



THAÍSA FERNANDA OLIVEIRA

**CONDICIONAMENTO FISIOLÓGICO DE
SEMENTES DE *Urochloa* spp.**

LAVRAS - MG

2020

THAÍSA FERNANDA OLIVEIRA

**CONDICIONAMENTO FISIOLÓGICO DE
SEMENTES DE *Urochloa* spp.**

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

Prof.^a Dr.^a Heloisa Oliveira dos Santos
Orientadora

**LAVRAS-MG
2020**

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

Oliveira, Thaísa Fernanda.

Condicionamento fisiológico de sementes de *Urochloa* spp./

Thaísa Fernanda Oliveira. - 2020.

109 p. : il.

Orientador(a): Heloisa Oliveira dos Santos.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2020.

Bibliografia.

1. priming. 2. qualidade de sementes. 3. estresse abiótico. I.
Santos, Heloisa Oliveira dos. II. Título.

THAÍSA FERNANDA OLIVEIRA

**CONDICIONAMENTO FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE *Urochloa* spp.
PHYSIOLOGICAL CONDITIONING OF *Urochloa brizantha* SEEDS**

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

Aprovada em 12 de março de 2020.

Prof. Dr. Anderson Cleiton José

UFLA

Prof.^a Dr.^a Édila Vilela de Resende Von Pinho

UFLA

Prof.^a Dr.^a Raquel Maria de Oliveira Pires

UFLA

Prof.^a Dr.^a Renata Silva Mann

UFS



Prof.^a Dr.^a Heloisa Oliveira dos Santos

Orientadora

LAVRAS-MG

2020

*A Deus, por guiar meus caminhos e me conceder tantas bênçãos.
Aos meus pais José Londe de Oliveira e Maria de Lourdes Beraldo Londe,
pelo amor, apoio, força e pelo exemplo de responsabilidade, dedicação, humildade e
dignidade.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus e Nossa Senhora, pela proteção e por me concederem uma vida cheia de oportunidades e de pessoas maravilhosas no meu caminho.

Aos meus pais, José Londe de Oliveira e Maria de Lourdes Beraldo Londe, por todo amor, apoio, confiança, paciência e força.

A minha orientadora, Prof^a Heloísa Oliveira dos Santos, por toda orientação, ajuda, confiança, dedicação, paciência e comprometimento com o desenvolvimento do trabalho. Em especial, quero agradecer por sua amizade e por ter sido fonte de apoio e força quando mais precisei. Você é um exemplo de ser humano e uma orientadora admirável. Obrigada por toda a contribuição para meu crescimento pessoal e profissional.

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

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao CNPq pelo financiamento dos materiais utilizados durante os experimentos através do Projeto aprovado no edital Universal (426309/2018-9).

À empresa Sementes Mineirão Ltda., pelo fornecimento das sementes para a realização da pesquisa e pela colaboração ao longo do desenvolvimento do projeto.

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

Aos membros da banca de defesa profs., Édila Von Pinho, Raquel Pires, Renata Mann e Anderson José, pela disponibilidade, confiança e sugestões no trabalho.

Aos atuais professores do Setor de Sementes, Édila, Raquel e Everson, e aos professores aposentados, Laene, Renato e João Almir, pelos conhecimentos adquiridos.

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

À Jana, pela amizade, apoio, companheirismo e ajuda. Obrigada por ser meu exemplo de força, serenidade e alegria pra viver a vida.

À Rafa, minha primeira amiga em Lavras, por todo apoio, paciência, amizade, carinho e por sempre acreditar que vai dar tudo certo, mesmo quando eu não acreditava.

Às minhas coorientadas de TCC, Carol, Bárbara e Giselle, pela amizade, ajuda, apoio, experiência e aprendizado.

A todo o grupo de pesquisa da Helô, pela ajuda, apoio, amizade, aprendizado e momentos de descontração.

Às minhas companheiras de casa, Isabela, Fran e Dri, por todos os momentos compartilhados, pela paciência, ajuda, apoio, amizade e carinho.

Ao meu professor e orientador durante a graduação e o mestrado, Leonardo Aquino, pela orientação, ajuda, aprendizado e por acreditar em mim mais do que eu mesma.

A todos os amigos e amigas que conquistei durante esse período. Vocês foram fundamentais nessa fase. Saibam que serei eternamente grata por toda amizade, ajuda, apoio, confiança, conselhos e todos os momentos compartilhados!

A todos que, de algum modo, me apoiaram durante esse período,

MUITO OBRIGADA.

*“Fazer o que você gosta é liberdade.
Gostar do que você faz é felicidade.”
(Frank Tiger)*

RESUMO

O condicionamento fisiológico é uma alternativa para a melhoria do desempenho de sementes que apresentam problemas de germinação, como é o caso das sementes de *Urochloa* spp. O objetivo neste trabalho foi avaliar o efeito do condicionamento fisiológico em sementes de *Urochloa* spp. submetidas à diferentes soluções condicionantes e períodos de condicionamento, através de avaliações de características fisiológicas e expressão enzimática. Também foi avaliada a resposta de sementes pós condicionamento submetidas às condições de déficit hídrico e estresse salino. Foram realizados dois experimentos, um com a espécie *Urochloa brizantha* cv. Marandu e outro com a *Urochloa ruziziensis* cv. Ruziziensis, em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial (5x3)+1, sendo cinco soluções condicionantes, três períodos de condicionamento e um controle (sementes sem condicionamento). As sementes foram submetidas ao condicionamento fisiológico pelos períodos de 12, 42 e 72 horas em água destilada, solução de nitrato de potássio, espermidina, giberelina e nitroprussiato de sódio. Determinou-se: teor de água; germinação; primeira contagem da germinação; índice de velocidade de germinação; sementes viáveis remanescentes do teste de germinação; condutividade elétrica; emergência de plântulas; índice de velocidade de emergência; análise de atividade das enzimas piruvato descarboxilase, álcool desidrogenase, malato desidrogenase, esterase, superóxido dismutase, catalase, peroxidase e alfa-amilase. Para as sementes condicionadas no tempo de 42 horas foram realizados mais dois experimentos com as duas espécies, em que as sementes foram submetidas à condição de salinidade e déficit hídrico em esquema fatorial (3x6), sendo três condições de germinação (água, restrição hídrica com PEG e salinidade com NaCl) e 6 tratamentos que constituíram as cinco soluções condicionantes (água destilada, nitrato de potássio, espermidina, giberelina e nitroprussiato de sódio) mais o controle (sementes não condicionadas). Para estes experimentos foram avaliados: germinação ao sétimo e vigésimo primeiro dia após a semeadura; índice de velocidade de germinação; viabilidade pelo teste de tetrazólio das sementes remanescentes do teste de germinação; e comprimento de plântulas. O condicionamento fisiológico melhora o potencial fisiológico das sementes e o uso de nitroprussiato de sódio como solução condicionante, no tempo de 42 horas, proporciona melhor qualidade para as sementes de *Urochloa brizantha* cv. Marandu e *Urochloa ruziziensis* cv. Ruziziensis. O condicionamento fisiológico é eficiente em minimizar os efeitos negativos da restrição hídrica e salinidade. Sob essas condições, menor porcentagem de sementes dormentes e maior germinação, vigor e desenvolvimento de plantas, para ambas as espécies, foram observados quando foi utilizado o nitroprussiato de sódio.

Palavras-chave: priming, envigoreamento, qualidade de sementes, estresse abiótico.

ABSTRACT

Seed priming is an alternative to improve the performance of seeds that have germination problems, such as *Urochloa* spp. This work aimed to evaluate the effect of priming on seeds of *Urochloa* spp. submitted to different priming solutions and periods of priming, through evaluations of physiological and enzymatic expression. Also, evaluate the response of primed seeds after water deficit and saline stress. Two experiments were carried out, one with the specie *Urochloa brizantha* cv. Marandu and another with *Urochloa ruziziensis* cv. Ruziziensis, in a completely randomized design, with four replications, in a factorial scheme (5x3) +1, with five priming solutions, three periods and one control (not primed seeds). The seeds were submitted to priming for 12, 42 and 72 hours in distilled water, potassium nitrate solution, spermidine, gibberellin and sodium nitroprusside. It was determined: seed moisture; germination; first germination count; germination speed index; viable seeds remaining from the germination test; electrical conductivity; seed emergency; emergency speed index; analysis of the enzymes pyruvate decarboxylase, alcohol dehydrogenase, malate dehydrogenase, esterase, superoxide dismutase, catalase, peroxidase and alpha-amylase. For seeds primed in the 42 hours time, another experiment was carried out for each specie, in which the seeds were submitted to a condition of salinity and water deficit, in a factorial scheme (3x6), with three conditions of germination (water, water restriction with PEG and salinity with NaCl) and 6 treatments that constituted the five priming solutions (distilled water, potassium nitrate, spermidine, gibberellin and sodium nitroprusside) plus the control (not primed seed). For these experiments were evaluated: germination test on the seventh and twentieth day after sowing; germination speed index; viability through tetrazolium test of the remaining seeds from the germination test; and seedling length. Priming improves the physiological potential of seeds and the use of sodium nitroprusside as a priming solution, within 42 hours, provides greater quality for the seeds of *Urochloa brizantha* cv. Marandu and *Urochloa ruziziensis* cv. Ruziziensis. Priming is an efficient technique that minimizes the negative effects of water restriction and salinity environment. Under these conditions, a lower percentage of dormant seeds and greater germination, vigor and plant development were observed when using sodium nitroprusside for both species.

Keywords: priming, invigoration, seed quality, abiotic stress.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1.....	13
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
2.1 Cultivo de espécies forrageiras no Brasil.....	15
2.2 Qualidade de sementes.....	17
2.3 Condicionamento fisiológico de sementes.....	18
2.4 Germinação de sementes sob condições de restrição hídrica e salinidade.....	23
REFERÊNCIAS.....	25
CAPÍTULO 2.....	31
1 INTRODUÇÃO.....	33
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	35
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
4 CONCLUSÕES.....	50
REFERÊNCIAS.....	51
CAPÍTULO 3.....	55
1 INTRODUÇÃO.....	57
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	59
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	62
4 CONCLUSÕES.....	73
REFERÊNCIAS.....	74
CAPÍTULO 4.....	78
1 INTRODUÇÃO.....	80
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	82
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	84
4 CONCLUSÕES.....	90
REFERÊNCIAS.....	91
CAPÍTULO 5.....	94
1 INTRODUÇÃO.....	96
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	97
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	99

4	CONCLUSÕES.....	106
	REFERÊNCIAS.....	107

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

A obtenção de sementes de forrageiras com alta qualidade tem sido um desafio principalmente pela desuniformidade na emissão de inflorescências; florescimento irregular nas panículas; baixo número de flores férteis; alta deiscência natural e dormência das sementes. A dormência é um fenômeno fisiológico que dificulta a distribuição uniforme das populações no tempo e favorece o aparecimento de plantas invasoras na área, sendo considerada um dos fatores mais limitantes para a alta produtividade do gênero (BATISTA et al., 2016b; BONOME et al., 2017; RIBEIRO et al., 2019).

Uma alternativa promissora para os problemas relacionados à germinação de sementes de forrageiras e, conseqüentemente, a formação de um estande uniforme, é o *priming* ou condicionamento fisiológico de sementes (BATISTA et al., 2016a; BONOME et al., 2017; BATISTA et al., 2018). Esta técnica consiste em sincronizar e reduzir o tempo de germinação das sementes por hidratação controlada, desencadeando o início de processos fisiológicos (fases I e II da germinação), sem protrusão radicular na fase III (BATISTA et al., 2018; PEREIRA et al., 2018; RIBEIRO et al., 2019).

Assim, o condicionamento envolve o umedecimento parcial das sementes, o que ajuda a desbloquear os processos metabólicos que ocorrem durante as fases iniciais de germinação, prevenção da protrusão radicular e manutenção da tolerância à dessecação (BONOME et al., 2017; RIBEIRO et al., 2019). Como resultado, as sementes se preparam para germinação por reestruturação de membranas e reorganização dos sistemas metabólicos, o que favorece uma germinação uniforme quando as condições se tornam favoráveis ou até mesmo em ambientes adversos (KAISER et al., 2016; BONOME et al., 2017; BARBIERI et al., 2019).

Em estudos encontrados na literatura tem sido observado que o condicionamento das sementes de *Urochloa* sp. proporciona menor porcentagem de sementes dormentes e maior porcentagem de germinação e de emergência de plântulas em menor tempo (BONOME et al., 2017; BATISTA et al., 2018; PEREIRA et al., 2018; RIBEIRO et al., 2019).

É válido ressaltar ainda que a germinação de sementes é um processo crítico no ciclo de vida das plantas. Quantidades excessivas de sais e deficiência de água no solo são fatores abióticos que podem interferir diretamente nesse processo e conseqüentemente no desenvolvimento da cultura (KAISER et al., 2016; BARBIERI et al., 2019). Sendo que um dos principais efeitos benéficos do condicionamento relatado em diferentes culturas é conferir

resistência à deficiência hídrica e aumento da concentração salina (BATISTA et al., 2016a; KAISER et al., 2016; ZHENG et al., 2016; LIU et al., 2018; BARBIERI et al., 2019). Portanto, o condicionamento fisiológico pode ser uma ferramenta utilizada para melhorar a expressão do vigor, principalmente em situações adversas.

Desta forma, há a necessidade do desenvolvimento de pesquisas, com a finalidade de verificar a eficiência do condicionamento fisiológico de sementes de *Urochloa* sp. bem como identificar o agente osmótico que possibilite as melhores respostas das sementes, e também a resposta destas sementes pós condicionamento às condições de estresses abióticos. Diante disto, o objetivo no trabalho é avaliar o efeito do condicionamento fisiológico em sementes de *Urochloa* spp. submetidas a diferentes soluções condicionantes e períodos de condicionamento, por meio de avaliações de características fisiológicas e expressão enzimática. Também avaliar a resposta de sementes pós condicionamento sob estresse hídrico e salino.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cultivo de espécies forrageiras no Brasil

Historicamente, o cultivo de espécies forrageiras ocorreu no Brasil de forma extensiva, em grandes áreas e com pouco ou nenhum investimento tecnológico. No entanto, o sucesso da implantação e expansão das áreas de pastagens de braquiária ocorreu principalmente por dois motivos: a adaptação das plantas às condições edafoclimáticas do Brasil Central e Amazônia, e a disponibilidade de sementes no mercado (ANDRADE, 1994).

A disponibilidade de sementes foi garantida inicialmente pelo elevado número de importações de sementes da Austrália e posteriormente pela produção local, principalmente a partir da década de 1970. Nesta década, o Brasil passou de maior importador a maior exportador de sementes do gênero *Urochloa* spp. (ANDRADE, 1994).

Foi a partir de 1970 que ocorreu a mudança na formação das pastagens brasileiras, com a utilização progressiva de sementes de melhor qualidade (NERY, 2012). Pesquisas ajudaram na identificação e na adaptação de diversas espécies de braquiárias indicando inclusive os melhores manejos. No entanto, quanto à produção de sementes, houve poucas pesquisas, e o desenvolvimento da atividade ocorreu em grande parte pelo empenho da iniciativa privada, principalmente no estado de São Paulo (ANDRADE, 1994).

Para a formação e renovação do cultivo de pastagens no Brasil, segundo Souza (2001), a disponibilidade de sementes de plantas forrageiras tropicais ocorreu em três fases. Na primeira fase, ocorrida no período anterior à década de 1970, as poucas áreas cultivadas com pastagens tropicais eram com capim colônia (*Panicum maximum*), estrela (*Cynodon plectostachyus*), gordura (*Melinis minutiflora*) e jaraguá (*Hyparrhenia rufa*), todos de origem africana e de introdução acidental ocorridas possivelmente no século XVIII via tráfico negreiro.

A segunda fase ocorreu pela importação comercial de grandes quantidades de sementes da Austrália no início do ano de 1970, com grande impulso às áreas cultivadas de pastagens principalmente do gênero *Urochloa* spp., como *U. decumbens*, *U. humidicola*, *U. ruziziensis*, cultivares de *Panicum maximum*, entre outras, incluindo leguminosas forrageiras. A terceira fase correspondeu ao desenvolvimento de cultivares pelo sistema público de pesquisa brasileira, e com o marco importante na liberação pela Embrapa em 1984 da *U. brizantha* cv. Marandu.

As áreas de pastagens no Brasil ocupam grande parte do território nacional, onde são cultivados 161,7 milhões de hectares com pastagens, sendo 150,5 milhões de pastagens em uso exclusivo e 11,8 milhões de pastagens em uso integrado (ABIEC, 2018). Nessas áreas se

desenvolvem preferencialmente a criação de bovinos de corte e leiteiro, responsáveis por produtos de consumo direto, produtos industrializados, e também para exportação de carnes. No cenário mundial o rebanho bovino brasileiro é o maior, com cerca de 214,7 milhões de cabeças de gado sendo o país responsável pelas maiores exportações de carne, o que representa 14,4% da produção mundial (ABIEC, 2018).

Embora seja uma das atividades mais exponenciais da economia do país, grande parte das áreas de pastagens cultivadas são de baixa tecnologia, com baixa lotação animal por hectare (ABIEC, 2018). Para melhoria desta situação, deve-se considerar que, entre os vários fatores para implantação de novas áreas ou renovação de pastagens, o uso de sementes de alta qualidade apresenta-se como fator primordial na obtenção do sucesso.

No mercado de sementes forrageiras, o Brasil ocupa a posição como o maior produtor, consumidor e exportador destas sementes (ABRASEM, 2018). Isso se deve, principalmente, pelo país possuir condições edafoclimáticas favoráveis à produção de sementes de espécies forrageiras. Possui também a presença de empresas de sementes consolidadas e a disponibilidade de cultivares adaptadas (ZANUZO; MULLER; MIRANDA, 2015).

Na safra 2017/2018, a produção de sementes de forrageiras tropicais no Brasil foi de aproximadamente 324 mil toneladas. Mato Grosso, Goiás e Minas Gerais são responsáveis pela maior parte desta produção, sendo o primeiro, o segundo e o terceiro maior produtor, respectivamente, com produções de aproximadamente 77, 62 e 61 mil toneladas (ABRASEM, 2018).

Estima-se que no Brasil mais de 85% da área ocupada por forrageiras seja do gênero *Urochloa* (BARBOSA, 2006). Esse gênero destaca-se nas regiões de pecuária por apresentar espécies com alta produção de matéria seca, palatabilidade, adaptação a diversos tipos de solo e resistência a doenças. No entanto, mesmo o Brasil liderando o setor de sementes forrageiras, o mercado ainda tem muito a desenvolver, há a necessidade de mais conhecimento sobre as cultivares, devido ao grande número de cultivares à disposição do produtor, à extensão territorial do país e à diversidade de climas. E ainda é importante conhecer melhor a fisiologia das sementes para colher, beneficiar, tratar, armazenar e analisá-las de maneira adequada.

Além disso, os mercados interno e externo, estão cada vez mais exigentes, com consciência da importância da qualidade das sementes no estabelecimento rápido e uniforme do dossel de plantas no campo, pressionando a indústria sementeira cada vez mais a buscar produzir sementes de alta qualidade fisiológica e de baixo custo. No campo, a utilização de sementes com alta qualidade fisiológica, genética, física e sanitária, é essencial, pois apresentam

maior capacidade de suportar condições adversas, além de evitar contaminação genética e física (ZHENG et al., 2016; AMARO et al., 2019; DECARLI et al., 2019)

2.2 Qualidade de sementes

Para o estabelecimento de pastagens de boa qualidade, além de manejo adequado, é muito importante o uso de sementes com alto poder germinativo e vigor (CARDOSO et al., 2014; CARDOSO et al., 2015). A qualidade da semente é expressa pela interação de quatro componentes: genético (características intrínsecas da cultivar, no que diz respeito à produtividade, resistência a pragas e doenças, etc.); fisiológico (potencial de longevidade da semente e sua capacidade para gerar uma planta perfeita e vigorosa); físico (pureza física do lote e condição física da semente) e sanitário (insetos e microrganismos prejudiciais às sementes) (MARCOS FILHO, 2015).

De maneira objetiva, as normas e padrões gerais de qualidade de sementes de espécies forrageiras de clima tropical, de acordo com a Instrução Normativa nº 30 de 21 de maio de 2008, estabelecem que sejam realizados os testes de: pureza física; germinação; viabilidade de sementes pelo teste de tetrazólio; outras cultivares; sementes silvestres; sementes nocivas toleradas; e sementes nocivas proibidas.

No entanto, mesmo o laboratório adotando os parâmetros técnicos recomendados, permanece o problema de heterogeneidade entre e dentro de lotes (NERY et al., 2012). Essa grande heterogeneidade nos lotes dessas sementes é devida, principalmente, à falta de sincronismo nas etapas de florescimento e produção de sementes e às formas de colheita e manuseio da semente (LAURA et al., 2009; NERY et al., 2012).

A história do melhoramento genético dessas espécies também lhes confere certas características selvagens, dificultando sua produção comercial e a obtenção de lotes mais homogêneos (MASCHIETTO, 1994; MACÊDO et al., 2005). Dentre as principais características estão o período prolongado de emissão das inflorescências e da abertura de flores entre e dentro de uma mesma inflorescência, queda natural (degrana) das sementes, por ocasião da maturação, ou mesmo antes, e dormência das sementes (MASCHIETTO, 1994; LAURA et al., 2009). A situação é ainda agravada pelo fato de o critério de seleção destas espécies ser para produção de forragem e não para sementes (MACÊDO et al., 2005).

Quanto a dificuldade de se obter alta qualidade relacionada aos hábitos de produção de sementes pelas plantas de braquiárias, Maschietto (1994) relaciona como fatores: desuniformidade na emergência ou emergência prolongada de inflorescências entre plantas;

florescimento prolongado dentro das inflorescências; e baixa retenção das sementes formadas. Especificamente quanto ao sistema de colheita por varredura, que é o mais usual, Maschietto (1994) argumenta que se o ano é seco durante o período de colheita, proporciona semente com boa germinação, porém a pureza física é muito baixa.

Nery et al., (2012) citam a maturação como o parâmetro mais significativo no material de boa qualidade, com consequência no melhor armazenamento. Também descrevem reduções na qualidade e na quantidade em colheitas antecipadas, e outras perdas em colheitas atrasadas decorrentes do ataque de pássaros, insetos, fungos e principalmente da interação da temperatura com a umidade. Laura et al. (2009) incluem a dormência das sementes, fenômeno fisiológico que dificulta o estabelecimento uniforme das populações e consequentemente favorece o surgimento de plantas invasoras na pastagem formada, como um dos principais problemas para obtenção de sementes de qualidade.

Segundo Lima et al. (2007), as sementes de *Uroclhoa* spp. possuem desuniformidade de maturação decorrente da irregularidade de florescimento dentro e entre inflorescências e dormência primária, o que proporciona uma germinação lenta, irregular e desuniforme. O que dificulta o estabelecimento uniforme das populações de plantas, favorecendo o surgimento de plantas invasoras em pastagem recém semeadas. Diante disso, a utilização de técnicas que possam auxiliar na uniformidade de germinação de sementes de braquiária torna-se uma alternativa promissora para garantir mais qualidade destas sementes.

2.3 Condicionamento fisiológico de sementes

Desde os anos de 1970 pesquisadores tentam melhorar a germinação das sementes com tratamentos pré-semeadura, envolvendo a iniciação do metabolismo de germinação. Dentre os procedimentos desenvolvidos, destaca-se o condicionamento fisiológico, especialmente em virtude dos benefícios sobre o desempenho das sementes (MARCOS FILHO, 2015; BONOME et al., 2017; BATISTA et al., 2018).

O termo condicionamento fisiológico de sementes é utilizado pela indústria sementeira e por pesquisadores para abranger o conjunto de técnicas destinadas a realçar a qualidade ou beneficiar o desempenho de lotes de sementes e/ou plântulas produzidas. O objetivo principal da técnica é garantir a uniformidade de germinação e o estabelecimento das plântulas (BONOME et al., 2017; BATISTA et al., 2018; RIBEIRO et al., 2019).

Este método permite que ocorra procedimentos de reparo nas membranas das células da semente, o que melhora o vigor do lote sujeito ao tratamento (BONOME et al., 2017; BATISTA

et al., 2018; RIBEIRO et al., 2019). Por reduzir o tempo de germinação e padronizar este processo, este tipo de método permite a germinação em variáveis condições de temperatura, luz, solo e disponibilidade de água, possibilitando ainda, elevado desenvolvimento da parte aérea e aceleração no crescimento das plantas (MARCOS FILHO, 2015; PEREIRA et al., 2018).

O vigor das sementes é o componente da qualidade fisiológica mais influenciado pelo condicionamento fisiológico (MARCOS FILHO, 2015). Por essa razão, o tratamento tem sido designado na literatura como um envigoramento de sementes (SILVA et al., 2016). No entanto, Marcos Filho (2015) explica que essa impressão de “envigoramento” ocorre porque a germinação é praticamente instantânea após o condicionamento fisiológico; o efeito principal é a redução da diferença da atividade metabólica das sementes mais e menos vigorosas, caracterizando a uniformidade de germinação.

Por envolver a absorção de água pela semente, sob condições controladas, o condicionamento fisiológico ativa o metabolismo das sementes durante as fases I e II da embebição, sem que ocorra a protrusão da raiz primária (fase III) (BONOME et al., 2017; BATISTA et al., 2018; RIBEIRO et al., 2019). Dessa maneira, ativam-se a digestão das reservas e sua translocação e assimilação, para que as sementes componentes do lote alcancem estado metabólico relativamente uniforme quando o acesso à água é interrompido. Conforme destacaram Heydecker e Gibbins (1977) e Marcos Filho (2015), após terem atingido mais rapidamente o potencial hídrico desejado, as sementes mais vigorosas aguardam as menos vigorosas atingirem o mesmo estado metabólico. Desta forma, a germinação é praticamente instantânea após o condicionamento fisiológico e o efeito principal é a redução da diferença da atividade metabólica das sementes mais e menos vigorosas, caracterizando a uniformidade de germinação.

A técnica pode ser aplicada através de várias formas, como imersão direta em água, umedecimento de substratos para embebição e contato com substâncias que realizam o osmocondicionamento. Este último, se baseia na hidratação da semente de maneira equilibrada, utilizando soluções de baixo potencial hídrico, onde o composto utilizado deve ser quimicamente inerte, mas osmoticamente ativo, como o NaCl, KNO₃, MgSO₄ e polietileno glicol (PEG), em temperaturas e períodos definidos (BHANUPRAKASH; YOGESHA, 2016).

Para uma absorção de água suficiente para ocorrência dos processos fisiológicos iniciais da germinação, é necessário que esta seja absorvida de forma equilibrada e que a absorção seja interrompida quando ocorre o equilíbrio entre o potencial osmótico da solução e das sementes

(ALMEIDA et al., 2016; MARCOS FILHO, 2015). Em seguida, estas sementes podem ser secadas até atingir a umidade antes do condicionamento, sem perder o processo adquirido pela embebição posterior, o que possibilita que as sementes sejam armazenadas por um determinado tempo até a semeadura (WOJTYLA et al., 2016).

Com a reestruturação do sistema de membranas durante o condicionamento ocorre a manutenção da permeabilidade seletiva, as membranas estruturadas não permitem a entrada rápida de água e nem a liberação excessiva de exsudados (RIBEIRO et al., 2019). De acordo com Nascimento et al. (2009), o condicionamento pode provocar alterações no estado energético da água, modificando sua distribuição entre os vários sítios de ligação de diferentes tecidos. Essa redistribuição de água no interior das sementes pode ser uma das razões para a maior velocidade de germinação após o tratamento, pois há maior disponibilidade de água e aumento do nível de hidratação das macromoléculas que participam do processo germinativo, reduzindo também a disponibilidade da ocorrência de injúrias durante a embebição (RIBEIRO et al., 2019).

É importante ressaltar que, para que haja sucesso, alguns fatores devem ser manuseados cuidadosamente como, temperatura, luz, concentração da solução, período de duração do tratamento, o tipo de soluto a ser utilizado, o método e tempo de secagem após o condicionamento. Tais fatores variam consideravelmente dependendo da espécie a qual irá trabalhar, do lote, das condições edafoclimáticas, tamanho e tratamento que as sementes irão receber, desde a época de sua produção e ao longo de sua vida (CARDOSO et al., 2015).

As atividades metabólicas durante o condicionamento incluem o reparo de outras macromoléculas, do mRNA e de enzimas hidrolíticas que atuam durante a mobilização de reservas (PILL, 1995; MARTÍNEZ, 2013). O pesquisador Pill (1995) destacou a importância dos efeitos do condicionamento fisiológico sobre os ajustes do potencial osmótico celular, o acréscimo do turgor radicular e a ação de enzimas que provocam o enfraquecimento de tecidos que restringem a expansão da radícula durante a germinação.

Segundo Powell (1998), durante o condicionamento de lotes de sementes envelhecidas ou deterioradas, com médio e baixo vigor, o reparo metabólico proporcionado pela lenta embebição poderia auxiliar a reverter determinados mecanismos relacionados à deterioração. Contudo, este processo de reversão ainda não pode ser generalizado, pois depende das condições de condicionamento fisiológico, espécie e propriedades intrínsecas da semente (MARTÍNEZ, 2013).

Além disso, o tipo de soluto utilizado pode influenciar no sucesso do tratamento, sendo que o melhor agente condicionante varia entre as espécies (OLIVEIRA, 2016). Vários agentes

condicionantes podem ser utilizados no condicionamento fisiológico das sementes, dentre eles estão a água (YAN, 2017), o nitrato de potássio (RIBEIRO et al., 2019), a espermidina (LOPES et al., 2018; WANG et al., 2018), a giberelina (BATISTA et al., 2015; MITCHELL et al., 2018; LI; YANG; ZHANG, 2019) e o nitroprussiato de sódio (KAISER et al., 2016; PIRES et al., 2016).

Além da importância da água para que ocorram todos os reparos nas células das sementes e o restabelecimento dos mecanismos necessários para a germinação, seu uso como agente condicionante é bastante relatado (FARAJOLHAHI, EISAND, 2016; YAN, 2017; SINGH; GUPTA; DHINGRA, 2018). Outra vantagem da água é a não utilização de produtos químicos, evitando possível interferência de substâncias indesejáveis à semente durante a absorção.

Com relação ao nitrato de potássio, há resultados promissores na melhoria da qualidade fisiológica de várias espécies, incluindo *Urochloa brizantha* (ENTESARI et al., 2013; BINOTTI et al., 2014; CARDOSO et al., 2015; BONOME et al. 2017; RIBEIRO et al., 2019). Libório et al. (2017) observaram resultados positivos na superação da dormência de sementes nos tratamentos com nitrato de potássio e justificam que o motivo da dormência das sementes de *Urochloa brizantha* 'BRS Tupi' foi a restrição das trocas gasosas. Além disso, com o uso do nitrato de potássio como agente condicionante, íons de K^+ ficam presentes no conteúdo celular. Estes íons atuam como cofatores em numerosos sistemas enzimáticos e a sua absorção pela semente pode favorecer a germinação e também atuar como fonte adicional de potássio e nitrogênio durante a germinação das sementes (LARA et al., 2014; OLIVEIRA, 2016; NAWAZ et al., 2017).

No grupo das poliamidas, a espermidina tem se mostrado eficiente para melhorar a germinação e o vigor das sementes de várias espécies e aumentar a tolerância ao estresse abiótico das plantas (PAUL, ROYCHOUDHURY, 2017; WANG et al., 2018; YALAMALLE et al., 2019). As poliamidas são relatadas como catalizadores e ativadores das principais enzimas antioxidantes (YALAMALLE et al., 2019). Várias evidências provam que as poliamidas participam da regulação das respostas das plantas a vários estresses ambientais como seca, calor, resfriamento ou estresse osmótico como a salinidade, por ligação direta dos fosfolipídios de membrana, captando radicais livres, fazendo o ajuste osmótico, mantendo o cátion em equilíbrio e ligando-os as enzimas antioxidantes para aumentar suas atividades (LI et al., 2014; HUSSAIN et al., 2015; LOPES et al., 2018; YALAMALLE et al., 2019).

Com o intuito de favorecer o processo germinativo durante o condicionamento osmótico, em algumas pesquisas tem sido utilizada giberelina associada a essa técnica. As

giberelinas são substâncias que exercem papel chave na germinação de sementes, estando envolvidas tanto na superação da dormência como no controle da hidrólise de reservas (SILVA et al., 2016; MITCHELL et al., 2018; LI; YANG; ZHANG, 2019). O ácido giberélico estimula a alfa-amilase e outras enzimas hidrolíticas, promovendo hidrólise de reservas armazenadas na semente. Além da alfa-amilase, existem outras enzimas hidrolíticas (protease, hidrolises, N-redutases), as quais são produzidas em resposta ao GA3 (MITCHELL et al., 2018; LI et al., 2018; LI; YANG; ZHANG, 2019).

No caso do nitroprussiato de sódio (ON) há escassez de trabalhos sobre a forma como age nas sementes submetidas ao condicionamento fisiológico, porém o seu efeito sob o processo germinativo de sementes já foi comprovado em diversos trabalhos, demonstrando que é eficiente na superação de dormência de várias espécies, entre elas a alface (BELIGNI; LAMATTINA, 2000), cevada (BETHKE et al., 2004), *Arabidopsis* (BETHKE; LIBOUREL; JONES, 2006; LIBOUREL et al., 2006) e *Paulownia tomentosa* (GIBA et al., 1998). O nitroprussiato de sódio é um composto químico de fórmula $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ que serve como fonte de óxido nítrico (ON). A aplicação de doadores de ON também faz com que as sementes germinem mais e mais rápido (ATAÍDE et al., 2015; KAISER et al., 2016; PIRES et al., 2016), e aumenta a atividade de enzimas do sistema antioxidante (SILVA et al., 2019).

O ON também é capaz de diminuir os efeitos do envelhecimento das sementes armazenadas (PEREIRA et al., 2010) assim como aumenta a tolerância da semente a diversos estresses abióticos, como estresse hídrico, salino e por metais pesados (SILVA et al., 2015; KAISER et al., 2016; PIRES et al., 2016). O estresse oxidativo, provocado pelo aumento da concentração de superóxido, peróxido de hidrogênio e peróxidos de alquila, pode ser combatido pelo óxido nítrico, uma vez que o mesmo possui propriedades antioxidantes (SILVA et al., 2015; PIRES et al., 2016).

Além disso, o ON pode reagir com tirozinases pelo processo de nitração ou com os resíduos de tiol pela oxidação. Na presença de metais de transição, como ferro, cobre ou zinco, o ON pode interagir para formar complexos metal-nitrosil. Estes complexos podem estar relacionados aos efeitos regulatórios dos fatores de transcrição do ON e certas enzimas (SILVA et al., 2015; PIRES et al., 2016). A tolerância se dá pelo estímulo à atividade de uma ou mais enzimas do sistema antioxidativo como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POX) e peroxidase do ascorbato (APX), diminuindo a ação de espécies reativas de oxigênio (EROs) (SILVA et al., 2015; PIRES et al., 2016).

Um dos principais efeitos benéficos do condicionamento relatado por diferentes autores é conferir resistência à estresses abióticos como deficiência hídrica e aumento da concentração

salina (BONOME et al., 2017; BATISTA et al., 2018; PEREIRA et al., 2018; BARBIERI et al., 2019; RIBEIRO et al., 2019; SABERALI et al., 2019).

2.4 Germinação de sementes sob condições de restrição hídrica e salinidade

Salinidade e déficit hídrico são os principais estresses abióticos que afetam a produtividade das culturas ao redor mundo, especialmente nas regiões áridas e semi-áridas (BHANUPRAKASH; YOGEESSHA, 2016). Esses fatores interferem diretamente na germinação das sementes e com isso no desenvolvimento da cultura, limitando o desempenho máximo da produção (BHANUPRAKASH; YOGEESSHA, 2016).

A germinação é um estágio crítico no ciclo de vida das plantas e o movimento da água presente na solução através dos tecidos da semente é necessário para o acionamento adequado do processo de germinação (BHANUPRAKASH; YOGEESSHA, 2016; SANTOS et al., 2016). Esse movimento depende da presença de um gradiente de potencial hídrico, que é reduzido quando há presença de sais e eventualmente restringe a absorção de água das sementes (PEREIRA et al., 2014). Essas condições de estresse diminuem a velocidade de emergência e de desenvolvimento da plântula, afetam o número de folhas, sementes por planta, tamanho e massa de sementes (JOSÉ et al., 2016; LIU et al., 2018; BARBIERI et al., 2019).

Em regiões com essas adversidades recorrentes, a absorção de água pelas sementes durante o processo de germinação é dificultada pela negatividade do potencial matricial do solo (SANTOS et al., 2016). Além da restrição de absorção de água, podem ocorrer efeitos tóxicos nas sementes em processo de germinação que levam a alterações no metabolismo celular, redução na porcentagem e velocidade de germinação e mudanças no desenvolvimento e crescimento (PELEGRINI et al., 2013; SANTOS et al., 2016).

Estudos da germinação das sementes em substratos salinizados e com restrição hídrica é um possível método promissor para se determinar a tolerância das plantas ao excesso de sais e déficit hídrico no campo (BHANUPRAKASH; YOGEESSHA, 2016; JOSÉ et al., 2016). Um dos métodos usados para determinar a tolerância de uma planta ao déficit hídrico é avaliar a capacidade de germinação com o uso de polietileno glicol (PEG) (MASETTO et al., 2013), composto inorgânico que reduz o potencial osmótico da solução e realiza uma restrição controlada na embebição sem causar toxicidade.

Para a sinalização do estresse hídrico também são utilizadas soluções salinas, já que as respostas das plantas à seca e à salinidade estão intimamente relacionadas e os mecanismos se sobrepõem, sugerindo que em ambos o estresse é percebido pelas células como um evento de

privação de água (BHANUPRAKASH; YOGEESSHA, 2016). Porém, a salinidade não atua apenas por restringir a absorção de água e causar estresse hídrico, mas também causa toxicidade, devido aos íons Na^+ e Cl^- (LIANG et al., 2018). A presença desses íons cria um desequilíbrio iônico no citoplasma celular, que pode levar à formação de espécies reativas de oxigênio; as quais causam peroxidação lipídica da membrana, danos ao DNA, desnaturação de proteínas, oxidação de carboidratos e diminuição da atividade enzimática (LIANG et al., 2018).

Para incrementar a germinação e melhorar a uniformidade e velocidade de emergência em campo as sementes podem ser submetidas aos tratamentos pré-germinativos, como o condicionamento fisiológico (MASETTO et al., 2013; BHANUPRAKASH; YOGEESSHA, 2016; JOSÉ et al., 2016). Esse permite que os procedimentos de reparo sejam ativados e reduza os danos presentes nas membranas das células da semente, com isso melhora o vigor do lote sujeito ao tratamento (BHANUPRAKASH; YOGEESSHA, 2016).

Por reduzir o tempo de germinação e padronizar este processo, o condicionamento propicia mais tolerância sob condições desfavoráveis no campo. Além disso, diminui os efeitos das variações ambientais, o que permite a germinação em variáveis condições de temperatura, luz, solo e disponibilidade de água, e possibilita ainda, elevado desenvolvimento da parte aérea e aceleração no crescimento das plantas (ZHENG et al., 2016; BONOME et al., 2017; BATISTA et al., 2018; PEREIRA et al., 2018; RIBEIRO et al., 2019). Como esses processos iniciais da germinação são ativados ainda em condições ótimas, a técnica fornece uma vantagem às sementes quando estas forem expostas às condições adversas de salinidade e déficit hídrico.

REFERÊNCIAS

- ABIEC - **Perfil de Pecuária no Brasil** – Relatório Anual 2018 (Abiec, Brazilian Beef, Apex Brasil). Disponível em: <http://www.abiec.com.br/control/uploads/arquivos/sumario2019portugues.pdf>. Acesso em: janeiro de 2020.
- ABRASEM - **Associação Brasileira de Sementes e Mudanças**. Anuário 2018. Disponível em: http://www.abrasem.com.br/wp-content/uploads/2020/06/Arte_Anuario2018_COMPLETO_WEB.pdf. Acesso em: janeiro de 2020.
- ALMEIDA, A. S. et al. Protrusão da radícula e métodos para superação de dormência de sementes de trigo. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 15, n. 3, p. 271-276, 2016.
- AMARO, H. T. R. et al. Qualidade fisiológica de sementes de crambe tratadas com zinco e molibdênio. In **Colloquium Agrariae**, Presidente Prudente, v. 15, n. 2, p. 133-139, 2019.
- ANDRADE, R. P. Tecnologia de produção de sementes de espécies do gênero *Brachiaria*. In: PEIXOTO, A. M. et al. (Ed.). **Anais do 11º simpósio sobre manejo da pastagem**. Piracicaba: ed. FEALQ, 1994. p. 49-72.
- ATAÍDE, G. M. Óxido nítrico na germinação de sementes de baixo vigor de *Dalbergia nigra*. **Revista de Ciências Agrárias**, Recife, v. 38, n. 3, p. 438-444, 2015.
- BARBIERI, G. F. et al. Seed germination and initial growth of quinoa seedlings under water and salt stress. **Journal of Agricultural Science**, Toronto, v. 11, n. 15, p. 153-161, 2019.
- BARBOSA, R. A. **Morte de pastos de braquiárias**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2006. 206 p.
- BATISTA, T. B. et al. Appropriate hydration period and chemical agent improve priming in brachiaria seeds. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 46, n. 3, p. 350-356, 2016b.
- BATISTA, T. B. et al. Aspectos fisiológicos e qualidade de mudas da pimenteira em resposta ao vigor e condicionamento das sementes. **Bragantia**, Campinas, v. 74, n. 4, p. 367-373, 2015.
- BATISTA, T. B. et al. Priming and stress under high humidity and temperature on the physiological quality of *Brachiaria brizantha* cv. MG-5 seeds. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 38, n. 1, p. 123-127, 2016a.
- BATISTA, T. B. et al. Priming of brachiaria seeds with different sugar sources and concentrations. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 31, n. 4, p. 843-849, 2018.
- BELIGNI, M. V.; LAMATTINA, L. Nitric oxide stimulates seed germination and de-etiolation, and inhibits hypocotyl elongation, three light-inducible responses in plants. **Planta**, Berkeley, v. 210, n. 2, p. 215-221, 2000.

BETHKE, P. C.; LIBOUREL, I. G.; JONES, R. L. Nitric oxide reduces seed dormancy in *Arabidopsis*. **Journal of Experimental Botany**, Potsdam, v. 57, n. 3, p. 517-526, 2006

BETHKE, P.C. et al. Dormancy of *Arabidopsis* seeds and barley grains can be broken by nitric oxide. **Planta**, Berkeley, v. 219, n. 5, p. 847-855, 2004.

BHANUPRAKASH, K.; YOGESHA, H. S. Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. **In Abiotic Stress Physiology of Horticultural Crops**, New Delhi, p. 103-117, 2016.

BINOTTI, F. F. D. S. et al. Tratamentos pré-germinativos em sementes de *Brachiaria*. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 9, n. 4, 614-618, 2014.

BONOME, L. T. et al. Osmoconditioning of *Urochloa brizantha* seeds to reduce pelleting negative effects. **Brazilian Journal of Agriculture-Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 92, n. 2, p. 87-100, 2017.

CARDOSO, E. D. et al. Desempenho fisiológico e superação de dormência em sementes de *Brachiaria brizantha* submetidas a tratamento químico e envelhecimento artificial. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 1, p. 21-37, 2014.

CARDOSO, E. D. et al. Qualidade fisiológica e composição química de sementes de *Brachiaria brizantha* em função do condicionamento osmótico. **Journal of Neotropical Agriculture**, Cassilândia, v. 2, n. 2, p. 42-48, 2015.

DECARLI, L., et al. Tratamento industrial em sementes de soja: qualidade fisiológica e desempenho da cultura. **Brazilian Journal of Agricultural Sciences/Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Piracicaba, v. 14, n. 3, 2019.

ENTESARI, M. et al. Seed biopriming with *Trichoderma* species and *Pseudomonas* fluorescent on growth parameters, enzymes activity and nutritional status of soybean. **International Journal of Agronomy and Plant Production**, Gorgan, v. 4, n. 4, p. 610-619, 2013.

FARAJOLHAHI, Z.; EISVAND, H. R. Storage duration and temperature of hydropriming seeds affects some growth indices and yield of wheat. **Iranian Journal of Plant Physiology**, Saveh, v. 7, n. 1, p. 1909-1907, 2016.

GIBA, Z. et al. Effect of nitric oxide-releasing compounds on phytochrome-controlled germination of Empress tree seeds. **Plant Growth Regulation**, Dresden, v. 2, n. 3, p. 175-181, 1998.

HEYDECKER, W.; GIBBINS, B. M. The 'priming' of seeds. **In Symposium on Seed Problems in Horticulture**, Sutton Bonington, v. 83, p. 213-224, 1977.

HUSSAIN, S. et al. Benefits of rice seed priming are offset permanently by prolonged storage and the storage conditions. **Scientific Reports**, London, v. 5, n. 1, p. 1-12, 2015.

JOSÉ, A. C. et al. Influence of priming on *Eucalyptus* spp. seeds' tolerance to salt stress. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 38, n. 4, p. 329-334, 2016.

KAISER, I. S. et al. Efeito de liberadores de óxido nítrico na qualidade fisiológica de sementes de repolho sob salinidade. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 63, n. 1, p. 39-45, 2016.

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

LAURA, V. A. et al. Qualidade física e fisiológica de sementes de braquiárias comercializadas em Campo Grande-MS. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 1, p. 326-332, 2009.

LI, Q.; YANG, A.; ZHANG, W. H. Higher endogenous bioactive gibberellins and α -amylase activity confer greater tolerance of rice seed germination to saline-alkaline stress. **Environmental and Experimental Botany**, Barcelona, v. 162, p. 357-363, 2019.

LI, Z. et al. Exogenous spermidine improves seed germination of white clover under water stress via involvement in starch metabolism, antioxidant defenses and relevant gene expression. **Molecules**, Basel, v. 19, n. 11, p. 18003-18024, 2014.

LI, Z. et al. Reactive oxygen species and gibberellin acid mutual induction to regulate tobacco seed germination. **Frontiers in Plant Science**, Parkville, v. 9, p. 1279, 2018.

LIANG, W. et al. Plant salt-tolerance mechanism: a review. **Biochemical and biophysical research communications**, Martinsried, v. 495, n. 1, p. 286-291, 2018.

LIBÓRIO, C. B. D. et al. Potassium nitrate on overcoming dormancy in *Brachiaria humidicola* 'BRS Tupi' seeds. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 47, n. 6, 2017.

LIBOUREL, I. G. et al. Nitric oxide gas stimulates germination of dormant Arabidopsis seeds: use of a flow-through apparatus for delivery of nitric oxide. **Planta**, Berkeley, v. 223, n. 4, p. 813-820, 2006.

LIMA, A.E.D. **Condicionamento osmótico de sementes de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf**. 2007. 48 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2007.

LIU, L. et al. Salinity inhibits rice seed germination by reducing α -amylase activity via decreased bioactive gibberellin content. **Frontiers in Plant Science**, Parkville, v. 9, p. 275, 2018.

LOPES, C. A. et al. Cryopreservation of primed tobacco seeds. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 40, n. 4, 2018.

MACÊDO, G. A. R. et al. Importância da qualidade de sementes na formação e recuperação de pastagens. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 26, n. 226, p. 15-24, 2005.

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

MARTÍNEZ, P. A. H. **Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de repolho (*Brassica oleraceae* Var. Capitata) osmocondicionadas**. 2013. 44 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

MASCHIETTO, J. (1994). Produção de sementes de gramíneas forrageiras. In: PEIXOTO, A.M. et al. (ed.). **Pastagens: fundamentos da exploração racional**. Piracicaba, ed. FEALQ, p. 837-856.

MASETTO, T.E. et al. Germinação de sementes de *Urochloa ruziziensis* em função da disponibilidade hídrica do substrato e teor de água das sementes. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 43, n. 4, p. 385-391, 2013.

MITCHELL, J. et al. Gibberellin response in the embryo epidermis regulates germination uniformity in response to seed priming. **bioRxiv**, Laurel Hollow, 436121, 2018.

NASCIMENTO, W. M. et al. Germinação de sementes de cenoura osmoticamente condicionadas e peletizadas com diversos ingredientes. **Horticultura Brasileira**, Recife, v. 27, n. 1, p. 12-16, 2009.

NAWAZ, F. et al. Seed priming with KNO₃ mediates biochemical processes to inhibit lead toxicity in maize (*Zea mays* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, New York, v. 97, n. 14, p. 4780-4789, 2017.

NERY, M. C. et al. Produção de sementes forrageiras. **Boletim Técnico**, Lavras, n. 88, p. 47, 2012.

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

PAUL, S.; ROYCHOUDHURY, A. Seed priming with spermine and spermidine regulates the expression of diverse groups of abiotic stress-responsive genes during salinity stress in the seedlings of indica rice varieties. **Plant Gene**, Kidlington, v. 11, 124-132, 2017.

PELEGRIINI, L. L. et al. Efeito do estresse hídrico simulado com NaCl, manitol e PEG (6000) na germinação de sementes de *Erythrina falcata* Benth. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 23, n. 2, p. 511-519, 2013.

PEREIRA, B. L. C. et al. Influência do óxido nítrico na germinação de sementes de *Plathymenia reticulata* Benth com baixo vigor. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 38, n. 88, p. 629-636, 2010.

PEREIRA, M. R. R. et al. Estresse hídrico induzido por soluções de PEG e de NaCl na germinação de sementes de nabiça e fedegoso. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 3, p. 687-696, 2014.

PEREIRA, S. R. et al. Priming of *Urochloa brizantha* cv. Xaraés seeds. **African Journal of Agriculture Research**, Pretoria, v. 13, n.1, p.2804-2807, 2018.

PILL, W. G. **Low water potential and presowing germination treatments to improve seed quality.** *Seed quality*. 1955. p. 319-359.

PIRES, R. et al. Action of nitric oxide in sesame seeds (*Sesamum indicum* L.) submitted to stress by cadmium. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 38, n.1, p. 022-029, 2016.

POWELL, A. A. Seleção e envigoroamento como técnicas para o aprimoramento do desempenho de sementes. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55(SPE), p. 126-133, 1998.

RIBEIRO, E. C. G. et al. Physiological quality of *Urochloa brizantha* seeds submitted to priming with calcium salts. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 49, 2019.

SABERALI, S. F.; MORADI, M. Effect of salinity on germination and seedling growth of *Trigonella foenum-graecum*, *Dracocephalum moldavica*, *Satureja hortensis* and *Anethum graveolens*. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, Riyadh, v. 18, n. 3, p. 316-323, 2019.

SANTOS, C. A. et al. Germinação de duas espécies da caatinga sob déficit hídrico e salinidade. **Pesquisa Florestal Brasileira**, Colombo, v. 36, v. 87, p. 219-224, 2016.

SILVA, A. L. D. et al. Effect of cyanide by sodium nitroprusside (SNP) application on germination, antioxidative system and lipid peroxidation of *Senna macranthera* seeds under saline stress. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 41, n. 1, p. 86-96, 2019.

SILVA, A. L. D. et al. Effect of sodium nitroprusside (SNP) on the germination of *Senna macranthera* seeds (DC. ex Collad.) HS Irwin & Baneby under salt stress. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 37, n. 4, p. 236-243, 2015.

SILVA, T. A. D. et al. Condicionamento fisiológico de sementes de soja, componentes de produção e produtividade. **Ciência Rural**, Santa maria, v. 46, n. 2, p. 227-232, 2016.

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

SOUZA, F. H. D. (2001). **Produção de sementes de gramíneas forrageiras tropicais.** Embrapa-CPPSE, São Carlos.Documentos. **UNICIÊNCIAS**, Cuiabá, v. 14, n. 2, 2015.

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

WOJTYLA, Ł. et al. Different modes of hydrogen peroxide action during seed germination. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 7, p. 66, 2016.

YALAMALLE, V. R. et al. Spermine induced protection of onion seed vigour and viability during accelerated ageing. **Journal of Environmental Biology**, Lucknow, v. 40, n. 5, p. 1079-1083, 2019.

YAN, M. Prolonged storage reduced the positive effect of hydropriming in Chinese cabbage seeds stored at different temperatures. **South African Journal of Botany**, Pretoria, v. 111, p. 313-315, 2017.

ZANUZO, M. R.; MULLER, D.; MIRANDA, D. M. Análise de sementes de capim braquiária (*Brachiaria brizantha* cv. Marandú) em diferentes épocas de florescimento.

ZHENG, M. et al. Seed priming in dry direct-seeded rice: consequences for emergence, seedling growth and associated metabolic events under drought stress. **Plant Growth Regulation**, New York, v. 78, n. 2, p.167-178, 2016.

CAPÍTULO 2

Condicionamento fisiológico é uma técnica promissora para aumentar o desempenho de sementes de *Urochloa brizantha*

RESUMO

O condicionamento fisiológico de sementes é utilizado para melhorar a qualidade ou beneficiar o desempenho de lotes de sementes com o objetivo de garantir a uniformidade de germinação e o estabelecimento das plântulas. Diante disso, o objetivo neste trabalho foi avaliar o efeito do condicionamento fisiológico em sementes de *Urochloa brizantha* cv. Marandu submetidas a diferentes soluções condicionantes e períodos de condicionamento, através de avaliações de características fisiológicas e atividade de enzimas. O delineamento foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial (5x3)+1, sendo cinco soluções condicionantes, três períodos de condicionamento e um controle (sementes sem condicionamento). As sementes foram submetidas ao condicionamento fisiológico pelos tempos de 12, 42 e 72 horas em água destilada, solução de nitrato de potássio, espermidina, giberelina e nitroprussiato de sódio. Determinou-se: teor de água; germinação; primeira contagem da germinação; índice de velocidade de germinação; sementes viáveis remanescentes do teste de germinação; condutividade elétrica; emergência de plântulas; índice de velocidade de emergência; análise da atividade das enzimas piruvato descarboxilase, álcool desidrogenase, malato desidrogenase, esterase, superóxido dismutase, catalase, peroxidase e alfa amilase. Com o condicionamento fisiológico de sementes de *Urochloa brizantha* cv. Marandu houve melhora do potencial fisiológico com o uso de nitroprussiato de sódio na solução condicionante, por 42 horas. Sementes condicionadas em nitroprussiato de sódio tem seu sistema de defesa contra espécies reativas de oxigênio com maior expressão, sendo estas, superóxido dismutase, catalase e peroxidase e maior expressão da enzima alfa amilase.

Palavras chave: nitrato de potássio, espermidina, giberelina, nitroprussiato de sódio, enzimas antioxidantes, piruvato descarboxilase.

ABSTRACT

Seed priming is applied to benefit the quality or improve the performance of seed lots in order to ensure uniformity of germination and the establishment of seedlings. Therefore, this work aimed to evaluate the effect of priming in *Urochloa brizantha* cv Marandu seeds submitted to different priming solutions and periods of priming, through evaluations of physiological characteristics and enzyme activity. A completely randomized design, with four replications, in a factorial scheme (5x3) +1 was used, with five priming solutions, three periods and one control (not primed seeds). The seeds were submitted to priming for 12, 42 and 72 hours in distilled water, potassium nitrate solution, spermidine, gibberellin and sodium nitroprusside. It was determined: seed moisture; germination; first germination count; germination speed index; viable seeds remaining from the germination test; electrical conductivity; seed emergency; emergency speed index; analysis of pyruvate decarboxylase, alcohol dehydrogenase, malate dehydrogenase, esterase, superoxide dismutase, catalase, peroxidase and alpha amylase enzyme activity. For seed priming of *Urochloa brizantha* cv. Marandu there was an improvement in the physiological potential using sodium nitroprusside as a priming solution, for 42 hours. Seeds primed with sodium nitroprusside solution presents a greater expression of their defense system against reactive oxygen species, such as superoxide dismutase, catalase and peroxidase and greater expression of the enzyme alpha amylase.

Keywords: potassium nitrate, spermidine, gibberellin, sodium nitroprusside, antioxidant enzymes, pyruvate decarboxylase.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil se destaca como o maior produtor, consumidor e exportador de sementes forrageiras tropicais do mundo com a geração de milhares de empregos no país e faturamento de milhões de dólares por ano (ABRASEM, 2019; ABIEC, 2019). Entre as espécies forrageiras tropicais cultivadas no Brasil, a *Urochloa brizantha* cv. Marandu é a mais plantada e comercializada no mercado e a principal cultivar exportada (ABRASEM, 2019). O interesse nessa espécie se deve à sua rusticidade, competitividade e capacidade de se desenvolver em diversos ambientes, com características importantes como alta produção de massa seca e rápido crescimento após o pastejo (ALVES et al., 2017).

Como a maioria das espécies forrageiras tropicais, *Urochloa brizantha* também possui fatores que dificultam a produção de sementes de alta qualidade, tais como: falta de uniformidade na emissão de inflorescência; florescimento irregular nas panículas; baixo número de flores férteis; alta deiscência natural e dormência das sementes. A dormência dificulta a distribuição uniforme das populações e favorece o aparecimento de plantas invasoras na área (CATUCHI et al., 2019).

O condicionamento fisiológico de sementes é utilizado para melhorar a qualidade e beneficiar o desempenho de lotes de sementes (BONOME et al., 2017; BATISTA et al., 2018). O objetivo principal da técnica é garantir a uniformidade de germinação e o estabelecimento das plântulas (BONOME et al., 2017; BATISTA et al., 2018; RIBEIRO et al., 2019). Por reduzir o tempo de germinação e padronizar este processo, este tipo de método permite a germinação em variáveis condições de temperatura, luz, solo e disponibilidade de água, possibilitando ainda, elevado desenvolvimento da parte aérea e aceleração no crescimento das plantas (BHANUPRAKASH; YOGESHA, 2016).

A germinação é praticamente instantânea após o condicionamento fisiológico e o efeito principal é a redução da diferença da atividade metabólica das sementes mais e menos vigorosas, caracterizando a uniformidade de germinação (BONOME et al., 2017; BATISTA et al., 2018; PEREIRA et al., 2018). Porém, a germinação é um processo crítico e, sob condições adversas, pode ocorrer o estresse oxidativo que resulta no aumento de espécies reativas de oxigênio (ERO), as quais iniciam a peroxidação lipídica nas membranas celulares (LIU et al., 2018; YALAMALLE et al., 2019).

Com a intensificação da produção de ERO, o metabolismo enzimático deve atuar para reduzir e/ou eliminar os danos. Diante disso, o objetivo neste trabalho foi avaliar o efeito do condicionamento fisiológico em sementes de *Urochloa brizantha* cv. Marandu submetidas a

diferentes soluções condicionantes e períodos de condicionamento, por meio de avaliações de características fisiológicas e atividade de enzimas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório Central de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras – MG. Foram utilizadas sementes de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, fornecidas pela empresa Sementes Mineirão Ltda. produzidas na safra 2017/2018.

As sementes de braquiária foram submetidas ao condicionamento fisiológico. Este foi realizado em BOD regulada a 25°C (PEREIRA et al., 2018), sem luz e adaptada com um compressor de ar, responsável por manter as soluções aeradas, pelos tempos de 12, 42 e 72 horas (BONOME et al., 2006). Como soluções condicionantes utilizou-se água destilada, solução de nitrato de potássio 0,2% (CARDOSO et al., 2014, CARDOSO et al., 2015), solução de espermidina 0,5 mmol L⁻¹ (HUSSAIN et al., 2015; LOPES et al., 2018a), solução de giberelina 50 mg L⁻¹ (BATISTA et al., 2015; CARDOSO et al., 2015) e solução de nitroprussiato de sódio 0,10 mmol L⁻¹ (ATAÍDE et al., 2015; SILVA et al., 2015; FARAJI; SEPEHRI; SALCEDO-REYES, 2018). Foram colocados 40 gramas de sementes em 400 ml de solução. As sementes utilizadas como controle não foram condicionadas.

Após o condicionamento, as sementes foram lavadas em água corrente, secadas em estufa de circulação de ar por 24 horas a 25°C e após esse período secadas a 35°C com circulação de ar por 72 horas. O teor de água foi determinado logo após o condicionamento (antes da secagem) e após a secagem das sementes. Para tal foram retiradas quatro repetições de 200 sementes de cada tratamento e submetidas à estufa a 105°C por 24 horas (BRASIL, 2009).

O teste de germinação foi feito com quatro repetições de 50 sementes. A semeadura foi realizada sobre duas folhas de papel mata borrão em caixas tipo gerbox, os papéis foram umedecidos com volume de água equivalente a 2,5 vezes o peso seco do papel. Permaneceram em câmaras tipo BOD com temperatura alternada 20-35°C e fotoperíodo de 8-16 horas (BRASIL, 2009). Concomitante ao teste de germinação foi realizado o índice de velocidade de germinação (MAGUIRE, 1962).

Os resultados de germinação foram expressos em porcentagem de plântulas normais com avaliação aos sete dias após a instalação do teste para a obtenção da primeira contagem de germinação, e aos vinte e um dias para germinação final (BRASIL, 2009). Foram computadas como plântulas normais aquelas que havia rompido o coleóptilo e que o comprimento da plúmula (acima do coleóptilo) apresentava o mesmo tamanho do coleóptilo, ou seja, quando 50% da parte aérea estava envolvida pelo coleóptilo e 50% já havia crescido acima deste.

Após a condução do teste, as sementes remanescentes (que não germinaram e não estavam mortas) foram submetidas ao teste de tetrazólio (BRASIL, 2009). As sementes foram cortadas longitudinalmente com auxílio de pinça e bisturi. Após o corte foram colocadas em solução de 0,1% de cloreto 2-3-5 trifênil tetrazólio em recipiente escuro e mantidos em câmara de germinação tipo BOD com temperatura constante de 40°C por 3 horas. As sementes foram avaliadas considerando-se a localização e a intensidade da coloração de suas partes, permitindo identificar sementes viáveis (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem.

Para o teste de condutividade elétrica, quatro repetições de 50 sementes foram imersas em 50 ml de água deionizada e mantidas em BOD a 25°C, no escuro, por 24 horas, de acordo com metodologia descrita por Pinto et al. (2016). A leitura da condutividade foi realizada com o uso do condutivímetro MS TECNOPON®. Os resultados foram expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$.

O teste de emergência de plântulas foi realizado em substrato terra e areia na proporção volumétrica de 1:2 em bandejas plásticas e mantidas em ambiente controlado (25°C e fotoperíodo de 12-12 horas). Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes por tratamento. Concomitantemente ao teste de emergência foi realizado o índice de velocidade de emergência (MAGUIRE, 1962). Os resultados de emergência foram expressos em porcentagem de plântulas normais com avaliação aos vinte e um dias após a instalação do teste (BRASIL, 2009). As plântulas emergidas foram computadas assim que o coleóptilo rompia o solo.

As sementes pós condicionamento e secadas foram trituradas na presença de polivinilpirrolidona - PVP e nitrogênio líquido em cadinho de porcelana sobre gelo e armazenadas à temperatura de -86°C para posterior análise enzimática.

Diante dos resultados obtidos nos testes anteriores, selecionou-se o tempo de 42 horas de condicionamento para análise enzimática. Foi realizada a análise das enzimas piruvato descarboxilase (EC 4.1.1.1), álcool desidrogenase (EC 1.1.1.1), malato desidrogenase (EC 1.1.1.37), esterase (EC 3.1), superóxido dismutase (EC 1.15.1.1), catalase (E.C. 1.11.1.6), peroxidase (EC. 1.11.1.7) e alfa amilase (EC 3.2.1.1) por meio da técnica de eletroforese.

A extração das enzimas foi realizada com o tampão Tris HCL 0,2M pH 8,0 + (0,1% de mercaptoetanol), na proporção de 250 μL por 100mg de sementes. O material foi homogeneizado em vortex e mantido por 12 horas, 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 descontínuo a 7,5% (gel separador) e 4,5% (gel concentrador). O sistema gel/eletrodo utilizado foi o Tris-glicina pH 8,9. Foram aplicados 60 μL do sobrenadante das amostras no gel e a corrida eletroforética foi efetuada a 120 V por 5 horas sob refrigeração (4°C). Terminada a corrida, os géis foram revelados conforme Alfenas et al. (2006), com

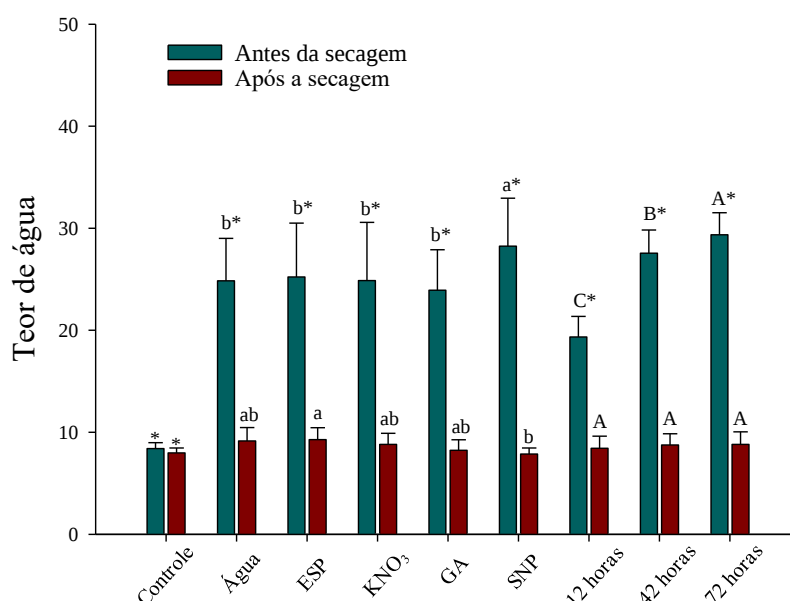
modificações. Para cada enzima foram analisados três géis, representando as três repetições biológicas. Cada repetição biológica foi utilizada para a avaliação visual da intensidade das bandas e também a quantificação com o auxílio do software ImageJ[®], na unidade de mm².

Para as análises fisiológicas das sementes foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial (5x3)+1, sendo cinco soluções condicionantes, três períodos de condicionamento e um controle (sementes sem condicionamento). As medias foram submetidas a análise de variância e, quando significativas, aplicou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade e para a comparação do controle com os tratamentos resultantes do fatorial foi realizado o teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve interação entre soluções condicionantes e períodos de condicionamento para teor de água das sementes (Figura 1). Após o condicionamento fisiológico houve aumento do teor de água, em média, três vezes mais em relação ao controle e quanto maior o tempo de exposição ao condicionamento maior foi a absorção de água. Entre os tratamentos, em sementes condicionadas com nitroprussiato de sódio (SNP) foram observados os maiores teores de água (Figura 1).

Figura 1 – Teor de água de sementes de *Urochloa brizantha*, antes e após a secagem, sem serem submetidas ao condicionamento fisiológico (Controle) e submetidas ao condicionamento pelos períodos de 12, 42 e 72 horas nas soluções de água, espermidina (ESP), nitrato de potássio (KNO_3), giberelina (GA) e nitroprussiato de sódio (SNP).



Legenda: Médias seguidas por uma mesma letra minúscula (entre soluções condicionantes) e maiúscula (entre tempos) não diferem pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. * Diferem do controle pelo teste de Dunnett a 5 % de probabilidade.

Fonte: da autora (2020).

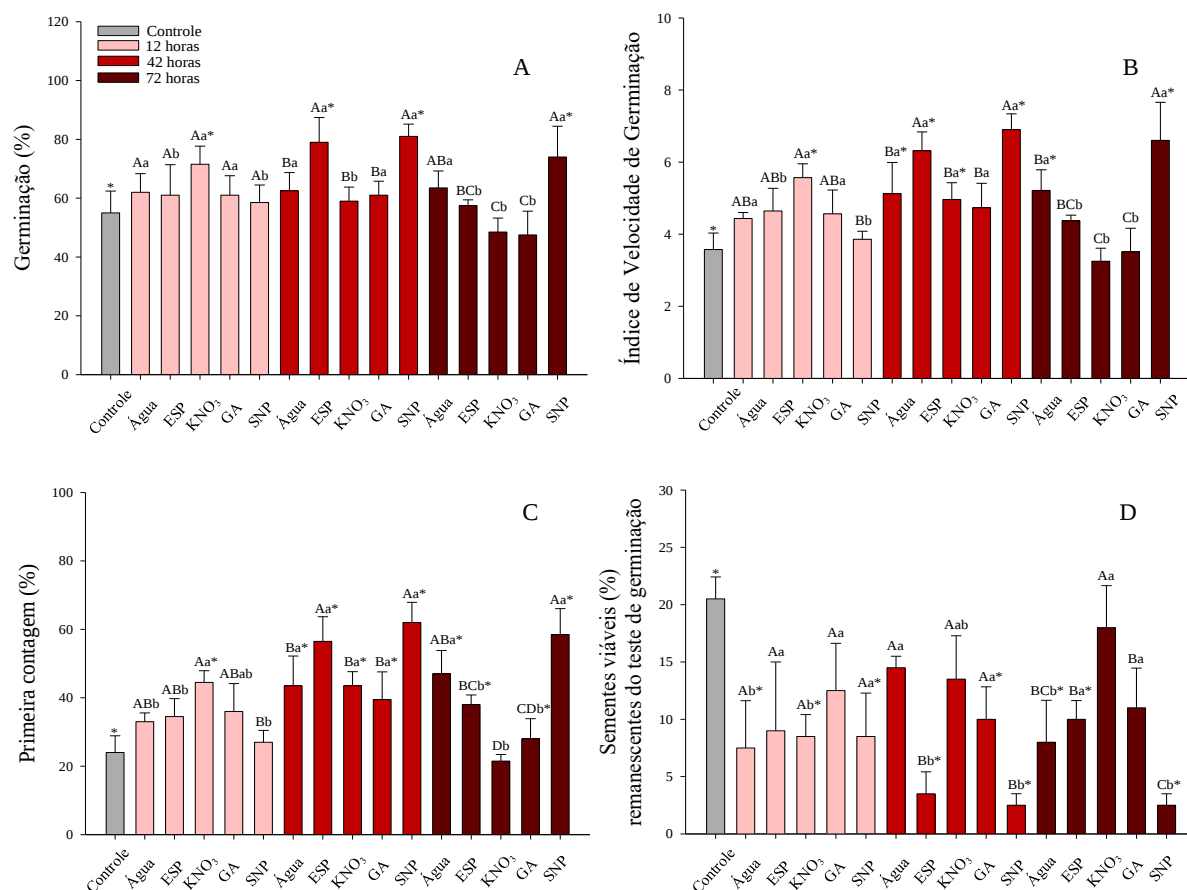
A embebição possibilita à semente ativar seu metabolismo e quanto maior disponibilidade de água mais processos pré-germinativos poderão ser ativados (BHANUPRAKASH; YOGESHA, 2016; MITCHELL et al., 2018; RIBEIRO et al., 2019). Para absorção de água suficiente para a ocorrência dos processos fisiológicos iniciais, é necessário que esta seja absorvida de forma equilibrada e que a embebição seja interrompida

quando ocorre o equilíbrio entre o potencial osmótico da solução e das sementes (ALMEIDA et al., 2016a). Durante o processo de condicionamento a embebição permite que sementes menos vigorosas disponham de tempo suficiente para alcançarem o nível de atividade metabólica semelhante ao das mais vigorosas, quando é atingido o equilíbrio com o potencial hídrico estabelecido para o agente condicionante (BHANUPRAKASH; YOGEESEA, 2016; BONOME et al., 2017).

Após a secagem, o grau de umidade das sementes foi estabilizado nos níveis recomendados para o armazenamento e comercialização (Figura 1) (RIBEIRO et al., 2019). Ao final do condicionamento é possível secar as sementes até atingirem a umidade existente antes do processo, sem perder a ativação do metabolismo adquirida pela embebição, o que possibilita que essas sejam armazenadas por um determinado tempo até a semeadura (WOJTYLA et al., 2016).

Para a porcentagem de germinação final observou-se valores distintos a depender da solução condicionante e do tempo (Figura 2A). Com a utilização do condicionante giberelina (GA) para os tempos de 12 e 42 horas obteve-se maiores porcentagens de germinação. Para o condicionante SNP observou-se maior germinação com 42 e 72 horas. Já a germinação das sementes condicionadas em água não diferiu entre os tempos. Quando condicionadas em solução de espermidina (ESP) maior porcentagem de germinação foi observada com 42 horas e em nitrato de potássio (KNO_3) com 12 horas.

Figura 2 – Germinação (A), Índice de Velocidade de Germinação (B), Primeira Contagem (C) e Sementes Viáveis (remanescentes do teste de germinação) (D) de sementes de *Urochloa brizantha*, sem serem submetidas ao condicionamento fisiológico (Controle) e submetidas ao condicionamento pelos tempos de 12, 42 e 72 horas nas soluções de água, espermidina (ESP), nitrato de potássio (KNO_3), giberelina (GA) e nitroprussiato de sódio (SNP).



Legenda: Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes (dentro de cada tempo) e minúscula entre tempos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. * Diferem do controle pelo teste de Dunnnett a 5 % de probabilidade.

Fonte: da autora (2020).

Ao analisar o fator soluções condicionantes, não houve diferença na porcentagem de germinação entre estas para o tempo de 12 horas (Figura 2A). Para o tempo de 42 horas, a germinação final nos condicionamentos com ESP e SNP foram superiores aos demais. Além do tempo de 42 horas, o condicionamento com SNP também propiciou germinação superior no tempo de 72 horas.

O SNP é um doador de óxido nítrico que faz com que as sementes germinem mais e mais rápido (ATAÍDE et al., 2015; KAISER et al., 2016; PIRES et al., 2016). Além disso o óxido nítrico também é capaz de aumentar a germinação e o vigor das sementes de baixo vigor (ATAÍDE et al., 2016), assim como aumentar a tolerância da semente a diversos estresses

abióticos, como estresse hídrico, salino e por metais pesados (SILVA et al., 2015; KAISER et al., 2016; PIRES et al., 2016). No grupo das poliamidas, a ESP tem se mostrado eficiente para melhorar a germinação e o vigor das sementes de várias espécies e aumentar a tolerância ao estresse abiótico das plantas (PAUL; ROYCHOUDHURY, 2017; WANG et al., 2018; YALAMALLE et al., 2019).

Ao comparar a germinação final das sementes submetidas aos diferentes tratamentos com o tratamento controle, foi possível observar que o condicionamento com GA e água foram as únicas soluções cujos resultados não diferiram do controle independentemente do período de exposição (Figura 2A). Ao considerar apenas essa variável em comparação com o controle, os tratamentos mais promissores para a técnica do condicionamento foram KNO_3 em 12 horas, ESP e SNP em 42 horas e SNP em 72 horas.

No entanto, o teste de germinação apresenta apenas o potencial das sementes sob condições ótimas, por isso, fazem-se necessários testes que avaliem o vigor para comprovar a eficiência da técnica do condicionamento sob condições adversas. Em muitos estudos consideram o vigor das sementes como o componente da qualidade fisiológica mais influenciado pelo condicionamento fisiológico (BONOME et al., 2017; BATISTA et al., 2018; RIBEIRO et al., 2019).

Nessa abordagem, ao analisar o índice de velocidade de germinação (Figura 2B) todos os tratamentos submetidos ao condicionamento foram superiores ao controle e, entre os tempos, no de 42 horas obteve-se os maiores índices para todos os condicionantes. Para o tempo de 72 horas o índice de velocidade de germinação foi maior quando foi utilizado SNP (Figura 2B).

De acordo com Nascimento et al. (2009), o condicionamento pode provocar alterações no estado energético da água, modificando sua distribuição entre os vários sítios de ligação de diferentes tecidos. Essa redistribuição de água no interior das sementes pode ser uma das razões para a maior velocidade de germinação após o tratamento, pois há maior disponibilidade de água e aumento do nível de hidratação das macromoléculas que participam do processo germinativo, reduzindo também a disponibilidade de ocorrência de injúrias durante a embebição (BATISTA et al., 2018; RIBEIRO et al., 2019).

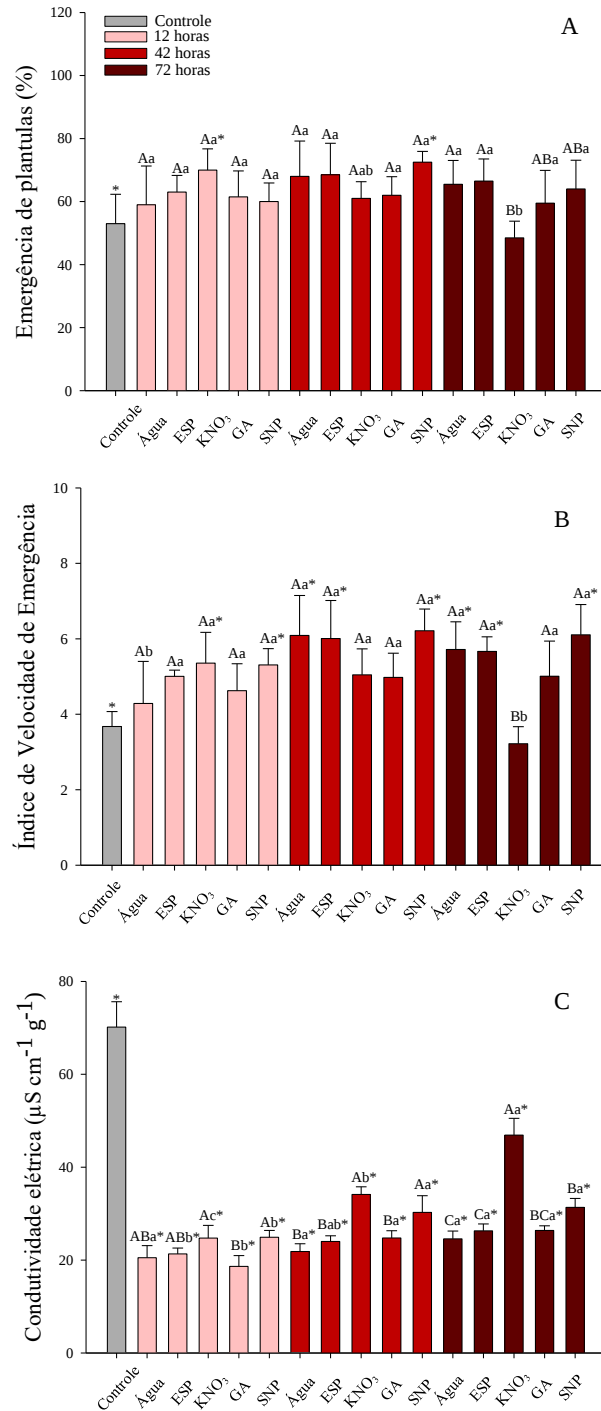
Para a germinação na primeira contagem, o KNO_3 , entre todas as soluções condicionantes no tempo de 12 horas, foi a que proporcionou maior germinação, porém com um decréscimo acentuado com o aumento do período de exposição (Figura 2C). No tempo de 42 horas o SNP e a ESP foram superiores às demais soluções, e em 72 horas de condicionamento SNP e água. A maioria dos tratamentos diferiram positivamente do tratamento controle para a variável primeira contagem, com destaque para o SNP.

Foi observada ainda redução da dormência das sementes (sementes viáveis remanescentes do teste de germinação) quando as mesmas foram submetidas ao condicionamento (Figura 2D). O condicionamento por 12 horas não diferiu entre as soluções condicionantes. Quando da utilização de SNP foram observadas as menores porcentagens de sementes viáveis remanescentes nos tempos de 42 e 72 horas.

O KNO_3 , mesmo sendo considerado um importante agente na quebra de dormência para diversas culturas (LIBÓRIO et al., 2017; MAROSTEGA et al., 2017; NAWAZ et al., 2017), no presente trabalho, observou-se alta porcentagem de sementes dormentes nos três tempos de condicionamento com esse condicionante. Estes resultados contrapõem os de Batista et al. (2016) e os de Libório et al. (2017), que observaram resultados positivos na superação da dormência de sementes nos tratamentos com KNO_3 e Libório et al. (2017) ainda justificam que o motivo da dormência de *Urochloa brizantha* da cultivar 'BRS Tupi' foi a restrição das trocas gasosas.

Em relação a avaliação da emergência de plântulas, não houve diferença na porcentagem de emergência entre os tratamentos condicionados nos tempos de 12 e 42 horas (Figura 3A). No tempo de 72 horas houve diferença entre as soluções. O menor valor foi observado quando da utilização do KNO_3 . Quando comparados ao controle, o KNO_3 e o SNP se destacaram nos tempos de 12 e 42 horas, respectivamente.

Figura 3 – Emergência (%) e Índice de Velocidade de Emergência e condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$) de sementes de *Urochloa brizantha*, sem serem submetidas ao condicionamento fisiológico (Controle) e submetidas ao condicionamento pelos tempos de 12, 42 e 72 horas nas soluções de água, espermidina (ESP), nitrato de potássio (KNO_3), giberelina (GA), e nitroprussiato de sódio (SNP).



Legenda: Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes (dentro de cada tempo) e minúscula entre tempos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

* Diferem do controle pelo teste de Dunnett a 5 % de probabilidade.

Fonte: da autora (2020).

Para o índice de velocidade de emergência, com exceção das sementes condicionadas com GA, os demais tratamentos diferiram do controle em pelo menos período de condicionamento, com destaque para o SNP que foi superior ao controle em todos os períodos (Figura 3B). Não houve diferença entre as soluções condicionantes nos tempos de 12 e 42 horas, no tempo de 72 horas na presença de KNO_3 foram inferiores as demais.

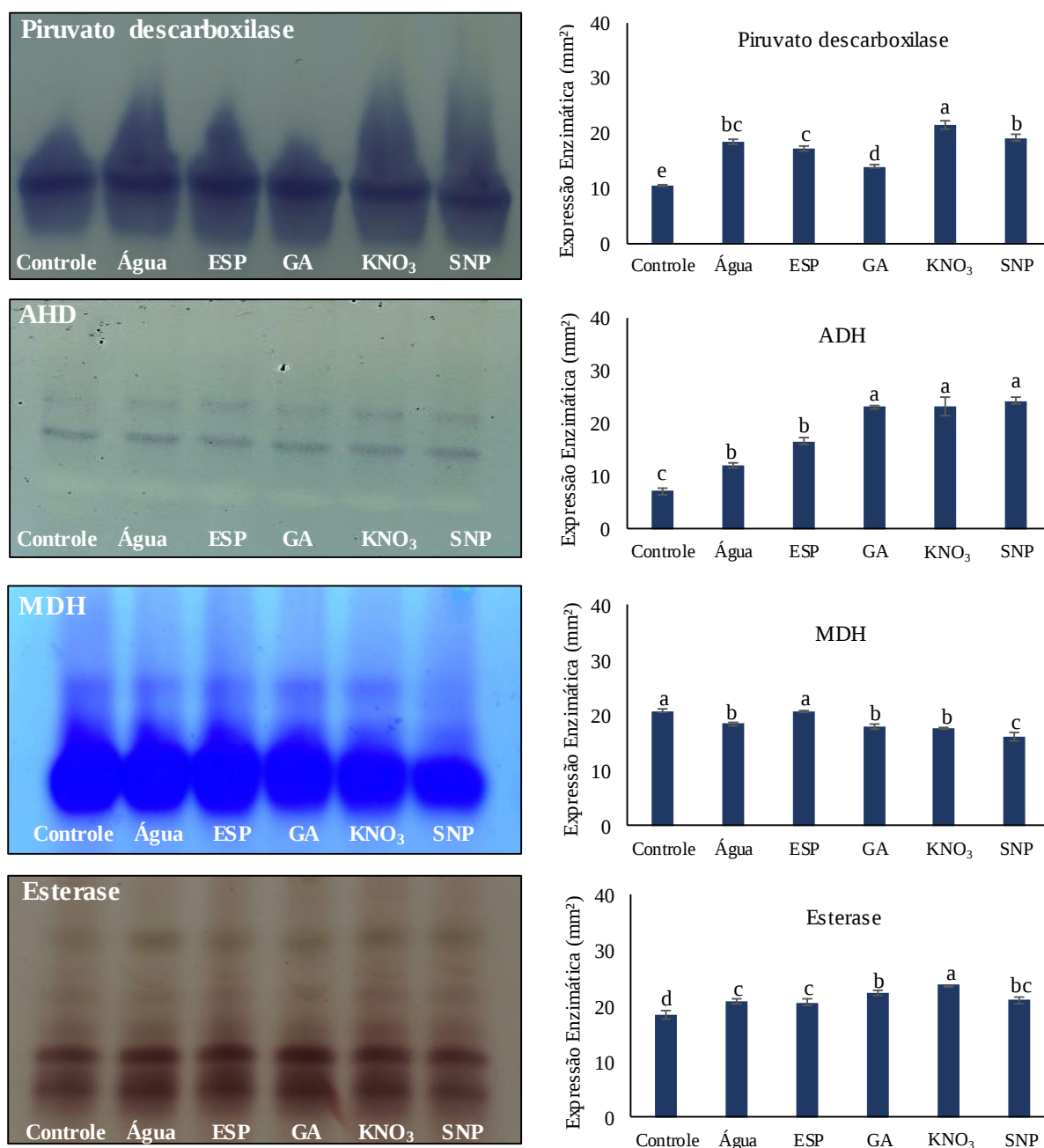
A germinação e emergência das plântulas, em menor tempo, é extremamente benéfica após a semeadura em campo. Nessa situação, as sementes permanecem expostas a possíveis condições desfavoráveis de ambiente, durante período reduzido, favorecendo o desenvolvimento mais rápido das plântulas, com vantagens na competição com as plantas invasoras (DECARLI et al., 2019).

Para os dados de condutividade elétrica, em sementes sem condicionamento (controle) foi observado valor superior a todos os tratamentos (Figura 3C). A possibilidade da reestruturação do sistema de membranas durante o condicionamento condiciona à manutenção da permeabilidade seletiva, sendo assim as membranas organizadas não permitem a entrada rápida de água nem a liberação excessiva de exsudados (BHANUPRAKASH; YOGESHA, 2016; RIBEIRO et al., 2019).

Para todas as soluções condicionantes, o aumento do tempo proporcionou um aumento na condutividade elétrica (Figura 3C). Entre as soluções, o KNO_3 obteve os maiores valores de condutividade para os 3 tempos, seguido do SNP nos tempos de 12 e 42 horas (Figura 3C). No entanto, mesmo as sementes condicionadas com SNP tendo altos valores de condutividade, este reagente proporcionou, de forma geral, o maior incremento de qualidade às sementes (Figuras 2 e 3).

Nas Figuras 4 e 5, estão os padrões eletroforéticos das atividades enzimáticas. Com relação à atividade da enzima piruvato descarboxilase houve diferença entre os tratamentos, com maiores expressões em sementes condicionados com KNO_3 , seguido por SNP, água, ESP, GA e por último o controle (Figura 4). A piruvato descarboxilase é uma enzima fermentativa, que catalisa no citoplasma a descarboxilação do ácido pirúvico a acetaldeído e dióxido de carbono. Essa reação não depende da presença de oxigênio (LONG et al., 2015).

Figura 4 – Expressão das enzimas piruvato descarboxilase, álcool desidrogenase (ADH), malato desidrogenase (MDH) e esterase em sementes de *Uroclhoa brizantha*, sem serem submetidas ao condicionamento fisiológico (Controle) e submetidas ao condicionamento nas soluções de água, espermidina (ESP), nitrato de potássio (KNO_3), giberelina (GA) e nitroprussiato de sódio (SNP).



Legenda: Médias seguidas por uma mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. (Coluna à esquerda são as imagens dos géis e a coluna à direita são as quantificações das expressões enzimáticas).

Fonte: da autora (2020).

Em relação à atividade da enzima álcool desidrogenase (ADH), houve maior expressão nas sementes condicionadas com GA, KNO_3 e SNP (Figura 4). O aumento da expressão da

ADH sugere uma respiração anaeróbica. Essa enzima é relevante, pois converte o acetaldeído, produzido a partir da atividade da piruvato descarboxilase, em etanol, um composto com menor toxicidade, e reduz a velocidade do processo de deterioração (LEMES et al., 2018; CHAENGSAKUL et al., 2019). Portanto, com a maior expressão da ADH, as sementes ficam menos susceptíveis à ação deletéria do acetaldeído. Além disso, o processo de acúmulo de etanol envolve a oxidação de NADH e resulta na produção de pequenas quantidades de ATP, fundamental para a sobrevivência de várias espécies sob condições de falta de oxigênio (CHOUDHARY; KUMAR; KAUR, 2019).

Em todos os tratamentos foi observada a expressão da enzima malato desidrogenase (MDH), sendo que as sementes condicionadas com SNP houve a menor expressão (Figura 4). Ressalta-se que a MDH é uma enzima ativada principalmente durante o processo de respiração celular, regenerando uma molécula de oxalacetato a partir da oxidação de uma molécula de malato, mantendo ativo o fluxo oxidativo durante o ciclo do ácido cítrico (ciclo de Krebs), característico de uma das etapas do processo respiratório aeróbico. Durante a germinação de sementes, essa enzima também atua no processo de gliconeogênese, responsável pela geração de sacarose a partir de triacilgliceróis presentes no interior dos oleossomos, nos tecidos de reserva da semente (LÜ et al., 2018).

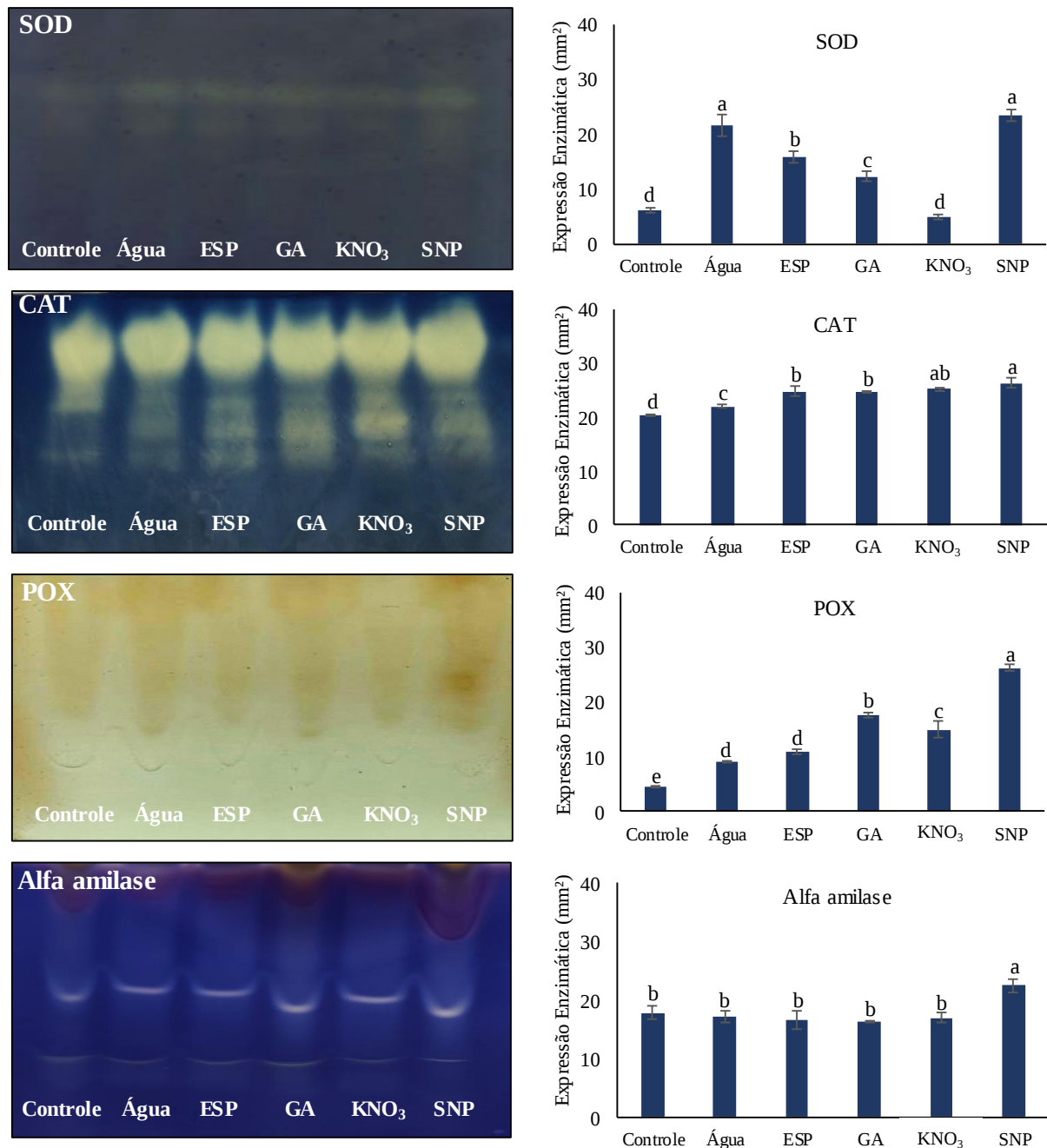
Por se tratar de uma enzima importante na respiração, o aumento na expressão desta enzima em sementes pode ser em função do aumento da respiração, o que ocorre em sementes que se encontram em processo de deterioração avançado, uma vez que enzimas envolvidas na respiração podem ser ativadas em sementes de qualidade reduzida (ALMEIDA et al., 2016b; OLSEN et al., 2016; CASTRO et al., 2017).

Para a enzima esterase, ao avaliar o padrão de bandas, verifica-se diferença na expressão da enzima em que a maior expressão foi observada em sementes condicionadas com KNO_3 (Figura 4). Ao avaliar a intensidade das bandas em sementes submetidas ao condicionamento houve maior intensidade do que o controle. A esterase está envolvida em reações de hidrólise de ésteres e estreitamente relacionada ao metabolismo de lipídios (MARQUES et al., 2019; YE et al., 2019). Ao analisar os resultados de condutividade elétrica, variável relacionada diretamente à estruturação do sistema de membranas, em sementes condicionadas observa-se menor condutividade que no tratamento controle (Figura 3C). Logo, a maior expressão desta enzima pode ser associada a uma maior organização da permeabilidade seletiva das membranas.

Houve diferença na expressão da superóxido dismutase (SOD) entre os tratamentos, sendo que em sementes submetidas ao SNP observa a maior expressão e o KNO_3 com menor expressão da enzima (Figura 5). Essa enzima atua como catalizadora no processo de conversão

dos radicais superóxido (O_2^-) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (PAUL; ROYCHOUDHURY, 2017; LIU; SOUNDARARAJAN; MANIVANNAN, 2019). Os radicais O_2^- são produzidos pelo bloqueio da cadeia de transporte de elétrons conjuntamente à geração de elétrons livres ou, pela reação de transferência de elétrons da ferredoxina ao oxigênio molecular, e são compostos potencialmente causadores de dano celular por atuar negativamente sobre a membrana celular (CHOUDHARY; KUMAR; KAUR, 2019; LIU; SOUNDARARAJAN; MANIVANNAN, 2019).

Figura 5 – Expressões das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (APX) e alfa amilase em sementes de *Uroclhoa brizantha*, sem serem submetidas ao condicionamento fisiológico (Controle) e submetidas ao condicionamento nas soluções de água, espermidina (ESP), nitrato de potássio (KNO_3), giberelina (GA) e nitroprussiato de sódio (SNP).



Legenda: Médias seguidas por uma mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. (Coluna à esquerda são as imagens dos géis e a coluna à direita são as quantificações das expressões enzimáticas).

Fonte: da autora (2020).

Em relação à análise da enzima catalase (CAT), observou-se que, assim como observado para a SOD, a maior expressão foi verificada para as sementes condicionadas com SNP (Figura

5). Para essa enzima, as sementes condicionadas com KNO_3 , houve maior expressão enzimática em comparação aos demais tratamentos. A catalase é uma enzima intracelular, encontrada nos glioxissomos das células vegetais. Ela atua na desintoxicação celular, transformando EROs em substâncias não reativas e na decomposição do H_2O_2 por reação de dismutação (PAUL; ROYCHOUDHURY 2017; MARQUES et al., 2019).

A peroxidase (POX) teve maior expressão nas sementes condicionadas com SNP (Figura 5). Assim como a catalase, a peroxidase tem sua atividade relacionada à redução do nível de H_2O_2 . O H_2O_2 , junto as demais espécies reativas de oxigênio, são responsáveis pela peroxidação de lipídeos e consequentemente pela perda da capacidade seletiva e fluidez do sistema de membranas celulares (PAUL; ROYCHOUDHURY, 2017; CHOUDHARY; KUMAR; KAUR, 2019; LIU; SOUNDARARAJAN; MANIVANNAN, 2019; MARQUES et al., 2019).

O perfil eletroforético da enzima alfa amilase reforça a alta atividade enzimática observada nas sementes condicionadas com SNP, que também proporcionou a maior expressão para essa enzima (Figura 5). Este padrão de alta atividade corrobora com dados fisiológicos obtidos para esse condicionante (Figuras 2 e 3). A alfa amilase é uma enzima associada à hidrólise do amido presente no endosperma, o qual fornece energia para o crescimento da plântula (LOPES et al., 2018b; DINIZ et al., 2018; LIU et al., 2018). Desse modo, ela é considerada uma enzima importante para o processo de germinação, além de estar relacionada com a qualidade fisiológica das sementes (ALMEIDA et al., 2016b; DINIZ et al 2018).

4 CONCLUSÕES

Com o condicionamento fisiológico de sementes de *Urochloa brizantha* cv. Marandu houve melhora do potencial fisiológico com o uso de nitroprussiato de sódio na solução condicionante, por 42 horas.

Sementes condicionadas em nitroprussiato de sódio tem seu sistema de defesa contra espécies reativas de oxigênio com maior expressão, sendo estas, superóxido dismutase, catalase e peroxidase e maior expressão da enzima alfa amilase.

REFERÊNCIAS

- ABIEC - **Perfil de Pecuária no Brasil** – Relatório Anual 2018 (Abiec, Brazilian Beef, Apex Brasil). Disponível em: <http://www.abiec.com.br/controle/uploads/arquivos/sumario2019portugues.pdf>. Acesso em: janeiro de 2020.
- ABRASEM - **Associação Brasileira de Sementes e Mudanças**. Anuário 2018. Disponível em: http://www.abrasem.com.br/wp-content/uploads/2020/06/Arte_Anuario2018_COMPLETO_WEB.pdf. Acesso em: janeiro de 2020.
- ALFENAS, A. C. (Ed.) Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismos. 2. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2006. 627 p.
- ALMEIDA, A. S. et al. Protrusão da radícula e métodos para superação de dormência de sementes de trigo. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 15, n. 3, p. 271-276, 2016a.
- ALMEIDA, T. T. et al. Alterações físicas, fisiológicas e bioquímicas durante o desenvolvimento de sementes de sorgo de diferentes concentrações de tanino. **Acta Agronômica**, Palmira, v. 65, n.2, p. 183-189, 2016b.
- ALVES, B. A. et al. Germinação de sementes de forrageiras do gênero *Brachiaria* em função dos ambientes e tempos de armazenamento. **Global Science and Technology**, Goiânia, v. 10, n. 01, p. 11-19, 2017.
- ATAÍDE, G. M. Óxido nítrico na germinação de sementes de baixo vigor de *Dalbergia nigra*. **Revista de Ciências Agrárias**, Recife, v. 38, n. 3, p. 438-444, 2015.
- BATISTA, T. B. et al. Nutrientes e giberelina no condicionamento fisiológico sob a qualidade de sementes de braquiária. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia, v. 2, n. 1, p. 10-16, 2015.
- BATISTA, T. B. et al. Priming and stress under high humidity and temperature on the physiological quality of *Brachiaria brizantha* cv. MG-5 seeds. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 38, n. 1, p. 123-127, 2016.
- BATISTA, T. B. et al. Priming of brachiaria seeds with different sugar sources and concentrations. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 31, n. 4, p. 843-849, 2018.
- BHANUPRAKASH, K.; YOGESHA, H. S. Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. **In Abiotic stress physiology of horticultural crops**, New Delhi, p. 103-117, 2016.
- BONOME, L. T. D. S. et al. Efeito do condicionamento osmótico em sementes de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 3, 422-428, 2006.

BONOME, L. T. et al. Osmoconditioning of *Urochloa brizantha* seeds to reduce pelleting negative effects. **Brazilian Journal of Agriculture-Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 92, n. 2, p. 87-100, 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 395 p.

CARDOSO, E. D. et al. Desempenho fisiológico e superação de dormência em sementes de *Brachiaria brizantha* submetidas a tratamento químico e envelhecimento artificial. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 1, p. 21-37, 2014.

CARDOSO, E. D. et al. Qualidade fisiológica e composição química de sementes de *Brachiaria brizantha* em função do condicionamento osmótico. **Journal of Neotropical Agriculture**, Cassilândia, v. 2, n. 2, p. 42-48, 2015.

CASTRO, D. G. et al. Qualidade fisiológica e expressão enzimática de sementes de soja RR[®]. **Revista de Ciências Agrárias**, Recife, v. 40, n. 1, p. 222-225, 2017.

CATUCHI, T. A. et al. Manejo do nitrogênio em gramíneas forrageiras quanto à nutrição, produção de sementes e nutrientes na palhada residual. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 54, 2019.

CHAENGSAKUL, C. et al. Ethanol production and mitochondrial-related gene expression of maize (*Zea mays*) seed during storage. **Journal of Integrative Agriculture**, Beijing, 18(11), 2435-2445, 2019.

CHOUDHARY, A.; KUMAR, A.; KAUR, N. ROS and oxidative burst: Roots in plant development. **Plant Diversity**, Beijing, 2019.

DECARLI, L., et al. Tratamento industrial em sementes de soja: qualidade fisiológica e desempenho da cultura. **Brazilian Journal of Agricultural Sciences/Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Piracicaba, v. 14, n. 3, 2019.

DINIZ, R. P. et al. Qualidade fisiológica e expressão de alfa-amilase em sementes de milho produzidas em condições de estresse salino e hídrico. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 17, n. 1, p. 37-48, 2018.

FARAJI, J.; SEPEHRI, A.; SALCEDO-REYES, J. C. Titanium dioxide nanoparticles and sodium nitroprusside alleviate the adverse effects of cadmium stress on germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). **Universitas Scientiarum**, Bogotá, v. 23, n. 1, p. 61-87, 2018.

HUSSAIN, S. et al. Benefits of rice seed priming are offset permanently by prolonged storage and the storage conditions. **Scientific Reports**, London, v. 5, n. 1, p. 1-12, 2015.

KAISER, I. S. et al. Efeito de liberadores de óxido nítrico na qualidade fisiológica de sementes de repolho sob salinidade. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 63, n. 1, p. 39-45, 2016.

LEMES, E., et al. Aplicação de sílicio no solo: efeito na expressão enzimática de sementes oriundas de plantas de arroz sob estresse salino. **Colloquium Agrariae**, Presidente Prudente, v. 14, n.1, p. 129-136, 2018.

LIBÓRIO, C. B. D. et al. Potassium nitrate on overcoming dormancy in *Brachiaria humidicola* 'BRS Tupi' seeds. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 47, n. 6, 2017.

LIU, B.; SOUNDARARAJAN, P.; MANIVANNAN, A. Mechanisms of Silicon-Mediated Amelioration of Salt Stress in Plants. **Plants**, Basel, v. 8, p. 307, 2019.

LIU, L. et al. Salinity inhibits rice seed germination by reducing α -amylase activity via decreased bioactive gibberellin content. **Frontiers in Plant Science**, Parkville, v. 9, p. 275, 2018.

LONG, X. et al. Molecular identification and characterization of the pyruvate decarboxylase gene family associated with latex regeneration and stress response in rubber tree. **Plant Physiology and Biochemistry**, Rockville, v. 87, p. 35-44, 2015.

LOPES, C. A. et al. Cryopreservation of primed tobacco seeds. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 40, n. 4, 2018a.

LOPES, C. A. et al. Primary leaf growth and coleoptile length in maize seedlings. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 40, 2018b.

LÜ, G. et al. Molecular cloning and functional characterization of mitochondrial malate dehydrogenase (mMDH) is involved in exogenous GABA increasing root hypoxia tolerance in muskmelon plants. **Scientia Horticulturae**, Viterbo, v. 258, n. 108741, 2019.

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

MAROSTEGA, T. N. et al. Methods of breaking seed dormancy for ornamental passion fruit species. **Ornamental Horticulture**, Viçosa, v. 23, n. 1, p. 72-78, 2017.

MARQUES, T. L. et al. Expression of ZmLEA3, AOX2 and ZmPP2C genes in maize lines associated with tolerance to water deficit. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 43, 2019.

MITCHELL, J. et al. Gibberellin response in the embryo epidermis regulates germination uniformity in response to seed priming. **bioRxiv**, Laurel Hollow, 436121, 2018.

NASCIMENTO, W. M. et al. Germinação de sementes de cenoura osmoticamente condicionadas e peletizadas com diversos ingredientes. **Horticultura Brasileira**, Recife, v. 27, n. 1, p. 12-16, 2009.

NAWAZ, F. et al. Seed priming with KNO₃ mediates biochemical processes to inhibit lead toxicity in maize (*Zea mays* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, New York, v. 97, n. 14, p. 4780-4789, 2017.

OLSEN, D. et al. Tratamento de sementes com bioestimulante: vigor e isoenzimas de plântula de arroz de sequeiro sob restrição hídrica. **Agrarian**, Grandes Dourados, v. 9, n. 34, p. 296-302, 2016.

PAUL, S.; ROYCHOUDHURY, A. Seed priming with spermine and spermidine regulates the expression of diverse groups of abiotic stress-responsive genes during salinity stress in the seedlings of indica rice varieties. **Plant Gene**, Kidlington v. 11, p. 124-132, 2017.

PEREIRA, S. R. et al. Priming of *Urochloa brizantha* cv. Xaraés seeds. **African Journal of Agriculture Research**, Pretoria, v. 13, n.1, p.2804-2807, 2018.

PINTO, A. H. et al. Teste de condutividade elétrica para diferenciação dos níveis de deterioração de sementes de forrageiras. *Journal of Neotropical Agriculture*, Cassilândia, v. 3, n. 2, p. 9-15, 2016.

PIRES, R. et al. Action of nitric oxide in sesame seeds (*Sesamum indicum* L.) submitted to stress by cadmium. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 38, n.1, p. 022-029, 2016.

RIBEIRO, E. C. G. et al. Physiological quality of *Urochloa brizantha* seeds submitted to priming with calcium salts. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 49, 2019.

SILVA, A. L. D. et al. Effect of sodium nitroprusside (SNP) on the germination of *Senna macranthera* seeds (DC. ex Collad.) HS Irwin & Baneby under salt stress. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 37, n. 4, p. 236-243, 2015.

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

WOJTYLA, Ł. et al. Different modes of hydrogen peroxide action during seed germination. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 7, p. 66, 2016.

YALAMALLE, V. R. et al. Spermine induced protection of onion seed vigour and viability during accelerated ageing. **Journal of Environmental Biology**, Lucknow, v. 40, n. 5, p. 1079-1083, 2019.

YE, L. et al. Properties comparison between free and immobilized wheat esterase using glass fiber film. **International Journal of Biological Macromolecules**, Colorado, v. 125, p. 87-91, 2019.

CAPÍTULO 3

Qualidade de sementes de *Urochloa ruziziensis* pós condicionamento fisiológico

RESUMO

O condicionamento fisiológico ativa o metabolismo das sementes responsável pela reparação de danos presentes nas membranas das células e com isso melhora o vigor do lote sujeito ao tratamento. Diante disso, o objetivo neste trabalho foi avaliar o efeito do condicionamento fisiológico em sementes de *Urochloa ruziziensis* cv. Ruziziensis submetidas a diferentes soluções condicionantes e períodos de condicionamento, por meio de avaliações de características fisiológicas e atividade de enzimas. O delineamento foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial (5x3)+1, sendo cinco soluções condicionantes, três períodos de condicionamento e um controle (sementes sem condicionamento). As sementes foram submetidas ao condicionamento fisiológico pelos tempos de 12, 42 e 72 horas em água destilada, solução de nitrato de potássio, espermidina, giberelina e nitroprussiato de sódio. Determinou-se: teor de água; germinação; primeira contagem da germinação; índice de velocidade de germinação; sementes viáveis remanescentes do teste de germinação; condutividade elétrica; emergência em bandeja; análise das enzimas piruvato descarboxilase, álcool desidrogenase, malato desidrogenase, esterase, superóxido dismutase, catalase, peroxidase e alfa amilase. O condicionamento fisiológico se apresenta como uma boa técnica para melhorar a qualidade de sementes do gênero *Urochloa ruziziensis*. O nitroprussiato de sódio é o condicionante com melhores resultados dentre os cinco utilizados e o período de condicionamento de 42 horas é o que proporciona maior eficiência. Sementes condicionadas em nitroprussiato de sódio tem maior expressão da peroxidase, enzima responsável pela retirada de EROs em condições de estresse.

Palavras chave: sementes forrageiras, estresse oxidativo, potencial germinativo.

ABSTRACT

Seed priming activates the seed metabolism responsible for repairing of the damages presented in the cells membranes, therefore, improves the vigor of the seed lot submitted to the treatment. Therefore, this work aimed to evaluate the effect of priming on seeds of *Urochloa Ruziziensis* cv Ruziziensis submitted to different priming solutions and periods of priming, through evaluations of physiological characteristics and enzyme activity. The design was completely randomized, with four replications, in a factorial scheme (5x3) +1, with five priming solutions, three periods and one control (not primed seeds). The seeds were submitted to priming for 12, 42 and 72 hours in distilled water, potassium nitrate solution, spermidine, gibberellin and sodium nitroprusside. It was determined: seed moisture; germination; first germination count; germination speed index; viable seeds remaining from the germination test; electrical conductivity; emergency; analysis of the enzymes pyruvate decarboxylase, alcohol dehydrogenase, malate dehydrogenase, esterase, superoxide dismutase, catalase, peroxidase and alpha amylase. Priming is a good technique to improve seed quality of the specie *Urochloa ruziziensis*. The sodium nitroprusside is the solution who presented better results among all five priming solutions, and the period of 42 hours is the one that provides the best efficiency. Seeds primed with sodium nitroprusside have greater expression of peroxidase, an enzyme responsible for the removal of ROSs under stress conditions.

Keywords: forage seeds, oxidative stress, germination potential.

1 INTRODUÇÃO

Produzir sementes de forrageiras é um processo complexo, pois as espécies cultivadas para este fim ainda estão sendo melhoradas, e os estudos sobre a produção e suas peculiaridades ainda são recentes quando comparadas com culturas como soja e milho (ALVES et al., 2017; MATIAS et al., 2019; CATUCHI et al., 2019). Dentre as forrageiras, o gênero *Urochloa* vem ganhando espaço, principalmente por ser uma planta rústica, permitindo adaptação as mais variadas condições, tanto de clima quanto de solo (ALVES et al., 2017; CATUCHI et al., 2019). Entre as principais dificuldades que o gênero apresenta na produção de sementes estão a dormência e a desuniformidade de maturação, fatores que influenciam diretamente na germinação (ALVES et al., 2017).

Mesmo com essas dificuldades, a expansão das áreas de pastagens cultivadas com espécies do gênero *Urochloa* tem aumentado no Brasil (ABIEC, 2018). Dentre as espécies desse gênero, a *Urochloa ruziziensis*, é muito utilizada em plantios consorciados, principalmente com milho, devido a sua composição bromatológica em situações de maior sombreamento (QUEIROZ et al., 2016). É originária da África, se desenvolve em vários tipos de solos, desde os mais arenosos até os mais argilosos, requer solos com boa drenagem e condições de média fertilidade e, com a adubação nitrogenada, supera em produção as principais gramíneas (SOUZA SOBRINHO et al., 2016).

Estudos sobre a prática do condicionamento fisiológico em sementes têm se mostrado promissores em várias culturas, inclusive para as forrageiras (BATISTA et al., 2018; PEREIRA et al., 2018; RIBEIRO et al., 2019). O termo condicionamento fisiológico de sementes é utilizado pela indústria sementeira e por pesquisadores para abranger o conjunto de técnicas destinadas a realçar a qualidade ou beneficiar o desempenho de lotes de sementes e/ou plântulas produzidas (JOSÉ et al., 2016; BONOME et al., 2017).

O objetivo principal da técnica é garantir a uniformidade de germinação e o estabelecimento das plântulas (BHANUPRAKASH; YOGEESEA, 2016). Assim, diversos eventos fisiológicos da germinação acontecem durante o condicionamento e são conservados em um nível adiantado, mesmo após a secagem das sementes, para que a germinação subsequente aconteça de forma mais rápida e uniforme (JOSÉ et al., 2016; BONOME et al., 2017; RIBEIRO et al., 2019).

O condicionamento permite que os procedimentos de reparo do metabolismo sejam ativados reparando os danos presentes nas membranas das células da semente, o que melhora o vigor do lote sujeito ao tratamento (BHANUPRAKASH; YOGEESEA, 2016). Um dos

benefícios do condicionamento fisiológico citado na literatura é o aumento na eficiência do sistema antioxidante de defesa das sementes (ZHENG et al., 2016; YAN, 2017; WANG et al., 2018;). Diante disso, o objetivo neste trabalho foi avaliar o efeito do condicionamento fisiológico em sementes de *Urochloa ruziziensis* submetidas a diferentes soluções condicionantes e períodos de condicionamento, através de avaliações de características fisiológicas e atividade enzimática.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório Central de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras – MG. Foram utilizadas sementes de *Urochloa ruziziensis* cv. Ruziziensis, fornecidas pela empresa Sementes Mineirão Ltda. produzidas na safra 2017/2018.

As sementes de braquiária foram submetidas ao condicionamento fisiológico. Este foi realizado em BOD regulada a 25°C (PEREIRA et al., 2018), sem luz e adaptada com um compressor de ar, responsável por manter as soluções aeradas, pelos tempos de 12, 42 e 72 horas (BONOME et al., 2006). Como soluções condicionantes utilizou-se água destilada, solução de nitrato de potássio 0,2% (CARDOSO et al., 2014, CARDOSO et al., 2015), solução de espermidina 0,5 mmol L⁻¹ (HUSSAIN et al., 2015; LOPES et al., 2018a), solução de giberelina 50 mg L⁻¹ (BATISTA et al., 2015; CARDOSO et al., 2015) e solução de nitroprussiato de sódio 0,10 mmol L⁻¹ (ATAÍDE et al., 2015; SILVA et al., 2015; FARAJI; SEPEHRI; SALCEDO-REYES, 2018). Foram colocados 40 gramas de sementes em 400 ml de solução. As sementes utilizadas como controle não foram condicionadas.

Após o condicionamento, as sementes foram lavadas em água corrente, secadas em estufa de circulação de ar por 24 horas a 25°C e após esse período secadas a 35°C com circulação de ar por 72 horas. O teor de água foi determinado logo após o condicionamento (antes da secagem) e após a secagem das sementes. Para tal foram retiradas quatro repetições de 200 sementes de cada tratamento e submetidas à estufa a 105°C por 24 horas (BRASIL, 2009).

O teste de germinação foi feito com quatro repetições de 50 sementes. A semeadura foi realizada sobre duas folhas de papel mata borrão em caixas tipo gerbox, os papéis foram umedecidos com volume de água equivalente a 2,5 vezes o peso seco do papel. Permaneceram em câmaras tipo BOD com temperatura alternada 20-35°C e fotoperíodo de 8-16 horas (BRASIL, 2009). Concomitante ao teste de germinação foi realizado o índice de velocidade de germinação (MAGUIRE, 1962).

Os resultados de germinação foram expressos em porcentagem de plântulas normais com avaliação aos sete dias após a instalação do teste para a obtenção da primeira contagem de germinação, e aos vinte e um dias para germinação final (BRASIL, 2009). Foram computadas como plântulas normais aquelas que havia rompido o coleóptilo e que o comprimento da plúmula (acima do coleóptilo) apresentava o mesmo tamanho do coleóptilo, ou seja, quando 50% da parte aérea estava envolvida pelo coleóptilo e 50% já havia crescido acima deste.

Após a condução do teste, as sementes remanescentes (que não germinaram e não estavam mortas) foram submetidas ao teste de tetrazólio (BRASIL, 2009). As sementes foram cortadas longitudinalmente com auxílio de pinça e bisturi. Após o corte foram colocadas em solução de 0,1% de cloreto 2-3-5 trifenil tetrazólio em recipiente escuro e mantidos em câmara de germinação tipo BOD com temperatura constante de 40°C por 3 horas. As sementes foram avaliadas considerando-se a localização e a intensidade da coloração de suas partes, permitindo identificar sementes viáveis (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem.

Para o teste de condutividade elétrica, quatro repetições de 50 sementes foram imersas em 50 ml de água deionizada e mantidas em BOD a 25°C, no escuro, por 24 horas, de acordo com metodologia descrita por Pinto et al. (2016). A leitura da condutividade foi realizada com o uso do condutivímetro MS TECNOPON®. Os resultados foram expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$.

O teste de emergência de plântulas foi realizado em substrato terra e areia na proporção volumétrica de 1:2 em bandejas plásticas e mantidas em ambiente controlado (25°C e fotoperíodo de 12-12 horas). Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes por tratamento. Concomitantemente ao teste de emergência foi realizado o índice de velocidade de emergência (MAGUIRE, 1962). Os resultados de emergência foram expressos em porcentagem de plântulas normais com avaliação aos vinte e um dias após a instalação do teste (BRASIL, 2009). As plântulas emergidas foram computadas assim que o coleóptilo rompia o solo.

As sementes pós condicionamento e secadas foram trituradas na presença de polivinilpirrolidona - PVP e nitrogênio líquido em cadinho de porcelana sobre gelo e armazenadas à temperatura de -86°C para posterior análise enzimática.

Diante dos resultados obtidos nos testes anteriores, selecionou-se o tempo de 42 horas de condicionamento para análise enzimática. Foi realizada a análise das enzimas piruvato descarboxilase (EC 4.1.1.1), álcool desidrogenase (EC 1.1.1.1), malato desidrogenase (EC 1.1.1.37), esterase (EC 3.1), superóxido dismutase (EC 1.15.1.1), catalase (E.C. 1.11.1.6), peroxidase (EC. 1.11.1.7) e alfa amilase (EC 3.2.1.1) por meio da técnica de eletroforese.

A extração das enzimas foi realizada com o tampão Tris HCL 0,2M pH 8,0 + (0,1% de mercaptoetanol), na proporção de 250 μL por 100mg de sementes. O material foi homogeneizado em vortex e mantido por 12 horas, 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 descontínuo a 7,5% (gel separador) e 4,5% (gel concentrador). O sistema gel/eletrodo utilizado foi o Tris-glicina pH 8,9. Foram aplicados 60 μL do sobrenadante das amostras no gel e a corrida eletroforética foi efetuada a 120 V por 5 horas sob refrigeração (4°C). Terminada a corrida, os géis foram revelados conforme Alfenas et al. (2006), com

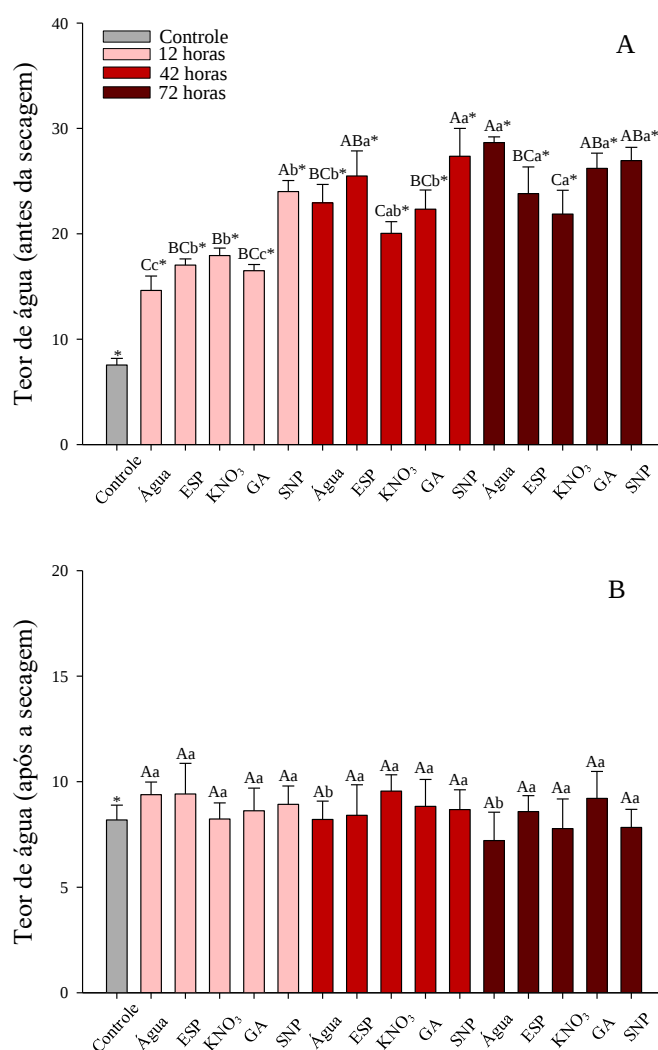
modificações. Para cada enzima foram analisados três géis, representando as três repetições biológicas. Cada repetição biológica foi utilizada para a avaliação visual da intensidade das bandas e também a quantificação com o auxílio do software ImageJ[®], na unidade de mm².

Para as análises fisiológicas das sementes foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial (5x3)+1, sendo cinco soluções condicionantes, três períodos de condicionamento e um controle (sementes sem condicionamento). As médias foram submetidas a análise de variância e, quando significativas, aplicou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade e para a comparação do controle com os tratamentos resultantes do fatorial foi realizado o teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A embebição das sementes durante o condicionamento foi influenciada pelas soluções condicionantes e pelos tempos (Figura 1A). Antes da secagem, nos tempos de 12 e 42 horas, foi possível observar maior teor de água nas sementes condicionadas com nitroprussiato de sódio (SNP) e, no tempo de 72 horas, as sementes que mais embeberam foram as condicionadas em água, giberelina (GA) e SNP.

Figura 1 – Teor de água de sementes de *Uroclhoa ruziziensis*, antes e após a secagem, sem serem submetidas ao condicionamento fisiológico (Controle) e submetidas ao condicionamento pelos períodos de 12, 42 e 72 horas nas soluções de água, espermidina (ESP), nitrato de potássio (KNO_3), giberelina (GA) e nitroprussiato de sódio (SNP).



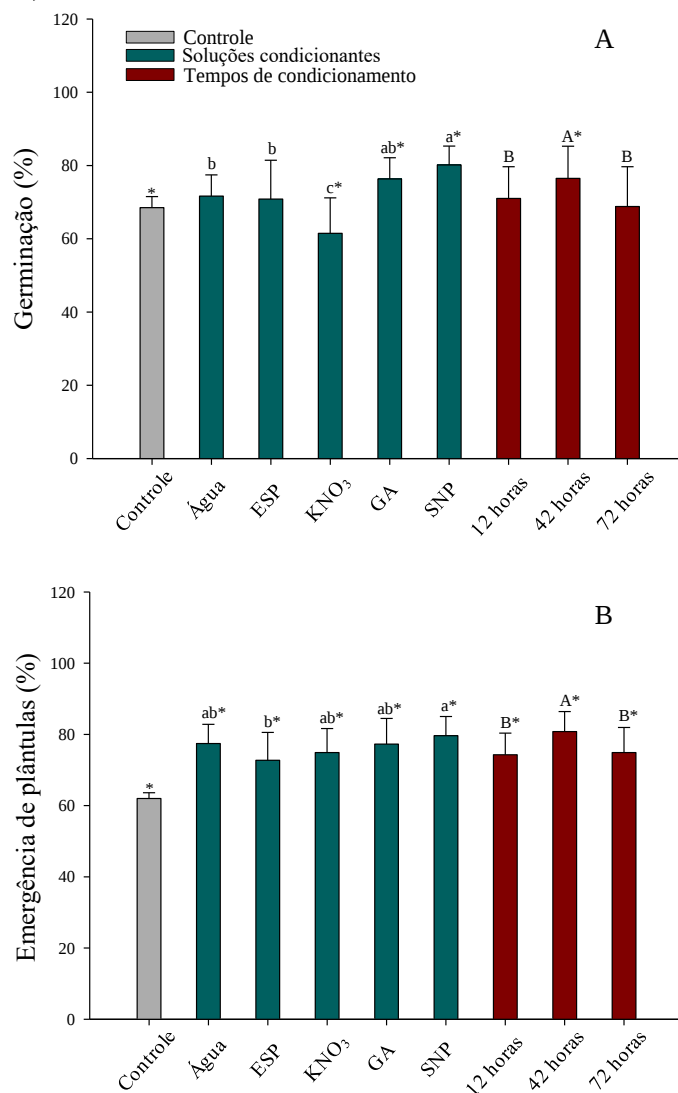
Legenda: Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes (dentro de cada tempo) e minúscula entre tempos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. * Diferem do controle pelo teste de Dunnett a 5 % de probabilidade.

Fonte: da autora (2020).

Modificações nas propriedades dos sítios de hidratação de macromoléculas e a reorganização da água no interior da semente durante a embebição, também têm sido atribuído ao melhor desempenho de sementes condicionadas, pois a hidratação controlada das macromoléculas é essencial para várias atividades metabólicas que governam o processo de germinação (NASCIMENTO et al., 2009; BATISTA et al., 2018).

Não houve interação significativa entre condicionantes e tempos para germinação final e emergência de plântulas (Figura 2). Para estas variáveis o melhor tempo foi o de 42 horas e os melhores condicionantes o SNP e a GA. Na germinação (Figura 2A), ao comparar as sementes não condicionadas (controle) com os demais tratamentos, o SNP e a GA proporcionaram resultados superiores, com germinação de 84% e 78%, respectivamente, enquanto que para o controle foi de 69%. Para emergência (Figura 2A) foi observado superioridade desta variável para todas as sementes condicionadas em relação ao controle.

Figura 2 – Germinação (%) e Emergência (%) de sementes de *Uroclhoa ruziziensis*, sem serem submetidas ao condicionamento fisiológico (Controle) e submetidas ao condicionamento pelos tempos de 12, 42 e 72 horas nas soluções de água, espermidina (ESP), nitrato de potássio (KNO_3), giberelina (GA) e nitroprussiato de sódio (SNP).



Legenda: Médias seguidas por uma mesma letra minúscula (entre soluções condicionantes) e maiúscula (entre tempos) não diferem pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. * Diferem do controle pelo teste de Dunnett a 5 % de probabilidade.

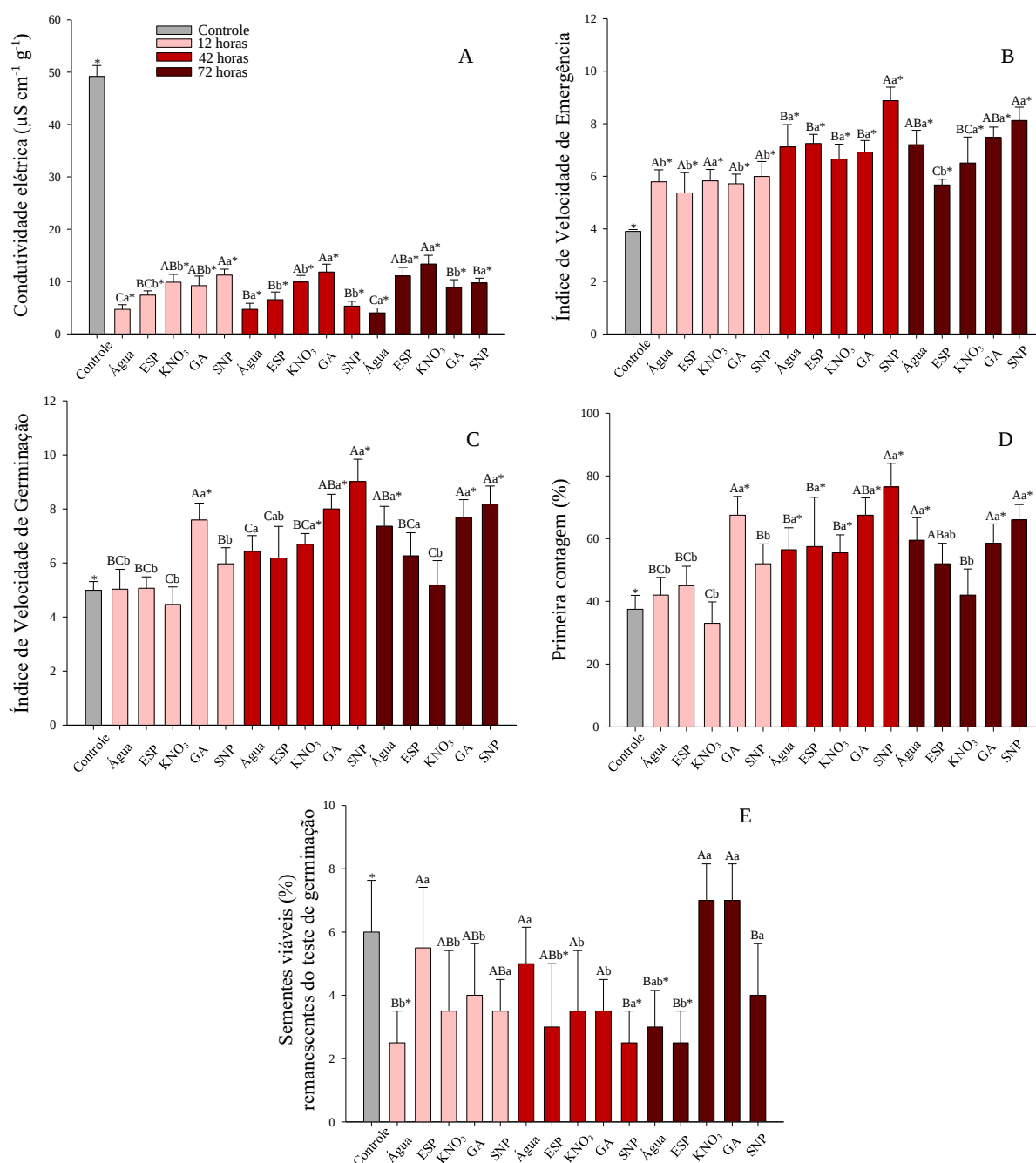
Fonte: da autora (2020).

As giberelinas são substâncias que exercem papel chave na germinação de sementes, estando envolvidas tanto na superação da dormência como no controle da hidrólise de reservas (SILVA; LANDGRAF; MACHADO, 2013; MITCHELL et al., 2018; LI; YANG; ZHANG, 2019). Silva et al. (2013) encontraram um aumento na germinação de *U. brizantha* cv. Marandu e MG-5. Esse papel está associado ao fato de o ácido giberélico estimular a alfa amilase e outras enzimas hidrolíticas, promovendo hidrólise de reservas armazenadas na semente (MITCHELL et al., 2018; LI et al., 2018; LI; YANG; ZHANG, 2019).

Até o momento são escassos os trabalhos com SNP em condicionamento fisiológico de sementes de forrageiras, mas há grande quantidade de trabalhos com este produto como doador de óxido nítrico aplicado de forma exógena em outras espécies, e que tiveram benefícios como aumento da germinação e da velocidade de germinação, além da quebra de dormência e maior tolerância às situações de estresses (ATAÍDE et al., 2015; KAISER et al., 2016; PIRES et al., 2016; SILVA et al., 2019). Como também o aumento da atividade de enzimas do sistema antioxidante (SILVA et al., 2019).

Para o teste de condutividade elétrica (Figura 3A) as sementes condicionadas tiveram liberação de exsudatos inferior a das não condicionadas, isso pode ser explicado pela ação de mecanismos de reparo que são ativados durante o condicionamento os quais contribuem para a reestruturação do sistema de membranas (BHANUPRAKASH; YOGEESEA, 2016; RIBEIRO et al., 2019). Com a reestruturação do sistema de membranas durante o condicionamento ocorre a manutenção da permeabilidade seletiva, as membranas estruturadas não permitem a entrada rápida de água e nem a liberação excessiva de exsudados (BHANUPRAKASH; YOGEESEA, 2016; RIBEIRO et al., 2019).

Figura 3 – Condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$), Índice de Velocidade de Emergência, Índice de Velocidade de Germinação, Primeira Contagem (%) e Sementes Viáveis (%) (remanescentes do teste de germinação) de sementes de *Uroclhoa ruzizensis*, sem serem submetidas ao condicionamento fisiológico (Controle) e submetidas ao condicionamento pelos tempos de 12, 42 e 72 horas nas soluções de água, espermidina (ESP), nitrato de potássio (KNO_3), giberelina (GA) e nitroprussiato de sódio (SNP).



Legenda: Médias seguidas por uma mesma letra minúscula (entre soluções condicionantes) e maiúscula (entre tempos) não diferem pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. * Diferem do controle pelo teste de Dunnett a 5 % de probabilidade.

Fonte: da autora (2020).

Com relação ao Índice de Velocidade de Emergência todos os tratamentos condicionados apresentaram resultados superiores ao controle (Figura 3B). No tempo de 12 horas não houve diferença entre as soluções condicionantes. No tempo de 42 horas o SNP foi superior aos demais e com 72 horas de condicionamento a água, a GA e o SNP foram superiores.

Os tratamentos tiveram um maior Índice de Velocidade de Germinação no tempo de 42 e 72 horas, com exceção do nitrato de potássio (KNO_3) que no condicionamento por 72 horas proporcionou o menor índice (Figura 3C). No entanto, no tempo de 12 horas as sementes condicionadas com KNO_3 obtiveram o maior índice. Ao comparar com o controle, a água em 72 horas, o KNO_3 em 42 horas, a GA nos três tempos e o SNP em 42 e 72 horas proporcionaram maior Índice de Velocidade de Germinação.

Ao comparar com o controle todas as soluções proporcionaram, em pelo menos um tempo, maior germinação aos 7 dias, com destaque para o SNP que proporcionou o dobro de germinação (77%) que o controle (38%) (Figura 3D). Para a primeira contagem de germinação, no tempo de 12 horas, observou-se maior porcentagem para as sementes condicionadas com GA, seguido por SNP, água, espermidina (ESP) e por último KNO_3 . Com 42 horas o SNP e a GA foram superiores. No tempo de 72 horas a solução condicionante que proporcionou maior germinação aos 7 dias foi o SNP e a menor germinação o KNO_3 .

Esses resultados encontrados com KNO_3 são reforçados pelos de Kissman et al. (2010), que trabalhando com sementes de *Stryphnodendron adstringens*, *S. obovatum* e *S. polyphyllum* observaram que o tratamento com KNO_3 causou uma redução linear da porcentagem de germinação com o aumento do tempo de condicionamento. Em *U. brizantha* cv. MG-5 não houve diferença do controle com as sementes submetidas ao condicionamento com KNO_3 e $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (BATISTA et al. 2015).

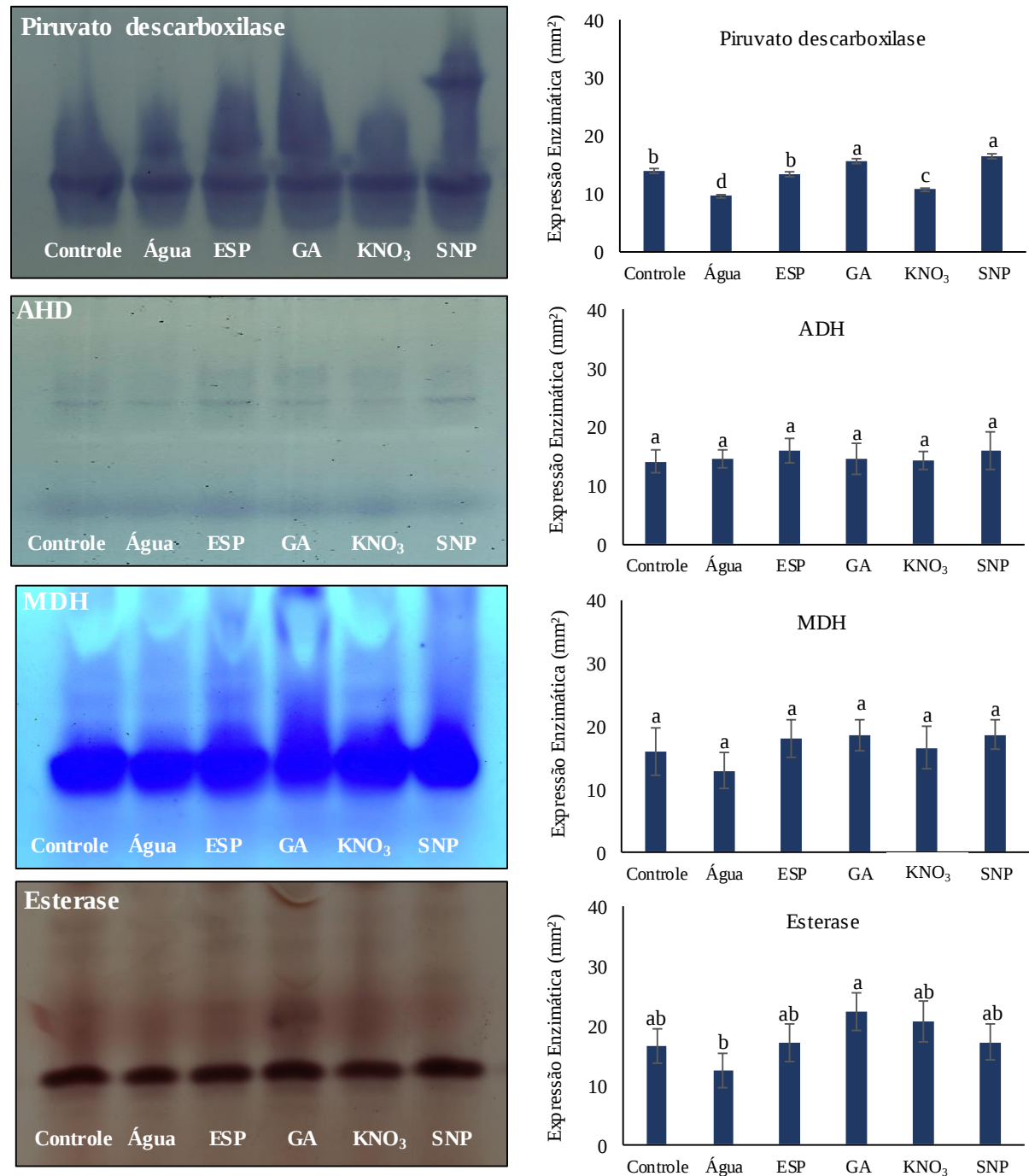
Cardoso et al., (2015) trabalhando com sementes de *Urochloa brizantha* observaram que a utilização de KNO_3 0,2% no condicionamento osmótico proporcionou maior valor na avaliação de primeira contagem de germinação aos 7 dias em comparação com o $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 0,2%, KNO_3 + giberelina, KNO_3 + bioestimulante e $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ + giberelina; porém não diferiu dos tratamentos com bioestimulante, auxina, giberelina, citocinina e controle (sem condicionamento).

Com relação as sementes viáveis remanescentes do teste de germinação (Figura 3E), que são aquelas que não germinaram durante os 21 dias de teste e não estavam mortas, para todos os tratamentos, inclusive o controle, foi observado baixa porcentagem de sementes remanescentes e entre estas poucas estavam viáveis. Isso sugere baixa dormência das sementes do lote utilizado (BATISTA et al., 2018; PEREIRA et al., 2018).

Ao analisar os aspectos fisiológicos da qualidade de *U. brizantha* cv. Xaraés, Pereira et al. (2018) concluem que o condicionamento a 25°C funcionou como um tratamento para superar a dormência das sementes. Destacam também que o desempenho do condicionamento é mais expressivo no vigor das sementes do que na germinação. Assim, a manifestação do efeito do condicionamento no vigor das sementes seria decisiva para o estabelecimento de plantas em campo, resultando em uma emergência mais rápida e uniforme.

Ao analisar a enzima piruvato descarboxilase, é possível observar que as sementes condicionadas com SNP, juntamente com as condicionadas com GA, obtiveram as maiores expressões (Figura 4). Essa enzima é importante por atuar na glicólise e ativar o processo de produção de energia (LONG et al., 2015). Vale ressaltar a presença de uma banda na expressão das sementes condicionadas com SNP e que não está presente nos demais tratamentos. Com isso, é possível inferir um grau de sensibilidade na expressão dessa enzima em sementes de *Urochloa ruziziensis* quando condicionadas com SNP.

Figura 4 – Expressão das enzimas piruvato descarboxilase, álcool desidrogenase (ADH), malato desidrogenase (MDH) e esterase em sementes de *Uroclhoa brizantha*, sem serem submetidas ao condicionamento fisiológico (Controle) e submetidas ao condicionamento nas soluções de água, espermidina (ESP), nitrato de potássio (KNO_3), giberelina (GA) e nitroprussiato de sódio (SNP).



Legenda: Médias seguidas por uma mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. (Coluna à esquerda são as imagens dos géis e a coluna à direita são as quantificações das expressões enzimáticas).

Fonte: da autora (2020).

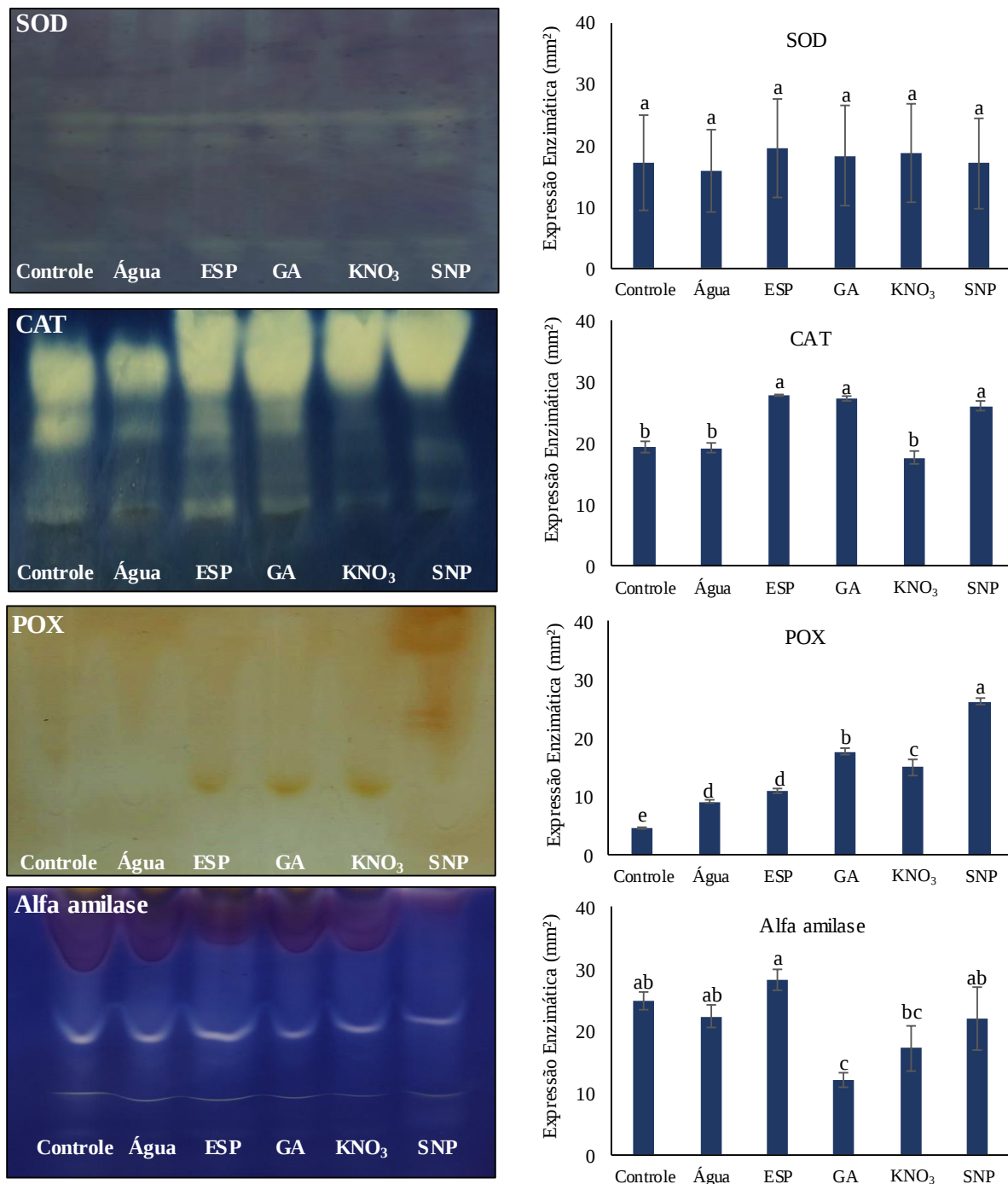
Para as enzimas álcool desidrogenase (ADH) e a malato desidrogenase (MDH) não houve diferença na expressão entre os tratamentos (Figura 4). A ADH atua no processo respiratório, reduzindo substâncias tóxicas às sementes, como acetaldeído a etanol, que são produzidos quando as células passam a realizar respiração anaeróbica (LEMES et al., 2018; CHAENGSAKUL et al., 2019). Com relação a MDH (Figura 4), esta desempenha função importante na síntese de aminoácidos e na gliconeogênese, na manutenção dos potenciais redox e no intercâmbio de metabólitos entre o citosol e organelas, e principalmente na respiração aeróbica (LÜ et al., 2018). A inexistência de diferença entre os tratamentos é um indicativo de que o condicionamento não aumentou a atividade respiratória.

Para a enzima esterase, as sementes condicionadas com GA obtiveram maior expressão enzimática, além de maior intensidade das bandas (Figura 4). A GA ativa a produção de enzimas hidrolíticas o que causa o enfraquecimento da camada do endosperma que envolve o embrião (LI; YANG; ZHANG, 2019). Assim, uma maior atividade da esterase pode estar relacionada a maiores valores de germinação, uma vez que a esterase está envolvida no desdobramento de lipídeos e esse processo é relevante para a retomada do eixo embrionário (MARQUES et al., 2019; YE et al., 2019). As sementes condicionadas com GA obtiveram uma das maiores porcentagens de germinação entre os tratamentos (76%) (Figura 2A).

Em resposta a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs), as plantas desenvolveram um mecanismo para efetuar sua remoção, ou mesmo para minimizar seus efeitos tóxicos. Assim, as plantas possuem um sistema enzimático, formado pelas enzimas superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POX) e a catalase (CAT) (CHOUDHARY; KUMAR; KAUR, 2019).

Para a atividade da SOD não foi observada diferença na expressão da enzima entre os tratamentos (Figura 5). Considerada a primeira linha de defesa contra EROs, a SOD realiza a dismutação dos íons superóxido (O_2^-), com a formação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), catalisando a remoção do O_2^- . O H_2O_2 formado pela reação da SOD é dismutado em água (H_2O) e O_2 , por meio das enzimas CAT e POX (PAUL; ROYCHOUDHURY, 2017; CHOUDHARY; KUMAR; KAUR, 2019; LIU; SOUNDARARAJAN; MANIVANNAN, 2019).

Figura 5 – Expressões das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (APX) e alfa amilase em sementes de *Uroclhoa brizantha*, sem serem submetidas ao condicionamento fisiológico (Controle) e submetidas ao condicionamento nas soluções de água, espermidina (ESP), nitrato de potássio (KNO_3), giberelina (GA) e nitroprussiato de sódio (SNP).



Legenda: Médias seguidas por uma mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. (Coluna à esquerda são as imagens dos géis e a coluna à direita são as quantificações das expressões enzimáticas).

Fonte: da autora (2020).

Ao considerar a expressão da CAT foi possível observar maior expressão para as sementes condicionadas com ESP, GA e SNP (Figura 5). No entanto, ao considerar a

intensidade das bandas, o KNO_3 proporcionou maior expressão juntamente com ESP, GA e SNP. A POX também promove a remoção do H_2O_2 , no entanto, ela atua diretamente na remoção deste composto dos cloroplastos e citosol, enquanto a catalase atua principalmente nos peroxissomos (PAUL; ROYCHOUDHURY et al., 2017; CHOUDHARY; KUMAR; KAUR, 2019; LIU; SOUNDARARAJAN; MANIVANNAN, 2019; MARQUES et al., 2019). Maior atividade da POX foi observada nas sementes condicionadas com SNP e a menor atividade no controle (Figura 5).

Durante a germinação das sementes, as reservas insolúveis com alto peso molecular, como o amido no caso das poáceas, são degradadas e convertidas em formas solúveis, que são rapidamente transportadas para o tecido para crescimento e uso em reações de síntese ou produção de energia (DINIZ et al., 2018; LOPES et al., 2018b). A enzima alfa amilase é importante na hidrólise do amido (DINIZ et al., 2018; LIU et al., 2018; LOPES et al., 2018b). Com relação a esta enzima, as sementes condicionadas obtiveram a maior expressão no condicionamento com ESP e a menor expressão no condicionamento com GA (Figura 5).

O processo de ativação da alfa amilase começa quando a giberelina presente no embrião entra em uma célula da camada de aleurona e induz essas células a sintetizar e a secretar a alfa amilase (LIU et al., 2018; LI; YANG; ZHANG, 2019). No entanto, os resultados observados mostram que o condicionamento com GA não foi eficiente para uma alta atividade da enzima (Figura 5). Esse comportamento pode ser justificado pelo fato da biossíntese da giberelina ser regulada, além de fatores exógenos como fotoperíodo e temperatura, por fatores endógenos como a retroalimentação, ou seja, uma alta concentração interna de giberelina pode inibir sua síntese.

4 CONCLUSÕES

O condicionamento fisiológico se apresenta como uma boa técnica para melhorar a qualidade de sementes do gênero *Urochloa ruziziensis*.

O Nitroprussiato de sódio é o condicionante com melhores resultados dentre os cinco utilizados e o período de condicionamento de 42 horas é o que proporciona maior eficiência.

Sementes condicionadas em nitroprussiato de sódio tem maior expressão da peroxidase, enzima responsável pela retirada de EROs em condições de estresse.

REFERÊNCIAS

- ABIEC - **Perfil de Pecuária no Brasil** – Relatório Anual 2018 (Abiec, Brazilian Beef, Apex Brasil). Disponível em: <http://www.abiec.com.br/controle/uploads/arquivos/sumario2019portugues.pdf>. Acesso em: janeiro de 2020.
- ALFENAS, A. C. (Ed.) Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismos. 2. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2006. 627 p.
- ALVES, B. A. et al. Germinação de sementes de forrageiras do gênero *Brachiaria* em função dos ambientes e tempos de armazenamento. **Global Science and Technology**, Goiânia, v. 10, n. 01, p. 11-19, 2017.
- ATAÍDE, G. M. Óxido nítrico na germinação de sementes de baixo vigor de *Dalbergia nigra*. **Revista de Ciências Agrárias**, Recife, v. 38, n. 3, p. 438-444, 2015.
- BATISTA, T. B. et al. Nutrientes e giberelina no condicionamento fisiológico sob a qualidade de sementes de braquiária. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia, v. 2, n. 1, p. 10-16, 2015.
- BATISTA, T. B. et al. Priming of brachiaria seeds with different sugar sources and concentrations. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 31, n. 4, p. 843-849, 2018.
- BHANUPRAKASH, K.; YOGESHA, H. S. Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. In **Abiotic stress physiology of horticultural crops**, New Delhi, p. 103-117, 2016.
- BONOME, L. T. D. S. et al. Efeito do condicionamento osmótico em sementes de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 3, 422-428, 2006.
- BONOME, L. T. et al. Osmoconditioning of *Urochloa brizantha* seeds to reduce pelleting negative effects. **Brazilian Journal of Agriculture-Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 92, n. 2, p. 87-100, 2017.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 395 p.
- CARDOSO, E. D. et al. Desempenho fisiológico e superação de dormência em sementes de *Brachiaria brizantha* submetidas a tratamento químico e envelhecimento artificial. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 1, p. 21-37, 2014.
- CARDOSO, E. D. et al. Qualidade fisiológica e composição química de sementes de *Brachiaria brizantha* em função do condicionamento osmótico. **Journal of Neotropical Agriculture**, Cassilândia, v. 2, n. 2, p. 42-48, 2015.
- CATUCHI, T. A. et al. Manejo do nitrogênio em gramíneas forrageiras quanto à nutrição, produção de sementes e nutrientes na palhada residual. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 54, 2019.

CHAENGSAKUL, C. et al. Ethanol production and mitochondrial-related gene expression of maize (*Zea mays*) seed during storage. **Journal of Integrative Agriculture**, Beijing, 18(11), 2435-2445, 2019.

CHOUDHARY, A.; KUMAR, A.; KAUR, N. ROS and oxidative burst: Roots in plant development. **Plant Diversity**, Beijing, 2019.

DINIZ, R. P. et al. Qualidade fisiológica e expressão de alfa-amilase em sementes de milho produzidas em condições de estresse salino e hídrico. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 17, n. 1, p. 37-48, 2018.

FARAJI, J.; SEPEHRI, A.; SALCEDO-REYES, J. C. Titanium dioxide nanoparticles and sodium nitroprusside alleviate the adverse effects of cadmium stress on germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). **Universitas Scientiarum**, Bogotá, v. 23, n. 1, p. 61-87, 2018.

HUSSAIN, S. et al. Benefits of rice seed priming are offset permanently by prolonged storage and the storage conditions. **Scientific Reports**, London, v. 5, n. 1, p. 1-12, 2015.

JOSÉ, A. C. et al. Influence of priming on *Eucalyptus* spp. seeds' tolerance to salt stress. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 38, n. 4, p. 329-334, 2016.

KAISER, I. S. et al. Efeito de liberadores de óxido nítrico na qualidade fisiológica de sementes de repolho sob salinidade. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 63, n. 1, p. 39-45, 2016.

KISSMANN, C. et al. Germinação de sementes de *Stryphnodendron* Mart. Osmocondicionadas. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 2 p. 26-35, 2010.

LEMES, E., et al. Aplicação de sílicio no solo: efeito na expressão enzimática de sementes oriundas de plantas de arroz sob estresse salino. **Colloquium Agrariae**, Presidente Prudente, v. 14, n.1, p. 129-136, 2018.

LI, Q.; YANG, A.; ZHANG, W. H. Higher endogenous bioactive gibberellins and α -amylase activity confer greater tolerance of rice seed germination to saline-alkaline stress. **Environmental and Experimental Botany**, Barcelona, v. 162, p. 357-363, 2019.

LI, Z. et al. Reactive oxygen species and gibberellin acid mutual induction to regulate tobacco seed germination. **Frontiers in plant science**, Lausanne, v. 9, n. 1279, 2018.

LIU, B.; SOUNDARARAJAN, P.; MANIVANNAN, A. Mechanisms of Silicon-Mediated Amelioration of Salt Stress in Plants. **Plants**, Basel, v. 8, p. 307, 2019.

LIU, L. et al. Salinity inhibits rice seed germination by reducing α -amylase activity via decreased bioactive gibberellin content. **Frontiers in Plant Science**, Parkville, v. 9, p. 275, 2018.

LONG, X. et al. Molecular identification and characterization of the pyruvate decarboxylase gene family associated with latex regeneration and stress response in rubber tree. **Plant Physiology and Biochemistry**, Rockville, v. 87, p. 35-44, 2015.

- LOPES, C. A. et al. Cryopreservation of primed tobacco seeds. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 40, n. 4, 2018a.
- LOPES, C. A. et al. Primary leaf growth and coleoptile length in maize seedlings. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 40, 2018b.
- LÜ, G. et al. Molecular cloning and functional characterization of mitochondrial malate dehydrogenase (mMDH) is involved in exogenous GABA increasing root hypoxia tolerance in muskmelon plants. **Scientia Horticulturae**, Viterbo, v. 258, n. 108741, 2019.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination - Aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.
- MARQUES, T. L. et al. Expression of ZmLEA3, AOX2 and ZmPP2C genes in maize lines associated with tolerance to water deficit. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 43, 2019.
- MATIAS, F. I. et al. Expected genotype quality and diploidized marker data from genotyping-by-sequencing of *Urochloa* spp. tetraploids. **The Plant Genome**, Madson, v. 12, n. 3, 2019.
- MITCHELL, J. et al. Gibberellin response in the embryo epidermis regulates germination uniformity in response to seed priming. **bioRxiv**, Laurel Hollow, 436121, 2018.
- NASCIMENTO, W. M. et al. Germinação de sementes de cenoura osmoticamente condicionadas e peletizadas com diversos ingredientes. **Horticultura Brasileira**, Recife, v. 27, n. 1, p. 12-16, 2009.
- PAUL, S.; ROYCHOUDHURY, A. Seed priming with spermine and spermidine regulates the expression of diverse groups of abiotic stress-responsive genes during salinity stress in the seedlings of indica rice varieties. **Plant Gene**, Kidlington v. 11, p. 124-132, 2017.
- PEREIRA, S. R. et al. Priming of *Urochloa brizantha* cv. Xaraés seeds. **African Journal of Agriculture Research**, Pretoria, v. 13, n.1, p.2804-2807, 2018.
- PINTO, A. H. et al. Teste de condutividade elétrica para diferenciação dos níveis de deterioração de sementes de forrageiras. **Journal of Neotropical Agriculture**, Cassilândia, v. 3, n. 2, p. 9-15, 2016.
- PIRES, R. et al. Action of nitric oxide in sesame seeds (*Sesamum indicum* L.) submitted to stress by cadmium. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 38, n.1, p. 022-029, 2016.
- QUEIROZ, R. F. D. et al. Consórcio de milho com *Urochloa ruziziensis* sob plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 46, n. 3, p. 238-244, 2016.
- RIBEIRO, E. C. G. et al. Physiological quality of *Urochloa brizantha* seeds submitted to priming with calcium salts. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 49, 2019.
- SILVA, A. B.; LANDGRAF, P. R. C.; MACHADO, G. W. O. Germinação de sementes de braquiária sob diferentes concentrações de giberelina. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 2, p. 657-662, 2013.

SILVA, A. L. D. et al. Effect of sodium nitroprusside (SNP) on the germination of *Senna macranthera* seeds (DC. ex Collad.) HS Irwin & Baneby under salt stress. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 37, n. 4, p. 236-243, 2015.

SILVA, A. L. D. et al. Effect of cyanide by sodium nitroprusside (SNP) application on germination, antioxidative system and lipid peroxidation of *Senna macranthera* seeds under saline stress. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 41, n. 1, p. 86-96, 2019.

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

SOUZA SOBRINHO, F. S. et al. Melhoramento genético de *Brachiaria ruziziensis*: histórico e estratégias. In: MARTINS, C. B. et al (Org.). **Tópicos especiais em ciência animal IV**. Alegre: Ed. CAUFES, 2016, 309-329.

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

YAN, M. Prolonged storage reduced the positive effect of hydropriming in Chinese cabbage seeds stored at different temperatures. **South African Journal of Botany**, Pretoria, v. 111, p. 313-315, 2017.

YE, L. et al. Properties comparison between free and immobilized wheat esterase using glass fiber film. **International Journal of Biological Macromolecules**, Colorado, v. 125, p. 87-91, 2019.

ZHENG, M. et al. Seed priming in dry direct-seeded rice: consequences for emergence, seedling growth and associated metabolic events under drought stress. **Plant Growth Regulation**, New York, v. 78, n. 2, p.167-178, 2016.

CAPÍTULO 4

Restrição hídrica e salinidade em sementes de *Urochloa brizantha* submetidas ao condicionamento fisiológico

RESUMO

A resposta germinativa de sementes submetidas à condição de estresses artificiais são ferramentas para um melhor entendimento da capacidade de sobrevivência e adaptação das espécies em condições de estresses naturais. Diante disso, o objetivo neste trabalho foi avaliar o efeito do condicionamento fisiológico na germinação de sementes e comprimento de plântulas de *Urochloa brizantha* cv. Marandu sob condições de restrição hídrica e estresse salino. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial (3x6), sendo três condições de germinação (água, restrição hídrica com PEG e salinidade com NaCl) e 6 tratamentos que constituíram as cinco soluções condicionantes (água destilada, nitrato de potássio, espermidina, giberelina e nitroprussiato de sódio) mais um controle (semente não condicionada). Determinou-se: teor de água após condicionamento (antes da secagem) e após a secagem das sementes; germinação aos sete e aos vinte um dias após a semeadura; índice de velocidade de germinação; viabilidade pelo teste de tetrazólio das sementes remanescentes do teste de germinação; e comprimento de plântulas. O condicionamento fisiológico é eficiente em minimizar os efeitos negativos da restrição hídrica e salinidade. Com a utilização de nitroprussiato de sódio no condicionamento ocorre menor porcentagem de sementes dormentes e maior germinação, vigor e desenvolvimento de plantas.

Palavras chave: braquiária, nitroprussiato de sódio, espermidina, polietileno glicol, cloreto de sódio.

ABSTRACT

The germinative response of seeds submitted to artificial stress condition are tools for a better understanding of the survival and adaptation capacity of species under natural stressed conditions. Therefore, this work aimed to evaluate the effect of priming on seed germination and seedling length of *Urochloa brizantha* cv. Marandu under conditions of water restriction and salinity stress. A completely randomized design, with four replications, in a factorial scheme (3x6) was used, with three germination conditions (water, water restriction with PEG and salinity with NaCl) and 6 treatments that constituted the five priming solutions (distilled water, nitrate potassium, spermidine, gibberellin and sodium nitroprusside) plus a control (not primed seeds). It was determined: seed moisture after priming (before drying) and after drying the seeds; germination test on the seventh and twentieth day after sowing; germination speed index; viability through tetrazolium test of the remaining seeds from the germination test and seedling length. Priming is an efficient technique that minimizes the negative effects of water restriction and salinity. Using sodium nitroprusside as a priming solution occurs a lower percentage of dormant seeds and a greater germination, vigor and plant development.

Keywords: brachiaria, sodium nitroprusside, spermidine, polyethylene glycol, sodium chloride.

1 INTRODUÇÃO

A produção de sementes de forrageiras, em especial as do gênero *Urochloa*, vêm ganhando mercado e se expandido para diversas regiões do país e do mundo (ABRASEM et al., 2018), porém as pesquisas ainda são escassas e nem sempre a implantação da cultura apresenta resultados satisfatórios (CATUCHI et al., 2019; RIBEIRO et al., 2019).

Muitas das vezes, o problema da má formação das pastagens se inicia por não utilizar sementes vigorosas que apresentem bom desempenho às situações de estresse que essas sementes são expostas nas fases iniciais de germinação (CARDOSO et al., 2014; BONOME et al., 2017). Entre as principais situações de estresse que afetam a germinação e emergência das plântulas em campo, especialmente nas regiões áridas e semiáridas, estão a salinidade e o déficit hídrico (GUPTA et al., 2014; SABERALI; MORADI, 2019). As respostas à restrição hídrica e à salinidade estão intimamente relacionadas e os mecanismos se sobrepõem, sugerindo que em ambos o estresse é percebido pelas células como um evento de privação de água (BHANUPRAKASH; YOGEESEA, 2016).

No entanto, a salinidade com NaCl não atua apenas por restringir a absorção de água e causar estresse hídrico, mas também causa toxicidade, devido aos íons Na^+ e Cl^- . Isso cria um desequilíbrio iônico no citoplasma celular, o que pode levar à formação de espécies reativas de oxigênio (ERO) que causam peroxidação lipídica da membrana, danos ao DNA, desnaturação de proteínas, oxidação de carboidratos e diminuição da atividade enzimática (LI et al., 2018; LIU et al., 2019).

Um dos métodos usados para determinar a tolerância de uma planta ao estresse hídrico é avaliar a capacidade de germinação das sementes sob restrição hídrica com polietileno glicol (PEG), que é uma técnica eficiente, uma vez que esse composto inorgânico reduz o potencial osmótico da solução e realiza uma restrição controlada na embebição sem causar toxicidade (PEREIRA et al., 2012; BARBIERI et al., 2019).

Estudos relacionados com a resposta germinativa de sementes submetidas à condição de estresses artificiais auxiliam no entendimento da capacidade de sobrevivência e adaptação das espécies em condições de estresses naturais, comuns em regiões agrícolas e florestais (BHANUPRAKASH; YOGEESEA, 2016; BARBIERI et al., 2019; SABERALI; MORADI, 2019). Além disso, técnicas que visam reduzir os riscos aos quais as sementes serão expostas em campo vêm sendo cada vez mais estudadas. Dentre elas o condicionamento fisiológico é uma técnica em que ocorre a absorção de água pela semente, sob condições controladas, que

ativa o metabolismo das sementes durante as fases I e II da embebição, mas impede que ocorra a protrusão radicular (BHANUPRAKASH; YOGEESEA, 2016; JOSÉ et al., 2016).

Essa técnica permite maior tempo para a reparação ou reorganização das membranas, dando possibilidade aos tecidos de se desenvolverem de maneira mais ordenada, o que reduz os riscos de danos ao eixo embrionário (BONOME et al., 2017; BATISTA et al., 2018; PEREIRA et al., 2018; RIBEIRO et al., 2019). Diante disso, o objetivo neste trabalho foi avaliar o efeito do condicionamento fisiológico na germinação de sementes e comprimento de plântulas de *Urochloa brizantha* cv. Marandu sob condições de restrição hídrica e estresse salino.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório Central de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras – MG. Foram utilizadas sementes de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, fornecidas pela empresa Sementes Mineirão Ltda. produzidas na safra 2017/2018.

As sementes de braquiária foram submetidas ao condicionamento fisiológico. Este foi realizado em BOD regulada a 25°C (PEREIRA et al, 2018), sem luz e adaptada com um compressor de ar, responsável por manter as soluções aeradas, pelo tempo de 42 horas. Como soluções condicionantes utilizou-se água destilada, solução de nitrato de potássio 0,2% (CARDOSO et al., 2014, CARDOSO et al., 2015), solução de espermidina 0,5 mmol L⁻¹ (HUSSAIN et al., 2015; LOPES et al., 2018), solução de giberelina 50 mg L⁻¹ (BATISTA et al., 2015; CARDOSO et al., 2015) e solução de nitroprussiato de sódio 0,10 mmol L⁻¹ (ATAÍDE et al., 2015; SILVA et al., 2015; FARAJI; SEPEHRI; SALCEDO-REYES, 2018). Foram colocados 40 gramas de sementes em 400 ml de solução. As sementes utilizadas como controle não foram condicionadas.

Após o condicionamento, as sementes foram lavadas em água corrente, secadas em estufa de circulação de ar por 24 horas a 25 °C e após esse período secadas a 35°C com circulação de ar por 72 horas. O teor de água foi determinado logo após o condicionamento (antes da secagem) e após a secagem das sementes, para tal foram retiradas quatro repetições de 200 sementes de cada tratamento e submetidas à estufa a 105°C por 24 horas (BRASIL, 2009).

As sementes condicionadas e não condicionadas foram submetidas a diferentes condições de germinação: condição controle (água destilada), condição de estresse salino (solução de NaCl) e condição de restrição hídrica (polietileno glicol 6000 - PEG). A concentração utilizada para preparar as soluções de PEG e NaCl foram de -0,4 MPa (PEREIRA et al., 2012).

No teste de germinação, para todas as condições de germinação, foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes. A semeadura foi realizada sobre duas folhas de papel mata borrão em caixas tipo gerbox, os papéis foram umedecidos com volume de solução contendo as referidas soluções, equivalente a 2,5 vezes o peso seco do papel. Permaneceram em câmaras tipo BOD com temperatura alternada 20-35°C e fotoperíodo de 8-16 horas e a primeira contagem foi realizada aos sete dias e a contagem final aos 21 dias após a semeadura (BRASIL, 2009). Concomitante ao teste de germinação foi realizado o índice de velocidade de germinação

(MAGUIRE, 1962). Foram computadas como plântulas normais aquelas que havia rompido o coleóptilo e que o comprimento da folha primária (acima do coleóptilo) apresentava o mesmo tamanho do coleóptilo, ou seja, quando 50% da parte aérea estava envolvida pelo coleóptilo e 50% cresceu acima deste.

Após a condução do teste, as sementes remanescentes (que não germinaram e não estavam mortas) foram submetidas ao teste de tetrazólio (BRASIL, 2009). As sementes foram cortadas longitudinalmente com auxílio de pinça e bisturi. Após o corte foram colocadas em solução de 0,1% de cloreto 2-3-5 trifênil tetrazólio em recipiente escuro e mantidos em câmara de germinação tipo BOD com temperatura constante de 40°C por 3 horas. As sementes foram avaliadas considerando-se a localização e a intensidade da coloração de suas partes, permitindo identificar sementes viáveis (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem.

Para a análise de imagens de plântulas, foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes. A semeadura foi realizada sobre duas folhas de papel germitest e sobrepostas com mais uma folha, as quais foram umedecidas com volume de solução contendo as soluções citadas anteriormente, equivalente a 2,5 vezes o peso seco do papel. Permaneceram em câmaras tipo BOD com temperatura alternada 20-35°C e fotoperíodo de 8-16 horas. Os rolos foram acondicionados em sacos plásticos para evitar perda de umidade. As imagens das plântulas foram obtidas aos 7 dias após a montagem do teste, equivalente ao período de primeira contagem de germinação (BRASIL, 2009).

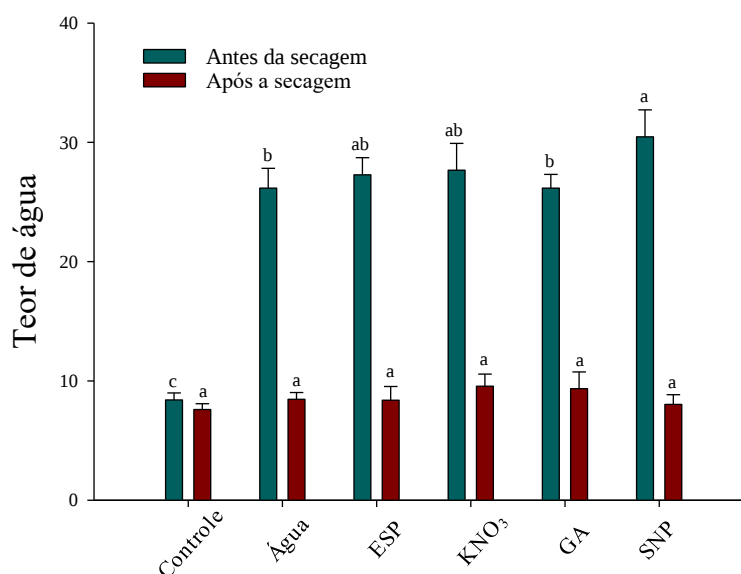
Para a captura das imagens foi utilizado o sistema GroundEye[®], versão S800, composta por um módulo de captação que possui uma bandeja de acrílico, uma câmera de alta resolução e um software integrado para avaliação. As plântulas foram retiradas do papel germitest e inseridas na bandeja do módulo de captação para a obtenção das imagens. Na etapa de configuração da análise foi utilizada a calibração da cor de fundo CIELab índice de luminosidade de 0 a 100, dimensão “a” -17,5 a 42,5 e dimensão “b” de -57,0 a -28,9. Depois da calibração da cor do fundo realizou-se a análise das imagens e extraiu-se valores de comprimento da raiz e comprimento de parte aérea.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial (3x6), sendo três condições de germinação e 6 tratamentos que constituíram as cinco soluções condicionantes mais um controle (semente não condicionada). As médias foram submetidas a análise de variância e, quando significativas, aplicou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes condicionadas embeberam maior quantidade de água quando condicionadas com nitroprussiato de sódio (SNP), seguidas pelas que foram condicionadas com nitrato de potássio (KNO_3) e espermidina (ESP) (Figura 1). Após a secagem todos os tratamentos retornaram ao teor de água próximo ao das sementes que não foram condicionadas.

Figura 1 – Teor de água de sementes de *Urochloa brizantha*, antes e após a secagem, sem serem submetidas ao condicionamento fisiológico (controle) e submetidas ao condicionamento nas soluções de água, espermidina (ESP), nitrato de potássio (KNO_3), giberelina (GA), e nitroprussiato de sódio (SNP).



Legenda: Médias seguidas por uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade de erro.

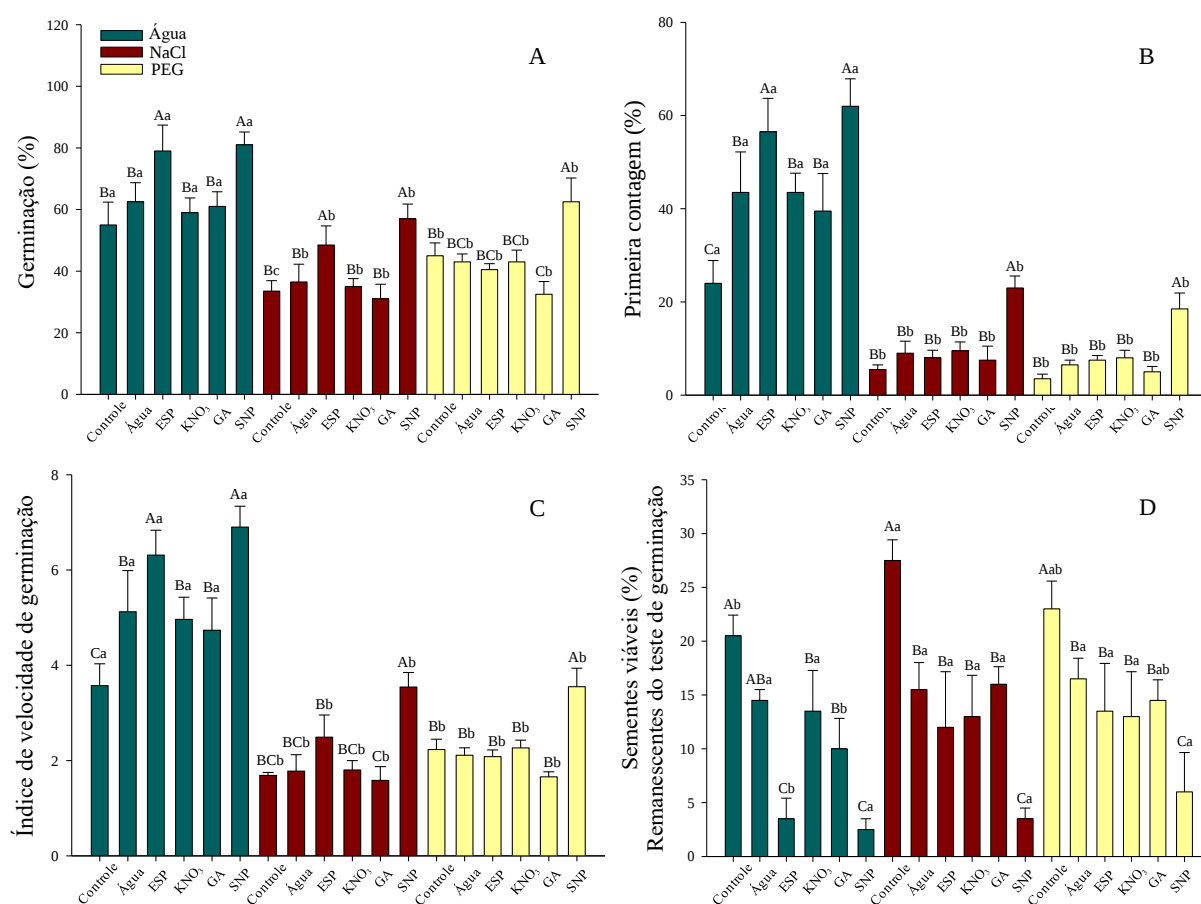
Fonte: da autora (2020).

A hidratação é importante para iniciar o metabolismo das sementes, que é reduzido sob baixo teor de água (BATISTA et al., 2016). BATISTA et al. (2016), ao avaliarem o teor de carboidratos de *Urochloa brizantha*, verificaram que o período de hidratação proporcionou, de forma acentuada, maior quantidade de açúcares livres, os quais seriam usados como fontes de energia durante o processo de germinação. Os autores explicam tal fato pelo maior tempo disponível para hidrólise do tecido de reserva das sementes proporcionado pelo condicionamento.

Em água e estresse salino, a cultivar Marandu obteve maior porcentagem de germinação quando as sementes foram condicionadas com ESP e SNP. Para a restrição hídrica com PEG, o SNP proporcionou uma germinação superior entre todas as soluções condicionantes (Figura

2A). Para as soluções condicionantes, não houve diferença de germinação entre as condições de restrição hídrica e de estresse salino. Com relação as sementes não condicionadas (controle), foi verificada menor germinação no estresse salino do que na restrição hídrica.

Figura 2 – Germinação (A), Primeira Contagem (B), Índice de Velocidade de Germinação e Sementes Viáveis (D) remanescentes do Teste de Germinação de sementes *Urochloa brizantha*, germinadas em água, estresse salino (NaCl) e restrição hídrica (PEG), sem serem submetidas ao condicionamento fisiológico (Controle) e submetidas ao condicionamento nas soluções de água, espermidina (ESP), nitrato de potássio (KNO₃), giberelina (GA), e nitroprussiato de sódio (SNP).



Legenda: Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes (dentro de cada condição) e minúscula entre condições para germinação, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Fonte: da autora (2020).

Vários autores verificaram que os efeitos positivos da ESP têm sido associados à manutenção da integridade da membrana, à regulação da expressão gênica, à quebra de dormência e germinação de sementes, desenvolvimento de flores e frutos e senescência (GUPTA et al., 2014; LOPES et al., 2018; YALAMALLE et al., 2019). Além disso, a ESP

também desempenha um papel crucial na tolerância a estresses abióticos (YALAMALLE et al., 2019).

Além da ESP, a aplicação exógena de SNP, um doador de óxido nítrico, também tem desempenhado importantes papéis na tolerância às situações de estresse (KAISER et al., 2016; PIRES et al., 2016; SILVA et al., 2019). Para *Senna macranthera*, o SNP favoreceu a germinação de sementes sob estresse salino submetidas a potenciais osmóticos de -0,4 e -0,5 MPa de NaCl, em uma concentração de 100 μ M de SNP (SILVA et al., 2019). Estudos com *Brassica* sp. demonstraram que o estresse salino afeta a qualidade fisiológica e o vigor das sementes, mas que a aplicação de SNP reverte o estresse provocado pela salinidade (KAISER et al., 2016).

O óxido nítrico, por ser uma pequena molécula gasosa volátil, reage com os radicais lipídicos, impedindo a oxidação lipídica, com isso exerce um efeito protetor ao eliminar o radical superóxido e a formação de peroxinitrito que pode ser neutralizado por outros processos celulares, além de atuar na ativação de enzimas antioxidantes (GUPTA et al., 2014; KAISER et al., 2016; PIRES et al., 2016; SILVA et al., 2019).

Com relação a primeira contagem de germinação, na condição de germinação em água, o condicionamento propiciou um aumento significativo do vigor comparado com o controle (Figura 2B). Quando as sementes foram expostas à germinação em condição de estresse salino e restrição hídrica, o SNP foi o condicionante que proporcionou valores superiores a todos os tratamentos. Não houve diferença para primeira contagem ao avaliar cada condicionante entre as condições de estresse salino e restrição hídrica.

Para o Índice de Velocidade de Germinação, observou-se resultados semelhantes aos da primeira contagem, sendo o SNP e a ESP os condicionantes com maior índice para a condição de germinação em água (Figura 2C). Para esta variável, nas condições de estresse, o SNP foi superior às soluções condicionantes e ao controle. As condições de estresse não diferiram entre si para todos os tratamentos, mas reduziram o Índice de Velocidade de Germinação ao comparar com a água.

Um dos fatores responsáveis pela redução da germinação pode ter sido o excesso de íons Na^+ e Cl^- , que causam toxicidade e diminuição do edema protoplasmático (GUPTA et al., 2014). Outro fator pode ter sido o excesso de sais solúveis, resultando em menor potencial hídrico, ou seja, a capacidade de absorção de água das sementes é reduzida (KAISER et al., 2016; SILVA et al., 2019).

O condicionamento fisiológico ao reduzir o tempo de germinação e uniformizar este processo, reduz os efeitos das variações ambientais, o que permite a germinação em diferentes

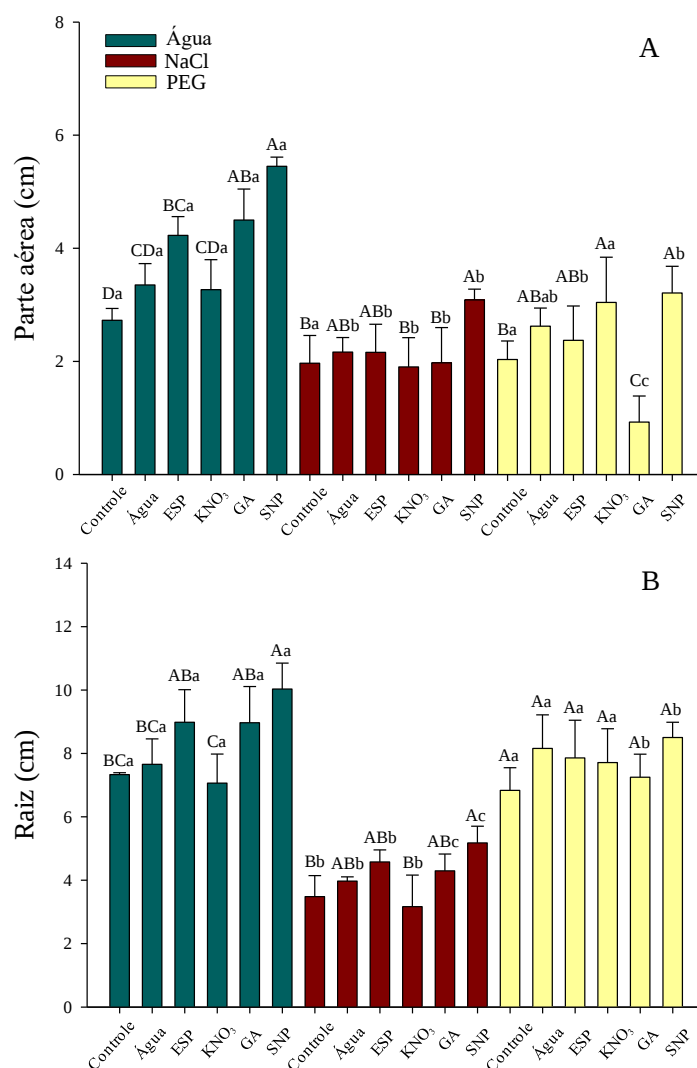
condições de temperatura, luz, solo e disponibilidade de água, o que possibilita ainda, aceleração no crescimento das parte aérea e raiz (BHANUPRAKASH; YOGEESHA, 2016; RIBEIRO et al., 2019).

Na condição de germinação em água a porcentagem de sementes viáveis remanescentes do teste de germinação foram menores nos tratamentos condicionados com ESP e SNP (Figura 2D). Para as condições de estresse salino e restrição hídrica os tratamentos condicionados com SNP obtiveram o menor número de sementes remanescentes viáveis. Isso sugere que a ESP e o SNP atuam na quebra de dormência dessa cultivar em situações ótimas, enquanto que o SNP atua na quebra de dormência tanto em situações ótimas como em situações de estresse.

Para as sementes submetidas ao condicionamento foi observado menor quantidade de sementes remanescentes viáveis em relação ao controle (Figura 2D). Pesquisas demonstraram que o condicionamento das sementes de *Urochloa* sp. proporcionou menor porcentagem de sementes dormentes e maior porcentagem de germinação e de emergência de plântulas em menor tempo (BONOME et al., 2017; BATISTA et al., 2018; PEREIRA et al., 2018; RIBEIRO et al., 2019).

Para o comprimento de parte aérea não houve diferença para o controle nas condições de crescimento em água, salinidade e restrição hídrica (Figura 3A). No entanto, ao comparar o controle com as sementes condicionadas na condição de crescimento em água, este foi inferior ao SNP, GA e ESP. Na condição de estresse salino e de restrição hídrica, para essa variável, o controle foi inferior apenas ao SNP.

Figura 3 – Comprimento (cm) de parte aérea (A) e raiz (B) obtidos pela análise de imagens de plântulas de *Urochloa brizantha*, com 7 dias de germinação em água, estresse salino (NaCl) e restrição hídrica (PEG), sem serem submetidas ao condicionamento fisiológico (Controle) e submetidas ao condicionamento nas soluções de água, espermidina (ESP), nitrato de potássio (KNO₃), giberelina (GA), e nitroprussiato de sódio (SNP).



Legenda: Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes (dentro de cada condição) e minúscula entre condições para germinação, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Fonte: da autora (2020).

Com relação ao tamanho de raiz, observou-se nas sementes germinadas em solução salina maior redução no comprimento radicular do que em restrição hídrica (Figura 3B). No crescimento em água e solução salina o condicionamento com SNP foi o único condicionante que proporcionou maior comprimento que o controle. Porém, quando o controle foi submetido à restrição hídrica o comprimento radicular não diferenciou dos demais tratamentos, foi superior à condição salina e não diferenciou do comprimento em água. De forma geral, o

crescimento desta forrageira, foi mais sensível ao estresse salino do que à restrição hídrica (Figura 3).

Em resposta ao estresse de salinidade, a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), como oxigênio singlete, superóxido, radical hidroxila e peróxido de hidrogênio, é aprimorada (GUPTA et al., 2014; DU et al., 2015; KAISER et al., 2016; SILVA et al., 2019). A formação de EROs induzida pela salinidade pode levar a danos oxidativos em vários componentes celulares, como proteínas, lipídios e DNA, interrompendo as funções celulares vitais das plantas (GUPTA et al., 2014; LIANG et al., 2018; LIU et al., 2019). Além disso, a alta concentração de Na^+ inibe a captação de íons K^+ , que é um elemento essencial para o crescimento e que resulta em menor produtividade e pode até levar à morte (GUPTA et al., 2014; LIANG et al., 2018).

Em plântulas oriundas de sementes de *Brassica oleracea* L. submetidas à salinidade (-0,6 MPa), Kaiser et al. (2016) verificaram redução de 4,14 cm para 1,74 cm no comprimento radicular. Os autores justificam que o desenvolvimento anormal das plântulas provocado pela salinidade pode estar associado com a ação dos sais por ocasionar um déficit hídrico devido ao elevado potencial osmótico da solução e, ainda, apresentam efeito tóxico dos íons, o que pode culminar com danos metabólicos e fisiológicos (KAISER et al., 2016). Du et al. (2015) observaram que a salinidade (200 mM de NaCl) resultou em níveis elevados de substâncias tóxicas, como o malodialdeído (MDA) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), em plantas de *Spinacia oleracea*.

O aumento da salinidade acarreta mudanças na capacidade da planta em absorver, transportar e utilizar os íons necessários ao seu desenvolvimento e reduz a atividade de enzimas responsáveis pela respiração e fotossíntese (GUPTA et al., 2014; DU et al., 2015; SILVA et al., 2019). Desta forma, a obtenção de energia para o desenvolvimento e diferenciação das células em tecidos é restringida (KAISER et al., 2016; BARBIERI et al., 2019; SILVA et al., 2019). Por isso, conhecer o comportamento das sementes de forrageiras nessas condições é importante, principalmente pela forte expansão dessa cultura por diversas regiões do país e do mundo, a qual além da pecuária tem sido muito utilizada no consórcio com outras culturas e no fornecimento de palhada para o plantio direto (ABIEC, 2018; ABRASEM, 2018).

4 CONCLUSÕES

O condicionamento fisiológico é eficiente em minimizar os efeitos negativos da restrição hídrica e salinidade.

Com a utilização de nitroprussiato de sódio no condicionamento ocorre menor porcentagem de sementes dormentes e maior germinação, vigor e desenvolvimento de plantas.

REFERÊNCIAS

- ABIEC - **Perfil de Pecuária no Brasil** – Relatório Anual 2018 (Abiec, Brazilian Beef, Apex Brasil). Disponível em: <http://www.abiec.com.br/controle/uploads/arquivos/sumario2019portugues.pdf>. Acesso em: janeiro de 2020.
- ABRASEM - **Associação Brasileira de Sementes e Mudanças**. Anuário 2018. Disponível em: http://www.abrasem.com.br/wp-content/uploads/2020/06/Arte_Anuario2018_COMPLETO_WEB.pdf. Acesso em: janeiro de 2020.
- ATAÍDE, G. M. Óxido nítrico na germinação de sementes de baixo vigor de *Dalbergia nigra*. **Revista de Ciências Agrárias**, Recife, v. 38, n. 3, p. 438-444, 2015.
- BARBIERI, G. F. et al. Seed germination and initial growth of quinoa seedlings under water and salt stress. **Journal of Agricultural Science**, Toronto, v. 11, n. 15, p. 153-161, 2019.
- BATISTA, T. B. et al. Nutrientes e giberelina no condicionamento fisiológico sob a qualidade de sementes de braquiária. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia, v. 2, n. 1, p. 10-16, 2015.
- BATISTA, T. B. et al. Priming of brachiaria seeds with different sugar sources and concentrations. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 31, n. 4, p. 843-849, 2018.
- BATISTA, T. B. et al. Appropriate hydration period and chemical agent improve priming in brachiaria seeds. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 46, n. 3, p. 350-356, 2016.
- BHANUPRAKASH, K.; YOGESHA, H. S. Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. **In Abiotic stress physiology of horticultural crops**, New Delhi, p. 103-117, 2016.
- BONOME, L. T. et al. Osmoconditioning of *Urochloa brizantha* seeds to reduce pelleting negative effects. **Brazilian Journal of Agriculture-Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 92, n. 2, p. 87-100, 2017.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 395 p.
- CARDOSO, E. D. et al. Desempenho fisiológico e superação de dormência em sementes de *Brachiaria brizantha* submetidas a tratamento químico e envelhecimento artificial. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 1, p. 21-37, 2014.
- CARDOSO, E. D. et al. Qualidade fisiológica e composição química de sementes de *Brachiaria brizantha* em função do condicionamento osmótico. **Journal of Neotropical Agriculture**, Cassilândia, v. 2, n. 2, p. 42-48, 2015.

CATUCHI, T. A. et al. Manejo do nitrogênio em gramíneas forrageiras quanto à nutrição, produção de sementes e nutrientes na palhada residual. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 54, 2019.

DU, S. T. et al. Atmospheric application of trace amounts of nitric oxide enhances tolerance to salt stress and improves nutritional quality in spinach (*Spinacia oleracea* L.). **Food chemistry**, Norwich, v. 173, p. 905-911, 2015.

FARAJI, J.; SEPEHRI, A.; SALCEDO-REYES, J. C. Titanium dioxide nanoparticles and sodium nitroprusside alleviate the adverse effects of cadmium stress on germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). **Universitas Scientiarum**, Bogotá, v. 23, n. 1, p. 61-87, 2018.

GUPTA, B.; HUANG, B. (2014). Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. **International Journal of Genomics**, London, 18 pages, 2JOSÉ014.

HUSSAIN, S. et al. Benefits of rice seed priming are offset permanently by prolonged storage and the storage conditions. **Scientific Reports**, London, v. 5, n. 1, p. 1-12, 2015.

JOSÉ, A. C. et al. Influence of priming on *Eucalyptus* spp. seeds' tolerance to salt stress. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 38, n. 4, p. 329-334, 2016.

KAISER, I. S. et al. Efeito de liberadores de óxido nítrico na qualidade fisiológica de sementes de repolho sob salinidade. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 63, n. 1, p. 39-45, 2016.

LI, Z. et al. Reactive oxygen species and gibberellin acid mutual induction to regulate tobacco seed germination. **Frontiers in plant science**, Lausanne, v. 9, n. 1279, 2018.

LIANG, W. et al. Plant salt-tolerance mechanism: a review. **Biochemical and biophysical research communications**, Martinsried, v. 495, n. 1, p. 286-291, 2018.

LIU, B.; SOUNDARARAJAN, P.; MANIVANNAN, A. Mechanisms of Silicon-Mediated Amelioration of Salt Stress in Plants. **Plants**, Basel, v. 8, p. 307, 2019.

LOPES, C. A. et al. Cryopreservation of primed tobacco seeds. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 40, n. 4, 2018.

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

PEREIRA, M. R. R. et al. Influência do estresse hídrico e salino na germinação de *Urochloa decumbens* e *Urochloa ruziziensis*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, n. 4, 2012.

PEREIRA, S. R. et al. Priming of *Urochloa brizantha* cv. Xaraés seeds. **African Journal of Agriculture Research**, Pretoria, v. 13, n.1, p.2804-2807, 2018.

PIRES, R. et al. Action of nitric oxide in sesame seeds (*Sesamum indicum* L.) submitted to stress by cadmium. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 38, n.1, p. 022-029, 2016.

- RIBEIRO, E. C. G. et al. Physiological quality of *Urochloa brizantha* seeds submitted to priming with calcium salts. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 49, 2019.
- SABERALI, S. F.; MORADI, M. Effect of salinity on germination and seedling growth of *Trigonella foenum-graecum*, *Dracocephalum moldavica*, *Satureja hortensis* and *Anethum graveolens*. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, Riyadh, v. 18, n. 3, p. 316-323, 2019.
- SILVA, A. L. D. et al. Effect of cyanide by sodium nitroprusside (SNP) application on germination, antioxidative system and lipid peroxidation of *Senna macranthera* seeds under saline stress. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 41, n. 1, p. 86-96, 2019.
- SILVA, A. L. D. et al. Effect of sodium nitroprusside (SNP) on the germination of *Senna macranthera* seeds (DC. ex Collad.) HS Irwin & Baneby under salt stress. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 37, n. 4, p. 236-243, 2015.
- YALAMALLE, V. R. et al. Spermine induced protection of onion seed vigour and viability during accelerated ageing. **Journal of Environmental Biology**, Lucknow, v. 40, n. 5, p. 1079-1083, 2019.

CAPÍTULO 5

Condicionamento fisiológico promove a germinação de sementes de *Urochloa ruziziensis* sob estresse salino e restrição hídrica

RESUMO

A ativação inicial do metabolismo das sementes submetidas à técnica do condicionamento fisiológico pode aumentar a tolerância das sementes às condições de estresse como restrição hídrica e salinidade. Diante disso, o objetivo neste trabalho foi avaliar o efeito do condicionamento fisiológico na germinação de sementes e comprimento de plântulas de *Urochloa ruziziensis* sob condições de restrição hídrica e salinidade. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial (3x6), sendo três condições de germinação (água, restrição hídrica com PEG e salinidade com NaCl) e 6 tratamentos que constituíram as cinco soluções condicionantes (água destilada, nitrato de potássio, espermidina, giberelina e nitroprussiato de sódio) mais um controle (sementes não condicionadas). Determinou-se: teor de água após condicionamento (antes da secagem) e após a secagem das sementes; germinação aos sete e vinte e um dias após a semeadura; índice de velocidade de germinação; viabilidade pelo teste de tetrazólio das sementes remanescentes do teste de germinação; e comprimento de plântulas. Há melhor desempenho fisiológico em sementes submetidas ao condicionamento sob condições de restrição hídrica e salinidade. Nitroprussiato de sódio mostra um potencial significativo para uso no condicionamento fisiológico de sementes de *Urochloa ruziziensis*.

Palavras chave: braquiária, déficit hídrico, condicionamento osmótico, NaCl, PEG.

ABSTRACT

The initial activation seed metabolism submitted to the priming technique can increase the tolerance of seeds to stressed conditions such as water restriction and salinity. Therefore, this work aimed to evaluate the effect of priming on seed germination and seedling length of *Urochloa ruziziensis* under conditions of water restriction and salinity. It was used a completely randomized design, with four replications, in a factorial scheme (3x6), with three germination conditions (water, water restriction with PEG and salinity with NaCl) and 6 treatments that constituted the five priming solutions (distilled water, nitrate potassium, spermidine, gibberellin and sodium nitroprusside) plus a control (not primed seeds). It was determined: seed moisture after priming (before drying) and after drying the seeds; germination test on the seventh and twentieth day after sowing; germination speed index; viability through tetrazolium test of the remaining seeds from the germination test and seedling length. There is a better physiological development of seeds submitted to priming, under water restriction and salinity conditions. Sodium nitroprusside shows significant potential for use as a priming on *Urochloa ruziziensis* seeds.

Keywords: brachiaria, water deficit, osmotic priming, NaCl, PEG.

1 INTRODUÇÃO

O estresse salino e o déficit hídrico são considerados os estresses abióticos que mais limitam a produção de culturas agrônômicas no mundo, por promoverem drásticas alterações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas nas plantas (BHANUPRAKASH; YOGEESSHA, 2016). Essas condições de estresse diminuem a velocidade de emergência e de desenvolvimento de plântulas, afetam o número de folhas, sementes por planta, tamanho e massa de sementes (SABERALI; MORADI, 2019). Nesses casos, tratamentos pré-germinativos das sementes vêm sendo usados para incrementar a germinação e aumentar a uniformidade de emergência (CARDOSO et al. 2015; PIRES et al., 2016; FARAJI; SEPEHRI; SALCEDO-REYES, 2018; SILVA et al., 2019).

Entre os tipos de tratamento pré-germinativos, o condicionamento fisiológico é uma técnica que permite o controle da hidratação das sementes suficiente para ativar eventos metabólicos, porém insuficiente para a emissão da radícula (BHANUPRAKASH; YOGEESSHA, 2016; SILVA et al., 2019). Como resultado, as sementes iniciam o processo de germinação por reestruturação de membranas e reorganização dos sistemas metabólicos, o que favorece uma germinação uniforme quando as condições se tornam favoráveis ou até mesmo em ambientes adversos (BHANUPRAKASH; YOGEESSHA, 2016, BATISTA et al. 2018).

Para diversas culturas, um dos principais efeitos benéficos do condicionamento é conferir tolerância à deficiência hídrica e aumento da concentração salina (JOSÉ et al., 2016; BHANUPRAKASH; YOGEESSHA, 2016; KAISER et al., 2016; ZHENG et al., 2016; RIBEIRO et al., 2019;). No entanto, há carência de informações sobre os efeitos da salinidade e déficit hídrico em forrageiras. As forrageiras têm se expandido para diversas regiões do país e do mundo e, atualmente, o Brasil se destaca por ser o maior produtor, consumidor e exportador de sementes de forrageiras em nível mundial (ABRASEM, 2018).

No cenário de produção de sementes de forrageiras, em especial o gênero *Urochloa* (syn. *Brachiaria*), as pesquisas ainda são escassas e nem sempre a implantação da cultura apresenta resultados satisfatórios. Muitas das vezes, o problema da má formação das pastagens se inicia na escolha da espécie forrageira (ABRASEM, 2018; RIBEIRO et al., 2019).

Além disso, a escassez de informações sobre os efeitos da salinidade e déficit hídrico nessa cultura torna fundamental desenvolver pesquisas que avaliem o processo de germinação sob estresses abióticos. Diante disso, o objetivo neste trabalho foi avaliar o efeito do condicionamento fisiológico na germinação de sementes e comprimento de plântulas de *Urochloa ruziziensis* sob condições de restrição hídrica e salinidade.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório Central de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras – MG. Foram utilizadas sementes de *Urochloa ruziziensis* cv. Ruziziensis, fornecidas pela empresa Sementes Mineirão Ltda. produzidas na safra 2017/2018.

As sementes de braquiária foram submetidas ao condicionamento fisiológico. Este foi realizado em BOD regulada a 25°C (PEREIRA et al., 2018), sem luz e adaptada com um compressor de ar, responsável por manter as soluções aeradas, pelo tempo de 42 horas. Como soluções condicionantes utilizou-se água destilada, solução de nitrato de potássio 0,2% (CARDOSO et al., 2014, CARDOSO et al., 2015), solução de espermidina 0,5 mmol L⁻¹ (HUSSAIN et al., 2015; LOPES et al., 2018), solução de giberelina 50 mg L⁻¹ (BATISTA et al., 2015; CARDOSO et al., 2015) e solução de nitroprussiato de sódio 0,10 mmol L⁻¹ (ATAÍDE et al., 2015; SILVA et al., 2015; FARAJI; SEPEHRI; SALCEDO-REYES, 2018). Foram colocados 40 gramas de sementes em 400 ml de solução. As sementes utilizadas como controle não foram condicionadas.

Após o condicionamento, as sementes foram lavadas em água corrente, secadas em estufa de circulação de ar por 24 horas a 25°C e após esse período secadas a 35°C com circulação de ar por 72 horas. O teor de água foi determinado logo após o condicionamento (antes da secagem) e após a secagem das sementes, para tal foram retiradas quatro repetições de 200 sementes de cada tratamento e submetidas à estufa a 105°C por 24 horas (BRASIL, 2009).

As sementes condicionadas e não condicionadas foram submetidas a diferentes condições de germinação: condição controle (água destilada), condição de estresse salino (solução de NaCl) e condição de restrição hídrica (polietileno glicol 6000 - PEG). A concentração utilizada para preparar as soluções de PEG e NaCl foram de -0,4 MPa (PEREIRA et al., 2012).

No teste de germinação, para todas as condições de germinação, foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes. A semeadura foi realizada sobre duas folhas de papel mata borrão em caixas tipo gerbox, os papéis foram umedecidos com volume de solução contendo as referidas soluções, equivalente a 2,5 vezes o peso seco do papel. Permaneceram em câmaras tipo BOD com temperatura alternada 20-35°C e fotoperíodo de 8-16 horas e a primeira contagem foi realizada aos sete dias e a contagem final aos 21 dias após a semeadura (BRASIL, 2009). Concomitante ao teste de germinação foi realizado o índice de velocidade de germinação

(MAGUIRE, 1962). Foram computadas como plântulas normais aquelas que havia rompido o coleóptilo e que o comprimento da folha primária (acima do coleóptilo) apresentava o mesmo tamanho do coleóptilo, ou seja, quando 50% da parte aérea estava envolvida pelo coleóptilo e 50% cresceu acima deste.

Após a condução do teste, as sementes remanescentes (que não germinaram e não estavam mortas) foram submetidas ao teste de tetrazólio (BRASIL, 2009). As sementes foram cortadas longitudinalmente com auxílio de pinça e bisturi. Após o corte foram colocadas em solução de 0,1% de cloreto 2-3-5 trifênil tetrazólio em recipiente escuro e mantidos em câmara de germinação tipo BOD com temperatura constante de 40°C por 3 horas. As sementes foram avaliadas considerando-se a localização e a intensidade da coloração de suas partes, permitindo identificar sementes viáveis (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem.

Para a análise de imagens de plântulas, foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes. A semeadura foi realizada sobre duas folhas de papel germitest e sobrepostas com mais uma folha, as quais foram umedecidas com volume de solução contendo as soluções citadas anteriormente, equivalente a 2,5 vezes o peso seco do papel. Permaneceram em câmaras tipo BOD com temperatura alternada 20-35°C e fotoperíodo de 8-16 horas. Os rolos foram acondicionados em sacos plásticos para evitar perda de umidade. As imagens das plântulas foram obtidas aos 7 dias após a montagem do teste, equivalente ao período de primeira contagem de germinação (BRASIL, 2009).

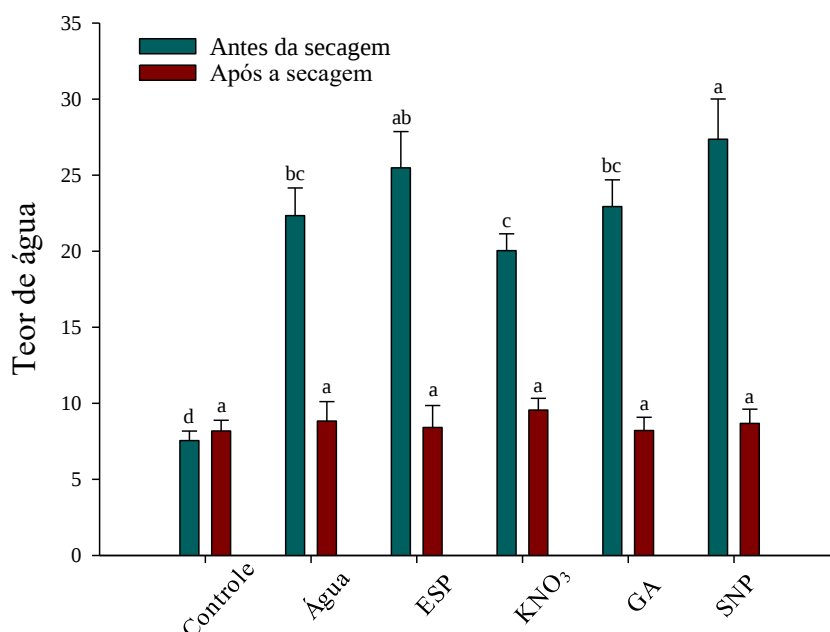
Para a captura das imagens foi utilizado o sistema GroundEye[®], versão S800, composta por um módulo de captação que possui uma bandeja de acrílico, uma câmera de alta resolução e um software integrado para avaliação. As plântulas foram retiradas do papel germitest e inseridas na bandeja do módulo de captação para a obtenção das imagens. Na etapa de configuração da análise foi utilizada a calibração da cor de fundo CIELab índice de luminosidade de 0 a 100, dimensão “a” -17,5 a 42,5 e dimensão “b” de -57,0 a -28,9. Depois da calibração da cor do fundo realizou-se a análise das imagens e extraiu-se valores de comprimento da raiz e comprimento de parte aérea.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial (3x6), sendo três condições de germinação e 6 tratamentos que constituíram as cinco soluções condicionantes mais um controle (semente não condicionada). As médias foram submetidas a análise de variância e, quando significativas, aplicou-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quando comparadas com as sementes que não foram condicionadas (controle), foi possível observar que nas sementes submetidas ao condicionamento o teor de água foi cerca de três vezes maior (Figura 1). Durante o condicionamento, é vital que as sementes atinjam níveis de umidade capazes de iniciar as primeiras fases da germinação, mas por tempo suficiente que não permita a protrusão radicular (RIBEIRO et al., 2019). Com isso, reparos no sistema de membranas, ativação da digestão inicial de reservas e a translocação para o eixo embrionário são alguns dos processos ocorridos durante esse período (BHANUPRAKASH; YOGEESEA, 2016; LIU et al., 2018; MITCHELL et al., 2018).

Figura 1 – Teor de água de sementes de *Urochloa ruziziensis*, antes e após a secagem, sem serem submetidas ao condicionamento fisiológico (controle) e submetidas ao condicionamento nas soluções de água, espermidina (ESP), nitrato de potássio (KNO_3), giberelina (GA), e nitroprussiato de sódio (SNP).



Legenda: Médias seguidas por uma mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade de erro.

Fonte: da autora (2020).

As sementes tiveram diferença de embebição entre as soluções utilizadas no processo de condicionamento (Figura 1). A absorção de água é limitada pelo potencial osmótico da solução, e dessa forma o vigor do lote pode ser homogeneizado permitindo que sementes menos vigorosas alcancem as mais vigorosas durante a fase 2, tornando a germinação mais rápida e

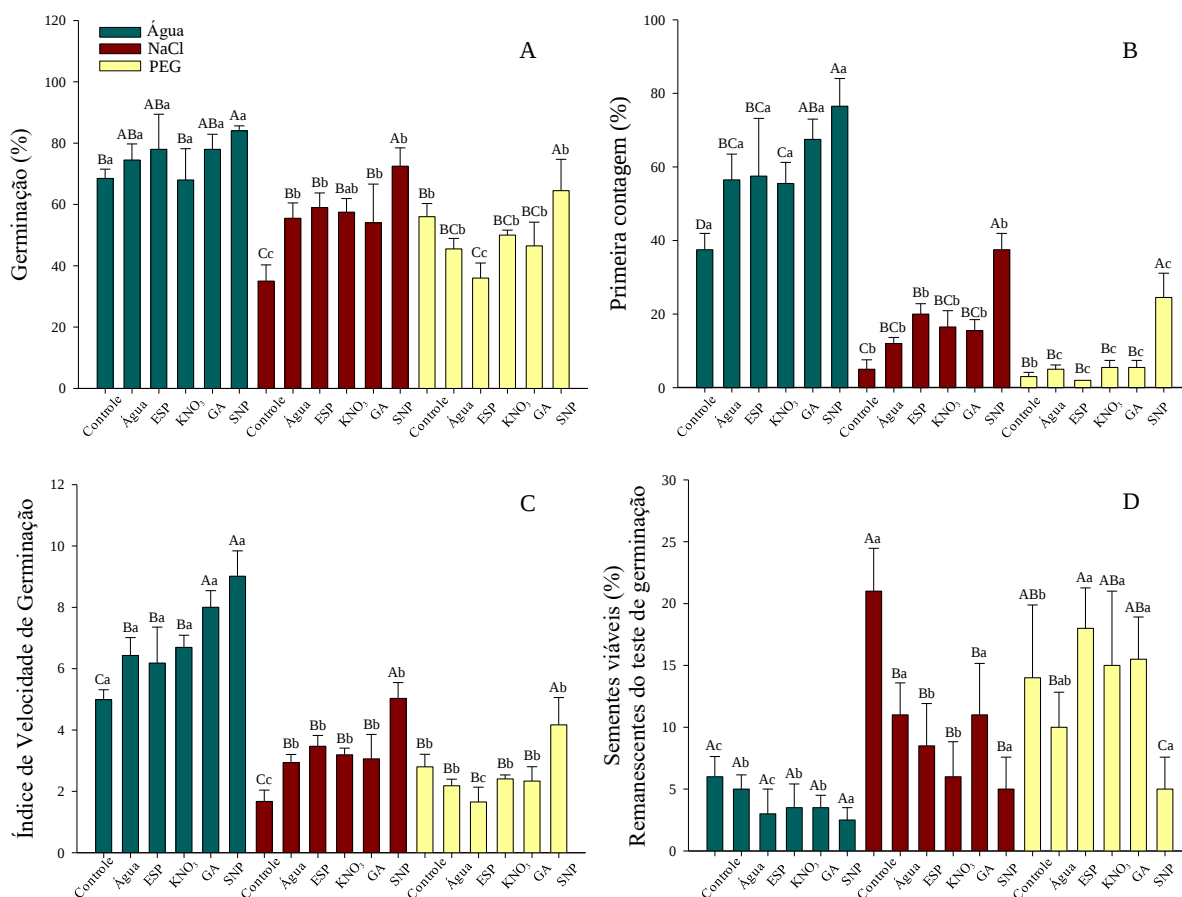
mais uniforme quando as condições se tornam favoráveis (BHANUPRAKASH; YOGEESEA, 2016; RIBEIRO et al., 2019).

Os condicionamentos com nitroprussiato de sódio (SNP) e espermidina (ESP) proporcionaram os maiores teores de água (Figura 1). O teor de água obtido com o SNP foi 7 pontos percentuais a mais que o nitrato de potássio (KNO_3), menor teor obtido entre os tratamentos condicionados. Tanto o SNP como o KNO_3 são compostos salinos doadores de óxido nítrico, essa diferença na embebição pode ser explicada pela diferença de potencial osmótico entre as soluções.

Após a secagem as sementes retornaram ao seu teor inicial de umidade e não houve diferença entre os tratamentos (Figura 1). Assim, a água absorvida durante o processo foi extraída e não influenciou os resultados de testes subsequentes, deixando apenas os efeitos de tratamentos, além de alcançar níveis de umidade considerados apropriados para armazenamento e comercialização (RIBEIRO et al., 2019).

Houve interação estatística significativa entre os fatores soluções condicionantes e condições para germinação para as variáveis germinação, primeira contagem, índice de velocidade de germinação e sementes viáveis remanescentes do teste de germinação (Figura 2).

Figura 2 – Germinação (A), Primeira Contagem (B), Índice de Velocidade de Germinação e Sementes Viáveis (D) remanescentes do Teste de Germinação de sementes *Urochloa ruziziensis*, germinadas em água, estresse salino (NaCl) e restrição hídrica (PEG), sem serem submetidas ao condicionamento fisiológico (Controle) e submetidas ao condicionamento nas soluções de água, espermidina (ESP), nitrato de potássio (KNO₃), giberelina (GA), e nitroprussiato de sódio (SNP).



Legenda: Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes (dentro de cada condição) e minúscula entre condições para germinação, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Fonte: da autora (2020).

Na germinação em água as sementes condicionadas com SNP apresentaram maior germinação que o tratamento controle e KNO₃, mas não diferiram da Água, ESP e giberelina (GA) (Figura 2A). Bonome et al. (2006) citam que o KNO₃, devido ao baixo peso molecular, pode penetrar nos tecidos das sementes causando fitotoxidez, a qual tende a ser mais severa quanto maior exposição das sementes à solução. Ataíde et al. (2016) observaram redução do poder germinativo das sementes de *Dalbergia nigra*, pré-condicionadas em KNO₃, com o aumento da concentração de 0,1 para 1 e 10 mmol L⁻¹.

Kaiser et al. (2016) ao avaliarem sementes de repolho condicionadas com diferentes concentrações de KNO₃, observaram que ao serem submetidas à condição de salinidade, as

sementes de repolho apresentaram valores de germinação (36%) significativamente menores em relação as sementes não condicionadas (66%). Os autores associam isso à redução do potencial hídrico, onde conseqüentemente ocorre menor absorção de água pela semente, interferindo na capacidade germinativa e no comprimento das plântulas.

Os tratamentos com condicionamento fisiológico ao serem submetidos ao estresse salino (NaCl) tiveram porcentagens de germinação superiores ao controle e, entre as soluções condicionantes, o SNP proporcionou maior porcentagem de germinação (Figura 2A). No entanto, quando os tratamentos foram submetidos à condição de restrição hídrica (PEG) o controle obteve germinação superior a Água, ESP, KNO₃ e GA. O único condicionante superior ao controle, nesta situação, foi o SNP.

Esses resultados de maior porcentagem de germinação obtidos com o SNP em situações de estresse salino e restrição hídrica podem ser explicados pelo SNP ser um doador de óxido nítrico. O óxido nítrico promove a tolerância das plantas à salinidade por meio da redução do transporte de Na⁺ e Cl⁻ para folhas e também pela capacidade de compartimentar esses íons em vacúolos para evitar seu acúmulo no citoplasma ou paredes celulares e, assim, evitar toxicidade pelo sal (KAISER et al., 2016; PIRES et al., 2016; FARAJI; SEPEHRI; SALCEDO-REYES, 2018; SILVA et al., 2019).

Na avaliação da primeira contagem as sementes submetidas ao condicionamento fisiológico apresentaram maior porcentagem de germinação do que o controle em todas as condições de germinação (Figura 2B). A condição de estresse salino foi a que apresentou maiores diferenças entre o controle e as sementes condicionadas. Para todos os tratamentos submetidos ao condicionamento, a condição de déficit hídrico reduziu mais a germinação que o estresse salino. As sementes condicionadas com SNP apresentaram maior germinação na primeira contagem que todos os outros tratamentos nas condições de estresse.

Ao avaliar os efeitos dos estresses hídrico e salino na germinação de sementes de *Urochloa ruziziensis*, Pereira et al. (2012), concluíram que o estresse hídrico acarreta maior redução no vigor, velocidade de germinação e germinação final que o salino. Estes autores observaram que para a germinação final houve redução em 74% e 61% no tratamento com PEG e NaCl, respectivamente, no potencial de -0,4 MPa em relação à testemunha.

Para as sementes submetidas ao condicionamento, ao serem comparadas com o controle, observou-se maior índice de velocidade de germinação nas condições de água e em estresse salino (Figura 2C). Para a condição de estresse salino o condicionamento com SNP proporcionou os maiores índices de velocidade de germinação. Na condição de germinação em água, juntamente ao SNP, a GA também foi superior aos demais tratamentos.

A GA aumenta os níveis de transcrição do gene codificador para a produção de alfa-amilase (LI; YANG; ZHANG, 2019). Em sementes de poáceas a GA produzida pelo embrião acelera a digestão de reservas nutritivas contidas no endosperma pois estimula a produção de enzimas hidrolíticas, as quais degradam o amido e outras macromoléculas a moléculas menores que poderão ser absorvidas pelo embrião (BATISTA et al., 2015; LI et al., 2018; LI; YANG; ZHANG, 2019).

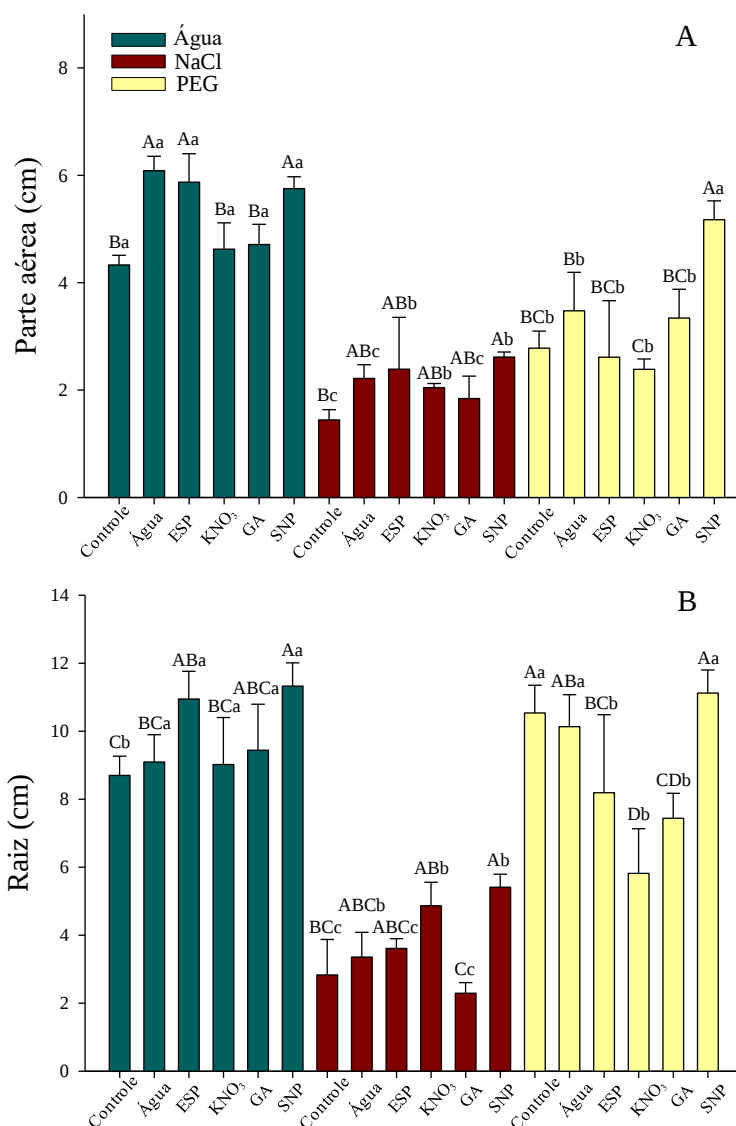
As sementes remanescentes do teste de germinação e que não estavam mortas foram submetidas ao teste de tetrazólio para avaliar sua viabilidade dentro de cada tratamento (Figura 2D). Com base nesses resultados, as sementes submetidas ao condicionamento apresentaram menor porcentagem de sementes remanescentes viáveis. Resultados semelhantes foram apresentados por Batista et al. (2016) e Ribeiro et al. (2019).

As situações de estresse salino e déficit hídrico aumentaram a porcentagem de sementes viáveis remanescentes, principalmente o déficit hídrico, em todos os tratamentos com exceção do condicionamento com SNP (Figura 2D). Este, além de não diferir entre as condições para germinação, também apresentou os menores valores para esta variável entre as soluções condicionantes. Alguns estudos relatam que o uso de SNP supera a dormência e aumenta a germinação porque o óxido nítrico age como oxidante, acelera o fluxo metabólico através da via das pentoses fosfatadas, aumentando indiretamente a oxidação de NADPH (CARDOSO et al. 2015; PIRES et al., 2016; FARAJI; SEPEHRI; SALCEDO-REYES, 2018; SILVA et al., 2019).

O SNP tem potencial para promover a recuperação da germinação de sementes sob estresse salino (SILVA et al., 2015), proporcionando aumento na germinação, vigor e crescimento de plântulas (PIRES et al., 2016). Além disso, os liberadores de óxido nítrico aumentam a atividade de enzimas antioxidantes (peroxidase, superóxido dismutase, catalase) que minimizam o estresse oxidativo provocado pela salinidade. O óxido nítrico é uma molécula mensageira e, assim, na maioria dos casos, a resposta ao estresse é produto da sua interação com fito-hormônios (DU et al., 2015; SANZ et al., 2015).

A restrição hídrica quando comparada com a germinação em água reduziu o comprimento de parte aérea (Figura 3A). Porém, nessa situação de estresse, as plântulas investiram em comprimento radicular, como é possível observar em todos os tratamentos. As sementes condicionadas com SNP e água e não-condicionadas (controle) apresentaram maior comprimento de raiz de plântulas na condição de germinação com restrição hídrica (Figura 3B). O comprimento de plântulas submetidas à germinação em condição de estresse foi mais afetado pelo estresse salino do que em restrição hídrica (Figura 3).

Figura 3 – Comprimento (cm) de parte aérea (A) e raiz (B) obtidos pela análise de imagens de plântulas de *Urochloa ruziziensis* com 7 dias de germinação em água, estresse salino (NaCl) e restrição hídrica (PEG), sem serem submetidas ao condicionamento fisiológico (Controle) e submetidas ao condicionamento nas soluções de água, espermidina (ESP), nitrato de potássio (KNO₃), giberelina (GA), e nitroprussiato de sódio (SNP).



Legenda: Médias seguidas por uma mesma letra, maiúscula entre soluções condicionantes (dentro de cada condição) e minúscula entre condições para germinação, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Fonte: da autora (2020).

Du et al. (2015) observaram, em plantas de *Spinacea Oleracea*, que a salinidade (200 mM de NaCl) resultou em níveis elevados de substâncias tóxicas, como o malodialdeído e peróxido de hidrogênio. Na germinação de sementes de *Senna macranthera*, submetidas ao estresse salino de -0,3 e -0,4 MPa de NaCl, houve redução da protrusão radicular, índice de

velocidade de projeção radicular, porcentagem de plântulas normais, comprimento da parte aérea e sistema radicular, massa seca da parte aérea e sistema radicular (SILVA et al., 2015).

A salinidade além de dificultar a absorção de água devido à redução do potencial osmótico do meio, propicia a entrada de quantidades tóxicas de íons Na^+ e Cl^- nas sementes durante a embebição (GUPTA; HUANG, 2014; SILVA et al., 2019). Essa toxicidade pelo excesso de íons causa um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), que podem levar a danos oxidativos em vários componentes celulares, como proteínas, lipídios e DNA, interrompendo as funções celulares vitais das plantas (GUPTA; HUANG, 2014). Importante ressaltar que além de reduzir o comprimento de raízes, foi observado, durante as avaliações, que as raízes sob estresse salino se apresentavam mais grossas do que quando submetidas às outras condições.

4 CONCLUSÕES

Há melhor desempenho fisiológico em sementes submetidas ao condicionamento sob condições de restrição hídrica e salinidade.

Nitroprussiato de sódio mostra um potencial significativo para uso no condicionamento fisiológico de sementes de *Urochloa ruziziensis*.

REFERÊNCIAS

- ABRASEM - **Associação Brasileira de Sementes e Mudanças**. Anuário 2018. Disponível em: http://www.abrasem.com.br/wp-content/uploads/2020/06/Arte_Anuario2018_COMPLETO_WEB.pdf. Acesso em: janeiro de 2020.
- ATAÍDE, G. M. Óxido nítrico na germinação de sementes de baixo vigor de *Dalbergia nigra*. **Revista de Ciências Agrárias**, Recife, v. 38, n. 3, p. 438-444, 2015.
- BATISTA, T. B. et al. Nutrientes e giberelina no condicionamento fisiológico sob a qualidade de sementes de braquiária. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia, v. 2, n. 1, p. 10-16, 2015.
- BATISTA, T. B. et al. Priming of brachiaria seeds with different sugar sources and concentrations. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 31, n. 4, p. 843-849, 2018.
- BATISTA, T. B. et al. Priming and stress under high humidity and temperature on the physiological quality of *Brachiaria brizantha* cv. MG-5 seeds. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 38, n. 1, p. 123-127, 2016.
- BHANUPRAKASH, K.; YOGESHA, H. S. Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. **In Abiotic stress physiology of horticultural crops**, New Delhi, p. 103-117, 2016.
- BONOME, L. T. D. S. et al. Efeito do condicionamento osmótico em sementes de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 3, 422-428, 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 395 p.
- CARDOSO, E. D. et al. Desempenho fisiológico e superação de dormência em sementes de *Brachiaria brizantha* submetidas a tratamento químico e envelhecimento artificial. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 1, p. 21-37, 2014.
- CARDOSO, E. D. et al. Qualidade fisiológica e composição química de sementes de *Brachiaria brizantha* em função do condicionamento osmótico. **Journal of Neotropical Agriculture**, Cassilândia, v. 2, n. 2, p. 42-48, 2015.
- DU, S. T. et al. Atmospheric application of trace amounts of nitric oxide enhances tolerance to salt stress and improves nutritional quality in spinach (*Spinacia oleracea* L.). **Food chemistry**, Norwich, v. 173, p. 905-911, 2015.
- FARAJI, J.; SEPEHRI, A.; SALCEDO-REYES, J. C. Titanium dioxide nanoparticles and sodium nitroprusside alleviate the adverse effects of cadmium stress on germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). **Universitas Scientiarum**, Bogotá, v. 23, n. 1, p. 61-87, 2018.

GUPTA, B.; HUANG, B. (2014). Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. **International Journal of Genomics**, London, 18 pages, 2014.

HUSSAIN, S. et al. Benefits of rice seed priming are offset permanently by prolonged storage and the storage conditions. **Scientific Reports**, London, v. 5, n. 1, p. 1-12, 2015.

JOSÉ, A. C. et al. Influence of priming on *Eucalyptus* spp. seeds' tolerance to salt stress. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 38, n. 4, p. 329-334, 2016.

KAISER, I. S. et al. Efeito de liberadores de óxido nítrico na qualidade fisiológica de sementes de repolho sob salinidade. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 63, n. 1, p. 39-45, 2016.

LI, Q.; YANG, A.; ZHANG, W. H. Higher endogenous bioactive gibberellins and α -amylase activity confer greater tolerance of rice seed germination to saline-alkaline stress. **Environmental and Experimental Botany**, Barcelona, v. 162, p. 357-363, 2019.

LI, Z. et al. Reactive oxygen species and gibberellin acid mutual induction to regulate tobacco seed germination. **Frontiers in plant science**, Lausanne, v. 9, n. 1279, 2018.

LIU, L. et al. Salinity inhibits rice seed germination by reducing α -amylase activity via decreased bioactive gibberellin content. **Frontiers in Plant Science**, Parkville, v. 9, p. 275, 2018.

LOPES, C. A. et al. Cryopreservation of primed tobacco seeds. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 40, n. 4, 2018.

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

MITCHELL, J. et al. Gibberellin response in the embryo epidermis regulates germination uniformity in response to seed priming. **bioRxiv**, Laurel Hollow, 436121, 2018.

PEREIRA, M. R. R. et al. Influência do estresse hídrico e salino na germinação de *Urochloa decumbens* e *Urochloa ruziziensis*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 28, n. 4, 2012.

PEREIRA, S. R. et al. Priming of *Urochloa brizantha* cv. Xaraés seeds. **African Journal of Agriculture Research**, Pretoria, v. 13, n.1, p.2804-2807, 2018.

PIRES, R. et al. Action of nitric oxide in sesame seeds (*Sesamum indicum* L.) submitted to stress by cadmium. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 38, n.1, p. 022-029, 2016.

RIBEIRO, E. C. G. et al. Physiological quality of *Urochloa brizantha* seeds submitted to priming with calcium salts. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 49, 2019.

SABERALI, S. F.; MORADI, M. Effect of salinity on germination and seedling growth of *Trigonella foenum-graecum*, *Dracocephalum moldavica*, *Satureja hortensis* and *Anethum graveolens*. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, Riyadh, v. 18, n. 3, p. 316-323, 2019.

SANZ, L. et al. Nitric oxide (NO) and phytohormones crosstalk during early plant development. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 66, n. 10, p. 2857-2868, 2015.

SILVA, A. L. D. et al. Effect of cyanide by sodium nitroprusside (SNP) application on germination, antioxidative system and lipid peroxidation of *Senna macranthera* seeds under saline stress. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 41, n. 1, p. 86-96, 2019.

SILVA, A. L. D. et al. Effect of sodium nitroprusside (SNP) on the germination of *Senna macranthera* seeds (DC. ex Collad.) HS Irwin & Baneby under salt stress. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 37, n. 4, p. 236-243, 2015.

ZHENG, M. et al. Seed priming in dry direct-seeded rice: consequences for emergence, seedling growth and associated metabolic events under drought stress. **Plant Growth Regulation**, New York, v. 78, n. 2, p.167-178, 2016.