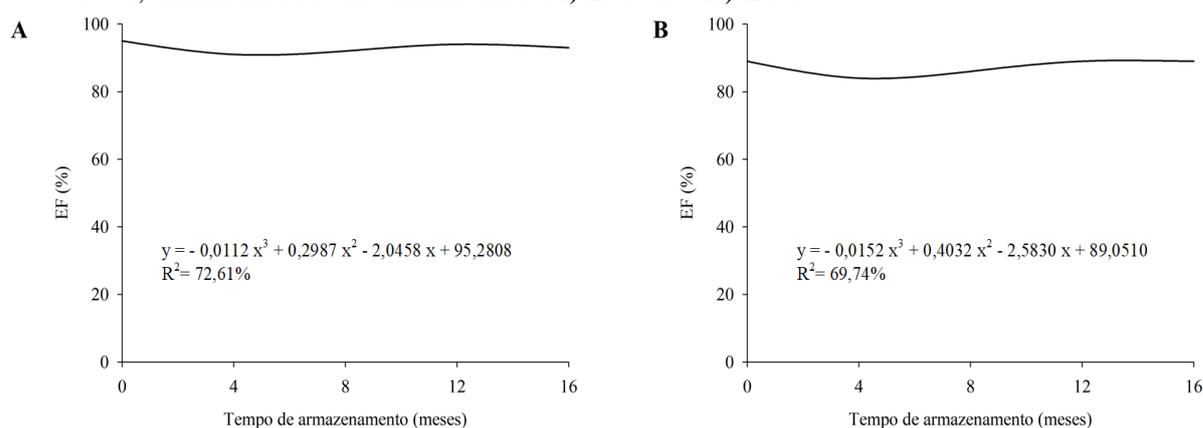
Constatou-se, para o lote 1, que a maior porcentagem de emergência de plântulas ocorreu logo após o condicionamento (Figura 5A). Ao longo do armazenamento, as variações que ocorreram entre uma época e outra no estande final foram pequenas.

Não houve diferença estatística para os resultados de emergência final de plântulas do lote 2, e a média de emergência foi de 94% (dados não mostrados).

Não houve benefício do condicionamento sobre a emergência final de plântulas de tabaco do lote 3 (Figura 5B). A emergência final variou de forma muito sutil, apenas em função do tempo de armazenamento, sendo que os maiores valores de emergência foram observados logo após o condicionamento fisiológico e aos doze e dezesseis meses de armazenamento das sementes.

Esse resultado de emergência final para os três lotes é indicativo de que, em relação à testemunha, embora não tenham ocorrido incrementos na emergência final de plântulas, após o condicionamento, também não houve prejuízos ao estande avaliado no décimo sexto dia após a semeadura, mesmo após o armazenamento das sementes condicionadas.

**Figura 5** Emergência final (EF - %) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, armazenados em câmara fria. A) Lote 1 B) Lote 3



A interação dupla entre agente condicionante e tempo de armazenamento foi significativa para os três lotes de sementes de tabaco, em relação ao índice de velocidade de emergência.

Não houve diferença no índice de velocidade de emergência das sementes condicionadas do lote 1 quando comparado ao da testemunha em três tempos de avaliação

(Tabela 7A). Sementes condicionadas não diferiram entre si e exibiram a máxima emergência em menor tempo do que a testemunha na avaliação realizada no quarto mês de armazenamento. No oitavo mês de armazenamento, a maior velocidade de germinação foi observada para as sementes condicionadas com nitrato de potássio, espermidina e para a testemunha.

Quando se avaliou o índice de velocidade de emergência do lote 2, constatou-se diferenças significativas da média das sementes condicionadas em relação à testemunha (Tabela 7B), logo após o condicionamento e no oitavo mês de armazenamento das sementes. As sementes condicionadas apresentaram maior velocidade de emergência do que a testemunha, com destaque para as condicionadas com nitrato de potássio e espermidina. Nos demais tempos de armazenamento, não houve diferenças no IVE das sementes condicionadas e da testemunha, com exceção da velocidade de emergência das sementes condicionadas com hipoclorito de sódio que foi menor que a dos demais tratamentos aos dezesseis meses. Incrementos na velocidade de emergência após o condicionamento fisiológico das sementes têm sido bastante relatados na literatura para diferentes espécies (ARMONDES et al., 2016; BLUNK et al., 2019; HUSSAIN et al., 2015; REIS et al., 2013; WANG et al., 2018; YAN et al., 2017), entre elas o tabaco (CALDEIRA et al., 2014).

Não houve diferença no índice de velocidade de emergência das sementes condicionadas e da testemunha do lote 3 até o oitavo mês de armazenamento (Tabela 7C). Aos doze meses, verificou-se que o IVE das sementes condicionadas com água e nitrato de potássio foi superior ao dos demais tratamentos. No décimo sexto mês de conservação, a velocidade de emergência das sementes condicionadas foi maior do que a da testemunha, independente do agente condicionante utilizado.

Em lotes de alta qualidade, como no caso dos lotes 1 e 2 utilizados na pesquisa, é difícil verificar o benefício do tratamento de forma clara, uma vez que as sementes desses lotes já apresentam germinação rápida e uniforme. Mas no lote de menor qualidade (lote 3), o condicionamento fisiológico proporcionou maior velocidade de emergência de plântulas principalmente com o prolongamento do tempo de armazenamento das sementes em câmara fria.

**Tabela 7** Índice de velocidade de emergência de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionados fisiologicamente e armazenados em câmara fria. A) Lote1 B) Lote 2 C) Lote 3

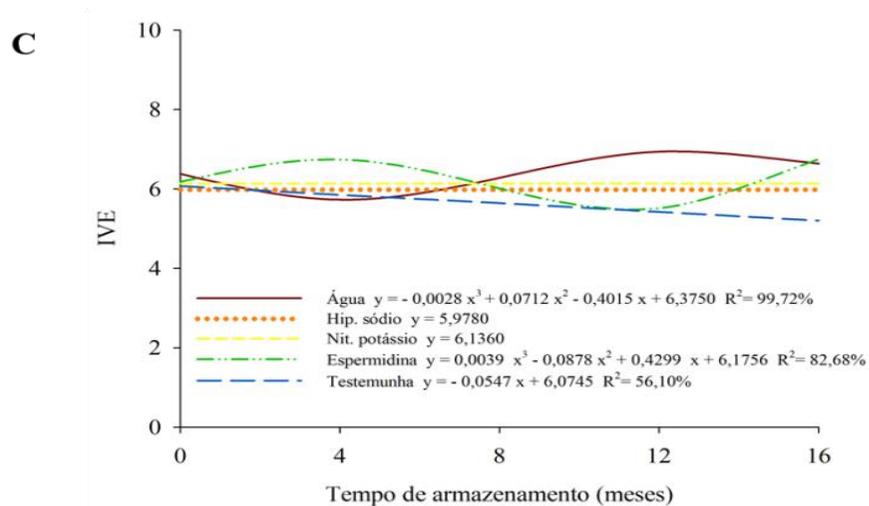
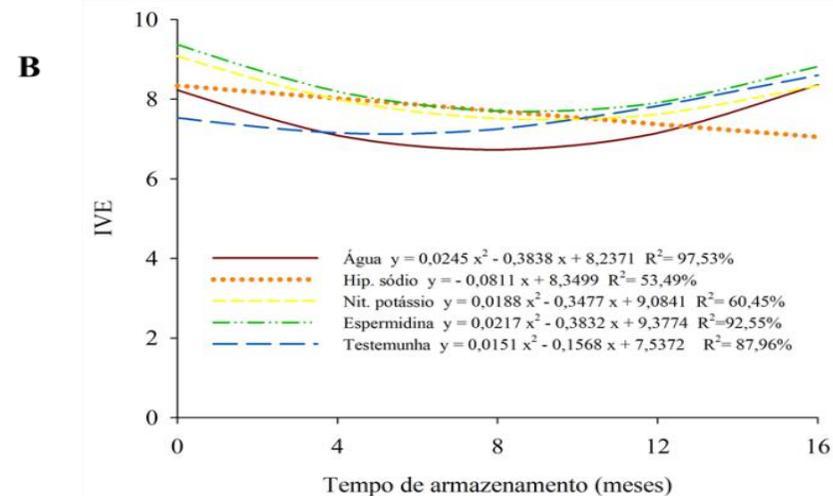
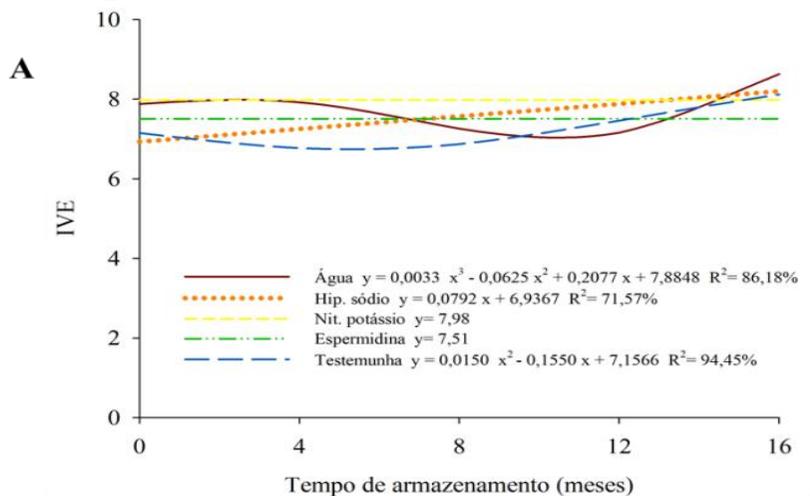
A- Lote 1					
Agente condicionante	Tempo de armazenamento (meses)				
	0	4	8	12	16
Água	7,81 a	8,20 a	6,85 b	7,43 a	7,87 a
Hipoclorito de sódio	6,54 a	7,70 a	7,70 a	7,81 a	7,08 a
Nitrato de potássio	7,53 a	7,70 a	8,72 a	7,72 a	7,26 a
Espermidina	7,30 a	7,51 a	7,20 a	7,68 a	7,85 a
Testemunha	7,20 a	6,60 b	7,12 a	7,30 a	7,55 a
CV (%) = 7,71					
B- Lote 2					
Agente condicionante	Tempo de armazenamento (meses)				
	0	4	8	12	16
Água	8,23 b	7,03 a	6,89 b	7,00 a	8,41 a
Hipoclorito de sódio	8,42 b	7,43 a	8,40 a	7,43 a	6,80 b
Nitrato de potássio	9,20 a	7,51 a	8,24 a	7,12 a	8,47 a
Espermidina	9,45 a	7,94 a	7,97 a	7,80 a	8,83 a
Testemunha	7,36 c	7,50 a	7,24 b	7,52 a	8,05 a
CV (%) = 7,17					
C- Lote 3					
Agente condicionante	Tempo de armazenamento (meses)				
	0	4	8	12	16
Água	6,38 a	5,70 a	6,31 a	6,92 a	6,64 a
Hipoclorito de sódio	6,41 a	6,21 a	5,82 a	5,32 b	6,07 a
Nitrato de potássio	6,28 a	5,80 a	5,82 a	6,51 a	6,28 a
Espermidina	6,23 a	6,51 a	6,35 a	5,28 b	6,80 a
Testemunha	5,58 a	6,21 a	5,49 a	5,67 b	4,91 b
CV (%) = 9,80					

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

O índice de velocidade de emergência das sementes condicionadas com espermidina e nitrato de potássio do lote 1 manteve-se constante durante os dezesseis meses de armazenamento (Figura 6A). Para os demais tratamentos, a velocidade de emergência das sementes sofreu influência do tempo de armazenamento. Constatou-se maiores IVE das sementes condicionadas com água e nitrato de potássio após o condicionamento, que se manteve até o décimo primeiro mês para o tratamento com  $\text{KNO}_3$ . Reis et al. (2013) comentam que a vantagem do condicionamento com nitrato de potássio pode estar relacionada ao fato de este atuar como fonte adicional de potássio e nitrogênio durante a germinação das sementes.

O incremento no índice de velocidade de emergência das sementes condicionadas do lote 2, independentemente do agente condicionante utilizado, ficou evidente logo após o condicionamento fisiológico (Figura 6B). Segundo Marcos Filho (2015), o condicionamento estabelece condições favoráveis à mobilização e translocação de reservas para os pontos de crescimento embrionário e sua devida assimilação. Esse processo resulta no desenvolvimento embrionário praticamente “instantâneo”, assim que o bloqueio da continuidade da embebição é removido e conseqüentemente tem-se a aceleração da germinação e/ou emergência. Após o armazenamento das sementes, o índice de velocidade de emergência de todos os tratamentos sofreu uma queda até aproximadamente o décimo mês, de forma mais marcante para as sementes condicionadas com água. Após esse período, o IVE da maioria das sementes aumentou até o décimo sexto mês de conservação. Apenas a velocidade de emergência das sementes condicionadas com hipoclorito de sódio diminuiu linearmente durante todo o armazenamento.

**Figura 6** Índice de velocidade de emergência (IVE) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionados fisiologicamente e armazenados em câmara fria. A) Lote 1 B) Lote 2 C) Lote 3



Logo após o condicionamento fisiológico das sementes de tabaco do lote 3, constatou-se que o índice de velocidade de emergência das sementes condicionadas e da testemunha estava muito próximo (Figura 6C). Mas, com o armazenamento das sementes, o IVE das sementes condicionadas com água diminuiu até o quarto mês e depois voltou a aumentar até o décimo terceiro mês, onde atingiu o seu máximo. Já o IVE das sementes condicionadas com espermidina aumentou até o quarto mês de armazenamento, com posterior queda até o décimo segundo mês e recuperação ao final do tempo de conservação das sementes. O índice de velocidade de emergência das sementes condicionadas com hipoclorito de sódio e nitrato de potássio não sofreu alteração durante todo o armazenamento. Sementes sem condicionamento foram as únicas que tiveram queda constante no IVE com o aumento do tempo de armazenamento.

Por meio da análise de variância, verificou-se que, para a variável condutividade elétrica, os fatores tempo de armazenamento e agente condicionante atuaram nos resultados de forma isolada para os lotes de sementes 1 e 2. A interação dupla entre os fatores só foi significativa para os resultados de condutividade elétrica do lote 3.

Para a condutividade elétrica das sementes do lote 1 (Tabela 8A), quando se comparou a média da testemunha com a média dos demais tratamentos, constatou-se expressiva redução da quantidade de exsudatos das sementes condicionadas para a água de embebição, podendo-se inferir que houve reorganização de membranas das sementes submetidas ao condicionamento fisiológico.

**Tabela 8** Condutividade elétrica de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente. A) Lote 1 B) Lote 2

A- Lote 1	
Agente Condicionante	Condutividade elétrica ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ )
Água	398,89 a
Hipoclorito de sódio	581,74 b
Nitrato de Potássio	745,08 c
Espermidina	395,06 a
Testemunha	1166,10 d
CV (%) = 15,41	
B- Lote 2	
Agente Condicionante	Condutividade elétrica ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ )
Água	417,66 a
Hipoclorito de sódio	580,00 b
Nitrato de Potássio	756,35 c
Espermidina	325,80 a
Testemunha	1342,27 d
CV (%) = 17,28	

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

De acordo com os dados encontrados para a condutividade elétrica do lote 2, a testemunha apresentou os maiores valores e as sementes condicionadas com água e espermidina apresentaram os menores (Tabela 8B). Observou-se, também, que entre os agentes condicionantes, a maior condutividade elétrica foi das sementes condicionadas com nitrato de potássio. Esse resultado se deve à absorção de  $K^+$  e  $NO_3^-$  durante o condicionamento em nitrato de potássio e posterior liberação desses íons para água (REIS et al., 2013).

Como observado para ambos os lotes, sementes condicionadas liberam menos exsudatos que a testemunha, independentemente do agente condicionante utilizado, devido principalmente à reestruturação do sistema de membranas dessas sementes com o condicionamento (NAWAZ et al., 2017). Com a reestruturação do sistema de membranas, durante o condicionamento ocorre a manutenção da permeabilidade seletiva, as membranas estruturadas não permitem a entrada rápida de água e nem a liberação excessiva de exsudatos (MARCOS FILHO, 2015).

Com relação à condutividade elétrica das sementes do lote 3, a testemunha apresentou o maior valor, independentemente do tempo de armazenamento e as sementes condicionadas com água e espermidina os menores (Tabela 9). Os maiores valores encontrados na condutividade elétrica para a testemunha, indicam a ocorrência de danos ao sistema de membranas das sementes (REIS et al., 2013), enquanto os menores valores de condutividade observados para as sementes condicionadas sugerem a reorganização do sistema de membranas, ocasionando menores conteúdos lixiviados dentro da água de embebição.

Constatou-se, ainda na Tabela 9, que entre as sementes condicionadas, a maior condutividade elétrica foi das sementes condicionadas com nitrato de potássio em todos os dezesseis meses de conservação. Este resultado pode estar associado à liberação de íons das soluções salinas utilizadas para o condicionamento, na água de solução de embebição.

**Tabela 9** Condutividade elétrica de sementes de tabaco, lote 3, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria.

Agente condicionante	Época de armazenamento (meses)				
	0	4	8	12	16
Água	567,07 a	482,50 a	199,83 a	369,66 a	199,04 a
Hipoclorito de sódio	570,03 a	731,00 a	446,26 b	575,25 b	481,25 b
Nitrato de potássio	831,95 b	1026,50 b	637,91 b	583,58 b	736,88 c
Espermidina	525,47 a	598,00 a	224,28 a	233,48 a	222,23 a
Testemunha	1279,67 d	1437,68 c	1457,13 c	911,09 c	1437,00 d
CV (%) = 17,73					

As médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

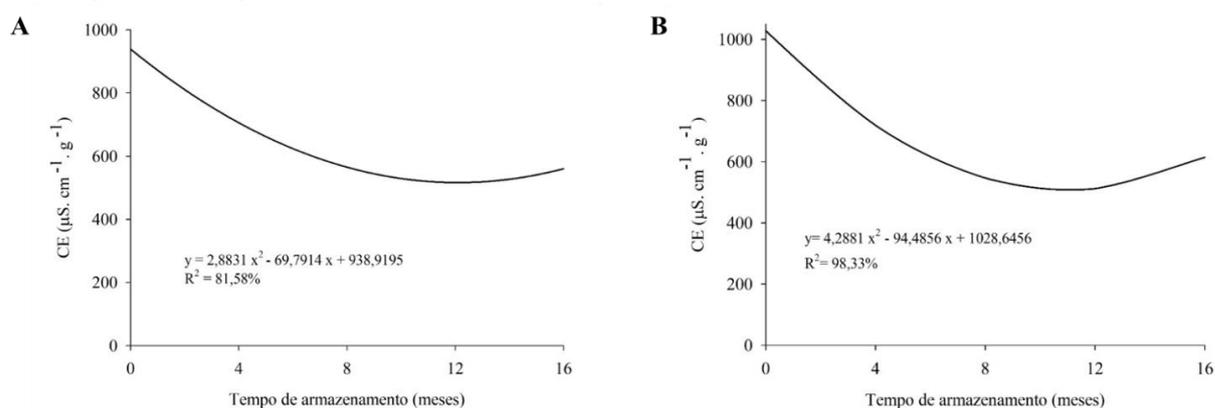
Verificou-se que as sementes do lote 1 lixiviaram mais exsudatos para a água de embebição logo após o condicionamento fisiológico do que durante o armazenamento (Figura 7A).

Para o lote 2, a maior média de condutividade elétrica também foi observada logo após o condicionamento das sementes (Figura 7B). Com o armazenamento das sementes, houve uma queda no valor da condutividade até o décimo segundo mês e depois aos dezesseis meses verificou-se um pequeno aumento neste valor.

Os altos valores de condutividade observados logo após o condicionamento, para os dois lotes, podem estar relacionados à aderência do agente condicionante aos tecidos externos das sementes, principalmente as soluções salinas. Segundo Lopes et al. (2011), os íons dissociados das soluções salinas podem penetrar nos tecidos das sementes e posteriormente serem liberados na solução de embebição, contribuindo para alterar os resultados.

**Figura 7** Condutividade elétrica (CE) de lotes de sementes de tabaco, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria.

A) Lote 1 B) Lote 2

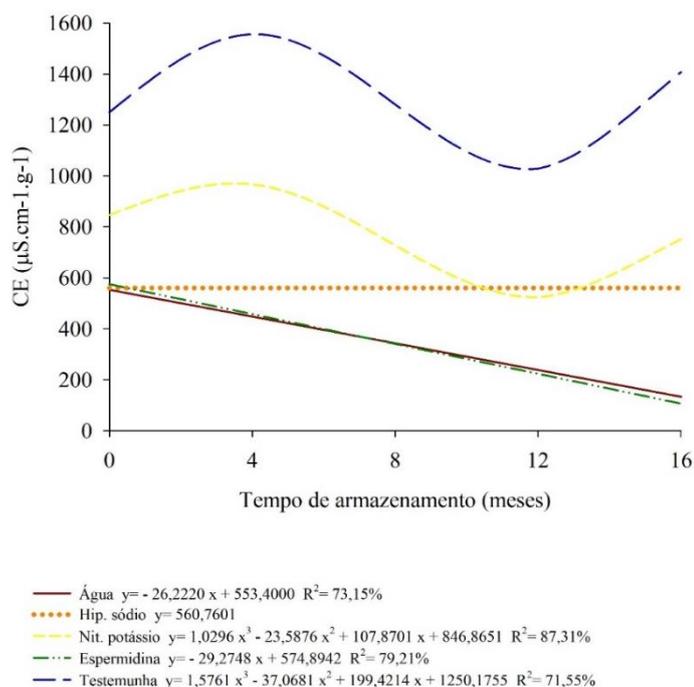


O maior valor de condutividade elétrica do lote 3 foi constatado para as sementes não condicionadas, independentemente do tempo de armazenamento, e os menores valores foram verificados para as sementes condicionadas (Figura 8). Possivelmente esse resultado se deve à reestruturação do sistema de membranas, ocasionado pelo condicionamento, mas Balbinot e Lopes (2006) sugerem também que possa ocorrer lixiviação de solutos durante o tratamento, contribuindo para a redução dos valores de condutividade das sementes condicionadas.

Ainda na Figura 8, constatou-se comportamento semelhante dos valores de condutividade das sementes condicionadas com nitrato de potássio e da testemunha, ao longo do armazenamento, com aumento até o quarto mês, redução até o décimo segundo mês e posterior recuperação até o final do armazenamento. Já sementes condicionadas com água e espermidina apresentaram redução linear dos valores de condutividade elétrica durante os

dezesesseis meses de conservação e as sementes condicionadas com hipoclorito de sódio mantiveram seu valor de condutividade constante durante todo o armazenamento.

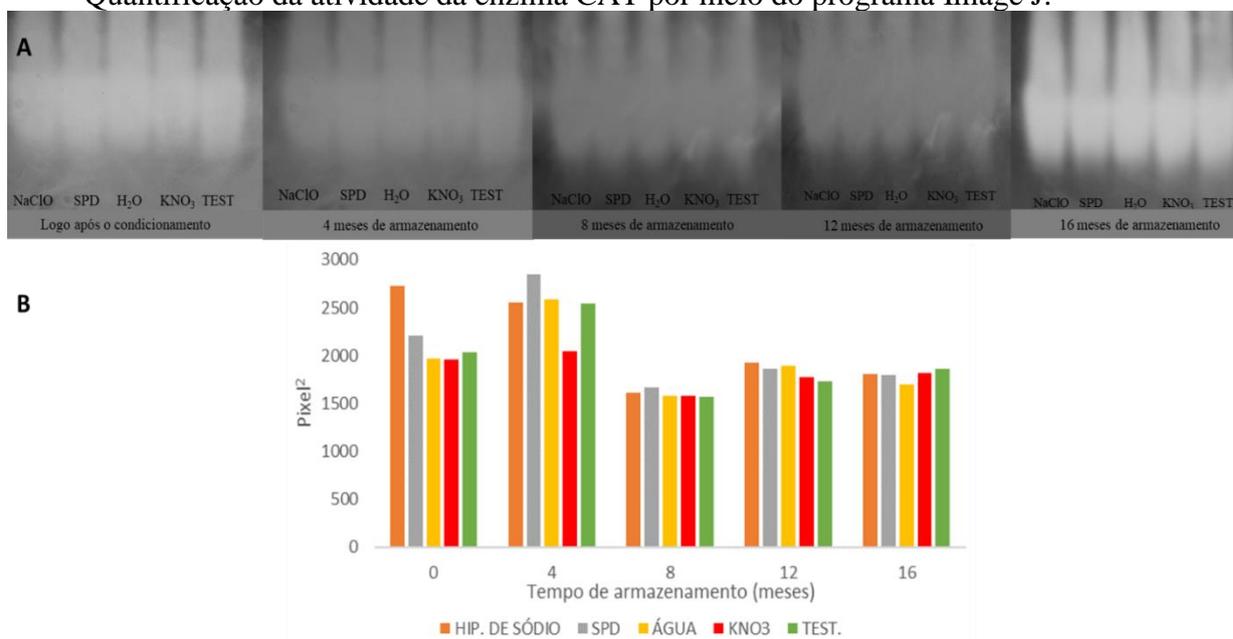
**Figura 8** Condutividade elétrica (CE) de sementes de tabaco, lote 3, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria.



A análise enzimática das sementes dos três lotes foi realizada por meio dos géis obtidos após a corrida eletroforética e por gráficos gerados por meio do programa Image J.

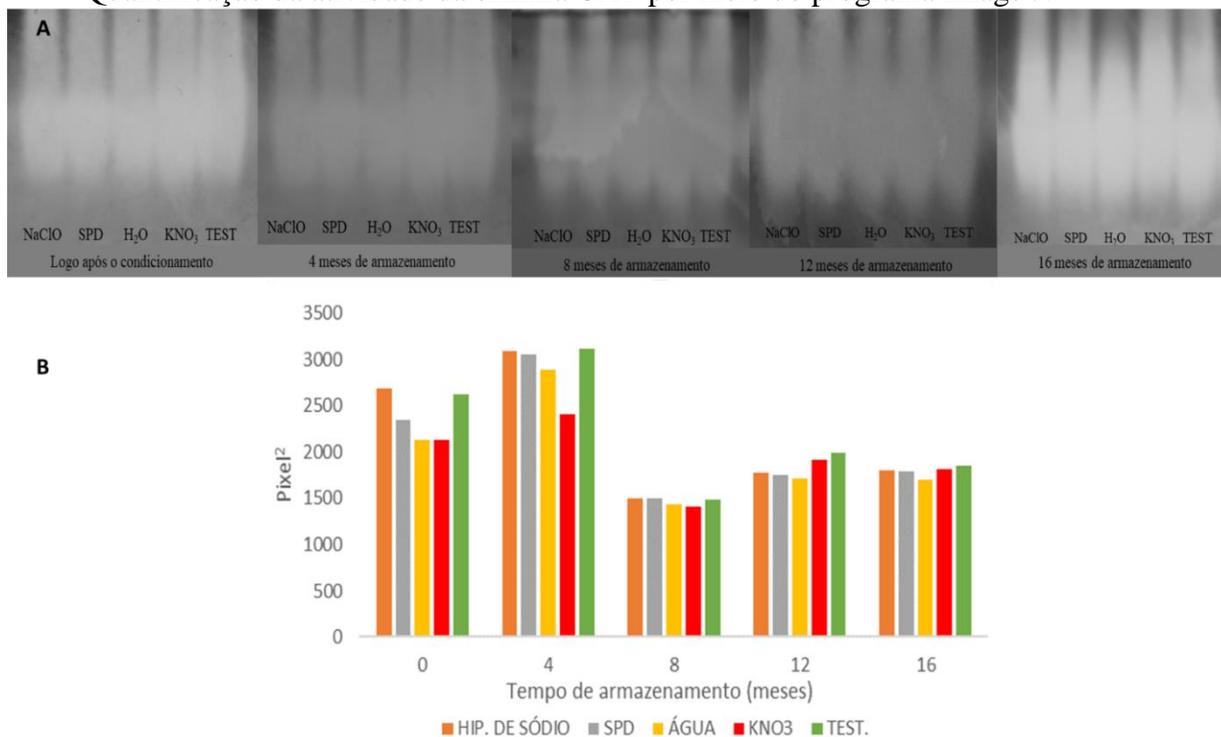
A maior expressão da enzima catalase (CAT) para sementes do lote 1 foi observada logo após o condicionamento e no quarto mês de armazenamento das sementes (Figura 9), principalmente para as sementes condicionadas com água, hipoclorito de sódio e espermidina. Nos demais tempos de armazenamento, foi observada similaridade da expressão da enzima catalase nas sementes condicionadas e na testemunha.

**Figura 9** Expressão da enzima catalase (CAT) em sementes de tabaco, lote 1, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria. Agentes condicionantes: NaClO (hipoclorito de sódio); SPD (espermidina); H<sub>2</sub>O (água); KNO<sub>3</sub> (nitrato de potássio) e TEST. (testemunha – sementes não condicionadas). A) Atividade da enzima CAT em sementes de tabaco, logo após o condicionamento fisiológico e nos diferentes tempos de armazenamento B) Quantificação da atividade da enzima CAT por meio do programa Image J.



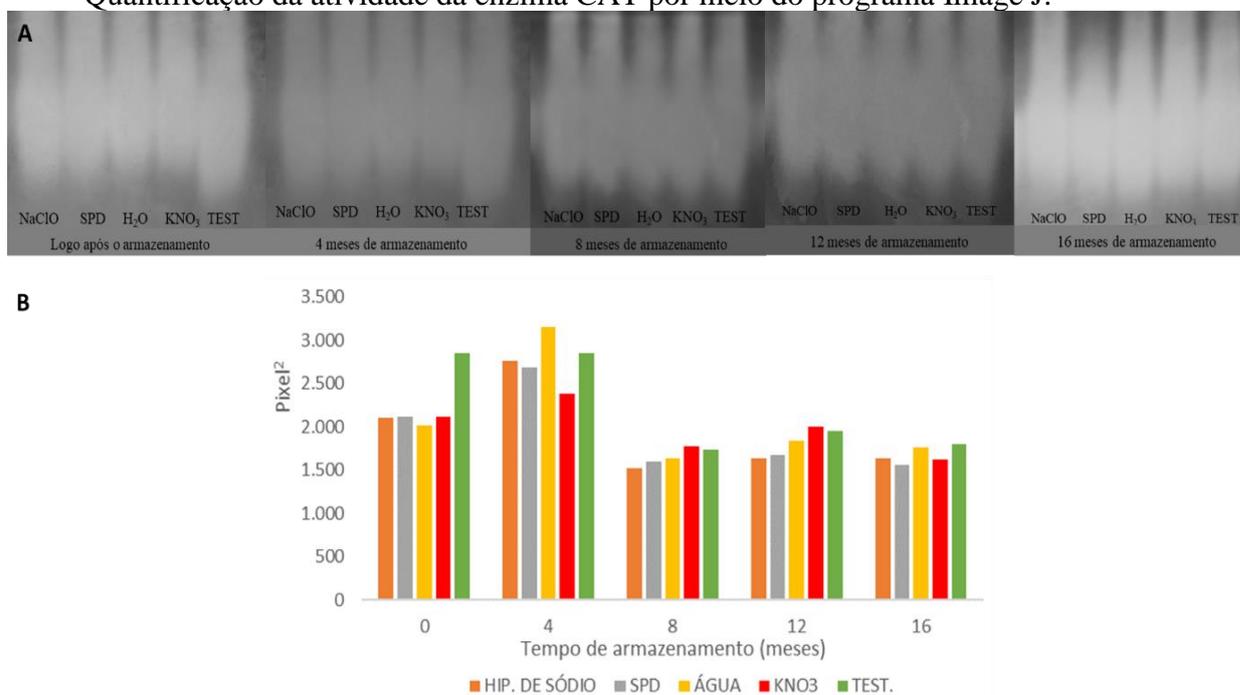
Nas sementes do lote 2, verificou-se maior expressão da enzima catalase logo após o condicionamento e no quarto mês de armazenamento (Figura 10), principalmente para as sementes condicionadas com hipoclorito de sódio, espermidina e para testemunha.

**Figura 10** Expressão da enzima catalase (CAT) em sementes de tabaco, lote 2, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria. Agentes condicionantes: NaClO (hipoclorito de sódio); SPD (espermidina); H<sub>2</sub>O (água); KNO<sub>3</sub> (nitrato de potássio) e TEST. (testemunha – sementes não condicionadas). A) Atividade da enzima CAT em sementes de tabaco, logo após o condicionamento fisiológico e nos diferentes tempos de armazenamento B) Quantificação da atividade da enzima CAT por meio do programa Image J.



A maior expressão da enzima catalase (CAT) nas sementes de tabaco do lote 3 foi observada também logo após o condicionamento e aos quatro meses de armazenamento (Figura 11). Logo após o condicionamento, constatou-se maior expressão da CAT nas sementes sem condicionamento, seguidas pelas condicionadas com hipoclorito de sódio, espermidina e nitrato de potássio e aos quatro meses, a maior expressão foi observada para as sementes condicionadas com água seguidas pela testemunha. Nos demais tempos de armazenamento das sementes houve redução da expressão da enzima catalase. A expressão da CAT nas sementes condicionadas com água, nitrato de potássio e na testemunha se sobressaiu aos demais tratamentos. Devido à menor qualidade fisiológica das sementes do lote 3, houve uma maior demanda da catalase durante o processo de embebição.

**Figura 11** Expressão da enzima catalase (CAT) em sementes de tabaco, lote 3, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria. Agentes condicionantes: NaClO (hipoclorito de sódio); SPD (espermidina); H<sub>2</sub>O (água); KNO<sub>3</sub> (nitrato de potássio) e TEST. (testemunha – sementes não condicionadas). A) Atividade da enzima CAT em sementes de tabaco, logo após o condicionamento fisiológico e nos diferentes tempos de armazenamento B) Quantificação da atividade da enzima CAT por meio do programa Image J.



Os resultados observados para enzima catalase foram bastante similares para os três lotes e estão de acordo com o descrito na literatura. Quando as sementes passam pelo condicionamento fisiológico, na fase II do processo de embebição, há ativação da síntese de enzimas como as envolvidas no sistema antioxidante. Segundo Varier et al. (2010), presume-se que o condicionamento fisiológico inicie um estresse oxidativo que gera espécies oxidativas de oxigênio e a CAT é sintetizada em resposta a esse estresse para minimizar o dano celular, por isso a maior expressão ocorreu logo após o condicionamento e no início do armazenamento. Enzimas antioxidantes como a catalase são consideradas eficientes na eliminação das espécies reativas de oxigênio, protegendo as sementes das reações oxidativas (LEE et al., 2010). Xu, Hu e Li (2011) observaram que a maior tolerância ao frio em duas variedades de tabaco foi por causa do aumento da atividade do sistema antioxidante (entre as enzimas estava a catalase), como resultado do condicionamento das sementes com putrescina, uma poliamina assim como a espermidina.

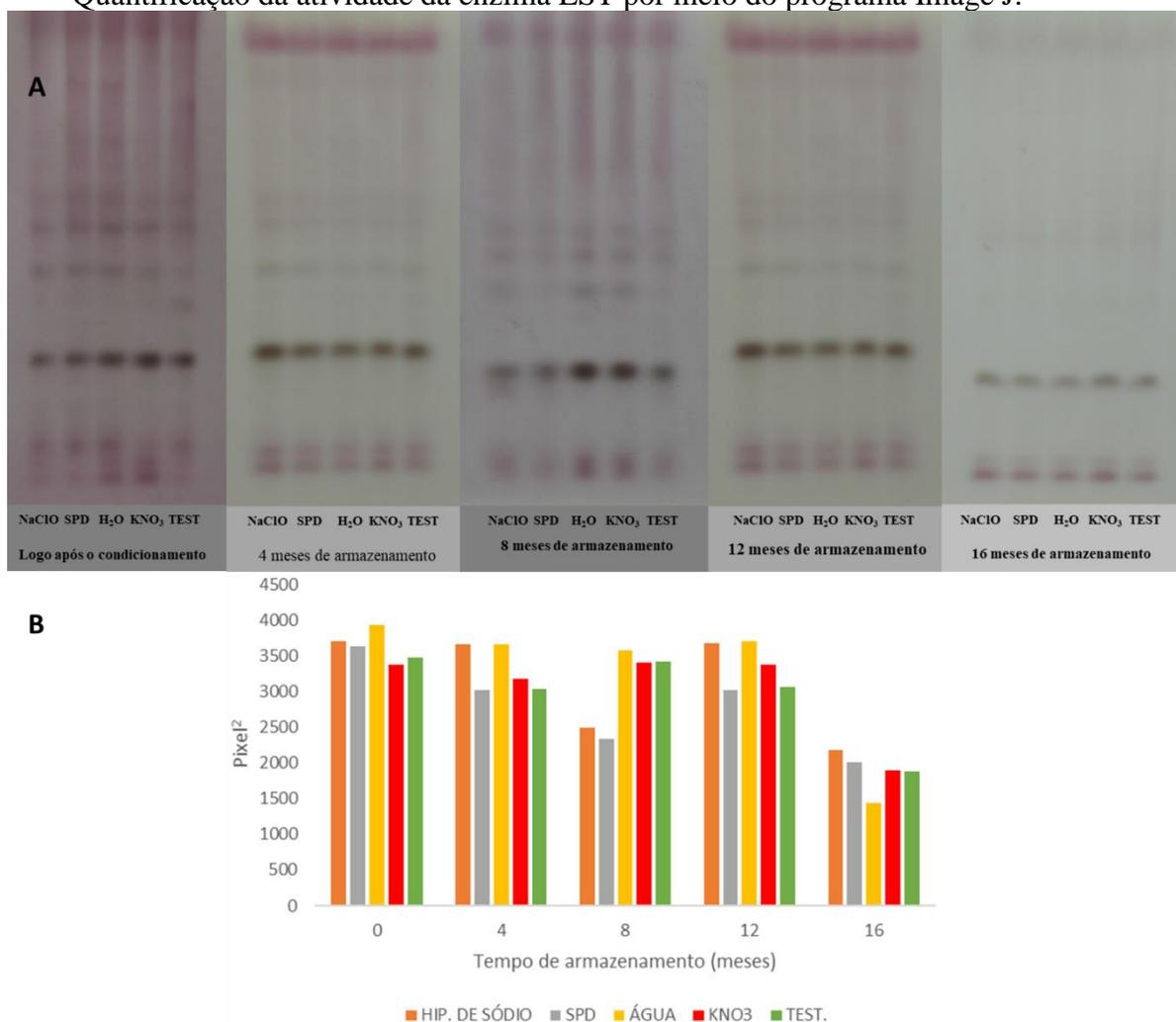
Segundo Castro et al. (2017), em sementes deterioradas, tem sido observada menor atividade da enzima catalase com menor eficiência dos sistemas removedores de radicais

livres. Com o prolongamento do armazenamento das sementes dos três lotes, verificou-se redução na expressão da CAT, no entanto esta redução ocorreu tanto para sementes condicionadas quanto para as da testemunha.

Por meio do resultado da catalase, infere-se, também, que a maior expressão da enzima nas sementes condicionadas com hipoclorito de sódio em relação aos demais tratamentos pode estar relacionada a uma possível toxicidade que esse sal pode exercer nos tecidos, uma vez que esta enzima está envolvida em mecanismos de proteção, responsáveis pela remoção de produtos tóxicos, mantendo-os em níveis reduzidos (REIS et al., 2013).

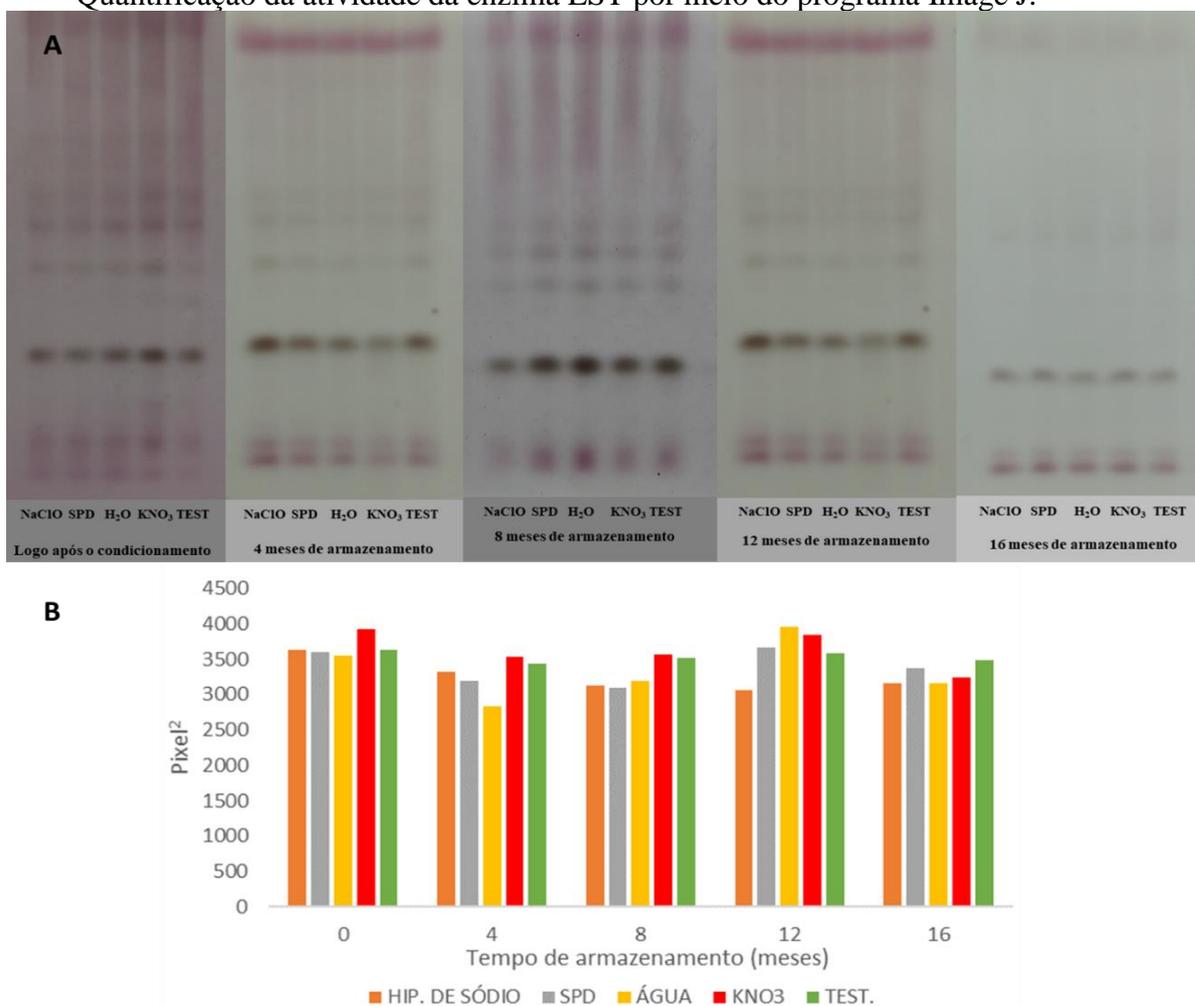
Verificou-se maior expressão da enzima esterase nas sementes do lote 1, logo após o condicionamento (Figura 12). Sementes condicionadas com hipoclorito de sódio, espermidina e água tiveram uma expressão maior da enzima, logo após o condicionamento e aos quatro, oito e doze meses de armazenamento.

**Figura 12** Expressão da enzima esterase (EST) em sementes de tabaco, lote 1, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria. Agentes condicionantes: NaClO (hipoclorito de sódio); SPD (espermidina); H<sub>2</sub>O (água); KNO<sub>3</sub> (nitrato de potássio) e TEST. (testemunha – sementes não condicionadas). A) Atividade da enzima EST em sementes de tabaco, logo após o condicionamento fisiológico e nos diferentes tempos de armazenamento B) Quantificação da atividade da enzima EST por meio do programa Image J.



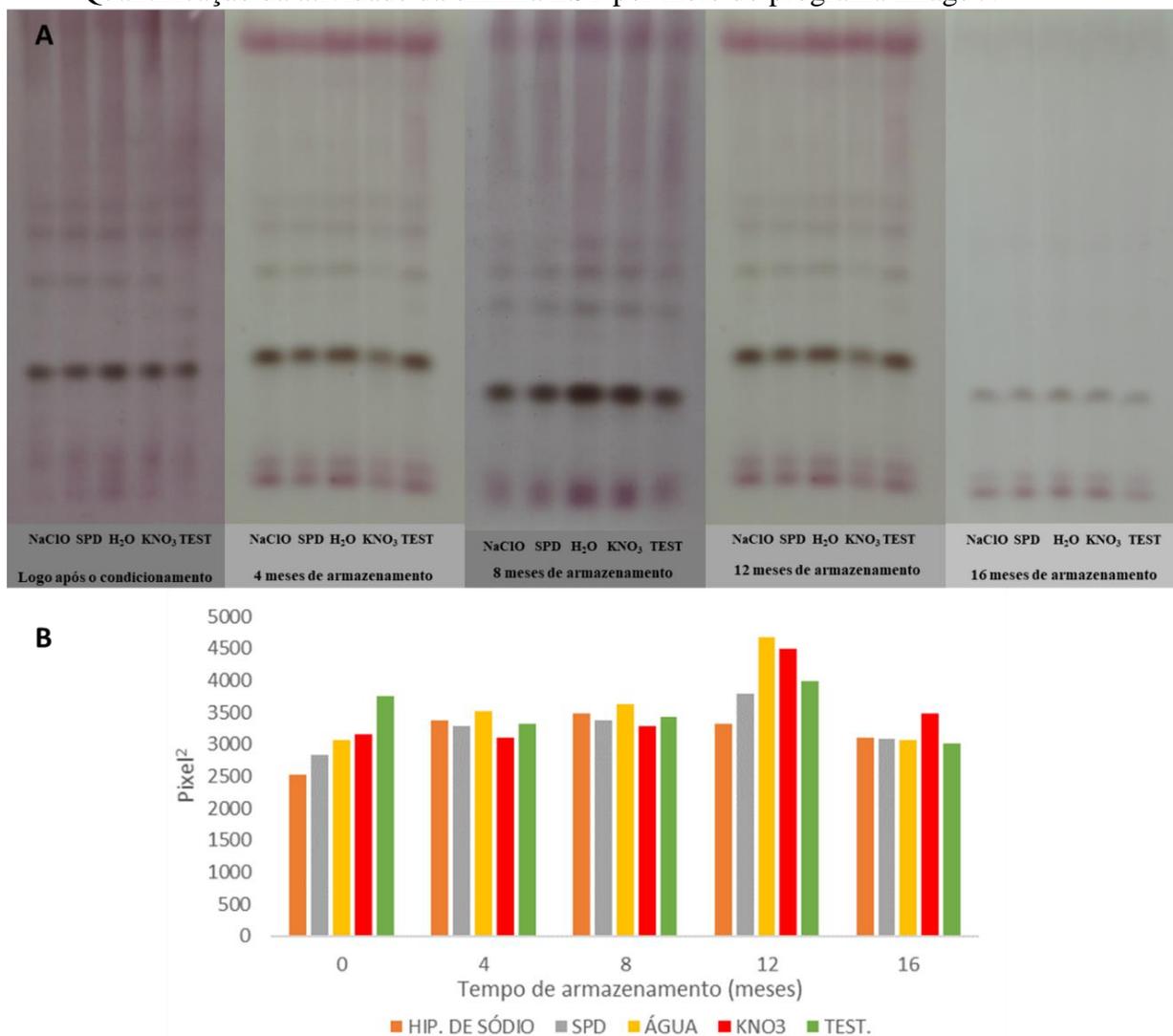
A expressão da enzima esterase (EST) manteve um padrão uniforme durante o período de armazenamento das sementes do lote 2 (Figura 13). A maior expressão dessa enzima foi constatada para as sementes condicionadas com nitrato de potássio e a testemunha, até o oitavo mês. Aos doze meses de armazenamento, a maior expressão da EST aconteceu para sementes condicionadas com água, nitrato de potássio e espermidina e aos dezesseis meses para as sementes condicionadas com espermidina e para testemunha.

**Figura 13** Expressão da enzima esterase (EST) em sementes de tabaco, lote 2, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria. Agentes condicionantes: NaClO (hipoclorito de sódio); SPD (espermidina); H<sub>2</sub>O (água); KNO<sub>3</sub> (nitrato de potássio) e TEST. (testemunha – sementes não condicionadas). A) Atividade da enzima EST em sementes de tabaco, logo após o condicionamento fisiológico e nos diferentes tempos de armazenamento B) Quantificação da atividade da enzima EST por meio do programa Image J.



Aos doze meses de armazenamento das sementes do lote 3, verificou-se a maior expressão da esterase (EST), principalmente para as sementes condicionadas com água e nitrato de potássio e para a testemunha (Figura 14). Nas demais épocas de armazenamento, a expressão da EST foi menor e bastante parecida entre as avaliações, com maior expressão da esterase em sementes da testemunha (logo após o condicionamento), e para as sementes condicionadas com água (quarto e oitavo mês de armazenamento) e nitrato de potássio (no décimo sexto mês).

**Figura 14** Expressão da enzima esterase (EST) em sementes de tabaco, lote 3, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria. Agentes condicionantes: NaClO (hipoclorito de sódio); SPD (espermidina); H<sub>2</sub>O (água); KNO<sub>3</sub> (nitrato de potássio) e TEST. (testemunha – sementes não condicionadas). A) Atividade da enzima EST em sementes de tabaco, logo após o condicionamento fisiológico e nos diferentes tempos de armazenamento B) Quantificação da atividade da enzima EST por meio do programa Image J.

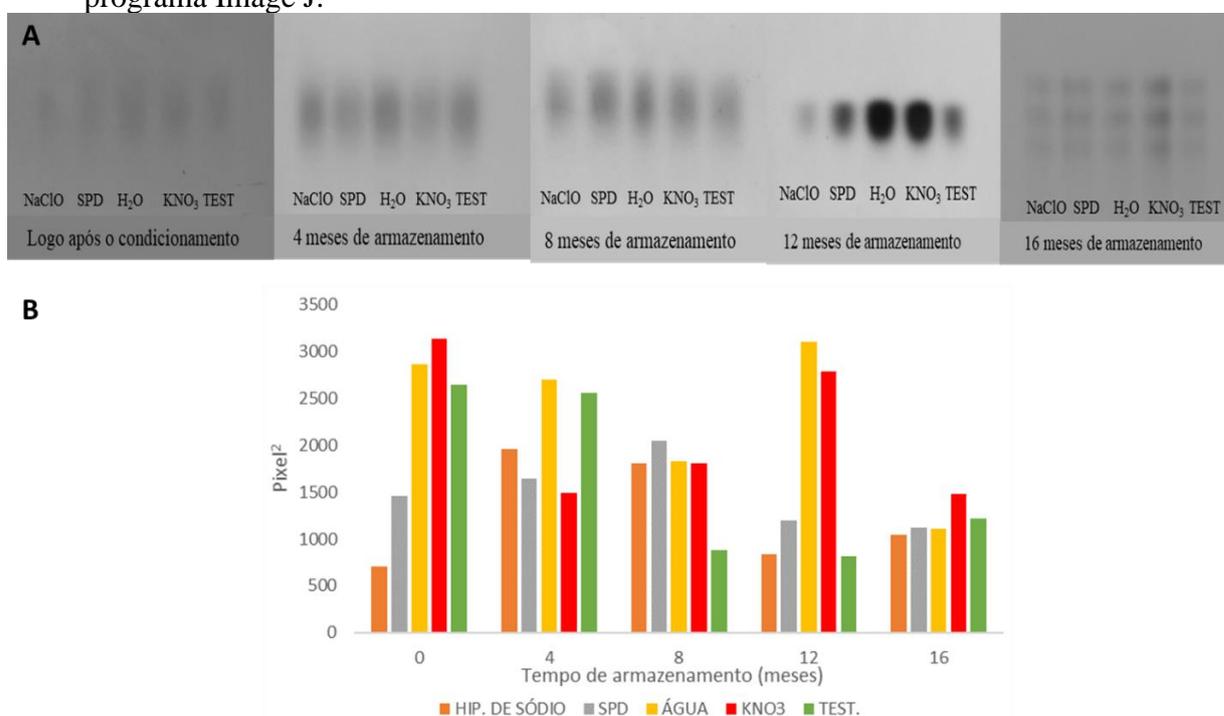


De modo geral, a maior expressão da enzima esterase em sementes dos três lotes foi observada quando as sementes foram condicionadas com água, nitrato de potássio e espermidina. Segundo Castro et al. (2017), maior incremento na expressão da enzima esterase, pode estar relacionado a maiores valores de germinação, pois a esterase está envolvida no desdobramento de lipídios, durante o processo de germinação das sementes, fato este que foi observado nos testes fisiológicos para as sementes de tabaco condicionadas com água, nitrato de potássio e espermidina dos três lotes. Marcos Filho (2015) também relata que a ação da esterase está relacionada à peroxidação lipídica, de modo que o acréscimo da sua

atividade resulta em maior prevenção da peroxidação, ao promover a liberação de ácidos graxos para o processo respiratório.

Para o lote 1, a maior expressão da enzima álcool desidrogenase (ADH) foi observada em sementes condicionadas com água e nitrato de potássio (Figura 15), logo após o condicionamento e aos doze meses de armazenamento. No quarto mês de armazenamento, notou-se maior expressão da ADH em sementes condicionadas com água e nas da testemunha. Já no oitavo mês, a maior expressão da enzima foi constatada para todas as sementes condicionadas, diferindo bastante da expressão da ADH em sementes da testemunha. Aos dezesseis meses de armazenamento, observou-se redução na expressão da enzima álcool desidrogenase para todos os tratamentos, destacando-se apenas a sua expressão em sementes condicionadas com nitrato de potássio.

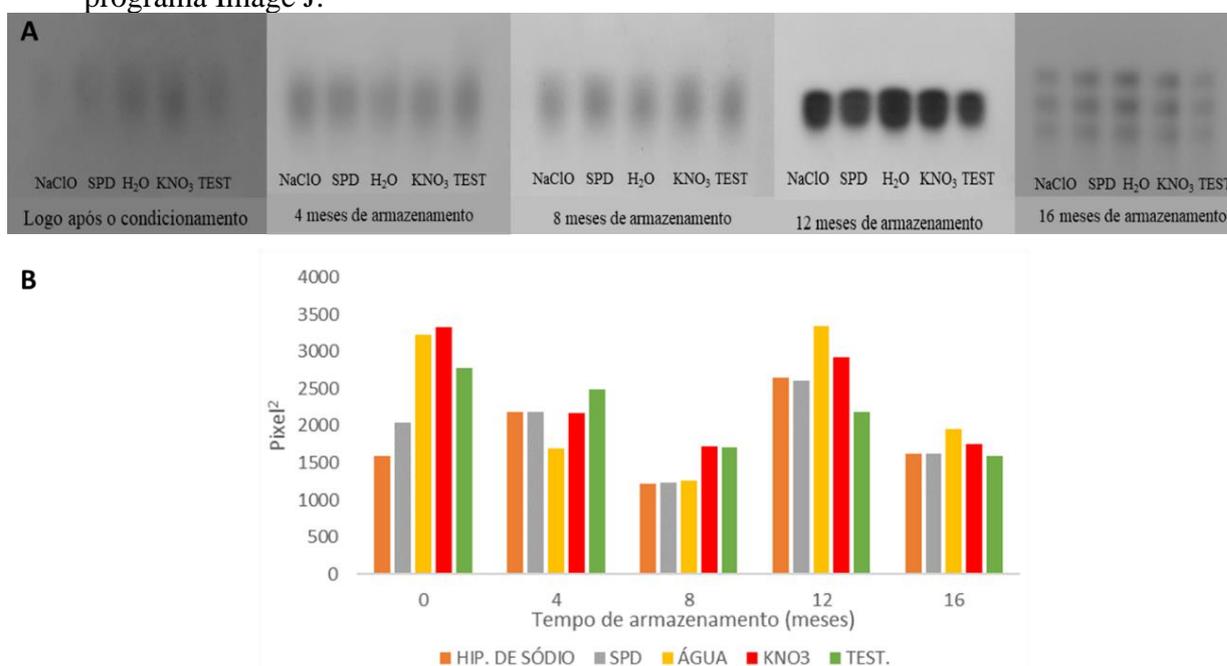
**Figura 15** Expressão da enzima álcool desidrogenase (ADH) em sementes de tabaco, lote 1, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria. Agentes condicionantes: NaClO (hipoclorito de sódio); SPD (espermidina); H<sub>2</sub>O (água); KNO<sub>3</sub> (nitrato de potássio) e TEST. (testemunha – sementes não condicionadas). A) Atividade da enzima ADH em sementes de tabaco, logo após o condicionamento fisiológico e nos diferentes tempos de armazenamento B) Quantificação da atividade da enzima ADH por meio do programa Image J.



Verificou-se que, logo após o condicionamento fisiológico, a maior expressão da enzima álcool desidrogenase (ADH) aconteceu para sementes condicionadas com nitrato de

potássio, seguidas pelas condicionadas com água e a testemunha do lote 2 (Figura 16). A expressão desta enzima também se destacou para os três tratamentos aos doze e dezesseis meses de armazenamento das sementes. Aos quatro e oito meses de conservação das sementes, constatou-se maior expressão da ADH para a testemunha e para as sementes condicionadas com nitrato de potássio.

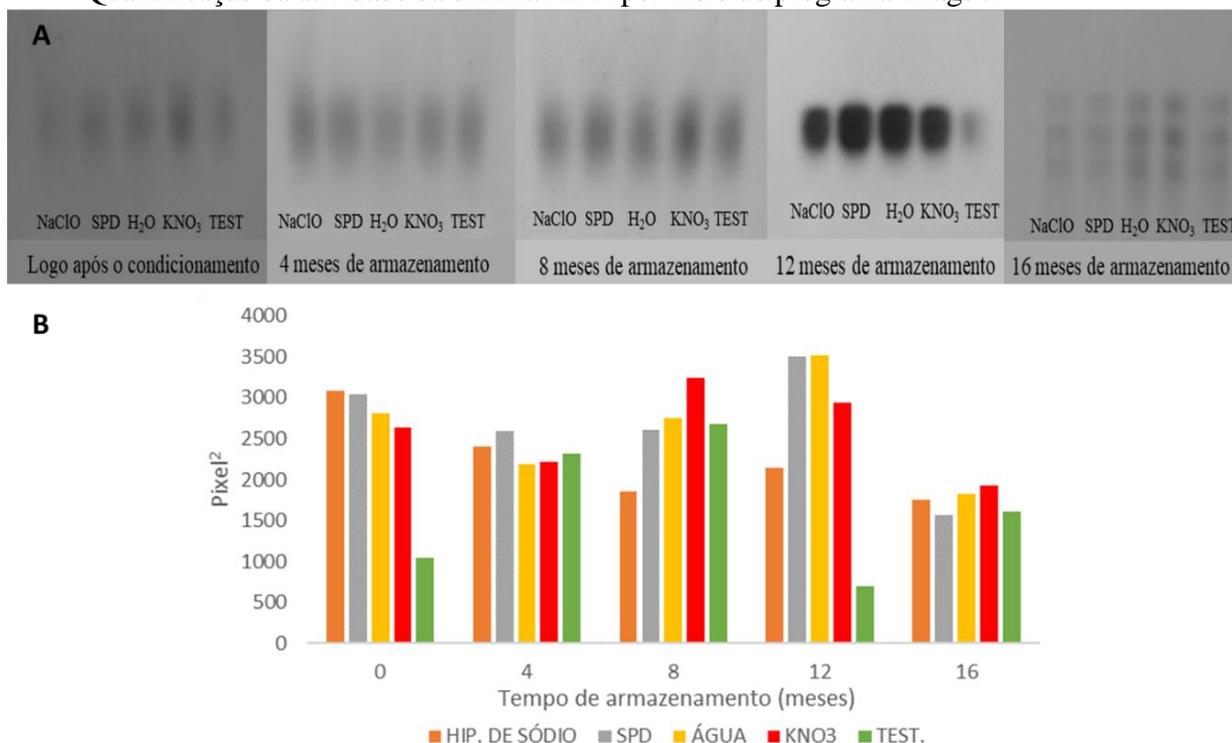
**Figura 16** Expressão da enzima álcool desidrogenase (ADH) em sementes de tabaco, lote 2, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria. Agentes condicionantes: NaClO (hipoclorito de sódio); SPD (espermidina); H<sub>2</sub>O (água); KNO<sub>3</sub> (nitrato de potássio) e TEST. (testemunha – sementes não condicionadas). A) Atividade da enzima ADH em sementes de tabaco, logo após o condicionamento fisiológico e nos diferentes tempos de armazenamento B) Quantificação da atividade da enzima ADH por meio do programa Image J.



A maior expressão da enzima álcool desidrogenase (ADH) foi observada logo após o condicionamento e aos oito e doze meses de armazenamento em sementes do lote 3 (Figura 17). Verificou-se que, logo após o condicionamento e aos doze meses de armazenamento, a expressão da ADH foi superior à da testemunha, já no oitavo mês, apenas a expressão da enzima álcool desidrogenase em sementes condicionadas com nitrato de potássio se destacou da testemunha.

Aos quatro e dezesseis meses de armazenamento, a expressão da enzima ADH foi menor que nas demais épocas. A expressão da enzima em sementes condicionadas com hipoclorito de sódio e espermidina aos quatro meses e nas sementes condicionadas com água, hipoclorito de sódio e nitrato de potássio aos dezesseis meses foi superior à das sementes não condicionadas.

**Figura 17** Expressão da enzima álcool desidrogenase (ADH) em sementes de tabaco, lote 3, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria. Agentes condicionantes: NaClO (hipoclorito de sódio); SPD (espermidina); H<sub>2</sub>O (água); KNO<sub>3</sub> (nitrato de potássio) e TEST. (testemunha – sementes não condicionadas). A) Atividade da enzima ADH em sementes de tabaco, logo após o condicionamento fisiológico e nos diferentes tempos de armazenamento B) Quantificação da atividade da enzima ADH por meio do programa Image J.



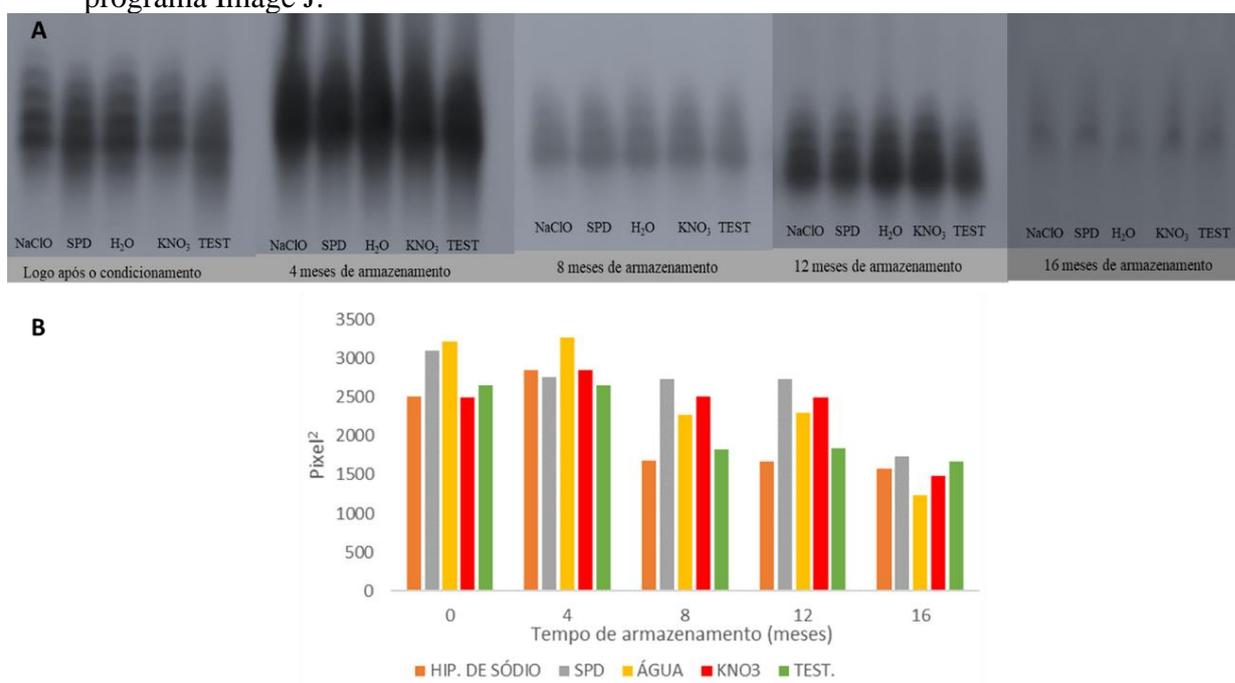
A maior expressão da enzima ADH foi observada em sementes condicionadas com nitrato de potássio, independente do lote. De acordo com Castro et al. (2017), com a maior expressão da enzima ADH, as sementes ficam menos susceptíveis à ação deletéria do acetaldeído. Na maioria dos testes fisiológicos, as sementes condicionadas com nitrato de potássio também se destacaram dos demais tratamentos em relação ao vigor, para os três lotes estudados.

Vidigal et al. (2009) verificaram que sementes com maior potencial germinativo apresentaram maior atividade enzimática da álcool desidrogenase. Andrade et al. (2018) observaram similaridade entre o perfil enzimático da ADH e os resultados da qualidade fisiológica das sementes de tabaco e, segundo estes autores, a enzima álcool desidrogenase pode ser avaliada para predizer a qualidade das sementes de tabaco, e sua maior expressão está relacionada a maior qualidade das sementes.

A maior expressão da enzima malato desidrogenase (MDH) foi constatada logo após o condicionamento e aos quatro meses de armazenamento em sementes condicionadas com água,

nitrato de potássio e espermidina do lote 1 (Figura 18). Independentemente do tratamento de condicionamento, com o prolongamento do armazenamento, a expressão da MDH foi reduzida.

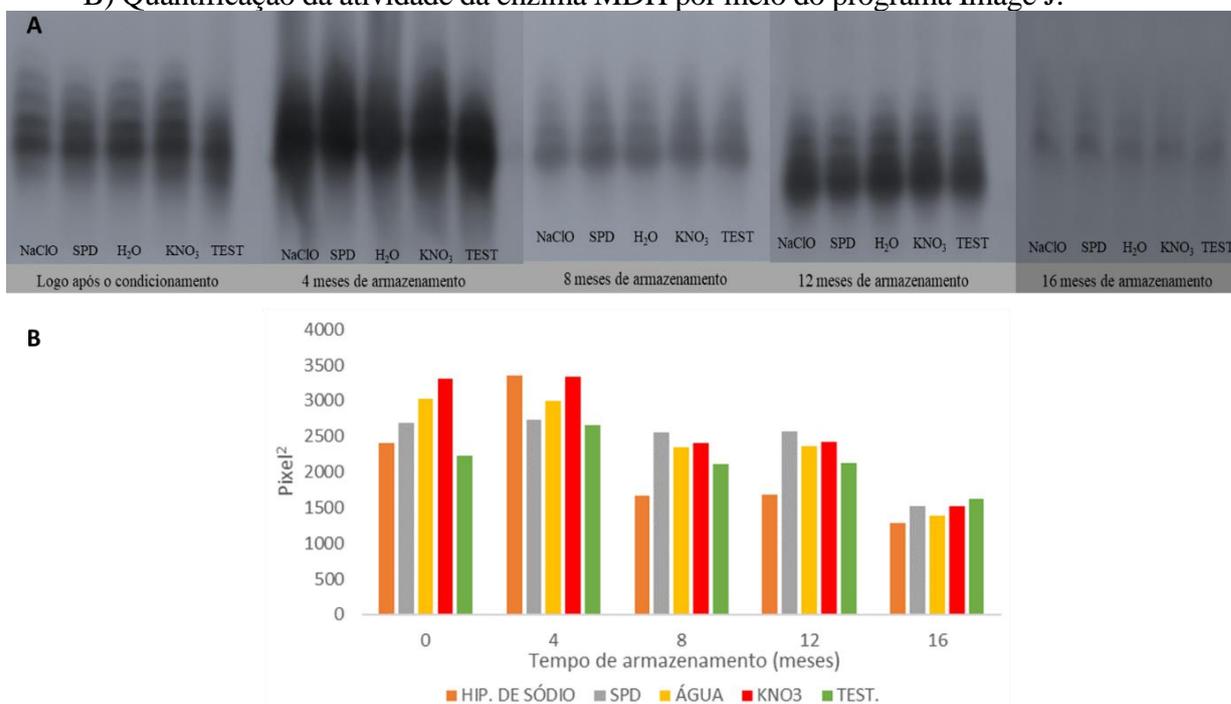
**Figura 18** Expressão da enzima malato desidrogenase (MDH) em sementes de tabaco, lote 1, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria. Agentes condicionantes: NaClO (hipoclorito de sódio); SPD (espermidina); H<sub>2</sub>O (água); KNO<sub>3</sub> (nitrate de potássio) e TEST. (testemunha – sementes não condicionadas). A) Atividade da enzima MDH em sementes de tabaco, logo após o condicionamento fisiológico e nos diferentes tempos de armazenamento B) Quantificação da atividade da enzima MDH por meio do programa Image J.



No lote 2, a maior expressão da enzima malato desidrogenase (MDH) foi observada logo após o condicionamento fisiológico e aos quatro meses de armazenamento, principalmente em sementes condicionadas (Figura 19). Por meio deste resultado, pode-se inferir que o condicionamento fez com que houvesse uma maior eficiência do sistema enzimático das sementes de tabaco. Este é um dos benefícios do condicionamento relato com frequência na literatura (HUSSAIN et al., 2015; MOURADI et al., 2016).

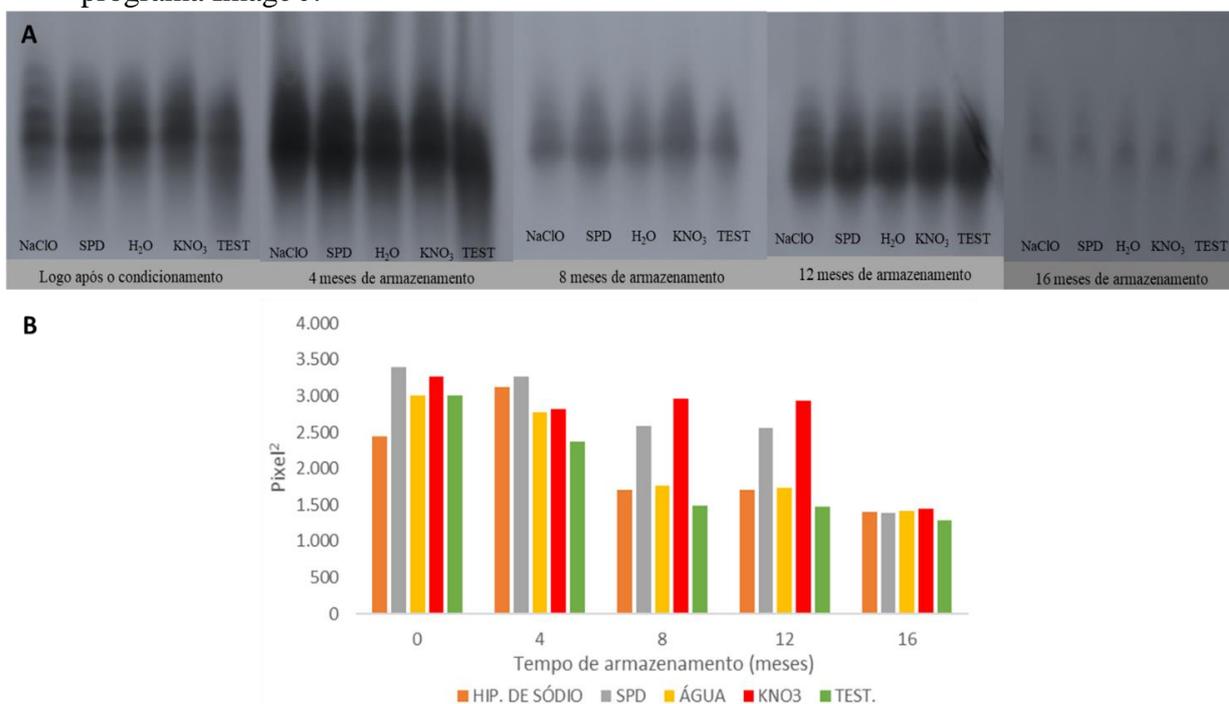
A partir do oitavo mês de armazenamento, a expressão da MDH diminuiu, principalmente em sementes condicionadas com hipoclorito de sódio. Ao final do tempo de conservação das sementes, verificou-se a menor expressão da malato desidrogenase, independentemente do tratamento.

**Figura 19** Expressão da enzima malato desidrogenase (MDH) em sementes de tabaco, lote 2, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria. Agentes condicionantes: NaClO (hipoclorito de sódio); SPD (espermidina); H<sub>2</sub>O (água); KNO<sub>3</sub> (nitrato de potássio) e TEST. (testemunha – sementes não condicionadas). A) Atividade da enzima MDH em sementes de tabaco, logo após o condicionamento fisiológico e nos diferentes tempos de armazenamento B) Quantificação da atividade da enzima MDH por meio do programa Image J.



Verificou-se maior expressão da malato desidrogenase (MDH) nas sementes do lote 3, logo após o condicionamento fisiológico e aos quatro meses de armazenamento (Figura 20). A menor expressão da enzima, foi observada no décimo sexto mês de armazenamento. Constatou-se maior expressão da enzima MDH em sementes condicionadas com espermidina e nitrato de potássio, seguidas pela testemunha logo após o condicionamento. A partir do quarto mês de armazenamento, foi observado que sementes condicionadas expressavam mais a malato desidrogenase do que a testemunha.

**Figura 20** Expressão da enzima malato desidrogenase (MDH) em sementes de tabaco, lote 3, cultivar CSC 4704, condicionadas fisiologicamente e armazenadas em câmara fria. Agentes condicionantes: NaClO (hipoclorito de sódio); SPD (espermidina); H<sub>2</sub>O (água); KNO<sub>3</sub> (nitrato de potássio) e TEST. (testemunha – sementes não condicionadas). A) Atividade da enzima MDH em sementes de tabaco, logo após o condicionamento fisiológico e nos diferentes tempos de armazenamento B) Quantificação da atividade da enzima MDH por meio do programa Image J.



Para os três lotes de sementes, verificou-se redução na expressão da enzima MDH com o prolongamento do armazenamento das sementes. Este resultado pode indicar o avanço da deterioração das sementes, pois a redução na atividade desta enzima compromete a respiração, a mobilização de reservas e o metabolismo de síntese (MARCOS FILHO, 2015). A redução da atividade da malato desidrogenase promove também a desestruturação das mitocôndrias (ANDRADE et al., 2018).

#### 4 CONCLUSÕES

A qualidade fisiológica das sementes de tabaco condicionadas durante o armazenamento é influenciada pelo agente condicionante, tempo de armazenamento e qualidade inicial do lote.

A água, a espermidina e o nitrato de potássio são indicados para o condicionamento de sementes de tabaco.

Em lotes de sementes tabaco de alta e média qualidade, os benefícios do condicionamento e a longevidade das sementes condicionadas são mantidos por 16 meses em condições de armazenamento de câmara fria e seca.

O condicionamento fisiológico das sementes de tabaco proporciona maior atividade das enzimas catalase, esterase, álcool desidrogenase e malato desidrogenase até o décimo segundo mês de armazenamento das sementes.

## REFERÊNCIAS

- AFZAL, I. et al. Changes in antioxidante enzymes, germination capacity and vigour of tomato seeds in response of priming with polyamines. **Seed Science & Technology**, Zurich, n. 37, v. 1, p. 765-770, 2009.
- ALFENAS, A. C. (Ed.) Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismos. 2. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2006. 627 p.
- ANDRADE, D. B. et al. Morphological, physiological, and biochemical indicators of quality in tobacco fruits and seeds. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 17, n. 4, p. 1-16, 2018.
- ARAÚJO, M. M. V. et al. Pré-hidratação e condicionamento fisiológico de sementes de maracujazeiro amarelo. **Revista Agro@mbiente On-line**, Boa Vista, v. 11, n. 3, p. 241-247, 2017.
- ARMONDES, K. A. P. et al. Condicionamento osmótico e desempenho de sementes de repolho com diferentes níveis de vigor. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 1, p. 428-434, 2016.
- BALBINOT, E.; LOPES, H. M. Efeitos do condicionamento fisiológico e da secagem na germinação e no vigor de sementes de cenoura. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 28, n. 1, p. 1-8, 2006.
- BATISTA, T. B. et al. Aspectos fisiológicos e qualidade de mudas da pimenteira em resposta ao vigor e condicionamento das sementes. **Bragantia**, Campinas, v. 74, n. 4, p. 367-373, 2015.
- BLUNK, S. et al. Seed priming enhances early growth and improves area of soil exploration by roots. **Enviromental and Experimental Botany**, Kidlington, v. 158, n. 1, p. 1-11, 2019.
- CALDEIRA, C. M. et al. Physiological priming and pelleting of tobacco seeds. **Seed Science & Technology**, Zurich, v. 42, n. 2, p. 180-189, 2014.
- CALDEIRA, C. M. et al. Qualidade de sementes de tabaco durante o processo de pelotização e armazenamento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 46, n. 2, p. 221-230, 2016.
- CARVALHO, M. L. M. et al. Could packing and pelleting keep the quality of tobacco seeds during storage? **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 40, n. 3, p. 296-303, 2018.
- CASTRO, D. G. et al. Qualidade fisiológica e expressão enzimática de sementes de soja RR. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 40, n. 1, p. 222-235, 2017.
- DELAC, D. et al. The influence of hidropriming and osmopriming with KNO<sub>3</sub> on seed germination of Dalmatian Pyrethrum (*Tanacetum cinerariifolium* /Trevir./ Sch. Bip.). **Agriculturae Conspectus Scientificus**, Zagreb, v. 83, n. 3, p. 205-211, 2018.

DINIZ, K. A. et al. Qualidade de sementes de alface enriquecidas com micronutrientes e reguladores de crescimento durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 31, n. 1, p. 228-238, 2009.

FARAJOLHALI, Z. et al. Storage duration and temperature of hidroprimed seeds affects some growth indices and yield of wheat. **Iranian Journal of Plant Physiology**, Saveh, v. 7, n. 1, p. 1907-1909, 2016.

FERREIRA, W. R.; RANAL, M. Germinação de sementes e crescimento de plântulas de *Brassica chinensis* L. var. *Parachinensis* (Bailey) Sinskaja (couve-da-malásia). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 3, p. 353-361, 1999.

FRICANO, A. et al. Molecular diversity, population structure, and linkage disequilibrium in a worldwide collection of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) germplasm. **BMC Genetics**, London, v. 13, n. 18, p. 1-13, 2012.

HUANG, Z. et al. Possible role of pectin-containing mucilage and dew in repairing embryo DNA of seeds adapted to desert conditions. **Annals of Botany**, London, v. 101, n. 2, p. 277-283, 2008.

HUSSAIN, S. et al. Benefits of rice priming are offset permanently by prolonged storage and the storage conditions. **Scientific Reports**, London, v. 1, n. 1, p. 1-12, 2015.

LARA, T. S. et al. Potassium nitrate priming affects the activity of nitrate reductase and antioxidant enzymes in tomato germination. **Journal of Agricultural Sciences**, Toronto, v. 6, n. 2, p. 72-80, 2014.

LEE, Y. P. et al. Tobacco seeds simultaneously over-expressing Cu/Zn superoxide dismutase and ascorbate peroxidase display enhanced seed longevity and germination rates under stress conditions. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 61, n. 9, p. 2499-2506, 2010.

LIMA, L. B.; MARCOS FILHO, J. Condicionamento fisiológico de sementes de pepino e germinação sob diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 32, n. 1, p. 138-147, 2010.

LI, Z. et al. Exogenous spermidine improves seed germination of white clover under water stress via involvement in starch metabolism, antioxidant defenses and relevant gene expression. **Molecules**, Basel, v. 19, n. 1, p. 18003-18024, 2014.

LOPES, H. M. et al. Condicionamento fisiológico de sementes de cenoura e pimentão. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v. 17, n. 3/4, p. 296-302, 2011.

LUTTS, S. et al. Seed priming: new comprehensive approaches for an old empirical technique. In: ARAUJO, S.; BALESTRAZZI, A. (Ed.). **New challenges in seed biology: basic and translational research driving seed technology**. London: InTech, 2016. p. 1-49.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, p. 176-177, 1962.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2015. 660 p.

MARCOS FILHO, J.; KIKUTI, A. L. Condicionamento fisiológico de sementes de couve-flor e desempenho das plantas em campo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 2, p. 165-169, 2008.

MOURADI, M. et al. Osmopriming improves seeds germination, growth, antioxidant responses and membrane stability during early stage of Moroccan alfalfa populations under water deficit. **Chilean Journal of Agricultural Research**, Chillán, v. 76, n. 3, p. 265-272, 2016.

NAWAZ, F. et al. Seed priming with  $KNO_3$  mediates biochemical process to inhibit lead toxicity in maize (*Zea mays* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, New York, v. 97, p. 4780-4789, 2017.

OLIVEIRA, A. S. **Condicionamento fisiológico de sementes de tabaco**. 2016. 60 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

PEREIRA, M. D. et al. Condicionamento osmótico de sementes de cubiu. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 25, n. 3, p. 12-17, 2012.

REIS, R. G. E. et al. Physiological quality of osmoprimed eggplant seeds. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 36, n. 5, p. 526-532, 2012.

REIS, R. G. E. et al. Qualidade fisiológica de sementes de berinjela Osmocondicionadas submetidas à secagem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, n. 11, p. 1507-1516, 2013.

RODRIGUES, D. L. et al. Embebição, condicionamento fisiológico e efeito do hipoclorito de sódio na germinação de sementes de alface. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, Boa Vista, v. 6, n. 1, p. 52-61, 2012.

SUN, H. et al. Ascorbate-glutathione cycle of mitochondria in osmoprimed soybean cotyledons in response to imbibitional chilling injury. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 168, n. 3, p. 226-232, 2011.

VARIER, A. et al. The subcellular basis of seed priming. **Current Science**, Bangalore, v. 99, n. 4, p. 450-456, 2010.

VEIGA, A. D. et al. Influência do potássio e da calagem na composição química, qualidade fisiológica e na atividade enzimática de sementes de soja. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 4, p. 953-960, 2010.

VIDIGAL, D. S et al. Alterações fisiológicas e enzimáticas durante a maturação de sementes de pimenta (*Capsicum annum* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 31, n. 2, p. 129-136, 2009.

WANG, W. et al. The effect of storage condition and duration on the deterioration of primed rice seeds. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 9, n. 172, p. 1-17, 2018.

WEN-GUANG, M. A. et al. Effects of water priming duration and different drying methods of pelleted seed on germination of tobacco pelleted seeds and seedling growth. **Acta Agriculturae Jiangxi**, Beijing, n. 7, 2009. Disponível em: <[http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-JXNY200907010.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-JXNY200907010.htm)>. Acesso em: 23 jan. 2018.

XU, S.; HU, J.; LI, Y. Chilling tolerance in *Nicotiana tabacum* induced by seed priming with putrescine. **Plant Growth Regulation**, New York, v. 63, n. 3, p. 279-290, 2011.

YAN, M. et al. Prolonged storage reduce the positive effect of hydropriming in Chinese cabbage seeds stored at diferente temperatures. **South African Journal of Botany**, Pretoria, v. 111, n. 1, p. 313-315, 2017.

YAN, Z. et al. The effects on increasing seed vigor of tobacco by PEG. **Seed**, Beijing, n. 6, 2003. Disponível em: <[http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-ZHZI200306008.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-ZHZI200306008.htm)>. Acesso em: 23 jan. 2018.

## CAPÍTULO 5

### Criopreservação de sementes de tabaco condicionadas fisiologicamente

[Artigo publicado em 2018, na Revista Journal of Seed Science (v. 40, n. 4, p. 415-421),  
classificação B1 pela CAPES]

#### RESUMO

O condicionamento fisiológico é uma técnica comercial utilizada para aumentar a velocidade e uniformidade de germinação das sementes, porém, a qualidade fisiológica das sementes condicionadas é geralmente afetada negativamente durante o armazenamento. Sementes de tabaco da cultivar BAT 2101 foram utilizadas para investigar se sementes condicionadas podem ser criopreservadas. Foram estudados os agentes condicionantes, o tipo de secagem e o reaquecimento mais adequados durante o condicionamento e a criopreservação de sementes de tabaco. O condicionamento das sementes foi realizado com água, espermidina e nitrato de potássio, e a secagem com sílica gel e solução salina saturada. As sementes foram criopreservadas em nitrogênio líquido por 24 horas e reaquecidas em banho-maria à 38°C por 2 e 5 minutos e em temperatura ambiente (25°C). Sementes de tabaco condicionadas com espermidina e água podem ser criopreservadas, sem perda de sua qualidade fisiológica, quando são secadas rapidamente em sílica gel e reaquecidas em banho-maria por 2 minutos.

**Palavras-chave:** Germinação. Emergência. *Nicotiana tabacum*. Reaquecimento. Secagem.

#### ABSTRACT

Priming is a commercial technique used to increase the speed and uniformity of seed germination. However, the physiological quality of primed seeds is usually negatively affected during storage. Tobacco seeds of the cultivar BAT 2101 were used to investigate whether primed seeds could be cryopreserved. The most suitable substances, type of drying, and reheating during priming and cryopreservation of tobacco seeds were studied. Seed priming was performed with water, spermidine, and potassium nitrate, and drying was carried out with silica gel and a saturated saline solution. Seeds were cryopreserved in liquid nitrogen for 24 h and reheated in a water bath for two and five minutes and at ambient temperature. Tobacco seeds primed with spermidine and water can be cryopreserved without loss of physiological quality when quickly dried on silica gel and reheated in a water bath for two minutes.

**Keywords:** Germination. Emergence. *Nicotiana tabacum*. Reheating. Drying.

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil se destaca como um dos principais exportadores de sementes de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), bem como de tabaco processado, atendendo os diversos mercados no mundo. As sementes são produzidas pelas indústrias tabacaleiras, sendo parte delas vendidas aos produtores de tabaco (cooperados das empresas) e parte exportadas (SEGATO; GABALDI, 2012). Existe uma demanda no mercado tabacaleiro, tanto em âmbito nacional quanto internacional, por sementes de boa qualidade. No entanto, as sementes de tabaco apresentam tamanho reduzido, desuniformidade de maturação e dormência (MAJDI et al., 2012), o que pode afetar a velocidade de germinação e a uniformidade dos lotes. Uma alternativa para aumentar a velocidade e uniformidade de germinação é a utilização da técnica de condicionamento fisiológico das sementes.

Objetiva-se, com o condicionamento fisiológico, reduzir o período de germinação, bem como sincronizar e melhorar a emergência das plântulas, submetendo as sementes a um controle de hidratação suficiente para permitir os processos metabólicos essenciais à germinação, porém insuficientes para propiciar a protrusão da radícula (VARIER et al., 2010). A eficiência do condicionamento fisiológico foi testada para sementes de tabaco por pesquisadores como Wen-Guang et al. (2009), que observaram que o condicionamento fisiológico promoveu incrementos na germinação de sementes de tabaco, com aumento no comprimento e peso seco de plântulas em relação à testemunha. Caldeira et al. (2014), bem como Oliveira (2016), observaram que o condicionamento fisiológico afetou positivamente o vigor de lotes de sementes de tabaco.

Apesar das vantagens do condicionamento fisiológico de sementes, uma das limitações dessa técnica é o armazenamento das sementes após o tratamento, já que perdem a qualidade mais rapidamente. Os pesquisadores Rodrigues et al. (2011) enfatizaram a necessidade de estudos que busquem ao mesmo tempo alcançar um efeito positivo do condicionamento e minimizar os efeitos deletérios durante o armazenamento. Pouco se sabe sobre o comportamento das sementes condicionadas de tabaco após o armazenamento. Caldeira et al. (2014) armazenaram sementes condicionadas de tabaco em câmara fria e observaram a manutenção da qualidade fisiológica por três meses.

Uma alternativa para preservação da qualidade das sementes condicionadas durante o armazenamento seria a utilização da criopreservação, uma vez que essa permite conservar o material por longos períodos em temperaturas extremamente baixas (FARIA et al., 2016).

Vários estudos sobre criopreservação foram realizados em todo o mundo para complementar os métodos tradicionais de armazenamento de sementes (PÉREZ-RODRIGUES et al., 2017; VEIGA-BARBOSA et al., 2013), porém, existem poucos relatos sobre a criopreservação de sementes de tabaco e nenhum sobre a criopreservação de sementes de tabaco condicionadas fisiologicamente. Por exemplo, Touchell e Dixon (1994) só conseguiram regenerar plantas de *Nicotiana occidentalis* W. a partir da germinação de embriões isolados *in vitro* após criopreservação de sementes inteiras e obtiveram baixos níveis de propagação por meio de métodos convencionais de propagação. Pérez-Rodrigues et al. (2017) observaram a importância de teores de água reduzidos na criopreservação de sementes de tabaco.

Objetivou-se, com este trabalho, investigar se sementes de tabaco condicionadas fisiologicamente podem ser criopreservadas. Foram estudados os agentes condicionantes, a velocidade de secagem das sementes após o condicionamento e o método reaquecimento mais adequado após a criopreservação de sementes de tabaco.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado com sementes de *Nicotiana tabacum*, da cultivar BAT 2101, grupo Burley. Foi realizada a caracterização do lote, por meio da determinação do teor de água, da germinação (segundo metodologia adaptada das Regras para Análise de Sementes) e emergência em condições controladas em substrato comercial Carolina®.

As sementes de tabaco foram submetidas ao condicionamento fisiológico em solução aerada por 24 horas em água (H<sub>2</sub>O), espermidina (SPD) na concentração de 0,5 μmol. L<sup>-1</sup> e nitrato de potássio (KNO<sub>3</sub>) na concentração de -1,0 MPa. As sementes foram lavadas em água corrente após condicionamento e então foram secadas até atingirem aproximadamente 6,0% de umidade. Para isso, duas velocidades de secagem foram testadas: rápida (em sílica gel ativa, por 16 horas); e lenta (com o uso de solução salina saturada, utilizando o cloreto de sódio, por aproximadamente 33 horas). A perda de água foi monitorada por pesagens contínuas até as sementes atingirem o teor de água de interesse.

Após a secagem, as sementes foram transferidas para criotubos com capacidade de 2,0 mL, e então mergulhados em nitrogênio líquido (-196 °C), onde permaneceram por 24 horas. As sementes foram descongeladas em três diferentes métodos de reaquecimento: banho-maria a 38 °C ± 2 °C por 2 minutos; banho-maria a 38°C ± 2°C por 5 minutos; e em temperatura ambiente (25 °C ± 2°C).

Depois de submeter as sementes condicionadas de tabaco aos tratamentos de secagem, criopreservação e reaquecimento, foram realizadas as análises fisiológicas.

O teste de germinação foi conduzido com quatro repetições de 50 sementes, sobre duas folhas de papel (tipo mata-borrão) umedecido com água destilada equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco, distribuídas em quatro caixas plásticas tipo gerbox. As sementes foram mantidas em câmara de germinação BOD (Biological Oxygen Demand) com temperatura alternada 20-30 °C (20 °C durante 8 h sem luz e 30 °C durante 16 h com luz) e intensidade de luz acima de 2.000lux (BRASIL, 2009). O número de sementes germinadas (com a radícula protruída e o primeiro par de folhas aberto) foi avaliado diariamente, para obtenção do índice de velocidade de germinação (MAGUIRE, 1962). Os resultados de germinação foram expressos em porcentagem de plântulas normais com avaliação aos sete dias após a semeadura, para obtenção da primeira contagem de germinação, e aos dezesseis dias para germinação (BRASIL, 2009). Foi realizado o teste de tetrazólio nas sementes remanescentes (tratamentos que obtiveram uma porcentagem de germinação menor que 80%).

As sementes de tabaco foram colocadas em solução de tetrazólio na concentração de 1% a 40 °C, no escuro, por 24 horas. Para determinação da viabilidade, as sementes foram seccionadas manualmente e analisadas em lupa, sendo consideradas viáveis aquelas de coloração rósea ou vermelha e inviáveis as de coloração vinho ou descoloridas.

O teste de emergência foi conduzido com quatro repetições de 50 sementes, e a semeadura foi realizada em substrato comercial Carolina®, previamente umedecido (na proporção de 1 litro de água por quilograma de substrato), colocado em placas acrílicas com 100 células, mantidas no sistema “*Float*” (caracteriza-se por manter as placas perfuradas flutuando sobre uma lâmina de água de aproximadamente dois centímetros) em temperatura alternada 20-30 °C (20 °C durante 8 h sem luz e 30 °C durante 16 h com luz) e intensidade de luz acima de 2.000 lux (BRASIL, 2009). A avaliação do número de plântulas com o primeiro par de folhas aberto foi realizada diariamente, para a obtenção do índice de velocidade de emergência (MAGUIRE, 1962). As contagens foram efetuadas no sétimo dia, para obtenção da emergência inicial, e no décimo sexto dia para emergência final; os dados foram expressos em porcentagem.

O teste de condutividade elétrica foi realizado adotando-se metodologia utilizada por Caldeira et al. (2014). Foram utilizadas três repetições de 0,1 gramas de sementes para cada tratamento. As sementes foram acondicionadas em células individuais da bandeja e imersas em 5 mL de água deionizada por 12 h em temperatura controlada de 25 °C. A leitura da condutividade foi realizada utilizando condutivímetro de bancada para soluções aquosas. Os dados foram expressos em  $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^1 \cdot \text{g}^{-1}$ .

Procedimento estatístico: As sementes foram submetidas ao condicionamento, à secagem e ao reaquecimento adotando-se um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial (3 x 2 x 3), sendo três agentes condicionantes (H<sub>2</sub>O, SPD e KNO<sub>3</sub>), duas formas de secagem das sementes após o condicionamento (lenta e rápida) e três métodos de reaquecimento após a criopreservação (banho-maria por 2 e por 5 minutos e em temperatura ambiente). As médias foram submetidas à análise de variância e os resultados analisados por meio da comparação de média, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade, no *software* Sisvar® (FERREIRA, 2011).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação à caracterização do lote de sementes de tabaco da cultivar BAT2101, observou-se teor de água de 6,02%, germinação de 93% e emergência de 83%. O padrão estabelecido para comercialização de sementes de tabaco é de, no mínimo, 80% de germinação (BRASIL, 2013).

Os valores obtidos para o teor de água das sementes após aplicação do condicionamento fisiológico e após secagem estão apresentados na Tabela 1. Verificou-se que houve pequena oscilação no grau de umidade das sementes devido à restrição hídrica causada pelos agentes condicionantes, sendo que a menor absorção foi proporcionada pela restrição com o uso da espermidina (SPD).

**Tabela 1** Teor de água (%) das sementes de tabaco (*Nicotiana tabacum*) da cultivar BAT2101, após diferentes formas de condicionamento fisiológico e secagem.

Condicionamento	Secagem	Teor de água (%)	
		Após o condicionamento	Após a secagem
Água	Lenta	55,49	6,20
	Rápida	55,49	6,10
SPD	Lenta	54,51	6,07
	Rápida	54,51	5,93
KNO <sub>3</sub>	Lenta	55,39	6,31
	Rápida	55,39	6,11
Testemunha	-	-	6,00

A interação tripla entre os fatores: agente condicionante, secagem das sementes e reaquecimento das sementes após a criopreservação foi significativa, sendo assim, observou-se que a eficiência da técnica de criopreservação de sementes de tabaco condicionadas depende da interação do agente utilizado para o condicionamento fisiológico das sementes, do método de secagem das sementes após o condicionamento e do método de reaquecimento após a criopreservação para todas as variáveis analisadas: condutividade elétrica, primeira contagem de germinação e germinação, índice de velocidade de germinação, emergência inicial e final e índice de velocidade de emergência.

A maior condutividade elétrica foi constatada em sementes condicionadas com nitrato de potássio (KNO<sub>3</sub>) (Tabela 2A). Segundo Reis et al. (2012), esse comportamento está relacionado com a absorção de K<sup>+</sup> e íons como NO<sub>3</sub><sup>-</sup> durante o condicionamento e posterior liberação desses elementos na água de embebição, que elevam os valores de condutividade

elétrica das sementes. Em relação ao método de reaquecimento após a criopreservação, observa-se grande variação dos resultados para condutividade.

A secagem lenta proporcionou às sementes condicionadas e criopreservadas, maior lixiviação de solutos e conseqüentemente maior condutividade elétrica do que a secagem rápida (Tabela 2B). De acordo com Caseiro e Marcos Filho (2005), as células naturalmente tolerantes à dessecação, quando mantidas com graus de umidade associados à ocorrência de atividades metabólicas, podem sofrer danos mais severos se permanecerem nessas condições durante período prolongado, quando comparadas às secas rapidamente.

**Tabela 2** Condutividade elétrica ( $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ ) de sementes de tabaco (*Nicotiana tabacum*) da cultivar BAT2101 condicionadas fisiologicamente e criopreservadas para os fatores condicionamento e reaquecimento (A) e para o fator secagem (B)

A				
Condicionamento	Secagem	Reaquecimento		
		T Ambiente	BM: 2 min	BM: 5 min
Água	Lenta	181,68 b C	152,95 a B	147,40 a A
SPD		148,44 a A	221,02 b C	264,62 b C
KNO <sub>3</sub>		551,40 c C	426,02 c A	485,94 c B
Água	Rápida	155,00 a B	147,13 a A	237,70 b C
SPD		165,19 b B	156,38 b A	186,61 a C
KNO <sub>3</sub>		427,34 c A	510,92 c B	545,81 c C
B				
Condicionamento	Reaquecimento	Secagem		
		Lenta	Rápida	
Água	T Ambiente	181,68 B	155,00 A	
	BM: 2 min	152,95 B	147,13 A	
	BM: 5 min	147,40 A	237,70 B	
SPD	T Ambiente	148,44 A	165,19 B	
	BM: 2 min	221,02 B	156,38 A	
	BM: 5 min	264,62 B	186,61 A	
KNO <sub>3</sub>	T Ambiente	551,40 B	427,34 A	
	BM: 2 min	426,02 A	510,92 B	
	BM: 5 min	485,94 A	545,81 B	
CV (%) = 5,73				

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e letra maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

As sementes condicionadas com KNO<sub>3</sub> e secadas lentamente deram origem a menor porcentagem de plântulas normais na primeira contagem de germinação do que as sementes condicionadas com SPD ou água (Tabela 3A). As sementes condicionadas, secadas e criopreservadas, quando reaquecidas em temperatura ambiente ou banho-maria por dois minutos originaram uma maior porcentagem de plântulas normais do que aquelas reaquecidas em banho-maria por cinco minutos. Porém, os pesquisadores Pérez-Rodríguez et al. (2017)

utilizaram, em seu trabalho, o reaquecimento de sementes criopreservadas de tabaco em banho-maria por cinco minutos com sucesso.

Verificou-se, aos sete dias após a semeadura, que sementes submetidas à secagem rápida deram origem a um maior número de plântulas normais que as sementes submetidas à secagem lenta (Tabela 3B).

**Tabela 3** Primeira contagem de germinação (%) de sementes de tabaco (*Nicotiana tabacum*) da cultivar BAT2101 condicionadas fisiologicamente e criopreservadas para os fatores condicionamento e reaquecimento (A) e para o fator secagem (B)

A				
Condicionamento	Secagem	Reaquecimento		
		T Ambiente	BM: 2 min	BM: 5 min
Água	Lenta	84 a B	82 a B	90 a A
SPD		84 a A	83 a A	65 b B
KNO3		67 b A	60 b B	59 c B
Água	Rápida	83 b B	90 a A	83 c B
SPD		90 a A	92 a A	87 b B
KNO3		89 a A	92 a A	91 a A
B				
Condicionamento	Reaquecimento	Secagem		
		Lenta	Rápida	
Água	T Ambiente	84 A	83 A	
	BM: 2 min	82 B	90 A	
	BM: 5 min	90 A	83 B	
SPD	T Ambiente	84 B	90 A	
	BM: 2 min	83 B	92 A	
	BM: 5 min	65 B	87 A	
KNO3	T Ambiente	69 B	89 A	
	BM: 2 min	60 B	92 A	
	BM: 5 min	59 B	91 A	

CV (%) = 12,49

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e letra maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Observou-se menor porcentagem de plântulas normais para as sementes condicionadas com nitrato de potássio e secadas lentamente, independentemente do método de reaquecimento. A porcentagem de plântulas normais também é baixa quando as sementes são condicionadas com espermidina, secadas lentamente após o condicionamento e reaquecidas em banho-maria por 5 minutos (Tabela 4A).

Em sementes submetidas à secagem rápida (16h) foi observado maior porcentagem de plântulas normais ao final do teste de germinação do que as sementes submetidas à secagem lenta por 33 horas (Tabela 4B), o que indica que a secagem rápida das sementes de tabaco para criopreservação é mais eficiente para manutenção da qualidade fisiológica. Resultado

semelhante ao observado por Coelho et al. (2015), em que o melhor método de secagem para criopreservação de sementes de café foi a secagem rápida com sílica gel.

**Tabela 4** Germinação (%) de sementes de tabaco (*Nicotiana tabacum*) da cultivar BAT2101 condicionadas fisiologicamente e criopreservadas para os fatores condicionamento e reaquecimento (A) e para o fator secagem (B)

A				
Condicionamento	Secagem	Reaquecimento		
		T ambiente	BM: 2 min	BM: 5 min
Água	Lenta	85 b B	82 b C	92 a A
SPD		89 a A	88 a A	68 b B
KNO3		72 c A	61 c B	61 c B
Água	Rápida	89 a B	92 a A	89 c B
SPD		91 a B	88 b C	96 a A
KNO3		91 a A	93 a A	92 b A
B				
Condicionamento	Reaquecimento	Secagem		
		Lenta	Rápida	
Água	T Ambiente	85 B	89 A	
	BM: 2 min	82 B	92 A	
	BM: 5 min	92 A	89 A	
SPD	T Ambiente	89 A	91 A	
	BM: 2 min	88 A	88 A	
	BM: 5 min	68 B	96 A	
KNO3	T Ambiente	72 B	91 A	
	BM: 2 min	61 B	93 A	
	BM: 5 min	61 B	92 A	

CV (%) = 12,02

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e letra maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Para os tratamentos com porcentagem de germinação abaixo de 80% no teste de germinação, foi realizado o teste de tetrazólio nas sementes remanescentes. Por meio desta determinação, ficou evidente que a secagem lenta é prejudicial às sementes condicionadas com KNO<sub>3</sub> independentemente do método de reaquecimento utilizado, uma vez que 25% das sementes que restaram estavam inviáveis (dados não apresentados). Da mesma forma, o condicionamento das sementes de tabaco com espermidina, combinado à secagem lenta e ao reaquecimento em banho-maria por 5 minutos foi prejudicial à viabilidade das sementes (23% das sementes restantes estavam inviáveis).

Foi observado que quando as sementes foram submetidas à secagem lenta, os melhores índices de velocidade de germinação foram para sementes condicionadas com espermidina e reaquecidas em temperatura ambiente e banho-maria por dois minutos; e para as sementes condicionadas com água e reaquecidas em temperatura ambiente e banho-maria por cinco

minutos. Para as sementes submetidas à secagem rápida, não houve variação no índice de velocidade de germinação (Tabela 5A).

A secagem rápida das sementes de tabaco, após o condicionamento fisiológico, foi mais eficiente para manutenção da qualidade fisiológica e do vigor das sementes do que a secagem lenta (Tabela 5B). Segundo José et al. (2009), dentre os processos que precedem a conservação das sementes, a secagem tem papel fundamental, no entanto, dependendo da forma como ela é conduzida, pode danificar as sementes, implicando na redução da sua qualidade fisiológica.

**Tabela 5** Índice de velocidade de germinação de sementes de tabaco (*Nicotiana tabacum*) da cultivar BAT2101 condicionadas fisiologicamente e criopreservadas para os fatores condicionamento e reaquecimento (A) e para o fator secagem (B)

A				
Condicionamento	Secagem	Reaquecimento		
		T ambiente	BM: 2 min	BM: 5 min
Água	Lenta	14,19 a A	10,33 b B	16,17 a A
SPD		16,29 a A	16,47 a A	11,42 b B
KNO <sub>3</sub>		11,29 b A	10,49 b A	11,17 b A
Água	Rápida	14,42 a A	15,12 a A	14,46 a A
SPD		15,38 a A	15,09 a A	15,73 a A
KNO <sub>3</sub>		15,20 a A	16,16 a A	15,92 a A
B				
Condicionamento	Reaquecimento	Secagem		
		Lenta	Rápida	
Água	T Ambiente	14,19 A	14,42 A	
	BM: 2 min	10,33 B	15,12 A	
	BM: 5 min	16,17 A	14,46 A	
SPD	T Ambiente	16,29 A	15,38 A	
	BM: 2 min	16,47 A	15,09 A	
	BM: 5 min	11,42 B	15,73 A	
KNO <sub>3</sub>	T Ambiente	11,29 B	15,20 A	
	BM: 2 min	10,49 B	16,16 A	
	BM: 5 min	11,17 B	15,92 A	
CV (%) = 14,97				

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e letra maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados obtidos para os testes de emergência inicial e final e índice de velocidade de emergência se assemelham aos obtidos para germinação e índice de velocidade de germinação. Observou-se baixa porcentagem de plântulas emergidas aos sete dias após a semeadura para sementes que foram condicionadas com KNO<sub>3</sub> e secadas lentamente, independentemente do método de reaquecimento utilizado após a criopreservação (Tabela 6A). Assim como o condicionamento das sementes com SPD, secagem lenta e reaquecimento em banho-maria por 5 minutos, também teve efeito negativo na emergência inicial das plantas.

Houve menor porcentagem de plantas emergidas aos sete dias após semeadura quando as sementes foram secas de forma lenta. Esse resultado, enfatiza os prejuízos da secagem lenta para a qualidade das sementes condicionadas e criopreservadas de tabaco (Tabela 6B).

**Tabela 6** Emergência inicial (%) de sementes de tabaco (*Nicotiana tabacum*) da cultivar BAT2101 condicionadas fisiologicamente e criopreservadas para os fatores condicionamento e reaquecimento (A) e para o fator secagem (B)

A				
Condicionamento	Secagem	Reaquecimento		
		T ambiente	BM: 2 min	BM: 5 min
Água	Lenta	85 a B	83 b B	88 a A
SPD		84 a B	88 a A	66 b C
KNO3		56 b B	57 c B	59 c A
Água	Rápida	88 a A	91 a A	89 b A
SPD		89 a B	92 a A	89 b B
KNO3		88 a B	83 b C	93 a A

B			
Condicionamento	Reaquecimento	Secagem	
		Lenta	Rápida
Água	T Ambiente	85 B	88 A
	BM: 2 min	83 B	91 A
	BM: 5 min	88 A	89 A
SPD	T Ambiente	84 B	89 A
	BM: 2 min	88 B	92 A
	BM: 5 min	66 B	89 A
KNO3	T Ambiente	56 B	88 A
	BM: 2 min	57 B	83 A
	BM: 5 min	59 B	93 A

CV (%) = 11,44

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e letra maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Quando as sementes foram submetidas à secagem lenta, as maiores porcentagens de emergência final foram obtidas por meio de sementes condicionadas com espermidina e reaquecidas em banho-maria por 2 minutos; e sementes condicionadas com água e reaquecidas em temperatura ambiente ou banho-maria por 5 minutos (Tabela 7A). Quando as sementes foram submetidas à secagem rápida, aquelas condicionadas com SPD apresentaram bons resultados de emergência final, em todos os tipos de reaquecimento e, destacaram-se das demais. Efeitos positivos no condicionamento fisiológico das sementes com SPD foram relatados na literatura para outras espécies (HUSSAIN et al., 2015; PAUL et al., 2017), corroborando os resultados obtidos neste trabalho.

O efeito positivo da secagem rápida após o condicionamento fisiológico na manutenção da qualidade fisiológica das sementes de tabaco para criopreservação foi observado devido à maior porcentagem de emergência final de plantas oriundas de sementes secas rapidamente (Tabela 7B).

**Tabela 7** Emergência final (%) de sementes de tabaco (*Nicotiana tabacum*) da cultivar BAT2101 condicionadas fisiologicamente e criopreservadas para os fatores condicionamento e reaquecimento (A) e fator secagem (B)

A				
Condicionamento	Secagem	Reaquecimento		
		T ambiente	BM: 2 min	BM: 5 min
Água	Lenta	87 a B	84 b C	90 a A
SPD		85 b B	89 a A	67 b C
KNO <sub>3</sub>		59 c B	59 c B	62 c A
Água	Rápida	92 a A	92 a A	90 c A
SPD		92 a A	93 a A	93 a A
KNO <sub>3</sub>		91 a A	84 b C	94 a A

B				
Condicionamento	Reaquecimento	Secagem		
		Lenta	Rápida	
Água	T Ambiente	87 B	92 A	
	BM: 2 min	84 B	92 A	
	BM: 5 min	90 A	90 A	
SPD	T Ambiente	85 B	92 A	
	BM: 2 min	89 B	93 A	
	BM: 5 min	67 B	93 A	
KNO <sub>3</sub>	T Ambiente	59 B	91 A	
	BM: 2 min	59 B	84 A	
	BM: 5 min	62 B	94 A	

CV (%) = 11,26

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e letra maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

Os menores índices de velocidade de emergência foram verificados para as sementes condicionadas com KNO<sub>3</sub> e secadas lentamente, independentemente do tipo de reaquecimento (Tabela 8A). Assim como as sementes condicionadas com SPD, secadas lentamente e reaquecidas em banho-maria por 5 minutos apresentaram baixo IVE quando comparadas com os demais tratamentos. Não houve variação no índice de velocidade de emergência quando as sementes foram submetidas a secagem rápida, com exceção das sementes condicionadas com KNO<sub>3</sub> e reaquecidas em banho-maria por 2 minutos, que obtiveram IVE inferior aos demais tratamentos. A eficiência do KNO<sub>3</sub> no condicionamento fisiológico é possivelmente relacionada à presença de íons de K<sup>+</sup> no conteúdo celular. No entanto, devido a seu baixo peso molecular, os sais podem penetrar nas sementes e causar toxidez às plântulas (OLIVEIRA, 2016).

Foi observado, pelos resultados do índice de velocidade de emergência, que a secagem lenta foi prejudicial à qualidade fisiológica das sementes, principalmente quando as sementes foram condicionadas em solução de KNO<sub>3</sub> (Tabela 8B). A secagem lenta das sementes foi prejudicial também para sementes condicionadas com SPD, secadas lentamente e reaquecidas em banho-maria por 5 minutos.

**Tabela 8** Índice de velocidade de emergência de sementes de tabaco (*Nicotiana tabacum*) da cultivar BAT2101 condicionadas fisiologicamente e criopreservadas para os fatores condicionamento e reaquecimento (A) e para o fator secagem (B)

A				
Condicionamento	Secagem	Reaquecimento		
		T ambiente	BM: 2 min	BM: 5 min
Água	Lenta	16,70 a A	16,47 a A	17,33 a A
SPD		16,16 a A	17,13 a A	12,14 b B
KNO <sub>3</sub>		11,32 b A	12,87 b A	11,21 b A
Água	Rápida	16,78 a A	17,07 a A	17,30 a A
SPD		17,15 a A	17,64 a A	16,39 a A
KNO <sub>3</sub>		16,54 a A	14,59 b B	16,94 a A

B			
Condicionamento	Reaquecimento	Secagem	
		Lenta	Rápida
Água	T Ambiente	16,70 A	16,78 A
	BM: 2 min	16,47 A	17,06 A
	BM: 5 min	17,32 A	17,30 A
SPD	T Ambiente	16,16 A	17,15 A
	BM: 2 min	17,13 A	17,64 A
	BM: 5 min	12,14 B	16,39 A
KNO <sub>3</sub>	T Ambiente	11,32 B	16,54 A
	BM: 2 min	12,87 B	14,59 A
	BM: 5 min	11,21 B	16,94 A

CV (%) = 6,50

As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e letra maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

#### 4 CONCLUSÕES

Sementes de tabaco condicionadas fisiologicamente podem ser criopreservadas, sem perda da qualidade fisiológica.

A espermidina (SPD) e a água (H<sub>2</sub>O) são os agentes condicionantes indicados para o condicionamento fisiológico de sementes de tabaco da cultivar BAT2101, para criopreservação.

O melhor método de secagem para sementes de tabaco após condicionamento, visando a criopreservação, é a secagem rápida com sílica gel.

Após a criopreservação, o reaquecimento das sementes de tabaco em banho-maria por dois minutos é o procedimento mais indicado.

## REFERÊNCIAS

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 45, de 17 de setembro de 2013**. Padrões para produção e comercialização de sementes. Brasília, 2013.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 395 p.
- CALDEIRA, C. M. et al. Physiological priming and pelleting of tobacco seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 42, n. 2, p. 180-189, 2014.
- CASEIRO, R. F.; MARCOS FILHO, J. Métodos para a secagem de sementes de cebola submetidas ao condicionamento fisiológico. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 4, p. 887-892, 2005.
- COELHO, S. V. B et al. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de café secas em sílica gel e soluções salinas saturadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 50, n. 6, p. 483-491, 2015.
- FARIA, C. V. N. et al. Criopreservação de sementes de *Physalis angulata* L. por meio da desidratação em sílica gel. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, Lavras, v. 12, n. 2, p. 27-33, 2016.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- HUSSAIN, S. et al. Benefits of rice priming are offset permanently by prolonged storage and the storage conditions. **Scientific Reports**, London, v. 1, n. 1, p. 1-12, 2015.
- JOSÉ, S. C. B. R. et al. Umidificação de sementes de girassol após ultrassecagem em sílica gel e câmara de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 31, p. 16-26, 2009.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.
- MAJDI, S. et al.. Supercritical Fluid Extraction of Tobacco Seed Oil and Its Comparison with Solvent Extraction Methods. **Journal of Agricultural Science and Technology**, Tehran, v. 14, p. 1053-1065, 2012.
- OLIVEIRA, A. S. **Condicionamento fisiológico de sementes de tabaco**. 2016. 60 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.
- PAUL, S. et al. Seed pre-treatment with spermidine alleviates oxidative damages to different extent in the salt (NaCl) – stressed seedlings of three indica rice cultivars with contrasting level of salt tolerance. **Plant Gene**, Kidlington, n. 11, p. 112-123, 2017.

PÉREZ-RODRÍGUES, J. L. et al. Effect of desiccation on physiological and biochemical indicators associated with the germination and vigor of cryopreserved seeds of *Nicotiana tabacum* L. cv. Sancti Spiritus 96. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, Columbia, v. 53, p. 440-448, 2017.

REIS, R. G. E. et al. Physiological quality of osmoprimed eggplant seeds. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 36, n. 5, p. 526-532, 2012.

RODRIGUES, A. P. D. C. et al. Armazenamento de sementes de salsa osmocondicionadas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 6, p. 978-983, 2011.

SEGATO, S.V.; GABALDI, F. C. Fungos associados às sementes de fumo (*Nicotiana tabacum* L.). **Nucleus**, Ituverava, v. 9, n. 2, p. 229-234, 2012.

TOUCHELL, D. H.; DIXON, K. W. Cryopreservation of seed banking of Australian species. **Annals of Botany**, London, v. 74, p. 541-546, 1994.

VARIER, A. et al. The subcellular basis of seed priming. **Current Science**, Bangalore, v. 99, n. 4, p. 450-456, 2010.

VEIGA-BARBOSA, L. et al. Seed germination, desiccation tolerance and cryopreservation of *Passiflora* species. **Seed Science Technology**, Londrina, v. 41, p. 89–97, 2013.

WEN-GUANG, M. A. et al. Effects of water priming duration and different drying methods of pelleted seed on germination of tobacco pelleted seeds and seedling growth. **Acta Agriculturae Jiangxi**, Beijing, n. 7, 2009. Disponível em: <[http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-JXNY200907010.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-JXNY200907010.htm)>. Acesso em: 23 jan. 2018.