

**CONDICIONAMENTO FISIOLÓGICO EM
SEMENTES DE LIMÃO CRAVO E
CITRUMELO 'SWINGLE'**

ÍISIS BARRETO DANTAS

2009

ÍISIS BARRETO DANTAS

**CONDICIONAMENTO FISIOLÓGICO EM SEMENTES DE LIMÃO
CRAVO E CITRUMELO ‘SWINGLE’**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2009

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Dantas, Ísis Barreto.

Condicinamento fisiológico em sementes de limão cravo e
citrumelo 'Swingle' / Ísis Barreto Dantas. – Lavras : UFLA, 2009.
123 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.
Orientador: Renato Mendes Guimarães.
Bibliografia.

1. Limão cravo. 2. Citrumelo 'Swingle'. 3. Semente. 4.
Armazenamento. 5. Condicionamento fisiológico. I. Universidade
Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 631.531

ÍISIS BARRETO DANTAS

**CONDICIONAMENTO FISIOLÓGICO EM SEMENTES DE LIMÃO
CRAVO E CITRUMELO ‘SWINGLE’**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 19 de Fevereiro de 2009

Prof. Dr. João Almir de Oliveira

UFLA

Pesq. Antônio Rodrigues Vieira

EPAMIG

Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

A DEUS, por tudo.

Aos meus pais, Araken e Irene, por tanta dedicação e incentivo.

Aos meus irmãos Matheus e Clarissa, e meus cunhados Cristiane e Allain, pelo apoio e amizade.

A minha madrinha, tia Yolanda, pelo exemplo de força e superação.

Aos meus avós, Juca e Iracema, Manoel e Ubaldina (*in memoriam*).

A Frederico, pelo amor, carinho e paciência.

OFEREÇO.

Aos meus sobrinhos Arthur, Mariana e Pedro.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e seu Departamento de Agricultura, pela oportunidade de realização do curso.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pela concessão de recursos para execução do projeto.

À empresa CUTRALE e ao Antônio Ricardo, pela doação dos produtos utilizados no experimento.

Ao Professor Renato Mendes Guimarães pela orientação, profissionalismo, amizade e paciência.

Aos professores João Almir de Oliveira, Édila Vilela de Resende Von Pinho e Maria Laene Moreira de Carvalho, pelos esclarecimentos e auxílio na execução deste trabalho.

Ao pesquisador Antônio Vieira Rodrigues, pelos conselhos e amizade.

Aos funcionários do Laboratório de Sementes, Andréia, Elza, Dalva e Elenir, pelo auxílio na execução dos experimentos e amizade.

Aos estagiários do Laboratório de Sementes e alunos da Iniciação Científica, em especial a Michelle e Fernanda, por todo o auxílio e dedicação na execução do experimento, além da amizade e do companheirismo.

Aos meus pais, Araken e Irene, pelo amor, incentivo e toda dedicação, e por serem os meus exemplos de vida. Obrigada por tudo!

Aos meus irmãos e cunhados, Matheus e Cristiane e, Clarissa e Allain, pelo carinho e pela motivação, além das grandes alegrias que me deram: Arthur, Mariana e Pedro. Amo vocês!

A Frederico, pelo apoio, incentivo e ajuda, além de todo amor, carinho e paciência.

A toda família Nani Guarieiro, por terem me recebido como parte da família, torcendo sempre pelo meu sucesso, em especial a Getúlio e Elisabeth.

Aos meus eternos mestres e amigos, Renata, Marcelo e Arie, pelo incentivo, dedicação, mas principalmente, pela amizade.

Aos amigos, que mesmo distante, torceram pela realização desse momento, em especial Lara, Mimi, Allan, Nailson, Lucas, Lucrécio e Zezinho.

Aos amigos presentes, que fazem dos meus dias em Lavras mais alegres e suaves, em especial Andréa, Dessa, Fran, Aline e Aline VIP.

Enfim, a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização de mais essa etapa.

MUITO OBRIGADA!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	i
ABSTRACT	iii
1 INTRODUÇÃO	01
2 REFERENCIAL TEÓRICO	03
2.1 Origem dos citros.....	03
2.2 Porta-enxertos no Brasil.....	04
2.3 Qualidade de sementes.....	06
2.4 Armazenamento de sementes.....	08
2.5 Atividade enzimática e protéica.....	11
2.6 Tecnologia de preparo de sementes em citros	14
2.7 Condicionamento osmótico	17
2.8 Benefícios do condicionamento osmótico	20
3 MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1 Tratamento químico.....	22
3.2 Determinação do teor de água	23
3.3 Condicionamento osmótico	23
3.4 Teste de germinação	23
3.5 Teste de emergência em bandeja	24
3.6 Condutividade elétrica	24
3.7 Avaliações moleculares	25
3.7.1 Preparo do material para análise eletroforética.....	25
3.7.2 Extração de enzimas e análise eletroforética	25
3.8 Procedimentos estatísticos	27
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
4.1 Ensaio 1: Condicionamento osmótico em sementes armazenadas de limão cravo.	27

4.1.1	Determinação do grau de umidade	28
4.1.2	Teste de germinação	30
4.1.3	Índice de velocidade de germinação (IVG)	34
4.1.4	Teste de emergência em bandeja	38
4.1.5	Índice de velocidade de emergência	42
4.1.6	Condutividade elétrica	45
4.1.7	Análise da atividade enzimática.....	50
4.2	Ensaio 2: Condicionamento osmótico em sementes armazenadas citrumelo ‘Swingle’	60
4.2.1	Determinação do grau de umidade	60
4.2.2	Teste de germinação	62
4.2.3	Índice de velocidade de germinação (IVG)	66
4.2.4	Teste de emergência em bandeja	70
4.2.5	Índice de velocidade de emergência	73
4.2.6	Condutividade elétrica	76
4.2.7	Análise da atividade enzimática.....	80
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	90
6	CONCLUSÕES	91
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92
	ANEXOS	105

RESUMO

DANTAS, Ísis Barreto. **Condicionamento fisiológico em sementes de limão cravo e citrumelo ‘Swingle’**. 2009. 123 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

Vários mecanismos têm sido utilizados para que sementes de citros possuam uma germinação rápida e tenham uniformidade de plantas, tais como a embebição em água, condicionamento osmótico e beneficiamento de sementes. Neste trabalho teve-se por objetivo avaliar metodologias de condicionamento osmótico no desempenho fisiológico em sementes de limão cravo e citrumelo ‘Swingle’. O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais. Foram utilizadas sementes de limão cravo (*Citrus limonia* Osbeck) e citrumelo ‘Swingle’ (*Citrus paradisi* Macfad. cv. Duncan x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf., adquiridas com produtores do Estado de São Paulo, através da empresa CUTRALE[®]. As sementes foram tratadas com Captan+Tecto 600 (30g+10g/20l de semente) e armazenadas em câmara fria (10 °C e 50% UR), sem secagem, por 3, 6 e 9 meses. Após cada período de armazenamento, as sementes foram submetidas ao condicionamento por imersão em solução aerada de Polietilenoglicol (PEG 6000), nitrato de potássio (KNO₃) e combinação de 70% de PEG e 30% de KNO₃, com potencial osmótico de -1,1MPa, nos períodos de 3, 6, 9 e 12 dias, com um tratamento controle (sementes secas). O osmocondicionamento foi realizado em câmaras BOD, a 25°C e na presença de luz. Após cada período de embebição estabelecido, amostras foram retiradas, lavadas em água corrente e avaliadas por meio dos testes de germinação, índice de velocidade de germinação (IVG), emergência em bandeja, índice de velocidade de emergência (IVE), condutividade elétrica e atividade enzimática e protéica (ADH, MDH, SOD, PO, EST, CAT e LEA proteína). O condicionamento fisiológico em solução aerada de PEG 6000, independente do período de embebição, ou em solução de KNO₃ ou PEG 6000 + KNO₃, por até 9 dias, é eficiente para melhorar o desempenho fisiológico de sementes de limão cravo, armazenadas por até 3 meses. Condicionamento em solução contendo PEG 6000 ou KNO₃, por 6 dias, aumentou a porcentagem de germinação em sementes não armazenadas de citrumelo ‘Swingle’. Já depois de armazenadas por até 3 meses, os tratamentos mais eficientes foram condicionamento em PEG 6000, por 6 dias, ou em KNO₃, com período de 6 a 12 dias de embebição.

* Comitê Orientador: Dr. Renato Mendes Guimarães – UFLA (Orientador) e Prof^a. Dr^a. Édila Vilela de Rezende Von Pinho – UFLA.

As enzimas superóxido dismutase (SOD), malato desidrogenase (MDH) e álcool desidrogenase (ADH) são as mais eficientes para avaliar alterações devidas ao condicionamento tanto em sementes de limão cravo, quanto de citrumelo Swingle. Sendo assim, o condicionamento fisiológico de sementes é uma técnica promissora para melhorar a qualidade fisiológica de sementes de limão cravo e citrumelo 'Swingle'.

ABSTRACT

DANTAS, Ísis Barreto. **Physiological conditioning in rangpur lemon and citrumelo ‘Swingle’ seeds**. 2009. 123 p. Dissertation (Master in Agronomy) - Federal University of Lavras, Lavras, MG.

Many mechanisms have been used for that citrus seeds germinate faster and with uniformity, such as water embibition, osmotic conditioning and seed standardization. In this work the objective was evaluate osmotic conditioning methodologies in physiological performance for rangpur lime and ‘Swingle’ citrumelo seeds. The experiment was lead in the Laboratory of Seeds Analysis of the Department of Agriculture of the Federal University of Lavras, Minas Gerais. Rangpur lemon (*limonia Citrus Osbeck*) and ‘Swingle’ citrumelo (*Citrus paradisi Macfad. cv. Duncan x Poncirus trifoliata (L.) Raf.* seeds, received from the interprise CUTRALE[®], were used. Seeds were treated with Captan+Tecto 600 (30g+10g/20l of seed) and stored in cold chamber (10 °C e 50% UR), without drying, for 3, 6 and 9 months. After each period of storage, seeds were submitted to osmotic conditioning for immersion in airy solution of Poliethylenoglicol (PEG 6000), potassium nitrate (KNO₃) and combination of 70% of PEG and 30% of KNO₃, with osmotic potential of -1,1MPa, in the periods of 3, 6, 9 and 12 days, with a controlled treatment (dry seeds). The osmoconditioning was carried through in chambers BOD, at 25°C, in the light presence. After each period of established embibition, samples were removed, washed in current water and evaluated by germination tests, index of germination speed (IVG), emergency in tray, index of emergency speed (IVE), electrical conductivity and enzyme and proteic activity (ADH, MDH, SOD, PO, EST, CAT and LEA protein). Physiological conditioning in airy PEG 6000 solution, independent of the embibition period, or in KNO₃ or PEG 6000 + KNO₃ solution, for up to 9 days, is efficient to improve physiological seeds performance, stored for until 3 months, of rangpur lemon. For citrumelo ‘Swingle’ seeds that were not stored, conditioning in solution containing PEG 6000 or KNO₃, for 6 days, increased germination percentage. After 3 months stores, the most efficient treatments were conditioning in PEG 6000, for 6 days, or in KNO₃, in a embibition period from 6 to 12 days.

* Guidance Committee: Dr. Renato Mendes Guimarães – UFLA (Major Professor) e Prof^ª. Dr^ª. Édila Vilela de Rezende Von Pinho – UFLA.

The most efficient enzymes used to evaluate changes due to conditioning were superoxide dismutase, malate dehydrogenase and alcohol dehydrogenase, for rangpur lemon such as for 'Swingle' citrumelo. Seeds physiological conditioning is a promising technique to improve physiological quality of rangpur lemon and citrumelo 'Swingle' seeds.

1 INTRODUÇÃO

Um dos focos principais da citricultura nacional é a obtenção de plantas matrizes certificadas, que permitam aos citricultores dispor de material com comprovada autenticidade varietal, isento de patógenos e produção de mudas vigorosas e sadias. Para esses objetivos, busca-se atualmente a formação de mudas em ambientes protegidos, utilizando sementes oriundas de plantas sadias e borbulhas de origem conhecida (Jabur & Martins, 2002).

A produção mundial de citros é de aproximadamente 102 milhões t por ano, e é oriunda de extensa área cultivada, com 7,3 milhões ha, que supera em grande parte outras fruteiras tropicais e subtropicais como banana, maçã, manga, pêra, pêssego e mamão. Os maiores produtores de laranjas são o Brasil e os Estados Unidos, que juntos representam aproximadamente de 45% do total mundial (Pompeu Júnior et al., 2005). Destacam-se ainda nesse panorama África do Sul, Espanha e Israel, com a produção de laranjas para o mercado *in natura* e tangerinas, e o México, com a lima ácida Tahiti, além dos novos parques citrícolas emergentes na Ásia, como a China.

No Brasil, a produção de citros ocorre principalmente no Estado de São Paulo, onde se encontram aproximadamente de 85% da produção brasileira de laranjas (14,8 milhões t; 700 mil ha); também, na ordem de aproximadamente 1,5 milhão t, destaca-se a produção de Tahiti e tangerinas, como a Ponkan e o tangor Murcott (Graf, 2008). Outros estados como Bahia, Minas Gerais, Pará, Paraná e Rio Grande do Sul contribuem para o agronegócio dos citros com a produção, principalmente, de laranjas, tangerinas e Tahiti.

Dentro do contexto atual, a utilização de mudas sadias e certificadas vem tornando-se um fator obrigatório, em face da necessidade de formação de pomares com altas tecnologias com potencial para produtividades e custos de

produção competitivos no mercado mundial. Na fase de produção da muda cítrica, a produção de porta enxerto é responsável por cerca de 60% do tempo demandado e entre os fatores responsáveis por essa demora, encontram-se o período de germinação das sementes, que pode chegar a 60 dias ou mais, dependendo do porta-enxerto usado, bem como a desuniformidade entre as plântulas, que é atribuída à desuniformidade no vigor das sementes.

O híbrido citrumelo ‘Swingle’ atualmente ocupa a segunda posição na utilização como porta enxerto de todas as plantas cítricas do país, perfazendo pouco mais de 23% das propagações (Graf, 2008). O limão cravo, entretanto, continua prevalecendo, com pouco mais de 57% das mudas produzidas.

Uma alternativa, que tem sido empregada para promover uma germinação uniforme e rápida em sementes é o condicionamento osmótico em sementes (Roveri José, 1999; Guimarães, 2000). Nesse tratamento as sementes são hidratadas até uma fase anterior à protrusão das radículas, e em seguida, secas e armazenadas sob condições para sua preservação. No entanto, para citros, existem poucos relatos usando esta metodologia, que em termos de custo, algumas vezes é mais barata que a utilização de certos hormônios como ácido giberélico, que tem sido empregado visando reduzir o tempo de germinação. É importante, portanto, o desenvolvimento de pesquisas no sentido de verificar a possibilidade da adequação dessa técnica, que potencialmente pode contribuir para a produção de mudas cítricas de alta qualidade.

Sendo assim, neste trabalho teve-se por objetivo avaliar metodologias de condicionamento osmótico no desempenho fisiológico e mudanças bioquímicas em sementes de limão cravo e citrumelo ‘Swingle’.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Origem dos citros

O gênero *Citrus* é nativo da região Sudeste do continente Asiático, com ramos fitogenéticos que se estendem do centro da China até o Japão, e do Leste da Índia à Nova Guiné, Austrália e África tropical (Swingle & Reece, 1967).

Os citros compreendem um grande grupo de plantas do gênero *Citrus* e outros gêneros afins (*Fortunella* e *Poncirus*) ou híbridos, da família Rutaceae, representado na maioria por laranjas, tangerinas, limões, limas (ácidas e doces), pomelos, cidras e toranjas (Webber, 1967). São plantas perenes, com características mesofíticas (gemas quase desnudas, folhas largas, pouco espessas, com estômatos superficiais, ausência de pêlos e cutícula fina) e perenifólia (tem folhas o ano todo, desenvolvendo fluxos de crescimento vegetativo na primavera e verão). São cultivadas em várias regiões do mundo, adaptando-se a diferentes condições edafoclimáticas, garantindo-se o manejo adequado da irrigação e nutrição dos pomares (Spiegel-Roy & Goldschmidt, 1996).

O primeiro fruto a ser conhecido pelas civilizações européias foi a cidra (*C. medica* L.), seguida pela laranja azeda (*C. aurantium* L.), limão (*C. limon* Burmann) e laranja doce (*C. sinensis* Osbeck) (Webber et al., 1967). A introdução do citros no restante do globo, incluindo as Américas, Sul da África e Austrália, foi realizada pela expansão colonial européia. Todas as espécies de *Citrus* economicamente importantes foram originadas no continente asiático, com exceção do pomelo (*C. paradisi* Macfadyen), que provavelmente surgiu como híbrido natural em Barbados, na América Central, após a introdução da toranja e da laranja doce pelos colonizadores europeus (Alves & Melo, 2001).

As plantas cítricas são cultivadas em uma faixa no globo compreendida entre os paralelos 35° N e 35° S. Entretanto, as principais áreas produtoras concentram-se em regiões subtropicais, em latitudes superiores a 20° N ou 20° S (Davies & Albrigo, 1994).

2.2 Porta-enxertos no Brasil

De 1540, quando o citros foi introduzido no Brasil por colonizadores portugueses até o final do século 19, as plantas eram propagadas por sementes (Pompeu Júnior, 1991). Com o avanço da indústria cítrica, no início do século 20, começou-se a utilização de árvores enxertadas, sendo a mais utilizada a laranja Caipira (*Citrus sinensis* L. Osbeck). Devido à baixa resistência à gomose e à seca, a laranja Caipira foi substituída pela laranja Azeda (*Citrus aurantium*), que se tornou o mais importante porta-enxerto até a década de 40, com 90% das copas enxertadas (Pompeu Júnior, 2001).

Em 1937, com o vírus da tristeza dos citros (CTV) e a sua rápida disseminação pelo pulgão preto (*Toxoptera citricidus* Kirk.), houve a morte de árvores com porta-enxerto de laranja azeda e Lima da Pérsia, que eram tolerantes ao vírus. Pesquisas realizadas no IAC (Instituto Agrônomo de Campinas), juntamente com a USDA (Departamento de Agricultura dos Estados Unidos), permitiram a renovação da citricultura brasileira com os porta-enxertos do limão Cravo (*Citrus limonia* Osbeck), da tangerina Cleópatra (*C. reshni* Hort. Ex Tanaka), do limão Rugoso (*Citrus jambhiri* Lush.) e do citrange Troyer (*Poncirus trifoliata* L. Rafinesque x *Citrus sinensis* L. Osbeck) (Pompeu Júnior, 1991; 2001).

Nos anos 60, o porta-enxerto mais utilizado foi o limão Cravo, por ser tolerante ao vírus da tristeza e à seca. Na década de 70, o declínio dos citros, doença de etiologia desconhecida, tornou-se um problema sério nos pomares devido ao limão Cravo ser suscetível à doença (Grosser & Gmitter Junior, 1990).

A intolerância do limão Cravo ao declínio causou uma pequena diversificação de porta-enxertos utilizados no Brasil. A tangerina Cleópatra, o limão Volkameriano (*C. volkameriana* Tan. e Pasq.), a tangerina Sunky (*C. sunky* Hort.) e, no início dos anos 90, o citrumelo Swingle (*C. paradisi* Marc. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) se mostraram boas alternativas para essa diversificação (Pompeu Júnior, 2001).

Com o surgimento da morte súbita dos citros (MSC), anomalia que afeta principalmente combinações de laranjeiras doces com o limoeiro Cravo, faz-se necessário o uso de outros porta-enxertos, que toleram o problema, tais como as tangerinas Cleópatra e Sunki, o citrumelo Swingle, o *Poncirus trifoliata* (trifoliata) e o limão Volkameriano. Outros porta-enxertos, ainda em fase de avaliação experimental, poderão se constituir em alternativas ao Cravo (Sutchi, 2002).

Sutchi (2002) reuniu resultados sobre resistência à seca dos porta-enxertos de citros e verificou que o limão Cravo, entre os porta-enxertos avaliados, apresentou-se mais resistentes à seca, seguido pelo limão Volkameriano, tangerina Sunki, Citrumelo 'Swingle' e tangerina Cleópatra, respectivamente.

O híbrido citrumelo 'Swingle', cuja denominação inicial era CPB 4475, obtido na Flórida no ano de 1907 pelo cientista W. T. Swingle, não apresentou qualquer qualidade do fruto para o consumo humano e a partir dos anos 40 começou a ser testado como porta-enxerto pelos pesquisadores. É tolerante a doenças como, a tristeza, exocorte, xiloporose e também a gomose. Pode apresentar incompatibilidade com algumas copas, mas os frutos das copas nele enxertadas, quando compatíveis são de ótima qualidade (Rose, 1990). Os frutos de citrumelo 'Swingle' têm em média 20 sementes/fruto com alta taxa de embrionia nucelar e apenas 10 a 15% de plantas zigóticas (Grant et al., 1961).

As cultivares enxertadas em citrumelo ‘Swingle’ produzem frutos de qualidade superior àqueles obtidos sobre os limões cravo e volkameriano (Pompeu Júnior, 2005). A escolha de um porta-enxerto adequado pode propiciar frutos de melhor qualidade, que atendam às exigências internacionais para exportação de frutas frescas, propiciar frutos de tamanho maior ou em épocas em que geralmente os preços no mercado interno são melhores e, finalmente pode ainda colaborar com as indústrias processadoras de suco, com frutos com maiores teores de suco e sólidos solúveis totais (Carlos et al., 1997).

2.3 Qualidade das sementes

A obtenção de sementes de alta qualidade representa a meta prioritária dentro do processo de produção, pois de um modo geral, a germinação e a emergência das plântulas são reflexos da qualidade fisiológica. A causa das falhas de germinação, ou mesmo da redução da velocidade de emergência, freqüentemente é atribuída ao baixo vigor, associado ao processo de deterioração (Rossetto, 1997).

O desempenho das sementes é determinado rotineiramente pelo teste padrão de germinação. Porém, nota-se que há algum tempo, pesquisadores, produtores de sementes e agricultores, não têm se mostrado satisfeitos com o uso exclusivo de informações fornecidas por esse teste que identifica o potencial fisiológico das sementes, sob condições determinadas. As condições ambientais exercem influência acentuada sobre a manifestação do potencial fisiológico das sementes e, portanto, se a semeadura for realizada em condições ambientais desfavoráveis, a emergência de plântulas normais pode ser inferior à determinada em laboratório (Miguel et al., 2002).

A temperatura e umidade relativa do ar são os principais fatores que influenciam na qualidade fisiológica da semente, em particular o vigor, durante o armazenamento. A umidade relativa do ar tem relação com o teor de umidade

das sementes, além de controlar a ocorrência dos diferentes processos metabólicos que ela pode sofrer, enquanto a temperatura influencia a velocidade dos processos bioquímicos e interfere indiretamente no teor de água das sementes. Dessa forma, as melhores condições para a manutenção da qualidade da semente são baixa umidade relativa do ar e baixa temperatura, em que se mantêm o embrião em sua mais baixa atividade metabólica (Carvalho & Nakagawa, 2000).

Portanto, há necessidade da inclusão de testes, em programas de controle de qualidade, que permitam, pelo menos, identificar diferenças no potencial fisiológico de lotes com alta germinação e/ou viabilidade, além de detectar possíveis diferenças no potencial de desempenho entre lotes com germinação ou viabilidade semelhantes. Nesse sentido, os testes de vigor, têm se constituído em ferramentas de usos cada vez mais rotineiros, pela indústria de sementes e por pesquisadores (Miguel et al., 2002).

Segundo Eira & Marcos Filho (1990), um dos sintomas do declínio da qualidade fisiológica é a redução da velocidade de germinação, representada pelo aumento do período decorrido entre a germinação da primeira e da última semente de um lote, e conseqüentemente, pela desuniformidade de desenvolvimento entre as plântulas.

A semente sob condições ambientais adversas, como altas temperaturas e déficit hídrico do solo, somadas a baixa qualidade de sementes utilizadas no plantio, pode resultar em baixa porcentagem de germinação e menor velocidade de emergência das plântulas, permanecendo as sementes por mais tempo expostas as condições desfavoráveis (Bewley & Black, 1994).

Para espécies de ciclo curto, o período compreendido entre a semente e a emergência das plântulas representa uma fase crítica para o cultivo, de modo que, a uniformidade e a porcentagem de emergência de plântulas assumem

importância na produção e na qualidade do produto obtido (Eira & Marcos Filho, 1990).

Um dos fatores que pode constituir em causa adicional à redução da emergência das plântulas, é a embebição rápida das sementes, pois é a velocidade de reorganização do sistema de membranas que reflete o vigor das mesmas (Tilden & West, 1995, citado por Rossetto, 1997).

A qualidade fisiológica das sementes exerce fundamental importância na germinação e na emergência em solo. A condutividade elétrica tem sido proposta como um teste para avaliar o vigor das sementes, visto que o valor desta é função da quantidade de íons liberados durante a embebição das sementes, estando diretamente relacionada com a integridade das membranas celulares (Matheus & Powel, 1981; AOSA, 1983; Marcos Filho et al., 1987, citados por Voll et al., 2003).

Os resultados da condutividade elétrica podem ser influenciados por vários fatores, como: presença de danos físicos, tamanho da semente, genótipo de uma mesma espécie, teor de água inicial das sementes, período de embebição e temperatura de embebição (Vieira, 2002).

Dentre os fatores citados, o teor de água das sementes por ocasião da realização da condutividade elétrica é de extrema importância na padronização do teste, bem como, na obtenção de resultados uniformes entre laboratórios e dentro de um mesmo laboratório. Dependendo da espécie, da região de produção, da época de colheita, da eficiência da secagem e do ambiente, pode ser encontrada uma amplitude de variação muito grande entre os valores (Vieira, 2002).

2.4 Armazenamento de sementes

Nas espécies recalcitrantes é muito difícil manter a qualidade das sementes durante o armazenamento, pois as próprias sementes são muito

variáveis em umidade, tamanho e viabilidade, além da falta de conhecimento de mecanismos básicos de comportamento desse grupo de sementes (Basra, 1995)

Segundo Delouche & Baskin (1973), a deterioração de sementes pode ser caracterizada como um processo inevitável, sendo, no entanto, possível retardar a taxa de deterioração por meio de práticas que conduzam a um ótimo armazenamento.

O armazenamento engloba vários procedimentos voltados à preservação da qualidade das sementes, no intuito de proporcionar um ambiente nos quais mudanças fisiológicas e bioquímicas sejam mantidas em um nível aceitável. Entretanto, uma das principais dificuldades mesmo em períodos curtos, é que a condição de alta umidade relativa necessária para prolongar a vida de armazenamento das sementes recalcitrantes são também favoráveis à proliferação de microrganismos (Berjak & Pammenter, 1996).

Vale ressaltar que o processo de deterioração é inevitável, mesmo em condições artificialmente adequadas e que a qualidade das sementes não melhora durante o armazenamento, sendo fundamental a qualidade inicial do lote.

O comportamento das sementes durante o armazenamento varia em função da temperatura, umidade relativa do ar, grau de umidade das sementes e o tipo de embalagem utilizada.

As técnicas de armazenagem naturalmente usadas para sementes recalcitrantes podem ser agrupadas em quatro tipos principais, armazenagem úmida ou embebida, técnicas de dessecação parcial, armazenagem em atmosfera controlada e armazenagem criogênica. Salienta-se ainda que a conservação das sementes pós-colheita é influenciada pela sua qualidade inicial, pelo ambiente do armazém (Carvalho & Nakagawa, 2000), pelo teor de água da semente (Delouche & Baskin, 1973) e pela presença de microrganismos.

Mesmo quando a umidade for mantida em nível adequado durante o armazenamento, a longevidade da semente é curta, variando de acordo com a

espécie, podendo ser de algumas semanas até alguns meses (King & Roberts, 1980).

A longevidade corresponde ao período em que as sementes se mantêm vivas sendo capazes de germinar quando colocadas em condições favoráveis (Toledo & Marcos Filho, 1977). A curta longevidade das sementes recalcitrantes restringe o período de sua utilização, sendo necessária a semeadura imediatamente após seu desprendimento da planta mãe.

A respiração é um processo que continua mesmo após as sementes terem sido colhidas. Esse fenômeno é necessário para que a semente se mantenha viva. Quando armazenadas o processo respiratório deve ser mantido a um nível tão baixo quanto possível para que haja uma melhor conservação, sendo impossível em sementes recalcitrantes uma vez que não toleram dessecação e devem ser mantidas com alto teor de água.

Nas sementes úmidas, a respiração que ocorre é devido principalmente aos fungos presentes (Castro et al., 1998), pois esse alto teor de água, favorece o aparecimento de microrganismos, provocando a deterioração durante o armazenamento a qual envolve uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas e físicas que eventualmente causam a morte das sementes.

A qualidade fisiológica é adquirida durante os processos de desenvolvimento e pode ser perdida por processos deteriorativos, que podem iniciar ainda nessa fase. Quando as sementes deterioram, elas perdem vigor progressivamente, apresentando redução na velocidade e uniformidade de emergência, menor resistência a condições adversas, decréscimo na proporção de plântulas normais e, finalmente, perdem a viabilidade ou capacidade de germinar (Halmer & Bewley, 1984).

Dentre as principais alterações envolvidas na deterioração, destacam-se o esgotamento das reservas; a alteração da composição química, como oxidação dos lipídios, das enzimas envolvidas na deterioração de sementes e a quebra

parcial das proteínas; a alteração nas membranas celulares, com redução da integridade, aumento da permeabilidade e desorganização das membranas celulares. Embora a deterioração progrida com a elevação do grau de umidade das sementes, os mecanismos celulares funcionais de reparo são mantidos pelo metabolismo durante a respiração aeróbica (Ibrahim & Roberts, 1983).

A perda da viabilidade das sementes no processo de deterioração é precedida por redução na capacidade de sintetizar proteínas devido ao declínio de componentes como ribossomos, RNA mensageiro e alterações em nível de transcrição e tradução com o envelhecimento das sementes (Vieira, 2002) e à degradação de macromoléculas, tais como: proteínas, lipídios, ácidos nucleicos e, conseqüentemente, à diminuição de atividades bioquímicas de sementes (Coolbear, 1995).

Com o envelhecimento das sementes, as membranas se tornam fracas, as enzimas perdem a atividade catalítica e os cromossomos acumulam mutações. Muitas mudanças bioquímicas ocorrem nas sementes que estão deteriorando, sendo difícil discriminar entre os eventos primários e secundários.

2.5 Atividade enzimática e protéica

O mecanismo de degradação de membranas e macromoléculas durante o envelhecimento tem sido objeto de pesquisas nas últimas décadas. Uma variedade de oxidações enzimáticas e espontâneas pode ocorrer para gerar radicais livres, que podem causar a destruição de grandes polímeros, incluindo os lipídios de membranas.

Pesquisadores têm demonstrado que proteínas e enzimas podem ser bons marcadores do estágio de deterioração em sementes por meio das variações eletroforéticas.

As superóxidos dismutase são um grupo de enzimas encontradas no citoplasma celular e matriz mitocondrial. Catalisam a reação de dismutação de

radicais superóxidos livres (O_2^-) produzidos em diferentes locais na célula, para oxigênio molecular (O_2) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Scandális 1993). De acordo com Halliwell & Gutteridge (1989), a SOD exerce um importante papel em proteger a célula contra os efeitos deletérios de radicais superóxidos livres, sendo considerada chave na regulação de concentrações intracelulares de radicais superóxidos e peróxidos.

O principal papel da SOD é transformar o superóxido em peróxido de hidrogênio cujo composto é muito menos reativo, porém o acúmulo de peróxido na célula também é tóxico a ela, podendo levá-la a morte, principalmente na presença de ferro (Eaton, 1991).

Para reduzir o efeito fitotóxico do peróxido de hidrogênio na célula, as enzimas catalase e peroxidase começam a atuar. A catalase é uma enzima capaz de realizar a desintoxicação de (O_2^-) e H_2O_2 (McDonald, 1999; Bailly et al., 1996). Está presente nos peroxissomas das células, decompondo o peróxido de hidrogênio em oxigênio molecular e água sem a produção de radicais livres. Em outros compartimentos como no citosol e na matriz mitocondrial o peróxido de hidrogênio é removido pelas peroxidases (McDonald, 1999).

Existem estudos que demonstram a correlação entre a perda da viabilidade das sementes e queda na atividade dessa enzima.

A enzima esterase está envolvida em reações de hidrólise de ésteres. Este grupo de enzimas hidrolíticas libera ácidos graxos dos lipídios, os quais são usados na β -oxidação, como fonte de energia para os eventos germinativos. Enquanto muitos desses lipídios são provenientes de lipossomos, alguns são constituintes de membranas, cuja degradação aumenta com a deterioração. Santos et al., (2004) observaram aumento na atividade de esterase durante o armazenamento de sementes de feijão, sendo o aumento mais expressivo na cultivar de menor qualidade fisiológica.

Aung & McDonald (1995), avaliando a atividade de esterase durante a deterioração de sementes de amendoim, observaram um decréscimo na sua atividade total, com o aumento de deterioração tanto em sementes embebidas como nas não embebidas.

A enzima malato desidrogenase (MDH) apresenta importantes funções fisiológicas dentro da célula, como enzima do ciclo de Krebs, além de atuar como papel central na maioria das rotas bioquímicas da célula. A enzima MDH exibe poucas mudanças qualitativas durante o curso de desenvolvimento de um organismo. Essas enzimas são encontradas em associação a uma grande quantidade de organelas subcelulares apresentando diferenças na regulação da atividade em vários sítios (Scandalios, 1974). Por se tratar de uma enzima importante na respiração, o aumento do número e ou intensidade de coloração de bandas em sementes submetidas a períodos longos de armazenamento, pode ser em função do aumento da respiração que ocorre em sementes que se encontram em processo de deterioração avançado, uma vez que enzimas envolvidas na respiração podem ser ativadas em sementes de qualidade reduzida (Shatters et al., 1994).

Embora a função de proteínas *lea* ainda não esteja bem esclarecida, sua estabilidade, afinidade com moléculas de água e abundância em organismos que toleram a desidratação, sugerem a importância de seu papel para a aquisição de tolerância à dessecação (Blackman et al., 1991). Proteínas *lea*, moduladas por ácido abscísico, acumulam em embriões de sementes de milho e cevada, durante os estádios mais tardios do desenvolvimento, em fase correspondente à aquisição de tolerância à dessecação (Bostock & Quatrano, citados por Leprince et al., 1993), e a sua expressão cessa rapidamente após embebição (Blackman et al., 1991). Segundo Thomann et al. (1992), proteínas *lea*, moduladas por ABA, acumulam em embriões de sementes de milho, durante a secagem lenta, em fase correspondente à aquisição de tolerância à dessecação. Wolkers et al. (1998)

observaram que embriões imaturos de milho, tolerantes à dessecação, submetidos à secagem lenta, apresentam padrões de proteínas semelhantes aos das proteínas *lea* presentes em sementes maduras e tolerantes à dessecação.

Primeiramente descobertas em embriões de algodão, as proteínas *lea* foram detectadas em várias outras espécies, como ervilha, soja, colza, cenoura, mamona, *Arabidopsis*, beterraba (Blackman et al., 1995), em estádios tolerantes à dessecação, durante o desenvolvimento das sementes ou após o início de embebição.

Sementes de milho apresentam redução gradativa da sensibilidade à dessecação após a maturidade e, quando submetidas a uma secagem prévia em baixa temperatura (35°C), adquirem tolerância à secagem a 50°C (Rosa, 2000). Nessas sementes ocorreu indução de tolerância à alta temperatura, em decorrência da ativação de mecanismos de defesa contra os efeitos danosos da retirada de água. Mao et al. (1995) verificaram que mutantes de milho, intolerantes à dessecação e que não produzem ácido abscísico e nem proteínas *lea* após a imposição do estresse de água, o fazem em resposta à aplicação exógena do ácido abscísico.

2.6 Tecnologia de preparo de sementes em citros

A formação de porta-enxertos cítricos, em sua grande maioria é feita através da propagação por sementes. Devido ao longo período de germinação, durando de 15 até 60 dias ou mais, a depender da espécie, as plântulas no viveiro possuem variação no seu tamanho (Cohen, 1956; Monselise, 1962; Platt & Optiz, 1973; Fucik, 1978; Mobayen, 1980). Esta variação é indesejável, complicando e aumentando a quantidade de operações de manuseio requeridas pelas plântulas no viveiro, fatores estes que aumentam os custos de produção. Comercialmente, variações entre tamanho de plântulas são usualmente reduzidas

com transplante para a bandeja, havendo um descarte de 50% das plântulas (Chilembwe et al., 1992).

A semente cítrica possui elevado conteúdo lipídico sendo sensível à secagem excessiva. Morfologicamente possui 2 camadas protetoras, a mais externa, denominada testa, é rígida e lenhosa, de coloração branco-creme. A camada mais interna denominada tegumento (tegma) constitui-se de uma fina membrana cuja formação é originária essencialmente do integumento intermediário do óvulo e também contém tecidos remanescentes do nucelo sendo que a cor varia de vermelho púrpuro ao marrom (Queiroz et al., 2005).

Das 9 espécies de citrus cultivados, sete são poliembriônicas, e apresentam apomixia facultativa ou seja as sementes possuem tanto embriões zigóticos ou sexual diferentes da planta mãe como apomíticos ou nucelares, idênticos a planta mãe (Queiroz et al., 2005). Essa poliembrionia é um fenômeno comum em muitas espécies cítricas, sendo a maioria desses embriões de origem nucelar (apogâmicos).

O número de embriões contidos numa semente é influenciado também pela cultivar, pelo estado nutritivo do fruto, pelos fatores ambientais e pelo clone polinizador (Soares Filho et al., 1995). Nos programas de melhoramento genético de citros têm-se a poliembrionia como um obstáculo à criação intencional de novas variedades (Soares Filho et al., 2000).

A germinação das sementes é do tipo hipógea (Spiegel Roy & Goldschmidt, 1996), é lenta podendo chegar até 60 dias para a estabilização do estande em viveiro.

Para se alcançar uma germinação rápida e uniformidade das sementes, vários tratamentos têm sido utilizados, sendo a técnica de remoção do tegumento a mais promissora (Cohen, 1956; Monselise, 1959; 1962). Contudo, esta técnica usada por empresas produtoras de mudas é muito onerosa.

Além das sementes de citros germinarem lentamente e da necessidade de extração dos tegumentos, a maioria das sementes de espécies cítricas é considerada recalcitrante. Para que as sementes possuam uma germinação rápida e tenham uniformidade de plantas, vários tratamentos têm sido utilizados, com sucesso em várias espécies, como a embebição em água (Kidd & West, 1918; Elze, 1949), condicionamento osmótico (Heydecker, 1978; Heydecker & Gibbins, 1978; Khan et al., 1978;) e padronização de sementes (Hunter & Kannerberg, 1972; Lahiri et al., 1982) tendo obtido melhoras na germinação de sementes, uniformidade de plântulas e aumento na produção.

O tratamento de sementes envolve a aplicação de diversos processos e substâncias às sementes com o objetivo de preservar ou aperfeiçoar seu desempenho, possibilitando um aumento de produtividade da cultura (Menten, 1996). De uma maneira geral pode ser definido como qualquer operação que envolva as sementes, seja através de seu manejo ou incorporação de produtos químicos ou biológicos, à sua superfície ou interior, ou aplicação de agentes físicos, visando à melhoria ou garantia do seu desempenho em condições de cultivo (Machado, 2000).

O uso de fungicidas para tratamento químico de sementes é um dos métodos de mais baixo custo no controle integrado de doenças de plantas. Não só com o interesse de eliminar os patógenos associados às sementes, mas também proteger as sementes e as plântulas durante sua fase inicial de desenvolvimento contra agentes patogênicos presentes na semente e no solo (Ruano et al., 1989).

Machado (2000) relata que a completa erradicação, ou redução a níveis toleráveis de um patógeno associado às sementes, nem sempre é possível através de um único método. Diversos fatores podem interferir na eficácia de um ou de outro método, fazendo com que o uso combinado desses seja uma tática necessária para o sucesso do tratamento de sementes.

Em citros, a combinação do tratamento térmico e o químico tem sido uma necessidade para o tratamento das sementes, sendo o uso de fungicidas protetores, como Thiram, Captan etc, quase sempre indispensável após o tratamento à base de calor (Carvalho, 2001).

2.7 Condicionamento osmótico

Muitos estudos têm sido realizados com o intuito de reduzir o tempo necessário entre a semeadura e a emergência das plântulas, bem como aumentar a tolerância das sementes às condições adversas durante a germinação. Tratamentos como o condicionamento osmótico ou “priming” têm apresentado resultados bastante promissores (Taylor & Herman, 1990; Khan, 1992).

Quando uma semente se hidrata, uma série de mudanças fisiológicas e bioquímicas ocorre no embrião. Uma embebição prolongada, particularmente sob baixos potenciais hídricos, apresenta uma influência bastante acentuada na velocidade, sincronia e porcentagem de germinação das sementes. Segundo Khan (1992), vários procedimentos de hidratação das sementes têm sido desenvolvidos para aumentar a taxa e a uniformidade de emergência das plântulas. Um desses procedimentos tem sido a embebição das sementes com quantidades limitadas de água, sob temperaturas baixas ou moderadas (pré-hidratação).

Outro procedimento refere-se à pré-germinação das sementes em condições ótimas de umidade e temperatura, e a semeadura com a utilização de géis, os quais atuam como substâncias protetoras do eixo embrionário. Uma terceira técnica tem sido a hidratação das sementes em umidades relativas do ar elevadas (umidificação). A quarta e mais popular técnica seria a hidratação das sementes em soluções de baixo potencial hídrico de solutos orgânicos e inorgânicos por determinados períodos de tempo (condicionamento osmótico)

ou por meio da embebição das sementes em meio sólido (condicionamento mátrico) (Khan, 1992).

Baseado em outros trabalhos, a técnica foi desenvolvida na Inglaterra com sementes de olerícolas e flores, com o objetivo de promover após sementeira, uma germinação mais rápida que a normal (Heydecker et al., 1975).

A técnica do condicionamento osmótico tem por objetivo reduzir o tempo de emergência das plântulas, bem como sincronizar e melhorar a porcentagem de germinação. Tal procedimento baseia-se no controle da hidratação de sementes a um nível que permita que ela inicie a atividade metabólica pré-germinativa, mas iniba a protrusão da radícula.

As sementes são colocadas em solução aquosa de um composto quimicamente inerte, mas osmoticamente ativo. Assim, as sementes iniciam a embebição de água normalmente, paralisando o processo assim que entram em equilíbrio com o potencial osmótico da solução. O potencial osmótico é ajustado de maneira a permitir a ocorrência de todos os processos preparatórios da germinação, mas impedir o alongamento celular e, conseqüentemente, a emergência da radícula, mesmo após semanas de contato entre as sementes e a solução osmótica (Heydecker et al., 1975; Khan et al., 1978).

Sementes tratadas desta forma podem ser novamente desidratadas ao conteúdo de umidade inicial sem perda significativa dos efeitos benéficos promovidos pelo tratamento. Esse processo de secagem das sementes após o tratamento de condicionamento osmótico tem sido comumente designado na literatura como hidratação-desidratação (Peñaloza & Eira, 1985).

Durante o condicionamento osmótico a semente hidrata-se lentamente, o que permite um maior tempo para a reparação ou reorganização das membranas plasmáticas, possibilitando a formação dos tecidos de maneira mais ordenada e reduzindo os riscos de danos ao eixo embrionário causados pela rápida embebição. Várias mudanças fisiológicas e bioquímicas ocorrem nas sementes

durante o tratamento ou em consequência do condicionamento osmótico. Essas mudanças incluem a síntese de macromoléculas, atividade de várias enzimas, aumento no poder germinativo e vigor e superação da dormência (Khan, 1992).

O vigor das sementes, com frequência, mostra-se elevado com o condicionamento osmótico, bem como a taxa e porcentagem de emergência das plântulas, revelando resultados superiores àqueles obtidos com sementes não tratadas de várias espécies, particularmente sob condições adversas de plantio, tais como: baixas e altas temperaturas, déficit hídrico ou salinidade (Cano et al., 1991; Pill et al., 1991). O tratamento pode aumentar, também, a emergência das plântulas e a produtividade de várias culturas, com destaque para a cenoura, alface, tomate, pepino, cebola e alho (Dearman et al., 1987; Khan, 1992).

Além das sementes de espécies de hortaliças há relatos de que o condicionamento osmótico pode aumentar o desempenho das sementes de culturas como soja e milho doce. Segundo Tilden & West (1985), o condicionamento osmótico reverteu os efeitos do envelhecimento em sementes de soja, aumentando a porcentagem de germinação de sementes de baixo vigor e reduzindo os valores de condutividade elétrica. Sung & Chang (1993) verificaram que o condicionamento osmótico aumentou a porcentagem final e a uniformidade de emergência de sementes de milho doce, especialmente em baixas temperaturas.

Sementes que não receberam o tratamento do condicionamento osmótico, durante a embebição, tiveram o volume de água absorvido estabilizado antes da emergência da radícula. Em condições de estresse, com o potencial hídrico reduzido, o conteúdo de água das sementes para atingir esse equilíbrio é menor e, a depender do potencial, o início da germinação pode ser retardado ou inibido (Silva, 2000).

A duração total dos eventos que ocorrem durante o condicionamento osmótico, do início da embebição até a emergência da radícula, é de fato mais

longa que a da germinação convencional, já que as fases de embebição e ativação de enzimas (fases I e II da germinação) são estendidas com o tratamento. Porém, como é realizada antes da semeadura, há uma demanda menor de tempo para emergência, já que esta fase é reduzida ou eliminada (Silva, 2000).

2.8 Benefícios do condicionamento osmótico

Diversos benefícios do condicionamento osmótico têm sido relatados, sendo um deles a maior probabilidade de se obter uma rápida emergência, particularmente em condições de estresse, como déficit hídrico ou temperatura inadequada (Eira, 1998).

Sabe-se que a temperatura exerce um importante papel durante a germinação de sementes e que, a depender da espécie, cultivar ou lote, temperaturas muito baixas ou muito elevadas afetarão a germinação. Tem-se observado um melhor desempenho das sementes condicionadas quando semeadas em temperaturas sub ou superótimas para diferentes espécies, como alho poró, alface, beterraba, brassicas, cenoura, melão, milho doce, pimentão, pimenta, tomate, no entanto, não foi relatada nenhuma pesquisa envolvendo sementes de citros.

Devido à uniformidade de germinação e emergência observadas em sementes condicionadas, tem-se obtido um planejamento da execução dos tratamentos culturais e da colheita, além do que, um estabelecimento mais rápido de plântulas no campo implicará em um menor ciclo da cultura e menor risco, diminuindo a competição e controlando as plantas infestantes e obtendo uma melhor eficiência de irrigação (Silva, 2000).

A técnica ainda possibilita a obtenção de uma maior porcentagem de germinação para sementes sob baixa disponibilidade hídrica, níveis elevados de salinidade e temperatura subótima ou supraótima (Guimarães, 2000). Dentre

estes fatores, a salinidade é outro fator que se tem tornado limitante para produção agrícola, especialmente em regiões áridas ou semi-áridas. As sementes sem tratamento, ao serem semeadas em solos com alta concentração de sais, possuem uma tendência a retardar ou não germinar (Cano et al., 1991; Pill et al., 1991). Jeller (2003), trabalhando com Cássia-do-nordeste (*Cassia excelsa* Schrad) observou que na germinação as sementes condicionadas com PEG nos potenciais de -0,4 e -0,6 MPa foram eficientes em superar o estresse salino do meio germinativo de -1,0 e -1,4 da solução salina de NaCl a 27°C.

A germinação das sementes e a emergência das plântulas podem ser marcadamente reduzidas pela ação de microrganismos, especialmente por fungos dos gêneros *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia* e *Fusarium* (Agrios, 1998). Sementes de hortaliças condicionadas têm sido utilizadas para minimizar o efeito desses microrganismos, reduzindo assim a incidência de “*damping off*” (Taylor et al., 1985; Osburn & Schroth, 1989; Rush, 1991).

Em hortaliças, problemas relacionados com a aderência do tegumento (testa) aos cotilédones durante a emergência também têm sido minimizados pelo condicionamento osmótico (Nascimento & West, 1998).

Tem-se sugerido que o período para maturação e colheita de algumas olerícolas pode ser influenciado pelo tempo gasto por ocasião da germinação e emergência (Currah, 1978). Entretanto, se esta rápida emergência proporcionada pelo condicionamento osmótico é acompanhada pela taxa de crescimento das plântulas, maturidade e finalmente produtividade é uma questão ainda não totalmente elucidada. Estudos relacionados com o desenvolvimento de plântulas após o condicionamento osmótico têm sido realizados em diferentes espécies como alface, brócolos, coentro, pimentão, melão, tomate, dentre outras. Com relação à produtividade, não se tem observado resposta positiva ao tratamento em alface, aipo, tomate e outras (Silva, 2000).

Embora vários estudos tenham sido desenvolvidos com diversas espécies olerícolas de interesse econômico, no caso das sementes de citros, a informação disponível na literatura concernente à resposta da espécie ao condicionamento osmótico ainda é esparsa e inconsistente.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Minas Gerais. Foram realizados dois ensaios, utilizando a mesma metodologia para ambos, no entanto foram utilizadas espécies diferentes: no primeiro foram utilizadas sementes de limão cravo (*Citrus limonia* Osbeck) e no segundo, sementes do híbrido citrumelo ‘Swingle’ (*Citrus paradisi* Macfad. cv. Duncan x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. e. As sementes foram adquiridas com produtores de mudas cítricas do estado de São Paulo, através da empresa CUTRALE®.

3.1 Tratamento químico e armazenamento

As sementes foram colhidas em São Paulo e imediatamente trazidas para Lavras, onde foram tratadas com Captan + Tecto 600 (30g+10g/20l de semente) e foram armazenadas, sem secagem (com umidade de 62,8%), em embalagens impermeáveis de polietileno em volume de 4,5 litros e envolvidas em sacos plásticos de cor preta (Carvalho, 2001), por períodos de três, seis e nove meses em câmara fria (10°C e 50%UR), no setor de sementes da UFLA.

3.2 Determinação do teor de água

O teor de água das sementes foi avaliado durante todo o armazenamento e determinado pelo método da estufa, $105^{\circ}\text{C} \pm 3$ durante 24 horas, conforme as recomendações das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992).

3.3 Condicionamento osmótico

Após cada período de armazenamento, as sementes foram submetidas ao condicionamento osmótico por imersão em solução aerada de Polietilenoglicol (PEG 6000), nitrato de potássio (KNO_3) e combinação de 70% de PEG e 30% de KNO_3 , com potencial osmótico de $-1,1\text{MPa}$, nos períodos de 3, 6, 9 e 12 dias, com um tratamento adicional (sementes secas). O osmocondicionamento foi realizado em câmaras BOD com temperatura de 25°C e na presença de luz.

Após cada período de embebição estabelecido para o tratamento, amostras das sementes submersas foram retiradas, lavadas em água corrente e avaliadas por meio dos testes de germinação, índice de velocidade de germinação (IVG), condutividade elétrica (CE), emergência em bandeja, índice de velocidade de emergência (IVE) e caracterização isoenzimática.

3.4 Teste de germinação

O substrato para semeadura foi o papel do tipo germitest, umedecido com água destilada em quantidade de 2,5 vezes o peso seco do papel. Foram utilizadas 4 repetições de 50 sementes. As sementes intactas, ou seja, sem destegumentação, foram colocadas em germinador regulado à temperatura de 25°C , na presença de luz e a contagem das sementes germinadas de limão cravo foi realizada aos 30 dias e para o citrumelo aos 40 dias após a semeadura. Foram consideradas como plântulas normais aquelas que apresentarem o folíolo exposto, presença de raízes primárias com no mínimo 3 cm. Os resultados foram expressos em porcentagem.

Juntamente com o teste de germinação foi determinado o índice de velocidade de germinação (IVG), através de contagens diárias das plântulas germinadas a partir do primeiro dia de germinação, computando-se o número de plântulas normais até a estabilização do estande aos 30 dias. O resultado calculado pelo índice de velocidade de germinação foi determinado segundo fórmula proposta por Maguire (1962).

3.5 Teste de emergência em bandeja

Foi realizado em bandeja plástica contendo como substrato a mistura de areia e terra na proporção de 2:1. O substrato foi umedecido até a capacidade de 70% de retenção de água. Foram utilizadas 4 repetições com 50 sementes por tratamento. Após a sementeira, as bandejas foram mantidas em câmara de crescimento vegetal, previamente regulada à temperatura de 25°C, em regime alternado de luz e escuro (12 horas). A porcentagem de plântulas normais emergidas foi computada após 30 dias da sementeira. Foram consideradas como plântulas normais aquelas que apresentaram o folíolo exposto a, no mínimo, 3 cm do solo. Os resultados foram expressos em porcentagem.

Juntamente com o teste de emergência em bandeja foi determinado o índice de velocidade de emergência (IVE), através de contagens diárias das plântulas normais a partir do primeiro dia de emergência, computando-se o número de plântulas emergidas até a estabilização do estande aos 40 dias. O resultado calculado pelo índice de velocidade de emergência foi determinado segundo fórmula proposta por Maguire (1962).

3.6 Condutividade elétrica

Foram utilizadas 50 sementes (4 repetições de 50 sementes). As sementes foram previamente pesadas com precisão de centigramas e acondicionadas em copos plásticos descartáveis (200 mL) e adicionado 75 mL

de água destilada, sendo levadas para uma câmara de germinação tipo BOD a 25° C por 24 horas (AOSA, 1983). Após este período, as amostras foram retiradas e procedeu-se à leitura em $\mu\text{S}/\text{cm}$, em condutímetro de massa da marca Quimis Q145D e os resultados expressos com base no peso da amostra (Vieira & Carvalho, 1994; Torres, 1996).

Fórmula para transformação:

$$\text{Condutividade } (\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}) = \frac{\text{Condutividade lida} - \text{Condutividade da água}}{\text{Peso das 50 sementes (g)}}$$

3.7 Avaliações moleculares

3.7.1 Preparo do material para análise eletroforética

Na execução de cada teste em intervalos de 0, 3, 6 e 9 meses de armazenamento, foram coletadas duas amostras de 50 sementes de cada tratamento e armazenadas à temperatura de -86°C em recipiente escuro.

Para análise eletroforética de isoenzimas, as sementes foram trituradas na presença de PVP e nitrogênio líquido em cadinho sobre gelo e posteriormente armazenadas à temperatura de -86°C .

3.7.2 Extração de enzimas e análise eletroforética

Para a extração das enzimas foi utilizado o tampão Tris HCL 0,2M pH8,0 + (0,1% de β Mercaptoetanol) na proporção de 250 μL por 100mg de sementes. O material foi homogeneizado em vortex e mantido durante a noite em geladeira seguido de centrifugação a 16.000 x g por 60 minutos a 4°C .

A corrida eletroforética foi em sistema de géis de poliacrilamida a 7,5% (gel separador) e 4,5% (gel concentrador). O sistema gel/eletrodo utilizado foi o Tris-glicina pH 8,9. Foram aplicados 15 μL do sobrenadante da amostras e as corridas efetuadas a 150 V por 4 horas.

Terminada a corrida, os géis foram revelados para as enzimas álcool desidrogenase (ADH), catalase (CAT), esterase (EST), peroxidase (PE), malato desidrogenase (MDH), superóxido dismutase (SOD), conforme Alfenas et al. (1991).

A análise eletroforética da proteína foi realizada pelo método SDS-PAGE e os procedimentos de extração recomendados por Blackman et al. (1991), com 100mg de eixos embrionários macerados em 1mL de tampão de extração (50mM de Tris-HCl pH 7,5; 500mM NaCl; 5mM de MgCl₂; 1mM de PMSF). As amostras foram centrifugadas a 16000 xg por 30 minutos a 4°C, o sobrenadante incubado em banho-Maria a 85°C por 15 minutos e novamente centrifugado como anteriormente; o sobrenadante foi vertido em tubos novos e o pellet descartado; antes da aplicação no gel, 40mL de tampão da amostra (2,5mL de glicerol; 0,46g de SDS; 20mg de azul de Bromofenol; Tris-HCl pH 7,5) foram adicionados em 70mL de cada extrato, seguindo-se uma incubação em banho-Maria com água em ebulição por cinco minutos. Em seguida foram aplicados 50mL de cada amostra em gel de poliacrilamida 12,5% (gel separador) e 6% (gel concentrador).

O tampão de corrida utilizado foi Tris-glicina + SDS pH 8,9 e a corrida eletroforética foi realizada em sistema vertical, à temperatura ambiente e voltagem constante de 150V por quatro horas.

Após a corrida, os géis foram corados em solução de Coomassie Brilliant Blue a 0,05% por 24 horas e descorados em solução de etanol 5%, ácido acético 10% e água 85%, conforme Alfenas (1991).

A avaliação dos géis foi realizada sobre transluminador, sendo considerada a variação de intensidade das bandas.

3.8 Procedimentos estatísticos

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial (4 x 3 x 4), sendo quatro épocas de armazenamento (0, 3, 6, 9 meses), três soluções (PEG, KNO₃ e combinação de 70 % de PEG + 30 % de KNO₃) e quatro períodos de condicionamento osmótico (3, 6, 9 e 12 dias), com um tratamento adicional (sementes secas), para cada espécie. Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes em cada teste, com exceção do teste de umidade, no qual foram utilizadas 2 repetições.

Os dados foram interpretados estatisticamente por meio da análise de variância, com exceção da análise eletroforética, e foram transformados em $\sqrt{(x+1)}$. A comparação das médias foi feita pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade (características qualitativas) e pela análise de regressão (características quantitativas), por meio do programa estatístico SISVAR[®] (Ferreira, 2000).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Ensaio 1: Condicionamento osmótico em sementes de limão cravo.

O resumo da análise de variância dos dados obtidos nos testes para avaliar o efeito do condicionamento osmótico conduzido em diferentes períodos de armazenamentos, solutos e períodos de condicionamento, sobre as sementes de limão cravo, está registrado na Tabela 1A, havendo efeito significativo da interação tripla para todas as características avaliadas.

As equações de regressão para todas as variáveis estudadas estão representadas nas Tabelas 2A, 4A, 6A, 8A e 10A quando em função do período

de armazenamento (PA), e nas tabelas 3A, 5A, 7A, 9A e 11A, quando em função do período de condicionamento (PC).

4.1.1 Determinação do grau de umidade

As médias dos resultados obtidos na determinação do grau de umidade das sementes osmocondicionadas não foram submetidas à análise estatística e estão apresentadas na Tabela 1.

De uma maneira geral, nas sementes submetidas ao condicionamento com solução contendo KNO_3 o conteúdo de água foi inferior às demais, durante todo o período de armazenamento (PA) e para todos os períodos de condicionamento (PC). Esses resultados foram seguidos pelas sementes condicionadas em solução contendo a mistura de PEG 6000 + KNO_3 . A restrição hídrica exercida pelas soluções com o sal foi maior, provavelmente pela maior facilidade de solubilização do KNO_3 . Observou-se também que o conteúdo de água foi menor na testemunha em relação às sementes condicionadas em todas as soluções, durante todo o período de armazenamento e para todos os períodos de condicionamento.

Pode-se observar ainda, que houve uma tendência de redução na embebição durante o condicionamento à medida que aumentou o tempo de armazenamento das sementes, independente do soluto utilizado. Nesse trabalho não foram levantados os motivos dessa redução na embebição, entretanto pode-se supor que seja devido às modificações ocorridas na estrutura dos tegumentos ou na composição química das sementes devido à deterioração.

Por serem recalcitrantes, é necessário que as sementes de limão cravo sejam armazenadas com teores de água superiores a 35%. Mungomery et al. (1966) mostraram que a viabilidade de sementes de tangerina Cleópatra (*Citrus reticulata* Blanco) pode ser mantida durante o armazenamento, desde que conservadas com teor de água acima de 40% e em temperaturas de 5 a 10°C.

TABELA 1 Médias em porcentagem do grau de umidade de sementes armazenadas de limão cravo, por diferentes períodos de armazenamento (PA), submetidas ao condicionamento osmótico em diferentes soluções (SOL) e períodos de condicionamento (PC).

PA (meses)	SOL	PC (dias)	U%
0	PEG 6000	3	77,2
0	PEG 6000	6	71,8
0	PEG 6000	9	74,2
0	PEG 6000	12	74,4
0	KNO ₃	3	67,5
0	KNO ₃	6	69,7
0	KNO ₃	9	64,6
0	KNO ₃	12	69,3
0	PEG 6000 + KNO ₃	3	69,4
0	PEG 6000 + KNO ₃	6	70,8
0	PEG 6000 + KNO ₃	9	66,7
0	PEG 6000 + KNO ₃	12	72,5
Test			62,8
3	PEG 6000	3	75,0
3	PEG 6000	6	70,2
3	PEG 6000	9	71,8
3	PEG 6000	12	74,4
3	KNO ₃	3	60,2
3	KNO ₃	6	66,8
3	KNO ₃	9	66,9
3	KNO ₃	12	65,3
3	PEG 6000 + KNO ₃	3	67,7
3	PEG 6000 + KNO ₃	6	66,7
3	PEG 6000 + KNO ₃	9	68,2
3	PEG 6000 + KNO ₃	12	70,9
Test			62,2
6	PEG 6000	3	66,9
6	PEG 6000	6	69,7
6	PEG 6000	9	67,5
6	PEG 6000	12	63,2
6	KNO ₃	3	66,6
6	KNO ₃	6	70,5
6	KNO ₃	9	69,3
6	KNO ₃	12	69,6
6	PEG 6000 + KNO ₃	3	67,3
6	PEG 6000 + KNO ₃	6	66,4
6	PEG 6000 + KNO ₃	9	65,4
6	PEG 6000 + KNO ₃	12	66,3
Test			61,9
9	PEG 6000	3	66,2
9	PEG 6000	6	65,5
9	PEG 6000	9	64,2
9	PEG 6000	12	68,4
9	KNO ₃	3	61,3
9	KNO ₃	6	61,5
9	KNO ₃	9	61,6
9	KNO ₃	12	61,3
9	PEG 6000 + KNO ₃	3	62,6
9	PEG 6000 + KNO ₃	6	64,9
9	PEG 6000 + KNO ₃	9	61,8
9	PEG 6000 + KNO ₃	12	64,3
Test			61,3

4.1.2 Teste de germinação

As equações de regressão para o teste de germinação estão representadas nas Tabelas 3A, quando em função do período de armazenamento (PA), e 4A, quando em função do período de condicionamento (PC).

Na Figura 1 encontram-se as curvas respostas em função do período de condicionamento (PC) e na Figura 2 encontram-se as curvas respostas em função do período de armazenamento (PA).

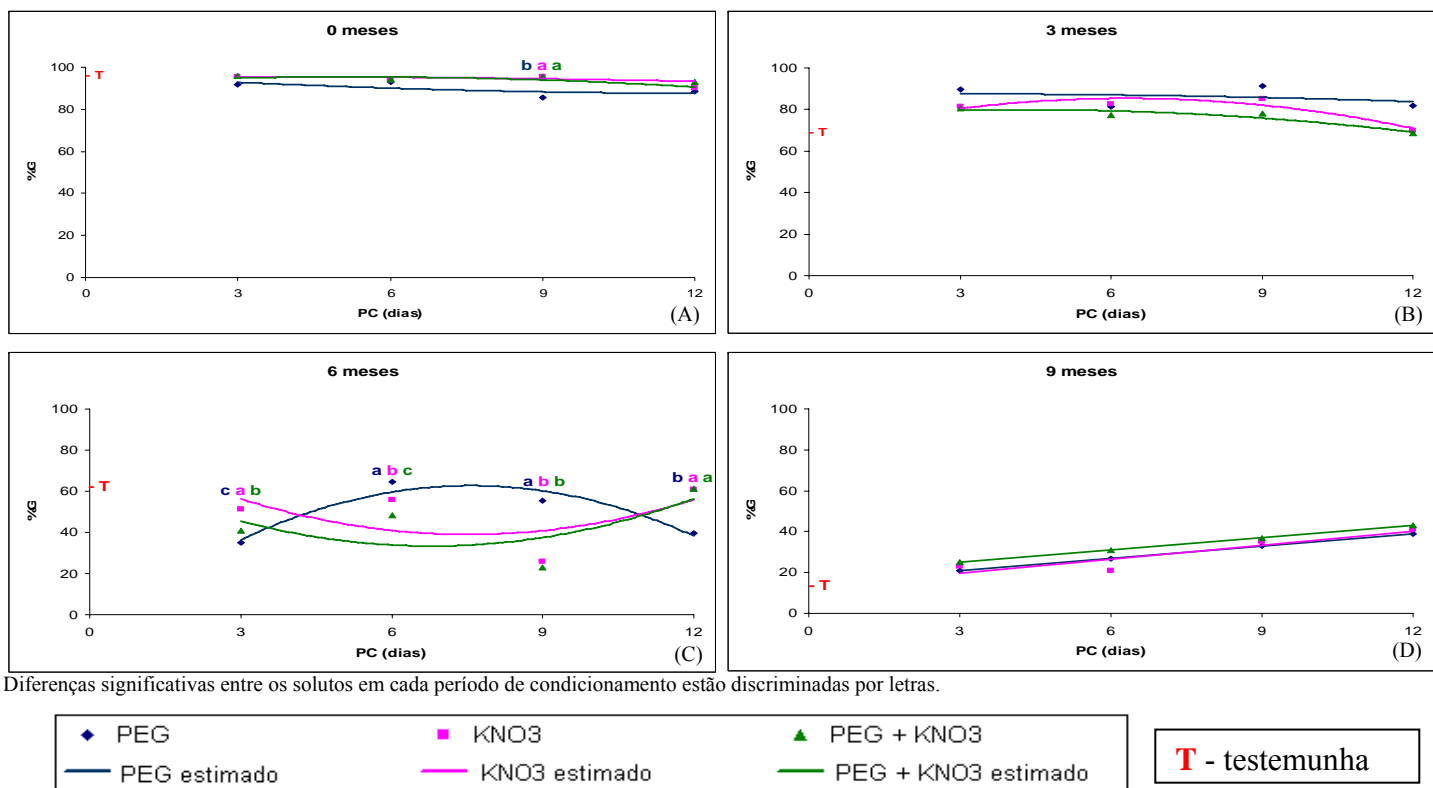
A germinação de sementes de limão cravo ocorreu em sua maioria do quinto ao trigésimo dia após o início do teste, mesmo sem ter sido realizada a extração prévia dos tegumentos, como sugerido por Silva (2006), em sementes de citrumelo 'Swingle'. Resultados semelhantes foram encontrados por Oliveira (2003) em sementes de *Poncirus trifoliata*. Soares Filho et al. (1995) sugere que a germinação lenta de diversas sementes do gênero citros pode ser atribuída às barreiras mecânicas determinadas pela presença da testa e do tegma. No entanto, Ramos et al. (1991) não observou efeito da retirada do tegumento na germinação de sementes de limão cravo e Trifoliata.

Observa-se uma tendência à constância da porcentagem de germinação das sementes não armazenadas (Figura 1A). Não houve diferença significativa na germinação de sementes não armazenadas, em função do soluto utilizado, independente do período de condicionamento aos quais foram submetidas, exceto quando foram condicionadas por 9 dias. Nesse caso a germinação das sementes condicionadas em KNO_3 e $\text{PEG 6000} + \text{KNO}_3$ foi maior que daquelas condicionadas em solução contendo apenas o PEG 6000. Em relação às sementes que não foram condicionadas não houve nenhuma diferença (Tabela 12A). No entanto, Chilembwe et al. (1992) observou menor porcentagem de germinação em sementes de citrus submetidas ao condicionamento em soluções contendo PEG 6000 de -0,6 a -1,2 MPa do que na testemunha.

Após 3 meses de armazenamento, as porcentagens de germinação não diferiram, independentemente do soluto utilizado e do período de condicionamento a que foram submetidas (Figura 1B). Entretanto, com exceção dos tratamentos com KNO_3 ou PEG 6000 + KNO_3 , por 12 dias, os quais não diferiram da testemunha, pôde-se observar maiores porcentagens de germinação nos demais tratamentos. Utilizando-se o PEG 6000, como soluto, pode-se observar que a porcentagem de germinação foi em torno de 85% de plântulas normais, representando ganhos de 15% em relação à testemunha (Tabela 12A).

Sementes armazenadas pelo período de 6 meses, quando condicionadas por 3 dias, apresentaram uma tendência a maior porcentagem de germinação quando apenas na presença do KNO_3 , em seguida da combinação de PEG 6000 + KNO_3 e por último do PEG 6000 apenas (Figura 1C). Já aos 6 e 9 dias de condicionamento, a solução contendo apenas PEG 6000 apresentou a maior porcentagem de germinação, seguido do KNO_3 e por último da combinação dos dois. Aos 12 dias de condicionamento as soluções contendo apenas o KNO_3 e a combinação do PEG 6000 + KNO_3 , voltaram a propiciar maiores porcentagens de germinação das sementes. A porcentagem de germinação das sementes que não foram condicionadas foi igual ou superior as porcentagens das sementes condicionadas, evidenciando a ineficiência dos tratamentos em sementes de limão cravo armazenadas nas condições do experimento durante 6 meses (Tabela 12A).

Aos 9 meses de armazenamento houve uma tendência de aumento crescente na porcentagem de germinação, em função do período de condicionamento a que as sementes foram submetidas, independente do soluto utilizado (Figura 1D). Sendo assim, o condicionamento osmótico reverteu os efeitos do armazenamento, sendo evidente a reparação metabólica, já que houve um incremento na porcentagem de germinação. Os melhores resultados foram obtidos aos 6, 9 e 12 dias de condicionamento, independente do soluto utilizado,



Diferenças significativas entre os solutos em cada período de condicionamento estão discriminadas por letras.

FIGURA 1 Estimativa da porcentagem de germinação de sementes (%G) de limão cravo, armazenadas por 0, 3, 6 e 9 meses, em função do condicionamento osmótico em soluções contendo diferentes solutos (PEG 6000, KNO₃ e PEG 6000 + KNO₃) e do período de condicionamento (3, 6, 9 e 12 dias).

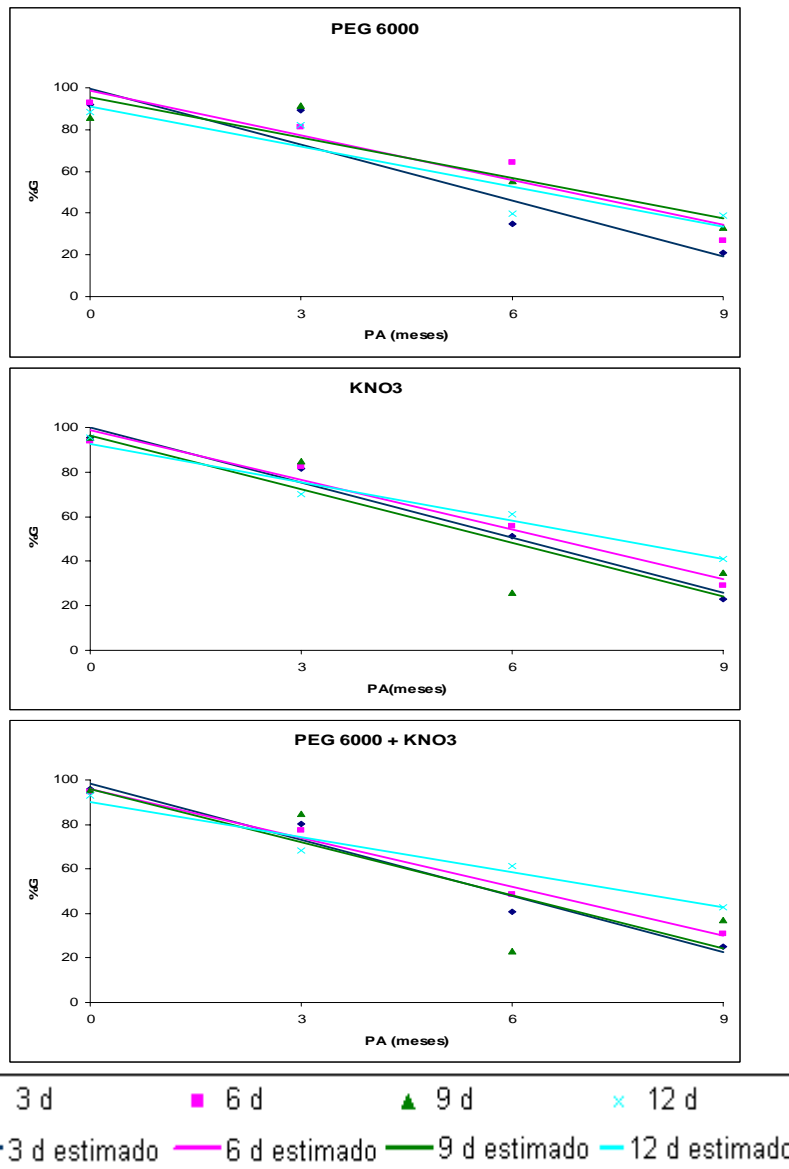


FIGURA 2 Estimativa da porcentagem de germinação (%G) de sementes de limão cravo, submetidas ao condicionamento osmótico em diferentes soluções (PEG 6000, KNO₃ e PEG 6000 + KNO₃) em função do período de armazenamento (meses) e do período de condicionamento (dias).

representando ganhos de até 44% em relação à testemunha (13% de sementes germinadas) (Tabela 12A). Mas observa-se também, que nesse período foram obtidas as menores porcentagens de germinação.

Pode-se observar que há uma tendência a redução na porcentagem de germinação para todos os solutos utilizados ao longo do período de armazenamento, independente do período de condicionamento a que as sementes foram submetidas (Figura 2), confirmando a tendência acentuada da espécie em perder qualidade no armazenamento. Pode-se observar que houve uma maior redução na porcentagem de germinação a partir do 6º mês de armazenamento, principalmente quando as sementes foram condicionadas em solução contendo KNO_3 ou a combinação de PEG 6000 + KNO_3 , pelo período de 9 dias.

A redução da germinação das sementes, mesmo naquelas tratadas, pode ser devida, em parte, ao grau de umidade dessas sementes, tendo sido observada a condensação de água no interior das embalagens, ocorrendo um acentuado processo deteriorativo, com conseqüente apodrecimento de parte dessas sementes ao longo do período de armazenamento.

4.1.3 Índice de velocidade de germinação (IVG)

Nas sementes não armazenadas a tendência foi de leve aumento do índice de velocidade de germinação à medida que aumentava o período de condicionamento de 3 para 6 dias, quando as sementes foram condicionadas em solução contendo PEG 6000 Figura (3A). Após esse período, observa-se uma tendência de redução deste índice. Quando o condicionamento foi realizado em solução contendo KNO_3 ou a combinação de PEG 6000 + KNO_3 , essa tendência de aumento permaneceu até o 9º dia de condicionamento, havendo uma leve redução aos 12 dias.

O condicionamento osmótico permite um aumento na velocidade e uniformidade de germinação. Paixão (1998) observou que não houve incremento

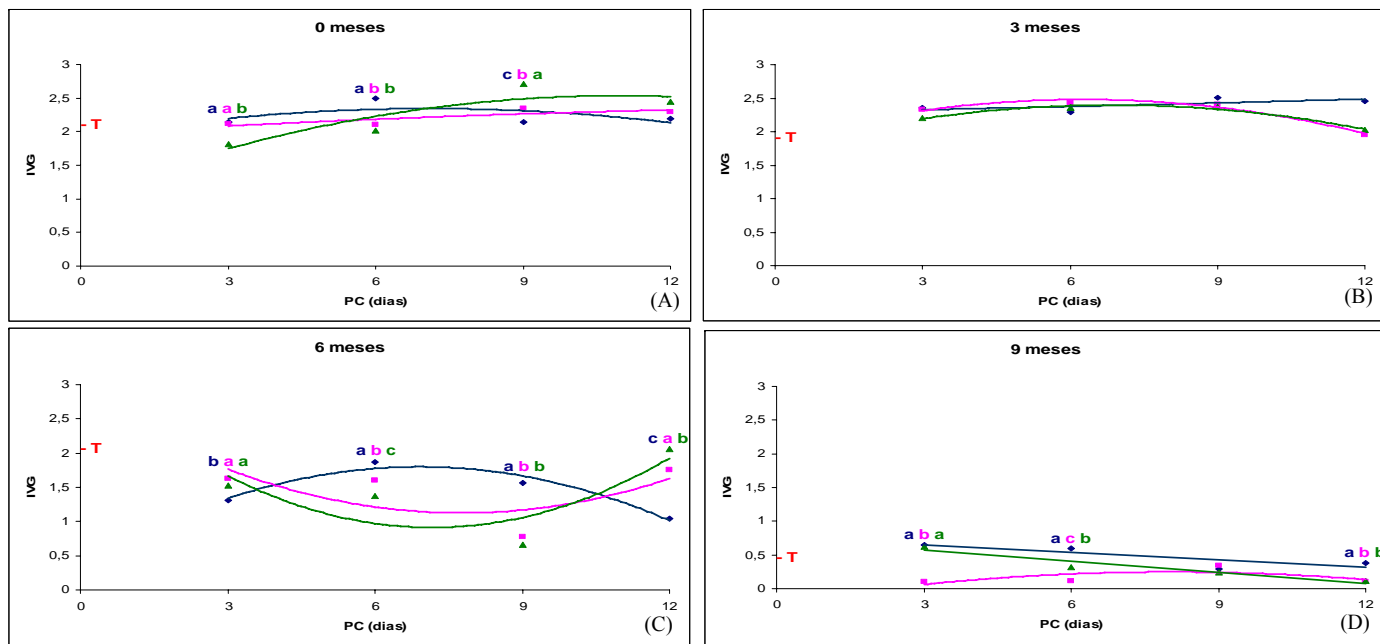
na porcentagem final de germinação de sementes de pimentão condicionadas em solução aerada de KNO_3 , mas houve aumento no índice de velocidade de germinação e no desenvolvimento do hipocótilo das plântulas.

Pela comparação das médias, observa-se maior índice de velocidade de germinação quando as sementes foram condicionadas por 9 dias em solução contendo PEG 6000 + KNO_3 representando ganhos de até 22% em relação à testemunha (Tabela 12A).

Vários trabalhos com sementes de hortaliças têm mostrado que os efeitos do condicionamento osmótico resultam em uma resposta mais rápida quanto ao tempo para a germinação, principalmente em lotes de sementes deterioradas ou de baixo vigor (Brocklehurst & Dearman, 1984; Lopes et al., 1996), principalmente nos testes de germinação e vigor, sob condições de laboratório, em relação às sementes não condicionadas e/ou embebidas em água destilada (Lopes et al., 1996).

Aos 3 meses de armazenamento não houve diferença significativa entre os solutos utilizados e ainda pode-se observar pelas curvas de resposta que há uma tendência de aumento deste índice, independente do soluto utilizado até o 9º dia de condicionamento (Figura 3B). No 12º dia de condicionamento observa-se uma tendência de redução quando foi utilizado o KNO_3 ou a combinação de PEG 6000 + KNO_3 . Nesse período de armazenamento, todos os tratamentos empregados mostraram-se eficientes na recuperação do vigor das sementes, visto que foi observado um ganho mínimo de 5% (PEG 6000 + KNO_3 , por 12 dias) e um ganho máximo de 23% (PEG 6000, por 9 dias) em relação à testemunha (Tabela 12A).

Aos 6 meses de armazenamento, o condicionamento das sementes não se mostrou eficiente, já que as sementes que não foram submetidas ao condicionamento (testemunha) apresentaram índice maior do que as demais



Diferenças significativas entre os solutos em cada período de condicionamento estão discriminadas por letras.



FIGURA 3 Estimativa do índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de limão cravo, armazenadas por 0, 3, 6 e 9 meses, em função do condicionamento osmótico em soluções contendo diferentes solutos (PEG 6000, KNO₃ e PEG 6000 + KNO₃) e do período de condicionamento (3, 6, 9 e 12 dias).

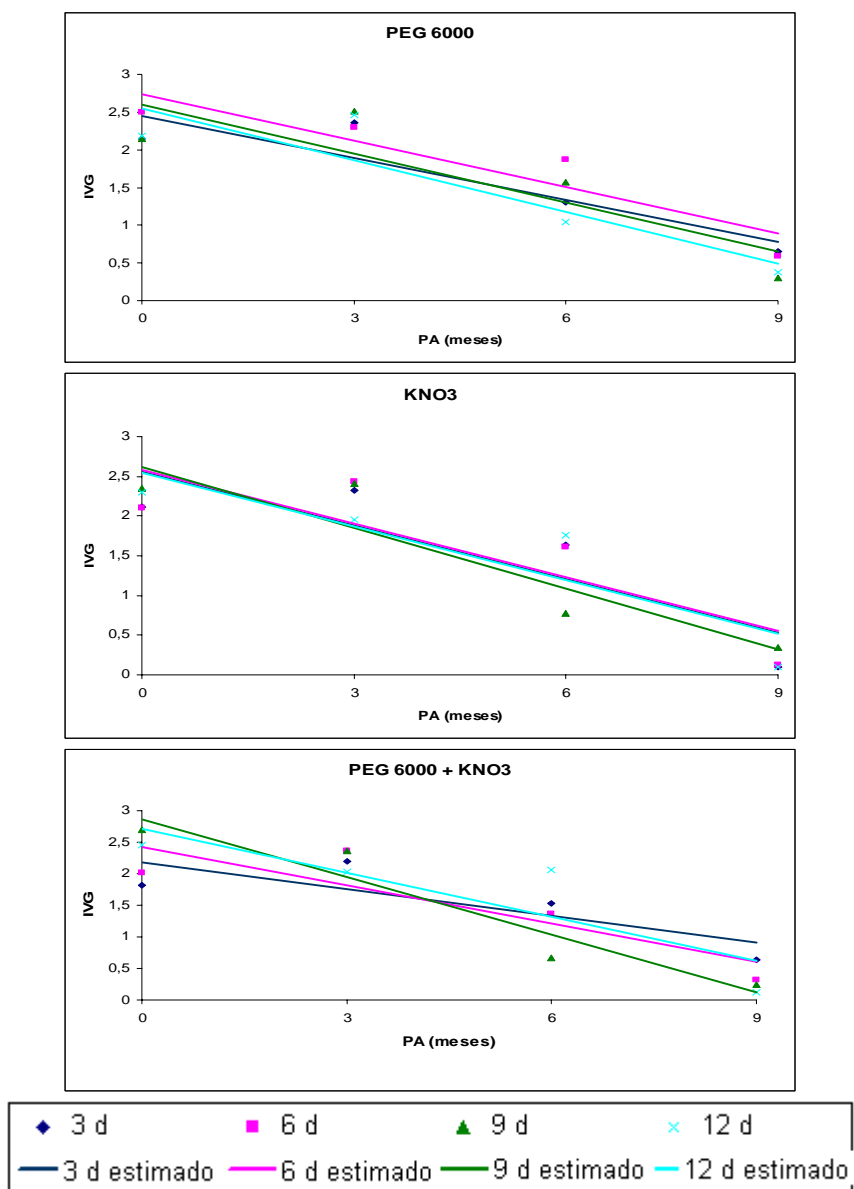


FIGURA 4 Estimativa do índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de limão cravo, submetidas ao condicionamento osmótico em diferentes soluções (PEG 6000, KNO₃ e PEG 6000 + KNO₃) em função do período de armazenamento (meses) e do período de condicionamento (dias).

(Tabela 12A). Há uma tendência de redução deste índice, do 3º ao 9º dia de condicionamento, seguido de um novo crescimento deste índice aos 12 dias de condicionamento, quando as sementes foram condicionadas na presença de KNO_3 ou de PEG 6000+ KNO_3 (Figura 3C). Já as sementes que foram condicionadas em solução contendo PEG 6000 apresentaram uma tendência de aumento do 3º a 6º dia de condicionamento, seguido de uma redução aos 9 e 12 dias.

Aos 9 meses de armazenamento foram observados os menores índices de velocidade de germinação (Figura 3D). Nesse período, pela comparação das médias, quando as sementes foram condicionadas por 3 e 6 dias em solução contendo PEG 6000 ou em PEG 6000 + KNO_3 por 3 dias, observou-se os maiores índice de velocidade de germinação (Tabela 12A).

Pode-se observar nos resultados obtidos no índice de velocidade de germinação (Figura 4) a mesma tendência de redução observada na germinação (Figura 2) ao longo do armazenamento, sendo que houve uma redução mais acentuada quando as sementes foram condicionadas por 9 dias, principalmente na presença do KNO_3 e da combinação do PEG 6000 + KNO_3 .

4.1.4 Teste de emergência em bandeja

Para as sementes não armazenadas há uma tendência de aumento da porcentagem de emergência até o 6º dia de condicionamento, para todos os solutos utilizados (Figura 5A). A partir do 9º dia há uma redução dessa porcentagem, principalmente quando as sementes foram condicionadas em solução contendo PEG 6000 ou KNO_3 . Pela comparação das médias, aos 3, 6 e 9 dias de condicionamento, o KNO_3 e a combinação de PEG 6000 + KNO_3 , se mostraram eficientes, apresentando porcentagem de emergência superior à testemunha (Tabela 12A). Aos 12 dias de condicionamento, apenas a

combinação de PEG 6000 + KNO₃, se mostrou eficiente em manter a porcentagem de emergência das sementes (Tabela 12A).

Para as sementes de soja submetidas ao condicionamento osmótico em PEG 6000, a -0,8 MPa por 4 dias a 25°C, obteve-se melhores resultados de emergência e índice de velocidade de emergência de plântulas (Del Giúdice, 1996).

Aos 3 meses, há uma tendência linear de constância da porcentagem de germinação até o 9º dia de condicionamento para todos os solutos, sendo que aos 12 dias, observa-se uma tendência de redução, quando as sementes são condicionadas na presença do PEG 6000 ou do KNO₃ (Figura 5B). Pode-se observar que houve eficiência dos tratamentos empregados, pois porcentagens de emergência superiores à da testemunha (77%), com exceção das sementes que foram condicionadas por 12 dias na presença de KNO₃ (73%) ou em PEG 6000 + KNO₃ (74%) por 3 ou 12 dias, as quais não diferiram da mesma, foram obtidas para os demais tratamentos (Tabela 12A).

Aos 6 e 9 meses de armazenamento, a testemunha se mostrou superior aos demais tratamentos (Figuras 5C e 5D), não havendo, nesse caso, eficiência do condicionamento osmótico em recuperar a capacidade de emergência das sementes armazenadas por esses períodos.

No teste de emergência em bandeja, observa-se para todos os períodos de condicionamento e para as sementes condicionadas em PEG 6000 ou KNO₃, uma tendência de aumento da porcentagem de emergência no 3º mês de armazenamento (Figura 6), seguido de uma forte redução nos demais períodos. Para a combinação de PEG 6000 + KNO₃ observa-se uma tendência de redução já a partir do 3º mês de armazenamento, para todos os períodos de condicionamento (Figura 6).

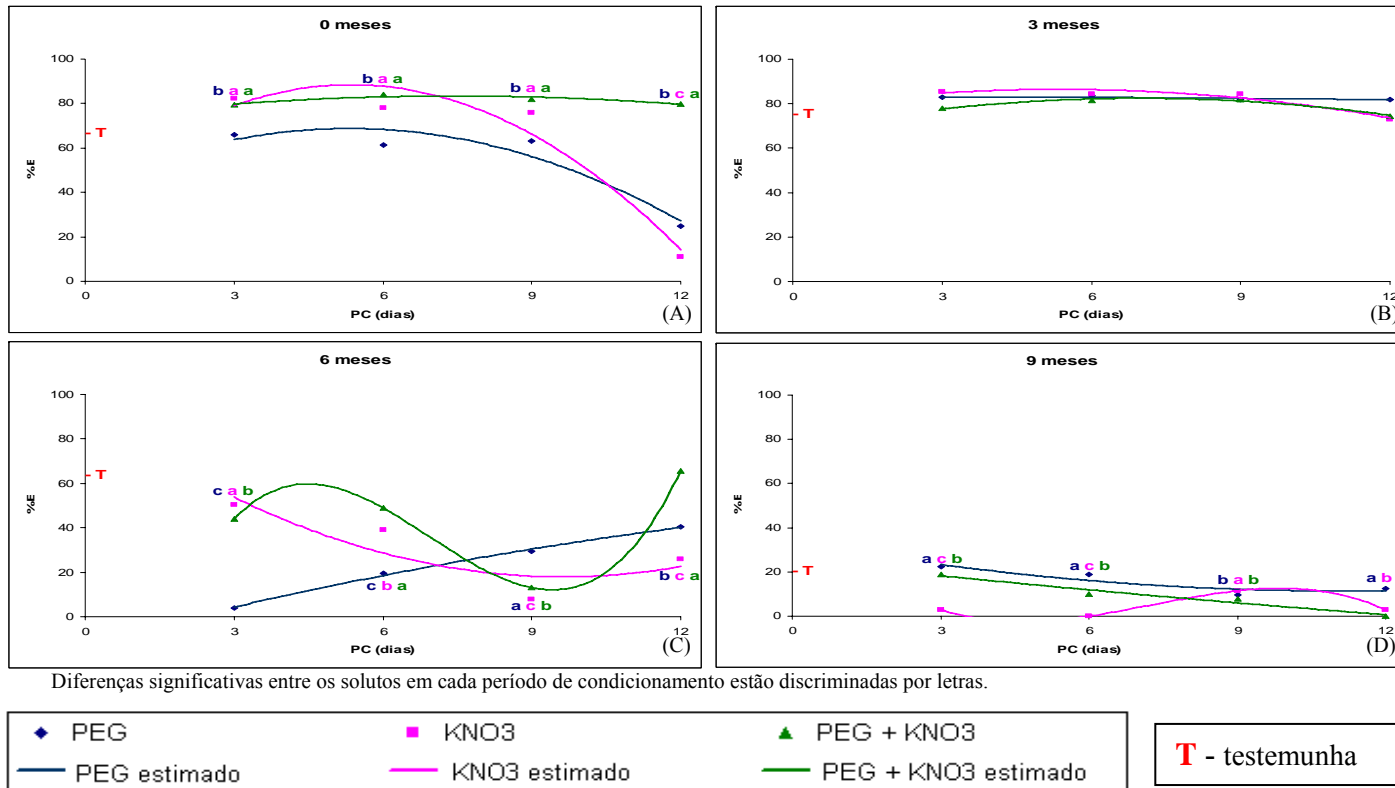


FIGURA 5 Estimativa da porcentagem de emergência (%E) de sementes de limão cravo, armazenadas por 0, 3, 6 e 9 meses, em função do condicionamento osmótico em soluções contendo diferentes solutos (PEG 6000, KNO₃ e PEG 6000 + KNO₃) e do período de condicionamento (3, 6, 9 e 12 dias).

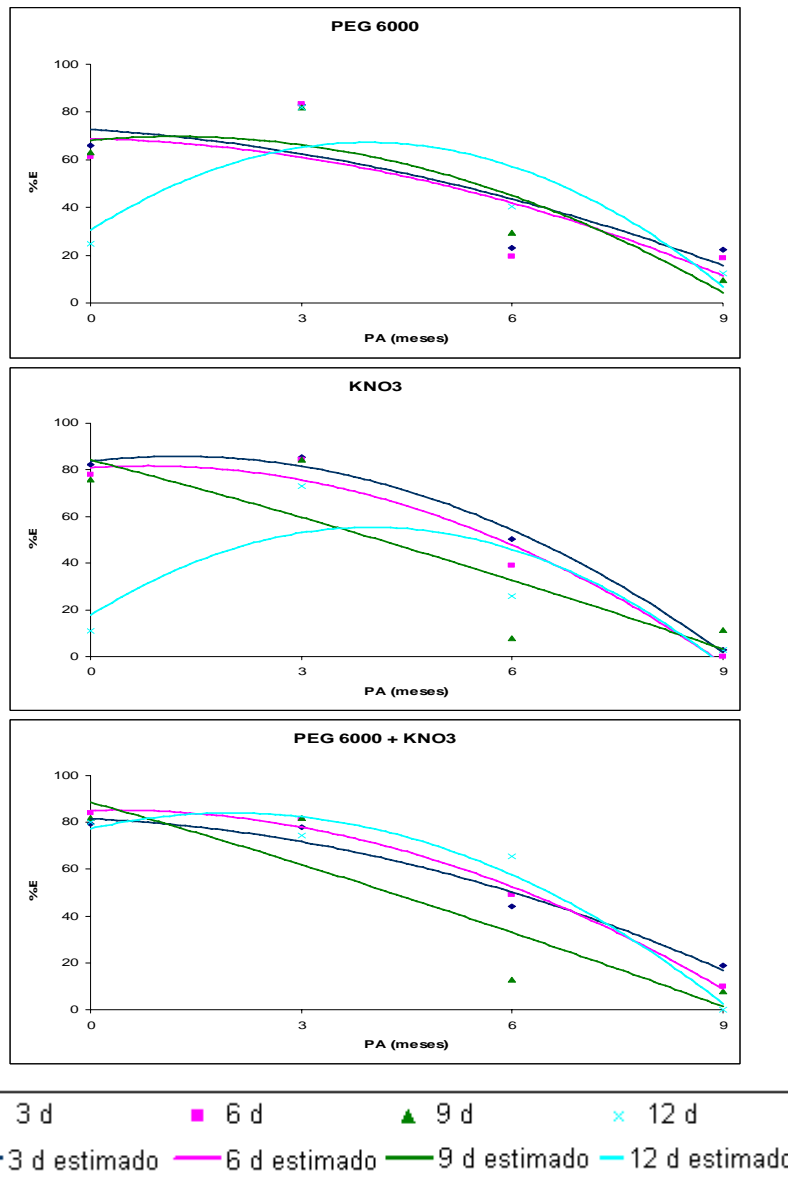


FIGURA 6 Estimativa da porcentagem de emergência (%E) de sementes de limão cravo, submetidas ao condicionamento osmótico em diferentes soluções (PEG 6000, KNO₃ e PEG 6000 + KNO₃) em função do período de armazenamento (meses) e do período de condicionamento (dias).

4.1.5 Índice de velocidade de emergência

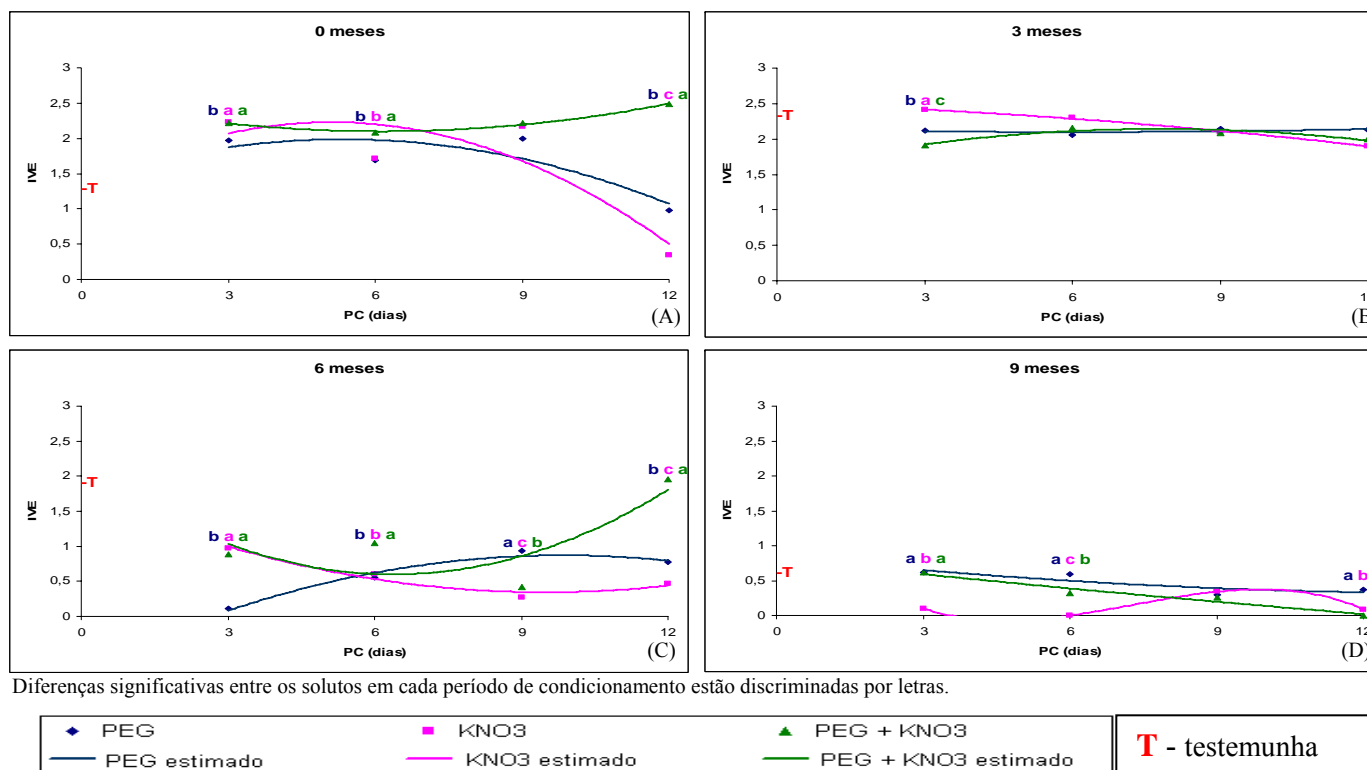
O condicionamento osmótico, independente do soluto utilizado, mostrou-se eficiente para aumentar o vigor das sementes, até o 6º dia de condicionamento, quando as sementes não foram armazenadas (Figura 7A). Após esse período, somente a solução contendo a combinação de PEG 6000 + KNO₃ conseguiu manter este índice elevado.

Sementes de tomate obtiveram menor tempo de emergência e aumento na porcentagem de germinação com tratamento utilizando-se PEG 4000 na concentração de -1,2 MPa, durante 8 dias à temperatura de 16°C (Muhyaddin & Wiebber, 1989 citado Por Paixão, 1998).

Pela comparação das médias, com exceção do condicionamento em PEG 6000 por 6 dias (0.9), ou em KNO₃ por 12 dias (0.3398), que foram iguais ou inferiores à testemunha (0.9), os maiores índices de velocidade de emergência foram observados nos demais tratamentos, sendo que o melhor deles foi o condicionamento em PEG 6000 + KNO₃ por 12 dias (2.4864) (Tabela 12A).

Aos 3 meses de armazenamento, há uma tendência linear de aumento deste índice, quando as sementes foram condicionadas em solução contendo PEG 6000 ou a combinação de PEG 6000+ KNO₃, e de redução quando condicionadas com KNO₃ (Figura 7B). Pela comparação das médias (Tabela 12A), os maiores índices de velocidade de emergência foram obtidos na testemunha (2.31) e nos tratamentos nos quais as sementes foram condicionadas por 3 e 6 dias (2.40 e 2.30, respectivamente), em solução contendo KNO₃, sendo estes superiores aos demais tratamentos.

Observa-se uma redução acentuada deste índice a partir do 6º mês de armazenamento (Figura 7C). A testemunha foi superior a todos os demais tratamentos, exceto aos 12 dias de condicionamento, quando as sementes foram condicionadas em PEG 6000 + KNO₃ (Tabela 12A).



Diferenças significativas entre os solutos em cada período de condicionamento estão discriminadas por letras.

FIGURA 7 Estimativa do índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de limão cravo, armazenadas por 0, 3, 6 e 9 meses, em função do condicionamento osmótico em soluções contendo diferentes solutos (PEG 6000, KNO₃ e PEG 6000 + KNO₃) e do período de condicionamento (3, 6, 9 e 12 dias).

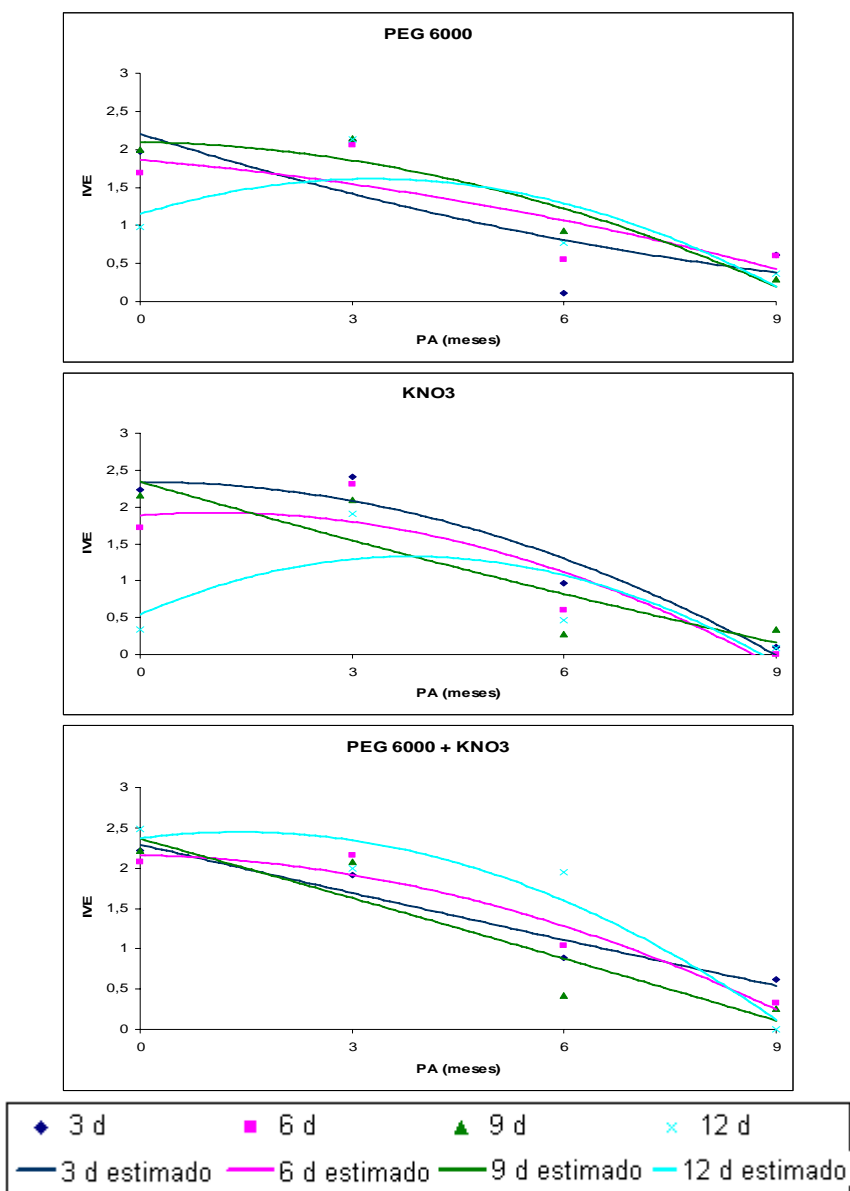


FIGURA 8 Estimativa do índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de limão cravo, submetidas ao condicionamento osmótico em diferentes soluções (PEG 6000, KNO₃ e PEG 6000 + KNO₃) em função do período de armazenamento (meses) e do período de condicionamento (dias).

No 9º mês de armazenamento, as sementes condicionadas em solução contendo PEG 6000 ou PEG 6000 + KNO₃ e os índices observados nas sementes sem condicionamento foram maiores que em KNO₃ até o 6º dia de condicionamento (Figura 7D). Com 9 dias de condicionamento, houve redução deste índice no tratamento com PEG 6000 ou PEG 6000 + KNO₃ e aumento no tratamento com KNO₃, no entanto não houve diferença significativa entre esses tratamentos. Os maiores valores para esse índice foram obtidos quando as sementes foram condicionadas por 3 e 6 dias (0.61 e 0.60, respectivamente) em solução contendo PEG 6000, sendo estes superiores à testemunha (0.42), que foi superior aos demais tratamentos (Tabela 12A).

Comportamento semelhante ao obtido no teste de emergência em bandeja (Figura 6) foi obtido no índice de velocidade de emergência (Figura 8), observando-se para todos os períodos de condicionamento e para as sementes condicionadas em PEG 6000 ou KNO₃, uma tendência de aumento da porcentagem de emergência no 3º mês de armazenamento, seguido de uma forte redução nos demais períodos. Para a combinação de PEG 6000 + KNO₃ observa-se uma tendência de redução já a partir do 3º mês de armazenamento, para todos os períodos de condicionamento.

4.1.6 Condutividade elétrica

Nas sementes não armazenadas submetidas ao condicionamento em solução contendo KNO₃ foram observados os maiores valores de condutividade (66,3 µS/cm/g – 3 dias; 81,2 µS/cm/g – 6 dias; 92,4 µS/cm/g – 9 dias; 87,6 µS/cm/g – 12 dias) (Tabela 12A). A testemunha não diferiu significativamente do tratamento que foi submetido a apenas 3 dias de condicionamento, tanto na presença do soluto KNO₃ quanto da combinação PEG 6000 + KNO₃. Em relação aos demais tratamentos a condutividade elétrica foi sempre maior quando o

condicionamento foi realizado com KNO_3 e sempre menor com os outros solutos.

Pelos resultados de teste de condutividade elétrica observa-se uma reduzida lixiviação de solutos de sementes de cebola osmocondicionadas, comparadas com as não tratadas, suportando a teoria do “reparo”, já que a lixiviação de solutos das células é, em parte, resultante de danos às membranas celulares. Entretanto, não há evidências de que a lixiviação de solutos seja um parâmetro apropriado para medir a integridade de membranas em sementes de cebola (Dearman et al., 1987).

Observa-se que há uma tendência de menores valores de condutividade em função do período de condicionamento, na presença do PEG 6000 e da combinação PEG 6000 + KNO_3 (Figura 9A).

Aos 3 meses de armazenamento, houve um aumento brusco nos valores de condutividade para todas as soluções e em todos os períodos de condicionamento, havendo uma tendência de redução ao longo do período de condicionamento, quando as sementes foram condicionadas em solução contendo KNO_3 , e de aumento, quando as sementes foram condicionadas em PEG 6000 e PEG 6000 + KNO_3 (Figura 9B). Resultados de condutividade elétrica inferior aos demais tratamentos foram obtidos quando as sementes não foram submetidas ao condicionamento ($55,2 \mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$). Entre os tratamentos, as sementes condicionadas em solução contendo PEG 6000 apresentaram sempre menores valores de condutividade (Tabela 12A).

No 6º mês de armazenamento observa-se que há uma tendência de redução da condutividade até o 9º dia de condicionamento para o soluto KNO_3 , voltando a aumentar no 12º dia de condicionamento (Figura 9C). Para a combinação de PEG 6000 + KNO_3 , os valores permaneceram estáveis até o 6º dia e em seguida voltaram a aumentar. Os menores valores foram observados para a solução contendo PEG 6000 no 6º ($36,04 \mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$) e 9º ($33,18 \mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$)

dias. Os valores obtidos na testemunha foram intermediários aos obtidos das sementes que foram condicionadas na presença de KNO_3 e aos demais (Tabela 12A).

Aos 9 meses de armazenamento, para os solutos KNO_3 e PEG 6000 + KNO_3 há uma tendência de estabilidade da condutividade até o 9º dia de condicionamento, enquanto que para o PEG 6000 há uma tendência de aumento (Figura 9D). Aos 12 dias o soluto KNO_3 tende a reduzir a condutividade, enquanto que o PEG 6000 e a combinação de PEG 6000 + KNO_3 aumentam.

Há uma tendência de aumento nos valores da condutividade no 3º mês seguido de uma redução no 6º mês de armazenamento, para todos os solutos e em todos os períodos de condicionamento. No 9º mês há uma tendência de aumento para todos os solutos, nos períodos de 3, 6 e 9 dias de condicionamento, enquanto que nos tratamentos com KNO_3 e PEG 6000 + KNO_3 , aos 12 dias, tende a reduzir (Figura 10).

De uma maneira geral os valores da condutividade nos tratamento com KNO_3 são acentuadamente maiores e os valores com PEG + KNO_3 moderadamente maiores em relação ao tratamento com PEG. Isso ocorre porque o sal remanescente no tegumento ou no interior das sementes após o condicionamento é lixiviado para a água onde as sementes são embebidas, aumentando de forma desproporcional aqueles valores. Por isso, devem-se considerar apenas os efeitos dos tratamentos com cada um dos solutos e evitar a comparação dos efeitos entre os solutos para efeito de inferir o vigor das sementes.

O teste de condutividade elétrica tem sido proposto para a avaliação do vigor das sementes, sendo relacionado com a integridade das membranas celulares. Porém, existem muitos fatores que interferem nos resultados, podendo se restringir somente à quantidade de lixiviados detectada na solução de embebição (Roveri José, 1999).

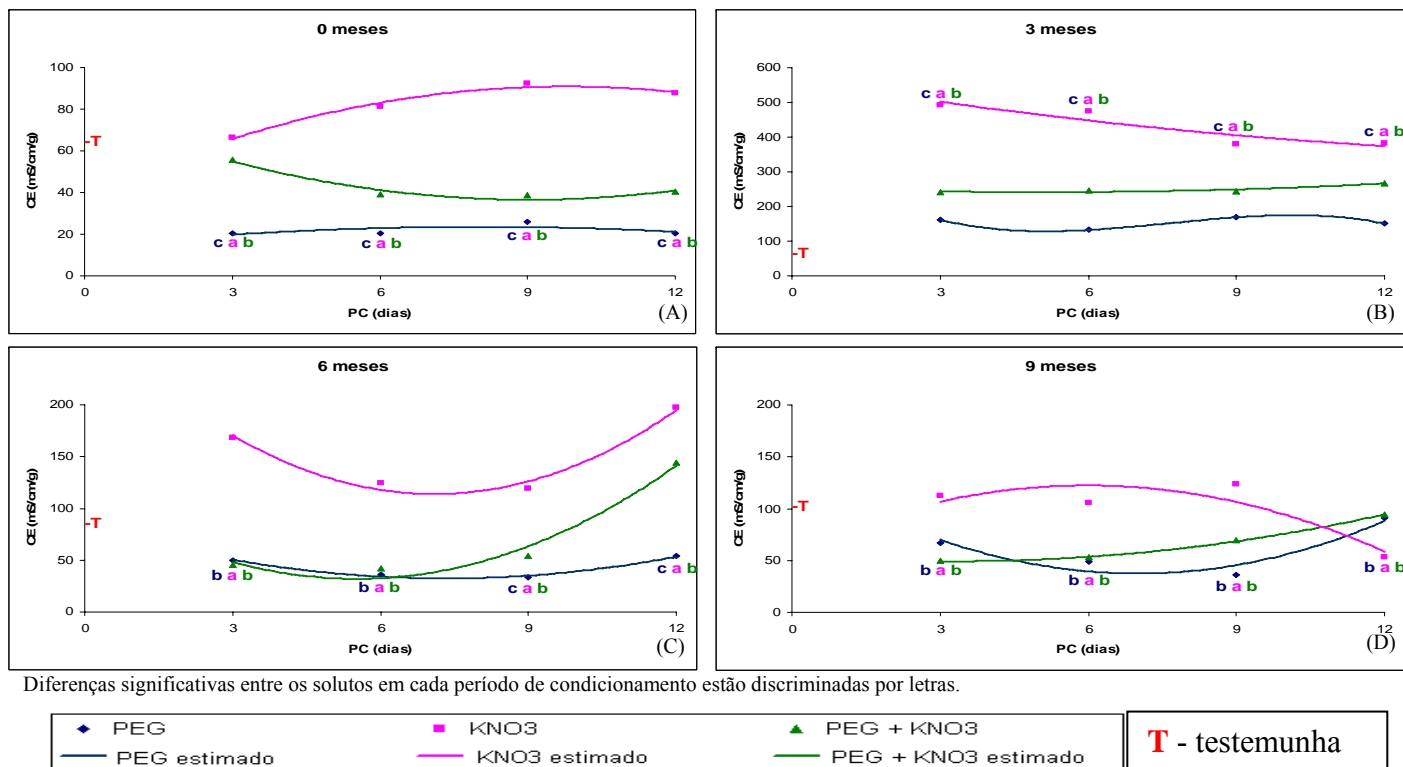


FIGURA 9 Estimativa da condutividade elétrica (CE) de sementes de limão cravo, armazenadas por 0, 3, 6 e 9 meses, em função do condicionamento osmótico em soluções contendo diferentes solutos (PEG 6000, KNO₃ e PEG 6000 + KNO₃) e do período de condicionamento (3, 6, 9 e 12 dias).

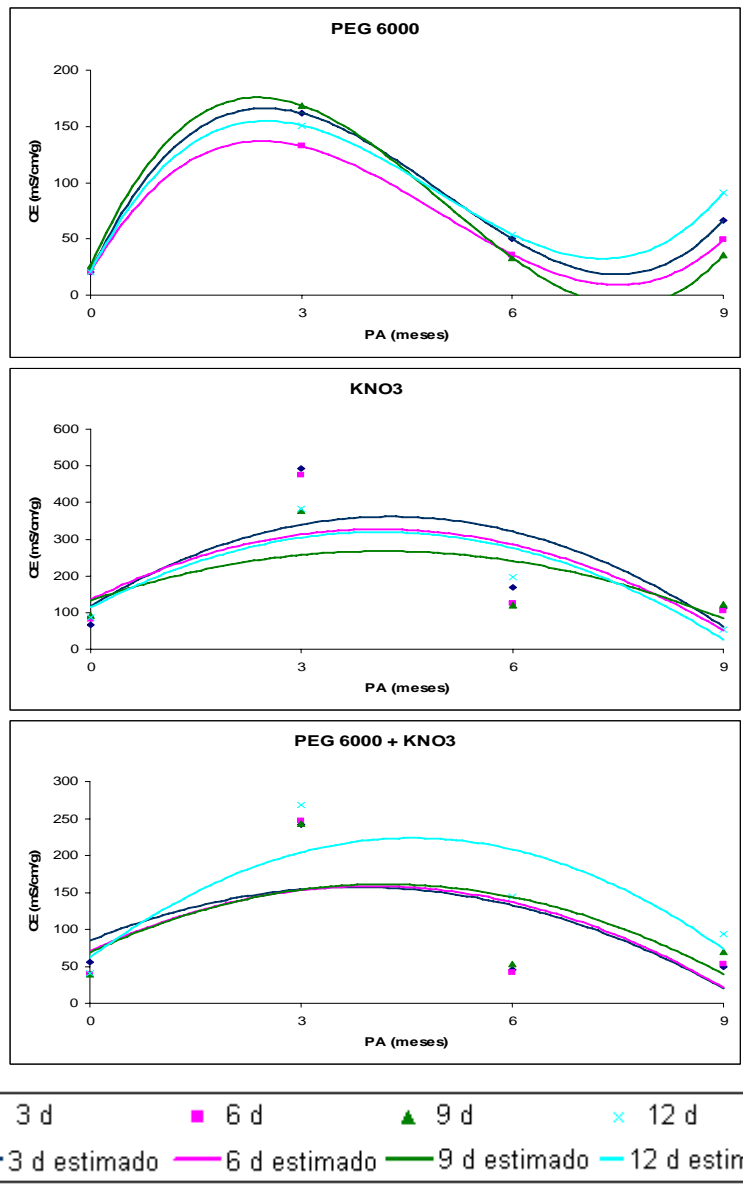


FIGURA 10 Estimativa da condutividade elétrica (CE) de sementes de limão cravo, submetidas ao condicionamento osmótico em diferentes soluções (PEG 6000, KNO₃ e PEG 6000 + KNO₃) em função do período de armazenamento (meses) e do período de condicionamento (dias).

4.1.7 Análise da atividade enzimática

Não foi observada atividade da enzima catalase (CAT), enzima do sistema de defesa antioxidante nas células, em sementes de limão cravo, sugerindo assim, que estas estejam mais susceptíveis aos efeitos deletérios do O₂ e radicais livres sobre os ácidos graxos insaturados de membrana, comprometendo o seu vigor, como citado por Brandão Júnior et al. (1996).

Maior atividade da enzima esterase (EST) foi observada em sementes não armazenadas, submetidas ao condicionamento em solução contendo PEG 6000 por 3 e 6 dias. Neste período, uma menor atividade foi observada para as sementes não condicionadas (Figura 11). Esse fato demonstra a maior peroxidação de lipídios, nos tratamentos onde a atividade da enzima foi maior, uma vez que esta enzima está envolvida em reações de hidrólise de ésteres, estando diretamente ligada ao metabolismo de lipídios (Santos et al., 2004).

Nos demais períodos de armazenamento, não foram observadas diferenças na atividade dessa enzima para nenhum dos tratamentos empregados.

Fessel (2005) detectou uma diminuição da atividade da esterase com o aumento do período de envelhecimento das sementes de milho. Resultados semelhantes foram encontrados por Aung & McDonald (1995) em sementes de amendoim, tanto em sementes embebidas como não embebidas. Segundo esses autores as esterases são o grupo de enzimas mais importantes na germinação de amendoim. Este grupo de enzimas hidrolíticas libera ácido graxo dos lipídios, os quais são usados na beta oxidação, como fonte de energia para os eventos germinativos. Muitos desses lipídios são constituintes de membranas, cuja degradação aumenta com a deterioração. Por outro lado essa maior atividade em sementes condicionadas pode ser devida ao aumento de atividades metabólicas hidrolíticas, típicas da aceleração do processo de germinação.

A alta atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) observada em todos os períodos de armazenamento e condicionamento e, para todos os solutos

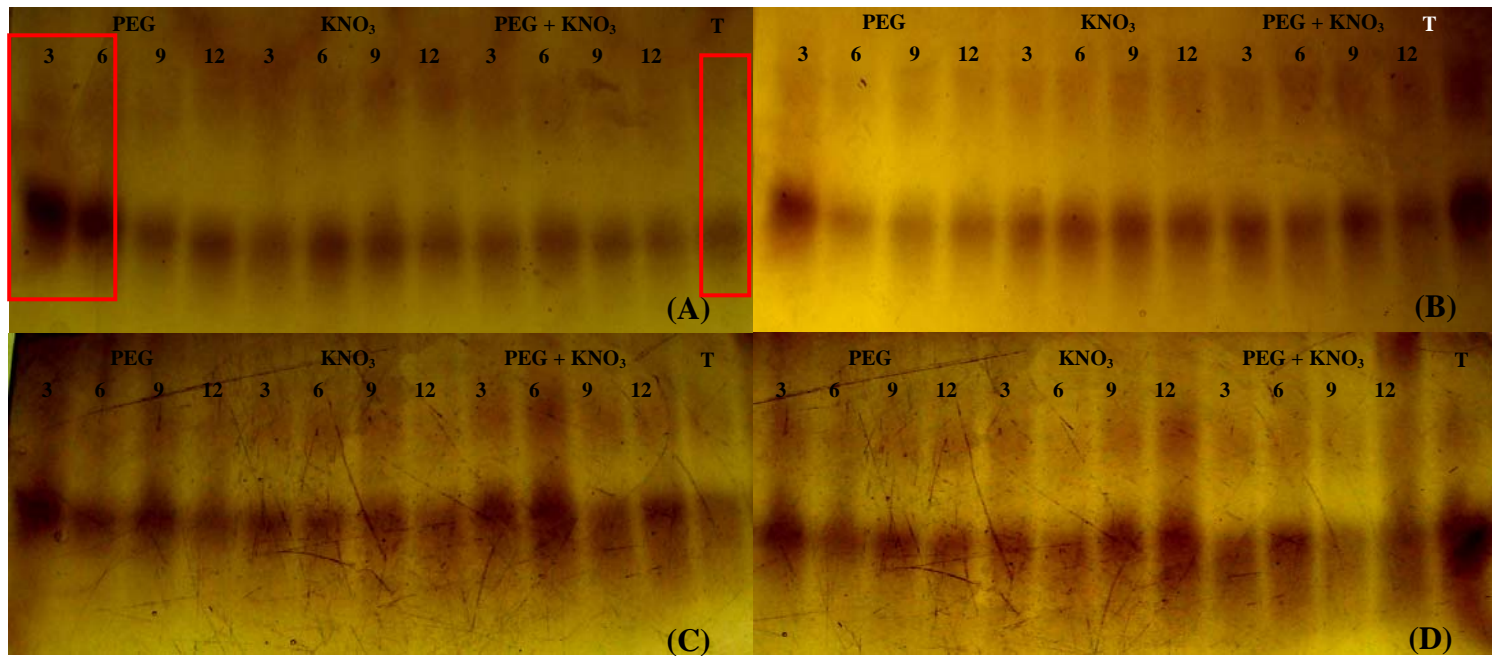


FIGURA 11 Padrões isoenzimáticos de sementes de limão cravo armazenadas por 0 (A), 3 (B), 6 (C) e 9 (D) meses, submetidas ao condicionamento osmótico em soluções aeradas de PEG, KNO₃ e PEG + KNO₃ (T - testemunha) por diferentes períodos de condicionamento (3, 6, 9 e 12 dias), reveladas para a esterase (EST).

utilizados, demonstra a eficiência do sistema antioxidante das sementes de limão cravo (Figura 12). Maior atividade foi observada quando as sementes foram condicionadas em KNO_3 e a menor atividade foi observada nas sementes que não foram condicionadas (testemunha), principalmente quando estas não haviam sido armazenadas.

O estresse causado pelo condicionamento na presença de KNO_3 aumenta os danos de membrana, havendo aumento na atividade dessa enzima quando o condicionamento é feito na presença deste.

Segundo McDonald (1999), o “priming” parece reverter os efeitos deletérios da deterioração de sementes. Esse tratamento parece aumentar a atividade de enzimas, bem como neutralizar os efeitos da peroxidação lipídica. Smith & Cobb (1992) reportaram maior síntese protéica e atividade de aldolase e isocitrato liase, em sementes de pimentão condicionadas. Em outras pesquisas tem sido observado que o “priming” reverte a perda de enzimas desintoxicantes da peroxidação lipídica. Bailly et al. (1996) encontraram que as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione redutase (GR) estavam presentes em sementes envelhecidas e condicionadas no mesmo nível que encontrado em sementes não envelhecidas de girassol.

Atividades de enzimas antioxidantes são relacionadas à aquisição de tolerância à dessecação. Essas enzimas podem prevenir dano oxidativo, que pode ocorrer em consequência de acúmulo de espécies tóxicas de oxigênio ativado durante a dessecação (Bailly et al., 2001).

Durante o condicionamento, injúrias devido à anoxia podem ocorrer, prejudicando a qualidade das sementes. Nas situações em que o suprimento de oxigênio é deficiente ou a sua absorção é dificultada devido à maior concentração de soluto osmótico, a respiração anaeróbica toma lugar e as enzimas envolvidas nessa rota passam a apresentar maior atividade.

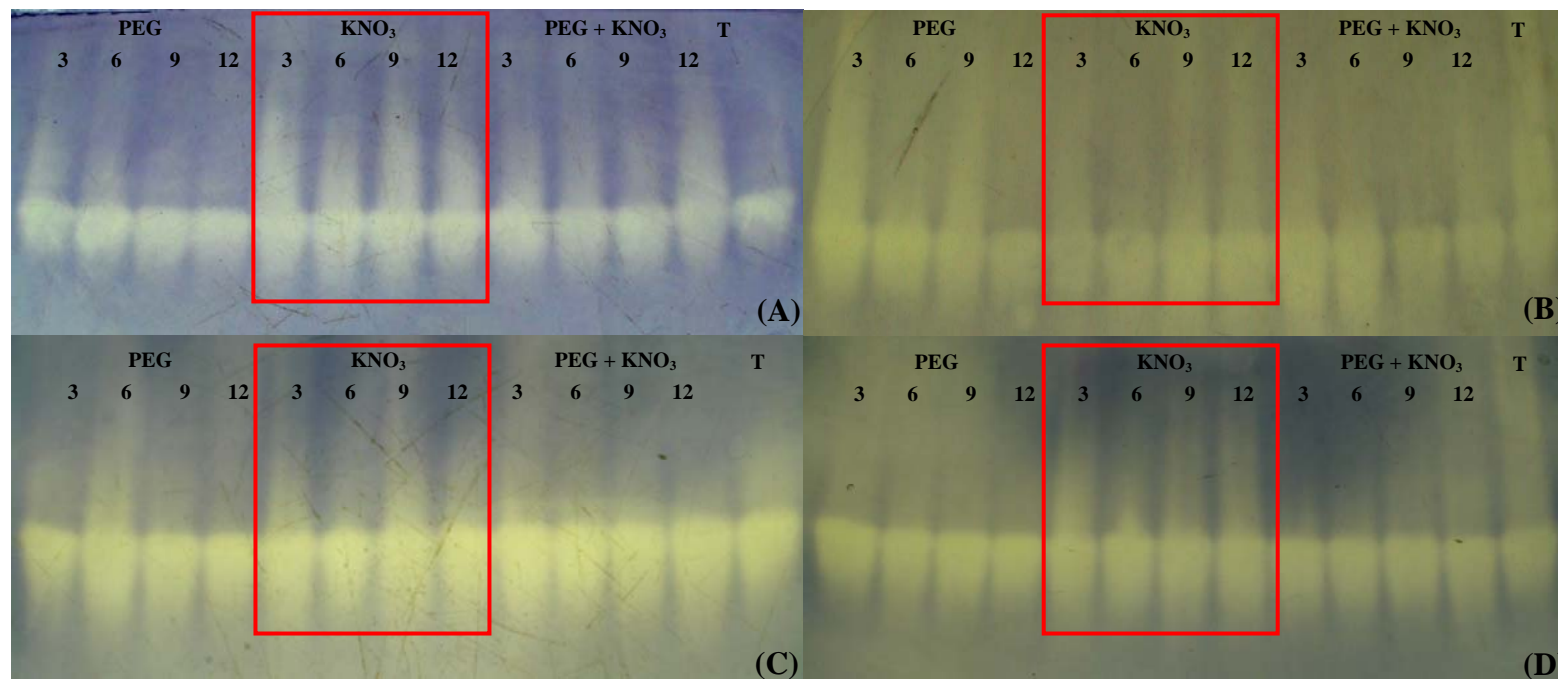


FIGURA 12 Padrões isoenzimáticos de sementes de limão cravo armazenadas por 0 (A), 3 (B), 6 (C) e 9 (D) meses, submetidas ao condicionamento osmótico em soluções aeradas de PEG, KNO₃ e PEG + KNO₃ (T - testemunha) por diferentes períodos de condicionamento (3, 6, 9 e 12 dias), reveladas para a superóxido dismutase (SOD).

A MDH catalisa a conversão de malato a oxalacetato e, além da importante função dentro do ciclo de Krebs, participa do movimento de malato através da membrana mitocondrial e da fixação de CO₂ nas plantas (Taiz & Zeiger, 2004).

Menor atividade da enzima malato desidrogenase (MDH) foi observada em sementes não condicionadas, independente do período de armazenamento (Figura 13).

Aos 3 e 9 meses de armazenamento, foi observado o surgimento de novas bandas quando as sementes foram condicionadas por 3 dias, independente do soluto utilizado. Parece nesse caso, ter havido efeito positivo do condicionamento levando ao aumento do nível da respiração aeróbica, necessário aos reparos esperados. É importante ressaltar que esse fato é coincidente com benefícios à qualidade das sementes, observados em avaliações fisiológicas.

Pôde-se observar um aumento da atividade enzimática da ADH em sementes condicionadas em solução contendo PEG 6000, à medida que aumentava o período de armazenamento (Figura 14). Essa solução possui uma viscosidade maior que as demais, o que dificulta a aeração durante o condicionamento, fazendo com que a respiração passe a ser anaeróbica e a enzima passe a apresentar maior atividade. Nota-se que há também uma tendência de redução da porcentagem de germinação para esse tratamento em função do aumento do período de armazenamento, que provavelmente deriva da intensificação da via anaeróbica de produção de energia. Sabe-se que o aumento da atividade da via anaeróbica além de reduzir drasticamente a eficiência para a produção de energia metabólica nas células, produz resíduos tóxicos à semente (Lehninger, 1995).

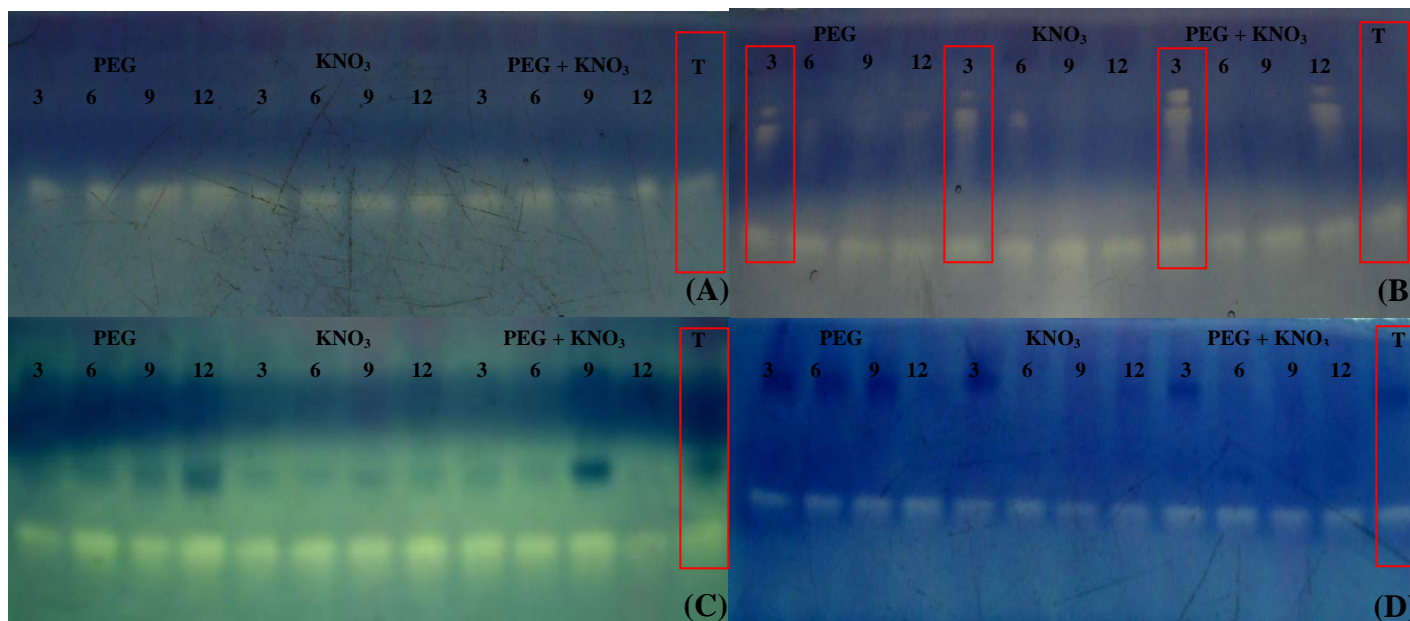


FIGURA 13 Padrões isoenzimáticos de sementes de limão cravo armazenadas por 0 (A), 3 (B), 6 (C) e 9 (D) meses, submetidas ao condicionamento osmótico em soluções aeradas de PEG, KNO₃ e PEG + KNO₃ (T - testemunha) por diferentes períodos de condicionamento (3, 6, 9 e 12 dias), reveladas para a malato desidrogenase (MDH).

Camargo (1998) observou aumento na intensidade de bandas dessa enzima com a elevação das concentrações de PEG 6000, as quais também correlacionaram aos piores desempenhos das sementes.

Aos 9 meses de armazenamento nenhuma atividade desta enzima foi detectada, independente do soluto utilizado e do período de condicionamento a que foram submetidas, sugerindo a morte das sementes.

Foi observada uma redução da atividade da enzima peroxidase (PO) em função do aumento do período de armazenamento, para todos os tratamentos empregados, inclusive nas sementes não condicionadas (testemunha), indicando a perda de viabilidade das sementes, como constatado pelo índice de velocidade de germinação (Figura 15).

As peroxidases desempenham um papel crítico no metabolismo das plantas e na oxidação por peróxidos, como aceptores de hidrogênio, sendo importante nos mecanismo de defesa. Em sementes, a perda da atividade dessa enzima pode torná-las mais sensíveis aos efeitos do O₂, dos radicais livres sobre ácidos graxos insaturados de membranas e à formação de peróxido nas células, tornando as sementes mais sujeitas à perda de viabilidade (Faria et al., 2003).

A perda de tolerância à dessecação em sementes está associada à degradação de “late embryogenesis abundant” (LEA) proteínas. Yeoung et al. (1996) encontraram que proteínas LEA diminuíram simultaneamente com a protrusão da radícula e perda de tolerância à dessecação.

Na análise dessa proteína pôde-se observar uma menor definição das bandas em função do aumento do período de armazenamento, indicando a perda da tolerância à dessecação (Figura 16), confirmando os dados obtidos na germinação das sementes (Tabela 12A).

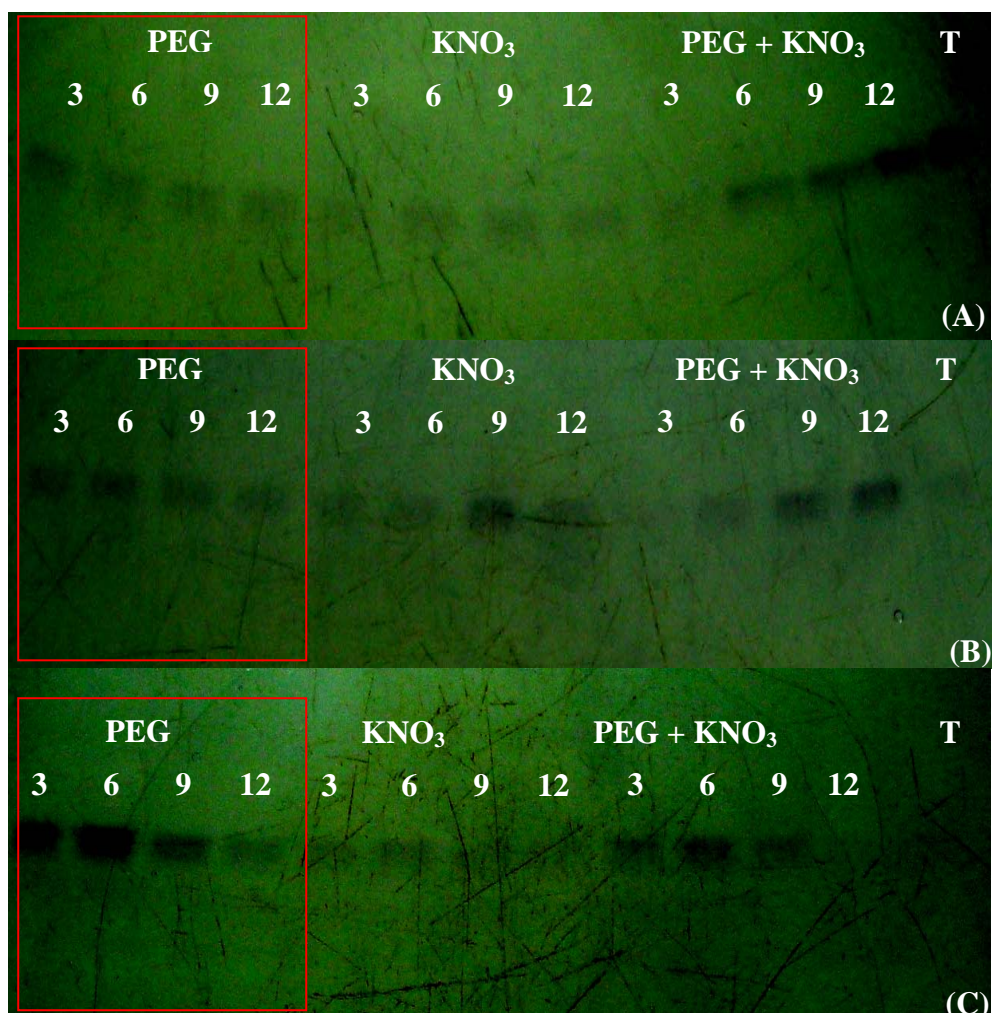


FIGURA 14 Perfis enzimáticos da enzima Álcool Desidrogenase (ADH) de sementes não armazenadas (A) e sementes armazenadas por 3 (B) e 6 (C), em função do soluto utilizado (PEG, KNO₃ e PEG + KNO₃; T - testemunha) e do período de condicionamento (3, 6, 9 e 12 dias).

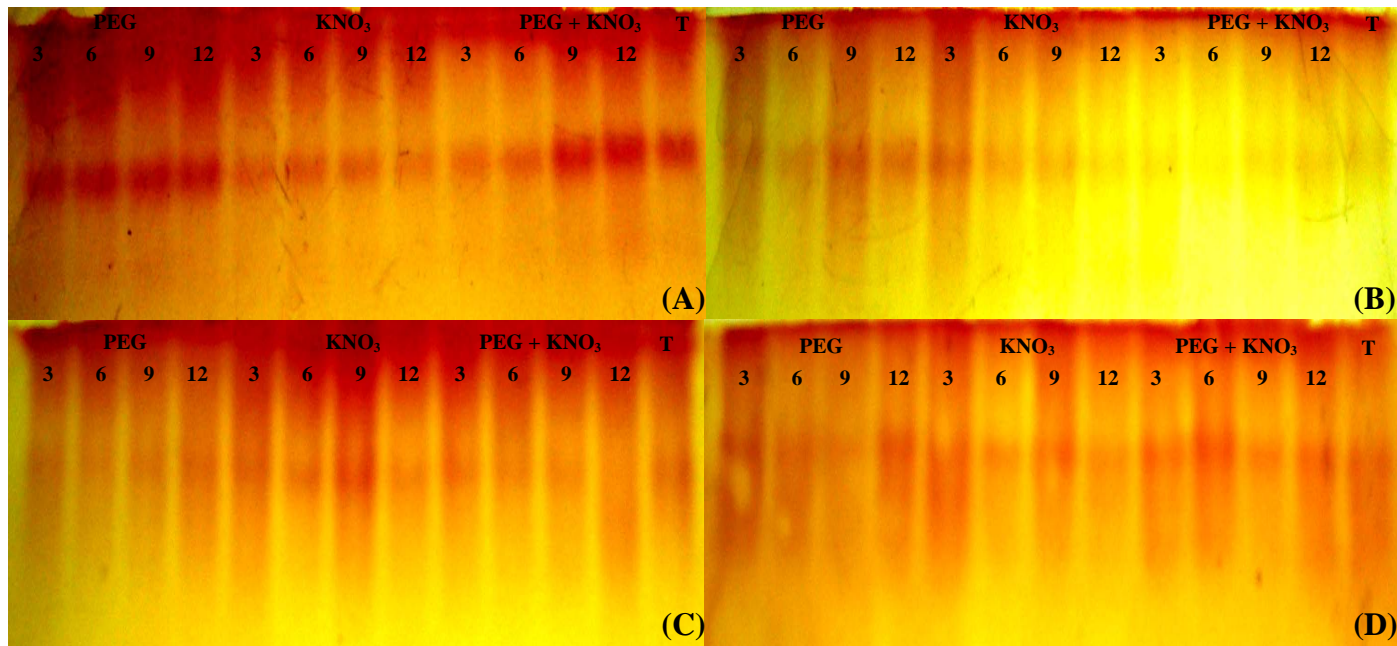


FIGURA 15 Padrões isoenzimáticos de sementes de limão cravo armazenadas por 0 (A), 3 (B), 6 (C) e 9 (D) meses, submetidas ao condicionamento osmótico em soluções aeradas de PEG, KNO₃ e PEG + KNO₃ (T - testemunha) por diferentes períodos de condicionamento (3, 6, 9 e 12 dias), reveladas para a peroxidase (PO).

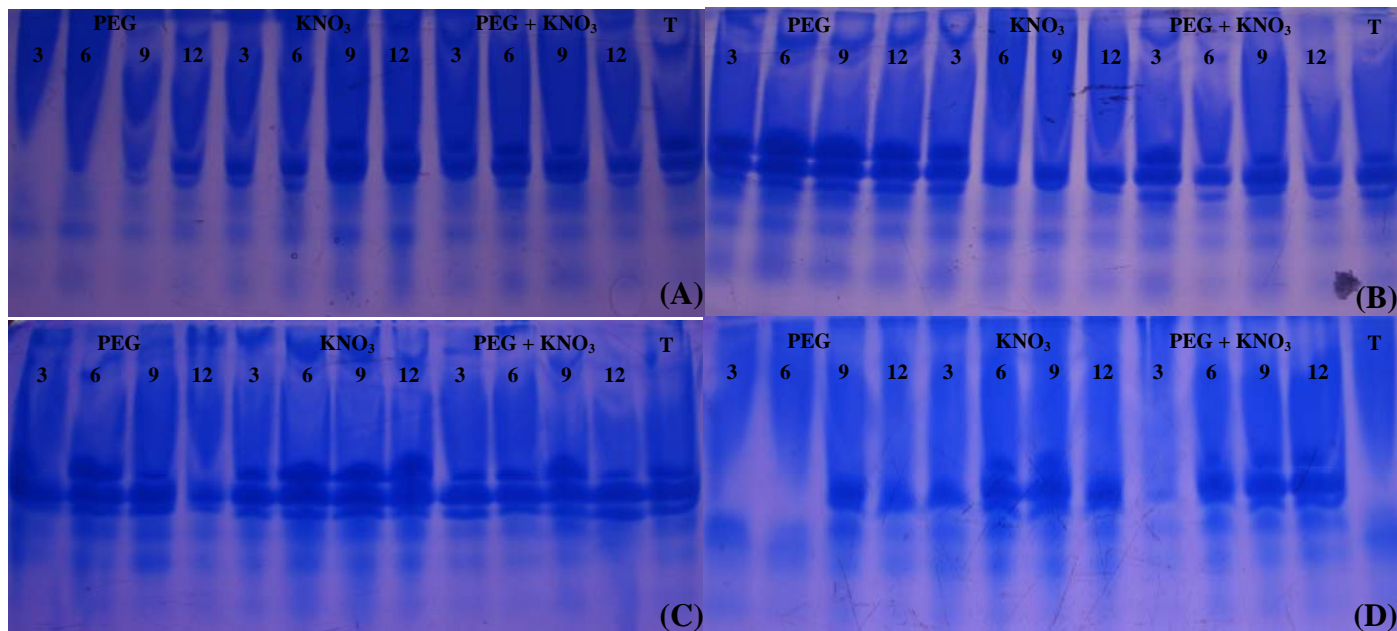


FIGURA 16 Padrões protéicos de sementes de limão cravo armazenadas por 0 (A), 3 (B), 6 (C) e 9 (D) meses, submetidas ao condicionamento osmótico em soluções aeradas de PEG, KNO₃ e PEG + KNO₃ (T - testemunha) por diferentes períodos de condicionamento (3, 6, 9 e 12 dias), reveladas para a proteína de resistência ao calor (LEA).

4.2 Ensaio 2: Condicionamento osmótico em sementes armazenadas de citrumelo ‘Swingle’.

Neste ensaio, os dados obtidos, quando as sementes foram armazenadas por 9 meses, foram descartados devido à nulidade dos mesmos.

O resumo da análise de variância dos dados obtidos nos testes para avaliar o efeito do condicionamento osmótico conduzido em diferentes períodos de armazenamentos, solutos e períodos de condicionamento, sobre as sementes de citrumelo ‘Swingle’, está registrado na Tabela 13A, havendo efeito significativo da interação tripla para todas as características avaliadas.

As equações de regressão para todas as variáveis estudadas estão representadas nas Tabelas 14A, 16A, 18A e 20A, quando em função do período de armazenamento (PA), e nas tabelas 15A, 17A, 19A, 21A e 23A, quando em função do período de condicionamento (PC).

4.2.1 Determinação do grau de umidade

As médias dos resultados obtidos na determinação do grau de umidade das sementes osmocondicionadas não foram submetidas à análise estatística e estão apresentadas na Tabela 2.

Para as sementes de citrumelo ‘Swingle’ foi observado o mesmo comportamento das sementes de limão cravo, quanto ao conteúdo de água nas sementes em função do soluto utilizado. No entanto, de uma maneira geral, verifica-se que o conteúdo de água nas testemunhas, quando armazenadas por 3 e 6 meses, foi menor que nas sementes condicionadas nas soluções contendo PEG 6000 e a mistura de PEG 6000 + KNO₃, sendo este conteúdo superior apenas às sementes condicionadas em solução contendo KNO₃.

Por serem recalcitrantes, é necessário que as sementes de citrumelo ‘Swingle’ sejam armazenadas com teores de água superiores a 35%. Von Pinho et al. (2005) citam que sementes de citrumelo ‘Swingle’, para um conservação

TABELA 2 Médias em porcentagem do grau de umidade de sementes armazenadas de citrumelo ‘Swingle’, por diferentes períodos de armazenamento (PA), submetidas ao condicionamento osmótico em diferentes soluções (SOL) e períodos de condicionamento (PC).

PA (meses)	SOL	PC (dias)	U%
0	PEG 6000	3	63,49
0	PEG 6000	6	63,71
0	PEG 6000	9	66,87
0	PEG 6000	12	69,63
0	KNO ₃	3	61,16
0	KNO ₃	6	61,22
0	KNO ₃	9	60,53
0	KNO ₃	12	60,05
0	PEG 6000 + KNO ₃	3	62,29
0	PEG 6000 + KNO ₃	6	62,03
0	PEG 6000 + KNO ₃	9	57,17
0	PEG 6000 + KNO ₃	12	64,52
Test			57,13
3	PEG 6000	3	64,88
3	PEG 6000	6	63,43
3	PEG 6000	9	60,74
3	PEG 6000	12	62,60
3	KNO ₃	3	60,72
3	KNO ₃	6	58,54
3	KNO ₃	9	56,20
3	KNO ₃	12	60,78
3	PEG 6000 + KNO ₃	3	65,21
3	PEG 6000 + KNO ₃	6	59,00
3	PEG 6000 + KNO ₃	9	60,22
3	PEG 6000 + KNO ₃	12	63,33
Test			61,15
6	PEG 6000	3	59,69
6	PEG 6000	6	61,53
6	PEG 6000	9	58,13
6	PEG 6000	12	59,22
6	KNO ₃	3	57,74
6	KNO ₃	6	55,76
6	KNO ₃	9	52,73
6	KNO ₃	12	50,42
6	PEG 6000 + KNO ₃	3	59,72
6	PEG 6000 + KNO ₃	6	58,23
6	PEG 6000 + KNO ₃	9	54,98
6	PEG 6000 + KNO ₃	12	58,89
Test			56,93

adequada sejam armazenadas com teor de água em torno de 40%, em embalagem impermeável e em ambiente refrigerado. Esses resultados reforçam os resultados de Mungomery et al. (1966), os quais mostraram que a viabilidade de sementes de tangerina Cleópatra (*Citrus reticulata* Blanco) pode ser mantida durante o armazenamento, desde que conservadas com teor de água acima de 40% e em temperaturas de 5 a 10°C.

4.2.2 Teste de germinação

A germinação das sementes de citrumelo ‘Swingle’ ocorreu entre o 10° e 40° dia após a sementeira, evidenciando também sua lenta germinação. Silva (2006) observou, nessa mesma espécie, germinação entre o 5° e 30° dia após a sementeira, no entanto, foi realizada previamente a extração do tegumento. Além de essa estrutura ser uma barreira mecânica à germinação, agentes aleloquímicos presentes na mesma podem também inibir a germinação. Ketring (1973) identificou em frutos de *Citrus limon* o inibidor Citral.

Em testes preliminares realizados com sementes de alface, sementeiras em substrato umedecido com extrato triturado provenientes da testa e do tegma de sementes de citrumelo ‘Swingle’, Carvalho, 2001 observaram reduções de 88% nos valores de germinação das sementes de alface sementeiras em substrato contendo testa e de 100% quando foram sementeiras em substrato com tegma. Souza et al. (2006) também verificaram uma redução na porcentagem de germinação em sementes de alface sementeiras em substrato de tegma a 5%, e a ausência de pelos absorventes nas radículas das mesmas.

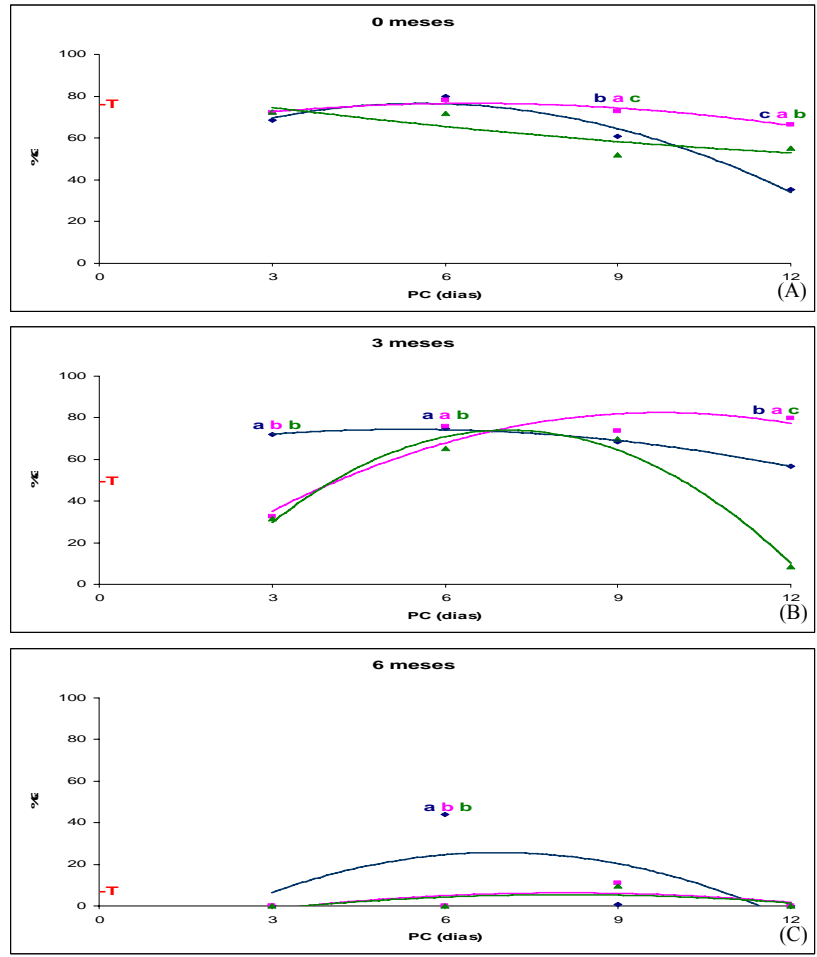
No entanto, neste trabalho, obteve-se alta porcentagem de germinação, em sementes não armazenadas, mesmo não havendo sido realizada a extração prévia dos tegumentos.

Na Figura 17 encontram-se as curvas respostas em função do período de condicionamento (PC) e na Figura 18 encontram-se as curvas respostas em função do período de armazenamento (PA).

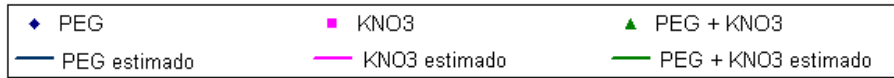
Quando as sementes não foram armazenadas, pode-se observar uma tendência de aumento na porcentagem de germinação quando as sementes foram condicionadas por até 6 dias, em PEG 6000 ou em KNO_3 , seguido de uma redução nos maiores períodos de condicionamento (Figura 17A). Os maiores incrementos na germinação foram obtidos quando as sementes foram condicionadas por 6 dias em soluções contendo PEG 6000 ou KNO_3 , com porcentagem em torno de 80% de germinação, representando ganhos de 8% em relação à testemunha (Tabela 24A).

Posse et al. (2001), observou maior eficiência na germinação de sementes de pimentão, quando estas foram condicionadas durante 21 dias em solução de PEG 6000 a -0,5 MPa, quando comparado aos tratamentos com potenciais de -1,0 e -1,5 MPa durante 7, 14 e 21 dias. Soluções salinas com potencial osmótico mais negativo, que previnem a germinação durante o tratamento, resultaram em menores reduções no T50 (tempo médio para ocorrência de 50% de germinação).

Aos 3 meses de armazenamento, quando as sementes foram condicionadas em solução contendo PEG 6000, observa-se que houve uma tendência de estabilidade dos valores da porcentagem de germinação até o 6º dia de condicionamento, seguida de redução nesses valores nos demais períodos (Figura 17B). Nesse caso os maiores valores superaram a testemunha em até 23 pontos percentuais. Quando o soluto utilizado foi KNO_3 houve uma tendência de aumento da porcentagem de germinação, com valores máximos alcançados quando o condicionamento foi por 12 dias com ganhos de 30% em relação à testemunha (Tabela 24A).



Diferenças significativas entre os solutos em cada período de condicionamento estão discriminadas por letras.



T - testemunha

FIGURA 17 Estimativa da porcentagem de germinação (%G) de sementes de citrumele ‘Swingle’, armazenadas por 0, 3, 6 e 9 meses, em função do condicionamento osmótico em soluções contendo diferentes solutos (PEG 6000, KNO₃ e PEG 6000 + KNO₃) e do período de condicionamento (3, 6, 9 e 12 dias).

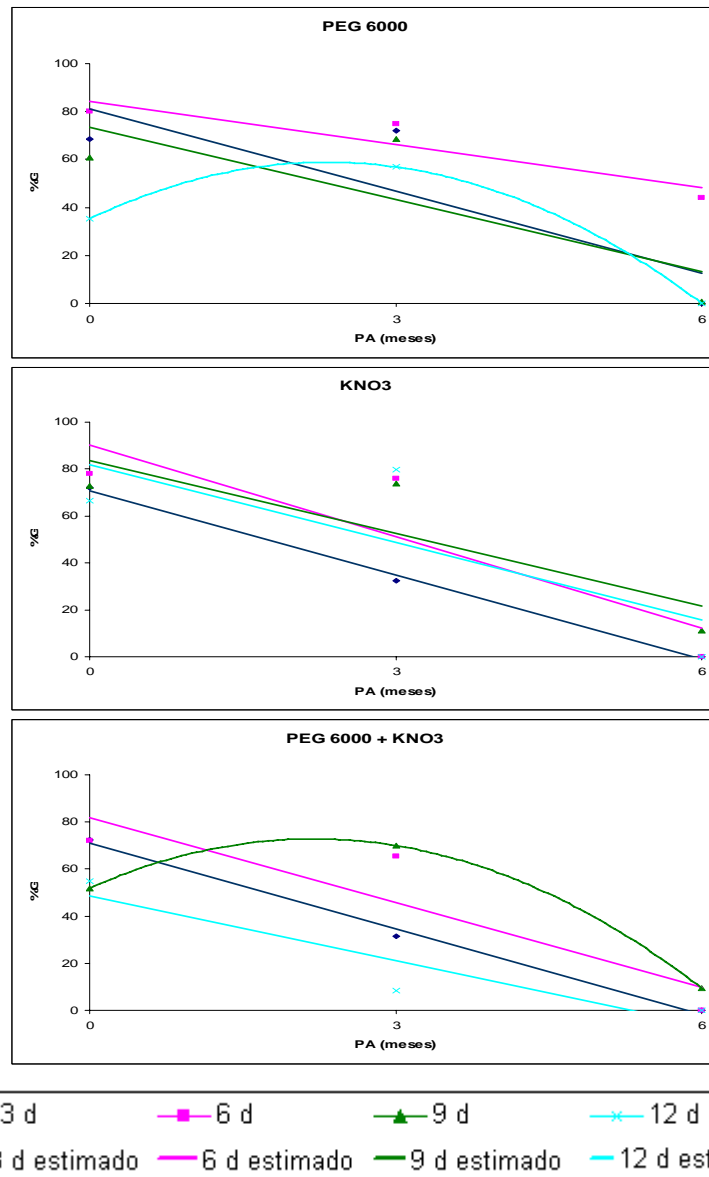


FIGURA 18 Estimativa da porcentagem de germinação (%G) de sementes de citrúmelo 'Swingle', submetidas ao condicionamento osmótico em diferentes soluções (PEG 6000, KNO₃ e PEG 6000 + KNO₃) em função do período de armazenamento (meses) e do período de condicionamento (dias).

Também foi observada uma tendência de aumento da porcentagem de germinação, quando na presença da combinação de PEG 6000 + KNO₃, até o 6º dia de condicionamento, seguido de uma redução nos períodos seguintes (Figura 17B).

Ao 6º mês de armazenamento, observa-se uma baixa porcentagem de germinação para todos os tratamentos (Figura 17C), exceto quando no 6º dia de condicionamento, houve uma tendência de aumento da germinação quando as sementes foram condicionadas em PEG 6000, quando houve o ganho de 35% em relação à testemunha (Tabela 24A).

Ribeiro et al. (2002) observaram que a exposição das sementes de algodão em soluções com maior concentração de PEG 6000 (-12 atm) proporcionou maiores valores de germinação das sementes. No entanto, no período de 30 horas, foi observada a protrusão radicular de grande parte das sementes, indicando, dessa forma, a necessidade de menores períodos para o reparo das membranas.

Há uma tendência linear de redução da porcentagem de germinação, independente do soluto utilizado e em todos os períodos de condicionamento, ao longo do período de armazenamento, exceto aos 12 dias de condicionamento na presença de PEG 6000 e aos 9 dias na presença de PEG 6000 + KNO₃, havendo nesses casos uma tendência de aumento quando as sementes foram armazenadas por 3 meses, seguido de uma redução aos 6 meses (Figura 18).

4.2.3 Índice de velocidade de germinação (IVG)

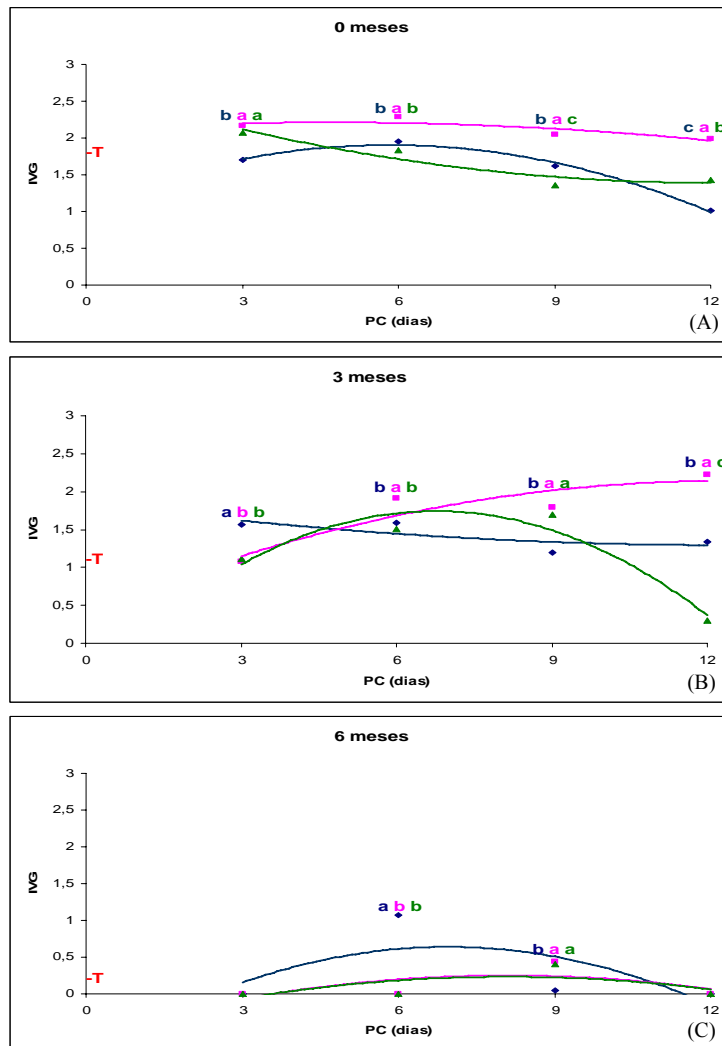
Na Figura 19 encontram-se as curvas respostas do índice de velocidade de germinação em função do período de condicionamento (PC) e na Figura 20 encontram-se as curvas respostas em função do período de armazenamento (PA).

O condicionamento em sementes não armazenadas propiciou maiores índices de velocidade de germinação quando se utilizou KNO_3 independente do período de condicionamento (Figura 19A). O ganho médio desses tratamentos em relação à testemunha foi de 30% (Tabela 24A).

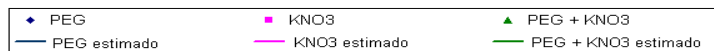
Existem, na literatura, controvérsias com respeito aos efeitos dos tratamentos e à qualidade inicial das sementes. Woodstock & Tao (1981) observaram que a embebição de sementes de soja em solução de 30% de PEG, não só evita injúrias provocadas pela rápida absorção de água, como também aumenta o desempenho germinativo de sementes de baixo vigor. Também Fu et al. (1998) verificaram que o condicionamento fisiológico aumentou a germinação e o vigor de sementes de amendoim deterioradas. Sementes de baixo vigor, embebidas em PEG ou em água, apresentam melhoria na germinação de acordo com Burgass & Powell (1984). Entretanto, Parera & Cantliffe (1994) sugeriram o uso de sementes de alto vigor como pré-requisito para se obter bom resultado no condicionamento osmótico.

Aos 3 meses de armazenamento, há uma tendência de aumento deste índice para sementes condicionadas em KNO_3 (Figura 19B), com ganhos de 48% em relação à testemunha quando o condicionamento foi de 12 dias (Tabela 24A). Quando se utilizou o soluto PEG 6000 + KNO_3 a tendência também foi de aumento do IVG até o 9º dia de condicionamento, sendo que valores superiores ao da testemunha foram obtidos aos 6 e 9 dias de condicionamento. Com o soluto PEG 6000 não foram observados valores de IVG maiores que da testemunha (Tabela 24A).

Aos 6 meses, apenas o condicionamento com PEG 6000, pelo período de condicionamento de 6 dias, foi eficiente para recuperar o vigor das sementes, quando foram obtidos ganhos de até 27% em relação à testemunha (Tabela 24A).



Diferenças significativas entre os solutos em cada período de condicionamento estão discriminadas por letras.



T - testemunha

FIGURA 19 Estimativa do índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de citrumelo ‘Swingle’, armazenadas por 0, 3, 6 e 9 meses, em função do condicionamento osmótico em soluções contendo diferentes solutos (PEG 6000, KNO₃ e PEG 6000 + KNO₃) e do período de condicionamento (3, 6, 9 e 12 dias).

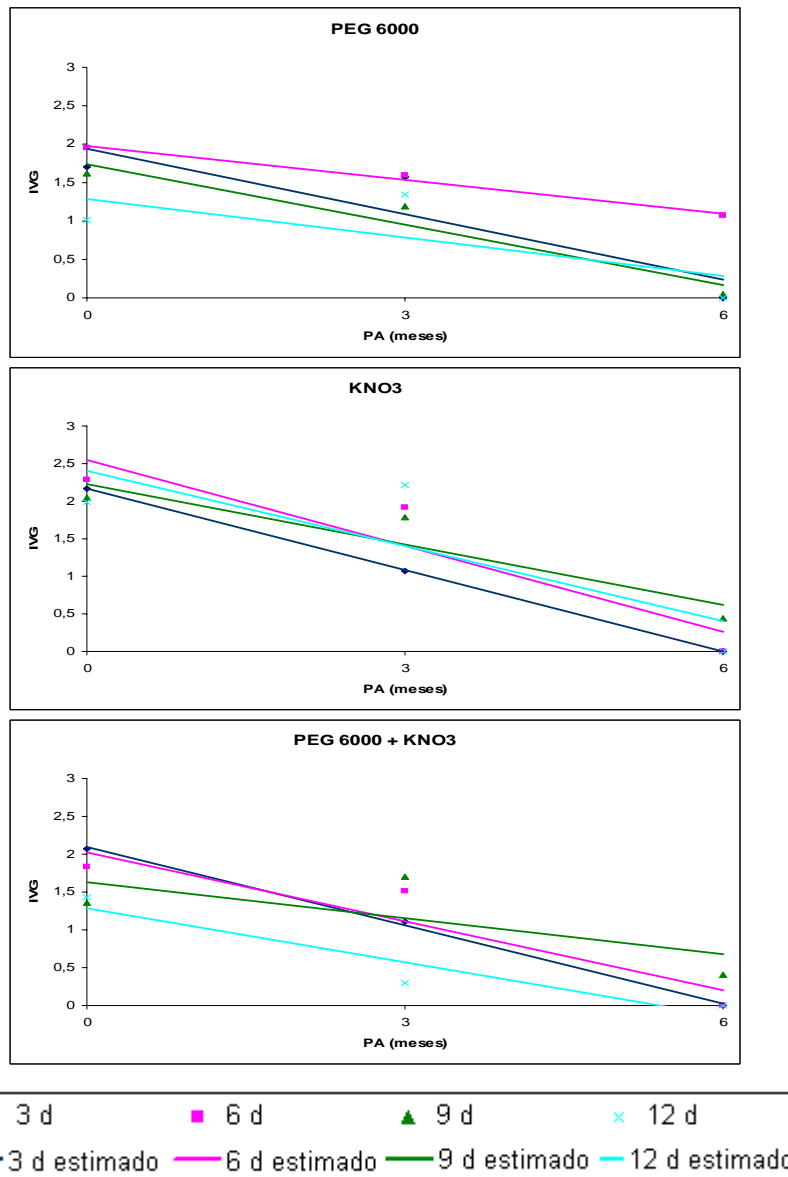


FIGURA 20 Estimativa do índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de citrumelo 'Swingle', submetidas ao condicionamento osmótico em diferentes soluções (PEG 6000, KNO₃ e PEG 6000 + KNO₃) em função do período de armazenamento (meses) e do período de condicionamento (dias).

Observa-se uma tendência geral de redução da velocidade de germinação ao longo de todo o armazenamento, para todos os tratamentos, independente do soluto e do período de condicionamento utilizado (Figura 20).

4.2.4 Teste de emergência em bandeja

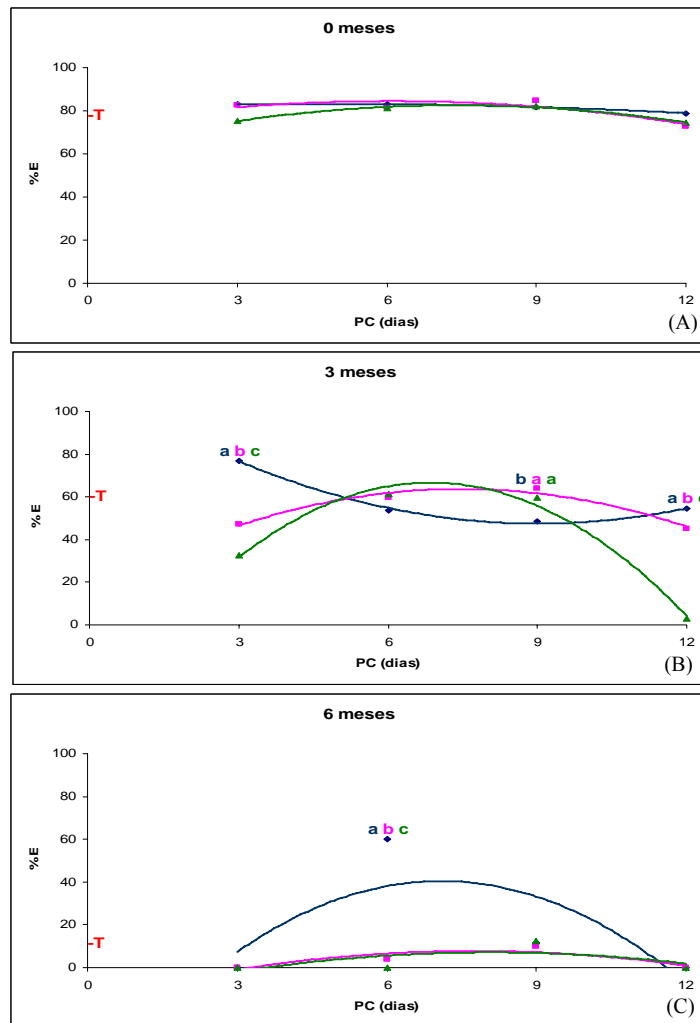
Na Figura 21 encontram-se as curvas respostas em função do período de condicionamento (PC) e na Figura 22 encontram-se as curvas respostas em função do período de armazenamento (PA).

A porcentagem de emergência das sementes não armazenadas manteve-se constante até o 9º dia de condicionamento, quando este foi realizado em PEG 6000 ou KNO_3 e, aos 6 e 9 dias de condicionamento, quando em combinação de PEG 6000 + KNO_3 , apresentando resultados superiores à testemunha (Figura 21A). No entanto, após as sementes terem sido armazenadas por 3 meses (Figura 21B), diminuindo assim sua capacidade de emergência, apenas o condicionamento em PEG 6000, pelo período de 3 dias, se mostrou eficiente, apresentando ganhos de 17% em relação à testemunha (Tabela 24A).

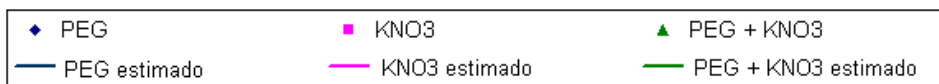
Já aos 6 meses de armazenamento (Figura 21C), maior valor de porcentagem de emergência (60%) foi obtido quando as sementes foram condicionadas por 6 dias em solução contendo PEG 6000, apresentando ganho de 48% em relação à testemunha (Tabela 24A).

Bramlage et al. (1978) obtiveram sucesso no revigoração de sementes de soja com cinco minutos de exposição em solução contendo PEG 6000 a -12 atm. Por outro lado, Shioga (1990), trabalhando com sementes de feijão, defende os períodos mais longos de condicionamento como os melhores tratamentos.

Ribeiro et al. (2002) verificaram uma superioridade dos lotes de sementes de algodão condicionados sob concentração mais negativa de PEG, mas, no entanto, dentro dessa concentração, não houve diferença com relação ao período de embebição.



Diferenças significativas entre os solutos em cada período de condicionamento estão discriminadas por letras.



T - testemunha

FIGURA 21 Estimativa da porcentagem de emergência (%E) de sementes de citrumelo ‘Swingle’, armazenadas por 0, 3, 6 e 9 meses, em função do condicionamento osmótico em soluções contendo diferentes solutos (PEG 6000, KNO₃ e PEG 6000 + KNO₃) e do período de condicionamento (3, 6, 9 e 12 dias).

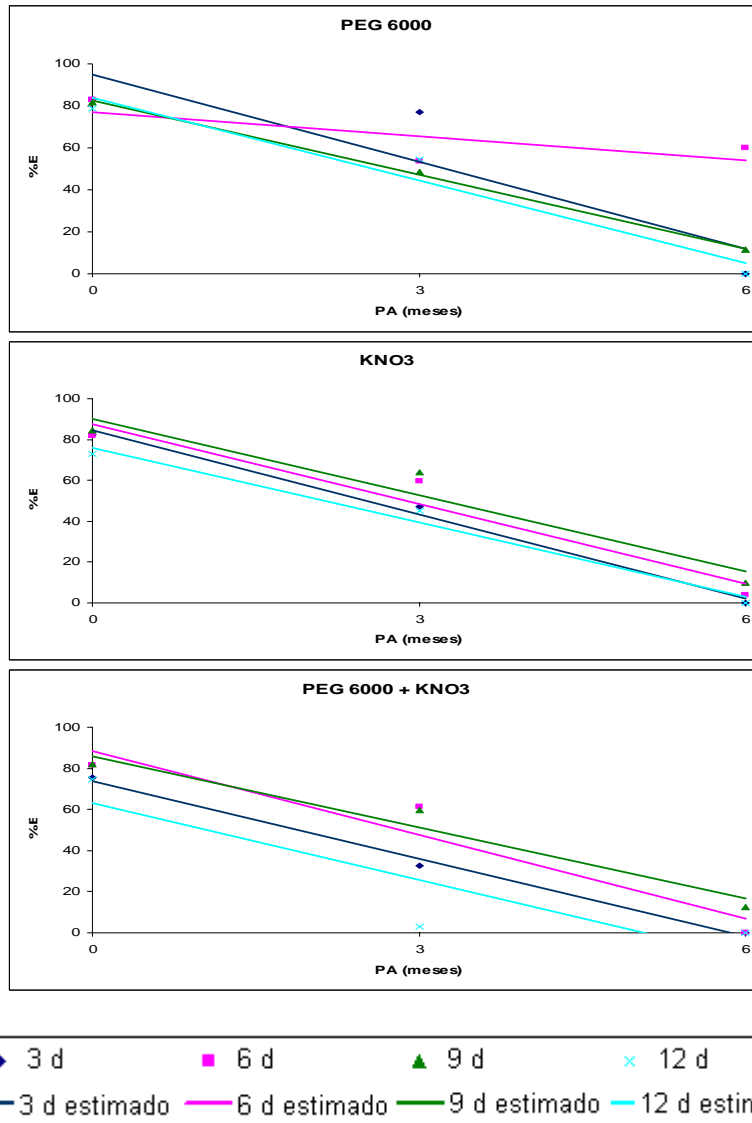


FIGURA 22 Estimativa da porcentagem de emergência (%E) de sementes de citrimelo 'Swingle', submetidas ao condicionamento osmótico em diferentes soluções (PEG 6000, KNO₃ e PEG 6000 + KNO₃) em função do período de armazenamento (meses) e do período de condicionamento (dias).

Há uma tendência de redução da porcentagem de emergência ao longo do armazenamento, independente do soluto utilizado e do período de condicionamento a que as sementes foram submetidas (Figura 22).

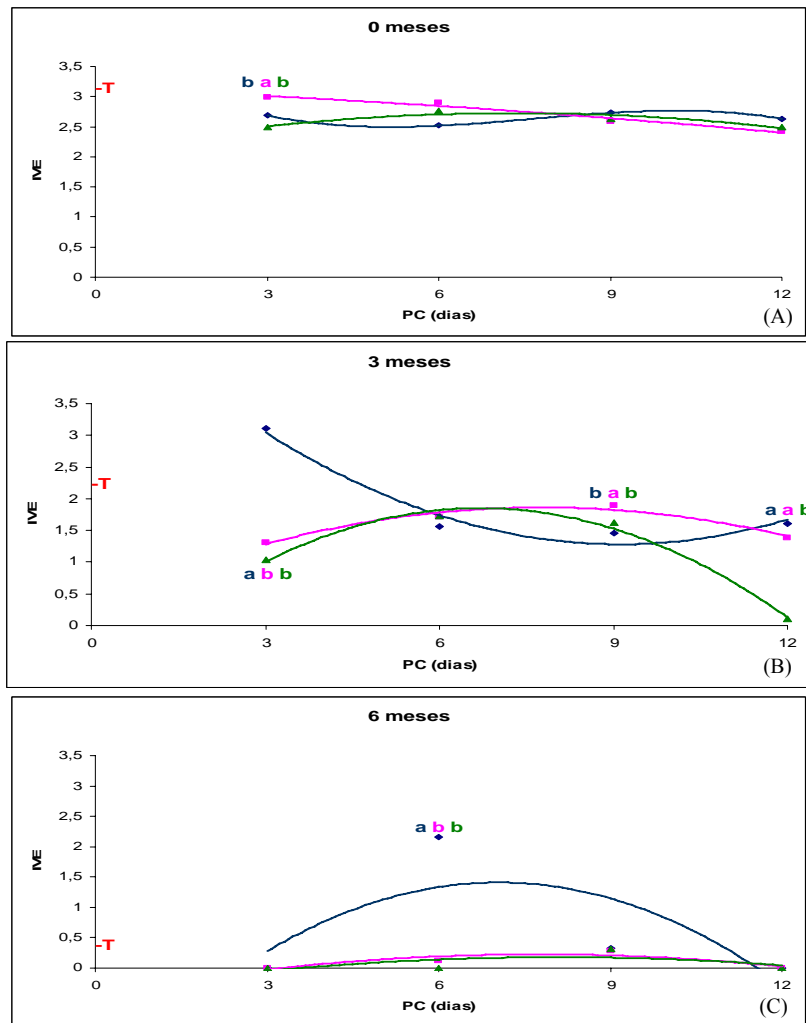
4.2.5 Índice de velocidade de emergência

Na Figura 23 encontram-se as curvas respostas em função do período de condicionamento (PC) e na Figura 24 encontram-se as curvas respostas em função do período de armazenamento (PA).

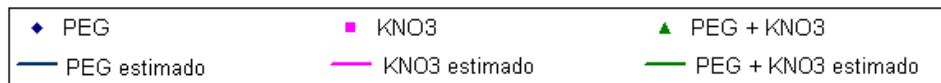
O índice de velocidade de emergência das sementes não armazenadas manteve-se constante durante todo o período de condicionamento, independente do soluto, não apresentando resultados superiores à testemunha (Figura 23A). No entanto, após as sementes terem sido armazenadas, diminuindo assim seu vigor, foram observados ganhos de até 30% e 80% em relação à testemunha (Tabela 24A), quando as sementes foram condicionadas na presença de PEG 6000 por 3 dias após terem sido armazenadas por 3 meses e 6 dias após terem sido armazenadas por 6 meses, respectivamente (Figura 23A).

Ribeiro et al. (2002) concluíram que soluções de PEG 6000 mais negativas (-12 atm) são mais indicadas para o condicionamento fisiológico de sementes de algodão e que, nessa concentração, o período de embebição não influi nos resultados.

Há uma tendência de redução do índice de velocidade de emergência ao longo do armazenamento, independente do soluto utilizado e do período de condicionamento a que as sementes foram submetidas, exceto quando as sementes foram condicionadas em solução contendo PEG 6000, durante 6 dias, havendo uma tendência de aumento aos 6 meses de armazenamento (Figura 24).



Diferenças significativas entre os solutos em cada período de condicionamento estão discriminadas por letras.



T - testemunha

FIGURA 23 Estimativa do índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de citrumelo ‘Swingle’, armazenadas por 0, 3, 6 e 9 meses, em função do condicionamento osmótico em soluções contendo diferentes solutos (PEG 6000, KNO₃ e PEG 6000 + KNO₃) e do período de condicionamento (3, 6, 9 e 12 dias).

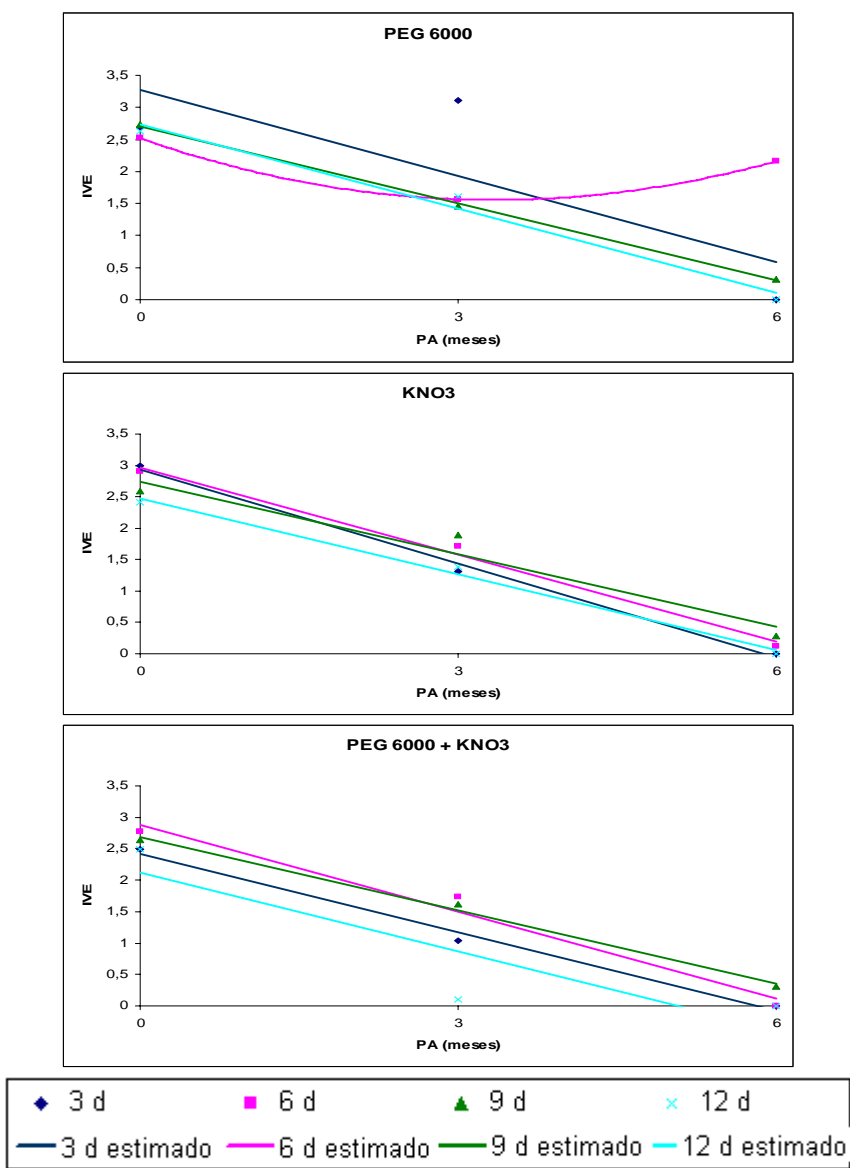


FIGURA 24 Estimativa do índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de citrumeio 'Swingle', submetidas ao condicionamento osmótico em diferentes soluções (PEG 6000, KNO₃ e PEG 6000 + KNO₃) em função do período de armazenamento (meses) e do período de condicionamento (dias).

4.2.6 Condutividade elétrica

Na Figura 25 encontram-se as curvas respostas em função do período de condicionamento (PC) e na Figura 26 encontram-se as curvas respostas em função do período de armazenamento (PA).

Há uma tendência linear constante da condutividade elétrica das sementes não armazenadas de citrumelo ‘Swingle’, sendo que os maiores valores foram obtidos quando o condicionamento foi feito na presença do KNO_3 , durante todo o período de condicionamento, seguido da solução contendo PEG 6000 + KNO_3 e por último, apenas o PEG 6000 (Figura 25A).

Pelo teste de condutividade elétrica foi possível detectar diferença estatística entre os solutos utilizados. Os menores valores de condutividade foram obtidos quando as sementes não armazenadas foram condicionadas em solução contendo apenas PEG 6000, durante todo o período (3, 6, 9 e 12 dias) de condicionamento (13.23, 12.19, 13.36 e 18,62 $\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$), respectivamente. Os maiores valores foram obtidos quando na presença do KNO_3 (55.78, 54.59, 58.38 e 62.71 $\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$), sendo estes superiores inclusive à testemunha (37.58 $\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$), seguidos pelas sementes condicionadas em PEG 6000 + KNO_3 (23.19, 30.12, 26.90 e 29.31 $\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$), nos mesmos períodos (Tabela 24A).

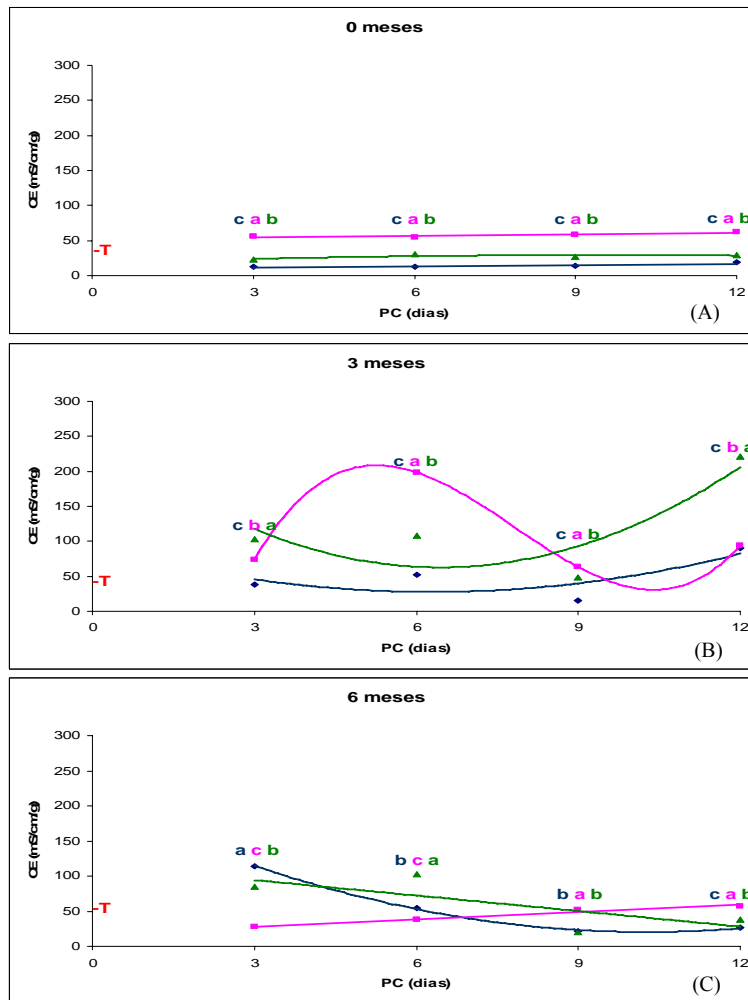
Nos condicionamentos realizados após o 3º mês de armazenamento, com o soluto KNO_3 , os resultados foram inconsistentes, mas em todos os casos com condutividade elétrica superior a da testemunha, ou seja, indicando ineficiência do tratamento (Figura 25B). Quando se utilizou o soluto PEG 6000+ KNO_3 os valores da condutividade foram decrescentes em relação ao tempo de condicionamento, com valores mais baixos no tempo de 6 dias e crescentes até 12 dias. Em relação à testemunha esses valores foram sempre mais altos (Tabela 24A). Com o soluto PEG 6000, as variações dos valores da condutividade foram constantes até 9 dias de condicionamento, aumentando em seguida. Neste caso os valores foram iguais ou superiores à testemunha.

Nos condicionamentos após 6 meses de armazenamento, quando se utilizou o soluto KNO_3 , houve uma tendência linear crescente (Figura 25C). Aos 3 dias de condicionamento com valores abaixo dos observados para a testemunha e a partir do período de 6 dias com valores superiores ao do controle. Quando o soluto utilizado foi o PEG 6000+ KNO_3 houve uma tendência linear decrescente dos valores. Valores maiores de condutividade elétrica que da testemunha foram obtidos quando o condicionamento foi realizado por 3 dias.

Quando se utilizou o soluto PEG 6000, os valores da condutividade foram decrescentes em relação ao tempo de condicionamento, com valores mais baixos no tempo de 9 dias e constantes até 12 dias (Figura 25C). Os valores obtidos aos 3 dias de condicionamento foram superiores aos da testemunha, com um aumento de 50%, não diferindo dessas aos 6 dias e, inferiores a partir do 9º dia, reduzindo até 62% (Tabela 24A).

A variação dos resultados de condutividade elétrica relativa a tempos de condicionamento, em função dos diferentes solutos, provavelmente ocorreu por ser o controle da embebição das sementes um fator limitante. A embebição em água parece ter contribuído para ocasionar danos de membrana, o que propiciou aumento de lixiviação de solutos com o aumento do tempo de embebição. Woodstock & Tao (1981) mencionam que a embebição muito rápida pode aumentar a lixiviação de solutos, em consequência dos danos de membrana.

Há uma tendência de aumento da condutividade elétrica ao longo do período de armazenamento, independente do soluto utilizado e do período de condicionamento a que foram submetidas, exceto quando as sementes foram condicionadas por 6 e 12 dias em KNO_3 e, por 9 e 12 dias em PEG 6000 + KNO_3 , havendo uma tendência de redução após o 3º mês de armazenamento (Figura 26).



Diferenças significativas entre os solutos em cada período de condicionamento estão discriminadas por letras.

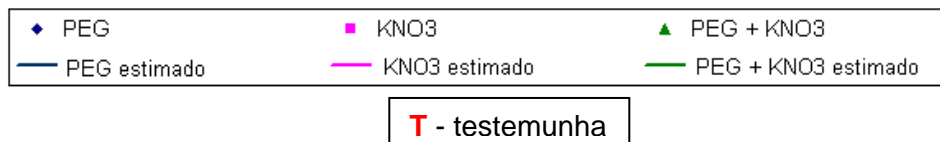


FIGURA 25 Estimativa da condutividade elétrica (CE) de sementes de citrumelo ‘Swingle’, armazenadas por 0, 3, 6 e 9 meses, em função do condicionamento osmótico em soluções contendo diferentes solutos (PEG 6000, KNO₃ e PEG 6000 + KNO₃) e do período de condicionamento (3, 6, 9 e 12 dias).

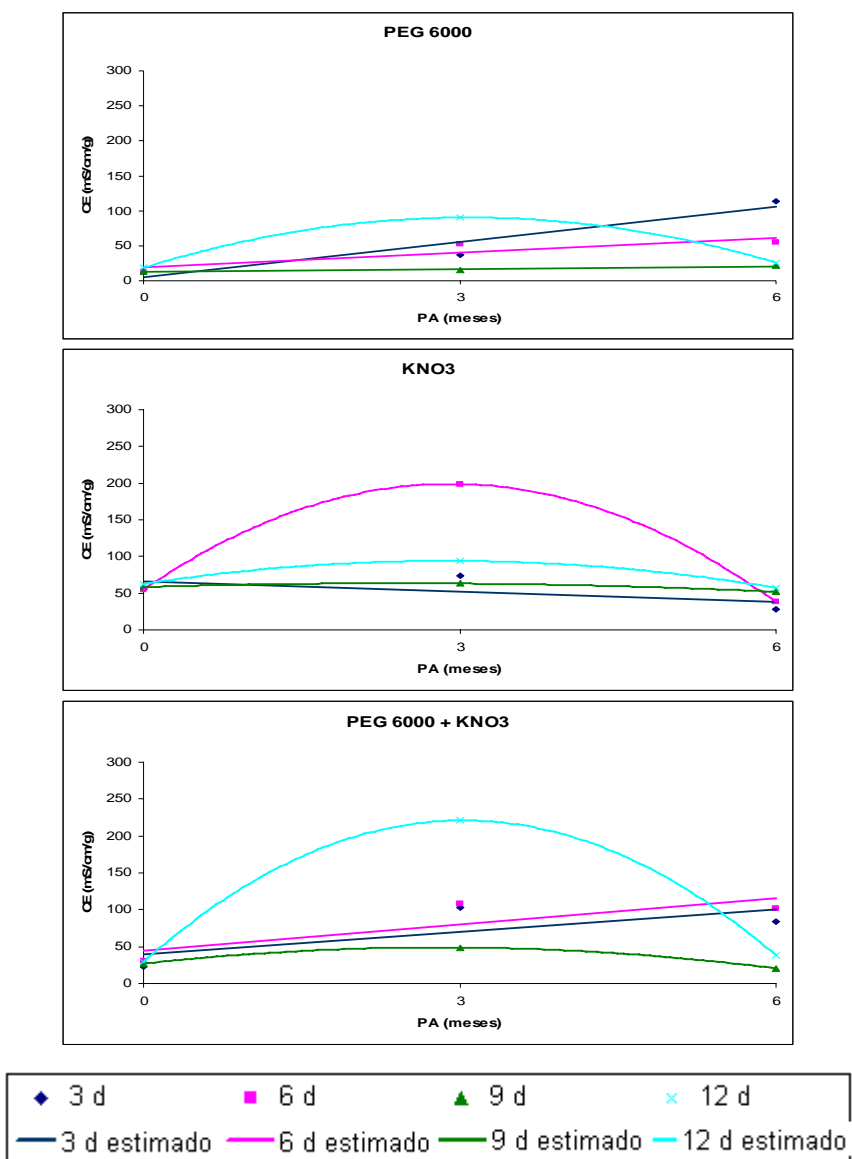


FIGURA 26 Estimativa da condutividade elétrica (CE) de sementes de citrumelo ‘Swingle’, submetidas ao condicionamento osmótico em diferentes soluções (PEG 6000, KNO₃ e PEG 6000 + KNO₃) em função do período de armazenamento (meses) e do período de condicionamento (dias).

4.2.7 Análise da atividade enzimática

O estresse causado pelo condicionamento ativou o metabolismo das sementes, induzindo a processos oxidativos e produção de radicais livres, levando assim ao aparecimento da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD), nos períodos de armazenamento de 0 e 3 meses, para todos os solutos (Figura 27), sendo que não foi observada atividade desta enzima nas sementes não condicionadas (testemunha). Aos 6 meses de armazenamento, houve um aumento na intensidade das bandas e surgiram novas bandas, nas sementes condicionadas. Foi observada também a presença de bandas nas sementes não condicionadas nesse período, indicando assim que houve deterioração das sementes.

As superóxidos dismutases são um grupo de enzimas, encontrados no citoplasma celular e matriz mitocondrial, que catalisam a reação de dismutação de radicais superóxidos livres (O_2^-) produzidos em diferentes locais na célula para oxigênio molecular (O_2) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2).

Pôde-se observar uma redução na definição das bandas no perfil enzimático da malato desidrogenase (MDH) à medida que se aumentou o período de armazenamento, havendo um maior arraste e maior intensidade de coloração aos 6 meses de armazenamento, para todos os tratamentos, inclusive na testemunha (Figura 28), indicando que houve uma intensificação na respiração das sementes.

O aumento no número e/ou intensidade de coloração de bandas dessa enzima, em sementes submetidas a períodos mais longos de envelhecimento, pode ser em função do aumento da respiração que ocorre em sementes que se encontram em processo de deterioração avançado, uma vez que enzimas envolvidas na respiração podem ser ativadas em sementes de qualidade reduzida (Shatters, 1994).

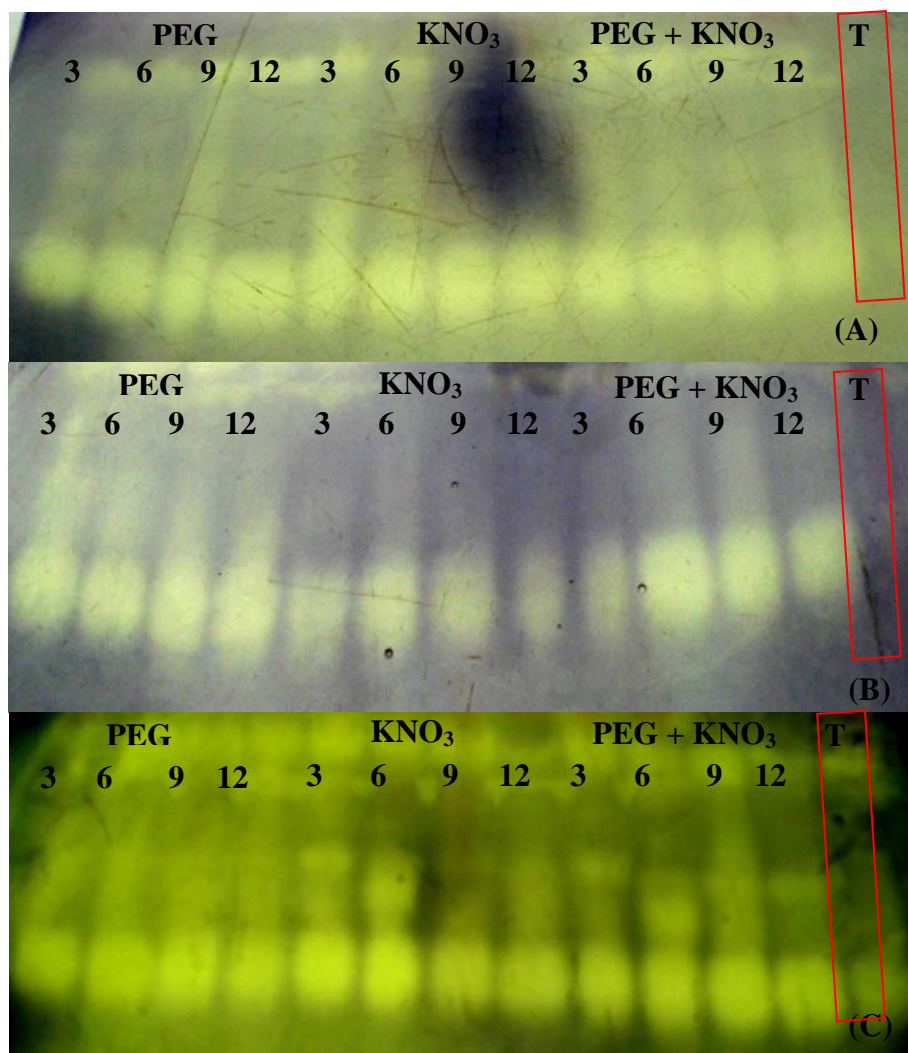


FIGURA 27 Padrões isoenzimáticos de sementes de citrumele ‘Swingle’ armazenadas por 0 (A), 3 (B) e 6 (C) meses, submetidas ao condicionamento osmótico em soluções aeradas de PEG, KNO₃ e PEG + KNO₃ (T - testemunha) por diferentes períodos de condicionamento (3, 6, 9 e 12 dias), reveladas para a superóxido dismutase (SOD).

Vieira (1996) afirma que enzimas envolvidas na respiração podem apresentar alta atividade em sementes de qualidade reduzida e ser um possível marcador molecular para deterioração.

As esterases compõem o grupo de enzimas hidrolíticas que liberam ácidos graxos dos lipídios, os quais são usados na β -oxidação, como fonte de energia para os eventos germinativos. Enquanto muitos desses lipídios são provenientes de lipossomos, alguns são constituintes de membranas, cuja degradação aumenta com a deterioração.

A atividade da enzima esterase nas sementes de citrumelo ‘Swingle’ decresceu em função do aumento do período de armazenamento, sugerindo ocorrência de deterioração da semente, independente do soluto utilizado e do período de condicionamento a que foram submetidas (Figura 29).

Aung & McDonald (1995) avaliaram a atividade de esterases durante a deterioração de sementes de amendoim, encontrando decréscimos na sua atividade total, com o aumento da deterioração tanto em sementes embebidas como não embebidas.

Pode-se observar ausência de atividade da enzima catalase (CAT) em sementes não armazenadas de citrumelo ‘Swingle’, que não foram submetidas ao condicionamento, sugerindo que o condicionamento empregado nos demais tratamentos tenha causado estresse, ativando o metabolismo dessas enzimas, ocorrendo o surgimento de bandas (Figura 30). Houve uma menor intensidade destas bandas quando as sementes foram condicionadas por 3 dias em solução contendo PEG 6000, quando as sementes não foram armazenadas e aos 3 meses de armazenamento. Aos 6 meses de armazenamento foi observada maior intensidade de coloração das bandas para todos os tratamentos empregados.

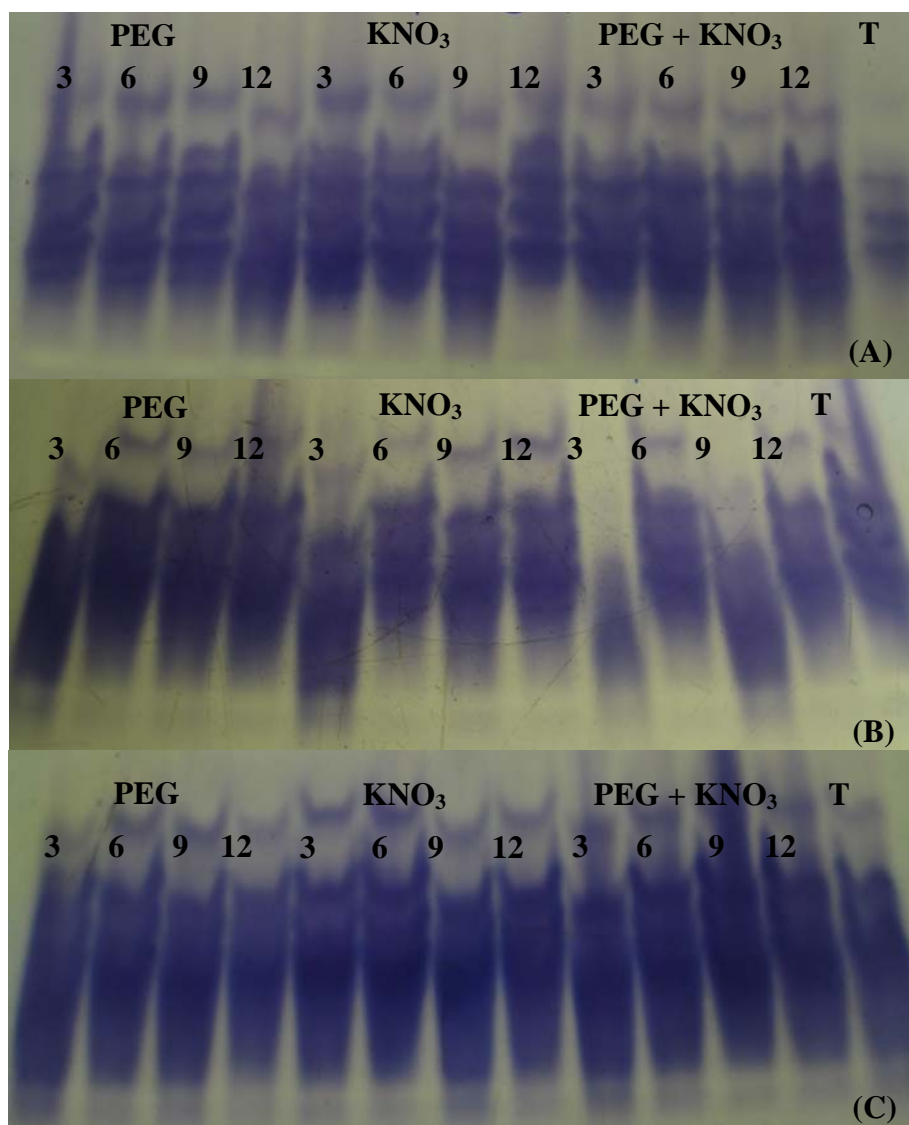


FIGURA 28 Padrões isoenzimáticos de sementes de citrumelo ‘Swingle’ armazenadas por 0 (A), 3 (B) e 6 (C) meses, submetidas ao condicionamento osmótico em soluções aeradas de PEG, KNO₃ e PEG + KNO₃ (T - testemunha) por diferentes períodos de condicionamento (3, 6, 9 e 12 dias), reveladas para a malato desidrogenase (MDH).

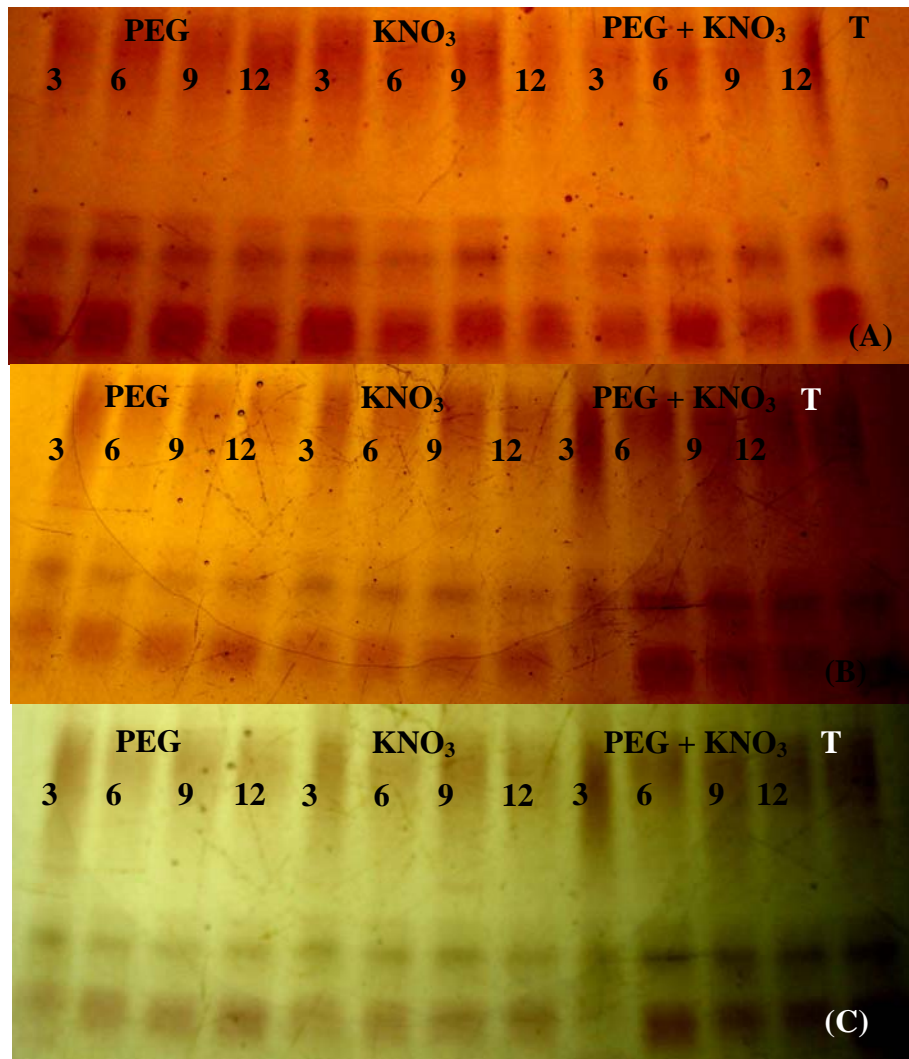


FIGURA 29 Padrões isoenzimáticos de sementes de citrumelo ‘Swingle’ armazenadas por 0 (A), 3 (B) e 6 (C) meses, submetidas ao condicionamento osmótico em soluções aeradas de PEG, KNO₃ e PEG + KNO₃ (T - testemunha) por diferentes períodos de condicionamento (3, 6, 9 e 12 dias), reveladas para a esterase (EST).

As peroxidases desempenham um papel crítico no metabolismo das plantas e na oxidação por peróxidos, como aceptores de hidrogênio, sendo importante nos mecanismos de defesa. A perda da sua atividade pode tornar as sementes mais sensíveis aos efeitos do O₂, tornando as sementes mais sujeitas à perda de viabilidade (Faria et al., 2003).

Foi observado que quando as sementes foram armazenadas por período de tempo mais longos, independente do soluto utilizado, houve uma menor intensidade de coloração das bandas dessa enzima (Figura 31), sugerindo assim a perda de viabilidade das sementes em função do maior período de armazenamento.

Observa-se uma redução da atividade da enzima álcool desidrogenase nas sementes de citrumelo 'Swingle' em função do aumento do período de armazenamento, independente do soluto utilizado e do período de condicionamento (Figura 32). Essa redução foi ainda mais evidente quando as sementes foram condicionadas em solução contendo KNO₃ ou PEG 6000 + KNO₃. Quando as sementes foram armazenadas por 9 meses não houve atividade dessa enzima para nenhum dos tratamentos empregados, inclusive para a testemunha, sugerindo completa deterioração dessas sementes.

Não foi possível estabelecer correlações consistentes entre os resultados observados nos perfis eletroforéticos das proteínas resistentes ao calor (LEA proteína) e os resultados fisiológicos observados para sementes de citrumelo 'Swingle' (Figura 33). Entretanto, a redução do número e intensidade de bandas observadas pode ser atribuída à hidrólise das proteínas quando o processo de germinação atingiu estádios mais avançados por causa do condicionamento.

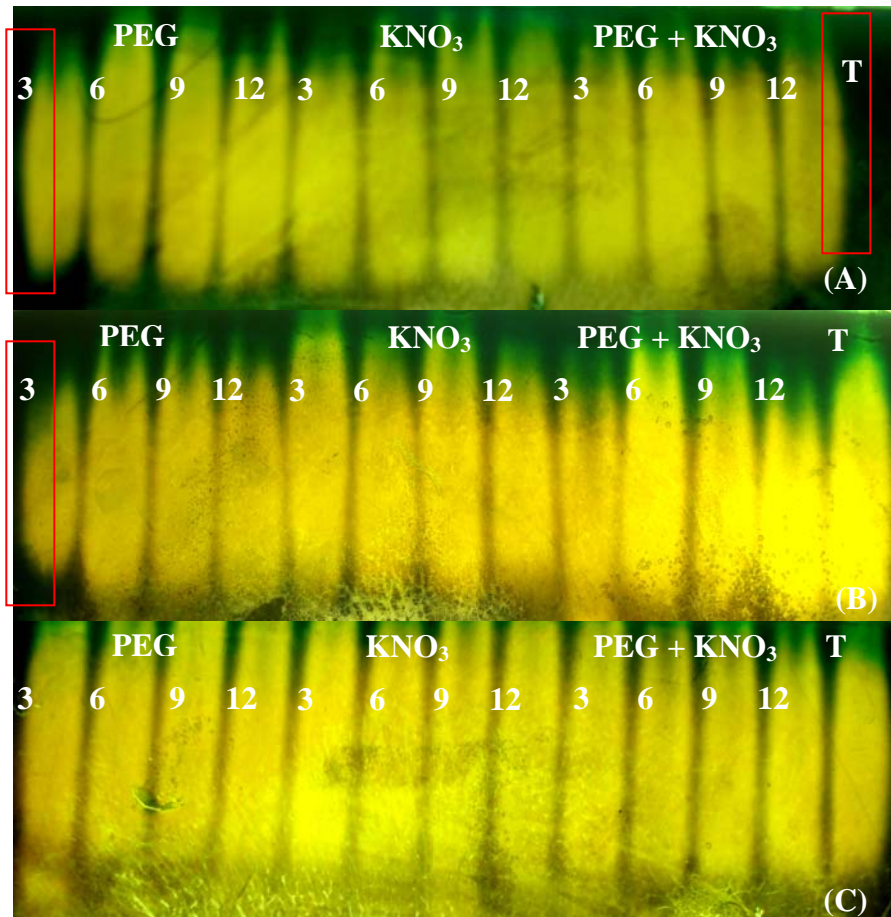


FIGURA 30 Padrões isoenzimáticos de sementes de citrúelo 'Swingle' armazenadas por 0 (A), 3 (B) e 6 (C) meses, submetidas ao condicionamento osmótico em soluções aeradas de PEG, KNO₃ e PEG + KNO₃ (T - testemunha) por diferentes períodos de condicionamento (3, 6, 9 e 12 dias), reveladas para a catalase (CAT).

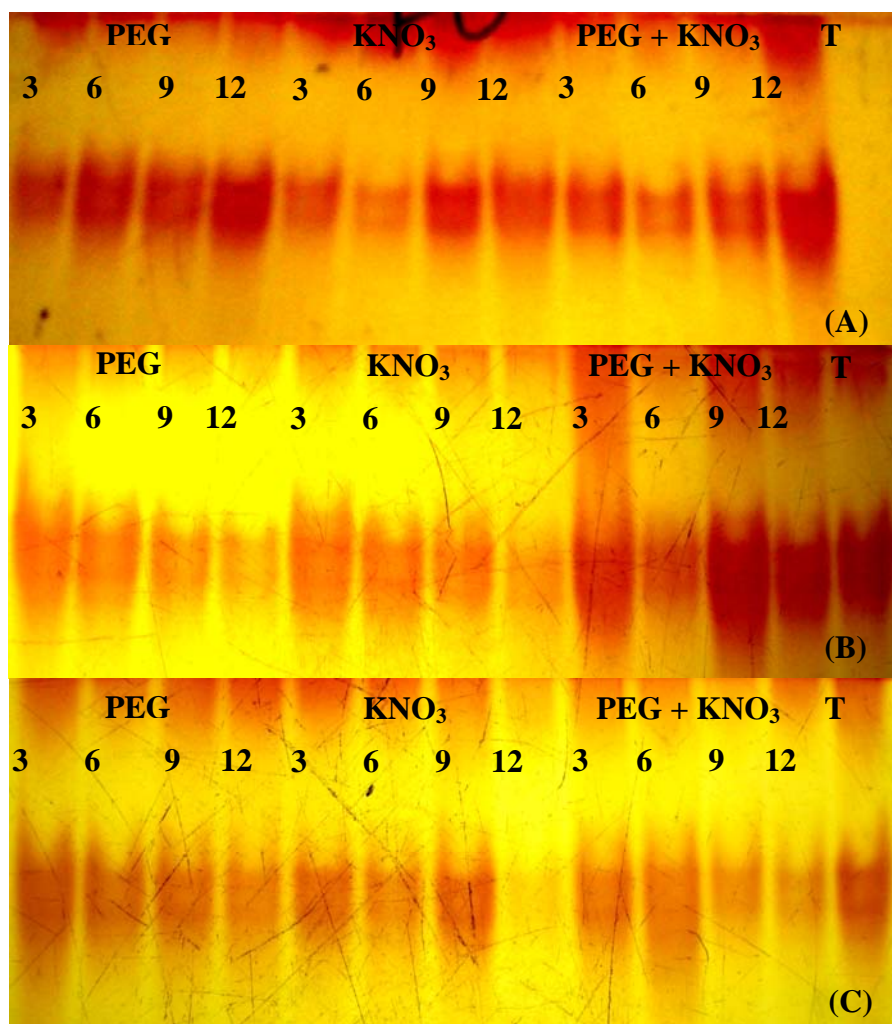


FIGURA 31 Padrões isoenzimáticos de sementes de citrumelo ‘Swingle’ armazenadas por 0 (A), 3 (B) e 6 (C) meses, submetidas ao condicionamento osmótico em soluções aeradas de PEG, KNO₃ e PEG + KNO₃ (T - testemunha) por diferentes períodos de condicionamento (3, 6, 9 e 12 dias), reveladas para a peroxidase (PO).

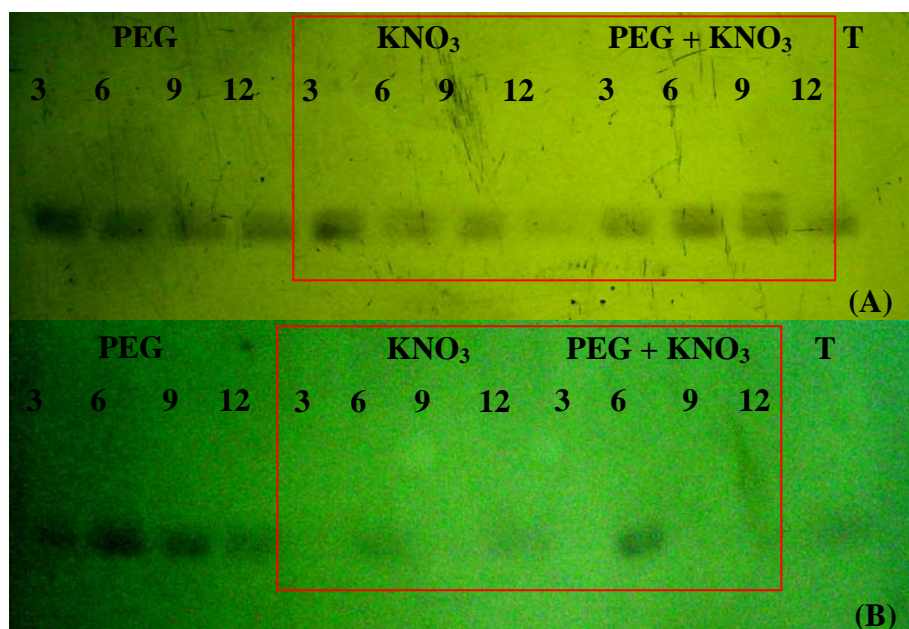


FIGURA 32 Padrões isoenzimáticos de sementes de citrumelo ‘Swingle’ armazenadas por 0 (A) e 3 (B) meses, submetidas ao condicionamento osmótico em soluções aeradas de PEG, KNO₃ e PEG + KNO₃ (T - testemunha) por diferentes períodos de condicionamento (3, 6, 9 e 12 dias), reveladas para a álcool desidrogenase (ADH).

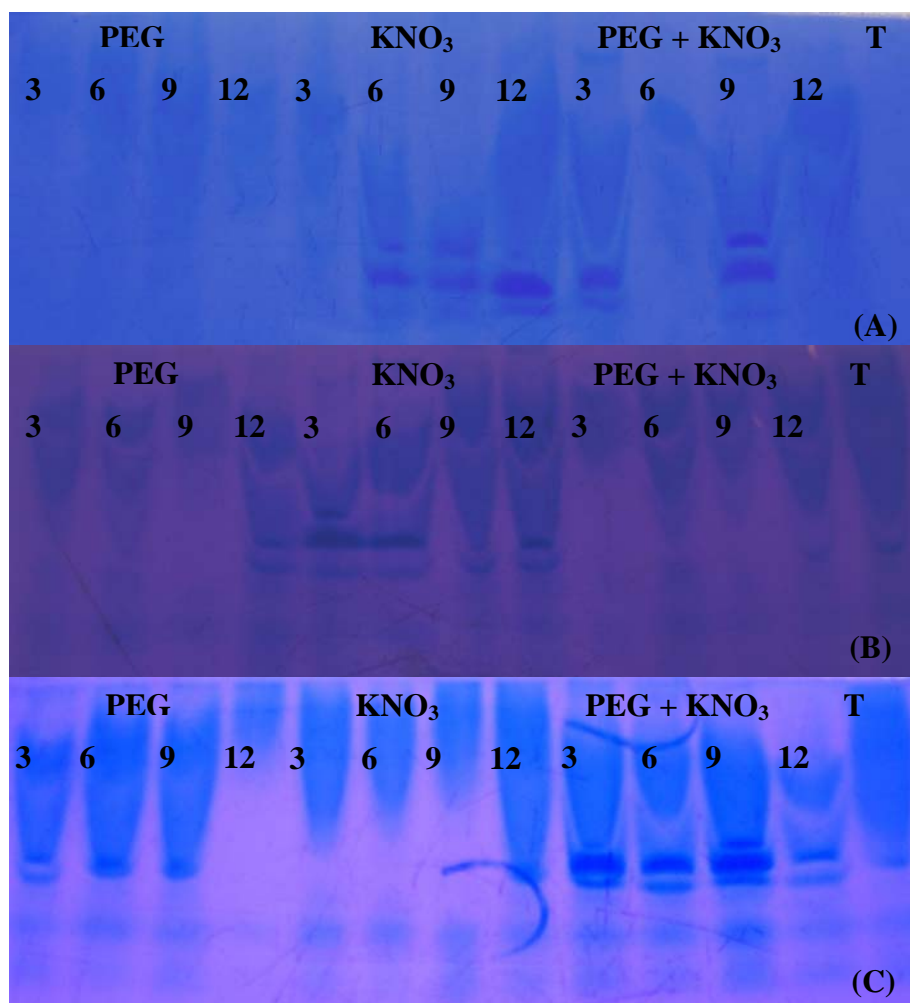


FIGURA 33 Padrões protéicos de sementes de citrumelo ‘Swingle’, armazenadas por 0 (A), 3 (B) e 6 (C) meses, submetidas ao condicionamento osmótico em soluções aeradas de PEG, KNO₃ e PEG + KNO₃ (T - testemunha) por diferentes períodos de condicionamento (3, 6, 9 e 12 dias), reveladas para a proteína de resistência ao calor (LEA).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de o tegumento ser considerado uma barreira mecânica à germinação das sementes, neste trabalho, não se verificou a redução desta característica, em sementes não armazenadas, mesmo não tendo sido realizada a remoção desta estrutura nas sementes, tanto para limão cravo quanto para o citrumelo ‘Swingle’. No entanto, a emergência das plântulas foi expressivamente maior quando as sementes foram condicionadas.

Esse resultado representa um ganho expressivo para as empresas produtoras de mudas cítricas, visto que possibilita a redução de mão-de-obra para realizar a destegumentação das sementes, principalmente as de limão cravo.

Outro ponto importante a ser observado refere-se à recuperação do desempenho fisiológico em lotes de sementes armazenadas. Sementes de limão cravo e, principalmente as de citrumelo ‘Swingle’, perdem rapidamente a sua qualidade com o aumento do período de armazenamento, no entanto, com a utilização da técnica do condicionamento osmótico, foi possível manter, por três meses desempenho semelhante ao observado nas sementes que não foram armazenadas.

Nas sementes de citrumelo ‘Swingle’, esta observação é ainda mais evidente, pois quando as sementes foram armazenadas por até 6 meses, apresentando baixo vigor, pôde-se observar recuperação de todas as características avaliadas quando as sementes foram condicionadas em PEG 6000, confirmando a eficiência desta técnica quando as sementes possuem baixo vigor, como observado em outras pesquisas.

6 CONCLUSÕES

O condicionamento fisiológico de sementes é uma técnica promissora para melhorar a qualidade fisiológica de sementes de limão cravo e citrumelo 'Swingle'.

O condicionamento fisiológico em solução aerada de PEG 6000, independente do período de embebição, ou em solução de KNO_3 ou PEG 6000 + KNO_3 , por até 9 dias, é eficiente para recuperar a viabilidade de sementes de limão cravo armazenadas por até 3 meses.

Condicionamento em solução contendo PEG 6000 ou KNO_3 , por 6 dias, aumenta a porcentagem de germinação em sementes não armazenadas de citrumelo 'Swingle'.

Em sementes armazenadas por até 3 meses, independente da espécie, os tratamentos mais eficientes foram condicionamento em PEG 6000, por 6 dias, ou em KNO_3 , com período de 6 a 12 dias de embebição.

As enzimas superóxido dismutase (SOD), malato desidrogenase (MDH) e álcool desidrogenase (ADH) são mais eficientes para avaliar alterações devidas ao condicionamento tanto em sementes de limão cravo, quanto de citrumelo Swingle.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 3rded. San Diego: Academic, 1998. 803 p.
- ALFENAS, A. C.; PETERS, I.; BRUNE, W. ; PASSADOR, G. C. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1991.
- ALVES, P. R. B.; MELO, B. **Cultura dos citros**. 2001. Disponível em: <<http://www.fruticultura.iciag.ufu.br/citros2.htm>>. Acesso em: 18 dez. 2008.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigor testing handbook**. East Lansing: AOSA, 1983. 93 p. (Contribution, 32).
- AUNG, U. T.; MCDONALD, M. B. Changes in esterase activity associated with peanut (*Arachis hipogea* L.) seed deterioration. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 23, n. 1, p. 101-111, 1995.
- BAILLY, C.; BENAMAR, A.; COBINEAU, F. CÔME, D. Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds related to deterioration during accelerated aging. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 97, n. 1, p. 104-110, May 1996.
- BAILLY, C.; AUDIGIER, C.; LADONNE, F.; WAGNER, M. H; COSTE, F.; CORBINEAU, F.; CÔME, D. Changes in oligosaccharide content and antioxidant enzyme activities in developing bean seeds as related to acquisition of drying tolerance and seed quality. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 52, n. 357, p. 701-708, Apr. 2001.
- BASRA, A. S. **Seed quality**: basic mechanisms and agricultural implications. New York: Haworth, 1995. 389 p.
- BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. Progress in the understanding and manipulation of desiccation sensitive (Recalcitrante) seeds. In: ELLIS, R. H.; BILIA, D. A. C.; MARCOS FILHO, J.; NOVEMBRE, A. D. L. Desiccation tolerance and storability of *Inga uruguenisi* seed. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 27, n. 1. p. 77-89, 1996.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds**: physiology of development and germination. 2nded. New York: Plenum, 1994.

- BLACKMAN, S. A.; WETTLAUFER, S. H.; OBENDORF, R. L.; LEOPOLD, A. C. Maturation proteins associated with desiccation tolerance in soybean. **Plant Physiology**, Rockville, MD, v. 96, p. 868-874, 1991.
- BLACKMAN, S. A.; OBENDORF, R. L.; LEOPOLD, A. C. Desiccation tolerance in developing soybean seeds: the role of stress proteins. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 93, n. 4, p. 630-638, 1995.
- BRANDÃO JÚNIOR, D. S.; CARVALHO, M. L. M.; VIEIRA, M. G. G. C. Variações eletroforéticas de proteínas e isoenzimas relativas à deterioração de sementes de milho envelhecidas artificialmente. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 21, n. 1, p. 114-121, 1999.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNAD/DNDV/CLAV, 1992. 365 p.
- BROCKLEHURST, P.A.; DEARMAN, J.A. Comparison of different chemical for osmotic treatment of vegetable seed. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 105, n. 2, p. 391-398, Oct. 1984.
- BURGASS, R.W.; POWELL, A. A. Evidence for repair processes in the invigoration of seeds by hydration. **Annals of Botany**, London, v.53, n. 5, p.753-757, Oct. 1984.
- CAMARGO, R. **Condicionamento fisiológico de sementes de cafeeiro (Coffea arábica L.)**. 1998. 108 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- CANO, E. A.; BOLARIM, M. C.; PEREZ-ALFOCEA, F.; CARO, M. Effect of NaCl priming on increased salt tolerance in tomato. **Journal of Horticultural Science**, Ahsford, v. 66, n. 5, p. 621-628, Oct. 1991.
- CARLOS, E. F.; STUCHI, E. S.; DONADIO, L. C. **Porta-enxertos para a citricultura paulista**. Jaboticabal: FUNEP, 1997. 42 p.
- CARVALHO, J. A. **Conservação de sementes de citros e testes rápidos para avaliação da qualidade fisiológica**. 2001. 140 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CARVALHO, J. C. B de; MACHADO, J. da C.; VIEIRA, M. das G. G. C. Crescimento micelial de *Cilletotrichum lindemthianum* em relação à restrição hídrica do substrato agarizado. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 4, p. 999-1005, jul./ago. 2001.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.

CASTRO, P. R. C., PACHECO, A. C., MEDINA, C. L. Efeitos de stimulate e de micro-citros no desenvolvimento vegetativo e na produtividade da laranja pêra. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 55, n. 2, p. 338-341, 1998.

CHILEMBWE, E. H. C.; CASTLE, W. S.; CANTLIFFE, D. J. Grading, hydrating, and osmotically priming seed of four citrus rootstocks to increase germination rate and seedling uniformity. **Journal American Society Horticultural Science**, Alexandria, v. 17, n. 3, p. 368-372, May 1992

COHEN, A. Studies on the viability of citrus seeds and certain properties of their coats. **Israel Journal of Botany**, Jerusalem, v. 7, p. 69-80, 1956.

COOLBEAR, P. Mechanisms of seed deterioration. In: BASRA, A. S. (Ed.). **Seed quality: basic mechanisms and agricultural implications**. New York: Food Product, 1995. p. 223-275.

CURRAH, L. E. Plant uniformity at harvest related to variation between emerging seedlings. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v. 72, p. 57-68, 1978.

DAVIES, F.; ALBRIGO, L. **Citrus**. Wallingford: CAB International, 1994. 254 p.

DEARMAN, J.; BROCKLEHURST, P. A.; DREW, R. L. K. Effects of osmotic priming and ageing on the germination and emergence of carrot and leek seeds. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v. 111, p. 717- 722, 1987.

DEL GIÚDICE, M. P. **Condicionamento osmótico de sementes de soja** (*Glycine max L. Merrill*). 1996. 130 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

DELOUCHE, J. C.; BASKIN, C. C. Accelerate aging techniques for predicting the relative storability of seeds lots. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 1, n. 2, p. 427-452, 1973.

EATON, J. W. Catalases and peroxidases and glutathione and hydrogen peroxide: mysteries of the bestiary. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, St Louis, v. 118, n.1, p.3-4, July 1991.

EIRA, M. T. S. **Condicionamento osmótico em sementes de alface. (*Lactuca sativa* L.):** efeitos sobre a germinação e desempenho sob estresse hídrico, salino e térmico. 1998. 90 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, SP.

EIRA, M. T. S.; MARCOS FILHO, J. Condicionamento osmótico de alface: efeitos sobre a germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 12, n. 1, p. 9-27, 1990.

ELZE, D. L. Germination of citrus seeds in relation to certain nursery practices. **Palestine Journal of Botany**, Jerusalém, v. 7, n. 1, p. 69-80, 1949.

FARIA, M. A. V. de R.; PINHO, R. G. von; PINHO, E. V. de R. von; GUIMARÃES, R. M. **Marcadores moleculares da qualidade de fisiológica das sementes.** Lavras: UFLA/FAEPE, 2003.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, 2000. p. 255-258.

FESSEL, S. A. **Testes fisiológicos e eletroforese de enzimas para monitoramento da deterioração em sementes de milho.** 2005. 139 p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

FU, J. R.; LU, X. H.; CHEN, R. Z.; ZHANG, B. Z.; LIV, Z. S.; CAI, D. Y. Osmoconditioning of peanut (*Arachis hypogea* L.) seeds with PEG to improve vigor and some biochemical activities. **Seed Science & Technology**, Zurich, v. 16, p.197-212, 1998.

FUCIK, J. E. Sources of variability in sour orange seed germination and seedling growth. **Proceedings International Society Citriculture**, Orlando, n. 1, p. 141-143, 1978.

GRAF, C. C. D. The citrus nursery industry in Brazil. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF CITRUS NURSERYMEN, 8., Chongqing, 2008. **Palestras...** Disponível em: <http://www.citrograf.com.br/informacoes_palestras.html>. Acesso em: 20 jan. 2009.

GRANT, T. J.; MOREIRA, S.; SALIBE, A. A. Citrus variety reaction to tristeza virus in Brazil when used in various rootstock and scion combinations. **Plant Disease Reporter**, St. Paul, v. 45, n. 6, p. 416-421, June 1961.

GROSSER, J. W.; GMITTER JUNIOR, F. G. Protoplast fusion and citrus improvement. **Plant Breeding Reviews**, New York, v. 8, p. 339-374, 1990.

GUIMARÃES, R. M. **Tolerância à dessecação e condicionamento fisiológico em sementes de cafeeiro (*Coffea arabica*, L.)**. 2000. 180 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. Oxford: Clarendon, 1989. 543 p.

HALMER, P.; BEWLEY, J. D. A physiological perspective on seed vigour testing. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 12, n. 2, p. 561-575, 1984.

HEYDECKER, W. 'Primed' seeds for better crop establishments. **Span**, Near Derby, v. 21, n. 1, p. 12-14, 1978.

HEYDECKER, W.; GIBBINS, B. M. The priming of seeds. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, n. 83, p. 213-223, 1978.

HEYDECKER, W.; HIGGINS, J.; TURNER, Y. J. Invigoration of seeds. **Seed Science & Technology**, Zurich, v. 3, n. 3/4, p. 881-888, 1975.

HUNTER, R. B.; KANNEMBERG, L. W. Effects of seed size on emergence, grain yield and plant height in corn. **Canadian Journal Plant Science**, Ottawa, v. 52, n. 2, p. 252-256, 1972.

IBRAHIM, A. E.; ROBERTS, E. H. Viability of lettuce seeds. Survival in hermetic storage. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 34, n. 142, p. 620-630, 1983.

JARBUR, M. A.; MARTINS, A. B. G. Influência de substratos na formação dos porta-enxertos: limoeiro-cravo (*Citrus limonia* Osbeck) e tangerina - cleópatra (*Citrus reshni* Hort. Ex Tanaka) em ambiente protegido. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 514-518, ago. 2002.

JELLER, H.; PEREZ, S. C. J. G. A. Condicionamento osmótico na germinação de sementes de cássia-do-nordeste sob estresse hídrico, térmico e salino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 9, p. 1025-1034, 2003.

KETRING, D. L. Germination inhibitors. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 1, n. 2, p. 305-324, 1973.

KHAN, A. A. Preplant physiological seed conditioning. **Horticultural Review**, Edinburgh, v. 13, p. 131-181, 1992.

KHAN, A. A.; KAR-LING TAO, J. S.; BORKOWSKA KNYPL, B.; POWELL, L. E. Osmotic conditioning of seeds: Physiological and biochemical changes. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, n. 83, p. 267-277, 1978.

KIDD, F.; WEST, C. Physiological predetermination: the influence of the physiological condition of the seed upon the course of subsequent growth and upon yield. The effects of soaking seeds in water. **Annals Applied Biology**, Warwick, v. 5, n. 1, p. 1-10, jan. 1918.

KING, M. W.; ROBERTS, E. H. Maintenance of recalcitrant seed in storage. In: CHIN, H. F.; ROBERTS, E. H. (Ed.). **Recalcitrant crop seeds**. Kuala Lumpur: Tropical, 1980. Cap. 4.

LAHIRI, A. N.; KATHJU, S.; SHANKARNARAYAN, K. A. Comparative performance of *Cenchrus ciliaris* pastures raised from large and small seeds. **Seed Science Technology**, Zurich, v.10, n. 2, p. 207-213, 1982.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica**. 2 ed. São Paulo: Sarvier, 1995.

LEPRINCE, O.; HENDRY, G. A. F.; MCKERSIE, B. D. The mechanisms of desiccation tolerance in developing seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, UK, v. 3, p. 231-246, 1993.

LOPES, H. M.; FONTES, P. C. R.; MARIA, J.; CECON, P. R.; MALAVASI, M. de M. Germinação e vigor de sementes de cebola (*Allium cepa* L.) influenciados pelo período de temperatura de condicionamento osmótico. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 18, n. 2, p. 173-179, 1996.

MACHADO, J. C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: LAPS/UFLA/FAEPE, 2000. 138 p.

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

MAO, Z. Y.; PAIVA, R.; KRIZ, A. L.; JUVIK, J. A. Dehydrin gene expression in normal and viviparous embryos of Zea mays during seed development and germination. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 33, n. 6, p. 649-653, 1995.

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. (Ed.). **Testes de vigor de sementes**. Jaboticabal: Funep, 1994. p. 133-150.

MATOS, F. J. de A.; LORENZO, H. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2003. 544 p.

MATTOS JUNIOR, D.; DE NEGRI, J. D. de; FIGUEIREDO, J. O. de; POMPEU JUNIOR, J. **Citros: principais informações e recomendações de cultivo**. Versão eletrônica do Boletim Técnico 200 (IAC). Disponível em: <http://www.iac.sp.gov.br/Tecnologias/Citros/Citros.htm#_ftnref1>. Acesso em: 03 de mar. 2009.

MCDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessments. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 27, n. 1, p. 177-237, 1999.

MENTEN, J. O. M. Tratamento químico de sementes. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 4., Campinas. **Anais...** Campinas: Fundação Cargill, 1996. p. 104.

MIGUEL, M. V. C.; MARCOS FILHO, J. Potassium leakage and maize seed physiological potential. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 59, n. 2, p. 315-319, 2002.

MOBAYEN, R. G. Germination and emergence of citrus and tomato seeds in relation to temperature. **Jornal of Horticultural Science**, Ashfort, v. 55, n. 3, p. 291-297, 1980.

MOBAYEN, R. G.; MILTHORPE, F. L. Citrus seed germination as influenced by water potential and salinity. **Proceedings International Society Citriculture**, Orlando, v. 1, p. 247-249, 1978.

MONSELISE, S. P. Citrus germination and emergence as influenced by temperature and seed treatments. **Israel Journal of Botany**, Jerusalem. v. 7, p. 29-34, 1959.

- MONSELISE, S. P. Citrus seed biology. In: INTERNATIONAL HORTICULTURAL CONGRESS, 16., 1962, Brussels. **Proceedings...** Brussels, 1962. v. 5, p. 559-565.
- MUNGOMERY, W. V.; AGNEW, G. W. J.; PRODONOFF, E. T. Maintenance of citrus seed viability. **Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences**, Brisbane, v. 23, p.103-120, 1966.
- NASCIMENTO, W. M.; WEST, S. H. Priming and seed orientation affect seed coat adherence and seedling development of muskmelon transplants. **HortScience**, Alexandria, v. 33, n. 5, p. 847-848, Aug. 1998.
- NEVES, M. F.; LOPES, F. F. (Coord.). **Estratégias para a laranja no Brasil**. São Paulo: Atlas, 2005. 225 p.
- OLIVEIRA, R. P.; SCIVITTARO, W. B.; RADMANN, E. B. Procedimentos para o armazenamento de sementes de *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 461-463, dez. 2003.
- OSBURN, R. M.; SCHROTH, M. N. Effect of osmopriming sugar beet on germination rate and incidence of *Pythium ultimum* damping-off. **Plant disease**, St. Paul, v. 73, n. 1, p. 21-24, jan. 1989
- PAIXÃO, G. P. **Pré-condicionamento de sementes de quiabo** (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench): efeitos sobre a qualidade fisiológica e potencial de armazenamento. 1998. 56 p. Tese (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- PARERA, C. A., CANTLIFFE, D. J. Presowing seed priming. **Horticultural Reviews**, Edinburgh, v.16, n.1, p.109-139, 1994.
- PEÑALOZA, A. P. S; EIRA, M. T. S. Hydration-dehydration treatments on tomato seeds (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Seed Science & Technology**, Zurich, v. 21, n. 1, p. 69-85, jan.1985.
- PILL, W. G.; FRETT, J. J.; MORNEAU, D. C. Germination and seedling emergence of primed tomato and asparagus seeds under adverse conditions. **HortScience**, Alexandria, v. 26, n. 9, p. 1160-1162, Sept. 1991.
- PLATT, R. G.; OPITZ, K. W. Propagation of citrus. In: REUTHER, W. (Ed.). **The citrus industry**. Berkeley: University of California Agricultura, 1973. p. 1- 47. v. 3.

POMPEU JÚNIOR, J. Porta-enxertos. In: RODRIGUEZ, O.; VIEGAS, F.; POMPEU JÚNIOR, J.; AMARO, A. A. **Citricultura brasileira**. 2.ed. Campinas: Fundação Cargill, 1991. v.1, p. 265-280.

POMPEU JÚNIOR, J. Rootstocks and scions in the citriculture of the São Paulo state. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF CITRUS NURSERYMEN, 6., 2001, Ribeirão Preto.. **Proceedings...** Ribeirão Preto: International Society of Citrus Nurserymen, 2001. p. 75-82.

POMPEU JUNIOR, J. Porta-enxertos. In: MATTOS JUNIOR, D. de; NEGRI, J. D. de; PIO, R. M.; POMPEU JUNIOR, J. **Citros**. Campinas, SP: Instituto Agrônômico e Fundag, 2005. 929 p. Cap. 6.

POSSE, S. C. P.; SILVA, R. F.; SILVA, H. D. V.; CATUNDA, P. H. A. Efeito do condicionamento osmótico na germinação de sementes de pimentão (*Capsicum annuum* L.) submetidas a baixa temperatura. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n.1, p.123-127. 2001.

QUEIROZ-VOLTAN, R. B.; BLUMER, S. **Morfologia dos citrus**. In: MATTOS JUNIOR, D. de; NEGRI, J. D. de; PIO, R. M.; POMPEU JUNIOR, J. **Citros**. Campinas, SP: Instituto Agrônômico e Fundag, 2005. 929 p.

RAMOS, J. D.; SERGIO, A. C.; PASQUAL, M. Efeito da extração do tegumento na expressão poliembriônica de sementes de dois porta-enxertos cítricos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 13, n. 1, p. 161-166, out. 1991.

RIBEIRO, U. P.; VON PINHO, E. V. de R.; GUIMARÃES, R. M; VIANA, L. de S. Determinação do potencial osmótico e do período de embebição utilizados no condicionamento fisiológico de sementes de algodão. **Ciência Agropecuária**, Lavras, v. 26, n. 5, p. 911-917, 2002.

ROSA, S. D. V. F. **Indução de tolerância à alta temperatura de secagem em sementes de milho por meio de pré-condicionamento a baixa temperatura**. 2000. 121 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

ROSE, M. L. Porta-enxertos de citros na Califórnia. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE CITROS – PORTA-ENXERTOS, 1., 1990, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: Funep,1990. p. 51-60

ROSSETTO, C. A. V.; NAKAGAWA, J.; ROSOLEM, C. A. Efeito da adubação potássica e da época de colheita na qualidade fisiológica de sementes de canola (*Brassica napus* L. var. *oleifera* Metzg.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.19, n. 2, p. 348-353, 1997.

ROVERI JOSÉ, S. C. B. **Condicionamento osmótico de sementes de pimentão**: efeito na germinação, vigor e atividade enzimática. 1999. 107 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

RUANO, O.; PIRES, J. R.; ALMEIDA, W. P. de; YAMAOKA, R. S.; COSTA, A.; MARUR, C. J.; TURKIEWICZ; SANTOS, W. J. dos. **Prevenção do tombamento do algodoeiro através do tratamento de sementes com fungicidas**. Londrina: IAPAR, 1989. 6 p. (Informe de pesquisa, v. 13, n. 88).

RUSH, C. M. Comparison of seed priming techniques with regard to seedling emergence and *Pythium* damping-off in sugar beet. **Ptytophatology**, St. Paul, v. 81, n. 8, p. 878-882, Aug. 1991.

SANTOS, C. M. R.; MENEZES, N. L.; VILELA, F. A. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão envelhecidas artificialmente. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 110-119, 2004.

SCANDALIOS, J. G. Isozymes in development and differentiation. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 25, n.1, p. 225-258, 1974

SCANDALIOS, J. G. Oxygen stress and superoxide dismutase. **Plant Physiology**, Rockville, 101, v. 1, p. 7-12, jan. 1993.

SHATTERS, R. G.; ABDELGHANY, A.; ELBAGOURY, O.; WEST, S. H. Soybean seed deterioration and response to osmotic priming: changes in specific enzyme activities in extracts from dry and germination seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 4, n. 1, p. 33-41, 1994.

SHIOGA, P. S. **Controle da hidratação e desempenho das sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 1990. 106 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, SP.

SILVA, M. D. D. **Priming de sementes**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2000.

SILVA, T. T. de A. **Conservação de sementes de citrumelo ‘Swingle’ colhidas em diferentes estádios de maturação submetidas a tratamentos fungicidas.** 2006. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SMITH, P. T.; COBB, B. G. Physiological and enzymatic characteristics of primed, redried and germinated pepper seeds (*Capsicum annuum* L.). **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 20, n. 3, p. 503-513, 1992.

SOARES FILHO, W. dos S.; MOREIRA, C. dos S. de M.; CUNHA, M.A.P da; CUNHA SOBRINHO, A.P. da; PASSOS, O. S. Poliembriõnia e frequência de híbridos em *Citrus* spp. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 4, p. 857-864, abr. 2000.

SOARES FILHO, W. dos S.; LEE, M.; CUNHA SOBRINHO, A. P. da; Influence of pollinators on polyembryony in *Citrus*. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v. 403, p. 256-265, 1995.

SOUZA, L. A.; SILVA, T. T. A.; VON PINHO, E. V.; RIBEIRO, M. N. O. Germinação de sementes de alface na presença de extratos do tegumento de sementes de citrumelo ‘Swingle’. In: CONGRESSO DOS PÓS-GRADUANDOS DA UFLA, 15., 2006, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2006.CD-ROM.

SPIEGEL-ROY, P.; GOLDSCHIMIDT, E. E. **Biology of citrus.** Cambridge: Cambridge University, 1996. 230 p.

STUCHI, E. S. Resistência à seca de porta-enxertos de citros. **Revista Ciência & Prática**, São Paulo, n. 7, 2002. Disponível em: <<http://www.gtacc.com.br/revista7.htm>>. Acesso em: 03 mar. 2009.

SUNG, F.J.M.; CHANG, Y.H. Biochemical activities associated with priming of sweet corn seeds to improve vigor. **Seed Science & Technology**, Zurich, v. 21 p. 97-105, 1993.

SWINGLE, W. T.; REECE, P. C. The botany of citrus and its wild relatives. In: REUTHER, W.; WEBBER, H. J.; BATCHELOR (Ed.). **The citrus industry.** Berkeley: University of California, 1967. p. 190-430.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal.** 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TAYLOR, A. G.; HARMAN, G. E. Concepts and technologies of selected seed treatments. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 28, p. 321-339, 1990.

TAYLOR, A. G.; HADAR, Y.; NORTON, J.M.; KHAN, A. A.; HARMAN, G. E. Influence of presowing seed treatments of table beets on the susceptibility to damping-off caused by *Pythium*. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 110, n. 4, p. 516-519, July 1985.

THOMANN, E.B.; SOLLINGER, J.; WHITE, C.; RIVIN, C.J. Accumulation of group 3 late embryogenesis abundant proteins in *Zea mays* embryos. Roles of abscisic acid and the viviparous-1 gene product. **Plant Physiology**, Rockville, v. 9, n. 2, p. 607-614, 1992.

TILDEN, R.L.; WEST, S.H. **Reversal of the effects of aging in soybean seeds**. *Plant Physiology*, Lancaster, v. 77, p. 584-586, 1995.

TOLEDO, F. F.; MARCOS FILHO, J. **Manual de sementes: tecnologia e produção**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1977. 224p.

TORRES, S. B. Qualidade fisiológica de sementes de pimentão (*Capsicum annum* L.) através do teste de estresse hídrico. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 18, n. 2, p. 246-250, 1996.

VIEIRA, M. G. G. C. **Utilização de marcadores moleculares no monitoramento da qualidade sanitária e nível de deterioração de sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.)**. Lavras. 1996. 114p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

VIEIRA, M. G. G. C. **Técnicas moleculares em sementes**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2002. 86 p.

VIEIRA, D. R.; CARVALHO, N. M. de. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p 72-76

VOLL, E.; BRIGHENTI, A. M.; GAZZIERO, D. L. P.; ADEGAS, F. S. Relações entre germinação e sementes de espécies de plantas daninhas e uso da condutividade elétrica. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 21, n. 1, p. 181-189, 2003.

VON PINHO, E. V. R.; SILVA, T. T. A.; CARVALHO, J. A.; OLIVEIRA, J. A.; GUIMARÃES, R. M. Conservação de sementes de citrumelo Swingle. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v. 30, n. 2, p. 178-185, 2005.

WEBBER, H. J. History and development of the citrus industry. In: REUTHER, W.; WEBBER, H. J.; BATCHELOR, L. D. (Ed.). **The citrus industry**. Riverside: University of California, 1967. p.1-189. v.1.

WEBBER, H. J.; REUTHER, W.; LAWTON, J.W. History and development of the citrus industry. In: REUTHER, W.; WEBBER, H.J.; BATCHELOR, L.D. (Ed.). **The citrus industry**. Berkeley: University of California, 1967. p.1-39.

WOLKERS, W. F.; BOCHICCHIO, A.; SELVAGGI, G.; HOEKSTRA, F. A. Fourier transform infrared microscopy detects changes in protein secondary structure associated with desiccation tolerance in developing maize embryos. **Plant Physiology**, Rockville, v. 116, n. 3, p. 1169-1177, 1998.

WOODSTOCK, L. W.; TAO, K. L. J. Prevention of imbibitional injury in low vigor soybean embryonic axes by osmotic control of water uptake. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 51, n. 1, p. 133-139, Jan. 1981.

YEOUNG, Y. R.; WILSON, D. O.; MURRAY, G. A. Germinatin performance and loss of late-embriogenesis Abundant (LEA) proteins during muskmelon sedd priming. **Seed and Science Technology**, Zurich, v. 24, n. 3, p. 429-439, 1996.

ANEXOS

Página

TABELA 1A	Análise de variância de sementes armazenadas de limão cravo submetidas ao condicionamento osmótico em diferentes solutos, por diferentes períodos de condicionamento.	108
TABELA 2A	Equações de regressão ajustadas do teste de germinação (G) em função do período de armazenamento (PA) de sementes osmocondicionadas de limão cravo.	108
TABELA 3A	Equações de regressão ajustadas do teste de germinação (G) em função do período de condicionamento (PC) de sementes armazenadas de limão cravo.	109
TABELA 4A	Equações de regressão ajustadas do índice de velocidade de germinação (IVG) em função do período de armazenamento (PA) de sementes osmocondicionadas de limão cravo.	109
TABELA 5A	Equações de regressão ajustadas do índice de velocidade de germinação (IVG) em função do período de condicionamento (PC) de sementes armazenadas de limão cravo.	110
TABELA 6A	Equações de regressão ajustadas do teste de emergência (E) em função do período de armazenamento (PA) de sementes osmocondicionadas de limão cravo.	110
TABELA 7A	Equações de regressão ajustadas do teste de emergência (E) em função do período de condicionamento (PC) de sementes armazenadas de limão cravo.	111
TABELA 8A	Equações de regressão ajustadas do índice de velocidade de emergência (IVE) em função do período de armazenamento (PA) de sementes osmocondicionadas de limão cravo.	111

TABELA 9A	Equações de regressão ajustadas do índice de velocidade de emergência (IVE) em função do período de condicionamento (PC) de sementes armazenadas de limão cravo.	112
TABELA 10A	Equações de regressão ajustadas da condutividade elétrica (CE) em função do período de armazenamento (PA) de sementes osmocondicionadas de limão cravo.	112
TABELA 11A	Equações de regressão ajustadas da condutividade elétrica (CE) em função do período de armazenamento (PA) de sementes osmocondicionadas de limão cravo.	113
TABELA 12A	Resultados médios de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG), emergência (%E), índice de velocidade de emergência (IVE) e condutividade elétrica (CE) de sementes armazenadas de limão cravo em diferentes períodos (PA – 0, 3, 6 e 9 meses), submetidas ao condicionamento osmótico em diferentes solutos (PEG, KNO ₃ e PEG + KNO ₃), por diferentes períodos (PC – 3, 6, 9 e 12 dias; Test - testemunha).	114
TABELA 13A	Análise de variância de sementes armazenadas de citrumelo ‘Swingle’ submetidas ao condicionamento osmótico em diferentes solutos, por diferentes períodos de condicionamento.	116
TABELA 14A	Equações de regressão ajustadas do teste de germinação (G) em função do período de armazenamento (PA) de sementes osmocondicionadas de citrumelo ‘Swingle’.	116
TABELA 15A	Equações de regressão ajustadas do teste de germinação (G) em função do período de condicionamento (PC) de sementes armazenadas de citrumelo ‘Swingle’.	117
TABELA 16A	Equações de regressão ajustadas do índice de velocidade de germinação (IVG) em função do período de armazenamento (PA) de sementes osmocondicionadas de citrumelo ‘Swingle’.	117

TABELA 17A	Equações de regressão ajustadas do índice de velocidade de germinação (IVG) em função do período de condicionamento (PC) de sementes osmocondicionadas de citrumelo ‘Swingle’.	118
TABELA 18A	Equações de regressão ajustadas do teste de emergência (E) em função do período de armazenamento (PA) de sementes osmocondicionadas de citrumelo ‘Swingle’.	118
TABELA 19A	Equações de regressão ajustadas do teste de emergência (E) em função do período de condicionamento (PC) de sementes armazenadas de citrumelo ‘Swingle’.	119
TABELA 20A	Equações de regressão ajustadas do índice de velocidade de emergência (IVE) em função do período de armazenamento (PA) de sementes osmocondicionadas de citrumelo ‘Swingle’.	119
TABELA 21A	Equações de regressão ajustadas do índice de velocidade de emergência (IVE) em função do período de condicionamento (PC) de sementes armazenadas de citrumelo ‘Swingle’.	120
TABELA 22A	Equações de regressão ajustadas da condutividade elétrica (CE) em função dos períodos de armazenamento (PA) de sementes osmocondicionadas de citrumelo ‘Swingle’.	120
TABELA 23A	Equações de regressão ajustadas da condutividade elétrica (CE) em função do período de condicionamento (PC) de sementes armazenadas de citrumelo ‘Swingle’.	121
TABELA 24A	Resultados médios de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG), emergência (%E), índice de velocidade de emergência (IVE) e condutividade elétrica (CE) de sementes armazenadas de citrumelo ‘Swingle’ em diferentes períodos (PA – 0, 3, 6 e 9 meses), submetidas ao condicionamento osmótico em diferentes solutos (PEG, KNO ₃ e PEG + KNO ₃), por diferentes períodos (PC – 3, 6, 9 e 12 dias; Test - testemunha).	122

TABELA 1A Análise de variância de sementes armazenadas de limão cravo submetidas ao condicionamento osmótico em diferentes solutos, por diferentes períodos de condicionamento.

FV	GL	QM				
		G	IVG	E	IVE	CE
ARM	3	168,000*	4,677*	346,596*	4,219*	861,031*
SOL	2	0,1328 ^{n.s}	0,035*	10,564*	0,176*	488,398*
PC	3	1,865*	0,013*	8,093*	0,052*	6,471*
ARM*SOL	6	0,858*	0,016*	10,484*	0,093*	20,104*
ARM*PC	9	4,117*	0,055*	11,764*	0,095*	7,810*
SOL*PC	6	0,788*	0,013*	4,431*	0,087*	3,944*
ARM*SOL*PC	18	1,236*	0,039*	7,051*	0,063*	3,366*
ERRO	144	0,089	0,001	0,066	0,001	0,207
CV (%)		3,82	2,10	4,04	2,65	4,49

* Teste F significativo a 5% de probabilidade

TABELA 2A Equações de regressão ajustadas do teste de germinação (G) em função do período de armazenamento (PA) de sementes osmocondicionadas de limão cravo.

Variáveis	Equações de regressão	r ²
0 meses	Y(PEG)= 0,4962x ² - 4,2702x + 96,681	0,4868
	Y(KNO ₃)= -0,9566x ² + 3,3435x + 92,594	0,7443
	Y(PEG + KNO ₃)= -0,2425x ² + 0,4115x + 95,521	0,6527
3 meses	Y(PEG) = -0,354x ² + 0,5245x + 87,434	0,1045
	Y(KNO ₃)= -4,0037x ² + 16,83x + 67,688	0,8650
	Y(PEG + KNO ₃)= -1,6278x ² + 4,6186x + 76,677	0,8768
6 meses	Y(PEG)= -11,305x ² + 57,127x - 9,4337	0,9100
	Y(KNO ₃)= 7,5936x ² - 38,089x + 86,778	0,3194
	Y(PEG + KNO ₃)= 7,6405x ² - 34,549x + 72,406	0,3901
9 meses	Y(PEG)= 6,0091x + 14,933	1,0000
	Y(KNO ₃)= 6,809x + 12,934	0,8376
	Y(PEG + KNO ₃)= 6,0069x + 18,945	1,0000

TABELA 3A Equações de regressão ajustadas do teste de germinação (G) em função do período de condicionamento (PC) de sementes armazenadas de limão cravo.

Variáveis	Equações de regressão	r ²
PEG 6000	Y (3 d)= -26,775x + 126,23	0,8851
	Y (6 d)= -21,507x + 120,2	0,9283
	Y (9 d)= -19,364x + 114,75	0,8402
	Y (12 d)= -19,075x + 110	0,8564
G KNO3	Y (3 d)= -24,771x + 124,73	0,9784
	Y (6 d)= -22,172x + 120,75	0,9722
	Y (9 d)= -24,057x + 120,5	0,7891
	Y (12 d)= -17,252x + 109,95	0,9711
PEG 6000 + KNO3	Y (3 d)= -25,286x + 123,71	0,9650
	Y (6 d)= -21,938x + 117,62	0,9891
	Y (9 d)= -23,747x + 119,45	0,7459
	Y (12 d)= -15,713x + 105,7	0,9602

TABELA 4A Equações de regressão ajustadas do índice de velocidade de germinação (IVG) em função do período de armazenamento (PA) de sementes osmocondicionadas de limão cravo.

Variáveis	Equações de regressão	r ²
0 meses	Y(PEG)= -0,0788x ² + 0,3727x + 1,9034	0,3022
	Y(KNO ₃)= -0,0102x ² + 0,1307x + 1,9651	0,7008
	Y(PEG + KNO ₃)= -0,1121x ² + 0,8192x + 1,0398	0,7887
3 meses	Y(PEG)= 0,0026x ² + 0,0399x + 2,2848	0,4919
	Y(KNO ₃)= -0,1398x ² + 0,5845x + 1,8681	0,9684
	Y(PEG + KNO ₃)= -0,1233x ² + 0,5638x + 1,7524	0,9750
IVG 6 meses	Y(PEG)= -0,2722x ² + 1,2533x + 0,3566	0,9410
	Y(KNO ₃)= 0,2519x ² - 1,3047x + 2,8154	0,4371
	Y(PEG + KNO ₃)= 0,3897x ² - 1,8618x + 3,1366	0,6462
9 meses	Y(PEG)= -0,11x + 0,7539	0,7169
	Y(KNO ₃)= -0,0656x ² + 0,3516x - 0,2218	0,4784
	Y(PEG + KNO ₃)= -0,1622x + 0,7291	0,9082

TABELA 5A Equações de regressão ajustadas do índice de velocidade de germinação (IVG) em função do período de condicionamento (PC) de sementes armazenadas de limão cravo.

Variáveis	Equações de regressão	r ²
PEG 6000	Y (3 d)= -0,5534x + 2,9952	0,8242
	Y (6 d)= -0,6145x + 3,3519	0,8592
	Y (9 d)= -0,6486x + 3,2508	0,7461
	Y (12 d)= -0,6843x + 3,2297	0,8199
IVG KNO3	Y (3 d)= -0,6739x + 3,2271	0,7475
	Y (6 d)= -0,6789x + 3,2632	0,7350
	Y (9 d)= -0,7637x + 3,3772	0,8581
	Y (12 d)= -0,6784x + 3,224	0,8046
PEG 6000 + KNO3	Y (3 d)= -0,424x + 2,6054	0,6675
	Y (6 d)= -0,6088x + 3,0361	0,7651
	Y (9 d)= -0,9107x + 3,7675	0,9220
	Y (12 d)= -0,6979x + 3,4065	0,7365

TABELA 6A Equações de regressão ajustadas do teste de emergência (E) em função do período de armazenamento (PA) de sementes osmocondicionadas de limão cravo.

Variáveis	Equações de regressão	r ²
0 meses	Y(PEG)= -8,3954x ² + 29,801x + 42,302	0,9075
	Y(KNO ₃)= -15,159x ² + 54,184x + 40,053	0,9385
	Y(PEG + KNO ₃)= -1,6338x ² + 8,1106x + 73,318	0,8363
3 meses	Y(PEG)= -0,099x ² + 0,0535x + 83,14	0,5457
	Y(KNO ₃)= -2,6204x ² + 9,3453x + 78,143	0,9251
	Y(PEG + KNO ₃)= -2,7456x ² + 12,763x + 67,625	0,9639
E 6 meses	Y(PEG)= -1,1135x ² + 17,503x - 12,071	0,9972
	Y(KNO ₃)= 7,3407x ² - 47,1x + 93,49	0,7618
	Y(PEG + KNO ₃)= 21,575x ³ - 149,94x ² + 303,8x - 131,46	1,0000
9 meses	Y(PEG)= 1,6408x ² - 12,165x + 33,91	0,8421
	Y(KNO ₃)= -5,723x ³ + 41,529x ² - 87,463x + 54,593	1,0000
	Y(PEG + KNO ₃)= 0,26x ² - 7,1821x + 25,214	0,9542

TABELA 7A Equações de regressão ajustadas do teste de emergência (E) em função do período de condicionamento (PC) de sementes armazenadas de limão cravo.

Variáveis	Equações de regressão	r ²
PEG 6000	Y (3 d)= -4,4116x ² + 3,0344x + 74,143	0,6728
	Y (6 d)= -5,6372x ² + 9,0075x + 65,576	0,6376
	Y (9 d)= -9,705x ² + 27,223x + 50,65	0,8318
	Y (12 d)= -21,277x ² + 98,49x - 46,711	0,7716
E KNO3	Y (3 d)= -12,627x ² + 35,795x + 60,487	0,9922
	Y (6 d)= -11,361x ² + 28,86x + 63,412	0,9627
	Y (9 d)= -1,2523x ² - 20,751x + 106,23	0,7284
	Y (12 d)= -21,259x ² + 99,182x - 60,299	0,6999
PEG 6000 + KNO3	Y (3 d)= -5,8663x ² + 7,7794x + 79,62	0,9666
	Y (6 d)= -9,1113x ² + 20,108x + 74,142	0,9925
	Y (9 d)= -1,2578x ² - 22,819x + 112,7	0,8277
	Y (12 d)= -14,999x ² + 50,108x + 42,194	0,9663

TABELA 8A Equações de regressão ajustadas do índice de velocidade de emergência (IVE) em função do período de armazenamento (PA) de sementes osmocondicionadas de limão cravo.

Variáveis	Equações de regressão	r ²
0 meses	Y(PEG)= -0,1858x ² + 0,6618x + 1,397	0,7284
	Y(KNO ₃)= -0,3276x ² + 1,1156x + 1,2803	0,7760
	Y(PEG + KNO ₃)= 0,103x ² - 0,4218x + 2,5315	0,9905
3 meses	Y(PEG)= 0,0109x ² - 0,043x + 2,1398	0,2653
	Y(KNO ₃)= -0,0219x ² - 0,063x + 2,5004	0,9949
	Y(PEG + KNO ₃)= -0,0844x ² + 0,439x + 1,5716	0,8636
6 meses	Y(PEG)= -0,1512x ² + 0,9934x - 0,7609	0,9713
	Y(KNO ₃)= 0,1393x ² - 0,8823x + 1,7404	0,9534
	Y(PEG + KNO ₃)= 0,3437x ² - 1,4625x + 2,1547	0,6530
9 meses	Y(PEG)= 0,0231x ² - 0,2212x + 0,8482	0,7218
	Y(KNO ₃)= -0,1721x ³ + 1,2529x ² - 2,654x + 1,6726	1,0000
	Y(PEG + KNO ₃)= 0,0068x ² - 0,2245x + 0,8101	0,9525

TABELA 9A Equações de regressão ajustadas do índice de velocidade de emergência (IVE) em função do período de condicionamento (PC) de sementes armazenadas de limão cravo.

Variáveis	Equações de regressão	r ²
PEG 6000	Y (3 d)= 0,0902x ² - 1,0583x + 3,1718	0,6301
	Y (6 d)= -0,0808x ² - 0,0743x + 2,0162	0,6644
	Y (9 d)= -0,196x ² + 0,3466x + 1,9451	0,9195
	Y (12 d)= -0,3893x ² + 1,6282x - 0,09	0,6492
IVE KNO ₃	Y (3 d)= -0,2633x ² + 0,5338x + 2,0677	0,9336
	Y (6 d)= -0,2985x ² + 0,8072x + 1,3783	0,8260
	Y (9 d)= 0,0338x ² - 0,8971x + 3,207	0,7996
	Y (12 d)= -0,4838x ² + 2,201x - 1,1738	0,5864
PEG 6000 + KNO ₃	Y (3 d)= 0,008x ² - 0,6237x + 2,9077	0,9414
	Y (6 d)= -0,1986x ² + 0,3547x + 2,0043	0,9454
	Y (9 d)= -0,0078x ² - 0,7121x + 3,084	0,8602
	Y (12 d)= -0,3639x ² + 1,0692x + 1,6632	0,9233

TABELA 10A Equações de regressão ajustadas da condutividade elétrica (CE) em função do período de armazenamento (PA) de sementes osmocondicionadas de limão cravo.

Variáveis	Equações de regressão	r ²
0 meses	Y(PEG)= -1,3461x ² + 7,2097x + 13,921	0,3951
	Y(KNO ₃)= -4,9272x ² + 32,125x + 38,528	0,9805
	Y(PEG + KNO ₃)= 4,5171x ² - 27,196x + 77,534	0,9425
3 meses	Y(PEG)= -20,022x ³ + 153,06x ² - 348,42x + 377,11	1,0000
	Y(KNO ₃)= 5,78x ² - 71,45x + 567,6	0,8511
	Y(PEG + KNO ₃)= 4,6154x ² - 15,575x + 254,44	0,8363
6 meses	Y(PEG)= 8,6501x ² - 42,269x + 84,062	0,9739
	Y(KNO ₃)= 30,329x ² - 143,45x + 283,52	0,9773
	Y(PEG + KNO ₃)= 23,351x ² - 85,812x + 110,82	0,9706
9 meses	Y(PEG)= 18,262x ² - 85,251x + 136,97	0,8807
	Y(KNO ₃)= -15,844x ² + 63,173x + 59,466	0,7764
	Y(PEG + KNO ₃)= 5,4211x ² - 12,067x + 55,99	0,9992

TABELA 11A Equações de regressão ajustadas da condutividade elétrica (CE) em função do período de armazenamento (PA) de sementes osmocondicionadas de limão cravo.

Variáveis		Equações de regressão	r ²
PEG 6000		Y (3 d)= 63,664x ³ - 508,52x ² + 1221,1x - 755,63	1,0000
		Y (6 d)= 52,916x ³ - 421,55x ² + 1006x - 616,84	1,0000
		Y (9 d)= 69,499x ³ - 556,3x ² + 1325,4x - 812,73	1,0000
		Y (12 d)= 60,317x ³ - 475,69x ² + 1135,5x - 699,66	1,0000
CE	KNO3	Y (3 d)= -120,58x ² + 584,3x - 346,36	0,5350
		Y (6 d)= -103,17x ² + 488,02x - 249,88	0,4457
		Y (9 d)= -70,507x ² + 336,03x - 132,76	0,3946
		Y (12 d)= -109,98x ² + 520,87x - 297,14	0,7932
PEG 6000 + KNO3		Y (3 d)= -45,378x ² + 205,43x - 75,268	0,3825
		Y (6 d)= -49,49x ² + 231,13x - 111,24	0,3599
		Y (9 d)= -47,312x ² + 226,69x - 110,52	0,3443
		Y (12 d)= -69,453x ² + 351,11x - 220,18	0,6827

TABELA 12A Resultados médios de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG), emergência (%E), índice de velocidade de emergência (IVE) e condutividade elétrica (CE) de sementes armazenadas de limão cravo em diferentes períodos (PA – 0, 3, 6 e 9 meses), submetidas ao condicionamento osmótico em diferentes solutos (PEG, KNO₃ e PEG + KNO₃), por diferentes períodos (PC – 3, 6, 9 e 12 dias; Test - testemunha).

PA	SOL	PC	%G	IVG	%E	IVE	CE (μ S/cm/g)
0	PEG	3	92,0 a	2,141 d	66,0 c	1,9691 c	20,5862 a
		6	93,0 a	2,501 b	61,5 c	1,6893 d	20,5509 a
		9	85,5 b	2,145 d	63,0 c	1,9984 c	25,8407 a
		12	88,5 a	2,189 d	25,0 e	0,9754 e	20,4212 a
	KNO ₃	3	95,5 a	2,112 d	82,5 a	2,2292 b	66,3384 d
		6	94,0 a	2,107 d	78,0 b	1,7182 d	81,2304 e
		9	95,5 a	2,343 c	76,0 b	2,1613 b	92,3968 e
		12	95,5 a	2,298 c	11,0 g	0,3398 g	87,5801 e
	PEG + KNO ₃	3	96,0 a	1,819 e	79,5 b	2,2192 b	55,6121 c
		6	94,5 a	2,014 d	84,0 a	2,0807 b	38,9399 b
		9	95,5 a	2,704 a	82,0 a	2,2127 b	38,8716 b
		12	93,0 a	2,451 b	80,0 a	2,4864 a	40,2678 b
Test		95,5 a	2,10 d	60,0 c	0,9000 e	59,2127 c	
3	PEG	3	89,5 a	2,354 c	83,0 a	2,1202 b	161,7359 h
		6	81,5 b	2,294 c	83,5 a	2,0601 b	132,3471 g
		9	91,5 a	2,509 b	82,0 a	2,1460 b	168,8174 h
		12	82,0 b	2,460 b	82,0 a	2,1294 b	151,0166 h
	KNO ₃	3	81,5 b	2,328 c	85,5 a	2,4092 a	492,9640 o
		6	82,5 b	2,432 c	84,5 a	2,3051 a	474,7056 n
		9	85,0 b	2,410 c	84,5 a	2,0951 b	378,3769 m
		12	70,0 c	1,955 e	73,0 b	1,9033 c	383,2384 m
	PEG + KNO ₃	3	80,5 b	2,203 d	78,0 b	1,9108 c	241,5837 j
		6	77,5 b	2,357 c	81,5 a	2,1581 b	247,4312 j
		9	85,0 b	2,363 c	82,0 a	2,0828 b	243,5689 j
		12	68,5 c	2,024 e	74,5 b	1,9926 c	267,8780 l
Test		70,0 c	1,93 e	77,0 b	2,3100 a	55,2415 c	

“... continua...”

“TABELA 12, Cont.”

PA	SOL	PC	%G	IVG	%E	IVE	CE ($\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$)					
6	PEG	3	35,0	g	1,304	g	4,0	i	0,1048	h	49,8041	c
		6	64,5	c	1,874	e	19,5	g	0,5508	f	36,0406	b
		9	55,5	e	1,567	f	29,5	f	0,9290	e	33,1897	b
		12	40,0	g	1,048	h	40,5	e	0,7702	f	54,0267	c
	KNO3	3	51,5	f	1,632	f	50,5	d	0,9726	e	168,2445	h
		6	56,0	e	1,605	f	39,0	e	0,6071	f	124,4131	f
		9	26,0	h	0,777	i	8,0	i	0,2726	g	119,6680	f
		12	61,0	d	1,757	e	26,0	f	0,4641	g	197,1535	i
	PEG + KNO3	3	41,0	g	1,532	f	44,0	e	0,8901	e	45,1041	c
		6	48,5	f	1,370	g	49,0	d	1,0418	e	42,3517	c
		9	23,0	h	0,660	i	13,0	h	0,4230	g	53,7881	c
		12	61,5	d	2,057	d	65,5	c	1,9495	c	144,4412	g
Test		65,6	d	2,06	d	64,5	c	1,9500	c	82,7900	e	
9	PEG	3	21,0	i	0,647	i	22,5	f	0,6167	f	47,2840	c
		6	27,0	i	0,593	i	19,0	g	0,5985	f	66,8300	d
		9	33,0	h	0,297	j	9,5	h	0,2925	g	49,2935	c
		12	39,0	h	0,379	j	12,5	h	0,3668	g	35,9865	b
	KNO3	3	23,0	i	0,097	l	3,0	j	0,0996	h	91,6305	e
		6	21,0	i	0,120	l	0,0	j	0,0000	h	112,5930	f
		9	35,0	h	0,342	j	11,5	h	0,3417	g	105,2022	f
		12	41,0	h	0,102	l	3,0	j	0,0922	h	123,7462	f
	PEG + KNO3	3	25,0	h	0,629	i	19,0	g	0,6137	f	53,0335	c
		6	31,0	h	0,314	j	10,0	h	0,3246	g	49,6760	c
		9	37,0	h	0,236	j	8,0	i	0,2618	g	52,9345	c
		12	43,0	h	0,114	l	0,0	j	0,0000	h	69,2377	d
Test		13,5	i	0,4	j	13,0	h	0,4200	g	94,2750	f	

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

TABELA 13A Análise de variância de sementes armazenadas de citrumelo ‘Swingle’ submetidas ao condicionamento osmótico em diferentes solutos, por diferentes períodos de condicionamento.

FV	GL	QM				
		G	IVG	E	IVE	CE
ARM	2	567,59*	4,81*	569,14*	7,87*	153,41*
SOL	2	11,93*	0,151*	17,89*	0,301*	70,78*
PC	3	25,52*	0,156*	26,30*	0,226*	36,70*
ARM*SOL	4	6,79*	0,078*	5,32*	0,093*	30,65*
ARM*PC	6	3,74*	0,032*	7,30*	0,082*	24,05*
SOL*PC	6	8,94*	0,082*	4,82*	0,051*	8,47*
ARM*SOL*PC	12	8,84*	0,073*	9,42*	0,156*	13,26*
ERRO	108	0,08	0,002	0,11	0,004	0,07
CV (%)		5,03	3,15	5,45	4,37	3,76

* Teste F significativo a 5% de probabilidade

TABELA 14A Equações de regressão ajustadas do teste de germinação (G) em função do período de armazenamento (PA) de sementes osmocondicionadas de citrumelo ‘Swingle’.

Variáveis	Equações de regressão	r ²
0 meses	Y(PEG)= $-0,2163x^2 + 0,8415x + 1,0864$	0,9905
	Y(KNO ₃)= $-0,0415x^2 + 0,1295x + 2,1112$	0,7104
	Y(PEG + KNO ₃)= $0,0807x^2 - 0,645x + 2,6796$	0,9121
3 meses	Y(PEG)= $0,0325x^2 - 0,2704x + 1,8566$	0,5709
	Y(KNO ₃)= $-0,1025x^2 + 0,8438x + 0,407$	0,8361
	Y(PEG + KNO ₃)= $-0,4502x^2 + 2,0273x - 0,5391$	0,9187
6 meses	Y(PEG)= $-0,2799x^2 + 1,2966x - 0,8622$	0,4343
	Y(KNO ₃)= $-0,11x^2 + 0,594x - 0,55$	0,4000
	Y(PEG + KNO ₃)= $-0,1024x^2 + 0,5527x - 0,5118$	0,4000

TABELA 15A Equações de regressão ajustadas do teste de germinação (G) em função do período de condicionamento (PC) de sementes armazenadas de citrumelo ‘Swingle’.

Variáveis	Equações de regressão	r ²
PEG 6000	Y (3 d)= -34,228x + 115,27	0,7113
	Y (6 d)= -17,938x + 102,17	0,8525
	Y (9 d)= -30,016x + 103,43	0,6573
	Y (12 d)= -39,245x ² + 139,34x - 64,82	1,0000
G KNO ₃	Y (3 d)= -35,997x + 106,81	0,9968
	Y (6 d)= -38,99x + 129,3	0,7692
	Y (9 d)= -30,963x + 114,51	0,7385
	Y (12 d)= -33,237x + 115,28	0,6029
PEG 6000 + KNO ₃	Y (3 d)= -36,232x + 107,1	0,9942
	Y (6 d)= -35,949x + 117,67	0,8170
	Y (9 d)= -39,278x ² + 135,88x - 44,694	1,0000
	Y (12 d)= -27,498x + 76,121	0,8612

TABELA 16A Equações de regressão ajustadas do índice de velocidade de germinação (IVG) em função do período de armazenamento (PA) de sementes osmocondicionadas de citrumelo ‘Swingle’.

Variáveis	Equações de regressão	r ²
0 meses	Y(PEG)= -0,7457x ² + 2,4108x + 81,2	0,9989
	Y(KNO ₃)= -2,7473x ² + 11,159x + 73,15	0,8104
	Y(PEG + KNO ₃)= -3,3861x ² + 16,733x + 61,86	0,9930
IVG 3 meses	Y(PEG)= 7,2558x ² - 43,62x + 113,01	0,9956
	Y(KNO ₃)= -7,7229x ² + 38,434x + 15,841	0,9515
	Y(PEG + KNO ₃)= -21,251x ² + 97,125x - 44,327	0,9868
6 meses	Y(PEG)= -17,841x ² + 84,356x - 59,245	0,5681
	Y(KNO ₃)= -3,4363x ² + 17,798x - 15,286	0,7419
	Y(PEG + KNO ₃)= -3,1117x ² + 16,803x - 15,559	0,4000

TABELA 17A Equações de regressão ajustadas do índice de velocidade de germinação (IVG) em função do período de condicionamento (PC) de sementes osmocondicionadas de citrumelo ‘Swingle’.

Variáveis		Equações de regressão	r ²
PEG 6000		Y (3 d)= -0,8482x + 2,7854	0,8055
		Y (6 d)= -0,4374x + 2,4132	0,9892
		Y (9 d)= -0,7868x + 2,5257	0,9345
		Y (12 d)= -0,5031x + 1,7894	0,5182
IVG	KNO ₃	Y (3 d)= -1,0858x + 3,2529	0,9999
		Y (6 d)= -1,1435x + 3,6868	0,8690
		Y (9 d)= -0,8016x + 3,0268	0,8662
		Y (12 d)= -0,9963x + 3,3959	0,6630
PEG 6000 + KNO ₃		Y (3 d)= -1,0381x + 3,1371	0,9986
		Y (6 d)= -0,9149x + 2,9429	0,8766
		Y (9 d)= -0,472x + 2,0973	0,5013
		Y (12 d)= -0,7149x + 2,0061	0,8986

TABELA 18A Equações de regressão ajustadas do teste de emergência (E) em função do período de armazenamento (PA) de sementes osmocondicionadas de citrumelo ‘Swingle’.

Variáveis		Equações de regressão	r ²
0 meses		Y(PEG)= -0,7457x ² + 2,4108x + 81,2	0,9989
		Y(KNO ₃)= -2,7473x ² + 11,159x + 73,15	0,8104
		Y(PEG + KNO ₃)= -3,3861x ² + 16,733x + 61,86	0,9930
E 3 meses		Y(PEG)= 7,2558x ² - 43,62x + 113,01	0,9956
		Y(KNO ₃)= -7,7229x ² + 38,434x + 15,841	0,9515
		Y(PEG + KNO ₃)= -21,251x ² + 97,125x - 44,327	0,9868
6 meses		Y(PEG)= -17,841x ² + 84,356x - 59,245	0,5681
		Y(KNO ₃)= -3,4363x ² + 17,798x - 15,286	0,7419
		Y(PEG + KNO ₃)= -3,1117x ² + 16,803x - 15,559	0,4000

TABELA 19A Equações de regressão ajustadas do teste de emergência (E) em função do período de condicionamento (PC) de sementes armazenadas de citrumelo ‘Swingle’.

Variáveis	Equações de regressão	r ²
PEG 6000	Y (3 d)= -41,445x + 136,18	0,8033
	Y (6 d)= -11,525x + 88,616	0,5619
	Y (9 d)= -35,174x + 117,57	0,9991
	Y (12 d)= -39,444x + 123,28	0,9549
E KNO ₃	Y (3 d)= -41,211x + 125,67	0,9927
	Y (6 d)= -39,052x + 126,49	0,9430
	Y (9 d)= -37,265x + 127,34	0,9369
	Y (12 d)= -36,484x + 112,37	0,9812
PEG 6000 + KNO ₃	Y (3 d)= -37,668x + 111,37	0,9944
	Y (6 d)= -40,701x + 128,96	0,9216
	Y (9 d)= -34,761x + 120,81	0,9603
	Y (12 d)= -37,245x + 100,3	0,7795

TABELA 20A Equações de regressão ajustadas do índice de velocidade de emergência (IVE) em função do período de armazenamento (PA) de sementes osmocondicionadas de citrumelo ‘Swingle’.

Variáveis	Equações de regressão	r ²
0 meses	Y(PEG)= -0,1171x ³ + 0,8971x ² - 2,0463x + 3,9572	1,0000
	Y(KNO ₃)= -0,019x ² - 0,1078x + 3,1365	0,9707
	Y(PEG + KNO ₃)= -0,1039x ² + 0,5093x + 2,1016	0,8367
IVE 3 meses	Y(PEG)= 0,4239x ² - 2,577x + 5,1975	0,9635
	Y(KNO ₃)= -0,2293x ² + 1,188x + 0,3247	0,9570
	Y(PEG + KNO ₃)= -0,5541x ² + 2,4787x - 0,921	0,9893
6 meses	Y(PEG)= -0,6208x ² + 2,9201x - 2,0232	0,5288
	Y(KNO ₃)= -0,1005x ² + 0,5192x - 0,4441	0,7656
	Y(PEG + KNO ₃)= -0,0784x ² + 0,4233x - 0,3919	0,4000

TABELA 21A Equações de regressão ajustadas do índice de velocidade de emergência (IVE) em função do período de condicionamento (PC) de sementes armazenadas de citrumelo ‘Swingle’.

Variáveis	Equações de regressão	r ²
PEG 6000	Y (3 d)= -1,3455x + 4,6221	0,6377
	Y (6 d)= 0,7734x ² - 3,2709x + 5,0138	1,0000
	Y (9 d)= -1,2047x + 3,9117	0,9988
	Y (12 d)= -1,3157x + 4,0465	0,9831
IVE KNO ₃	Y (3 d)= -1,496x + 4,4245	0,9946
	Y (6 d)= -1,3906x + 4,3584	0,9925
	Y (9 d)= -1,1517x + 3,8919	0,9507
	Y (12 d)= -1,2092x + 3,6864	0,9930
PEG 6000 + KNO ₃	Y (3 d)= -1,2432x + 3,6597	0,9906
	Y (6 d)= -1,3834x + 4,2656	0,9795
	Y (9 d)= -1,1596x + 3,8406	0,9949
	Y (12 d)= -1,2488x + 3,3628	0,7793

TABELA 22A Equações de regressão ajustadas da condutividade elétrica (CE) em função dos períodos de armazenamento (PA) de sementes osmocondicionadas de citrumelo ‘Swingle’.

Variáveis	Equações de regressão	r ²
0 meses	Y(PEG)= 1,7356x + 10,015	0,5983
	Y(KNO ₃)= 2,4565x + 51,727	0,7781
	Y(PEG + KNO ₃)= -1,1321x ² + 7,1729x + 17,943	0,5709
CE 3 meses	Y(PEG)= 15,028x ² - 62,982x + 93,649	0,5507
	Y(KNO ₃)= 71,257x ³ - 557,96x ² + 1300,2x - 739,8	1,0000
	Y(PEG + KNO ₃)= 41,811x ² - 179,56x + 255,53	0,7222
6 meses	Y(PEG)= 16,033x ² - 109,87x + 208,51	0,9988
	Y(KNO ₃)= 10,33x + 17,82	0,9718
	Y(PEG + KNO ₃)= -0,1017x ² - 21,563x + 115,82	0,5550

TABELA 23A Equações de regressão ajustadas da condutividade elétrica (CE) em função do período de condicionamento (PC) de sementes armazenadas de citrumelo ‘Swingle’.

Variáveis	Equações de regressão	r ²
PEG 6000	Y (3 d)= 50,437x - 45,925	0,9177
	Y (6 d)= 21,193x - 2,6766	0,7892
	Y (9 d)= 4,0686x + 8,6169	0,9233
	Y (12 d)= -67,991x ² + 275,7x - 189,09	1,0000
CE	Y (3 d)= -14,064x + 80,506	0,3673
	Y (6 d)= -152,72x ² + 602,35x - 395,04	1,0000
	Y (9 d)= -7,8196x ² + 28,139x + 38,063	1,0000
	Y (12 d)= -34,047x ² + 133,46x - 36,698	1,0000
PEG 6000 + KNO ₃	Y (3 d)= 30,542x + 9,076	0,5355
	Y (6 d)= 35,905x + 8,1971	0,6875
	Y (9 d)= -25,085x ² + 97,175x - 45,184	1,0000
	Y (12 d)= -187,45x ² + 754,06x - 537,3	1,0000

TABELA 24A Resultados médios de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG), emergência (%E), índice de velocidade de emergência (IVE) e condutividade elétrica (CE) de sementes armazenadas de citrumelo ‘Swingle’ em diferentes períodos (PA – 0, 3, 6 e 9 meses), submetidas ao condicionamento osmótico em diferentes solutos (PEG, KNO₃ e PEG + KNO₃), por diferentes períodos (PC – 3, 6, 9 e 12 dias; Test - testemunha).

PA	SOL	PC	%G	IVG	%E	IVE	CE (μ S/cm/g)					
0	PEG	3	68,5	b	1,696	c	83,0	a	2,6910	b	13,2318	a
		6	80,0	a	1,949	c	83,0	a	2,5164	b	12,1936	a
		9	61,0	c	1,619	d	82,0	a	2,7307	a	13,3626	a
		12	35,5	f	1,006	f	79,0	b	2,6313	b	18,6276	b
	KNO ₃	3	72,0	b	2,172	a	82,5	a	2,9920	a	55,7853	e
		6	78,0	a	2,287	a	82,0	a	2,8979	a	54,5934	e
		9	72,9	b	2,043	b	84,5	a	2,5888	b	58,3824	f
		12	66,5	b	1,993	b	73,0	b	2,4184	b	62,7107	f
	PEG + KNO ₃	3	72,5	b	2,076	b	75,5	b	2,4864	b	23,1946	b
		6	72,0	b	1,830	c	81,5	a	2,7667	a	30,1275	c
		9	52,0	d	1,353	e	82,0	a	2,6328	b	26,9059	c
		12	55,0	c	1,430	e	74,5	b	2,4976	b	29,3105	c
Test			72,0	b	1,57	d	77,0	b	3,1060	a	37,5875	d
3	PEG	3	72,0	b	1,570	d	77,0	b	3,1022	a	37,5095	d
		6	75,0	a	1,591	d	54,0	d	1,5658	c	52,3557	e
		9	68,5	b	1,192	f	48,5	e	1,4552	c	15,4001	a
		12	57,0	c	1,343	e	54,5	d	1,6144	c	90,3592	i
	KNO ₃	3	32,5	f	1,072	f	47,5	e	1,3055	c	73,6911	g
		6	76,0	a	1,912	c	59,5	c	1,7169	c	198,7982	m
		9	74,0	a	1,787	c	64,0	c	1,8914	c	63,0624	f
		12	80,0	a	2,217	a	45,5	e	1,3855	c	94,0255	i
	PEG + KNO ₃	3	31,5	f	1,107	f	33,0	f	1,0335	d	103,0053	i
		6	65,5	b	1,509	d	61,5	c	1,7301	c	107,9560	l
		9	70,0	b	1,697	c	59,5	c	1,6176	c	48,8252	e
		12	8,5	g	0,299	g	3,0	h	0,0977	e	221,0189	n
Test			49,5	d	1,14	f	60,0	c	2,2060	b	49,8600	e

“...continua...”

“TABELA 24, Cont.”

PA	SOL	PC	%G	IVG	%E	IVE	CE ($\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$)					
6	PEG	3	0,0	h	0,000	h	0,0	h	0,0000	e	114,1050	l
		6	44,0	e	1,075	f	60,0	c	2,1620	b	54,5800	e
		9	1,0	h	0,045	h	11,5	g	0,3214	e	21,4998	b
		12	0,0	h	0,000	h	0,0	h	0,0000	e	26,1087	c
	KNO ₃	3	0,0	h	0,000	h	0,0	h	0,0000	e	27,6568	c
		6	0,0	h	0,000	h	4,0	h	0,1166	e	37,5728	d
		9	11,0	g	0,440	g	10,0	g	0,2853	e	52,1033	e
		12	0,0	h	0,000	h	0,0	h	0,0000	e	57,2459	e
	PEG + KNO ₃	3	0,0	h	0,000	h	0,0	h	0,0000	e	84,2778	h
		6	0,0	h	0,000	h	0,0	h	0,0000	e	101,9373	j
		9	9,5	g	0,409	g	12,5	g	0,3135	e	20,5742	b
		12	0,0	h	0,000	h	0,0	h	0,0000	e	37,8266	d
Test		6,0	g	0,25	g	12,50	g	0,3635	e	56,2427	e	

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.