



RENATA PEREIRA LUZ CRIVELLARI

**METODOLOGIAS PARA A AVALIAÇÃO DO
POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE
TABACO**

LAVRAS - MG

2016

RENATA PEREIRA LUZ CRIVELLARI

**METODOLOGIAS PARA A AVALIAÇÃO DO POTENCIAL
FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE TABACO**

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

Profa. Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho
Orientadora

LAVRAS - MG

2016

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

Crivellari, Renata Pereira Luz.

Metodologias para a avaliação do potencial fisiológico de sementes de tabaco / Renata Pereira Luz Crivellari. – Lavras : UFLA, 2016.

103 p. : il.

Tese(doutorado)–Universidade Federal de Lavras, 2016.

Orientadora: Maria Laene Moreira de Carvalho.

Bibliografia.

1. Testes de vigor. 2. *Nicotiana tabacum* L.. 3. Qualidade fisiológica. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

RENATA PEREIRA LUZ CRIVELLARI

**METODOLOGIAS PARA A AVALIAÇÃO DO POTENCIAL
FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE TABACO**

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

APROVADA em 19 de abril de 2016.

Prof. Dr. Adriano Teodoro Bruzi	UFLA
Profa. Dra. Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias	UFV
Prof. Dr. João Almir Oliveira	UFLA
Dra. Leidiane Aparecida Ferreira Queiroz	MAPA

Profa. Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho
Orientadora

LAVRAS - MG

2016

Ao meu avô Domingos (in memoriam).

Aos meus pais Sérgio e Terezinha.

Ao meu esposo, Rafael Crivellari.

À minha família.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela proteção divina, pelo dom da vida.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Agricultura por possibilitar a realização do Doutorado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão das bolsas de estudos.

À Professora, Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho, pela amizade, pelos ensinamentos, confiança e orientação na realização do trabalho.

Ao Professor, Dr. Ralph Dewey da North Carolina State University - NCState, pela oportunidade de realizar parte do doutorado em seu laboratório, pelos ensinamentos, confiança, atenção e paciência.

À Empresa Souza Cruz S.A. por disponibilizar material para a realização do experimento.

Aos Professores do Setor de Sementes, João Almir Oliveira, Renato Mendes Guimarães e Édila Vilela de Rezende Von Pinho e aos pesquisadores Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa e Antônio Rodrigues Vieira.

Aos funcionários do Laboratório Central de Sementes.

À equipe do laboratório do Dr. Dewey pela recepção, ensinamentos e amizade ao longo de um ano de trabalhos em conjunto. Em especial, à Carol Griffin, Yihai Wang, Laurel Owens, Rhiannon Raitz e Qian Wu, pela amizade e carinho.

À estagiária Eva Rezende Leite pela disponibilidade, amizade e ajuda nos experimentos.

Aos demais estagiários, bolsistas de iniciação científica e BIC-júnior's, por todo auxílio e dedicação na condução dos experimentos.

Aos meus colegas de Pós-Graduação pela amizade e auxílio nas disciplinas e condução do experimento, em especial, Diego Pereira.

À secretária de Pós-Graduação, Marli, pela atenção e paciência.

À minha mãe Terezinha e ao meu pai Sérgio, pelos conselhos, amor e confiança.

Ao meu esposo Rafael, por todo o amor, carinho, conselhos.

Aos meus irmãos Guilherme e Fernando e a minhas cunhadas Anna Luiza e Flávia. Ao meu afilhado Enzo e à minha afilhada Lavínia, pelo amor incondicional. Aos meus sogros Agostinho e Marcia e meu cunhado Augusto.

À minha grande família, Vô Domingos (em memoriam), tias e tios, primas e primos.

Às minhas amigas, mesmo aquelas que estão longe, à amizade e ao carinho.

E, finalmente, a todos que contribuíram por mais esta conquista.

Muito obrigada!

"O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo, fará coisas admiráveis."

José de Alencar

RESUMO

Apesar do tabaco ser uma cultura que se propaga por sementes, ainda não há muitas informações sobre testes que permitam a distinção de lotes de germinação semelhante em diferentes níveis de vigor. A diversidade de cultivares disponíveis no mercado e algumas peculiaridades da espécie como a maturação desuniforme de flores, frutos e sementes, tamanho diminuto e dormência das sementes, são considerados obstáculos na obtenção de lotes de tabaco de alto potencial fisiológico. Assim, a pesquisa foi desenvolvida com o objetivo de adaptar testes de viabilidade e vigor para a avaliação do potencial fisiológico de lotes de sementes de tabaco. Foram utilizados nove lotes de sementes de tabaco da cultivar CSC 447 e nove lotes de sementes da cultivar BAT 2101 pertencentes aos grupos varietais Virginia e Burley, respectivamente. Inicialmente, foi realizado o teste de germinação para a caracterização do perfil dos lotes e, para a determinação da viabilidade e vigor das sementes, foram realizados os testes de germinação em diferentes temperaturas, emergência em condições controladas, condutividade elétrica, envelhecimento artificial e tetrazólio. Para a determinação de marcador isoenzimático relacionado à qualidade das sementes, foram realizadas análises das enzimas catalase, esterase, malato desidrogenase e álcool desidrogenase. Conclui-se que os testes de emergência à 25°C e envelhecimento artificial à 41°C por 72 horas são eficientes na discriminação de lotes de sementes de tabaco em diferentes níveis de vigor. Os testes de condutividade elétrica e germinação em diferentes temperaturas têm respostas variáveis em relação ao genótipo das sementes de tabaco. O teste de tetrazólio, utilizando-se a metodologia de pré-condicionamento em solução de hipoclorito de sódio 3,5% e posterior imersão em solução de tetrazólio 1,0% por 18 horas é eficiente na avaliação rápida da viabilidade de sementes de tabaco. A análise do perfil das enzimas catalase, esterase, malato desidrogenase e álcool desidrogenase é eficiente como marcadores da qualidade de sementes de tabaco.

Palavras - chave: Testes de vigor. *Nicotiana tabacum* L.. Qualidade fisiológica.

ABSTRACT

Despite tobacco being a culture propagated by seeds, there is little information concerning tests that allow the distinction of similar germination lots in different levels of vigor. The diversity of cultivars available in the market, and a few peculiarities of the species, such as uneven maturation of the flowers, fruits and seeds, small size and seed dormancy, are considered obstacles for obtaining lots of tobacco of high physiological potential. Thus, this research was developed with the objective of adapting feasibility and vigor tests for evaluating the physiological potential of tobacco seed lots. We used nine lots of tobacco seeds of cultivar CSC 447 and nine lots of seeds of cultivar BAT 2101, belonging to variety groups Virginia and Burley, respectively. Initially, germination test was conducted to characterize the profile of the lots. For determining the feasibility and vigor of the tobacco seeds, germination tests were conducted in distinct temperatures, controlled emergence conditions, electric conductivity, artificial aging and in tetrazolium. For determining the isoenzymatic marker for seed quality, analyses were conducted with enzymes catalase, esterase, malate dehydrogenase and alcohol dehydrogenase. In conclusion, the emergence tests at 25°C and artificial aging at 41°C for 72 hours, are efficient in discriminating the lots of tobacco seeds in different levels of vigor. The electric conductivity and germination tests in different temperatures have distinct responses in relation to the genotype of the tobacco seeds. The tetrazolium test using the methodology with pre-conditioning in 3.5% sodium hypochlorite solution and subsequent emersion in 1.0% tetrazolium solution for 18 hours is efficient for the quick evaluation of the feasibility of tobacco seeds. The analysis of the profiles of enzymes catalase, esterase, malate dehydrogenase and alcohol dehydrogenase is efficient as markers for tobacco seed quality.

Keywords: Vigor tests. *Nicotiana tabacum* L.. Physiological quality.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Perfil enzimático da enzima catalase (CAT), extraída de sementes de tabaco das cultivares CSC 447 – Virgínia e BAT 2101 - Burley.....77
- Figura 2 - Perfil enzimático da enzima esterase (EST), extraída de sementes de tabaco dos cultivares CSC 447 – Virginia e BAT 2101 (Burley).78
- Figura 3 - Perfil enzimático da enzima malato desidrogenase (MDH), extraída de sementes de tabaco das cultivares CSC 447 – Virginia e BAT 2101 – Burley.....80
- Figura 4 - Perfil enzimático da enzima álcool desidrogenase (ADH), extraída de sementes de tabaco das cultivares CSC 447 – Virginia e BAT 2101 – Burley.....81

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Médias de grau de umidade – GU (%), germinação – G (%), plântulas anormais deformadas – AD (%), plântulas anormais infeccionadas – AI (%), sementes mortas – M (%), plântulas normais na primeira contagem – PC (%), índice de velocidade de germinação – IVG e coeficiente de uniformidade de germinação – CUG para os lotes de sementes de tabaco da cultivar CSC 447 – Virginia.....46
- Tabela 2 - Médias de grau de umidade – GU (%), germinação – G (%), plântulas anormais deformadas – AD (%), plântulas anormais infeccionadas – AI (%), sementes mortas – M (%), plântulas normais na primeira contagem – PC (%), índice de velocidade de germinação – IVG e coeficiente de uniformidade de germinação – CUG para os lotes de sementes de tabaco da cultivar BAT 2101 – Burley.....47
- Tabela 3 - Médias de germinação – G (%), plântulas anormais – A (%) e sementes mortas – M (%) de lotes de sementes de tabaco expostos a gradiente de temperaturas variando de 20°C a 35°C para a cultivar CSC 447 – Virginia.....50
- Tabela 4 - Médias de sementes dormentes viáveis – DV (%), primeira contagem de germinação – PC (%) e índice de velocidade de germinação - IVG de lotes de sementes de tabaco expostos a gradiente de temperaturas variando de 20°C a 35°C para a cultivar CSC 447 – Virginia.....51

Tabela 5 - Médias de germinação – G (%), plântulas anormais – A (%) e sementes mortas – M (%) de lotes de sementes de tabaco expostos a gradiente de temperaturas variando de 20°C a 35°C para a cultivar BAT 2101 – Buley.	56
Tabela 6 - Médias de sementes dormentes viáveis – DV (%), primeira contagem de germinação – PC (%) e índice de velocidade de germinação - IVG de lotes de sementes de tabaco expostos a gradiente de temperaturas variando de 20°C a 35°C para a cultivar BAT 2101 – Burley.....	57
Tabela 7 - Médias de plântulas emergidas aos 7 dias – E7 (%), 14 dias – E14 (%) e aos 21 dias – E21 (%) à 20°C, 25°C e 30°C para os lotes de sementes de tabaco da cultivar CSC 447 – Virginia.....	58
Tabela 8 - Médias de índice de velocidade de emergência – IVE e coeficiente de uniformidade de germinação – CUG a temperaturas de 20°C, 25°C e 30°C para os lotes de sementes de tabaco de a cultivar CSC 447 – Virginia.....	59
Tabela 9 - Médias de plântulas emergidas aos 7 dias – E7 (%), 14 dias – E14 (%) e aos 21 dias – E21 (%) a 20°C, 25°C e 30°C para os lotes de sementes de tabaco da cultivar BAT 2101.....	60
Tabela 10 - Médias de índice de velocidade de emergência – IVE e coeficiente de uniformidade de germinação – CUG a temperaturas de 20°C, 25°C e 30°C para os lotes de sementes de tabaco de a cultivar BAT 2101 – Burley.....	62
Tabela 11 - Médias da condutividade elétrica – CE ($\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$) mensuradas utilizando-se dois tipos de condutivímetro, SAD 9000® - SAD e MS TECNOPON® - MS, e quatro períodos de embebição, 6, 12, 18 e 24 horas, de lotes de sementes de	

tabaco das cultivares CSC 447 – Virginia e BAT 2101 – Burley.	64
Tabela 12 - Médias de grau de umidade – GU (%), germinação – G (%) e contagem aos 7 dias – G7 (%) de lotes de sementes de tabaco submetidas a três diferentes tempos de envelhecimento artificial (12, 24 e 72 horas) para a cultivar CSC 447 – Virginia.	67
Tabela 13 - Médias de contagem aos 10 dias – G10 (%) e índice de velocidade de germinação – IVG de lotes de sementes de tabaco submetidas a três diferentes tempos de envelhecimento (12, 24 e 72 horas) para a cultivar CSC 447 – Virginia.	68
Tabela 14 - Médias de grau de umidade – GU (%), germinação – G (%) e contagem aos 7 dias – G7 (%) de lotes de sementes submetidas a três diferentes tempos de envelhecimento artificial (12, 24 e 72 horas) para a cultivar BAT 2101 - Burley.	69
Tabela 15 - Médias da contagem aos 10 dias – G10 (%) e índice de velocidade de germinação – IVG de sementes submetidas a três diferentes tempos de envelhecimento (12, 24 e 72 horas) para a cultivar BAT 2101 - Burley.	70
Tabela 16 - Médias de sementes viáveis submetidas a quatro períodos de embebição em KNO ₃ 2,0% (0, 1, 3 e 6 horas) e quatro tempos de imersão em solução de tetrazólio 1,0% (12, 16, 20 e 24 horas) – cultivar CSC 416 – Virginia.	72
Tabela 17 - Médias de sementes viáveis submetidas a três concentrações de hipoclorito de sódio (0, 1,75%, 3,5%) e quatro tempos de imersão em solução de tetrazólio 1,0% (6, 12, 18 e 24 horas) para lotes de tabaco das cultivares CSC 447 e BAT 2101.	73

Tabela 18 - Médias de sementes viáveis submetidas à imersão direta em tetrazólio 1,0% por 24 horas de lotes de tabaco das cultivares CSC 447 – Virginia e BAT 2101 – Burley.	74
Tabela 19 - Médias de sementes viáveis submetidas ao pré-condicionamento utilizando-se hipoclorito de sódio 3,5% e posterior imersão em tetrazólio 1,0% por 18 horas para lotes de tabaco das cultivares CSC 447 – Virginia e BAT 2101 – Burley.	75

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	REFERENCIAL TEÓRICO	19
2.1	Importância e caracterização da cultura do tabaco.....	19
2.2	Deterioração e potencial fisiológico de sementes	23
2.3	Análise isoenzimática de sementes	33
3	MATERIAL E MÉTODOS	37
3.1	Caracterização do perfil dos lotes de sementes de tabaco.....	37
3.2	Testes para avaliação do potencial fisiológico de sementes de tabaco	38
3.3	Análise de Isoenzimas de sementes de tabaco	42
3.4	Análise Estatística.....	42
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
4.1	Caracterização do perfil dos lotes de sementes de tabaco.....	45
4.2	Germinação em diferentes temperaturas	49
4.3	Emergência em Condições Controladas	58
4.4	Condutividade elétrica.....	63
4.5	Envelhecimento Artificial.....	66
4.6	Teste de tetrazólio.....	71
4.7	Análise Isoenzimática.....	77
5	CONSIDERAÇÕES GERAIS	83
6	CONCLUSÕES.....	85
	REFERÊNCIAS.....	87
	ANEXO A - TABELAS	101

1 INTRODUÇÃO

Apesar de o tabaco ser uma cultura que se reproduz via sementes, existem poucos relatos na literatura sobre a sua produção e sua qualidade. A diversidade de cultivares disponíveis no mercado e algumas peculiaridades da espécie como a maturação desuniforme de flores, frutos e sementes, tamanho diminuto e dormência das sementes são considerados obstáculos, na obtenção de lotes de tabaco de alto potencial fisiológico, constatando-se a necessidade de desenvolvimento de pesquisas que envolvam a fisiologia de sementes de tabaco.

A avaliação da qualidade das sementes de tabaco pelas empresas produtoras tem sido realizada pelos testes de germinação e emergência em sistema-float. No entanto, o teste de germinação é realizado, em condições ótimas de ambiente, fornecendo as informações sobre o potencial de germinação de um lote de sementes. A realização de testes de vigor adicionais ao teste de germinação torna-se necessária, para a estratificação de lotes de sementes, em diferentes níveis de qualidade, principalmente, entre aqueles que apresentam porcentagens de germinação semelhantes.

Dentre os testes de vigor utilizados, o teste de germinação em temperaturas extremas tem - se mostrado eficiente na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de algumas espécies vegetais, visto que lotes que germinam em uma ampla faixa de temperatura, são mais tolerantes a condições adversas de ambiente. Já os testes de envelhecimento artificial e condutividade elétrica são considerados promissores para a avaliação do potencial fisiológico de sementes de diversas espécies agrícolas por proporcionarem resultados reproduzíveis e correlacionados com a emergência das plântulas em condições de campo.

Na determinação da viabilidade, o teste de tetrazólio é amplamente relacionado aos eventos da deterioração, pois se associa à atividade respiratória

das sementes; além disso, permite a obtenção rápida de informações sobre o potencial de germinação das sementes.

Além destes testes, a análise do perfil de proteínas e enzimas, também, tem sido relatada como ferramenta eficiente na determinação de marcadores moleculares de qualidade fisiológica de sementes, dando subsídio para explicar as alterações no processo de deterioração das sementes.

Em relação à cultura de tabaco, não há muitas informações sobre testes que permitam a distinção de lotes de germinação semelhante com diferentes níveis de vigor. Desta forma, a pesquisa foi desenvolvida com o objetivo de adaptar testes de viabilidade e vigor para a avaliação do potencial fisiológico de lotes de sementes de tabaco.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Importância e caracterização da cultura do tabaco

O tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) é originário da América do Sul, região dos Andes. Difundiu-se pelo território brasileiro por meio da imigração de indígenas e, rapidamente, disseminou-se pela Europa, África, Ásia e Austrália, sendo atualmente cultivado em todo o mundo (JUDE, 2013).

É considerada a mais importante cultura agrícola não alimentícia do planeta devido à sua importância econômica e social (SOUZA CRUZ, 2016). É uma espécie que possui o alcaloide nicotina, fonte de matéria-prima para a indústria tabagista. É, também, amplamente utilizado em estudos científicos, nas áreas de farmácia, fisiologia, virologia e plantas transgênicas (GOODSPEED, 1954; HAWKES, 1999; HUNZIKER, 2001) O óleo extraído das sementes pode ser utilizado na indústria farmacêutica, na alimentação animal e até mesmo no biodiesel (STANISAVLJEVIC´; LAZIC´; VELJKOVIC, 2007; VELJKOVIC´ et al., 2006). Além disso, é reconhecido como planta-modelo para a transformação genética vegetal, em razão ao tamanho do seu genoma, relativamente pequeno, à alta capacidade de regeneração, ao potencial de produção rápida por causa de seu ciclo curto e à grande produção de sementes por planta (DUNG et al., 2006; ROMMENS, 2006).

O Brasil é o segundo maior produtor e o maior exportador mundial do tabaco, direcionando mais de 85% do produto nacional para o exterior. Na safra de 2014/15, no Brasil, a área destinada para a produção de tabaco totalizou-se em 321,5 mil hectares, correspondendo a uma produção de, aproximadamente, 710, 8 mil toneladas de tabaco, cujo faturamento ficou em torno de R\$ 5,06 bilhões (ASSOCIAÇÃO DOS FUMICULTORES DO BRASIL - AFUBRA, 2016).

Na região sul do Brasil, a cultura do tabaco é uma das atividades agroindustriais de maior importância econômica e social. Considerando-se as

diversas etapas do processo produtivo e comercial, incluindo a comercialização e financiamento do produto, despesas com materiais, energia e fretes, pagamento de salários, recolhimento de tributos, comercialização no mercado doméstico e a exportação, o complexo agroindustrial é responsável por uma movimentação financeira, que supera mais de 10 bilhões por ano, envolvendo mais de 2,3 milhões de pessoas neste processo, sendo 703.080 empregos diretos e 1.440.000 empregos indiretos. A estabilidade dos preços e a rentabilidade por área cultivada são os maiores atrativos para os fumicultores, além da diversificação nas pequenas propriedades rurais de tabaco que gera um incremento na renda familiar dos produtores (AFUBRA, 2016; CARVALHO, 2016).

Pertencente à família Solanaceae, gênero *Nicotiana*, o tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) é uma planta herbácea, com 90 a 120 cm de altura e contém folhas grandes e flores tubulares e simetria radiada. As flores aparecem no topo da planta, acima das folhas menores e mais novas e apresentam cores variáveis como rosa, vermelha, púrpura e branca. É uma planta monoica, com flores completas, contendo os órgãos femininos e masculinos e é classificada como autógama. Apresenta cleistogamia e a polinização do estigma intercorre, antes da abertura do botão floral; no entanto, a planta de tabaco pode ser fecundada, artificialmente, com o pólen de outras espécies do gênero *Nicotiana*. O fruto é do tipo seco e capsular, contendo um enorme número de sementes (SILVA; MENTZ, 2005).

Vale ressaltar que existem diversos grupos varietais de tabaco, distinguidos com base no método de cura e nas características bioquímicas das plantas (FRICANO et al., 2012), que são utilizados como matéria - prima pela indústria tabagista. Os principais grupos são o Virginia e o Burley e representam cerca de 86,5% e 13% da produção sul-brasileira de tabaco, respectivamente. Dentro de cada grupo varietal, existem diversas cultivares comerciais desenvolvidas pelos programas de melhoramento de tabaco. Esta diversidade de

cultivares é, também, um entrave na produção e controle da qualidade fisiológica das sementes, em virtude da peculiaridade de cada cultivar.

O estabelecimento da lavoura de tabaco se dá por meio do plantio de mudas. As sementes são semeadas em substrato comercial, mantidas em bandejas de isopor, que são colocadas sobre uma lâmina de água, em sistema-float para a produção de mudas de tabaco. Todo o processo é conduzido sob condições controladas de casa de vegetação (CALDEIRA, 2013; SOUZA CRUZ, 2016; VENCATO et al., 2011).

A maturação desuniforme dos frutos, em razão da característica de crescimento desuniforme da espécie, resulta de um florescimento heterogêneo entre as plantas e em uma mesma planta. Conseqüentemente, em uma mesma planta encontram-se flores, frutos em diferentes estádios de maturação e sementes em diferentes estádios de desenvolvimento. Por esse motivo, a colheita dos frutos é realizada, manualmente, possibilitando a padronização e homogeneização dos lotes (SILVA, 2014).

As sementes de tabaco possuem tamanho diminuto, sendo cada grama de sementes de tabaco composto por cerca de 16 mil unidades (BRASIL, 2009). Assim, o tamanho, a forma e o peso das sementes de tabaco têm sido considerados entrave para o seu cultivo.

O embrião das sementes de tabaco é circundado por três a cinco camadas espessas de células endospermicas e outra camada exterior, a testa, de origem maternal que consiste de células mortas cutinizadas e lignificadas e uma camada interna de células vivas do parênquima (AVERY, 1933; LEUBNER-METZGER; MEINS JUNIOR, 2001; MATZKE; STOGER; MATZKE, 1993). Assim, a ruptura da camada composta pela testa precede a ruptura do endosperma (ARCILA; MOHAPATRA, 1983). Em membros da família Solanaceae, como o tabaco, a germinação das sementes depende do enfraquecimento do endosperma por enzimas hidrolíticas, pois a camada de

células endospermicas é considerada limitação mecânica para a protrusão da radícula (BEWLEY, 1997; NI; BRADFORD, 1993).

Sementes recém-colhidas de tabaco são dormentes e requerem luz para germinar, sendo a fotodormência estabelecida durante o desenvolvimento das sementes (LEUBNER-METZGER, 2001; LEUBNER-METZGER; MEINS JUNIOR, 2000). O armazenamento das sementes de tabaco, em condições de temperatura ambiente e ar seco, contribuem para a quebra da fotodormência e este efeito pode variar entre os lotes de sementes, como já foi relatado para várias cultivares de tabaco (KASPERBAUER, 1968; LEUBNER-METZGER, 2001; LEUBNER-METZGER; MEINS JUNIOR, 2000).

Os hormônios brassinosteroides e giberelina contribuem, positivamente, para a germinação de sementes de tabaco, promovendo a germinação por vias distintas de tradução de sinais. A giberelina contribui para a quebra da dormência das sementes, pois atua na mesma rota bioquímica de recepção de luz, que ativa um sinal de tradução e induz às mudanças necessárias para a germinação ocorrer. Os brassinosteroides auxiliam na ruptura do endosperma de sementes não dormentes pelo aumento do potencial de crescimento do embrião (LEUBNER-METZGER, 2001).

Sementes de tabaco de alta qualidade, com potencial de produzir mudas vigorosas e uniformes, são requeridas para o sucesso do estabelecimento das plantas e produtividade final. Na literatura, há escassez de informações relacionadas às etapas de produção, colheita, secagem, beneficiamento e armazenamento, bem como dados e referências sobre o potencial fisiológico de lotes de sementes de tabaco.

Para atender à demanda dos produtores de tabaco, um grande número de variedades e cultivares são desenvolvidas pelos programas de melhoramento, e a diversidade de materiais disponíveis no mercado, além das peculiaridades da

espécie como a maturação desuniforme de flores, frutos e sementes, tamanho diminuto das sementes e a dormência das sementes, são considerados obstáculos à determinação de lotes de alto potencial fisiológico.

Verifica-se que a maioria das companhias de sementes de tabaco avaliam a performance das sementes, unicamente, pelo teste de germinação, realizado sob condições ideais e controladas em laboratório. Tais condições diferem das condições ambientais de casas de vegetação onde, normalmente, são desenvolvidas as mudas de tabaco.

Clarke, Reed e Wilkinson (2001) relataram que, para a obtenção de sucesso na produção de mudas vigorosas e uniformes de tabaco, é necessário que as sementes tenham uma alta porcentagem de emergência de plântulas e apresentem crescimento rápido e uniforme. Estas características representam o potencial fisiológico dos lotes que, normalmente, é avaliado por testes de vigor.

Diante do exposto, é constatada a necessidade de pesquisas envolvendo a fisiologia das sementes de tabaco e o desenvolvimento e adaptação de testes de vigor para a avaliação do potencial fisiológico de lotes de sementes.

2.2 Deterioração e potencial fisiológico de sementes

De acordo com a International Seed Testing Association - ISTA (2006), o vigor das sementes é o conjunto de características que determinam a atividade e a performance de lotes de sementes, com porcentagem de germinação comercialmente aceitável, em diferentes condições ambientais favoráveis e desfavoráveis.

O máximo potencial fisiológico é alcançado, no momento da maturidade das sementes, quando completa o período de acúmulo de matéria seca (TEKRONY; EGGLE, 1991). As condições climáticas, durante as fases de desenvolvimento das plantas, aliadas aos tratamentos culturais fornecidos à lavoura destinada à produção de sementes, influenciam, significativamente, o vigor e o

potencial de armazenamento das sementes (MARCOS-FILHO, 2015). Condições ambientais adversas, durante a formação das sementes, resultam em maturação fisiológica forçada, resultando em baixa qualidade e produtividade (FRANÇA-NETO et al., 2005; PADUA et al., 2009).

Após atingir a maturidade fisiológica, as sementes permanecem no campo e as condições do clima na pré-colheita exercem grande influência na qualidade das sementes. É no período pós-maturidade fisiológica que se inicia o processo de deterioração e o grau de intensidade de deterioração é variável com as condições de ambiente e com as práticas de manejo (MALIK, 2013; MOSAVI et al., 2011).

Vários fatores contribuem para a suscetibilidade das sementes à deterioração. As causas básicas são temperatura e umidade relativas elevadas, alto teor de água nas sementes e danos aos tecidos por ataque de microrganismos ou insetos. A intensidade de deterioração varia entre lotes e variedades de uma mesma espécie e entre as espécies (JATOI et al., 2001).

Uma vez que o processo de deterioração, contínuo e irreversível, é iniciado, uma sequência de eventos bioquímicos é desencadeada, provocando danos nas membranas celulares das sementes e nas rotas biossintéticas, resultando em perdas de vários atributos da performance das sementes, como redução da germinação e emergência em campo e aumento do número de plântulas anormais e sementes mortas (DELOUCHE, 1963; WALTERS; BALLESTEROS; VERTUCCI, 2010). Estes atributos são os sintomas mais evidentes da deterioração, percebidos durante a germinação das sementes e desenvolvimento inicial das plântulas.

O processo de deterioração das sementes é, também, associado com várias alterações celulares, metabólicas e bioquímicas, incluindo a degradação e a inativação de enzimas (COPELAND; MCDONALD, 2001), a redução na

atividade respiratória (FERGUSON; TEKRONY; EGLI, 1990) e a perda da integridade das membranas celulares (MCDONALD, 1999).

Diversas pesquisas, envolvendo a elucidação dos mecanismos de deterioração das sementes, têm sido desenvolvidas por vários pesquisadores; Basavarajappa, Shetty e Prakash (1991), Matthews (1980) e McDonald (1999), entre outros, evidenciaram que mudanças degenerativas, na atividade metabólica das sementes, incluindo variação na síntese e atividade da mitocôndria, desnaturação de proteínas, decréscimo de reservas armazenadas, aumento de radicais livres e redução de atividades enzimáticas, sínteses de proteínas e RNA, podem ser causadas quando as sementes são expostas a condições ambientais desfavoráveis.

Muitos estudos indicam que a redução da viabilidade e do vigor das sementes está relacionada à perda da integridade da membrana plasmática em decorrência da produção de radicais livres e espécies reativas de oxigênio (ROS) durante o processo de deterioração. Também tem sido relatado que, em condições de estresses ambientais, as ROS são produzidas em excesso (FAIZE et al., 2015).

A manutenção da viabilidade das sementes é alcançada pela regulação da geração de espécies reativas de oxigênio e pela defesa por meio da atividade de enzimas antioxidantes. Lee et al. (2010) demonstraram que a expressão de enzimas antioxidantes Cu/Zn-superoxido dismutase (SOD) e acorbato peroxidase (APX), em plastídeos de sementes de tabaco, resultaram em aumento da viabilidade de sementes, artificialmente, envelhecidas. A manutenção da integridade da membrana, em razão da alta habilidade das enzimas antioxidantes, resultou em baixo acúmulo de ROS. Faize et al. (2015) relataram que as expressões de *cytsod* (Cu/Zn-superoxide dismutase) e *cytapx* (cytosolic ascorbate peroxidase), no citosol de sementes de tabaco, também, contribuem

para aumentar a longevidade das sementes e as taxas de germinação sob condições ambientais desfavoráveis.

O monitoramento do potencial fisiológico, durante todas as fases de produção e armazenamento de sementes, por meio da avaliação do vigor dos lotes, disponibiliza informações importantes e permite a agilidade na tomada de decisões estratégicas em relação à seleção de lotes com alta qualidade, ao destino dos lotes de sementes e às medidas relacionadas ao seu armazenamento (KRZYŻANOWSKI; VIEIRA; FRANÇA-NETO, 1999; MCDONALD, 1995).

O processo de germinação das sementes envolve uma série de eventos físicos, bioquímicos e fisiológicos que podem ser influenciados por diversos fatores ambientais, principalmente, disponibilidade de água, temperatura e oxigênio (MARCOS-FILHO, 2005). Dentre estes, a temperatura exerce uma enorme influência na velocidade e porcentagem final de germinação (BEWLEY; BLACK, 1994).

O teste de germinação tem sido utilizado, rotineiramente, para avaliar a qualidade fisiológica de sementes de tabaco para fins de semeadura e comercialização. Entretanto, por ser um teste realizado, sob condições ideais e artificiais, favorece o máximo potencial de germinação das sementes e os resultados obtidos nem sempre correspondem com a emergência das plântulas sob condições de campo ou casa de vegetação (BHERING et al., 2000). Os testes de vigor, desenvolvidos para complementar as informações obtidas no teste de germinação, devem ter como objetivo determinar o potencial para emergência rápida e uniforme de plântulas normais sob ampla diversidade de condições ambientais (ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALIST - AOSA, 1983).

Para cada espécie vegetal existe uma amplitude de temperatura em que as sementes são capazes de germinar (BEWLEY; BLACK, 1982). A temperatura considerada ótima é aquela na qual a semente expressa o máximo

potencial de germinação em um menor período de tempo; as temperaturas máxima e mínima correspondem aos pontos críticos da germinação, ou seja, acima ou abaixo das quais as sementes não germinam (MAYER; POLJAKOFF-MAYBER, 1989). Dentro destes limites, acréscimos na temperatura podem acelerar ou até mesmo inibir o processo de germinação, enquanto em temperaturas inferiores a velocidade da germinação é reduzida, favorecendo o desenvolvimento de patógenos e a desuniformidade das plântulas (MARSHALL et al., 2000; STANISAVLJEVIC'; LAZIC'; VELJKOVIC, 2007).

Vale ressaltar que as sementes mais vigorosas, normalmente, exibem maior tolerância em condições de estresse. Carvalho e Nakagawa (2000) evidenciaram que sementes de alta qualidade fisiológica expressam maior porcentagem de germinação em uma ampla faixa de temperatura.

O Teste de Germinação em Diferentes Temperaturas tem demonstrado eficiência na avaliação do vigor das sementes de algumas espécies vegetais, como tomate, cenoura, cebola e pimentão (FERREIRA et al., 2013; GAGLIARDI; MARCOS-FILHO, 2011; PEREIRA et al., 2007; PINHEIRO et al., 2014).

A condução do teste de germinação em mesa termograde pode estimar o possível comportamento dos lotes de sementes em temperaturas adversas e, ainda, fornecer informações consistentes sobre o potencial de germinação das sementes em campo e / ou casa de vegetação (GAGLIARDI, 2009). A mesa termograde consiste de uma chapa de metal em que há circulação de água fria de um lado e água quente do outro lado da mesa, gerando um gradiente de temperaturas que podem variar em até 20°C (KAUFMAN, 1991).

Estudos envolvendo a avaliação do potencial germinativo das sementes sob temperaturas adversas foram desenvolvidos para sementes de pimentão (GAGLIARDI; MARCOS-FILHO, 2011) e tomate (FERREIRA et al., 2013).

Mohapatra e Suggs (1989) conduziram em estudo, para avaliar a desempenho germinativo de 22 cultivares de tabaco, em mesa termogradiente e concluíram que a germinação de sementes de tabaco ocorre, em uma ampla faixa de temperaturas, que varia de 21°C a 32°C e que as sementes expostas a altas temperaturas apresentaram termodormência.

Segundo Hampton e Coolbear (1990) e Tekrony e Egli (1977), um teste de vigor deve apresentar mais sensibilidade que o teste de germinação ao registrar índices da qualidade dos lotes de sementes; deve ser objetivo, rápido, simples e economicamente viável; ser reproduzível e interpretável de maneira objetiva; e capaz de separar os lotes em termos de desempenho e armazenamento.

Dentre os testes de vigor disponíveis, os testes de condutividade elétrica e envelhecimento acelerado têm se mostrado promissores para a avaliação do potencial fisiológico de sementes de diversas culturas agrícolas, por proporcionarem resultados reproduzíveis e correlacionados com a emergência de plântulas em condições de campo e/ou casa de vegetação. Além disso, são considerados testes rápidos, fáceis de executar e de baixo custo (HAMPTON; TEKRONY, 1995).

O objetivo principal do Teste de Condutividade Elétrica é avaliar indiretamente os danos causados às membranas que ocorrem durante o processo de deterioração. Em sementes deterioradas há maior deficiência na reestruturação das membranas, causando maior lixiviação de eletrólitos (BEWLEY; BLACK, 1994). Assim, sementes mais deterioradas e menos vigorosas, quando submetidas à embebição, lixiviam maior quantidade de solutos (açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, proteínas, enzimas e íons), para o meio externo, em virtude da menor velocidade de reparação da membrana celular. Em condições de campo, a lixiviação dos exsudatos pode favorecer o

crescimento de microrganismos e prejudicar a emergência das plântulas (MARCOS-FILHO, 2015).

A metodologia do teste se baseia na imersão de uma quantidade pré-determinada de uma amostra de sementes em um volume conhecido de água destilada e / ou deionizada à temperatura de 20°C ou 25°C, por um período pré-estabelecido para a espécie a ser avaliada. Os resultados serão mensurados por meio de leituras utilizando-se um condutivímetro específico (MILOSEVIC; VUJAKOVIC; KARAGIC, 2010).

O teste de condutividade elétrica é considerado rápido, objetivo e fácil de ser conduzido, pois requer o mínimo para equipamento e treinamento pessoal (MATTHEWS; POWELL, 1981). Entretanto, estudos evidenciaram que diversos fatores podem interferir nos resultados do teste como característica e tamanho das sementes, número de sementes avaliadas, teor de água inicial das sementes, temperatura e período de embebição, quantidade e qualidade da água a serem utilizadas na condução do teste, genótipo, estágio de desenvolvimento da semente e presença de danos físicos nas sementes (CRUZ et al., 2013; DIAS et al., 2006).

A determinação do período de embebição para a condução do teste é um fator decisivo para a distinção do vigor entre lotes de sementes (DIAS et al., 2006). Para a maioria das espécies vegetais, um período de 24 horas de embebição das sementes é o mais indicado. Entretanto, estudos têm indicado a possibilidade de redução deste período para sementes pequenas: quatro e seis horas para tomate (RODO et al., 1998; SÁ, 1998); seis horas para nabo forrageiro (NERY; CARVALHO; GUIMARÃES, 2009); duas horas para pimentão (OLIVEIRA; NOVEMBRE, 2005); quatro horas para quiabo (DIAS; VIEIRA; BHERING, 1998); oito horas para abobrinha (DUTRA; VIEIRA, 2006); uma hora para pimenta (VIDIGAL et al., 2008); oito horas para couve-brócolos (MARTINS et al., 2002).

Carvalho e Novembre (2011) não tiveram resultados consistentes, para o teste de condutividade elétrica, na avaliação de lotes de sementes nuas e revestidas de tabaco, cultivar CSC 439, grupo varietal Virginia.

O Teste de Envelhecimento Acelerado é amplamente utilizado por causa de sua alta correlação com a emergência de plântulas em campo e/ou casa de vegetação (MILOSEVIC; VUJAKOVIC; KARAGIC, 2010).

O princípio do teste se baseia na aceleração artificial da taxa de deterioração das sementes. As sementes são expostas, por períodos pré-determinados para cada espécie, a altas temperaturas (40°C a 45°C, usualmente 41°C) e umidade relativa do ar elevada (em torno de 100%) (MARCOS-FILHO, 2015). Após este tratamento, as sementes são submetidas ao teste de germinação conforme estabelecido nas Regras para Análises de Sementes (BRASIL, 2009). Assim, é possível estabelecer as diferenças entre os lotes de sementes, em relação ao potencial fisiológico, pois as sementes de baixa qualidade deterioram-se mais rapidamente que sementes mais vigorosas (PANOBIANCO; MARCOS-FILHO, 1998; MARTINS et al., 2002).

O período de incubação e a temperatura a ser utilizada na condução do teste variam entre as espécies vegetais (NERY; CARVALHO; GUIMARÃES, 2009). A busca por um período ideal de incubação é imprescindível, para o sucesso deste teste, pois condições muito drásticas podem impedir a detecção de diferenças significativas entre as amostras prejudicando a eficiente separação dos lotes em diferentes níveis de vigor (SPINOLA et al., 1998).

A interpretação dos resultados obtidos no teste de envelhecimento acelerado pode ser prejudicada se houver uma contaminação inicial das sementes por microrganismos (SILVA; SILVA, 2000).

Um importante fator que é considerado entrave, na utilização do teste de envelhecimento acelerado, para espécies que possuem sementes pequenas é relacionado a diferenças na absorção de água quando as sementes são expostas à

atmosfera úmida. Alguns estudos têm demonstrado que resultados pouco consistentes são obtidos em virtude da variação muito acentuada no grau de umidade entre as amostras de sementes submetidas ao teste (POWELL, 1995). Normalmente, as sementes pequenas absorvem água de forma mais rápida e desuniforme, podendo acelerar o processo de deterioração ou até mesmo interferir na precisão dos resultados quanto à variação dos dados entre as sementes de um mesmo lote (BHERING et al., 2006; JIANHUA; MCDONALD, 1997).

Diversos trabalhos relatam a eficiência do teste de envelhecimento acelerado, na estratificação de lotes de sementes, em diferentes níveis de qualidade fisiológica, para diversas culturas das Solanaceas: pimentão (OLIVEIRA; CARVALHO; DAVIDE, 2003; PANOBIANCO; MARCOS-FILHO, 1998; TORRES, 1996); tomate (HAMPTON; TEKRONY, 1995; NASCIMENTO; BARROS; PESSOA, 1993; NOVEMBRE et al., 1995; PANOBIANCO; MARCOS-FILHO, 1998) e berinjela (BHERING et al., 2001).

Em relação à metodologia ideal, para a condução do teste de envelhecimento acelerado em sementes de tabaco, Medeiros (2008) concluiu que o teste conduzido a $38 \pm 2^\circ\text{C}$ / 18 horas ou $41 \pm 2^\circ\text{C}$ / 60 horas foi eficiente na avaliação do vigor das sementes; Paula (2012) observou que os resultados, obtidos no teste de envelhecimento acelerado a $41 \pm 2^\circ\text{C}$ / 48 horas, foram semelhantes aos resultados encontrados no teste de germinação e de primeira contagem.

Métodos com o objetivo de avaliar a viabilidade e/ou vigor das sementes, relacionados aos eventos da deterioração, como atividade respiratória e integridade das membranas, têm sido desenvolvidos.

O Teste de Tetrazólio foi desenvolvido, nos anos de 1940, por Moore com o intuito de obter uma estimativa geral da viabilidade das sementes, particularmente, em espécies que apresentavam dormência (MILOSEVIC;

VUJAKOVIK; KARAGIC, 2010). É considerado um teste rápido para estimar a viabilidade e / ou vigor das sementes.

O teste baseia-se na alteração da coloração dos tecidos vivos, quando em contato com a solução de cloreto de 2,3,4-trifenil-tetrazólio, expressa a atividade das enzimas desidrogenases envolvidas nos processos respiratórios. O formazam, substância de cor avermelhada, estável e não difusível, é formado nos tecidos vivos, por meio da hidrogenação do sal de tetrazólio, tornando-se possível distinguir tecidos vivos (róseo, avermelhado), tecidos deteriorados (vermelho escuro quanto à respiração intensa e grande liberação de íons H^+) e tecidos mortos (sem coloração; não respiram e liberam pouca ou nenhuma quantidade de H^+) (DIAS; ALVES, 2008; FRANÇA-NETO; PEREIRA; COSTA, 1986; GRABE, 1976).

A adequação da metodologia pela definição das condições de pré-condicionamento, preparo e coloração das sementes é necessária para a avaliação correta da viabilidade e / ou vigor das sementes (BRASIL, 2009). O tempo necessário para a coloração, a temperatura e a concentração do sal de tetrazólio são fatores que variam entre as espécies vegetais (LIMA et al., 2007). Conforme descrito na ISTA (1985), para a realização do teste de tetrazólio em sementes de tabaco, deve-se, primeiramente, manter as sementes embebidas em água, por 24 horas, em temperatura ambiente, para o amolecimento dos tecidos e ativação do sistema de enzimas. Após este período, devem-se cortar as sementes ao meio e mantê-las imersas em solução de tetrazólio 0,1% por 44 horas a 30°C. Entretanto, considera-se a metodologia laboriosa e demorada, pois é extremamente difícil cortar as sementes de tabaco ao meio, por serem extremamente pequenas e o tempo total de duração do teste é de, aproximadamente, 70 horas (CUI et al., 2014).

A utilização do teste de tetrazólio, na avaliação da viabilidade e / ou vigor das sementes, tem sido mais frequente em espécies consideradas grandes

culturas como soja (FRANÇA-NETO; PEREIRA; COSTA, 1986), algodão (VIEIRA; PINHO, 1999) e milho (DIAS; BARROS, 1999). No entanto, para espécies de sementes pequenas, pertencentes à família Solanaceae, há poucos relatos, mas estudos já foram desenvolvidos envolvendo sementes de tomate (SANTOS; NOVEMBRE; MARCOS-FILHO, 2007) e pimentão (GAGLIARDI; MARCOS-FILHO, 2011).

Para sementes de tabaco, Cui et al. (2014) desenvolveram diferentes metodologias, para a utilização do teste na avaliação da viabilidade das sementes de tabaco e concluíram que o método de corte das sementes ao meio, utilizando-se micrótomo (aparelho que possibilita cortes microscópicos) e posterior imersão das sementes em INT (iodonitrotetrazolium chloride), receptor alternativo de hidrogênio, por duas horas a 30°C, foi eficiente na determinação da viabilidade das sementes de tabaco.

A avaliação do perfil de proteínas e de enzimas específicas pode ser considerada ferramenta eficiente para determinação de marcadores de qualidade de sementes. Entretanto, ainda, não há estudos de marcadores isoenzimáticos para a avaliação do potencial fisiológico de sementes de tabaco.

2.3 Análise isoenzimática de sementes

O processo de deterioração de sementes é bastante complexo e estudos visando obter conclusões precisas sobre o assunto não têm sido tarefa simples. Nota-se que os sintomas mais evidentes da deterioração são detectados durante o processo germinativo e o crescimento inicial das plântulas. No entanto, provavelmente, outras manifestações de caráter ultraestrutural e bioquímico já devem ter ocorrido e a constatação só é possível por meio de exames mais sofisticados (MARCOS-FILHO, 2005). Dessa forma, pesquisas para melhor compreender o processo de deterioração das sementes, envolvendo as técnicas

de eletroforese para a análise de isoenzimas, têm sido desenvolvidas (CRUZ et al., 2013).

As principais alterações que ocorrem durante o processo de deterioração das sementes são a redução da atividade respiratória e a degradação e inativação das enzimas. As análises referentes à atividade das enzimas associadas à biossíntese de tecidos novos são mais sensíveis para detectar o início do processo de deterioração das sementes (COPELAND; MCDONALD, 2001).

Dentre as enzimas, envolvidas na deterioração das sementes, mais precisamente no processo respiratório, na peroxidação dos lipídios e na remoção de radicais livres, a catalase (CAT), a esterase (EST), a malato desidrogenase (MDH) e a álcool desidrogenase (ADH) podem ser consideradas como possíveis marcadores moleculares para monitorar e caracterizar a qualidade fisiológica das sementes (VEIGA et al., 2010).

Enzimas antioxidantes, como a catalase, são consideradas eficientes na eliminação das espécies reativas de oxigênio, protegendo as sementes de reações oxidativas (LEE et al., 2010). A principal função da enzima catalase (CAT) é catalisar a reação de conversão do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água (H_2O), protegendo as células de danos oxidativos (SCANDALIOS et al., 2005). Cruz et al. (2013) relataram que sementes de crambe de baixa qualidade expressaram baixa atividade da enzima catalase. De fato, a redução na atividade da catalase predispõe as sementes aos efeitos deletérios dos radicais livres sobre os ácidos graxos insaturados da membrana (ALBUQUERQUE et al., 2009).

A enzima esterase atua no metabolismo dos lipídios e, normalmente, está envolvida nas reações de hidrólise de ésteres (SANTOS; MENEZES; VILLELA, 2004). A atividade dessa enzima é relacionada à perda de viabilidade das sementes. Enzimas hidrolíticas, como a esterase, liberam ácidos graxos dos lipídios que serão utilizados na β -oxidação como fonte de energia no metabolismo germinativo (FARIA et al., 2013). Aung e McDonald (1995)

observaram menor atividade da esterase em sementes de amendoim mais deterioradas. Pereira (2012) relatou que a atividade da esterase foi reduzida nos lotes de menor qualidade fisiológica de pimenta. Basavarajappa, Shetty e Prakash (1991) afirmaram que alterações nos padrões da atividade das esterases evidenciam o progresso da deterioração, pois a peroxidação de lipídios é um evento associado aos danos das membranas das sementes.

A enzima malato desidrogenase (MDH) é uma enzima importante no processo de respiração celular e atua no ciclo de Krebs. É responsável por catalisar a reação de conversão do malato a oxaloacetato, produzindo NADH, produto fundamental para geração de energia, ATP e compostos intermediários essenciais para o funcionamento das células (TAIZ; ZEIGER, 2004). Ferreira et al. (2015) atribuíram o aumento da atividade da enzima MDH ao aumento da respiração das sementes que estavam em processo de deterioração.

A enzima álcool desidrogenase (ADH) está relacionada à respiração anaeróbica e atua na reação de redução do acetaldeído a etanol (VEIGA et al., 2010). O aumento da atividade da enzima ADH confere maior proteção às sementes contra as ações deletérias do acetaldeído, responsável por acelerar o processo de deterioração das sementes (ZHANG et al., 1994). Carvalho et al. (2014) relataram que as sementes de soja ficaram menos susceptíveis à ação deletéria com a maior atividade da enzima ADH. Os autores constataram que houve maior expressão da enzima ADH em sementes de cultivares de soja que apresentaram maior qualidade fisiológica. Em estudos realizados com sementes de pimenta por Vidigal et al. (2009) foi verificado que sementes com maior potencial germinativo apresentaram maior atividade das enzimas ADH. Em sementes de tabaco, Silva (2014) observou similaridade entre o perfil enzimático da enzima ADH e os resultados da qualidade fisiológica das sementes, o que pode auxiliar na distinção de lotes de diferentes níveis de qualidade.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório Central de Análises de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras.

As sementes de tabaco utilizadas no trabalho foram cedidas pela empresa Souza Cruz / Brishtan American Tobacco S.A., provindas de cultivares produzidas em maior escala pela empresa, sendo nove lotes pertencentes à cultivar CSC 447, grupo varietal Virgínia, safras 14/14 e 14/15; e nove lotes pertencentes à cultivar BAT 2101, grupo varietal Burley, safras 13/14 e 14/15. Esses lotes foram selecionados, preliminarmente, por apresentarem porcentagem de germinação superior a 90%.

3.1 Caracterização do perfil dos lotes de sementes de tabaco

A caracterização do perfil dos lotes de sementes de tabaco foi feita, por meio da análise dos dados obtidos no teste de germinação, primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação e coeficiente de uniformidade da germinação.

O grau de umidade foi determinado pelo método de estufa a 105°C por 24 horas (BRASIL, 2009), utilizando-se duas repetições de 0,1g de sementes. Os resultados foram expressos em porcentagem do teor de água (base úmida).

O Teste de Germinação foi realizado, utilizando-se quatro repetições de 100 sementes, semeadas em substrato papel mata-borrão, em caixas acrílicas transparentes do tipo gerbox. O substrato foi umedecido com solução de KNO_3 0,2% em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco. As sementes foram mantidas em BOD com temperatura regulada a 20-30°C e fotoperíodo de oito horas.

Para a determinação da Primeira Contagem de Germinação, a contagem do número de plântulas normais foi realizada aos sete dias após a semeadura, juntamente com o teste de germinação. Os resultados foram expressos pela porcentagem de plântulas normais.

O Índice de Velocidade de Germinação (IVG) foi obtido, por meio de avaliações diárias, no mesmo horário, a partir da protrusão da radícula. O cálculo do IVG foi realizado utilizando-se fórmula proposta por Maguire (1962).

O Coeficiente de Uniformidade de Germinação (CUG) foi obtido por meio de contagens diárias de plântulas germinadas. O cálculo foi realizado utilizando-se a fórmula proposta por Heydecker (1973).

$$CUG = \frac{\sum_{i=1}^k n_i}{\sum_{i=1}^k (\bar{D} - D_i)^2 n_i}$$

$$\text{sendo: } \bar{D} = \frac{100}{CRG} = \bar{t}; \quad CRG = \frac{\sum_{i=1}^k n_i}{\sum_{i=1}^k D_i n_i} \cdot 100 \text{ (Kotowski, 1926)}$$

Em que: n_i : número de sementes germinadas no i -ésimo dia.

D_i : número de dias contados da instalação do experimento até o dia da leitura (i).

k : último dia da observação.

Ao final do teste de germinação, 16 dias após a semeadura, foram avaliadas as porcentagens de germinação, de plântulas anormais infeccionadas e deterioradas e de sementes mortas (BRASIL, 2009).

3.2 Testes para avaliação do potencial fisiológico de sementes de tabaco

Após o repouso das sementes em câmara seca e fria para equilíbrio da umidade, as sementes dos diferentes lotes foram mantidas a 25°C, por 24 horas e submetidas a diversos testes e metodologias para avaliação do vigor e viabilidade:

- a) A avaliação da **Germinação em Diferentes Temperaturas** foi realizada em mesa termogradiante SEED PROCESSING HOLLAND[®]. Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes para cada lote. A semeadura foi realizada em caixas acrílicas do tipo gerbox, sobre substrato papel mata borrão, umedecido com solução de KNO₃ (0,2%) em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco. As caixas de gerbox com sementes foram mantidas em mesa termogradiante, regulada nas temperaturas variando de 20°C a 35°C, com fotoperíodo de oito horas. Nesta amplitude, determinaram-se cinco temperaturas médias (22°C, 25°C, 28°C, 31°C e 34°C) para a avaliação da Germinação, Primeira Contagem de Germinação e Índice de Velocidade de Germinação. A **Primeira Contagem da Germinação** foi realizada, aos sete dias após a semeadura, computando-se o número de plântulas normais. Ao final do teste, 16 dias após a semeadura, foi avaliada a porcentagem de plântulas normais, anormais infeccionadas e anormais deterioradas e sementes não germinadas. As sementes remanescentes foram imersas em solução de tetrazólio 1,0% por 24 horas e classificadas como viáveis ou mortas. Foram realizadas avaliações diárias para a determinação do Índice de **Velocidade de Germinação (IVG)**, a partir da protrusão da radícula (MAGUIRE, 1962).
- b) O **Teste de Emergência** sob Condições Controladas foi conduzido em um sistema-float adaptado para a realização do teste em B.O.D. As sementes foram semeadas em substrato Carolina Padrão[®] em células individuais de 1,5 cm de diâmetro de bandejas acrílicas. As bandejas foram mantidas sobre uma lâmina de água de, aproximadamente, um centímetro. A avaliação da emergência foi

realizada em três diferentes temperaturas: ótima (25°C), subótima (20°C) e supraótima (30°C), utilizando-se quatro repetições de 96 sementes por lote. As avaliações foram realizadas aos 7, 14 e 21 dias e os resultados foram expressos em porcentagem de emergência de plântulas.

Para a determinação do Índice de Velocidade de Emergência (IVE) e Coeficiente de Uniformidade de Emergência (CUG) foram realizadas avaliações diárias de emergência das plântulas que continham o primeiro par de folhas, até a sua estabilização. Os resultados foram obtidos utilizando-se fórmulas propostas por Heydecker (1973) e Maguire (1962).

- c) Para o **Teste de Condutividade Elétrica**, foram avaliados quatro períodos de embebição das sementes de tabaco. Quatro repetições de 0,01 gramas de semente de cada lote foram colocadas em recipiente contendo 6,0mL de água deionizada e mantidas em BOD a 25°C. A leitura da condutividade foi realizada, após os períodos de 6, 12, 18 e 24 horas de embebição, utilizando-se dois diferentes condutivímetros: SAD 9000[®] (método adaptado de avaliação individual para massa) e MS TECNOPON[®] (método utilizado para avaliação em massa). Os resultados foram expressos em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$.
- d) Para o **Teste de Envelhecimento Artificial**, foram testados os períodos de 12, 24 e 72 horas de envelhecimento artificial, em um método de envelhecimento modificado, para sementes de tabaco. As sementes de cada lote foram, previamente, pesadas, 0,5g, e foram dispostas em telas de nylon, em caixas tipo gerbox adaptadas com tela inox, contendo 40 mL de água destilada. Para evitar a condensação da água e gotejamento sobre as sementes, foi colocado

papel mata-borrão na interface da tampa de caixa gerbox. As caixas foram colocadas em BOD a 41°C pelo período pré-determinado. Após o período de incubação, foi realizado o teste de germinação, conforme as Regras de Análises de Sementes (BRASIL, 2009), determinando-se a porcentagem de plântulas normais aos 7, 10 e 16 dias. Para a determinação do índice de velocidade de germinação, foram realizadas contagens diárias a partir da protrusão da radícula (MAGUIRE, 1962).

- e) Para o Teste de Tetrazólio, primeiramente, foram testadas diferentes metodologias de pré-tratamento das sementes para a realização do teste:
- sementes de tabaco, cultivar CSC 416 – Virginia, foram embebidas diretamente em solução de KNO_3 0,2%, por 0, 1, 3 e 6 horas a 40°C. Em seguida, as sementes foram lavadas e imersas em solução de tetrazólio;
 - sementes de tabaco de dois cultivares, CSC 447 – Virginia e BAT 2101 – Burley, foram colocadas diretamente em solução de hipoclorito de sódio, nas concentrações 0%, 1,75% e 3,5%, por 10 minutos em agitação constante. Após este período, as sementes foram lavadas e imersas em solução de tetrazólio.

Após o pré-tratamento, as sementes foram colocadas em solução de tetrazólio 1,0% a 40 °C (escuro) por 6, 12, 18 e 24 horas. Para a determinação da viabilidade, as sementes foram seccionadas manualmente e analisadas em microscópio eletrônico sendo separadas, de acordo com a viabilidade, em viáveis (coloração rósea ou vermelha) e inviáveis (coloração vinho ou descolorida).

A metodologia que possibilitou a detecção de maior número de sementes viáveis, em menor tempo, foi aplicada para a distinção da viabilidade das sementes dos diferentes lotes de cada cultivar.

3.3 Análise de Isoenzimas de sementes de tabaco

Para a análise das enzimas catalase (CAT), esterase (EST), malato desidrogenase (MDH) e álcool desidrogenase (ADH), duas repetições de 0,5 gramas de sementes de cada cultivar foram maceradas na presença de PVP (Polivinil Pirrolidone) e nitrogênio líquido.

Para a extração, foi utilizado o tampão Tris HCL 0,2M pH 8,0 + (0,1% de mercaptoetanol), na proporção de 500µL por 100mg de sementes. O material foi homogeneizado em vortex e mantido *overnight*, em geladeira, seguido de centrifugação a 14.000 rpm por 30 minutos, a 4 °C.

A corrida eletroforética foi realizada 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 50 µL do sobrenadante das amostras no gel e a corrida eletroforética foi efetuada a 120 V por 5 horas.

Terminada a corrida, os géis foram revelados conforme Alfenas et al. (2006).

3.4 Análise Estatística

A análise estatística dos resultados dos testes, utilizados para a avaliação da qualidade fisiológica, foi realizada em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial, 9x3 (9 lotes e 3 temperaturas), para a Emergência em Condições Controladas; 9x3 (9 lotes e 3 períodos de envelhecimento artificial) para o Teste de Envelhecimento Artificial; 9x4 (9 lotes e 4 períodos de embebição para o Teste de Condutividade Elétrica; 9x5 (9

lotes e 5 temperaturas) para avaliação da Germinação em Diferentes Temperaturas.

Os dados, previamente submetidos aos testes de normalidade dos resíduos e homocedasticidade das variâncias, foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Para as variáveis plântulas anormais deformadas (AD) e infeccionadas (AI), sementes mortas (M) e coeficiente de uniformidade de germinação (CUG), referentes aos testes de Germinação, Germinação em Condições Controladas e Envelhecimento Artificial, foram realizadas as transformações dos dados por meio do $\text{arc sen } (x/100)^{0.5}$.

As análises foram realizadas utilizando-se o programa estatístico SISVAR® (FERREIRA, 2010).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização do perfil dos lotes de sementes de tabaco

O grau de umidade variou dois pontos percentuais, em relação aos lotes de ambas as cultivares, sendo 9,1 a 11,1% para a cultivar CSC 447 e 7,9 à 9,9% para a cultivar BAT 2101 (TABELA 1 e 2, respectivamente). A homogeneidade do grau de umidade entre os lotes é crucial para a consistência e padronização dos resultados (VIEIRA; KRZYZANOWSKI, 1999), pois, de acordo com Marcos-Filho (2005) e Souza et al. (2014), diferenças superiores a dois pontos percentuais, entre os lotes, podem causar interferências nas avaliações em razão das diferenças na atividade metabólica, velocidade de umedecimento e na intensidade de deterioração das sementes.

Analisando os dados, apresentados na Tabela 1A (anexo), referentes à cultivar CSC 447, verifica-se que houve diferença estatística entre as médias dos lotes para a germinação. Os lotes V6, V7 e V8 apresentaram médias de germinação inferiores aos demais. Nota-se que, mesmo que não diferindo estatisticamente dos demais, estes mesmos lotes tiveram maiores médias de sementes mortas, sugerindo que as sementes expressam maior intensidade de deterioração.

Conforme os dados apresentados, na Tabela 1A (anexo), observa-se que não houve diferença estatística entre as médias dos lotes em relação às variáveis primeira contagem de germinação, plântulas anormais deformadas, plântulas anormais infeccionadas, índice de velocidade de germinação (IVG) e coeficiente de uniformidade da germinação (CUG).

Tabela 1 - Médias de grau de umidade – GU (%), germinação – G (%), plântulas anormais deformadas – AD (%), plântulas anormais infeccionadas – AI (%), sementes mortas – M (%), plântulas normais na primeira contagem – PC (%), índice de velocidade de germinação – IVG e coeficiente de uniformidade de germinação – CUG para os lotes de sementes de tabaco da cultivar CSC 447 – Virginia.

Médias – CSC 447								
Lotes	GU	Germinação (%)				PC (%)	IVG	CUG
		G	AD	AI	M			
V1	11,1	97 a	1 a	0 a	2 a	90 a	18,91 a	2,08 a
V2	9,3	97 a	1 a	2 a	1 a	93 a	19,29 a	2,48 a
V3	10,5	97 a	0 a	1 a	2 a	90 a	19,45 a	1,65 a
V4	10,5	98 a	0 a	1 a	2 a	63 a	20,50 a	2,81 a
V5	10,7	96 a	1 a	1 a	3 a	93 a	19,01 a	2,84 a
V6	10,9	94 b	1 a	1 a	5 a	89 a	20,64 a	1,67 a
V7	9,1	94 b	2 a	0 a	5 a	89 a	19,77 a	1,71 a
V8	10,1	94 b	1 a	1 a	4 a	86 a	19,17 a	2,62 a
V9	9,1	97 a	0 a	1 a	2 a	71 a	17,42 a	2,15 a
CV (%)	-	2,09	26,6	22,5	28,4	19,2	5,4	11,7

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Quanto aos resultados referentes a primeira contagem de germinação (TABELA 1), verifica-se que houve uma variação de 30 pontos percentuais entre a maior e menor média dos lotes do cultivar CSC 447. Esta variação não foi detectada pelo teste de comparação de médias, pois o coeficiente de variação é considerado alto, gerando não confiabilidade aos resultados (PIMENTEL-GOMES, 2009).

Observando os dados apresentados, na Tabela 2A (anexo), em relação à cultivar BAT 2101, verificou-se que houve diferença estatística entre as médias dos lotes para germinação, primeira contagem de germinação, plântulas anormais infeccionadas, sementes mortas, índice de velocidade de germinação (IVG) e coeficiente de uniformidade de germinação (CUG).

Em relação aos dados referentes à germinação, apresentados na Tabela 2, observa-se que os lotes B2, B6, B7 e B8 apresentaram médias inferiores aos demais. É válido destacar que estes mesmos lotes apresentaram maiores médias

de sementes mortas, inferindo maior proporção de sementes deterioradas. Os lotes B2 e B8 apresentaram, também, médias superiores quanto a plântulas anormais infeccionadas, sendo relacionadas à presença de microrganismos nas sementes.

Tabela 2 - Médias de grau de umidade – GU (%), germinação – G (%), plântulas anormais deformadas – AD (%), plântulas anormais infeccionadas – AI (%), sementes mortas – M (%), plântulas normais na primeira contagem – PC (%), índice de velocidade de germinação – IVG e coeficiente de uniformidade de germinação – CUG para os lotes de sementes de tabaco da cultivar BAT 2101 – Burley.

Lotes	Médias – BAT 2101							
	GU	Germinação (%)				PC (%)	IVG	CUG
		G	AD	AI	M			
B1	7,9	98 a	1 a	0 a	1 a	62 a	16,44 b	1,71 b
B2	8,5	93 b	1 a	2 b	4 b	70 a	17,07 b	1,40 b
B3	9,0	96 a	0 a	1 a	3 b	22 b	16,32 b	3,24 a
B4	9,9	99 a	0 a	0 a	1 a	93 a	19,44 a	3,88 a
B5	8,9	97 a	2 a	0 a	1 a	61 a	17,21 b	1,71 b
B6	8,7	94 b	1 a	1 a	4 b	83 a	18,25 b	1,72 b
B7	9,2	95 b	1 a	0 a	4 b	90 a	20,97 a	2,22 b
B8	9,7	92 b	1 a	2 b	6 b	85 a	20,30 a	1,23 b
B9	8,4	96 a	1 a	0 a	3 b	83 a	18,05 b	1,82 b
CV (%)	-	2,3	25,0	18,9	20,9	29,70	6,67	11,20

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Segundo Santana e Ranal (2000), o coeficiente de uniformidade de germinação (CUG) estima a variabilidade de germinação de sementes, em torno do seu tempo médio e quanto maior o valor de CUG, mais concentrada no tempo será a germinação. Observa-se que as maiores médias de CUG foram atribuídas aos lotes B3 e B4, conferindo maior uniformidade de germinação. Em adição, observa-se que os lotes B4, B6 e B7 apresentaram médias superiores aos demais quanto ao índice de velocidade de germinação (IVG). De acordo com Clarke (2001), a germinação rápida e uniforme das sementes de tabaco são fatores críticos na produção das mudas de tabaco. Assim, comparando as médias de

germinação, IVG e CUG, considera-se que os lotes B2 e B6 são de baixa qualidade fisiológica e o lote B4 é o mais vigoroso.

Em uma análise dos resultados da primeira contagem de germinação, para a cultivar BAT 2101, (TABELA 2), verifica-se que houve separação dos lotes em dois grupos e o lote B3 foi inferior. Contudo, uma variação de 32 pontos percentuais é observada entre a maior e a menor média dos lotes considerados superiores, podendo ser atribuída ao valor do coeficiente de variação, considerado alto segundo classificação estabelecida por Pimentel-Gomes (2009).

Embora a primeira contagem de germinação seja considerada um teste indicativo de vigor, nota-se que, para ambas as cultivares CSC 447 e BAT 2101, averiguou-se uma baixa eficiência, para a estratificação de lotes de tabaco em diferentes níveis de vigor, corroborando com resultados encontrados por Carvalho e Novembre (2011) e Medeiros (2008) que, também, verificaram que o teste não é eficiente para a avaliação do vigor de sementes de tabaco.

É válido ressaltar que todos os lotes das cultivares CSC 447 e BAT 2101 apresentaram médias de germinação superiores a 80%, que é o mínimo estabelecido pelo padrão de comercialização de sementes de tabaco (BRASIL, 2009). Estes resultados evidenciam a importância dos testes de vigor, para o controle interno da qualidade de sementes, pois resultados superiores de germinação não indicam, necessariamente, que os lotes possuem alto vigor, uma vez que testes de germinação são conduzidos em condições ideais e artificiais e permitem a expressão do potencial máximo de germinação (MARCOS-FILHO, 1999).

4.2 Germinação em diferentes temperaturas

Conforme os dados apresentados, na Tabela 1C (anexo), referentes à cultivar CSC 447, verificou-se que houve interação significativa entre lotes e temperaturas para todas as variáveis analisadas.

Em uma análise geral dos resultados apresentados, na Tabela 3, verifica-se que, para as variáveis analisadas, houve maior variação entre as médias dos lotes a 34°C. Em relação aos resultados referentes à germinação, não houve variação entre as médias dos lotes nas temperaturas de 22°C, 25°C, 28°C e 31°C; além disso, observa-se que elas foram superiores a 80 pontos percentuais. Em contrapartida, foi possível estratificar os lotes, em diferentes níveis, à temperatura de 34°C, sendo as menores médias de germinação atribuídas aos lotes V3, V4 e V9. Nota-se que estes mesmos lotes apresentaram as maiores médias de sementes mortas, evidenciando que houve alta taxa de deterioração das sementes quando submetidas a 34°C. Vale ressaltar que, apesar de os lotes V6, V7 e V8 apresentarem as maiores médias de germinação a 34°C, em relação aos demais, estas médias estão bem abaixo do padrão estabelecido para a comercialização de sementes de tabaco, que é de 80 pontos percentuais. Verifica-se, portanto, que a germinação das sementes de tabaco da cultivar CSC 447 foi, extremamente, prejudicada à temperatura de 34°C, resultando em baixas porcentagens de plântulas normais e altas porcentagens de sementes mortas. Segundo Xu et al. (2010), o estresse por alta temperatura pode provocar danos à membrana plasmática das sementes, ocasionando a perda de sua função e a morte das sementes. Destaca-se, também, que houve alta incidência de plântulas anormais à temperatura de 34°C, enfatizando a premissa de que temperaturas elevadas intensificam o processo de deterioração das sementes pertencentes a cultivar CSC 447.

Tabela 3 - Médias de germinação – G (%), plântulas anormais – A (%) e sementes mortas – M (%) de lotes de sementes de tabaco expostos a gradiente de temperaturas variando de 20°C a 35°C para a cultivar CSC 447 – Virginia.

Lotes	Médias – CSC 447														
	G (%)					A (%)					M (%)				
	22°C	25°C	28°C	31°C	34°C	22°C	25°C	28°C	31°C	34°C	22°C	25°C	28°C	31°C	34°C
V1	93 Aa	95 Aa	98 Aa	95 Aa	32 Bb	5 Ab	2 Aa	1 Aa	3 Ab	19 Bc	2 Aa	3 Ba	1 Aa	2 Aa	44 Bb
V2	97 Aa	99 Aa	99 Aa	93 Aa	29 Bb	2 Aa	0 Aa	0 Aa	2 Aa	10 Ab	1 Aa	1 Aa	1 Aa	3 Aa	60 Cb
V3	96 Aa	99 Aa	96 Aa	93 Aa	16 Db	2 Aa	0 Aa	1 Aa	2 Aa	12 Ab	2 Aa	1 Aa	3 Ba	5 Ba	63 Cb
V4	95 Aa	99 Aa	97 Aa	96 Aa	26 Cb	4 Ab	0 Aa	2 Aa	2 Aa	12 Ac	1 Aa	1 Aa	1 Aa	2 Aa	58 Cb
V5	89 Ab	97 Aa	98 Aa	95 Aa	35 Bc	6 Ab	0 Aa	1 Aa	3 Ab	16 Bc	5 Bb	3 Bb	1 Aa	2 Aa	44 Bc
V6	92 Aa	96 Aa	95 Aa	91 Ab	43 Ab	3 Aa	0 Aa	2 Aa	3 Aa	20 Bb	5 Ba	4 Ba	3 Ba	6 Ba	32 Ab
V7	89 Aa	93 Aa	95 Aa	97 Aa	48 Ab	4 Ab	2 Aa	2 Aa	1 Aa	16 Bc	7 Ba	5 Ba	3 Ba	2 Aa	32 Ab
V8	91 Aa	96 Aa	94 Aa	96 Aa	48 Ab	5 Ab	0 Aa	2 Aa	2 Ab	18 Bc	4 Ba	4 Ba	4 Ba	2 Aa	32 Ab
V9	94 Aa	98 Aa	98 Aa	92 Aa	24 Cb	4 Ab	1 Aa	1 Aa	4 Ab	18 Bc	2 Aa	1 Aa	1 Aa	4 Ba	51 Bb
CV (%)	5,34					56,12					32,22				

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

Tabela 4 - Médias de sementes dormentes viáveis – DV (%), primeira contagem de germinação – PC (%) e índice de velocidade de germinação - IVG de lotes de sementes de tabaco expostos a gradiente de temperaturas variando de 20°C a 35°C para a cultivar CSC 447 – Virginia.

Lotes	Médias – CSC 447														
	DV (%)					PC (%)					IVG				
	22°C	25°C	28°C	31°C	34°C	22°C	25°C	28°C	31°C	34°C	22°C	25°C	28°C	31°C	34°C
V1	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Ba	5 Ba	82 Aa	87 Aa	95 Aa	76 Aa	15 Bb	10,79 Aa	11,16 Ba	11,59 Aa	8,03 Bb	3,60 Bc
V2	0 Aa	0 Aa	0 Aa	2 Ab	1 Cb	84 Aa	98 Aa	97 Aa	75 Aa	16 Bb	10,75 Ab	12,15 Aa	11,98 Aa	9,62 Ab	2,75 Bc
V3	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Ba	9 Ab	74 Aa	91 Aa	89 Aa	64 Aa	7 Cb	10,09 Aa	11,27 Ba	11,13 Aa	8,79 Ba	1,82 Bb
V4	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Ba	4 Bb	82 Aa	97 Aa	95 Aa	74 Aa	15 Bb	10,93 Aa	11,85 Ba	12,21 Aa	9,91 Aa	3,02 Bb
V5	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Ba	5 Bc	78 Aa	93 Aa	95 Aa	81 Aa	14 Bb	10,32 Aa	11,65 Ba	12,66 Aa	10,78 Aa	3,49 Bb
V6	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Ba	5 Bb	81 Aa	95 Aa	93 Aa	81 Aa	23 Ab	10,54 Aa	12,69 Aa	11,47 Aa	10,62 Aa	5,04 Ab
V7	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Ba	4 Bb	82 Aa	84 Aa	93 Aa	89 Aa	33 Ab	10,79 Aa	9,54 Ba	11,57 Aa	11,20 Aa	5,88 Ab
V8	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Ba	2 Cb	72 Aa	93 Aa	91 Aa	84 Aa	25 Ab	10,14 Aa	10,79 Ba	11,54 Aa	11,13 Aa	5,21 Ab
V9	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Ba	7 Ab	69 Ab	93 Aa	95 Aa	74 Ab	9 Cc	9,95 Ab	13,86 Aa	12,22 Aa	10,23 Ab	2,82 Bc
CV (%)	95,85					12,40					14,71				

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

Analisando os resultados apresentados, na Tabela 4, verifica-se que algumas sementes remanescentes apresentaram dormência a 34°C, sendo as maiores médias de sementes dormentes viáveis atribuídas aos lotes V3 e V9. De acordo com Khan (1981), temperaturas elevadas durante o processo de germinação das sementes podem induzi-las a um tipo de dormência secundária, a termodormência. No entanto, este número é inferior, comparado ao número de sementes mortas, concluindo que temperaturas elevadas, principalmente, intensificam o processo de deterioração das sementes de tabaco da cultivar CSC 447.

Em relação à avaliação da primeira contagem de germinação para a cultivar CSC 447, (TABELA 4), houve diferenciação dos lotes somente à temperatura de 34°C. Para os lotes V6, V7 e V8 os resultados foram superiores e, para os lotes V3 e V9, os resultados foram inferiores. Estes resultados sugerem que os lotes V6, V7 e V8 germinaram mais rapidamente que os demais lotes a 34°C, pois, segundo Bhering et al. (2000), este teste avalia, indiretamente, a velocidade de germinação das sementes.

Quanto aos resultados obtidos no IVG, para a cultivar CSC 447 (TABELA 4), verifica-se que as respostas dos lotes foram bastante variáveis em relação às temperaturas de 25°C, 31°C e 34°C. Observa-se que não houve diferença estatística entre as médias para as temperaturas de 22°C e 28°C. Em adição, nota-se que a 34°C, o IVG foi bastante reduzido para todos os lotes.

A faixa de temperatura ótima, para germinação de sementes de tabaco de a cultivar CSC 447, foi de 22°C a 31°C; temperaturas superiores à ótima para a germinação promovem a desnaturação de proteínas essenciais ao processo germinativo das sementes (ELANE et al., 2008). Portanto, fica evidente que temperaturas elevadas prejudicam tanto a porcentagem de germinação quanto a velocidade de germinação das sementes da cultivar CSC 447. Vale ressaltar, também, que o teste de germinação em mesa termograde não foi eficiente

para diferenciar em níveis de vigor os lotes de sementes de tabaco de a cultivar CSC 447.

Diversos autores, também, verificaram a interferência de altas temperaturas no processo germinativo; Pereira et al. (2007) constataram redução na germinação de sementes de cenoura a 36°C; Pinheiro et al. (2014) concluíram que temperaturas acima de 30°C afetam, negativamente, a porcentagem e a velocidade de germinação de sementes de cebola; Nascimento e Pereira (2007) observaram que, para a maioria das cultivares de alface, as sementes não germinaram em temperaturas superiores a 30°C; sementes de rabanete (STEINER et al., 2009), tomate (FERREIRA et al., 2013) e crambe (PILAU et al., 2012), também, tiveram porcentagem e velocidade de germinação prejudicadas por causa de altas temperaturas.

Conforme os dados apresentados, na Tabela 1D (anexo), referentes à cultivar BAT 2101, verificou-se que houve interação significativa entre os lotes e temperaturas para todas as variáveis avaliadas. Em uma análise dos resultados referentes às médias de germinação, observa-se que as respostas dos lotes foram variáveis a temperaturas de 22°C e 34°C (TABELA 5). Nota-se que, à temperatura de 34°C, houve maior estratificação dos lotes, em diferentes níveis de vigor, sendo as maiores médias de germinação atribuídas aos lotes B1, B2 e B5. Observa-se que os lotes B4, B6, B8 e B9, além de serem caracterizados como inferiores em relação à germinação, apresentaram maiores médias de plântulas anormais e sementes mortas. Destaca-se que houve maior intensidade de deterioração para as sementes destes lotes quando submetidos a temperaturas elevadas de germinação.

Para a cultivar BAT 2101, observa-se que as sementes remanescentes não apresentaram termodormência quando submetidas a temperaturas altas (TABELA 6).

Observando os resultados obtidos, no teste de primeira contagem de germinação (TABELA 6), verifica-se que houve maior variação entre as médias dos lotes a 34°C e as menores médias foram atribuídas aos lotes B3, B4, B6, B7 e B9. Em relação à temperatura de 31°C, o lote B3 foi inferior aos demais.

O índice de velocidade de germinação – IVG - possibilitou a diferenciação dos lotes nas temperaturas de 28°C, 31°C e 34°C. Nota-se uma mesma tendência em relação aos lotes B1 e B5, destacando-se como sendo superiores em ampla faixa de temperatura. Os lotes B3, B4, B6 e B7 apresentaram médias inferiores nas três temperaturas.

Em uma análise geral dos resultados, observa-se que a cultivar BAT 2101, além de expressar maior tolerância a temperaturas elevadas, apresentou resultados mais consistentes que a cultivar CSC 447. Em pesquisas com sementes de alface (NASCIMENTO; PEREIRA, 2007) e tomate (OLIVEIRA; BRUNO; ALVES, 2001), os autores, também, relataram que houve efeito do genótipo na avaliação da germinação das sementes em diferentes temperaturas.

Ao comparar os resultados, obtidos no teste germinação a 34°C com os resultados do teste de germinação em condições ideais, presume-se que os testes de germinação, primeira contagem de germinação e IVG, em mesa termogradiante, são eficientes na diferenciação dos lotes de sementes de tabaco da cultivar BAT 2101, uma vez que possibilitaram a separação dos lotes em diferentes níveis de vigor. Conseqüentemente, os lotes B1 e B5 são classificados como sendo os mais vigorosos e os lotes B3, B4, B6, B7 e B9, os menos vigorosos.

Vale ressaltar, também, que a faixa ideal de temperatura para a germinação de sementes de tabaco das cultivares CSC 447 e BAT 2101 é de 22°C a 31°C. Este resultado corrobora com Mohapatra e Sugs (1989), que, em estudos com 22 cultivares de tabaco em mesa termogradiante, determinaram que

a temperatura média ideal para todas as cultivares de tabaco foi de 24,6°C e o intervalo de temperatura ótima variou de 21°C a 32°C.

Tabela 5 - Médias de germinação – G (%), plântulas anormais – A (%) e sementes mortas – M (%) de lotes de sementes de tabaco expostos a gradiente de temperaturas variando de 20°C a 35°C para a cultivar BAT 2101 – Buley.

Lotes	Médias – BAT 2101														
	G (%)					A (%)					M (%)				
	22°C	25°C	28°C	31°C	34°C	22°C	25°C	28°C	31°C	34°C	22°C	25°C	28°C	31°C	34°C
B1	94 Ab	99 Aa	98 Aa	98 Aa	92 Ab	3 Ba	1 Aa	1 Aa	1 Aa	7 Ab	3 Aa	0 Aa	1 Aa	1 Aa	1 Aa
B2	94 Aa	95 Aa	98 Aa	96 Aa	86 Ab	4 Bb	1 Aa	1 Aa	0 Aa	11 Ac	2 Aa	4 Ba	1 Aa	4 Ba	3 Aa
B3	93 Aa	99 Aa	98 Aa	96 Aa	80 Bb	4 Bb	1 Aa	0 Aa	1 Aa	17 Bc	3 Aa	0 Aa	2 Aa	3 Ba	3 Aa
B4	99 Aa	99 Aa	100 Aa	99 Aa	66 Cb	1 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	22 Bb	0 Aa	1 Aa	0 Aa	1 Aa	10 Bb
B5	98 Aa	99 Aa	98 Aa	100 Aa	90 Ab	1 Aa	1 Aa	0 Aa	0 Aa	6 Ab	1 Aa	0 Aa	2 Ab	0 Aa	4 Ab
B6	94 Aa	99 Aa	94 Aa	94 Aa	79 Bb	4 Bb	0 Aa	2 Aa	3 Ab	13 Bc	2 Aa	2 Aa	4 Aa	3 Ba	8 Bb
B7	96 Aa	94 Aa	96 Aa	96 Aa	82 Bb	1 Aa	2 Aa	1 Aa	2 Aa	14 Bb	3 Aa	4 Ba	3 Aa	2 Ba	4 Aa
B8	86 Bb	94 Aa	92 Aa	95 Aa	78 Bc	5 Ba	0 Aa	2 Aa	2 Aa	14 Bb	9 Ba	6 Ba	6 Ba	3 Ba	8 Ba
B9	94 Aa	98 Aa	97 Aa	96 Aa	76 Bb	4 Bb	1 Aa	2 Aa	2 Aa	17 Bc	2 Aa	1 Aa	1 Aa	2 Ba	7 Ba
CV (%)	4,07					63,40					59,14				

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

Tabela 6 - Médias de sementes dormentes viáveis – DV (%), primeira contagem de germinação – PC (%) e índice de velocidade de germinação - IVG de lotes de sementes de tabaco expostos a gradiente de temperaturas variando de 20°C a 35°C para a cultivar BAT 2101 – Burley.

Lotes	Médias – BAT 2101														
	DV (%)					PC (%)					IVG				
	22°C	25°C	28°C	31°C	34°C	22°C	25°C	28°C	31°C	34°C	22°C	25°C	28°C	31°C	34°C
B1	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	89 Aa	97 Aa	97 Aa	96 Aa	88 Aa	11,88 Ab	14,67Aa	15,24 Aa	14,90 Ba	11,89 Ab
B2	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	78 Ab	93 Aa	93 Aa	92 Aa	65 Bb	11,18 Ab	12,84 Aa	12,83 Ba	12,39 Ca	9,78 Bb
B3	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	85 Aa	97 Aa	97 Aa	72 Bb	56 Cb	11,45 Ab	13,64 Aa	13,61 Ba	9,84 Dc	8,97 Cc
B4	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	2 Bb	89 Aa	98 Aa	98 Aa	84 Aa	30 Db	11,89 Ab	13,11 Aa	12,73 Ba	11,21 Cb	6,37 Dc
B5	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	93 Aa	98 Aa	98 Aa	99 Aa	82 Aa	12,43 Ac	14,47 Ab	14,74 Ab	16,14 Aa	11,21 Ac
B6	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	81 Aa	93 Aa	93 Aa	90 Aa	47 Cb	11,30 Ab	13,51 Aa	12,75 Ba	11,79 Cb	8,17 Cc
B7	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	89 Aa	91 Aa	91 Aa	87 Aa	58 Cb	12,23 Aa	12,88 Aa	12,51 Ba	12,33 Ca	9,22 Cb
B8	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	80 Ab	92 Aa	92 Aa	93 Aa	72 Bb	11,34 Ab	13,60 Aa	13,97 Aa	13,84 Ba	10,45 Bb
B9	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	0 Aa	87 Aa	92 Aa	92 Aa	89 Aa	54 Cb	11,36 Ab	13,60 Aa	13,33 Ba	12,56 Ca	10,06 Bb
CV (%)	42,50					6,80					8,62				

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

4.3 Emergência em Condições Controladas

Em uma análise dos dados apresentados, na Tabela 1E (anexo), referentes à cultivar CSC 447, observa-se que houve interação entre lotes e temperaturas para todas as variáveis analisadas. Em relação às médias dos lotes, apresentados na Tabela 7, quanto à avaliação, realizada aos 7 dias, verifica-se que somente à temperatura de 25°C houve estratificação dos lotes da cultivar CSC 447. Os lotes V6, V7, V8 e V9 tiveram médias inferiores aos demais. Quanto à avaliação realizada aos 14 dias, observa-se que a 20°C, os lotes V2 e V4 apresentaram médias inferiores e os lotes V6, V7 e V8 médias superiores. No entanto, à temperatura de 25°C, os lotes V6, V7 e V8 apresentaram médias inferiores aos demais. Aos 21 dias, avaliação final da emergência, os lotes V5 e V6 foram superiores aos demais à temperatura de 20°C; e, em relação à temperatura de 25°C, o lote V6 e V8 foi inferior aos demais.

Tabela 7 - Médias de plântulas emergidas aos 7 dias – E7 (%), 14 dias – E14 (%) e aos 21 dias – E21 (%) à 20°C, 25°C e 30°C para os lotes de sementes de tabaco da cultivar CSC 447 – Virginia.

Lotes	Médias – CSC 447								
	E7			E14			E21		
	20 °C	25°C	30°C	20 °C	25°C	30°C	20 °C	25°C	30°C
V1	0 Ab	94 Aa	91 Aa	82 Bb	96 Aa	96 Aa	92 Bb	96 Aa	97 Aa
V2	0 Ac	93 Aa	77 Ab	77 Cb	96 Aa	94 Aa	90 Bb	96 Aa	96 Aa
V3	0 Ab	91 Aa	93 Aa	83 Bb	98 Aa	97 Aa	91 Bb	99 Aa	97 Aa
V4	0 Ab	93 Aa	95 Aa	79 Cb	97 Aa	97 Aa	90 Bb	97 Aa	97Aa
V5	0 Ab	92 Aa	90 Aa	90 Ab	96 Aa	96 Aa	97 Aa	97 Aa	97 Aa
V6	0 Ac	70 Bb	87 Aa	94 Aa	88 Bb	93 Aa	96 Aa	92 Ba	94 Aa
V7	0 Ab	75 Ba	85 Aa	90 Aa	91Ba	94 Aa	93 Ba	94 Aa	95 Aa
V8	0 Ab	76 Ba	88 Aa	91 Aa	87 Bb	94 Aa	93 Ba	88 Cb	94 Aa
V9	0 Ac	75 Bb	92 Aa	83 Bb	94 Aa	95 Aa	93 Ba	95 Aa	96 Aa
CV (%)	7,87			3,75			2,58		

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

Nota-se que a resposta dos lotes do cultivar CSC 447 às diferentes temperaturas e épocas de avaliação foi extremamente variável. Esse mesmo comportamento foi verificado para o índice de velocidade de emergência – IVE (TABELA 8). A velocidade de emergência das plântulas é considerada importante estimador da performance das sementes em condições de campo ou casa de vegetação. Observa-se que, à temperatura de 20°C, os lotes V5, V6, V7 e V8 emergiram mais rapidamente que os demais lotes e, à temperatura de 25°C, os lotes V6, V7 e V8 tiveram menor velocidade de emergência.

Tabela 8 - Médias de índice de velocidade de emergência – IVE e coeficiente de uniformidade de germinação – CUG a temperaturas de 20°C, 25°C e 30°C para os lotes de sementes de tabaco de a cultivar CSC 447 – Virginia.

Médias – CSC 447						
Lotes	IVE			CUG		
	20 °C	25°C	30°C	20 °C	25°C	30°C
V1	8,45 Bb	16,35 Aa	16,47 Aa	0,13 Bc	1,34 Ba	0,38 Cb
V2	7,58 Bb	15,21 Aa	15,16 Aa	0,15 Ba	0,83 Cb	0,24 Ca
V3	8,28 Bc	15,05 Ab	16,60 Aa	0,26 Bc	0,59 Db	1,20 Ba
V4	7,60 Bb	15,64 Aa	17,06 Aa	0,20 Bb	1,97 Aa	2,09 Aa
V5	8,82 Ab	14,85 Aa	16,17 Aa	0,27 Ba	0,36 Da	0,34 Ca
V6	9,56 Ac	13,47 Bb	16,06 Aa	0,57 Ab	0,15 Ea	0,27 Ca
V7	8,70 Ac	14,02 Bb	16,10 Aa	0,34 Aa	0,24 Ea	0,31 Ca
V8	9,41 Ac	14,06 Bb	16,29 Aa	0,44 Ab	0,30 Db	0,90 Ba
V9	8,40 Bc	14,94 Ab	17,03 Aa	0,18 Bb	0,37 Db	0,92 Ba
CV (%)	3,66			20,50		

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

Quanto ao coeficiente de uniformidade de germinação – CUG, (TABELA 8), houve estratificação dos lotes da cultivar CSC 447 em relação a todas as temperaturas avaliadas. Os lotes V6, V7 e V8 tiveram médias superiores à temperatura de 20°C e, conseqüentemente, emergência mais uniforme quando comparados aos demais. À temperatura de 25°C, observa-se maior diferenciação dos lotes e, para os lotes V6 e V7, os resultados foram inferiores e, para o lote

V4, foi superior. Quanto à temperatura de 30°C, observa-se que os lotes V1, V2, V5, V6 e V7 apresentaram médias inferiores e o lote V4 apresentou média superior. No entanto, apesar do CUG ter estratificado os lotes em vários grupos, pode-se prever que não é um teste eficiente na classificação dos lotes da cultivar CSC 447, em diferentes níveis de vigor, pois se verifica que o coeficiente de variação foi maior que 20, conferindo baixa precisão dos resultados (PIMENTEL-GOMES, 2009).

Em uma análise dos dados representados, na Tabela 1F (anexo), referentes à cultivar BAT 2101, verifica-se que houve interação entre os lotes e temperaturas para todas as variáveis representadas. Observando os dados das médias dos lotes, apresentados na Tabela 9, verifica-se que, aos 7 dias de avaliação, houve maior separação dos lotes, em diferentes níveis a 25°C, sendo os melhores resultados atribuídos aos lotes B3 e B5. A 30°C, os lotes B1, B5 e B9 apresentaram médias superiores.

Tabela 9 - Médias de plântulas emergidas aos 7 dias – E7 (%), 14 dias – E14 (%) e aos 21 dias – E21 (%) a 20°C, 25°C e 30°C para os lotes de sementes de tabaco da cultivar BAT 2101.

Lotes	Médias – BAT 2101								
	E7			E14			E21		
	20 °C	25 °C	30 °C	20 °C	25 °C	30 °C	20 °C	25 °C	30 °C
B1	0 Ab	82 Ba	85Aa	94 Aa	90 Ba	93 Aa	96 Aa	91 Cb	95 Aa
B2	0 Ab	79 Ba	76 Ba	87 Bb	93 Aa	92 Aa	90 Bb	93 Ba	95 Aa
B3	0 Ab	86 Aa	76 Ba	88 Bb	96 Aa	93 Aa	91 Bb	96 Aa	94 Aa
B4	0 Ab	79 Ba	74 Ba	96 Aa	93 Aa	95 Aa	98 Aa	93 Bb	97 Aa
B5	0 Ab	95 Aa	85 Aa	91 Ab	98 Aa	93 Ab	94 Ab	98 Aa	93 Ab
B6	0 Ab	79 Ba	74 Ba	93 Aa	96 Aa	91 Aa	95 Aa	96 Aa	93 Aa
B7	0 Ab	76 Ba	68 Ba	95 Aa	95 Aa	90 Ab	96 Aa	95 Ba	92 Aa
B8	0 Ac	64 Cb	77 Ba	86 Bb	85 Bb	91 Aa	91 Ba	86 Db	92 Aa
B9	0 Ac	71 Cb	83 Aa	97 Aa	97 Bb	91 Ab	97 Aa	88 Dc	93 Ab
CV (%)	7,01			3,17			2,85		

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

Aos 14 dias de avaliação, nota-se que há tendência de igualação da emergência dos lotes; verifica-se diferenciação dos lotes em dois níveis de vigor, nas temperaturas de 20°C e 25°C, conferindo maiores médias para os lotes B4, B5, B6 e B7. Quanto à avaliação, realizada aos 21 dias, observa-se que à temperatura de 20°C, as menores médias foram observadas para os lotes B2, B3 e B8. À temperatura de 25°C, houve estratificação dos lotes em quatro níveis de vigor; os lotes B3, B5 e B6 se destacaram em relação aos demais e os lotes B1, B8 e B9 apresentaram as médias inferiores.

Nota-se que os lotes da cultivar BAT 2101, também, apresentaram respostas variáveis de emergência de plântulas em relação às diferentes temperaturas e épocas de avaliação. Este mesmo comportamento foi observado, também, para o índice de velocidade de emergência das plântulas – IVE e coeficiente de uniformidade de germinação – CUG (TABELA 10). Em uma análise dos dados referentes ao IVE, verifica-se que houve diferença entre as médias dos lotes em todas as temperaturas e que há uma maior estratificação dos lotes à temperatura de 25°C e, para o lote B5, observa-se maior velocidade de germinação em relação aos demais; os lotes B4, B8 e B9 apresentaram médias inferiores de velocidade de germinação. Em relação às temperaturas de 20°C e 30°C, observa-se que houve diferença de comportamento entre os lotes avaliados e, para o lote B5, os resultados, também, foram superiores, considerando-o como lote de melhor qualidade. Quanto ao CUG, observa-se que há alta variação dos resultados; à temperatura de 20°C, o lote B9 apresentou média superior aos demais. O lote B5 teve resultados superiores de uniformidade de germinação para as temperaturas de 25°C e 30°C. Nota-se que há uma inconsistência dos resultados obtidos nesta análise, sugerindo-se, mais uma vez, que o coeficiente de uniformidade de germinação apresenta-se como sendo de baixa precisão para a avaliação do vigor de sementes de tabaco das cultivares utilizadas no estudo.

Tabela 10 - Médias de índice de velocidade de emergência – IVE e coeficiente de uniformidade de germinação – CUG a temperaturas de 20°C, 25°C e 30°C para os lotes de sementes de tabaco de a cultivar BAT 2101 – Burley.

Médias – BAT 2101						
Lotes	IVE			CUG		
	20 °C	25°C	30°C	20 °C	25°C	30°C
B1	9,71 Ac	13,97 Bb	16,05 Aa	0,41 Ca	0,32 Da	0,22 Ba
B2	8,97 Bb	14,21 Ba	14,65 Ba	0,77 Ba	0,58 Ca	0,74 Aa
B3	9,21 Bc	14,21 Bb	15,39 Aa	0,81 Ba	0,98 Ba	0,33 Bb
B4	9,86 Ac	13,50 Cb	14,68 Ba	0,62 Bb	0,99 Ba	0,21 Bc
B5	9,70 Ab	15,78 Aa	16,31 Aa	0,27 Cc	2,68 Aa	0,60 Ab
B6	9,69 Ab	14,21 Ba	14,39 Ba	0,82 Ba	0,79 Ba	0,19 Bb
B7	9,65 Ab	14,07 Ba	14,16 Ba	0,57 Ba	0,67 Ca	0,15 Bb
B8	8,90 Bc	12,57 Cb	15,88 Aa	0,20 Cb	0,57 Ca	0,15 Bb
B9	10,18 Ac	12,67 Cb	15,93 Aa	2,36 Aa	0,53 Cb	0,32 Bb
CV (%)	2,89			20,50		

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

Em uma análise geral dos resultados obtidos, no teste de emergência, para as duas cultivares, CSC 447 e BAT 2101, observa-se que a temperatura supraótima não foi eficiente para identificar diferentes níveis de qualidade dos lotes avaliados. Infere-se, portanto, que a emergência em temperatura de 30°C não se constitui em estresse suficiente para classificar os lotes de sementes de tabaco em níveis de vigor. No entanto, sugere-se que a temperatura de 30°C é ideal para a produção de mudas em sistema-float, pois apresentou médias superiores a 80 pontos percentuais em relação às avaliações realizadas aos 21 dias. Além disso, nesta temperatura, verificam-se, também, médias superiores em relação ao IVE.

Comparando os resultados, obtidos nos testes de emergência e germinação, para os cultivares CSC 447 e BAT 2101, nota-se que as respostas obtidas na avaliação, aos 21 dias do teste de emergência, conduzido a 25°C foram mais semelhantes às obtidas no teste de germinação, caracterizando os lotes V6, V7 e V8 da cultivar CSC 447 como sendo de qualidade inferior e os

lotes V1, V2, V3, V4 e V5 de qualidade superior; para a cultivar BAT 2101, caracterizam-se os lotes B8 e B9 como sendo de qualidade inferior e o lote B5 de melhor qualidade.

De modo geral, testes baseados no crescimento de plântulas, embora sejam simples de serem conduzidos, são considerados menos sensíveis em detectar diferenças de vigor quando comparados aos testes que são baseados na integridade das membranas e tolerância a estresse (NAKAGAWA, 1999).

4.4 Condutividade elétrica

Em uma análise dos resultados apresentados, na Tabela 1G (anexo), quando foram testados quatro diferentes tempos de embebição, 6, 12, 18 e 24 horas à temperatura de 25°C, verifica-se que as leituras da condutividade elétrica, tanto pelo condutivímetro SAD 9000[®] adaptado quanto ao condutivímetro MS TECNOPON[®], referentes aos lotes das cultivares CSC 447 e BAT 2101, não variaram em relação aos diferentes períodos de embebição.

Tradicionalmente, para a maioria das espécies, teste de condutividade elétrica tem sido conduzido utilizando-se o período de 24 horas de embebição. No entanto, como não houve interação estatisticamente significativa entre os lotes e tempos de embebição, para as cultivares CSC 447 e BAT 2101, verifica-se que as leituras da condutividade elétrica mantiveram mesma tendência, durante todos os períodos de embebição, concluindo que é possível a realização do teste utilizando-se o período de seis horas. Este resultado é considerável, pois a obtenção de resultados mais rápidos permite a agilidade, na tomada de decisões de empresas sementeiras, principalmente, no que se refere às operações de processamento e comercialização das sementes.

Resultados similares foram obtidos em pesquisas realizadas com sementes de outras espécies de Solanaceas; Vidigal et al. (2008) determinaram que o período de uma hora embebição é eficiente na avaliação do vigor de

sementes de pimenta; para sementes de tomate, o período de embebição foi reduzido para seis horas (SÁ, 1999) e, para sementes de pimentão, para duas horas (OLIVEIRA; NOVENBRE, 2005).

Em uma análise dos dados apresentados, na Tabela 11, referentes às médias de condutividade elétrica em relação aos dois condutivímetros, SAD 9000[®] e MS TECNOPON[®], para as duas cultivares, CSC 447 e BAT 2101, verifica-se que o coeficiente de variação para o método SAD 9000[®] é considerado alto, segundo classificação proposta por Pimentel-Gomes (2009). Este resultado pode ser atribuído à grande variação observada entre as repetições em decorrência da baixa eficiência do condutivímetro SAD 9000[®] para leituras de condutividade elétrica. Dessa forma, infere-se que o condutivímetro MS TECNOPON[®] é mais preciso na avaliação da condutividade elétrica de sementes de tabaco em relação ao condutivímetro SAD 9000[®].

Tabela 11 - Médias da condutividade elétrica – CE ($\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$) mensuradas utilizando-se dois tipos de condutivímetro, SAD 9000[®] - SAD e MS TECNOPON[®] - MS, e quatro períodos de embebição, 6, 12, 18 e 24 horas, de lotes de sementes de tabaco das cultivares CSC 447 – Virginia e BAT 2101 – Burley.

Lotes	Médias - CSC 447		Lotes	Médias – BAT 2101	
	IND	MS		IND	MS
V1	2660 b	2434 e	B1	3151 b	1891 b
V2	3491 c	1414 a	B2	2095 a	1541 a
V3	2199 a	1374 a	B3	3617 b	1624 a
V4	3233 c	1358 a	B4	2859 b	1528 a
V5	2620 b	1347 a	B5	2886 b	1778 b
V6	2167 a	1813 c	B6	2691 b	1914 b
V7	3327 c	1663 b	B7	2552 b	1767 b
V8	1606 a	2053 d	B8	2422 b	1526 a
V9	1646 a	1894 c	B9	1365 a	1572 a
CV (%)	41,71	12,46	CV (%)	49,46	12,98

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Em uma análise dos resultados das leituras de condutividade referentes à cultivar CSC 447, condutividade em massa (TABELA 11), verifica-se que os lotes V1, V6, V8 e V9 apresentaram médias superiores e os lotes V2, V3, V4 e V5 médias inferiores. Estes resultados são semelhantes às informações obtidas nos testes de germinação e emergência a 25°C, independente do período de avaliação. O teste de condutividade elétrica tem como princípio a medição da quantidade de exsudatos lixiviados para o meio externo, durante período de embebição das sementes, estando diretamente relacionado com a integridade das membranas celulares (VIDIGAL et al., 2008). Dessa forma, presume-se que os lotes V2, V3, V4 e V5 são os mais vigorosos, pois quanto menor o valor da leitura da condutividade elétrica, maior a velocidade de restabelecimento da membrana plasmática e menor a lixiviação de eletrólitos para o meio externo (MILOSEVIC; VUJAKOVIK; KARAGIC, 2010).

Quanto à cultivar BAT 2101, observa-se que os lotes B1, B5, B6 e B7 apresentaram médias superiores e os lotes B2, B3, B4, B8 e B9 médias inferiores. Para esta cultivar, as leituras de condutividade proporcionaram resultados distintos das informações obtidas nos testes de germinação e emergência a 25°C.

Concluiu-se, portanto, que o teste de condutividade elétrica apresentou eficiência variável em função do cultivar de tabaco avaliado. Outras pesquisas, também, evidenciaram o efeito do genótipo, dentro de uma mesma espécie, sobre os resultados do teste; Panobianco (2000) referiu que as características do embrião de híbridos de tomate pode ser a causa da discrepância de resultados; em outros casos, este efeito foi relacionado às características do tegumento, que podem diferir entre genótipos de diversas espécies. Resultados semelhantes foram obtidos, em estudos conduzidos por Rodo (2002), utilizando sementes de cebola, nos quais verificou-se que o teste proporcionou resultados discrepantes às informações obtidas, no teste de emergência das plântulas, para uma das

cultivares analisadas, verificando, também, eficiência variável em relação à cultivar avaliada.

Em pesquisas com sementes de tabaco, Carvalho e Novembre (2011) utilizaram 0,5; 0,8 e 1,0 g de sementes embebidas, em 25 mL de água destilada, mantidas a 25°C por 2, 4, 6, 8 e 24 horas e não encontraram resultados consistentes para a cultivar 439; concluíram que o teste de condutividade elétrica não é adequado para estimar o vigor das sementes de tabaco.

4.5 Envelhecimento Artificial

Em uma análise dos dados apresentados, na Tabela 1H (anexo), referentes à análise de variância da cultivar CSC 447, verifica-se que os lotes de sementes de tabaco apresentaram respostas variáveis em relação aos diferentes períodos de envelhecimento.

Analisando os resultados relacionados às médias de grau de umidade da cultivar CSC 447, na Tabela 12, observa-se que houve uma variação entre as médias de 8,8%, 8,1% e 8,0% quanto aos períodos de 12, 24 e 72 horas de envelhecimento artificial, respectivamente. Marcos-Filho (1999) recomenda que as variações entre as amostras sejam inferiores a 4,0%, pois, segundo Rodo (2002), a desuniformidade e a velocidade de absorção de água entre as amostras de sementes podem resultar em deterioração diferenciada, comprometendo os resultados do teste.

Em relação às médias de germinação da cultivar CSC 447 (TABELA 12), verifica-se que houve uma maior estratificação dos lotes, quando foram expostos a 72 horas de envelhecimento, sendo atribuídas as menores médias para os lotes V1, V3, V5, V6, V7 e V8. Todavia, os lotes V2 e V4 apresentaram médias superiores aos demais. Quanto à contagem realizada, aos 7 dias, observa-se que, para os tempos de envelhecimento, durante 24 e 72 horas, os lotes foram

diferenciados em três níveis de vigor, sendo os lotes V6, V7, V8 E V9 inferiores aos demais.

Tabela 12 - Médias de grau de umidade – GU (%), germinação – G (%) e contagem aos 7 dias – G7 (%) de lotes de sementes de tabaco submetidas a três diferentes tempos de envelhecimento artificial (12, 24 e 72 horas) para a cultivar CSC 447 – Virginia.

Lotes	Médias – CSC 447								
	GU (%)			G (%)			G7 (%)		
	12	24	72	12	24	72	12	24	72
V1	22,5	23,6	24,5	97 Aa	83 Cc	89 Cb	70 Ba	0 Cb	77 Aa
V2	23,5	24,6	25,2	97 Aa	91 Bb	97 Aa	89 Aa	85 Aa	86 Aa
V3	16,6	23,8	24,3	96 Aa	97 Aa	90 Cb	83 Aa	79 Aa	81 Aa
V4	17,1	20,1	21,1	96 Aa	85 Cb	99 Aa	89 Aa	76 Aa	84 Aa
V5	20,1	21,4	23,5	96 Aa	91 Bb	86 Cc	88 Aa	4 Bc	74 Ab
V6	16,0	20,9	21,7	89 Ba	92 Ba	74 Db	75 Ba	1 Cc	58 Bb
V7	14,7	20,9	21,8	95 Aa	95 Aa	81 Cb	82 Aa	0 Cc	45 Cb
V8	15,4	28,2	29,1	96 Aa	92 Bb	90 Cb	74 Ba	0 Cc	14 Db
V9	20,8	21,9	22,7	96 Ab	99 Aa	93 Bb	78 Ba	0 Cc	15 Db
CV (%)				3,58			8,13		

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

Com o intuito de obter resultados rápidos e objetivos, foi realizada uma contagem das plântulas normais após 10 dias de germinação. As médias estão representadas na Tabela 13. Verifica-se que houve maior diferenciação dos lotes em níveis de vigor, quando expostos a 24 horas de envelhecimento artificial e que os lotes V1, V6, V8 e V9 apresentaram as menores médias de plântulas normais. Em relação ao período de 72 horas de envelhecimento artificial, observa-se que a menor média foi atribuída ao lote V6 e as maiores aos lotes V2 e V4.

Para o índice de velocidade de germinação – IVG, (TABELA 13), nota-se que, para o período de 24 horas de envelhecimento artificial, os lotes V1, V6, V8 e V9 apresentaram médias inferiores. Em relação ao período de 12 horas de envelhecimento artificial, observa-se que os lotes V1, V6, V8 e V9 foram

inferiores e o lote V2 superior aos demais. Para o período de 72 horas de envelhecimento artificial, os lotes V2, V6, V7, V8 e V9 foram inferiores aos demais.

Tabela 13 - Médias de contagem aos 10 dias – G10 (%) e índice de velocidade de germinação – IVG de lotes de sementes de tabaco submetidas a três diferentes tempos de envelhecimento (12, 24 e 72 horas) para a cultivar CSC 447 – Virginia

Lotes	Médias – CSC 447					
	G10 (%)			IVG		
	12	24	72	12	24	72
V1	96 Aa	23 Dc	85 Bb	9,13 Ca	5,07 Cb	8,63 Aa
V2	94 Aa	89 Aa	96 Aa	11,20 Aa	10,17 Ab	8,04 Bc
V3	94 Aa	91 Aa	89 Ba	10,20 Ba	9,41 Ab	8,93 Ab
V4	95 Aa	82 Bb	98 Aa	10,05 Ba	9,16 Aa	9,44 Aa
V5	96 Aa	80 Bb	85 Bb	10,20 Ba	6,77 Bc	8,49 Ab
V6	89 Aa	61 Cc	72 Cb	9,44 Ca	5,73 Cc	7,23 Bb
V7	93 Aa	82 Bb	81 Bb	9,98 Ba	6,81 Bc	8,01 Bb
V8	96 Aa	3 Eb	86 Ba	9,50 Ca	5,12 Cc	7,34 Bb
V9	95 Aa	67 Cb	86 Ba	9,37 Ca	5,92 Cc	7,92 Bb
CV (%)	8,17			8,45		

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

Em uma análise dos dados referentes à análise de variância da cultivar BAT 2101, na Tabela 1I (anexo), verifica-se que as respostas dos lotes da cultivar BAT 2101 foram variáveis em relação aos três períodos de avaliação.

Analisando as médias do grau de umidade da cultivar BAT 2101, na Tabela 14, verifica-se que houve uma variação de 11,1%, 10,6% e 8,9% em relação aos períodos de 12, 24 e 72 horas de envelhecimento artificial, respectivamente. De acordo com Marcos-Filho (2015) e Powell (1985), sementes pequenas, normalmente, absorvem água mais rapidamente, gerando grande variação no teor de água entre as amostras e diferenças na intensidade de deterioração das sementes.

Quanto às médias de germinação, representadas na Tabela 14, verifica-se que houve maior diferenciação dos lotes de sementes de tabaco para os períodos de 24 e 72 horas de envelhecimento artificial. Quanto ao período de 24 horas, os lotes B2, B6 e B7 apresentaram médias superiores e o lote B8 média inferior aos demais. Para o período de 72 horas de envelhecimento, observa-se que os lotes B6, B8 e B9 apresentaram resultados inferiores aos demais lotes.

Tabela 14 - Médias de grau de umidade – GU (%), germinação – G (%) e contagem aos 7 dias – G7 (%) de lotes de sementes submetidas a três diferentes tempos de envelhecimento artificial (12, 24 e 72 horas) para a cultivar BAT 2101 - Burley.

Lotes	Médias – BAT 2101								
	GU (%)			G (%)			G7 (%)		
	12	24	72	12	24	72	12	24	72
B1	12,6	20,2	22,3	95 Aa	93 Ba	95 Aa	87 Aa	79 Aa	91 Aa
B2	15,5	21,9	23,1	96 Aa	96 Aa	98 Aa	92 Aa	85 Aa	92 Aa
B3	19,5	20,5	21,3	91 Bb	90 Bb	97 Aa	48 Bb	55 Bb	73 Aa
B4	20,8	24,2	25,7	95 Aa	91 Bb	99 Aa	75 Aa	72 Aa	84 Aa
B5	19,0	22,7	24,5	97 Aa	92 Ba	98 Aa	48 Bb	89 Aa	90 Aa
B6	15,7	24,8	26,0	90 Ba	96 Aa	91 Ba	43 Bb	85 Aa	83 Aa
B7	23,7	25,8	26,0	89 Bb	96 Aa	96 Aa	0 Db	82 Aa	3 Cb
B8	16,1	25,8	26,7	84 Bb	79 Cb	91 Ba	18 Cb	1 Cc	47 Ba
B9	15,4	22,0	23,0	89 Bb	98 Aa	89 Cb	1 Db	92 Aa	3 Cb
CV (%)				4,07			11,54		

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

Analisando os resultados referentes à contagem, aos 7 dias, após a semeadura (TABELA 14), verifica-se que foi possível separar os lotes em diferentes níveis de vigor, para todos os períodos de envelhecimento e que, de modo geral, os lotes B7, B8 e B9 apresentaram médias inferiores.

Em relação aos resultados referentes à contagem, aos 10 dias, após a semeadura (TABELA 15), verifica-se que houve maior diferenciação dos lotes expostos aos períodos de 24 e 72 horas de envelhecimento artificial. Para o período de 24 horas, observa-se que os lotes B4 e B8 foram inferiores, no

entanto, para o período de 72 horas, os lotes B6, B7, B8 e B9 foram inferiores aos demais.

Tabela 15 - Médias da contagem aos 10 dias – G10 (%) e índice de velocidade de germinação – IVG de sementes submetidas a três diferentes tempos de envelhecimento (12, 24 e 72 horas) para a cultivar BAT 2101 - Burley.

Lotes	Médias – BAT 2101					
	G10 (%)			IVG		
	12	24	72	12	24	72
B1	95 Aa	89 Aa	95 Aa	10,72 Aa	10,48 Ba	9,45 Aa
B2	96 Aa	96 Aa	97 Aa	10,82 Aa	11,90 Aa	9,63 Ab
B3	84 Bb	87 Ab	94 Aa	7,99 Ca	8,45 Ca	9,10 Aa
B4	95 Aa	82 Bb	98 Aa	9,75 Ba	9,52 Ca	9,25 Aa
B5	97 Aa	91 Aa	97 Aa	9,02 Bb	12,24 Aa	9,72 Ab
B6	88 Ba	94 Aa	88 Ba	8,12 Cb	11,14 Ba	8,84 Ab
B7	82 Bb	95 Aa	87 Bb	6,71 Db	10,35 Ba	7,23 Bb
B8	79 Ba	71 Cb	88 Ba	7,36 Db	6,40 Db	8,51 Aa
B9	82 Bb	94 Aa	76 Cb	6,91 Db	12,56 Aa	6,35 Bb
CV (%)	6,88			9,03		

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

Para o índice de velocidade de emergência – IVG, (TABELA 15), observa-se que os períodos de 12 e 24 horas de envelhecimento artificial foram mais eficientes, na separação dos lotes em níveis de vigor, porém as respostas dos lotes foram bastante variáveis em todos os períodos avaliados.

Comparando os resultados obtidos nos diferentes períodos testados no teste de envelhecimento artificial com os resultados dos testes de germinação e emergência a 25°C, infere-se que, para ambas as cultivares, CSC 447 e BAT 2101, o teste de envelhecimento artificial a 41°C, por 72 horas, com avaliação aos 16 dias, após a semeadura, foi eficiente na estratificação dos lotes de sementes de tabaco em diferentes níveis de vigor.

Em pesquisas com sementes de tabaco, relacionadas à adaptação do teste de envelhecimento acelerado, para avaliação do vigor, Medeiros (2008)

determinou que o envelhecimento dos lotes por 18 horas a $38\pm 2^\circ\text{C}$ e 60 horas a $41\pm 2^\circ\text{C}$ foi eficiente na avaliação do vigor de sementes de tabaco das cultivares CSC 405 e CSC 459.

Em estudos realizados com sementes de outras espécies das Solanaceas, como tomate (PANOBIANCO; MARCOS-FILHO, 2001) e pimentão (PANOBIANCO; MARCOS-FILHO, 1998), também, propuseram-se que o período de 72 horas de embebição a 41°C é eficiente na avaliação da qualidade fisiológica das sementes.

Segundo Baalbaki et al. (2009), sementes mais vigorosas são mais tolerantes às condições de envelhecimento artificial e, conseqüentemente, produzem maior porcentagem de plântulas normais. Dessa forma, presume-se que, para a cultivar CSC 447, os lotes V1, V3, V5, V6, V7 e V8 são classificados como sendo menos vigorosos e os lotes V2 e V4 os mais vigorosos. Para a cultivar BAT 2101, os lotes B6, B8 e B9 são considerados como menos vigorosos e os lotes B1, B2, B3, B4 e B5 mais vigorosos.

4.6 Teste de tetrazólio

Os dados referentes às metodologias de pré-tratamento das sementes de tabaco com KNO_3 0,2% por 0, 1, 3 e 6 horas de embebição e posterior imersão em solução de tetrazólio 1,0% por 6, 12, 18 e 24 estão representados na Tabela 16.

Em uma análise geral dos resultados, nota-se que, independente do tempo de embebição em KNO_3 0,2%, a imersão das sementes em tetrazólio, por 24 horas, proporcionou maiores médias de sementes viáveis. O principal objetivo do teste de tetrazólio é a obtenção de uma estimativa geral e rápida da viabilidade das sementes, sendo amplamente utilizado quando a informação do potencial de germinação das sementes é urgentemente necessária (MILOSEVIC; VUJAKOVIC; KARAGIC, 2010). Dessa forma, sugere-se a imersão direta de

sementes de tabaco em tetrazólio 1,0%, por 24 horas, sem pré-condicionamento das sementes para a determinação da viabilidade de sementes de tabaco.

Tabela 16 - Médias de sementes viáveis submetidas a quatro períodos de embebição em KNO_3 2,0% (0, 1, 3 e 6 horas) e quatro tempos de imersão em solução de tetrazólio 1,0% (12, 16, 20 e 24 horas) – cultivar CSC 416 – Virginia.

Tempo TZ	Médias sementes viáveis			
	Tempo KNO_3			
	0	1	3	6
6	35 Da	29 Db	26 Db	24 Db
12	79 Ca	79 Ca	72 Cb	73 Cb
18	91 Ba	86 Ba	88 Ba	92 Ba
24	99 Aa	98 Aa	99 Aa	98 Aa
CV (%)	6,33			

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

Os resultados referentes à metodologia de pré-tratamento das sementes de tabaco, utilizando-se diferentes concentrações de hipoclorito de sódio e quatro períodos de imersão em solução de tetrazólio 1,0%, estão representados na Tabela 17.

Verifica-se que, para ambas as cultivares testadas, CSC 447 e BAT 2101, a submersão das sementes em hipoclorito de sódio 1,75% e 3,75% e, posterior imersão em tetrazólio por 18 e 24 horas, proporcionaram as maiores médias de sementes viáveis.

Tabela 17 - Médias de sementes viáveis submetidas a três concentrações de hipoclorito de sódio (0, 1,75%, 3,5%) e quatro tempos de imersão em solução de tetrazólio 1,0% (6, 12, 18 e 24 horas) para lotes de tabaco das cultivares CSC 447 e BAT 2101.

Tempo TZ	Médias sementes viáveis CSC 447			Médias sementes viáveis BAT 2101		
	Hipoclorito de sódio []			Hipoclorito de sódio []		
	0	1,75%	3,5%	0	1,75%	3,5%
6	6 Db	3 Cb	11 Ca	5 Cb	7 Cb	19 Ca
12	31 Cc	73 Bb	82 Ba	49 Bc	70 Bb	90 Ba
18	75 Bb	91 Aa	90 Aa	91 Ab	96 Aa	98 Aa
24	92 Aa	94 Aa	96 Aa	95 Aa	96 Aa	98 Aa
CV (%)	6,33			5,65		

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

No momento de avaliação do número de sementes viáveis referentes a cada metodologia de pré-condicionamento, foi constatado que as sementes imersas em hipoclorito de sódio com concentração de 3,5% apresentaram melhor coloração das sementes do que quando se utilizou hipoclorito de sódio a 1,75%. Dessa forma, sugere-se a imersão das sementes em hipoclorito de sódio a 3,5% e, posterior imersão em tetrazólio 1,0%, por 18 horas, para a avaliação da viabilidade de sementes de tabaco.

Após a definição das melhores metodologias, para a avaliação da viabilidade de sementes de tabaco, foram aplicadas aos lotes de sementes de tabaco das cultivares CSC 447 e BAT 2101.

Os resultados referentes à imersão direta em tetrazólio, por 24 horas, encontram-se na Tabela 18. Observa-se que não houve diferença estatística entre as médias de sementes viáveis para os lotes de ambas as cultivares.

Tabela 18 - Médias de sementes viáveis submetidas à imersão direta em tetrazólio 1,0% por 24 horas de lotes de tabaco das cultivares CSC 447 – Virginia e BAT 2101 – Burley.

Médias sementes viáveis			
Lotes	CSC 447	Lotes	BAT 2101
V1	97 a	B1	93 a
V2	97 a	B2	93 a
V3	93 a	B3	94 a
V4	95 a	B4	94 a
V5	94 a	B5	96 a
V6	97 a	B6	96 a
V7	96 a	B7	94 a
V8	95 a	B8	91 a
V9	97 a	B9	93 a
CV (%)	2,33	CV (%)	2,46

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

No entanto, observa-se que, de modo geral, os resultados obtidos no teste, utilizando-se a metodologia de imersão direta em tetrazólio 1,0%, por 24 horas, foram semelhantes aos resultados obtidos, no teste de germinação, apresentando uma variação de no máximo 4,0%.

Os dados referentes à média de sementes viáveis para as cultivares CSC 447 e BAT 2101, submetidas ao teste de tetrazólio, utilizando-se submersão em hipoclorito de sódio 3,5% e, posterior imersão em solução de tetrazólio 1,0%, por 18 horas, estão apresentados na Tabela 19.

Tabela 19 - Médias de sementes viáveis submetidas ao pré-condicionamento utilizando-se hipoclorito de sódio 3,5% e posterior imersão em tetrazólio 1,0% por 18 horas para lotes de tabaco das cultivares CSC 447 – Virginia e BAT 2101 – Burley.

Médias sementes viáveis			
Lotes	CSC 447	Lotes	BAT 2101
V1	93 b	B1	93 a
V2	98 a	B2	94 a
V3	93 b	B3	90 a
V4	96 a	B4	94 a
V5	97 a	B5	94 a
V6	92 b	B6	95 a
V7	92 b	B7	94 a
V8	94 b	B8	96 a
V9	95 a	B9	95 a
CV (%)	2,45	CV (%)	3,57

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

Em uma análise dos resultados, observa-se que houve diferença entre médias de sementes viáveis dos lotes da cultivar CSC 447, sendo os melhores resultados atribuídos aos lotes V2, V4, V5 e V9, sendo superiores aos demais lotes.

Para a cultivar BAT 2101, observa-se que não houve diferença significativa entre as médias de sementes viáveis dos lotes.

De modo geral, analisando-se os dados referentes à cultivar CSC 447, observa-se que os resultados obtidos no teste, utilizando-se o hipoclorito de sódio 3,5%, foram semelhantes aos resultados obtidos, no teste de germinação, para a maioria dos lotes, com exceção dos lotes V1 e V3, nos quais constata-se que as médias de sementes viáveis foram inferiores às médias de plântulas normais apresentadas no teste de germinação. Em relação aos lotes V6, V7 e V8, os resultados foram similares aos dados obtidos no teste de germinação, estando de acordo com afirmação feita por Milosevic, Vujakovic e Karagic (2010), que as sementes viáveis expressam o seu potencial para a formação de plântulas

normais e as sementes inviáveis expressam a má formação das sementes e, conseqüentemente, das plântulas.

Em relação à cultivar BAT 2101, observa-se que os resultados foram semelhantes aos obtidos, utilizando-se a metodologia de imersão direta em tetrazólio, por 24 horas, apresentando uma variação de, no máximo, 4,0% em relação aos resultados obtidos no teste de germinação

Em estudos envolvendo a determinação de metodologias, para a avaliação da viabilidade de sementes de tabaco, Cui et al. (2014) testaram diferentes metodologias e concluíram que o método de corte das sementes ao meio, utilizando-se micrótomo e, posterior imersão das sementes em INT (iodonitrotetrazolium chloride), por duas horas, a 30°C foi eficiente na determinação da viabilidade de sementes de tabaco. No entanto, considera-se que a metodologia constitui-se de um processo laborioso e de alto custo, pois, segundo os mesmos autores, a solução de INT, receptor alternativo de hidrogênio, utilizada no teste, tem valor mais elevado comparado ao custo da solução de tetrazólio.

A metodologia, proposta pela ISTA (1985), é considerada trabalhosa e demorada, pois sugere-se que as sementes devem ser mantidas embebidas em água por 24 horas; após este período, as sementes são cortadas ao meio e mantidas imersas em solução de tetrazólio 0,1% por 44 horas a 30°C; resultando em, aproximadamente, 70 horas de teste.

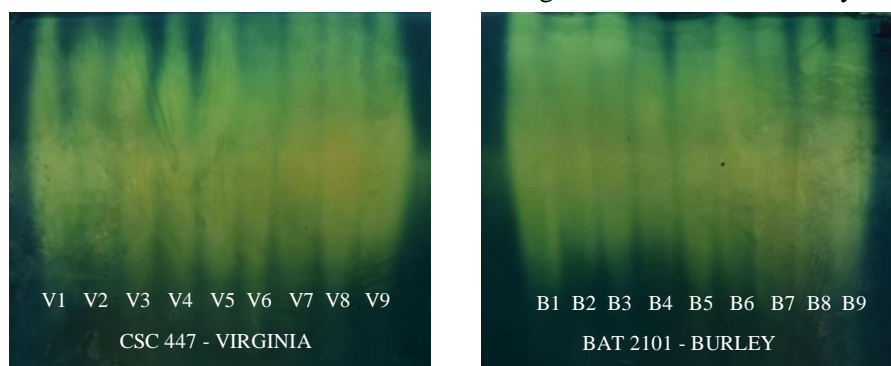
Com o intuito de atender o principal objetivo do teste de tetrazólio, que é a obtenção de uma estimativa geral e rápida da viabilidade das sementes, sugere-se que a metodologia, utilizando-se solução de hipoclorito 3,5% e imersão em tetrazólio, por 18 horas, é a melhor alternativa para a avaliação da viabilidade de sementes de tabaco, podendo ser caracterizada como sendo rápida, de baixo custo e fácil de ser executada em relação às metodologias propostas pela Cui et al. (2014) e ISTA (1985).

4.7 Análise Isoenzimática

Em uma análise do perfil enzimático da enzima catalase (CAT), apresentado na Figura 1, verifica-se que houve variações eletroforéticas entre os lotes de sementes de tabaco para as cultivares CSC 447 e BAT 2101.

Em relação à cultivar CSC 447, observa-se que houve maior expressão da enzima catalase para o lote V8 e V9. Os lotes V1, V2 e V4 apresentaram menor expressão da enzima. Analisando as respostas dos lotes V8 e V9, em relação aos testes de vigor, nota-se que foram considerados como sendo menos vigorosos para a maioria dos resultados obtidos. Sugere-se, portanto, que o aumento da atividade da enzima catalase pode estar relacionado a um avanço do processo de deterioração dessas sementes, havendo a necessidade de uma ação mais intensa de enzimas do complexo antioxidante (MARCOS-FILHO, 2005).

Figura 1 - Perfil enzimático da enzima catalase (CAT), extraída de sementes de tabaco das cultivares CSC 447 – Virgínia e BAT 2101 - Burley.



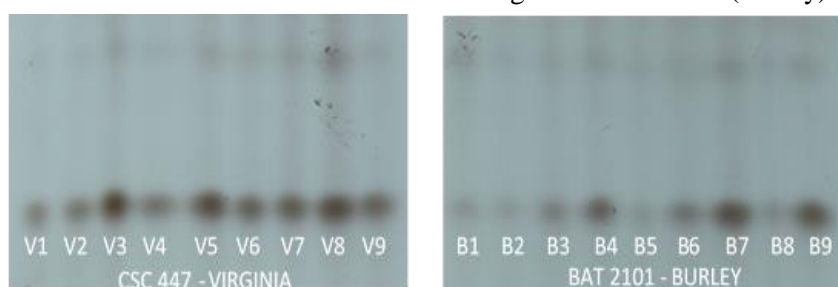
Quanto à cultivar BAT 2101 (FIGURA 1), verifica-se que houve maior expressão da enzima catalase para os lotes B7, B8 e B9. Em relação aos lotes B4 e B5, verifica-se menor expressão desta enzima. Em uma análise dos resultados, obtidos nos testes de vigor, nota-se que houve maior expressão da enzima

catalase para os lotes que foram considerados como sendo de baixa qualidade fisiológica. A enzima catalase revela-se como protetora de danos oxidativos por ter a função de catalisar a reação de conversão do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água (H_2O) (SCANDALIOS et al., 2005).

Em uma análise geral dos resultados obtidos, avaliando-se os padrões eletroforéticos da enzima catalase, presume-se que a alta atividade da enzima catalase pode ser associada à baixa qualidade das sementes de tabaco das cultivar CSC 447 e BAT 2101.

A enzima esterase (EST) atua no metabolismo de lipídios e a sua função está relacionada às reações de hidrólise de ésteres. O perfil enzimático desta enzima encontra-se representado na Figura 2.

Figura 2 - Perfil enzimático da enzima esterase (EST), extraída de sementes de tabaco dos cultivares CSC 447 – Virginia e BAT 2101 (Burley).



Para a cultivar CSC 447, verifica-se que houve maior expressão da enzima para os lotes V3, V5 e V8. Para os lotes V1, V2 e V4, nota-se menor expressão da enzima, sendo relacionada à sua baixa atividade. Os lotes V2 e V4 caracterizam-se como sendo mais vigorosos em relação aos resultados obtidos nos testes de vigor; por outro lado, o lote V8 apresentou-se como sendo de baixa qualidade fisiológica. Entretanto, os lotes V3, V5 e V1 tiveram comportamentos variáveis, em relação aos testes de vigor, utilizados na determinação do potencial fisiológico de sementes da cultivar CSC 447.

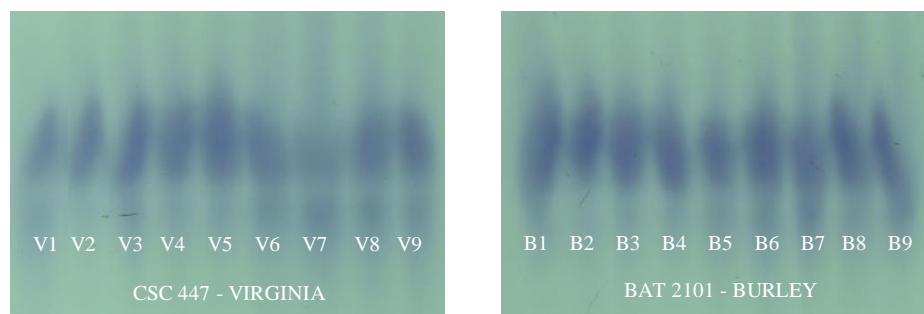
Em relação à cultivar BAT 2101, observa-se maior expressão da enzima esterase para os lotes B4, B7 e B9; os lotes B1, B2, B5 e B8 apresentaram menor expressão da enzima esterase. Nota-se que a maior atividade dessa enzima pode ser relacionada aos lotes de sementes de tabaco de menor qualidade fisiológica, segundo resultados obtidos nos testes de vigor.

Em uma análise geral dos resultados, presume-se que alterações nos padrões da enzima esterase podem evidenciar a ocorrência de eventos deteriorativos nas sementes de tabaco das cultivares CSC 447 e BAT 2101. Estes resultados corroboram com Santos, Menezes e Villela (2004), ao relatarem maior atividade da enzima em lotes de sementes de feijão com menor qualidade fisiológica. Ferreira et al. (2015) verificaram que sementes de milho imaturas e com danos apresentaram alta atividade da enzima esterase, relacionando a baixa qualidade das sementes à alta atividade desta enzima.

Na Figura 3 encontra-se o perfil enzimático da enzima malato desidrogenase (MDH). Observa-se que houve diferença entre os padrões eletroforéticos para ambas as cultivares, CSC 447 e BAT 2101.

Verifica-se que, para a cultivar CSC 447, os lotes V6, V7, V8 e V9 apresentaram maior expressão da enzima MDH. Os lotes V2, V4 e V5 apresentaram menor expressão da enzima. A MDH, enzima importante no processo de respiração, atua no ciclo de Krebs e é responsável pela catalisação do malato a oxaloacetato, para a produção de NADH, produto fundamental na produção de ATP e compostos intermediários essenciais ao funcionamento das células (TAIZ; ZEIGER, 2004). Infere-se, portanto, que maior a intensidade de deterioração, maior taxa de respiração das sementes e, conseqüentemente, maior a atividade da MDH. Comparando-se a expressão da enzima MDH aos resultados obtidos, nos testes de vigor em relação aos lotes da cultivar CSC 447, verifica-se que os lotes mais vigorosos apresentaram menor expressão da enzima.

Figura 3 - Perfil enzimático da enzima malato desidrogenase (MDH), extraída de sementes de tabaco das cultivares CSC 447 – Virginia e BAT 2101 – Burley.

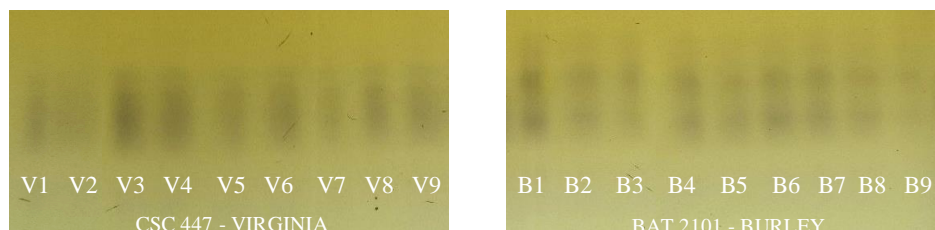


Em relação à cultivar BAT 2101, os lotes B1, B6, B7, B9 apresentaram maior expressão da enzima MDH. Por outro lado, os lotes B2, B3, B4 e B5 apresentaram menor expressão da enzima. Observa-se que os lotes B6, B7 e B9 apresentaram-se como sendo menos vigorosos em relação aos resultados das análises dos testes de vigor. Portanto, o aumento da intensidade de coloração das bandas, observadas nas análises do perfil enzimático da MDH, pode ser relacionado ao aumento da taxa de respiração em virtude do processo de deterioração de sementes de baixa qualidade.

Dessa forma, presume-se que as alterações, nas bandas eletroforéticas da enzima malato desidrogenase, são relacionadas aos processos deteriorativos de sementes de tabaco das cultivares CSC 447 e BAT 2101.

A análise do perfil eletroforético da enzima álcool desidrogenase não foi uma tarefa fácil em razão da baixa intensidade de coloração das bandas (FIGURA 4).

Figura 4 - Perfil enzimático da enzima álcool desidrogenase (ADH), extraída de sementes de tabaco das cultivares CSC 447 – Virginia e BAT 2101 – Burley.



Para a cultivar CSC 447, os lotes V3 e V8 apresentaram maior atividade e os lotes V1, V2, V5 e V7 apresentaram menor atividade da enzima ADH. A enzima álcool desidrogenase está envolvida na reação de redução de acetaldeído ao etanol e a sua atividade é relacionada à respiração anaeróbica (VEIGA et al., 2010). Segundo Santos, Menezes e Villela (2005), as enzimas envolvidas na respiração podem ser ativadas em sementes de baixa qualidade. Observando os resultados obtidos na análise dos padrões eletroforéticos da enzima ADH aos resultados obtidos nos testes de vigor, infere-se que quanto maior a qualidade fisiológica das sementes, menor a quantidade de acetaldeído nas células e menor a expressão da enzima ADH.

Analisando o perfil enzimático, em relação à enzima ADH, para a cultivar BAT 2101 (FIGURA 4), verifica-se que os lotes B1, B3, B6 e B7 apresentaram maior atividade e os lotes B2, B3 e B5 menor atividade da enzima ADH. De modo geral, observa-se que os lotes que se caracterizaram como sendo de maior qualidade, pela análise dos resultados dos testes de vigor, tiveram menor expressão da enzima ADH.

Em uma análise geral dos resultados, verifica-se que o aumento da expressão da enzima ADH pode ser relacionado ao aumento da respiração anaeróbica das sementes e ao progresso do processo de deterioração das sementes de tabaco dos cultivares CSC 447 e BAT 2101. Segundo Spinola,

Cicero e Melo (2000), a análise de isoenzimas, por meio da correta interpretação da variação eletroforética do perfil de enzimas, tem sido bastante investigada para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes por ser capaz de auxiliar na detecção da deterioração das sementes nos estádios iniciais.

5 CONSIDERAÇÕES GERAIS

O teste de vigor ideal deve discriminar lotes de germinação semelhante em diferentes níveis de vigor e se correlacionar bem com a emergência em campo ou casa de vegetação. Observou-se que houve diferentes respostas das cultivares em relação ao teste analisado.

O teste de germinação em mesa termogradiante foi eficiente somente para a cultivar BAT 2101. A cultivar CSC 447 não foi tolerante a temperaturas elevadas e não foi possível obter resultados consistentes quanto à avaliação da qualidade das sementes.

O teste de emergência, em condições controladas a 25°C, foi eficiente na discriminação dos lotes em níveis de qualidade.

O teste de condutividade elétrica foi eficiente somente para a cultivar CSC 447, evidenciando o efeito do genótipo como fator de influência dos resultados do teste. Para a cultivar BAT 2101, as leituras de condutividade elétrica proporcionaram resultados distintos da viabilidade e emergência a 25°C.

O teste de envelhecimento artificial, por 72 horas, em relação aos demais testes, foi o que possibilitou maior discriminação dos lotes para ambas as cultivares.

A primeira contagem de germinação não se apresentou como sendo teste de vigor adequado para a cultura do tabaco, pois, além de não discriminar os lotes em níveis de qualidade, não apresentou resultados similares aos obtidos na emergência a 25°C.

O coeficiente de uniformidade de germinação – CUG apresentou resultados discrepantes quanto à viabilidade e emergência a 25°C. Porém foi capaz de diferenciar os lotes, em vários níveis, evidenciando a não homogeneidade dos lotes em relação à uniformidade. Este resultado pode ser explicado pela característica de crescimento desuniforme de frutos e sementes de tabaco.

Ambas as metodologias propostas para o teste de tetrazólio (imersão direta em tetrazólio 1,0%, por 24 horas e pré-condicionamento com hipoclorito de sódio 3,5% e posterior imersão em tetrazólio 1,0%, por 18 horas) foram eficientes em determinar a viabilidade dos lotes de sementes de tabaco das cultivares CSC 447 e BAT 2101.

Em relação à análise isoenzimática, observou-se, de modo geral, que quanto maior a intensidade das bandas, maior a intensidade de deterioração das sementes, visto que, normalmente, os lotes classificados como sendo menos vigorosos foram os que apresentaram maior expressão das enzimas.

Verifica-se, portanto, que há uma diversidade entre as cultivares estudadas e que essa variação entre as cultivares e a maturação desuniforme dos frutos e sementes são entraves na determinação de um único teste que avalie o potencial fisiológico de sementes de tabaco.

A variação dos cultivares e lotes, em relação aos testes a que foram submetidos é esperada, pois alguns deles se baseiam na velocidade de resposta à germinação, outros se relacionam à integridade do sistema de membranas e à resistência do material a condições de estresse.

6 CONCLUSÕES

Os testes de emergência a 25°C e envelhecimento artificial a 41°C, por 72 horas, são eficientes na discriminação de lotes de sementes de tabaco em diferentes níveis de vigor para as cultivares CSC 447 e BAT 2101.

Os testes de condutividade elétrica e germinação, em diferentes temperaturas, têm respostas variáveis em relação ao genótipo das sementes de tabaco; o teste de condutividade elétrica com embebição por seis horas é eficiente na discriminação dos lotes de sementes de tabaco da cultivar CSC 447 e o teste de germinação, em diferentes temperaturas, eficiente na discriminação dos lotes de sementes de tabaco da cultivar BAT 2101.

O teste de tetrazólio, utilizando-se a metodologia de pré-condicionamento em solução de hipoclorito de sódio 3,5% e posterior imersão em solução de tetrazólio 1,0%, por 18 horas, é eficiente na avaliação rápida da viabilidade de sementes de tabaco.

A análise do perfil das enzimas catalase, esterase, malato desidrogenase e álcool desidrogenase é eficiente como marcadores da qualidade de sementes de tabaco.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, K. S. et al. Alterações fisiológicas e bioquímicas durante a embebição de sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 31, n. 1, p. 249-258, 2009.
- ALFENAS, A. C. (Ed.). **Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microorganismos**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 2006. 627 p.
- ARCILA, J.; MOHAPATRA, S. C. Development of tobacco seedling: 2., morphogenesis during radicle protrusion. **Tobacco Science**, Raleigh, v. 27, p. 35-40, 1983.
- ASSOCIAÇÃO DOS FUMICULTORES DO BRASIL. **Produção agropecuária**. Disponível em: <<http://www.afubra.com.br/index.php/conteudo/show/id/82>>. Acesso em: 10 jan. 2016.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSIS. **Seed vigor testing handbook**. East Lansing, 1983. 88 p.
- AUNG, U. T.; MCDONALD, M. B. Changes in esterase activity associated with peanut (*Arachis hypogaea* L.) seed deterioration. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 23, n. 1, p. 101-111, 1995.
- AVERY, G. S. J. Structure and germination of tobacco seed and developmental anatomy of the seedling plant. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 20, p. 309-327, 1933.
- BAALBAKI, R. et al. **Seed vigor testing handbook**. Ithaca: AOSA, 2009. 200 p.
- BASAVARAJAPPA, B. S.; SHETTY, H. S.; PRAKASH, H. S. Membrane deterioration and other biochemical changes, associated with accelerate ageing of maize seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 19, n. 2, p. 279-286, 1991.
- BEWLEY, J. D. Breaking down the walls: a role for endo- β -mananase in release from seed dormancy? **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 2, p. 464-469, 1997.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination:** viability, dormancy and environmental control. Berlin: Springer-Verlag, 1982. v. 2, 375 p.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds:** physiology of development and germination. 2nd ed. New York: Plenum, 1994. 445 p.

BHERING, M. C. et al. Métodos para avaliação do vigor de sementes de pepino. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 171-175, 2000.

BHERING, M. C. et al. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de pimenta. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 28, n. 3, p. 64-71, 2006.

BHERING, M. C. et al. Teste para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de berinjela. **Informativo Abrates**, Londrina, v. 11, n. 2, p. 203, set. 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 2009. 220 p.

CALDEIRA, C. M. **Condicionamento fisiológico e pelotização de sementes de tabaco**. 2013. 109 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

CARVALHO, C. **Anuário brasileiro do tabaco 2015**. Disponível em: <<http://www.grupogaz.com.br>>. Acesso em: 15 fev. 2016.

CARVALHO, C.; NOVEMBRE, A. D. L. C. Avaliação da qualidade de sementes de fumo, nuas e revestidas, pelo teste de condutividade elétrica. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 33, n. 1, p. 177-185, 2011.

CARVALHO, E. R. et al. Alterações isoenzimáticas em sementes de cultivares de soja em diferentes condições de armazenamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 49, n. 12, p. 967-976, dez. 2014.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes:** ciência, tecnologia e produção. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.

CLARKE, J. J. **Development of a greenhouse tobacco seedling performance index**. 2001. 73 p. Dissertation (Master in Crop and Soil Environmental Sciences) - Faculty of Virginia Polytechnic Institute and State University, Virginia, 2001.

CLARKE, J. J.; REED, T. D.; WILKINSON, C. A. Development of a greenhouse tobacco seedling performance index. **Tobacco Science**, Raleigh, v. 45, n. 1, p. 49-55, Jan. 2001.

COPELAND, L. O.; MCDONALD, M. B. **Principles of seed science and technology**. 4th ed. New York: Chapman and Hall, 2001. 467 p.

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

CRUZ, S. M. et al. Vigor tests for evaluation of crambe (*Crambe abyssinica* Hochst) seed quality. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 35, n. 4, p. 485-494, 2013.

CUI, H. W. et al. Improvement of the tetrazolium test for evaluating tobacco (*Nicotiana tabacum*) seed viability. **Seed Science & Technology**, Zurich, v. 42, n. 1, p. 68-75, Apr. 2014.

DELOUCHE, J. C. Seed deterioration. **Seed World**, Bethesda, v. 92, n. 4, p. 14-15, 1963.

DIAS, D. C. F. S. et al. Teste de condutividade elétrica para a avaliação do vigor de sementes de cebola. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 28, n. 1, p. 154-162, 2006.

DIAS, D. C. F. S.; VIEIRA, A. N.; BHERING, M. C. Condutividade elétrica e lixiviação de potássio para a avaliação do vigor de sementes de hortaliças, feijão-de-vagem e quiabo. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 408-413, fev. 1998.

DIAS, M. C. L. L.; ALVES, S. J. Avaliação da viabilidade de sementes de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. rich) Stapf pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 30, n. 3, p. 145-151, 2008.

DIAS, M. C. L. L.; BARROS, A. S. R. Metodologias do teste de tetrazólio em sementes de milho. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇANETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap. 8.4, p. 1-10.

DUNG, T. et al. Agrobacterium-mediated transformation of CRY1Ac gene to tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) and evaluation of *Heliothis armigera* resistance. **Journal of Agriculture**, Melbourne, v. 22, n. 2, p. 161-169, June 2006.

DUTRA, A.; VIEIRA, R. D. Teste de condutividade elétrica para a avaliação do vigor de sementes de abobrinha. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 28, n. 2, p. 117-122, 2006.

ELANE, G. B. S. et al. Influência da temperatura e do substrato na germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de rúcula (*Eruca sativa* Mill.) **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 3, n. 3, p. 209-212, 2008.

FAIZE, M. et al. Cytosolic ascorbate peroxidase and Cu, Zn-superoxide dismutase improve seed germination, plant growth, nutrient uptake and drought tolerance in tobacco. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, Campos dos Goytacases, v. 27, n. 3, p. 215-226, Nov. 2015.

FARIA, M. A. V. R. et al. **Marcadores moleculares da qualidade fisiológica de sementes**. Lavras: UFLA/FAPE, 2003. 51 p.

FERGUSON, J. M.; TEKRONY, D. M.; EGLI, D. M. Changes during early soybean seed and axes deterioration: II., lipids. **Crop Science**, Madison, v. 30, n. 1, p. 179-182, 1990.

FERREIRA, D. F. **SISVAR - Sistema de Análise de Variância para Dados Balanceados**: programa de análises estatísticas e planejamento de experimentos. Versão 5.4. Lavras: UFLA, 2010.

FERREIRA, R. L. et al. Temperatura inicial de germinação no desempenho de plântulas e mudas de tomate. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, p. 1189-1195, jul. 2013.

FERREIRA, T. F. et al. Isoenzyme activity in maize hybrid seeds harvested with different moisture contents and treated. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 37, n. 2, p. 139-146, 2015.

FRANÇA-NETO, J. B. et al. **Semente esverdeada de soja e sua qualidade fisiológica**. Londrina: EMBRAPA Soja, 2005. 8 p. (EMBRAPA Soja. Circular Técnica, 38).

FRANÇA-NETO, J. B.; PEREIRA, L. A. G.; COSTA, N. P. **Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNP SOJA, 1986. 35 p.

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

GAGLIARDI, B. **Procedimentos para avaliação do potencial fisiológico de pimentão e relações com emergência de plântulas**. 2009. 75 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2009.

GAGLIARDI, B.; MARCOS-FILHO, J. Assessment of the physiological potential of bell pepper seeds and relationship with seedling emergence. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 33, n. 1, p. 162-170, 2011.

GOODSPEED, T. H. **The genus Nicotiana**. Waltham: Chronica Botanica, 1954. 536 p.

GRABE, D. F. **Manual do teste de tetrazólio em sementes**. Brasília: AGIPLAN, 1976. 85 p.

HAMPTON, J. G.; COOLBEAR, P. Potential versus actual seed performance: can vigour testing provide an answer? **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 18, n. 2, p. 215-228, 1990.

HAMPTON, J. G.; TEKRONY, D. M. (Ed.). **Handbook of vigour test methods**. 3rd ed. Zurich: International Seed Testing Association, 1995. 117 p.

HAWKES, J. G. The economic importance of the family Solanaceae. In: NEE, M. et al. (Ed.). **Solanacea IV: advances in biology and utilization**. Kew: The Royal Botanic Gardens; London: The Linnean Society of London, 1999. p. 1-8.

HEYDECKER, W. Glossary of terms. In: _____. **Seed ecology**. London: Butterworths, 1973. p. 553-557.

HUNZIKER, A. T. **Genera Solanacearum**. Rugell: Gantner Verlag, 2001. 500 p.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. **Handbook on Tetrazolium testing**. Zurich, 1985. 99 p.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. **Seed vigor testing**. Zurich: International Rules for Seed Testing, 2006. 303 p.

JATOI, S. A. et al. Seed deterioration study in pea, using accelerate ageing techniques. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Lahore, v. 38, n. 12, p. 1490-1494, 2001.

JIANHUA, Z.; MCDONALD, M. B. The saturated salt accelerated aging test for small-seeded crops. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 25, n. 1, p. 123-131, 1997.

JUDE, C. A. Extraction, characterization and industrial applications of tobacco seed oil (*Nicotiana tabacum*). **Chemistry and Materials Research**, Pittsburgh, v. 3, n. 2, p. 19-22, 2013.

KASPERBAUER, M. J. Dark-germination of reciprocal hybrid seed from light-requiring and indifferent *Nicotiana tabacum*. **Physiology Plant**, Minneapolis, v. 21, p. 1308-1311, 1968.

KAUFMAN, G. Seed coating: a tool for stand establishment; a stimulus to seed quality. **American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 1, n. 1, p. 98-101, Oct./Dec. 1991.

KHAN, A. A. Hormonal regulation of primary and secondary seed dormancy. **Israel Journal of Botany**, Jerusalem, v. 29, p. 207-224, 1981.

KRZYZANOWSKI, F.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. 218 p.

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

LEUBNER-METZGER, G. Brassinosteroids and gibberellins promote tobacco seed germination by distinct pathways. **Planta**, Berlin, v. 213, n. 5, p. 758-763, Sept. 2001.

LEUBNER-METZGER, G.; MEINS JUNIOR, F. Antisense-transformation reveals novel roles for class I β -1,3-glucanase in tobacco seed after-ripening and

photodormancy. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 52, n. 362, p. 1753-1759, Sept. 2001.

LEUBNER-METZGER, G.; MEINS JUNIOR, F. Sense transformation reveals a novel role for class I β -1,3-glucanase in tobacco seed germination. **Plant Journal**, Oxford, v. 23, n. 2, p. 215-221, July 2000.

LIMA, C. B. et al. Metodologias do teste de tetrazólio para sementes de melão (*Cucumis melo* L.). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 744-746, jul. 2007.

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

MALIK, C. P. Seed deterioration: a review. **International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research**, New Delhi, v. 2, n. 3, p. 374-385, July 2013.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495 p.

MARCOS-FILHO, J. Seed vigor testing: na overview of the past, present and future perspective. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 72, n. 4, p. 363-374, jul./ago. 2015.

MARCOS-FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 1-24.

MARSHALL, B. et al. Temperature-dependent germination traits in oilseed rape associated with 5'-anchored simple sequence repeat PCR polymorphism. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, n. 353, p. 2075-2084, Dec. 2000.

MARTINS, C. C. et al. Comparação entre métodos para a avaliação do vigor de lotes de sementes de couve-brócolos (*Brassica oleracea* L. var. *itálica* Plenck). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 24, n. 2, p. 96-101, 2002.

MATTHEWS, S. Controlled deterioration: a new vigour test for crop seeds. In: HEBBLETHWAITE, P. D. (Ed.). **Seed production**. London: Butterworths, 1980. p. 647-660.

MATTHEWS, S.; POWELL, A. A. Electrical conductivity test. In: PERRY, D. A. (Ed.). **Handbook of vigour test methods**. Zurich: International Seed Testing Association, 1981. p. 37-41.

MATZKE, A. J. M.; STOGER, E. M.; MATZKE, M. A. A zein gene promoter fragment drives GUS expression in a cell layer that is interposed between the endosperm and the seed coat. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 22, p. 553-554, 1993.

MAYER, A. M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. Oxford: Pergamon, 1989. 270 p.

MCDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 22, n. 3, p. 531-539, 1999.

MCDONALD, M. B. Standardization of seed vigour tests. In: CONGRESSO OF INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION, 24., 1995, Copenhagen. **Proceedings...** Copenhagen: ISTA, 1995. p. 88-97.

MEDEIROS, E. M. **Maturação fisiológica e adaptação do teste de envelhecimento acelerado para sementes de fumo**. 2008. 64 p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Sementes) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2008.

MILOSEVIC, M.; VUJAKOVIC, M.; KARAGIC, D. Vigor tests as indicators of seed viability. **Genetika**, Beograd, v. 42, n. 1, p. 103-118, 2010.

MOHAPATRA, S. C.; SUGGS, C. W. Cultivar differences in tobacco seed response to germination temperature. **International Seed Testing Association**, Zürich, v. 17, n. 3, p. 639-647, Dec. 1989.

MOSAVI, N. I. K. et al. Free fatty acid and electrical conductivity changes in cotton seed (*Gossypium hirsutum*) under seed deterioration conditions. **International Journal of Agriculture Science**, Varsovia, v. 1, n. 2, p. 62-66, 2011.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F. C. et al. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 2.1-2.21.

NASCIMENTO, W. M.; BARROS, B. C. G.; PESSOA, H. B. S. V. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 15, n. 2, p. 251-253, 1993.

NASCIMENTO, W. M.; PEREIRA, R. S. Testes para avaliação do potencial fisiológico de sementes de alface e sua relação com a germinação sob temperaturas adversas. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 29, n. 3, p. 175-179, July 2007.

NERY, M. C.; CARVALHO, M. L. M.; GUIMARÃES, R. M. Testes de vigor para avaliação da qualidade de sementes de nabo forrageiro. **Informativo Abrates**, Londrina, v. 19, n. 1, p. 9-20, 2009.

NI, B. R.; BRADFORD, K. J. Germination and dormancy of abscisic acid-deficient and gibberellin-deficient mutant tomato (*Lycopersicon esculentum*) seeds: sensitivity of germination to abscisic acid, gibberellin and water potential. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 101, p. 607-617, 1993.

NOVEMBRE, A. D. L. C. et al. Estudo da metodologia dos testes de envelhecimento acelerado de condutividade elétrica para sementes de tomate. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 5, n. 2, p. 140, 1995.

OLIVEIRA, A. P.; BRUNO, R. L. A.; ALVES, E. U. Influência do substrato e da temperatura na germinação de sementes peletizadas de tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 2, p. 72-77, 2001.

OLIVEIRA, L. M.; CARVALHO, M. L. M.; DAVIDE, A. C. Utilização de teste de raios-x na avaliação da qualidade de sementes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 25, n. 1, p. 116-120, 2003.

OLIVEIRA, S. R. S.; NOVEMBRE, A. D. L. C. Teste de condutividade elétrica para as sementes de pimentão. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 27, n. 1, p. 31-36, 2005.

PADUA, G. P. et al. Incidence of green soybean as a function of environmental stresses during seed maturation. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 31, n. 3, p. 150-159, 2009.

PANOBIANCO, M. **Avaliação do potencial fisiológico de sementes de tomate**. 2000. 152 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2000.

PANOBIANCO, M.; MARCOS-FILHO, J. Comparação entre métodos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de pimentão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 68-72, 1998.

PANOBIANCO, M.; MARCOS-FILHO, J. Envelhecimento acelerado e deterioração controlada em sementes de tomate. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 3, p. 525-531, 2001.

PAULA, A. D. **Momento ideal da colheita de tabaco**. 2012. 30 p. Dissertação (Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Sementes) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2012.

PEREIRA, E. M. **Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de pimenta e pimentão por meio da atividade respiratória**. 2012. 69 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

PEREIRA, R. S. et al. Germinação e vigor de sementes de cenoura sob condições de altas temperaturas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 215-219, 2007.

PILAU, F. G. et al. Germinação de sementes de crambe em diferentes temperaturas e substratos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 5, p. 1825-1830, set./out. 2012.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 15. ed. Piracicaba: FEALQ, 2009. 451 p.

PINHEIRO, G. S. et al. Efeito da temperatura sobre a germinação de sementes de cebola. **Scientia Plena**, Aracajú, v. 10, n. 11, p. 110-202, out. 2014.

POWELL, A. A. The controlled deterioration test. In: VENTER, H. A. van de (Ed.). **Seed vigour testing seminar**. Zurich: International Seed Testing Association, 1995. p. 73-87.

RODO, A. B. **Avaliação do potencial fisiológico de sementes de cebola e sua relação com o desempenho das plântulas em campo**. 2002. 123 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2002.

RODO, A. B. et al. Teste de condutividade elétrica em sementes de tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 29-38, 1998.

ROMMENS, C. Kanamycin resistance in plants: an unexpected trait controlled by a potential multifaceted gene. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 11, n. 7, p. 317-319, 2006.

SÁ, M. E. Condutividade elétrica em sementes de tomate (*Lycopersicon lycopersicum* L.). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 1, p. 178-183, 1998.

SANTANA, D. G.; RANAL, M. A. Análise estatística na germinação. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 12, p. 205-237, 2000. Edição especial.

SANTOS, C. M. R.; MENEZES, N. L.; VILLELA, 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.

SANTOS, C. M. R.; MENEZES, N. L.; VILLELA, F. A. Modificações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão no armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 104-114, jun. 2005.

SANTOS, M. A. O.; NOVENBRE, A. D. L. C.; MARCOS-FILHO, J. Tetrazolium test to assess viability and vigour of tomato seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 35, n. 1, p. 213-223, 2007.

SCANDALIOS, J. G. et al. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 38, n. 7, p. 995-1014, 2005.

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

SILVA, M. A. D. da; SILVA, W. R. da. Comportamento de fungos e de sementes de feijoeiro durante o teste de envelhecimento artificial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 7, p. 599-608, jul. 2000.

SILVA, M. V.; MENTZ, L. A. O gênero *Nicotiana* L. (Solanaceae) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia: Série Botânica**, Porto Alegre, v. 60, n. 2, p. 151-173, 2005.

SOUZA, G. E. et al. Comparação entre métodos para a avaliação do vigor de sementes de algodão. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia, v. 1, n. 2, p. 35-41, out./dez. 2014.

SOUZA CRUZ. **Fases da produção de fumo**: plantio 2013. Disponível em: <http://www.souzacruz.com.br/group/sites/SOU_7UV24.nsf/vwPagesWebLive/DO7V9KLC>. Acesso em: 23 jan. 2016.

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

SPINOLA, M. C. M. et al. Comparação entre métodos para a avaliação do vigor de sementes de cenoura. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 63-67, 1998.

STANISAVLJEVIC', I. T.; LAZIC', M. L.; VELJKOVIC, V. B. Ultrasonic extraction of oil from tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) seeds. **Ultrasonic Sonochemistry**, Oxford, v. 14, n. 5, p. 646-652, July 2007.

STEINER, F. et al. Germinação de sementes de rúcula sob diferentes temperaturas. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 11, n. 2, p. 119-124, mar./abr. 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. Davis: Cummings, 2004. 565 p.

TEKRONY, D. M.; EGLI, D. B. Relationship of seed vigor to crop yield: a review. **Crop Science**, Madison, v. 31, p. 816-822, 1991.

VEIGA, A. D. et al. Influência do potássio e da calagem na composição química, qualidade fisiológica e na atividade enzimática de sementes de soja. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 3, p. 953-960, jul./ago. 2010.

VELJKOVIC', V. B. et al. Biodiesel production from tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) seed oil with a high content of free fatty acids. **Fuel**, London, v. 85, n. 17/18, p. 2671-2675, Dec. 2006.

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

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

VIDIGAL, D. S. et al. Teste de condutividade elétrica para semente de pimenta. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 30, n. 1, p. 168-174, 2008.

VIEIRA, M. G. G. C.; PINHO, E. V. R. von. Metodologias do teste de tetrazolio em sementes de algodão. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap. 8, p. 1.1-1.13.

VIEIRA, R. D.; KRZYZANOWSKI, F. C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap. 4, p. 1-26.

WALTERS, C.; BALLESTEROS, D.; VERTUCCI, V. A. Structural mechanics of seed deterioration: standing the test of time. **Plant Science**, Shannon, v. 179, p. 565-573, 2010.

XU, S. et al. Chilling tolerance in *Nicotiana tabacum* induced by seed priming with putrescine. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 63, n. 3, p. 279-290, Sept. 2010.

ZHANG, M. et al. A mechanism of seed deterioration in relation to volatile compounds evoked by dry seeds themselves. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 4, n. 1, p. 49-56, 1994.

ANEXO A - TABELAS

Tabela 1A - Análise de variância para germinação – G, plântulas anormais deformadas – AD, plântulas anormais infeccionadas – AI, sementes mortas – M, plântulas normais na primeira contagem – PC, índice de velocidade de germinação – IVG e coeficiente de uniformidade de germinação – CUG de lotes de sementes de tabaco da cultivar CSC 447 – Virginia.

FV	Quadrados Médios						
	Germinação				PC	IVG	CUG
	G	AD	AI	M			
Lotes	9,94*	0,15 ^{ns}	0,09 ^{ns}	0,47 ^{ns}	450,75 ^{ns}	3,62 ^{ns}	0,07 ^{ns}
Repetição	6,92	0,14	0,20	0,06	471,30	3,72	0,12
Resíduo	4,00	0,11	0,08	0,28	266,71	1,08	0,04
CV (%)	2,09	26,6	22,5	28,4	19,2	5,4	11,7

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F.

Tabela 1B - Análise de variância para germinação – G, plântulas anormais deformadas – AD, plântulas anormais infeccionadas – AI, sementes mortas – M, plântulas normais na primeira contagem – PC, índice de velocidade de germinação – IVG e coeficiente de uniformidade de germinação – CUG de lotes de sementes de tabaco da cultivar BAT 2101 - Burley.

FV	Quadrados Médios						
	Germinação				PC	IVG	CUG
	G	AD	AI	M			
Lotes	19,90*	0,16 ^{ns}	0,22*	0,90*	1933,09*	11,27*	0,23*
Repetição	1,58	0,05	0,02	0,19	761,88	2,43	0,01
Resíduo	4,71	0,11	0,05	0,16	456,78	1,48	0,04
CV (%)	2,27	25,00	18,90	20,93	29,70	6,67	11,20

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F.

Tabela 1C - Análise de variância para germinação – G, plântulas anormais – A, sementes mortas – M, sementes dormentes viáveis – DV, plântulas normais na primeira contagem – PC e índice de velocidade de germinação – IVG de lotes de sementes de tabaco expostos à gradiente de temperaturas variando de 20°C a 35°C para a cultivar CSC 447 – Virginia.

FV	Quadrados médios						
	GL	G	A	M	DV	PC	IVG
Lote	8	48,19*	0,86 ^{ns}	0,85 ^{ns}	0,34 ^{ns}	2,32*	4,11*
Temperatura	4	27402,48*	71,71*	197,90*	28,61*	224,94*	400,61*
Lote*Temperatura	32	131,23*	0,54*	2,22*	0,52*	1,22*	3,79*
Repetição	3	82,68	0,76	1,83	0,82	2,70	6,35
Resíduo	132	19,47	0,69	0,65	0,21	1,01	1,97
CV (%)		5,34	56,12	32,22	95,85	12,40	14,71

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F.

Tabela 1D - Análise de variância para germinação – G, plântulas anormais – A, sementes mortas – M, sementes dormentes viáveis – DV, plântulas normais na primeira contagem – PC e índice de velocidade de germinação – IVG de lotes de sementes de tabaco expostos à gradiente de temperaturas variando de 20°C a 35°C para a cultivar bat 2101 - Burley.

FV	Quadrados médios						
	GL	G	A	M	DV	PC	IVG
Lote	8	105,23*	1,70*	5,25*	0,12 ^{ns}	2,12*	19,00*
Temperatura	4	1702,90*	61,32*	6,02*	0,43*	25,48*	100,97*
Lote*Temperatura	32	62,69*	1,16*	1,30*	0,14*	1,40*	3,19*
Repetição	3	0,95	0,41	1,19	0,03	1,79	0,44
Resíduo	132	14,32	0,63	0,69	0,06	0,39	1,11
CV (%)		4,07	63,40	59,14	42,50	6,80	8,62

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F.

Tabela 1E - Análise de variância para plântulas emergidas aos 7 dias – E7, plântulas emergidas aos 14 dias – E14, plântulas emergidas aos 21 dias – E21, índice de velocidade de emergência – IVE e coeficiente de uniformidade de germinação - CUG de lotes de sementes de tabaco submetidos ao teste de emergência em condições controladas a 20°C, 25°C e 30°C para a cultivar CSC 447 – Virginia.

FV	Quadrados médios					
	GL	E7	E14	E21	IVE	CUG
Lote	8	0,60*	23,71 ^{ns}	23,66*	0,02 ^{ns}	0,35*
Temperatura	2	1031,73*	988,86*	95,73*	12,95*	0,80*
Lote*Temperatura	16	0,54*	93,58*	25,04*	0,05*	0,28*
Repetição	3	0,23	15,44	7,84	0,03	0,01
Resíduo	78	0,24	11,74	5,94	0,02	0,02
CV (%)		7,87	3,75	2,58	3,66	20,50

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F.

Tabela 1F - Análise de variância para plântulas emergidas aos 7 dias – E7, plântulas emergidas aos 14 dias – E14, plântulas emergidas aos 21 dias – E21, índice de velocidade de emergência – IVE e coeficiente de uniformidade de germinação - CUG de lotes de sementes de tabaco submetidos ao teste de emergência em condições controladas a 20°C, 25°C e 30°C para a cultivar BAT 2101 – Burley.

FV	Quadrados médios					
	GL	E7	E14	E21	IVE	CUG
Lote	8	0,61*	60,94*	41,24*	0,04*	0,29*
Temperatura	2	933,72*	3,06 ^{ns}	17,51 ^{ns}	6,64*	1,29*
Lote*Temperatura	16	0,41*	48,00*	36,77*	0,04*	0,29*
Repetição	3	0,08	1,39	1,27	0,01	0,02
Resíduo	78	0,17	8,53	7,10	0,01	0,02
CV (%)		7,01	3,17	2,85	2,89	17,52

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F.

Tabela 1G - Análise de variância para condutividade elétrica – CE ($\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$) mensurada utilizando-se dois tipos de condutímetro, SAD 9000[®] - SAD e MS TECNOPON[®] - MS, e quatro tempos de embebição, 6, 12, 18 e 24 horas, de lotes de sementes de tabaco para as cultivares CSC 447 – Virginia e BAT 2101 – Burley.

FV	GL	Quadrados médios			
		CSC 447		BAT 2101	
		SAD	MS	SAD	MS
Lote	8	7905899,68*	2288473,11*	6607884,00*	346477,98*
Tempo	3	684250,68 ^{ns}	667628,94*	10339304,41 ^{ns}	1076041,12*
Lote*Tempo	24	18990,06 ^{ns}	10714,83 ^{ns}	36607,70 ^{ns}	46551,64 ^{ns}
Repetição	3	9505441,42	519990,10	3549159,77	28830,92
Resíduo	105	1131303,16	45152,33	1687295,84	48109,49
CV (%)		41,71	12,46	49,46	12,98

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F.

Tabela 1H - Análise de variância para germinação – G, contagem aos 7 dias – G7, contagem aos 10 dias – G10 e índice de velocidade de germinação – IVG de lotes de sementes de tabaco submetidos à três diferentes tempos de envelhecimento artificial para a cultivar CSC 447 – Virginia.

FV	GL	Quadrados médios			
		G	G7	G10	IVG
Lote	8	139,99*	52,61*	1507,92*	11,49*
Temperatura	2	397,90*	322,85*	8760,78*	69,91*
Lote*Temperatura	16	122,53*	21,78*	1288,74*	3,71*
Repetição	3	11,83	0,35	61,68	0,70
Resíduo	78	10,81	0,28	44,17	0,51
CV (%)		3,58	8,13	8,17	8,45

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F.

Tabela 1I - Análise de variância para germinação – G, contagem aos 7 dias – G7, contagem aos 10 dias – G10 e índice de velocidade de germinação – IVG de lotes de sementes de tabaco submetidos à três diferentes tempos de envelhecimento artificial para a cultivar BAT 2101 – Burley.

FV	GL	Quadrados médios			
		G	G7	G10	IVG
Lote	8	148,92*	81,35*	345,09*	15,19*
Temperatura	2	59,69*	40,49*	76,70 ^{ns}	34,69*
Lote*Temperatura	16	70,81*	28,62*	157,54*	7,78*
Repetição	3	16,03	0,07	30,22	0,51
Resíduo	78	14,25	0,64	37,74	0,69
CV (%)		4,07	11,54	6,88	

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F.