

**PAOLA ANDREA HORMAZA MARTÍNEZ**

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM SEMENTES DE REPOLHO**  
**(*Brassica oleracea* VAR. CAPITATA) OSMOCONDICIONADAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós- Graduação em Fitotecnia para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA**  
**MINAS GERAIS- BRASIL**  
**2013**

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

H812a  
2013

Hormaza Martínez, Paola Andrea, 1977-  
Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de  
repolho (*Brassica oleracea* var. Capitata) osmocondicionadas /  
Paola Andrea Hormaza Martínez. – Viçosa, MG, 2013.  
vii, 44 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Referências bibliográficas: f. 33-44.

1. Repolho - Semente. 2. Germinação. 3. Sementes -  
Qualidade. 4. Sementes - Fisiologia. 5. Absorção.  
6. *Brassica oleracea*. I. Universidade Federal de Viçosa.  
Departamento de Fitotecnia. Programa de Pós-Graduação em  
Fitotecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 635.3421

**PAOLA ANDREA HORMAZA MARTÍNEZ**

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS EM SEMENTES DE REPOLHO**  
**(*Brassica oleracea* VAR. CAPITATA) OSMOCONDICIONADAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós- Graduação em Fitotecnia para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

**Aprovada: 22 de março 2013**

---

Dra. Beatriz Gonçalves Brasileiro

---

Prof. Eduardo Euclides de Lima e Borges

---

Prof. Luiz Antônio dos Santos Dias

---

Profa. Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias  
(Orientadora)

À minha mãe María Isabel

A meu pai César Augusto (*in memoriam*)

Às minhas irmãs e meus irmãos

À minha Orientadora, Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias,

Dedico este trabalho com tudo o carinho e gratidão a vocês

Muito obrigada por tudo!!!!

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa pela grande oportunidade de realização deste curso.

A meus mais sinceros agradecimentos

A minha orientadora Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias pela oportunidade, orientação, ensinamentos, sua paciência e infinita ajuda, para que essa tese se tornasse uma realidade.

Aos professores Luiz Antônio dos Santos Dias e à Professora Eveline Mantovani Alvarenga, pelo apoio, amizade, ensinamentos e por tornar mais agradável minha estadia no Brasil.

Ao Laboratório de pós colheita, especialmente ao Professor Luis Fernando Finger.

Ao Laboratório de Enzimologia, Bioquímica de Proteínas e Peptídeos, especialmente à Dra. María Almeida Goreti de Oliveira, Camila Rocha e Verônica Faustino, pelos valiosos ensinamentos e sua disposição em me ajudar.

A Tatiani Gomes Gouvêa e Rafaela Alves da secretaria da Pós- graduação em Fitotecnia pelas informações dos tramites e constate disposição em me ajudar

Ao Paulo César Hilst e Marcelo Coelho Sekita, pela ajuda na execução dos trabalhos, pelos ensinamentos, pela amizade e pelas dicas sobre a língua portuguesa.

Aos amigos Genaina Souza, Tania Pires, Raquel Pires, Amanda Cardoso, Giuliana Soares, Cárla Milagres, Kássia Armondes, Marcos Morais, Laércio Silva, Dalzionei Pazzin, Glauter Lima de Oliveira e os estagiários Wander, Paulo Soriano, Edmar, Rubens Junior, ao laboratorista José Custódio e a os demais colegas do laboratório de sementes pela ajuda, paciência, ensinamento e.

A meus amigos Colombianos Jorge Rodriguez, Diana Forero, Sandra Rincón, Sandra Lara e Gustavo Rodriguez pelas palavras de força e pelo apoio.

A meu Tio Henry e a sua mulher Martha e a minha família pelo suporte nos momentos difíceis e pelo seu amor.

A Fredy Alexander Rodriguez Cruz, pelo amor, carinho e compreensão nos momentos em que eu estava perdendo as forças.

A todas as pessoas que dedicaram uma palavra de apoio no momento e a todos os que de alguma forma contribuiriam para a execução deste trabalho.....

Muito obrigada!!!!

## **BIOGRAFIA**

Paola Andrea Hormaza Martinez, filha de Maria Isabel Martinez de Hormaza e César Augusto Hormaza Poveda, Formada em Engenharia Agrônômica pela Universidade de Cundinamarca Sede de Fusagasugá em Colômbia, no ano de 2005 sob a orientação do Professor Fredy Hernádo Neira Méndez. No ano 2011 inicia o curso de mestrado na Universidade Federal de Viçosa sob a orientação da Dra. Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias, cuja dissertação é aqui apresentada.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO .....</b>	<b>vi</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>vii</b>
<b>INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>1</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>5</b>
Condicionamento Osmótico.....	5
Obtenção da curva de embebição.....	6
Grau de umidade .....	7
Testes para a avaliação da qualidade das sementes.....	7
Teste de germinação.....	7
Emergência de plântulas.....	7
Teste de deterioração controlada.....	7
Índice de velocidade de germinação e Velocidade de emergência .....	8
Comprimento da raiz.....	9
Massa da matéria seca das plântulas .....	9
Análises químicas das sementes.....	9
Determinação de carboidratos .....	9
Obtenção do extrato bruto .....	9
Determinação de Amido.....	10
Determinação de Açúcares redutores (AR).....	10
Determinação de Açúcares solúveis totais (AST).....	10
Determinação de proteínas totais .....	10
Determinação do teor Lipídico.....	11
Análise estatística.....	11
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>12</b>
Avaliação na qualidade das sementes .....	20
Análise química.....	25
<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>31</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS.....</b>	<b>33</b>

## RESUMO

HORMAZA MARTINEZ, Paola Andrea, M Sc., Universidade Federal de Viçosa, Março de 2013. **Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de repolho (*Brassica oleracea* var. *Capitata*) osmocondicionadas.** Orientadora: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias.

O objetivo foi avaliar as alterações bioquímicas e fisiológicas decorrentes do osmocondicionamento de sementes de repolho com diferentes níveis de vigor, obtidos após exposição a diferentes tempos de envelhecimento acelerado. As sementes foram submetidas ao condicionamento osmótico em solução aerada de polietileno glicol (PEG) 6000 na concentração de 284 g L<sup>-1</sup>, correspondendo ao potencial osmótico de -1,0 MPa, por seis dias. Após o condicionamento, as sementes foram secas até o atingirem o teor de água inicial. A testemunha consistiu de sementes não condicionadas. As sementes de cada tratamento foram submetidas aos testes de germinação, primeira contagem de germinação, emergência das plântulas, teste de deterioração controlada, índice de velocidade de germinação, índice de velocidade de emergência em substrato, velocidade de germinação, comprimento da radícula e matéria seca total. Além disso, foram realizadas as curvas de germinação para cada nível de vigor. Também foram realizados análises de teor de lipídeos, carboidratos, proteínas e amido. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições em esquema fatorial 4x2, (sementes envelhecidas durante 24, 33 e 42 horas e não envelhecidas) sem e com condicionamento osmótico. A análise de variância e a comparação de médias foram realizadas através do teste F e Tukey, respectivamente, ao nível de p>0,05. Foram observados os efeitos benéficos do osmocondicionamento minimizando eficientemente os danos causados pelo maior tempo de envelhecimento artificial das sementes (33 e 48 horas). Resultados superiores foram encontrados nos testes de vigor, massa seca de plântulas e compostos de reserva quando comparados às testemunhas não condicionadas. Em sementes com menor potencial fisiológico não osmocondicionadas o tempo de embebição para a protrusão da raiz foi maior. Menores tempos de germinação foram registrados para as sementes osmocondicionadas, as quais apresentaram maiores conteúdos de proteínas e menor teor de açúcares solúveis totais e redutores, maiores porcentagens de germinação e maior vigor, quando comparadas com sementes sem osmocondicionamento. Portanto pode-se concluir que o osmocondicionamento pode ser uma alternativa para melhorar a qualidade fisiológica das sementes de menor vigor submetidas a estresse por alta temperatura e umidade.

## ABSTRACT

HORMAZA MARTINEZ, Paola Andrea, M Sc., Universidade Federal de Viçosa, March 2013. **Physiological and biochemical changes in seeds of cabbage (*Brassica oleracea* var. *Capitata*) primed.** Advisor: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias.

This work aimed to evaluate the biochemical and physiological changes resulting from priming of cabbage seeds with different vigor levels, obtained after exposure of seeds to different times of accelerated aging. The seeds were subjected to priming in a polyethylene glycol aerated solution (PEG) 6000 in concentration of 284 g L<sup>-1</sup>, corresponding to the osmotic potential of -1.0 MPa, for six days. After priming the seeds were dried until reaching the initial water content. The control consisted of unprimed seeds. The seeds of each treatment were tested for germination, first count germination, seedling emergence, controlled deterioration test, speed germination index, germination rate index in substrate, germination speed, radicle length and total dry matter. Besides, were performed the germination curves for each level of force. Also were performed, analysis for lipid, carbohydrate, protein and starch content. The experimental design was completely randomized with four replications in a 4x2 factorial (aged seeds for 24, 33 and 42 hours and not aged seeds) with and without priming. The data were submitted to Analysis of variance and differences between means were performed using Tukey and F tests, respectively, both at  $p < 0.05$ . Were observed beneficial priming effects effectively minimizing the damage caused by artificial ageing longer on seeds (33 and 48 hours). Superior results were found in tests of vigor, seedling dry weight and reserve compounds when compared to the control unconditioned. In seeds with lower physiological unprimed the imbibition time for root protrusion was greater. Lower times of germination were recorded for seeds primed, which showed higher protein content and lower content of total soluble and reducing sugars, high germination percentage and vigor when compared to unpriming seeds. Therefore, it can be concluded that priming may be an alternative to improve the physiological quality of less vigorous seeds subjected to stress from high temperature and humidity.

## INTRODUÇÃO GERAL

O repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata* L) é considerada a espécie mais importante da família *Brassicaceae* pela sua ampla distribuição, facilidade de produção e aceitação dos consumidores. Possui alta taxa de crescimento e elevados teores de nutrientes de valor alimentar (Silva Junior, 1989; Filgueira, 2002). As sementes de repolho consistem de um embrião e de tecidos circunvizinhos, que podem ser representados pelo xenófito ou endosperma, pelo perisperma, testa e tegumento ou mesmo pelo pericarpo, dependendo da espécie (Delmondez de Castro e Hilhorst, 2004).

As sementes desse gênero, geralmente são pequenas 0.3 - 4 mm de comprimento, formato esférico de 1 a 2 mm de comprimento, marrom, acanalada e regularmente reticulada. O interior das sementes é quase totalmente ocupado pelo embrião, diversamente dobrado, a semente pode ser exalbuminosa, com reserva nos cotilédones e endosperma nucelar reduzido a uma capa única de células (Corner, 1976; Itamar, 2009).

O osmocondicionamento em semente tem sido uma opção para melhorar a germinação e emergência em sementes de muitas culturas, principalmente sementes de hortaliças, flores e pequenas gramíneas. Diversos estudos já demonstraram os efeitos benéficos do osmocondicionamento em sementes de brássicas, como melhoras no desempenho de sementes de couve-flor (*Brassica oleracea*) (Marcos Filho e Kikuti, 2008). Rao *et al.*, (1987) verificaram benefícios à emergência de plântulas de couve-de-bruxelas e de couve comum. Fujikura *et al.*, (1993) relataram que, em sementes de couve-flor houve efeitos benéficos do condicionamento osmótico sobre a velocidade de germinação, Thornton e Powell (1995) relataram vantagens quanto à velocidade de germinação e à tolerância às condições do teste de deterioração controlada, após o hidrocondicionamento. Maroufi *et al.*, (2011), verificam em sementes de colza (*Brassica napus* L.) incrementos sobre a velocidade de germinação, peso seco e vigor das plântulas, após o hidrocondicionamento, enquanto Afzal *et al.*, (2004) relataram incremento na velocidade da germinação e emergência das plântulas.

O uso de sementes de alta qualidade é fundamental para se obter rápida e uniforme emergência de plântulas e, conseqüentemente, um estande adequado constituído por plântulas vigorosas. Este fator é relevante especialmente para espécies de ciclo curto, como as hortaliças, onde o vigor da semente e da plântula pode ter reflexos diretos na produção e qualidade final do produto (TeKrony e Egli, 1991).

O condicionamento osmótico ou *priming* (Khan *et al.*, 1976; Heydecker e Coolbear, 1977) ou osmocondicionamento (Khan *et al.*, 1978) tem sido utilizado para melhorar o desempenho das

sementes em campo, contribuindo para reduzir o tempo entre a semeadura e a emergência das plântulas, e também aumentando a tolerância das sementes às condições de estresse por ocasião da semeadura (Khan, 1992). Esta técnica consiste na hidratação controlada das sementes quiescentes, mediante sua exposição a potenciais hídricos suficientemente baixos, osmoticamente ou matricialmente, para permitir que as etapas iniciais do processo de germinação ocorram, mas evitando a protrusão da radícula (Bradford, 1986; Khan, 1992). O condicionamento fisiológico de sementes apresenta entre outros objetivos, a possibilidade de germinação mais rápida, tanto em condições de baixas como altas temperaturas, além de maior sincronismo da germinação resultando em estandes mais uniformes (Heydecker *et al.*, 1975).

Assim, as sementes são colocadas em contato com uma solução aquosa de um composto quimicamente inerte, mas osmoticamente ativo, como o Polietilenoglicol 6000 (PEG 6000), permitindo o início do processo de embebição, que é paralisado quando o equilíbrio entre o potencial hídrico da semente e o potencial osmótico da solução é atingido, podendo-se, assim, regular o grau de umidade das sementes.

Resultados positivos com o uso desta técnica tem sido relatados principalmente para sementes de tamanho pequeno como as de hortícolas e de flores (Heydecker *et al.*, 1973; Mayer e Poljakoff-Mayber 1989; Khan *et al.*, 1992), que, por apresentarem em geral tamanho reduzido, requerem pequeno volume de solução osmótica para o tratamento de grande volume de sementes. O condicionamento osmótico aumentou a velocidade e uniformidade de emergência das plântulas, em condições de campo em sementes de beterraba e couve de Bruxelas (Pill, 1995); espinafre (Pill, 1995; Chen *et al.*, 2010); e cenoura (Pereira *et al.*, 2009; Nascimento *et al.*, 2009).

Efeitos do osmocondicionamento foram observados também na germinação e na primeira contagem de germinação em alface (Rodrigues *et al.*, 2012); em cebola aumentando a velocidade da germinação em baixa temperatura (Caseiro *et al.*, 2004); obtendo maior desempenho na germinação de sementes e emergência das plântulas sob condições de baixas temperaturas em brássicas (Rao *et al.*, 1987; Zheng *et al.*, 1994); melhorando o vigor e aumentando a germinação em altas temperaturas de pimentão (Roveri José *et al.*, 2000); aumentando a velocidade de emergência da plântula, a porcentagem, velocidade e a uniformidade na germinação após armazenamento de berinjela (Fanan e Novembre, 2007); aumentando a germinação de sementes armazenadas de milho doce (Oliveira *et al.*, 2007); incrementando a velocidade de germinação de pepino (Lima e Marcos Filho, 2010); aumentando o IVG e vigor de rúcula (Alves *et al.*, 2012), e incrementando a germinação e o vigor de sementes de jiló (Gomes *et al.*, 2012); e tomate (Rossetto *et al.*, 2002).

O nível de deterioração do lote de sementes é um dos fatores que pode influenciar significativamente o efeito do condicionamento osmótico. Segundo, Bittencourt *et al.*, (2005), essa

técnica permitiu aumento da germinação de sementes de aspargo com baixa qualidade fisiológica, apresentando efeito mais significativo nos lotes de média e baixa qualidade em relação aos lotes vigorosos. Autores reportam aumento de sete pontos percentuais na germinação em sorgo (Oliveira e Gomes-Filho, 2010), outros estudos reportam incrementos na percentagem de germinação de sementes de melão de 0 para 97 e de 30 para 95, envelhecidas artificialmente e osmocondicionadas (Nascimento e Aragão, 2004). Além disto, são reportados incrementos no estabelecimento das plântulas e maior velocidade na emergência de sementes envelhecidas artificialmente de melão, sorgo, cenoura e jiló (Nascimento e Aragão, 2004; Oliveira e Gomes-Filho, 2010; Pereira *et al.*, 2009; Gomes *et al.*, 2012), respectivamente. Essas informações corroboram o possível efeito positivo do condicionamento osmótico em sementes com qualidade fisiológica inferior.

Brocklehurst e Dearman (1984) observaram que o aumento na velocidade de germinação de sementes de cenoura e cebola após o priming foi maior nos lotes de baixo vigor. Sementes de trigo envelhecidas, apresentando nível médio de vigor, mostraram melhor desempenho quando embebidas por duas horas em água (Goldsworthy *et al.*, 1982). Resultados similares foram obtidos em sementes de trigo parcialmente deterioradas (Basu, 1994). Estes resultados evidenciam que mecanismos de reparo metabólico ocorrem durante o osmocondicionamento de sementes envelhecidas ou deterioradas, aumentando a velocidade e uniformidade de germinação (Powell, 1998). Assim, durante o condicionamento de sementes de médio e baixo vigor, o reparo metabólico proporcionado pela lenta embebição pode auxiliar a reverter determinados mecanismos relacionados à deterioração. Contudo, este processo de reversão ainda não pode ser generalizado para todas as sementes, pois depende das condições de osmocondicionamento, espécie e propriedades intrínsecas da semente.

A absorção de água pela semente seca provoca uma série de respostas bioquímicas, destacando-se o aumento da quantidade de adenosina trifosfato (ATP) que segue um padrão similar ao de absorção da água durante a germinação. Com isso diversas rotas e ciclos são ativados até que ocorra a protrusão da radícula (Ferreira e Borguetti, 2004).

Os materiais de reserva da semente, representados principalmente por lipídeos, carboidratos e proteínas, devem funcionar como fonte de energia (ATP) para a manutenção dos processos metabólicos, e como fonte de material para a síntese de novas moléculas e tecidos que irão constituir a plântula (Bewley e Black, 1983). Os lipídeos e as proteínas são a maior reserva em sementes maduras de brássicas (Robbelen e Thies, 1980). Análises bioquímicas em sementes secas de *Brassica napus* comerciais e *Brassica rapa*, indicam que parte dessas reservas podem ser afetadas por condições ambientais, especialmente o fornecimento de oxigênio externo, afetando o

desenvolvimento do embrião (Robbelen e Thies, 1980; Kuang *et al.*, 2000), efeito que possivelmente pode ser diminuído com o uso do condicionamento osmótico de forma aerada.

O osmocondicionamento afeta processos metabólicos importantes relacionados à quebra de proteínas, carboidratos, lipídios e outros materiais de reserva (Khan *et al.*, 1980, 1981). Esta degradação de reservas armazenadas pode aumentar a capacidade das sementes osmocondicionadas de absorver água para germinar rapidamente, e tolerar ambiente de estresse (Khan, 1992). Sun *et al.* (2010), observaram que em sementes osmocondicionadas de arroz, os conteúdos de proteína solúveis foram significativamente superiores, e que os conteúdos de açúcares solúveis e malonaldeído foram significativamente inferiores que nas sementes sem osmocondicionamento. Os autores concluíram que o osmocondicionamento acelerou o processo de metabolismo da glicose, aumentou as atividades das enzimas superóxido dismutase, catalase e peroxidase nas sementes tratadas, incrementando a percentagem de germinação, índice velocidade de germinação (IVG), velocidade de germinação (VG), massa seca e comprimento da raiz primária e da parte aérea. Por outro lado, em sementes de *Platymiscium pubescens* Micheli (Tamboril-da-Mata), os teores de glicose no embrião e cotilédones alteraram-se significativamente e o teor de proteína decresceu significativamente durante o osmocondicionamento, potencializando a germinação das sementes durante o processo de embebição, resultando em modificações da parede celular pela deposição de açúcares redutores (Borges *et al.*, 2002).

Dessa forma, o trabalho teve como objetivo avaliar as alterações bioquímicas e fisiológicas decorrentes do osmocondicionamento de sementes de repolho com diferentes níveis de vigor, obtidos após exposição das sementes a diferentes tempos de envelhecimento acelerado.

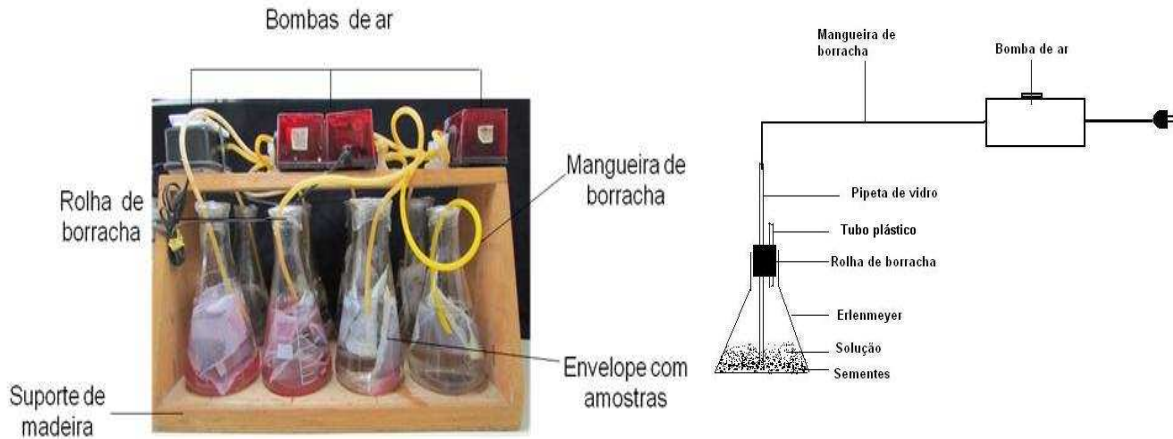
## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido nos Laboratórios de Sementes e de Pós-Colheita do Departamento de Fitotecnia e Laboratório de Enzimologia, Bioquímica de Proteínas e Peptídeos do BIOAGRO da UFV. Foram utilizadas sementes de repolho (*Brassica oleracea* var. capitata), cultivar 60 dias.

As sementes foram envelhecidas artificialmente, utilizando-se a metodologia descrita por Marcos Filho (1999) para o teste de envelhecimento acelerado. Para tanto, as sementes foram distribuídas em camada única sobre tela acoplada as caixas plásticas transparentes medindo 11 x 11 x 3,5 cm (gerbox), contendo 40 mL de água destilada ao fundo. As caixas foram tampadas, obtendo-se cerca de 100% de umidade relativa em seu interior, e mantidas em incubadora BOD a 42°C, por 24, 33 e 42 horas, e sem envelhecimento, de modo a se obter quatro lotes com diferentes níveis de envelhecimento, ou seja, diferentes níveis de vigor. Após o envelhecimento, as sementes foram secas em condição de ambiente de laboratório (25°C) até atingirem grau de umidade de, aproximadamente 7,5 %.

### Condicionamento Osmótico

As sementes de cada lote foram condicionadas osmoticamente em solução aerada de polietileno glicol 6000 (PEG 6000) com potencial osmótico ajustado a  $-1,0$  MPa, na concentração de  $284 \text{ g L}^{-1}$ , conforme Michel e Kaufman (1973), a  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ , durante 6 dias. Para a aeração da solução, foi utilizado um sistema desenvolvido para o condicionamento com aeração externa, promovida por uma bomba de aquário. Neste método, 400 g de sementes foram colocadas em erlenmeyers (capacidade 500 mL) contendo 350 mL da solução condicionadora, que foram vedados com rolha de borracha, e supridos com aeração constante por meio de uma bomba de ar (bomba de aquário) para promover a aeração da solução. O sistema foi mantido em incubadora BOD a  $20^\circ\text{C}$ . A solução não foi trocada até o fim do ensaio (6 dias). A figura 1, mostra o sistema formado pelos erlenmeyers e bombas de aquário, utilizado para o condicionamento.



**Figura 1.** Sistema utilizado para o condicionamento de sementes pelo método de solução aerada.

Ao final do período de condicionamento, as sementes foram retiradas, lavadas em água corrente para remoção dos resíduos da solução e secas sobre papel toalha por 15 a 20 min, em condições de ambiente de laboratório. Em seguida, foram secas em estufa com ventilação forçada a temperatura ambiente (25°C), por três dias até atingirem o teor de água inicial (aproximadamente 7,5%).

Em seguida, as sementes de cada lote e tratamento foram separadas em duas porções, sendo uma delas utilizada para se determinar o padrão de embebição das sementes em água e a outra porção utilizada para a condução dos testes de avaliação da qualidade fisiológica e determinações bioquímicas das sementes.

### **Obtenção da curva de embebição**

Amostras de 1,5 g de sementes osmocondicionadas e não osmocondicionadas de cada um dos quatro lotes foram colocadas em placas de petri, sobre duas folhas de papel umedecido com água na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco. As placas foram tampadas e mantidas em germinador regulado para manter temperatura constante de 20°C. Para monitorar a absorção de água pelas sementes, foram efetuadas pesagens das sementes a cada duas horas, durante as primeiras 24 horas e, após este período, a cada 6 horas. Este procedimento foi seguido até que ocorresse a protrusão da raiz primária em 50% das sementes. Os dados obtidos de cada pesagem foram utilizados para se obter a curva de embebição das sementes em água e o tempo necessário para a protrusão da raiz primária.

### **Grau de umidade**

A determinação do grau de umidade (base úmida) foi efetuada de acordo com as Regras de para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), utilizando-se o método da estufa a  $105^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$  por 24 horas, com três repetições de 1g por lote, sendo os resultados expressos em percentagem.

### **Testes para a avaliação da qualidade das sementes**

#### **Teste de germinação**

Foi realizado com quatro repetições de 50 sementes distribuídas sobre papel toalha umedecido com volume de água equivalente a 2,5 vezes o seu peso seco, dispostas em caixa gerbox, e colocadas para germinar a  $20^{\circ}\text{C}$ . As contagens foram realizadas diariamente e os resultados foram expressos em percentagem de plântulas normais obtidas. A primeira e a última contagem do teste de germinação foram realizadas a quinto e décimo dia respectivamente, após a semeadura (BRASIL, 2009).

#### **Emergência de plântulas**

O teste foi realizado em casa de vegetação, com quatro repetições de 50 sementes por lote distribuídas em bandejas plásticas contendo substrato comercial Plantimax® umedecido até a capacidade de campo de retenção de água. O substrato foi umedecido diariamente por meio de irrigação manual. As contagens do número de plântulas emergidas foram realizadas diariamente e a porcentagem final de plântulas emergidas foi computada no 10º dia após a semeadura, considerando-se plântulas normais àquelas que apresentavam tamanho igual ou maior que 1,0 cm, com os cotilédones acima da superfície do substrato. O resultado consistiu na percentagem de plântulas emergidas aos 10 dias após da semeadura.

#### **Teste de deterioração controlada**

Inicialmente, o teor de água das sementes foi elevado até 24%, através do método da atmosfera úmida (BRASIL, 2009). Para isto, três gramas de sementes foram distribuídas sobre duas folhas de papel toalha umedecidos com volume de água equivalente a 2,5 vezes o peso do papel em placa de petri. As caixas depois de tampadas, foram mantidas em germinador a  $20^{\circ}\text{C}$ . Durante o umedecimento, o teor de água das sementes foi monitorado mediante pesagens sucessivas (Hampton e TeKrony, 1995), até alcançar o grau de umidade requerido conforme (Matthews e

Powel, 1987), com intervalos de uma hora, sendo na última hora, realizada em intervalos de 10 e 5 minutos, até se obter o valor desejado. A cada pesagem foi determinado o teor de água das sementes através da equação:

$$W_2 = \frac{100 - A}{100 - B} \times W_1$$

Onde: A - teor de água inicial das sementes (base de peso úmido); B - teor de água requerido; W1 - peso inicial das sementes (g); W2 - peso final das sementes (g); W2 – W1- água a ser adicionada (Hampton e TeKrony, 1995). Após de atingir o conteúdo de água desejado, cada lote de sementes foi colocado imediatamente em recipiente impermeável (embalagens herméticas, constituídas por envelopes trifoliados de papel/alumínio/polietileno 10x15cm), vedados em uma seladora elétrica, e mantidos por 24 horas em câmara fria (10°C) para atingirem o equilíbrio higroscópico (Mendonça *et al.*, 2000). Ao término deste período, as embalagens contendo as sementes, correspondentes a cada lote foram transferidas para aparelho de banho-maria, calibrado para manter temperatura constante de 45°C, por 24 horas (Matthews e Powel, 1981). Após, foram retirados e colocados em um dessecador por 60 minutos para reduzir a temperatura, sendo instalado, em seguida, o teste padrão de germinação e avaliadas conforme prescrito pelas Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 2009). As contagens foram realizadas no quinto e décimo dia após a semeadura, e os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais obtidas.

### **Índice de velocidade de germinação e Velocidade de emergência**

Efetuada concomitantemente ao teste de germinação, realizando-se contagens diárias do número de plântulas normais até o 10º dia após da semeadura. O cálculo do índice de velocidade da germinação foi feito de acordo com Maguire (1962) utilizando-se a fórmula  $IVG = (G1/N1) + (G2/N2) + \dots + (Gn/Nn)$  em que IVG= índice de velocidade de germinação; G1, G2 e Gn = número de plântulas emergidas na primeira, segunda e última contagem e N1, N2 e Nn = número de dias da semeadura à primeira, segunda e última contagem, respectivamente.

A velocidade de emergência foi calculada de acordo com a metodologia proposta por Edmond e Drapala (1958) e os resultados foram expressos em dias, através da seguinte fórmula:

$$VE = \frac{(N_1 \times G_1) + (N_2 \times G_2) + \dots + (N_n \times G_n)}{G_1 + G_2 + \dots + G_n}$$

Em que:

VE = Velocidade de emergência;

G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, ... G<sub>n</sub> – Número de plântulas emergidas na primeira, segunda, ..., e na última contagens;

N<sub>1</sub>, N<sub>2</sub>, ..., N<sub>n</sub> – Número de dias decorridos da sementeira até a primeira, segunda, ..., e última contagens.

### **Comprimento da raiz**

As plântulas obtidas no teste de emergência foram retiradas cuidadosamente do substrato, lavadas com água corrente, sendo logo em seguida, aferidas quanto ao comprimento do sistema radicular. O comprimento foi determinado com auxílio de uma régua graduada e os resultados expressos em cm.plântula<sup>-1</sup>.

### **Massa da matéria seca das plântulas**

As plântulas obtidas no teste de emergência foram lavadas, colocadas em sacos de papel kraft e levadas imediatamente à estufa de circulação forçada de ar, a 72°C ± 2, durante 72h, para a desidratação artificial, até atingirem peso constante. O material foi pesado com precisão de 0,001 g. O resultado foi expresso em g plântula<sup>-1</sup>.

## **Análises químicas das sementes**

### **Determinação de carboidratos**

#### **Obtenção do extrato bruto**

Os extratos brutos para as determinações de amido, açúcares solúveis e açúcares redutores foram obtidos através da pesagem de cerca de 1,0 g de material vegetal (semente seca inteira). As sementes foram submersas em Nitrogênio líquido. Em seguida, permaneceram 30 minutos em temperatura ambiente e foram trituradas em politron para completa homogeneização. Logo após, os extratos foram centrifugados a 2.000 xg por 10 min, etapa repetida três vezes. O sobrenadante foi

retirado para a quantificação de açúcares solúveis e açúcares redutores. O “*pellet*” foi seco para posterior quantificação de amido.

#### **Determinação de Amido**

Foi realizada pelo método proposto McCready *et al.* (1950). O “*pellet*” seco foi colocado em um tubo de centrifugação juntamente com 2,5 mL de água deionizada. Foram adicionados 3,25 mL de ácido perclórico 52% permanecendo sob descanso por 30 minutos. A mistura foi centrifugada durante 15 minutos a 2000 xg., sendo o sobrenadante recolhido para quantificação de amido. Foi colocada em um tubo de ensaio, uma alíquota de 250 µL do extrato com 250 µL de fenol 5%, e adicionado à mistura 1,25 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentrado e, então, os tubos foram colocados em banho-maria a 30 °C, por 20 minutos. A leitura da absorvância foi realizada em espectrofotômetro a 490 nm.

#### **Determinação de Açúcares redutores (AR)**

A fisiologia será caracterizada, em sementes secas dos diferentes lotes com e sem osmocondicionamento, por meio do metabolismo de carboidrato, avaliando-se os teores de açúcares solúveis totais, amido e açúcar redutor. A determinação de açúcares redutores (AR) foi realizado pelo método de Somogy-Nelson (Nelson, 1944), utilizando o extrato bruto extraído como foi mencionado acima.

#### **Determinação de Açúcares solúveis totais (AST)**

A determinação de açúcares solúveis totais (AST) foi realizada pelo método Fenol-Sulfúrico proposto por Dubois *et al.* (1956). Foi colocada em um tubo de ensaio uma alíquota de 250 µL do extrato com 250 µL de fenol 5%. Foi adicionado à mistura 1,25 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentrado e então os tubos foram colocados em banho-maria a 30 °C por 20 minutos. A leitura da absorvância foi realizada em espectrofotômetro a 490 nm.

#### **Determinação de proteínas totais**

A determinação de proteínas totais foi realizada pelo método proposto por Bradford (1976). Aproximadamente 0,3 g de sementes foram maceradas na presença de nitrogênio líquido. Foram adicionados 2 mL de tampão fosfato de potássio 0,1 M, pH 6,8, ácido etilenodiaminotetracético

(EDTA) 0,1 mM, fluoreto de fenilmetilsulfônico (PMSF) 1 mM e polivinilpirrolidona (PVPP) 1% (p/v). A mistura então foi filtrada e centrifugada a 12.000 xg durante 15 minutos, a 4°C.

Em seguida, foram colocados em um tubo de ensaio 100 µL de extrato juntamente com 1 mL de reagente de Bradford. Após 20 minutos, foi realizada a leitura da absorvância em espectrofotômetro a 595 nm.

### **Determinação do teor Lipídico**

As determinações do teor de lipídeos foram feitas em sementes secas e osmocondicionadas, nos diferentes lotes de vigor. Foram pesados aproximadamente 2,5 g de material (sementes) previamente seco em estufa por 24 horas a 45°C e triturado em almofariz. As amostras foram colocadas em cartuchos de papel-filtro, com tampões de algodão nas extremidades. O teor de lipídeos nas sementes de repolho foi determinado utilizando aparelho extrator Soxhlet e éter de petróleo como solvente, com refluxo por 5 h, de acordo com a metodologia descrita pela AOAC (2003). Foram realizadas quatro repetições por lote. Após a extração, as amostras foram submetidas a secagem em estufa a 105°C por quatro horas, sendo resfriadas em dessecador e submetidas a sucessivas pesagens e secagens em intervalos de uma hora, até peso constante. O teor de lipídeos foi determinado pela relação gravimétrica, sendo o resultado expresso em percentagem de lipídeos extraído.

### **Análise estatística**

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial 4x2, (sementes envelhecidas durante 24, 33 e 42 horas e não envelhecidas, sem e com condicionamento osmótico). A análise de variância e a comparação de médias foram realizadas através do teste F e Tukey respectivamente, ambos ao nível de  $p > 0,05$ , e analisados no programa SAS Software Versão 9.00.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 são apresentados os dados do grau de umidade inicial das sementes de cada lote (obtido após diferentes tempos de exposição ao envelhecimento acelerado) e suas respectivas percentagens de germinação após serem submetidos ou não ao osmocondicionamento. O teor inicial de água das sementes variou entre 6,8 e 8,6%. A germinação das sementes não envelhecidas artificialmente, foi alta (cerca de 99%). De maneira geral, as sementes que sofreram maior tempo de envelhecimento apresentaram menor poder germinativo.

**Tabela 1.** Teor de água inicial (TA<sub>i</sub>) e germinação (G) de sementes de repolho cv ‘60 dias’ em função do tempo de envelhecimento acelerado, com (CO) e sem (SO) osmocondicionamento com PEG 6000, durante 6 horas a 20°C.

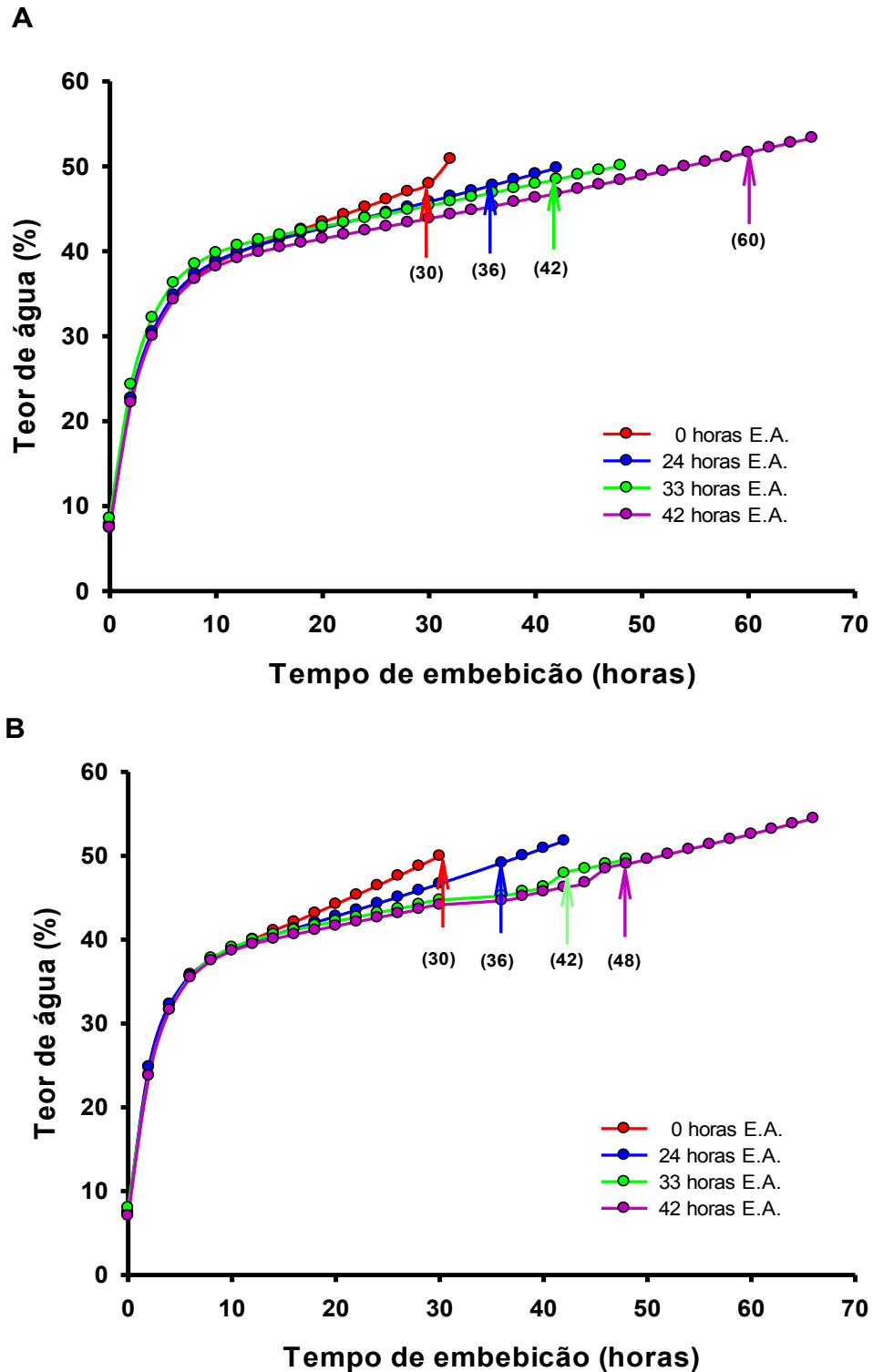
<b>Lotes - tempos de envelhecimento acelerado (h)</b>	<b>Tratamento de osmocondicionamento</b>	<b>TA<sub>i</sub> %</b>	<b>G</b>
0	Sem	7,6	98
	Com	7,0	99
24	Sem	7,9	76
	Com	7,4	79
33	Sem	8,6	60
	Com	7,8	72
42	Sem	7,7	57
	Com	6,8	69

As curvas de absorção de água pelas sementes em função dos tratamentos de envelhecimento e osmocondicionamento estão apresentadas na Figura 2. Foram observados padrões similares na absorção de água entre as sementes sem e com osmocondicionamento em diferentes períodos de exposição ao envelhecimento. Para conhecer o início e duração das fases na curva de embebição foram ajustadas equações exponenciais individuais para cada um dos tratamentos (Figura 2). Verifica-se, que tanto para sementes condicionadas como não condicionadas houve rápida embebição inicial até aproximadamente 48 horas e 60 horas, respectivamente (Tabela 2). Observa-se também que, entre o intervalo de 14,63 e 23,9 horas, houve rápida absorção de água pelas sementes em todos os lotes, independentemente do tempo de envelhecimento acelerado (Figura 2).

Em geral, verifica-se que as sementes de todos os lotes, que tinham teor da água inicial entre 6,8 a 8.6%, atingiram, ao final da fase I, teores de água entre 41,38 e 43,46% (Tabela 1, Figura 2 e 3). Este período de rápida embebição, caracteriza a fase I do processo de germinação das sementes, descrita por Bewley e Black (1994), sendo consequência do reduzido potencial mátrico verificado em sementes secas, que pode atingir valores de até -100 Mpa. Sementes de pimentão condicionadas em água também tiveram aumento progressivo no grau de umidade nas primeiras 12 horas de embebição, quando atingiram 50% de água (Posse *et al.*, 2001). Pereira *et al.* (2009), trabalhando com sementes de cenoura, observaram que sementes com 12% de umidade atingiram cerca de 50%, após 12h de contato com substrato umedecido com água.

**Tabela 2.** Tempo para que 50% das sementes de repolho (*Brassica oleracea var. Capitata*) apresentassem protrusão da radícula (T50) e teor de água em sementes (TA) com e sem osmocondicionamento envelhecidas artificialmente por 0, 24, 33 e 42 horas, com e sem osmocondicionamento em solução de PEG 6000 a -1,0 MPa a 20°C, após a embebição em água destilada.

	Sem osmocondicionamento				Com osmocondicionamento			
	0	24	33	42	0	24	33	42
T50 (horas)	30	36	42	60	30	36	42	48
TA (%)	48,4	47,8	48,5	52,2	49,80	49,57	49,50	49,10



**Figura 2.** Teor de água obtido após diferentes tempos de embebição de sementes de repolho envelhecidas artificialmente. A. Sementes sem osmocondicionamento; B. Sementes osmocondicionadas com PEG 6000 a  $-1,0$  MPa durante seis horas. As setas correspondem ao momento da protrusão radicular.

Sementes não condicionadas com 0 horas de E.A e 18,7 horas de embebição; 24 horas de E.A e 22,06 horas de embebição; 33 horas de E.A e 22,25 horas de embebição e 42 horas de E.A e 23,97 horas de embebição, não apresentaram aumento expressivo na taxa de embebição, nem aumentos no teor de água (Figura 2A e Tabela 3), caracterizando a Fase II de embebição (Bewley e Black, 1994), embora tenham ocorrido diferenças entre os lotes quanto à duração desta fase. Nota-se, pela Figura 2, que com o aumento do tempo de envelhecimento, houve aumento na duração da fase II. Nas sementes do lote não envelhecido artificialmente, a fase II em sementes sem e com osmocondicionamento durou cerca de 11,22 e 15,39 horas, enquanto nas sementes do lote envelhecido por 42 h, esta fase teve duração de 36,03 e 27,30 horas (Tabela 3).

A fase II do processo de germinação se caracteriza pela estabilização do nível de hidratação das sementes, sem acréscimos significativos no seu teor de água, sendo determinada principalmente pelo potencial de pressão. Esta estabilização é necessária para que haja a digestão das substâncias de reserva (Bewley e Black, 1994). Na fase II da germinação é onde ocorrem consideráveis atividades metabólicas para preparar as sementes em germinação para a emergência da radícula, como a reparação do DNA e a mobilização de proteínas armazenadas (Nascimento *et al.*, 2001; Boubriak *et al.*, 1997; Job *et al.*, 1997). Portanto, sementes osmocondicionadas com uma prolongada fase II, estão provavelmente mais preparadas para a germinação que aquelas sementes não osmocondicionadas (Chen *et al.*, 2010).

O final da fase II e início da fase seguinte (III) é marcada pela protrusão da radícula (Bewley e Black, 1994). Após a fase II, observou-se um novo incremento na umidade das sementes, culminando com a protrusão radicular, caracterizando o início da fase III da curva de embebição (Figura 2). Verificou-se que o tempo necessário para a protrusão da radícula variou entre os lotes, sendo determinado pelo tempo de envelhecimento das sementes, ou seja, quanto maior o tempo de envelhecimento maior o tempo necessário para a emissão da radícula. Contudo, não houve variações expressivas ao se comparar sementes condicionadas e não condicionadas (Figura 2).

Os dados referentes ao tempo necessário para a protrusão da radícula e ao teor de água das sementes nesta fase, são apresentados nas Tabelas 2 e 3. Verifica-se que em geral, sementes não envelhecidas sem e com osmocondicionamento, emitiram radícula após 30 horas de embebição, quando apresentavam teor de água de 48,4 e 49,80% respectivamente. Sementes envelhecidas por 42 horas, sem osmocondicionamento atingiram a fase III após 60 horas, com teor de água de 52,2% (Tabela 2). Enquanto sementes envelhecidas por 42 horas e osmocondicionadas, atingiram a fase III após 42 horas, com umidade final de 49,10% (Tabela 2). Pela Figura 2, confirma-se que a fase II foi mais curta para sementes não envelhecidas. Em sementes de pimentão, a absorção de água foi lenta a partir de 12 horas de embebição, indicando o início da fase II que se prolongou até cerca de

72 horas, quando iniciou-se o processo de emissão da raiz primária (Posse *et al.*, 2001). Lopes *et al.* (1996) observaram que o início da protrusão da raiz primária em sementes de cebola se deu após 132 horas de embebição em água destilada e com teor de água em torno de 44 a 46%, o que sugere que o período ideal para o condicionamento osmótico destas sementes situava-se entre dois e quatro dias. Em sementes de cenoura, a emissão da raiz primária ocorreu após 48 h de embebição em água, quando atingiram teor de água de 54% (Pereira *et al.*, 2009).

**Tabela 3.** Duração das fases I e II (FI e FII) de embebição água de sementes submetidas a diferentes tempos de envelhecimento acelerado (E.A.), sem e com osmocondicionamento a -1, 0 MPa durante 6 dias a 20 °C.

Tempo de E.A. (h)	Condicionamento osmótico	Duração da FI (h)	Teor de água FI (%)	Duração da FII (h)	R <sup>2</sup>
0	Sem	18,78	42,90	11,22	0,99
	Com	14,61	41,38	15,39	0,99
24	Sem	22,06	43,36	13,94	0,99
	Com	17,03	41,69	18,96	0,99
33	Sem	22,25	43,46	19,75	0,99
	Com	21,71	42,61	20,29	0,99
42	Sem	23,97	42,42	36,03	0,99
	Com	20,70	41,80	27,30	0,99

O comportamento observado para as sementes condicionadas em PEG 6000 foi similar ao das sementes não condicionadas, variando unicamente nos tempos da protrusão da raiz (Figura 2 A e B, Figura 3). Pode-se afirmar que, em geral, a velocidade de embebição das sementes foi afetada pelos diferentes tempos de envelhecimento, tanto nas sementes sem como naquelas osmocondicionadas (Figura 3 A-D).

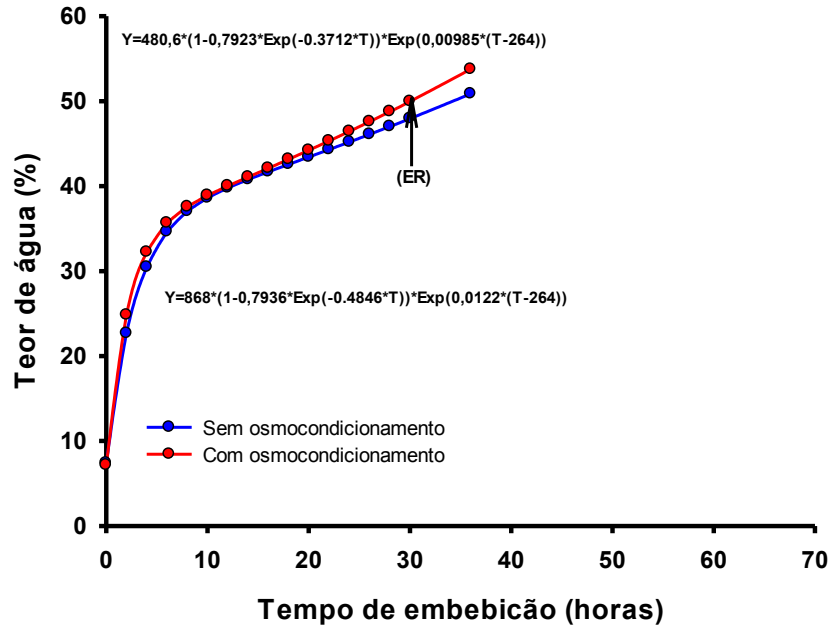
Em cebola, sementes osmocondicionadas foram mais resistentes às condições de estresse de alta temperatura e alta umidade relativa do ar, às quais foram impostas pelo envelhecimento acelerado, apresentando germinação superior às não osmocondicionadas (Caseiro e Marcos Filho, 2005). Em sorgo, foi observado que o envelhecimento artificial afeta negativamente o desempenho das sementes, sendo que as sementes não envelhecidas emergiram a radícula com 30 horas de

embebição, enquanto que para as sementes envelhecidas isso só ocorreu com 42 horas após a embebição (Oliveira e Gomes-Filho, 2010).

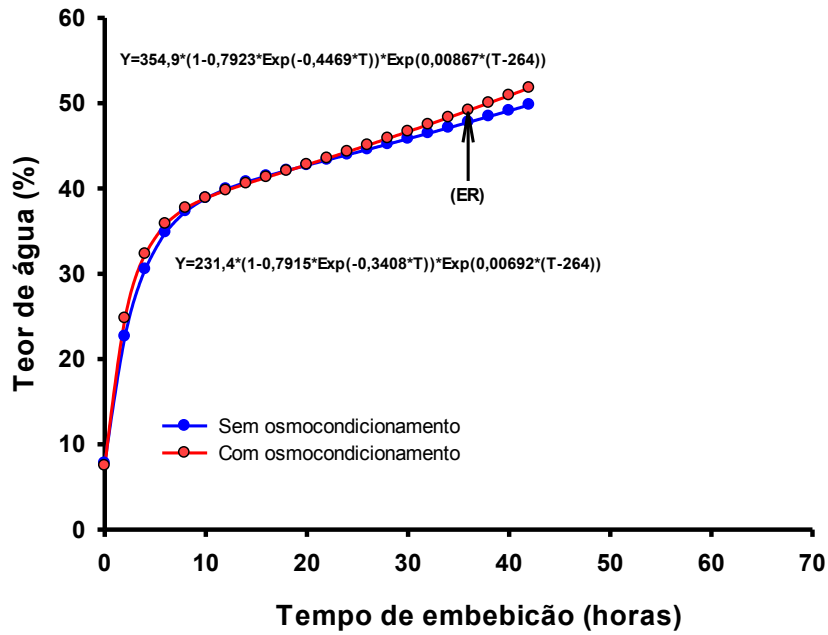
Neste trabalho, foi constatado que o início da emissão da raiz primária para as sementes não envelhecidas, sem ou com condicionamento osmótico, ocorreu após 30 horas de embebição, quando as sementes apresentavam teor de água entre 48,4 e 49,8% respectivamente. Já para as sementes envelhecidas por 24 horas, sem e com osmocondicionamento, a emissão da raiz primária ocorreu quando as sementes apresentavam em torno de 47,8 e 49,7% de teor de água, respectivamente, após 36 horas de embebição. Para as sementes envelhecidas por 33 horas, a protrusão da raiz primária ocorreu quando as sementes atingiram em torno de 48,5 e 47,5% de teor de água, para as sementes não condicionadas e condicionadas, respectivamente, após 42 horas de embebição. Já para as sementes envelhecidas por 42 horas, sem e com osmocondicionamento, a emissão da raiz primária ocorreu quando as sementes atingiram o teor de água de 52,2 e 49,10%, respectivamente. O tempo médio necessário para a protrusão da raiz primária, obtido da curva de embebição foi de 60 e 48 horas de embebição, para as sementes não condicionadas e condicionadas, respectivamente. Como apresentado na Tabela 1, as sementes envelhecidas por 42 horas, sem osmocondicionamento, foram as que apresentaram menor percentual de germinação. Esse comportamento pode estar relacionado com uma redução na divisão e expansão celular em função do envelhecimento das sementes, resultando em uma germinação mais lenta (Sveinsdóttir *et al.*, 2009).

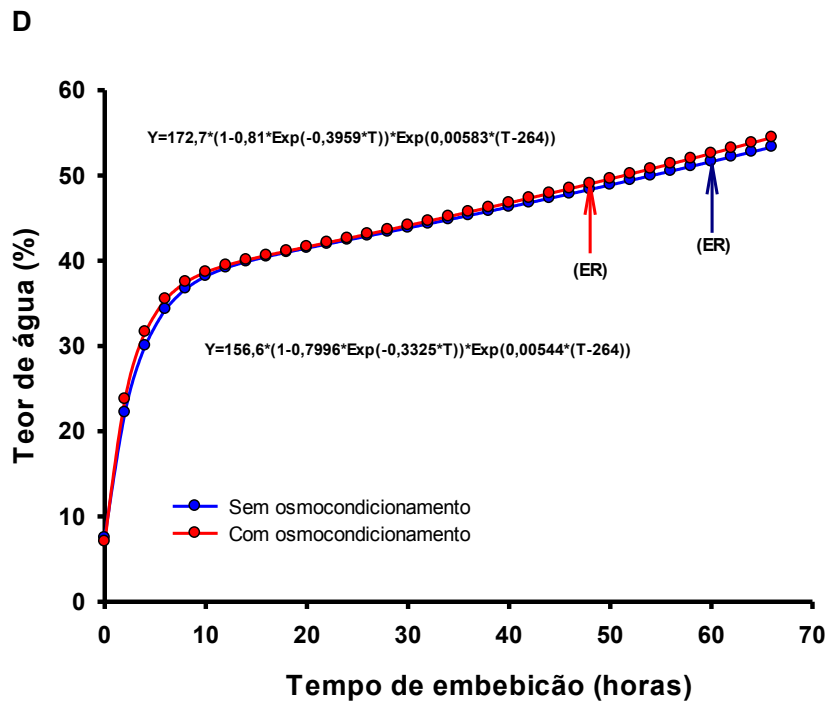
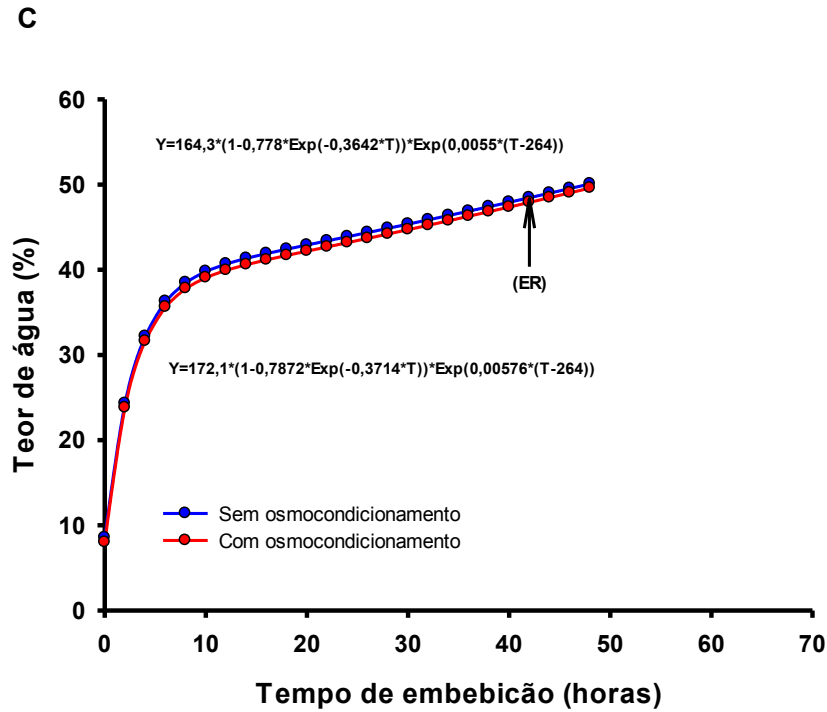
Segundo Caseiro (2003), o período de embebição necessário para a emissão da raiz primária varia de acordo com o potencial fisiológico do lote, sendo maior para os lotes menos vigorosos. Isso foi comprovado neste trabalho, uma vez que as sementes envelhecidas por maior tempo e menos vigorosas, sem e com osmocondicionamento, iniciaram a emissão da raiz primária com até 12 horas de diferença. Esse comportamento pode estar relacionado com uma redução na divisão e expansão celular, a não ativação das células embrionárias e, por conseguinte, à baixa taxa de multiplicação celular; eventos ativos nas sementes vigorosas, e que não foram constatados em sementes de baixo vigor (Lanteri *et al.*, 1996; Sveinsdóttir *et al.*, 2009).

A



B





**Figura 3.** Teor de água, obtidos após diferentes tempos de embebição de sementes de repolho envelhecidas artificialmente. A. Sementes sem e com osmocondicionamento com 0 horas de E.A.; B. Sementes sem e com osmocondicionamento com 24 horas de E.A.; C. Sementes sem e com osmocondicionamento com 33 horas de E.A.; D. Sementes sem e com osmocondicionamento com 42 horas de E.A., osmocondicionamento com PEG 6000 a -1,0 MPa durante seis dias. ER. Emissão de raiz. As setas correspondem a o momento de protrusão da radícula.

### **Avaliação na qualidade das sementes**

Os dados de germinação (G), primeira contagem (PC), deterioração controlada (DC) e Emergência (E), estão apresentados na Tabela 4. O envelhecimento acelerado das sementes promoveu a separação dos lotes em níveis de qualidade fisiológica distintos, conforme pode ser observado pelos resultados de germinação (Tabela 4). A utilização de lotes com diferentes níveis de qualidade é importante para verificar o alcance da aplicação de métodos de condicionamento fisiológico em determinadas espécies (Kikuti, 2006).

Em geral, as sementes não envelhecidas apresentaram maior germinação em relação às envelhecidas por diferentes tempos, tanto nas sementes condicionadas como não condicionadas (Tabela 4). Não houve efeito do condicionamento osmótico nas sementes não envelhecidas ou quando envelhecidas por 24 h. A partir deste tempo de envelhecimento, verificou-se maior germinação para as sementes osmocondicionadas em relação às não condicionadas, ou seja, o condicionamento osmótico foi benéfico para a germinação das sementes cuja qualidade fisiológica foi reduzida pelo estresse provocado pelo envelhecimento acelerado. Resultados semelhantes também foram observados para o vigor das sementes, quando avaliado pelos testes de primeira contagem de germinação e deterioração controlada (Tabela 4).

Sementes que apresentam maior percentagem de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação são mais vigorosas, sendo um indicativo de maior velocidade no processo de germinação (Nakagawa, 1999). Conforme os resultados obtidos no presente trabalho, os efeitos do condicionamento fisiológico foram mais evidentes nas sementes com maior tempo de envelhecimento, portanto de menor vigor, corroborando os resultados obtidos por Trigo *et al.* (1999) em sementes de cebola, onde a velocidade de germinação foi favorecida pelo condicionamento de sementes de baixo vigor.

Assim, em geral, as sementes envelhecidas por 33 e 42 horas apresentaram menor potencial fisiológico comparado às sementes envelhecidas por 24 horas e às não envelhecidas (Tabela 4). Portanto, houve redução do vigor das sementes provocada pelo aumento do tempo de envelhecimento acelerado. Esta redução pode ser confirmada pelo maior tempo para protrusão da radícula das sementes envelhecidas em relação às não envelhecidas como pode ser observado nas Figuras 3A, 3B, 3C e 3D.

**Tabela 4.** Resultados obtidos nos testes de germinação, primeira contagem de germinação (PC), deterioração controlada (DC) e emergência de plântulas (E) obtidas de sementes de repolho submetidas a diferentes tempos de envelhecimento acelerado (E.A.), com e sem osmocondicionamento.

<b>E.A. (h)</b>	<b>G (%)</b>		<b>PC (%)</b>		<b>DC (%)</b>		<b>E (%)</b>	
	Sem osmoc	Com osmoc	Sem osmoc	Com osmoc	Sem osmoc	Com osmoc	Sem osmoc	Com osmoc
0	98 Aa	98 Aa	94 Aa	90 Aa	79 Aa	71 Aa	81 Aa	91 Aa
24	76 Ab	79 Ab	70 Ab	63 Ab	48 Ab	48 Ab	90 Aa	93 Aa
33	59 Bc	72 Ab	42 Bc	56 Ab	11 Bc	50 Ab	83 Aa	94 Aa
42	58 Bc	73 Ab	28 Bc	55 Ab	4 Bc	39 Ab	60 Ab	71 Ab
<b>CV (%)</b>	<b>8,79</b>		<b>10,66</b>		<b>12,84</b>		<b>8,85</b>	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ); médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste F ( $p < 0,05$ ).

Quando se avaliou a emergência de plântulas (Tabela 4), verificou-se que tanto para sementes condicionadas como para não condicionadas, não houve diferença significativa entre os tratamentos de envelhecimento por 0, 24 e 33 h, os quais foram superiores ao envelhecimento por 42 h. Resultados semelhantes foram observados para o índice de velocidade de emergência (IVG) e velocidade de germinação (VG dias) (Tabela 5). Ao se comparar os tratamentos de condicionamento (com e sem), observa-se que tal tratamento não afetou a percentagem de emergência das plântulas; contudo, houve aumento significativo da velocidade de germinação e de emergência quando sementes envelhecidas por 42 h foram osmocondicionadas, as quais foram superiores à testemunha não condicionada. Nos demais tratamentos de envelhecimento, não houve diferença entre sementes condicionadas e não condicionadas. Assim, pode-se afirmar que sementes em estágio mais avançado de deterioração, como é o caso daquelas envelhecidas por maior tempo (42 h), podem ser beneficiadas pelo condicionamento osmótico, que contribuiu para aumentar a velocidade de emergência das plântulas (Tabela 5).

**Tabela 5.** Índice de velocidade de germinação (IVG), velocidade de emergência (VG) e índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de repolho submetidas a diferentes tempos de envelhecimento acelerado (E.A.), com e sem osmocondicionamento.

E.A. (horas)	IVG		VG (dias)		IVE	
	Sem Osmoc	Com osmoc	Sem osmoc	Com Osmoc	Sem osmoc	Com osmoc
0	20,84 Aa	18,23 Aa	24,35 Aa	24,42 Aa	5,25 Bab	6,60 Aa
24	17,77 Aab	17,94 Aab	24,11 Aa	22,83 Aab	5,53 Aa	5,87 Aab
33	15,46 Ab	17,58 Aab	21,96 Ba	24,48 Aa	4,76 Bab	6,15 Aab
42	9,51 Bc	13,42 Ab	17,52 Bb	20,19 Ab	4,15 Bb	5,03 Ab
<b>CV (%)</b>	<b>11,03</b>		<b>6,12</b>		<b>9,36</b>	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ); Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste F ( $p < 0,05$ ).

Comparando os resultados mostrados acima com os da Tabela 4, verifica-se que pelos testes de germinação, primeira contagem e deterioração controlada houve benefício do osmocondicionamento para sementes envelhecidas por 33 e 42 h. Efeitos positivos do condicionamento osmótico também foram observados em trabalhos realizados em campo e laboratório com beterraba e couve de Bruxelas (Pill, 1995), espinafre (Pill, 1995; Chen *et al.*, 2010) e cenoura (Pereira *et al.*, 2009; Nascimento *et al.*, 2009). Outros autores reportam os efeitos positivos do osmocondicionamento, obtidos em sementes de pimentão (Burgass e Powell, 1984; Bradford *et al.*, 1990), aspargo (Bittencourt *et al.*, 2005), pepino (Lima e Marcos Filho, 2010) e cominho (Rahimi, 2013), onde os lotes de menor vigor tiveram os maiores incrementos na germinação e vigor. Por sua vez, Rao *et al.* (1987) e Nascimento e Aragão (2004), trabalhando com sementes de brássicas (*Brassica rapa* L. e *B. oleracea* L.) e melão, respectivamente, verificaram efeitos benéficos do osmocondicionamento em sementes de lotes de vigor inferior, quando avaliadas em temperaturas subótimas.

Observa-se que não houve diferença significativa entre o comprimento de radícula das sementes submetidas aos diferentes tempos de envelhecimento quando osmocondicionadas (Tabela 6). Já nas sementes não condicionadas, os maiores valores ocorreram para as sementes envelhecidas por 24 horas, apesar de não terem diferido significativamente das envelhecidas por 0 e 33 horas, que foram superiores às envelhecidas por 42 horas. Resultados semelhantes foram obtidos para a massa

seca de plântulas, obtendo-se diferença significativa já que os maiores valores ocorreram para as sementes envelhecidas por 24 horas não osmocondicionadas. No entanto, para as sementes osmocondicionadas e submetidas aos diferentes tempos de envelhecimentos, não houve diferença significativa. Efeitos positivos do osmocondicionamento nos valores de matéria fresca e seca das plântulas foram reportados para *Adesmia latifolia* (babosa-do-brejo) e jiló (*Solanum gilo*) tanto em campo como em laboratório (Suñe *et al.*, 2002; Gomes *et al.*, 2012).

Ao se comparar o efeito do condicionamento osmótico na Tabela 6, observam-se maiores valores de massa seca de plântulas obtidas de sementes envelhecidas por 0, 33 e 42 h e osmocondicionadas em relação às não condicionadas. Em geral, pelos resultados obtidos, verificou-se que houve melhoria do desempenho das sementes de pior qualidade fisiológica (envelhecidas por períodos de 33 e 42 h) quando estas foram submetidas ao condicionamento osmótico, conforme pode se constatar pelos resultados de germinação, primeira contagem, deterioração controlada, índice de velocidade de emergência, velocidade de emergência e massa seca de plântulas. Portanto, sementes menos vigorosas, em geral, apresentaram resposta positiva ao tratamento de osmocondicionamento. Outros trabalhos na literatura têm relatado que, sob condições de alta umidade e alta temperatura proporcionadas pelo envelhecimento acelerado, o condicionamento com PEG-6000 proporciona melhor desempenho das sementes em relação à testemunha, como observado por Oliveira *et al.* (2011) em sementes de sorgo e por Kikuti *et al.* (2005) com pimentão.

Alguns trabalhos relatam que sementes de lotes mais vigorosos respondem melhor ao osmocondicionamento (Parera e Cantliffe, 1994; Fessel *et al.*, 2002), alegando que essa técnica não é utilizada para possibilitar o aproveitamento de sementes deterioradas, ou seja, visa aprimorar o desempenho de sementes de alta qualidade. Contudo, Szafirowska, *et al.* (1981) observaram que as vantagens do condicionamento fisiológico podem ser mínimas em lotes de alto vigor. Diversas pesquisas têm comprovado a eficácia desta técnica para melhorar o desempenho de sementes de médio e/ou baixo vigor, como ilustram os resultados obtidos com cebola (Caseiro *et al.*, 2004), aspargos (Bittencourt *et al.*, 2005), couve-flor (Kikuti, 2006), sorgo (Oliveira e Gomes-Filho, 2010), pepino (Lima e Marcos Filho, 2010), rúcula (Alves *et al.*, 2012) e jiló (Gomes *et al.*, 2012) e o presente estudo.

**Tabela 6.** Comprimento da raiz primária (CR) e massa da matéria seca de plântulas (MS) obtidas de sementes de repolho submetidas a diferentes tempos de envelhecimento acelerado (E.A.), com e sem osmocondicionamento.

E.A. Horas	CR		MS	
	cm. plântula <sup>-1</sup>		g. plântula <sup>-1</sup>	
	Sem osmoc	Com osmoc	Sem osmoc	Com osmoc
0	4,07 Aab	4,07 Aa	0,104 Bab	0,141 Aab
24	4,46 Aa	4,56 Aa	0,141 Aa	0,162 Aab
33	3,85 Aab	3,81 Aa	0,121 Ba	0,160 Aa
42	3,04 Bb	4,88 Aa	0,064 Bb	0,117 Ab
<b>CV %)</b>	<b>12,08</b>		<b>14,12</b>	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ); Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste F ( $p < 0,05$ ).

No presente trabalho, em sementes de pior desempenho fisiológico verifica-se que com a utilização de condicionamento osmótico obtêm-se resultados satisfatórios em relação às sementes não condicionadas. Comparando-se os dois grupos de sementes de maior qualidade fisiológica (não envelhecidas e envelhecidas por 24 h), sem e com osmocondicionamento, nota-se que não houve diferenças significativas entre o desempenho destas sementes na maioria dos testes. Por outro lado, pode-se observar diferenças significativas na qualidade fisiológica das sementes submetidas ao maior tempo de envelhecimento, em relação às envelhecidas por 0 e 24 horas, nos testes de germinação, primeira contagem e deterioração controlada (Tabela 4), velocidade de emergência (Tabela 5), massa seca da plântula (Tabela 6), sendo que as sementes osmocondicionadas apresentaram os maiores valores.

Pela revisão de literatura e pelos resultados aqui obtidos, verifica-se que a resposta das sementes ao condicionamento osmótico depende do seu nível de vigor, ou seja, do estágio de deterioração. No entanto, há relatos de que danos severos que ocorrem na fase que precede a morte da semente são irreversíveis, não sendo possível, que processos de reparo celular eficientes ocorram (Lanteri *et al.*, 1996; Lanteri *et al.*, 2000). Heydecker e Coolbear (1977) não verificaram resposta

satisfatória utilizando o condicionamento osmótico em lotes de sementes de cebola envelhecidas e com germinação abaixo de 60%. Assim, dependendo da espécie, lotes de sementes com qualidade fisiológica distinta podem responder diferentemente ao condicionamento osmótico. A utilização de lotes com diferentes níveis de vigor é importante para os estudos da relação entre o potencial fisiológico e a resposta das sementes ao condicionamento. Considerando-se que o osmocondicionamento tem por objetivo uniformizar o comportamento de indivíduos componentes de uma população (Marcos Filho, 2005), lotes compostos por sementes em avançado estágio de deterioração podem não responder adequadamente ao condicionamento fisiológico. Da mesma forma, geralmente, não há como beneficiar lotes altamente vigorosos.

O melhor desempenho das sementes submetidas ao *priming* pode ser devido ao fato de que durante este tratamento, os potenciais osmóticos mais negativos determinam uma embebição mais lenta, o que permite maior período de tempo para que os tecidos do embrião e as membranas celulares se reorganizem, o que pode resultar em melhoria no desempenho das sementes. Desta maneira, a possibilidade da reestruturação do sistema de membranas durante o condicionamento fisiológico determina a manutenção da permeabilidade seletiva, de forma que as membranas organizadas não permitem a entrada rápida de água nem a liberação excessiva de exsudados quando a embebição é retomada (Marcos Filho, 2005).

Com a absorção de água pelas sementes são iniciados vários processos como a mobilização das reservas, ativação e síntese de numerosas enzimas, síntese de DNA e RNA produção de ATP, além de reparos de danos no sistema de membranas sofridos durante o armazenamento (Bradford, 1986; Khan, 1992).

### **Análise química**

Pode-se verificar que o aumento do tempo de envelhecimento artificial das sementes afetou negativamente o teor de amido (Tabela 7), uma vez que este processo, no qual as sementes são submetidas à elevada temperatura e umidade pode causar alterações nos compostos de reserva. Sementes de feijão submetidas ao envelhecimento acelerado apresentaram perda do conteúdo celular e decréscimo do diâmetro dos grânulos de amido (Cortelazzo *et al.*, 2005).

O osmocondicionamento das sementes não proporcionou alterações no conteúdo deste composto de reserva (Tabela 7). Resultados semelhantes foram obtidos por Oliveira *et al.* (2011), que não encontraram alteração no conteúdo de amido em sementes de sorgo submetidas ao osmocondicionamento. Somente nas sementes envelhecidas por 24h e osmocondicionadas foram

observadas diferenças, onde os teores de amido foram menores quando comparados aos obtidos nas sementes não condicionadas (Tabela 7). Este comportamento pode estar relacionado ao efeito do osmocondicionamento que proporciona entrada de água de forma lenta e controlada nas sementes. Durante esta hidratação, alterações fisiológicas e bioquímicas podem ocorrer, tais como as alterações que incluem o avanço do metabolismo de germinação, como o incremento da atividade da  $\alpha$  e  $\beta$ -amilase (Sung e Chang, 1993; Farooq *et al.*, 2010) que proporciona melhoria no desempenho das sementes (Tabela 4 e 5) e consumo de compostos de reserva. Segundo Farooq *et al.* (2010) o osmocondicionamento pode ativar as enzimas hidrolíticas, que hidrolisam o nitrogênio das reservas do endosperma em forma livre e utilizável de N e Ca, relacionando este comportamento com a atividade da  $\alpha$  amilasa e dos açúcares redutores. Por tanto a transformação de amido em açúcares melhora a germinação e o vigor das sementes tratadas.

O osmocondicionamento também aumenta a atividade antioxidante e melhora a reparação dos danos nas membranas (Bailly, 2004; Chen e Arora, 2011), explicando facilmente, o efeito deste tipo de tratamento em aumentar o número de plântulas normais em relação às sementes não condicionadas (Tabela 4). Zhang *et al.* (2012) afirmaram que o condicionamento das sementes pode reverter danos causados pelo envelhecimento, salinidade e outras formas de estresse em sementes de tomate, desde que estes danos de deterioração não cheguem a um nível crítico; também relataram a existência de redução do tempo de germinação dessas sementes quando osmocondicionadas, efeitos similares são reportados em trabalhos realizados em sementes de cominho (Rahimi, 2013), comportamento semelhante foi encontrado em sementes de repolho, neste estudo (Tabela 5).

Com relação ao conteúdo de açúcares solúveis totais (AST), houve diminuição significativa deste componente nas sementes osmocondicionadas em relação às não condicionadas (Tabela 7). Resultados semelhantes foram observados por Reis *et al.* (2012), em cotilédones de sementes de *Erythrina velutina* tratadas com PEG 6000 e por Magalhães *et al.* (2010) com sementes de *Schizolobium parahyba*. Houve redução do conteúdo de açúcares solúveis com o envelhecimento acelerado das sementes tanto condicionadas como não condicionadas. Também Lopes *et al.* (2013), reporta com sementes de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), que durante o período de embebição prévio à protrusão de sementes houve uma redução dos açúcares solúveis, sendo consumidos desde o endosperma para o embrião, aumentando significativamente a massa seca do embrião. Wattanakulpakin *et al.* (2012), também observaram decréscimo no conteúdo de açúcares em sementes de milho submetidas ao condicionamento osmótico.

**Tabela 7.** Teores de amido, açúcares solúveis totais (AST) e açúcares redutores (AR) em sementes de repolho, cv. 60 dias, envelhecidas artificialmente condicionadas por diferentes períodos de tempo, com e sem osmocondicionamento.

Tempo (h)	Amido		AST		AR	
	[Sacarose] (mg.g MS-1)		[Sacarose] (mg.g MS-1)		[Glicose] (mg.g MS-1)	
	Sem osmoc	Com osmoc	Sem osmoc	Com osmoc	Sem osmoc	Com osmoc
0	176,74 Aa	173,85 Aa	97,31 Aa	75,95 Ba	124,66 Ab	129,64 Aa
24	176,03 Aa	159,46 Bab	60,13 Ab	27,49 Bb	123,86 Ab	126,64 Aa
33	153,53 Ab	147,50 Ab	46,12 Abc	31,33 Bb	140,70 Aa	108,56 Bb
42	119,00 Ac	116,76 Ac	34,49 Ac	19,53 Bb	125,58 Aab	122,98 Aab
<b>CV (%)</b>	<b>5,59</b>		<b>13,00</b>		<b>5,23</b>	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ); Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste F ( $p < 0,05$ ).

A redução de açúcares observada no presente estudo pode ter relação com a ativação do metabolismo proporcionado pelo osmocondicionamento, pois tais compostos seriam utilizados como fonte de energia para a germinação antes do processo de mobilização de reservas se iniciar (Pritchard *et al.*, 2002; Reis *et al.*, 2012). Além disso, os açúcares são consumidos de forma contínua para a produção de ATP para o embrião, centro de consumo, que é onde há formação acelerada de novas células.

Verifica-se, pela Tabela 7, que há maior proporção de açúcares redutores (AR) nas sementes de todos os tratamentos em relação aos conteúdos de açúcares solúveis totais (AST). Este resultado é compreensível, uma vez que os AST representam a reserva de energia prontamente disponível para crescimento, e, após o envelhecimento artificial e o osmocondicionamento, há reativação metabólica e consumo destes açúcares. Estes açúcares compreendem a glicose e frutose (açúcares redutores) e a sacarose (açúcar não redutor). Assim, possivelmente a atividade de enzimas do metabolismo da sacarose pode ter aumentado pela reativação do metabolismo durante o condicionamento das sementes (Bhowmik *et al.*, 2001 e Wattanakulpakin *et al.*, 2012), o que pode explicar a maior quantidade de açúcares redutores observada (Tabela 7). Autores como Borges *et al.* (2002) e Buckridge e Dietrich (1996) verificaram o consumo de sacarose e rafinose durante a germinação das espécies *Platymiscium pubescens* e *Sesbania marginata*, respectivamente, como as duas primeiras reservas de açúcares solúveis a serem utilizadas. Lopes *et al.* (2013) relata que

apesar de haver uma contínua demanda de energia no embrião, houve acúmulo de açúcares em sementes de pinhão manso durante a germinação. Segundo este autor, este comportamento pode ser o resultado de um maior fornecimento de açúcares redutores pela degradação da sacarose e da conversão de lipídios de endosperma. No entanto, não foi observada diferença estatística para teor de AR entre as sementes condicionadas e não condicionadas, com exceção daquelas envelhecidas por 33 h (Tabela 7), onde sementes condicionadas apresentaram menor conteúdo de AR. Provavelmente, neste tempo de envelhecimento houve consumo destes açúcares acumulados devido a algum processo metabólico.

Com relação ao teor de proteínas (Tabela 8), resultados significativamente superiores foram encontrados nas sementes osmocondicionadas e envelhecidas por mais tempo (33 e 42 horas). Entretanto, houve variações no teor de proteínas com o envelhecimento das sementes, não havendo um padrão regular (Tabela 8). Para as sementes não condicionadas, o tempo de envelhecimento de 24 h foi o que apresentou maior conteúdo de proteínas em relação aos demais tempos. De acordo com Reis *et al.* (2012) uma maior concentração de proteínas em sementes osmocondicionadas pode ser parcialmente explicado pela possibilidade do osmocondicionamento diminuir a atividade de proteases, permitindo a lenta entrada de água em relação às sementes não condicionadas. O aumento na síntese de proteínas e DNA em embriões de sementes de *Schizolobium parahyba* (Vell.) osmocondicionadas também foi observado por Magalhães *et al.*, (2010).

Resultados encontrados por Oliveira *et al.* (2011), relatam que o condicionamento osmótico de sementes de sorgo induziu as células embrionárias a entrarem na fase de síntese de DNA e, por conseguinte, aumentaram a taxa de multiplicação celular requerendo maior acúmulo de proteínas. Segundo Varier *et al.* (2010) eventos relacionados com a germinação como transcrição e tradução genética, respiração e metabolismo energético, rápida mobilização de reservas, reparação do DNA entre outros poderiam ocorrer também, durante o osmocondicionamento. McDonald. (2000), afirma que o osmocondicionamento aumenta a síntese de proteínas e o metabolismo do RNA, sugerindo que este tratamento deixa disponível para as sementes, precursores utilizados na síntese de macromoléculas. Farooq *et al.* (2010) registraram redução na velocidade de emergência, melhoramento na germinação total e no índice de velocidade da germinação, em sementes de arroz devido ao osmocondicionamento, esses efeitos podem estar relacionados a eficiente mobilização e utilização das reservas das sementes (Lee e Kim, 2000; Basra *et al.*, 2005). Esse comportamento também pode ser observado com os dados obtidos no presente estudo. Esses efeitos podem estar também relacionados com a síntese mais cedo e mais rápido do DNA, RNA e proteínas para o crescimento do embrião (Bray *et al.*, 1989; Srivastava, 2002), e pela ativação das proteínas L-

isoaspartyl methyltransferase (PIMT), incrementando o vigor e a longevidade da semente (Dinkins *et al.*, 2008; Oge *et al.*, 2008).

Uma possível ação do osmocondicionamento para facilitar a expansão do embrião é através do enfraquecimento do endosperma. Isso pode ser atingido através do incremento da atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase (Anese *et al.*, 2011). Segundo Nakaune *et al.* (2012), o condicionamento osmótico, ativa os genes que codificam as proteínas envolvidas na degradação do endosperma, assim, como o aumento na endo- $\beta$ -mananase y a xyloglucano endotransglucosilase. O incremento na expressão/ou atividade dessas proteínas poderia reduzir a resistência física para a protrusão radical através de encolhimento do endosperma, condensação do citoplasma e a dissolução da parede celular (Sung *et al.*, 2008)

**Tabela 8.** Teores de lipídio e proteínas em sementes de repolho, cv. 60 dias, envelhecidas artificialmente por diferentes períodos de tempo, com e sem osmocondicionamento.

E.A. Horas	Lipídeos		Proteínas	
	(mg/g)		[Proteína] ( $\mu\text{g.g MS}^{-1}$ )	
	Sem osmoc	Com osmoc	Sem osmoc	Com osmoc
0	36,69 Bb	37,66 Aa	190,88 Abc	198,29 Ab
24	37,07 Bb	38,19 Aa	231,42 Aa	234,16 Aa
33	36,01 Bb	38,05 Aa	206,83 Bb	240,51 Aa
42	38,32 Aa	38,05 Aa	179,35 Bc	203,61 Ab
<b>CV (%)</b>	<b>1,26</b>		<b>4,19</b>	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ); Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste F ( $p < 0,05$ ).

Diversos autores relatam que grandes quantidades de proteínas são acumuladas pelas sementes durante a fase inicial da germinação, funcionando como fonte posterior de nitrogênio para a síntese de novas proteínas (Beckert *et al.*, 2000; Lima *et al.*, 2008). Magalhães *et al.* (2010) encontraram aumento no teor de proteína no eixo embrionário e cotilédones de *Schizolobium parahyba* até 48 horas de embebição, seguido de decréscimo contínuo até o 8º dia. Pontes *et al.*

(2002), registraram aumento significativo no teor de proteína nos cotilédones de *Cedrela fissilis* durante a embebição. Por outro lado, em sementes de *Qualea grandiflora* os teores de proteínas não se alteraram durante a germinação (Paulilo e Felipe, 1994).

Lopes *et al.* (2013) relatam que o aumento do teor de proteína nos momentos que antecedem a protrusão radicular é outra característica comum durante a embebição das sementes. Na primeira fase, há síntese de proteínas a partir do RNAm que foi armazenado no fim do processo de maturação. Depois da protrusão da radícula, há também síntese de proteínas no embrião a partir de aminoácidos oriundos do endosperma. Estes mesmos autores sugerem que a síntese de proteína está ligada ao aumento do teor de água das sementes durante a embebição. Assim, o aumento no peso de embriões nas fases I e II de embebição está associado ao ganho de umidade que pode ser explicado por meio da síntese de proteína (Tabela 6, Tabela 7 e Tabela 8) e outros compostos estruturais, sustentados pela movimentação de açúcar a partir do endosperma para o embrião (Tabela 7).

As sementes condicionadas apresentaram teor de lipídio significativamente superior às sementes não condicionadas (Tabela 8), com exceção do tempo de 42 h de envelhecimento, onde não houve diferença entre sementes que receberam ou não condicionamento. Desta forma, pode-se propor duas explicações para este comportamento, que este composto de reserva não foi utilizado como fonte de energia para reações metabólicas durante o condicionamento osmótico, ou, mais provavelmente, que o osmocondicionamento reduziu a peroxidação lipídica, explicando o menor teor de lipídios nas sementes envelhecidas e não osmocondicionadas. Farahani *et al.* (2011) relatam que o condicionamento osmótico melhora o desempenho das sementes, em parte, pela diminuição da peroxidação lipídica e aumento das atividades antioxidantes durante a embebição da semente. Ainda segundo os mesmo autores, o envelhecimento artificial das sementes resulta em aumento da peroxidação lipídica, que resulta em diminuição do conteúdo de lipídios nas sementes. Sivasubramaniam *et al.* (2011) relatam que Bailly *et al.* (1998), trabalhando com sementes de girassol osmocondicionadas em PEG, verificaram diminuição acentuada do nível de MDA e de dienos conjugados, indicando redução nos processos de peroxidação lipídica. Os benefícios do condicionamento osmótico estão relacionados com mudanças morfológicas, fisiológicas e bioquímicas que ocorrem em sementes durante a germinação, como a redução da resistência física do endosperma durante a embebição (Toorop *et al.*, 1998), promovendo a estabilidade e integridade da membrana celular (Guan *et al.*, 2009), reparação de dano cromossômico (Sivritepe e Dourado, 1995) e aumento da atividade das enzimas relacionadas ao vigor das sementes (Bailly *et al.*, 2000).

## CONCLUSÕES

- O condicionamento osmótico em solução de PEG 6000 a -1,0 MPa por seis dias aumentou a germinação e o vigor das sementes, sendo que o maior efeito positivo ocorreu para as sementes com menor vigor.
- Sementes submetidas a envelhecimento acelerado tiveram pior desempenho, no entanto, os efeitos positivos do osmocondicionamento fisiológico foram mais evidentes nas sementes com maior tempo de envelhecimento, portanto de menor vigor.
- Houve maior percentagem de germinação para as sementes envelhecidas e osmocondicionadas em relação as não osmocondicionadas. O condicionamento osmótico foi benéfico para a germinação das sementes cuja qualidade fisiológica foi reduzida pelo estresse provocado pelo envelhecimento acelerado.
- Sementes osmocondicionadas de menor qualidade fisiológica (submetidas a 33 e 42 horas de E.A.) mostram melhores resultados nos testes de primeira contagem de germinação, deterioração controlada, velocidade da germinação, emergência e deterioração controlada, mostrando efeitos positivos no vigor.
- Houve uma maior redução de açúcares solúveis totais nas sementes com maior tempo de envelhecimento acelerado osmocondicionadas quando relacionadas com as não osmocondicionadas, possivelmente devido à ativação do metabolismo da germinação das primeiras, o que possivelmente melhorou a germinação e vigor das sementes tratadas.
- Foram encontrados teores significativamente superiores de proteínas, nas sementes osmocondicionadas e envelhecidas por mais tempo (33 e 42 horas), o qual pode explicar o aumento no vigor das sementes.
- Em sementes com menor potencial fisiológico, o tempo de embebição para a protrusão da raiz foi maior. No entanto em sementes osmocondicionadas houve uma redução do tempo de germinação, apresentando maiores conteúdos de proteínas e menor teor de açúcares solúveis totais e redutores, maiores porcentagens de germinação e maior vigor, quando comparadas com sementes sem osmocondicionamento.

- A velocidade de embebição das sementes de repolho foi afetada pelos diferentes tempos de envelhecimento. Sementes envelhecidas por 42 horas, sem e com osmocondicionamento, a emissão da raiz primária ocorreu quando as sementes atingiram o teor de água de 52,2 e 49,10%, respectivamente. O tempo necessário para a protrusão da raiz primária foi de 60 e 48 horas de embebição para cada um.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFZAL, I.; ASLAM, N.; MAHOOD, F.; HUSSAIN, A.; IRFAN, S. Enhancement of germination and emergence of canola seeds by different priming techniques. **Caderno de Pesquisa Serie Biologia.**, v. 16, p. 19-33. 2004.
- ALVES, J.; BARBOSA, R. M.; COSTA, D. S.; SÁ, M. E. Condicionamento osmótico e desempenho fisiológico de sementes de rúcula. **Biotemas.**, v. 25, n. 1, 171-176. 2012.
- ANESE, S; DA SILVA, E.A.A.; DAVIDE, A.C.; ROCHA FARIA, J.M.; SOARES, G.C.M.; MATOS, A.C.B.; TOOROP, P.E. Seed priming improves endosperm weakening, germination, and subsequent seedling development of *Solanum lycocarpum* St. Hill. **Science and Technology.**, v. 39, n. 1, p. 125-139. 2011.
- AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of AOAC International**, 17th ed. (2 revision). Gaithersburg, MD, USA. 2003.
- BAILLY C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. **Seed Sci. Res.**, v.14, p.93-107. 2004.
- BAILLY, C.; BENAMAR, A.; CORBINEAU, F.; CÔME, D. Antioxidant systems in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds as affected by priming. **Seed Science Research.**, v. 10, p.35-42. 2000.
- BAILLY, C., A. BENAMAR, F. CORBINEAU, D. COME. Free radical scavenging as affected by accelerated aging and subsequent priming in sunflower seeds. **Physiol. Plant.**, 104: 646-652. 1998.
- BASU, R.N. An appraisal of research on wet and dry physiological seed treatments and their applicability with special reference to tropical and sub-tropical countries. **Seed Science and Technology.**, v.22, p.107-126. 1994.
- BECKERT, O. P.; MIGUEL, M. H.; MARCOS FILHO, J. Absorção de água e potencial fisiológico em sementes de soja de diferentes tamanhos. **Scientia Agrícola.**, Piracicaba, v. 57, n. 4, p. 671-675. 2000.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination. **Seeds** New York: Springer-Verlag, 1983.

- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. Seeds, Physiology of development and germination. **Seeds New York**: Plenum Press, p. 445, 1994.
- BHOWMIK, P.K.; MATSUI, T.; AHMED, Z. Changes in the activity of sucrose metabolizing enzymes during germination of wheat seeds. **Pak. J. Biol. Sci.**, v. 4, p. 1264-1266. 2001.
- BITTENCOURT, M.; DIAS, D.; DIAS, L.; ARAÚJO, E. Germination and vigour of primed Asparagus seeds. **Scientia Agricola.**, v. 62, n. 4, p. 319-324. 2005.
- BORGES, E.E.L.; PEREZ, S.C.J.G.A.; BORGES, R.C.G.; REZENDE, S.T.; GARCIA, S.R., Comportamento fisiológico de sementes osmocondicionadas de *Platymiscium pubescens* Micheli (Tamboril-da-Mata). **R. Árvore.**, v. 26, n. 5, p. 603-613. 2002.
- BOUBRIAK, I.; KARGIOLAKI, H.; LYNE, L.; OSBORNE, D. The requirement for DNA repair in desiccation tolerance of germinating embryos. **Seed Science Research**, v.7, n.2, p.97-105, 1997
- BRADFORD, K.; STEINER, J., TRAWATHA, S. Seed priming influence on germination and emergence of pepper seed lots. **Crop Science.**, v. 30, n.3, p. 718-721. 1990.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry.**, v.72, p.248-254. 1976.
- BRADFORD, K.J. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. **HortScience.**, Alexandria, v. 21, p. 1105-1112. 1986.
- BRASIL. **Ministerio de Agricultura, Pecuaria e Abastecimento. Regras para Analise de Sementes.** Brasília, p. 399. 2009.
- BRASIL. **Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE).** Contagem Populacional, 2006. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br>
- BRAY, C. M.; DAVISON, P. A.; ASHRAF, M.; TAYLOR, R. M. Biochemical changes during osmopriming of leek seeds. **Annals of Botany.**, v. 36, p. 185-193. 1989.
- BROCKLEHURST, P.A.; DEARMAN, J.; DREW, R.L.K.; Recent developments in osmotic treatment of vegetable seeds. **Acta Horticulturae.**, Wageningen, v. 215, p. 193–201. 1984.

- BUCKRIDGE, M. S.; DIETRICH, S. Mobilisation of the raffinose family oligosaccharides and galactomannan in germinating seeds of *Sesbania marginata* Benth. (Leguminosae-Faboideae). **Plant Science.**, v. 117, n. 1, p.33-43. 1996
- BURGASS, R.; POWELL, A. Evidence for repair processes in the invigoration of seeds by hydration. **Annals of Botany.**, v. 53, n. 5, p. 753-757. 1984.
- CASEIRO, R. **Métodos para condicionamento fisiológico de sementes de cebola e influência da secagem e armazenamento.** In: Tese (Doutorado em Fitotecnia), Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz – Universidade de São Paulo. Piracicaba, p. 109. 2003.
- CASEIRO, R. F.; BENNETT, M. A.; MARCOS FILHO J. Comparison of three priming techniques for onion seed lots differing in initial seed quality. **Seed Science and Technology.**, v. 32, p. 365-375. 2004.
- CASEIRO, R.; FILHO, M. Métodos para a secagem de sementes de cebola submetidas ao condicionamento fisiológico. **Horticultura Brasileira.**, V. 23, n.4, p. 887-892. 2005.
- CHEN, K.; ARORA, R.; ARORA, U. Osmopriming of spinach (*Spinacia oleracea* L. cv. Bloomsdale) seeds and germination performance under temperature and wáter stress. **Seed Science and Technology.**, n.38, p. 45-57. 2010.
- CHEN, K.; ARORA R. Dynamics of the antioxidant system during seed osmopriming, post-priming germination, and seedling establishment in Spinach (*Spinacia oleracea*). **Plant Sci.**, v. 180, n. 2, p. 212-220. 2011.
- CORNER, E. J. H. **The Seeds of Dictyledons.** Cambridge University Press. ed. London, New York,; Melbourne. 1976.
- CORTELAZZO, A.L.; COUTINHO, J.; GRANJEIRO, P.A. Storage and ageing of french beans (*Phaseolus vulgaris* L.): Effect on seed viability and vigor. **Braz J Plant Physiol.**, v. 22, p. 121-128. 2005.
- DELMONDEZ DE CASTRO, R; HILHORST, H. W. Embebição e reativação do metabolismo. Em: A. Gui Ferreira, e F. Borghetti (orgs.). **Germinação Do básico ao aplicado**, Porto Alegre, p. 149- 162, Artmed. 2004.
- DINKINS, R. D.; MAJEE, S. M.; NAYAK, N. R.; MARTIN, D; XU, Q.; BELCASTRO, M. P.; HOUTZ, R. L.; BEACH, C. M.; DOWNIE, A. B. Changing transcriptional initiation sites and

- alternative 5'-and 3'-splice site selection of the first intron deploys Arabidopsis PROTEIN ISOASPARTYL METHYLTRANSFERASE2 variants to different subcellular compartments, **the Plant Journal.**, v. 55, p. 1-13. 2008.
- DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric Method for determination of sugars and related compounds. **Analytical Chemistry.**, v.28, n.3, p.350-356. 1956.
- EDMON, J.B.; DRAPALA, W.J. The effects of temperature, sand and soil, and acetone on germination of okra seeds. **Proc. Am. Soc. Hort. Sci.**, v. 71, p. 428-434.1958.
- FANAN, S.; NOVENBRE, A. D. L.C. Condicionamento fisiológico de sementes de berinjela. **Bragantia.**, v. 66, n. 4, p.675-683. 2007.
- FARAHANI, H.Á.; MOAVENI, P.; MAROUFI, K. Effect of Hydropriming on Germination Percentage in Sunflower (*Helianthus Annus* L.) Cultivars. **Advances in Environmental Biology.**, v. 5, n. 8, p. 2253-2257. 2011.
- FAROOQ, M.; BASRA, SMA.; WAHID, A.; AHMAD, N. Changes in nutrient-homeostasis and reserves metabolism during rice seed priming: consequences for seedling emergence and growth. **Agric. Sci.**, China, v. 9, p.191-198. 2010.
- FERREIRA, A.G.; BORGUETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado.** Porto Alegre: Artmed, p. 323. 2004.
- FESSEL, S.; VIEIRA, R.; RODRIGUEZ, T. Germinação de sementes de alface submetidas a condicionamento osmótico durante o armazenamento. **Scientia Agricola.**, v. 59, n. 1, p. 73-77. 2002.
- FILGUEIRA, F.A.R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças.** Viçosa: UFV. p. 402. 2002.
- FUJIKURA, Y.; KRAAK, H.L.; BASRA, A.S.; KARSSSEN, C.M. Hydropriming, a simple and inexpensive priming method. **Seed Science and Technology.**, Zürich, v. 21, p.639-642. 1993.
- GOMES, D.P.; SILVA, A.F.; DIAS, D.C.F.S.; ALVARENGA, E.M.; SILVA, L.E.; PANOZZO, L.E. Priming and drying on the physiological quality of eggplant seeds. **Horticultura Brasileira.**, v. 30, p. 484-488. 2012.

- GUAN, Y.J.; HU, J.; WANG, X.J.; SHAO, C.X. Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. **J. Zhejiang Univ. Sci. B.**, 10: 427-433. 2009.
- GOLDSWORTHY, A.; FIELDING, J.L.; DOVER, M.B.J. 'Flash imbibition' - a method for the re- invigoration of aged wheat seeds. **Seed Science and Technology.**, v.10, p. 55-65. 1982.
- HAMPTON, J.; TeKRONY, D. Controlled deterioration test. In: **Handbook of vigour test methods.** Zürich: International Seed Testing Association, p. 70-78. 1995.
- HEYDECKER, W.; HIGGINS, J.; GULLIVER, R.L. Accelerated germination by osmotic seed treatment. **Nature.**, London, v.246, n.25, p.42-44. 1973.
- HEYDECKER, W.; HIGGINS, J.; TURNER, I.J. Invigoration of seeds? **Seed Science and Technology.**, Zürich, v.3, n. 1, p.881-888. 1975.
- HEYDECKER W.; COOLBEAR P. Seed treatments for improved performance survey and attempted prognosis. **Seed Science and Technology.**, v.5, p. 353-425. 1977.
- ITAMAR, G. W. Cultura do repolho Brassica oleraceae. **Almanaque do Campo.**, 2009.
- JOB, C.; KERSULEC, A.; RAVASIO, L.; CHAREYRE, S. The solubilization of the basic subunit of sugarbeet seed 11-S globulin during priming and early germination. **Seed Science Research.**, v.7, n. 3, p. 224-243. 1997.
- KHAN, A.A.; BRAUM, J.W.; TAO, K.L.; MILLIER, W.F.; BENSIN, R.F. New methods for maintaining seed vigor and improving performance. **Journal of Seed Technology.**, Lansing, v.1, n.2, p.33-57. 1976.
- KHAN, A.A.; TAO, K.L.; KNYPL, J.S.; BORKOWSKA, B.; POWELL, L.E. Osmotic conditioning of seeds: physiological and biochemical changes. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v.83, p.267-283. 1978.
- KHAN, A.A.; PECK, H.H.; SAMIMY, C. Seed osmoconditioning: Physiological and biochemical changes. **Israel J. Bot.**, 29:133-144. 1980. 1981.
- KHAN, A. A. Preplant physiological seed conditioning. **Horticulture Review.**, v.13, n.25, p.131-181, 1992.

- KIKUTI, A. Avaliação do potencial fisiológico, métodos de condicionamento e desempenho de sementes de couve-flor (*Brassica oleracea* L. var. botrytis) durante o armazenamento e em campo. Piracicaba: ESALQ/USP, p.155. 2006.
- KIKUTI, A. L. P.; KIKUTI, H.; MINAMI, K. Condicionamento fisiológico em sementes de pimentão. **Revista Ciência Agronômica.**, v. 36, n. 2, p. 243-248. 2005.
- KUANG, A.; XIAO, Y.; MCCLURE, G.; MUSGRAVE, M. E. Influence of microgravity on ultrastructure and storage reserves in seeds of *Brassica rapa* L. **Annals of Botany.**, v. 85, n. 6, p. 851-859. 2000.
- LANTERI, S.; PORTIS, E.; BERGERVOET, H.W.; GROOT, S. P. C. Molecular markers for the priming of pepper seeds (*Capsicum annuum* L.). **Journal of Horticultural Science and Biotechnology.**, v. 75, n. 5, p. 607-611. 2000.
- LANTERI, S.; NADA, E.; BELLETTI, P.; QUAGLIOTTI, L.; BINO, R. J. Effects of controlled deterioration and osmoconditioning on germination and nuclear replication in seeds of pepper (*Capsicum annuum* L.). **Annals of Botany.**, v. 77, n. 6, p. 591-597. 1996.
- LIMA, L. B.; MARCOS FILHO, J. Condicionamento fisiológico de sementes de pepino e germinação sob diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Sementes.**, v. 32, n. 1, p. 138-147. 2010.
- LIMA, R. B. S.; GONÇALVES, J. F. D. C.; PANDO, S. C.; FERNANDES, A. V.; SANTOS, A. L. W. D. Primary metabolite mobilization during germination in rosewood (*Aniba rosaeodora* Ducke) seeds. **Revista Árvore.**, Viçosa, v. 32, n. 1, p. 19-25. 2008.
- LOPES, H.M.; MARIA, J.; SILVA, R.F. & MALAVASI, M.M. Influência do potencial osmótico e da temperatura na embebição e no crescimento da radícula de sementes de cebola (*Allium cepa* L.). **Revista Brasileira de Sementes.**, Brasília, v.18, n.2, p.167-172. 1996.
- LOPES, L.S.; GALLÃO, M.I.; BERTINI, C.H.C.M. Mobilisation of reserves during germination of *Jatropha* seeds. **Revista Ciência Agronômica.**, v. 44, n. 2, p. 371-378. 2013.
- McDONALD, M. B. Seed priming. In: BLACK, M., BEWLEY, J.D. (Ed.), **Seed Technology and Its Biological Basis**. Sheffield: Sheffield Academic Press, p. 287-325. 2000.

- MAGALHÃES, S.R.; BORGES, E.E.L.; BERGER, A.P.A. Mobilização de reservas no eixo embrionário e nos cotilédones de sementes de *schizolobium parahyba* (vell.) s. f. blake durante a germinação. **Ciência Florestal.**, Santa Maria, v. 20, n. 4, p. 589-595. 2010.
- MAGUIRE, J. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science.**, v. 2, n.1, p. 176-177. 1962.
- MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, p.3.1-3.24. 1999.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, p. 495. 2005.
- MARCOS FILHO, J.; KIKUTI, A. L. P. Condicionamento fisiológico de sementes de couve-flor e desempenho das plantas em campo. **Horticultura Brasileira.**, v. 26, n. 2, p. 165-169. 2008.
- MAROUFI, K.; FARAHANI H.A.; MOAVENI, P. Effect of Hydropriming on Germination in Rapeseed (*Brassica Napus* L.). **Advances in Environmental Biology.**, v.5, n. 8, p. 2208-2211. 2011.
- MATTHEWS, S.; POWEL, A. Evaluation of controlled deterioration: a new vigor test for small seed vegetables. **Seed Science e Technology.**, v.9, n.2, p. 633-640. 1981.
- MATTHEWS, S.; POWEL, A. Controlled deterioration test. In: **Handbook of vigor Test Methods**. 2 ed. Zurich: ISTA: FIALA,F, p. 49-56. 1987.
- MAYER, A.M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. London: Pergamon Press, p. 270. 1989.
- McCREADY, R.; GUGGOLZ, J.; SILVEIRA, V.; OWENS, H. Determination of starch and amylose in vegetables. Application to peas. **Analytical Chemistry.**, v. 22, p. 1156-1158. 1950.
- MENDONÇA, E. F.; RAMOS, N. P.; FESSEL, S. A.; SADER, R. Teste de deterioração controlada em sementes de brócolis (*Brassica oleraceae* L.) var. *italica*. **Revista Brasileira de Sementes.**, v. 22, n. 1, p. 280-287. 2000.
- MICHEL, B. E.; KAUFMANN, M. R. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. **Plant Physiology.**, v. 51, n. 6, p. 914-916. 1973.

- NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. (Eds). **Vigor de sementes: conceitos e testes.** Londrina: ABRATES, p. 2-1-- 2-24. 1999.
- NAKAUNE, M.; HANADA, A.; YIN, Y.G.; MATSUKURA, C.; YAMAGUCHI, S.; EZURA, H. Molecular and physiological dissection of enhanced seed germination using short-term low - concentration salt seed priming in tomato. **Plant Physiology Biochemistry.**, v. 52, p. 28-37. 2012.
- NASCIMENTO, W.; ARAGÃO, F. Muskmelon seed priming in relation to seed vigor. **Scientia Agricola.**, v. 61, n. 1, p. 114-117. 2004.
- NASCIMENTO, W.; CANTLIFFE, D.; HUBER, D. Endo- $\beta$ -mannanase activity and seed germination of thermosensitive and thermotolerance lettuce genotypes in response to seed priming. **Seed Science Research.**, v. 11, n. 3, p. 255-264. 2001.
- NASCIMENTO, W. M; SILVA, J. B. C.; SANTOS, P. E. C.; CARMONA, R. Germinação de sementes de cenoura osmoticamente condicionadas e peletizadas com diversos ingredientes. **Horticultura Brasileira.**, v. 27, n. 1, p. 12-16. 2009.
- NELSON, N. A. Photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry.**, v. 153, p. 375-380. 1944.
- OGE, L.; BOURDAIS, G.; BOVE, J.; COLLET, B.; GODIN, B.; GRANIER, F.; BOUTIN, J.-P.; JOB, D.; JULLIEN, M.; GRAPPIN, P. Protein repair l-isoaspartyl methyltransferase1 is involved in both seed longevity and germination vigor in Arabidopsis, **Plant Cell.**, v. 20, p. 3022-3037. 2008.
- OLIVEIRA, A.B.; ALENCAR, L.M.N.; GALLÃO, M.I.; FILHO, E.G. Avaliação citoquímica durante a germinação de sementes de sorgo envelhecidas artificialmente e osmocondicionadas, sob salinidade. **Rev. Ciênc. Agron.**, v. 42, n. 1, p. 223-231. 2011.
- OLIVEIRA, A. B.; GOMES-FILHO, E. Efeito do condicionamento osmótico na germinação e vigor de sementes de sorgo com diferentes qualidades fisiológicas. **Revista Brasileira de Sementes.**, v. 32, n. 3, p. 25-34. 2010.

- OLIVEIRA, A. S.; SILVA-MANN, R.; SANTOS, M. F.; GOIS, I. B.; BARRETTO, M. C. V. Condicionamento osmótico em sementes de milho doce submetidas ao armazenamento. **Revista Ciência Agronômica.**, v. 38, n. 4, p. 444-448. 2007.
- PARERA, C.; CANTLIFFE, D. Presowing seed priming. **Horticultural Reviews.**, v. 16, p. 109-139. 1994.
- PAULILO, M. T. S.; FELIPPE, G. M. Contribuição dos cotilédones e participação de matérias durante o crescimento inicial de *Qualea grandiflora* Mart. (Vochysiaceae). **Revista Brasileira de Botânica.**, São Paulo, v. 17, n. 2, p. 87-91. 1994.
- PEREIRA, M. D.; DIAS, D. C. F. S.; DIAS, L. A. S.; ARAUJO, E. F. Primed carrot seeds performance under water and temperature stress. **Scientia Agricola.**, v. 66, n. 2, p. 174-179, 2009.
- PILL, W.G. Low water potential and presowing germination treatments to improve seed quality. In: BARSA, A.S. (ed.). **Seed quality basic mechanisms and agricultural implications**. New York: Food Products Press, p.319-359, 1995.
- PONTES, C.A.; BORGES, E.E.L.; BORGES, R.C.G.; SOARES, C.P.B. Mobilização de reservas em sementes de *Apuleia leiocarpa* (Vogel) J.F. Macbr. (garapa) durante a embebição. **Revista Árvore.**, v.26, n.5, p.593-601. 2002.
- POSSE, S. C. P.; SILVA, R. F.; VIEIRA, H. D.; CATUNDA, P. H. A. Efeitos do condicionamento osmótico e da hidratação na germinação de sementes de pimentão (*Capsicum annum* L.) submetidas a baixas temperaturas. **Revista Brasileira de Sementes.**, Londrina, v.23, n.1, p.123-127. 2001.
- POWELL, A. A. Seleção e envigoramento como técnicas para o aprimoramento do desempenho de sementes. **Scientia Agricola.**, v.55, p. 126-133. 1998.
- PRITCHARD, S.L.; CHARLTON, W.L.; BAKER, A.; GRAHAM, I.A. Germination and storage reserve mobilization are regulated independently in Arabidopsis. **The Plant Journal.**, v.31, n.5, p.639-647. 2002.
- RAO, S.; AKERS, S.; AHRING, R. Priming brassica seed to improve emergence under different temperatures and soil moisture conditions. **Crop Science.**, v. 27, n. 4, p. 1050-1053. 1987.

- RAHIMI, A. Seed priming improves the germination performance of cumin (*Cuminum cyminum* L.) under temperature and water stress. **Industrial Crops and Products.**, v.42, p. 454-460. 2013.
- REIS, R.C.R.; DANTAS, B.F.; PELACANI, C.R. Mobilization of reserves and germination of seeds of *Erythrina velutina* Willd. (Leguminosae - Papilionoideae) under different osmotic potentials. **Revista Brasileira de Sementes.**, v. 34, n. 4, p. 580-588. 2012.
- ROBBELEN, G.; THIES, W. Variation in rapeseed glucosinolates and breeding for improved meal quality. In H. K.-C. Tsunoda S, **Brassica crops and wild allies.**, Tokyo: Japan Scientific Societies Press, p. 285-299, 1980.
- RODRIGUES, D. L.; LOPES, H. M.; SILVA, E. R.; MENEZES, B. R. F. Embebição, condicionamento fisiológico e efeito do hipoclorito de sódio na germinação de sementes de alface. **Revista Trópica - Ciências Agrárias e Biológicas.**, v. 6, n. 1, p. 52. 2012.
- ROVERI JOSÉ, S. C. B. R.; VIEIRA, M. G. G. C.; GUIMARÃES, R. M. Efeito da temperatura e do período de condicionamento osmótico na germinação e no vigor de sementes de pimentão. **Revista Brasileira de Sementes.**, v. 22, n. 2, p.176-184. 2000.
- SILVA JÚNIOR, A. A. **Repolho**: fitologia, fitotecnia, tecnologia alimentar e mercadologia. Florianópolis: EMPASC, p. 295. 1989.
- SIVRITEPE, H.O.; DOURADO, A.M. The Effect of Priming Treatments on the Viability and Accumulation of Chromosomal Damage in Aged Pea Seeds. **Annals of Botany.**, v. 75, n. 2, p. 165-171. 1995.
- SIVASUBRAMANIAM, K.; GEETHA, R.; SUJATHA, K.; RAJA, K.; SRIPUNITHA, A.; SELVARANI, R. Seed Priming: Triumphs and Tribulations. **Madras Agricultural Journal.**, v. 98, n. 7-9, p. 197-209. 2011.
- SRIVASTAVA, L. M. **Plant Growth and Development: Hormones and Environment.** Academic Press, London. 2002.
- SUNG, Y.; CANTLIFFE, D.J.; NAGATA, R.T.; NASCIMENTO, W.M. Structural changes in lettuce seed during germination at high temperature altered by genotype, seed maturation temperature, and seed priming. **Journal of the American Society for Horticultural Science.**, v. 133, n. 2, p. 300-311. 2008.

- SUNG, F. J.; CHANG, Y. H. Biochemical activities associated with priming of sweet corn seeds to improve vigor. **Seed Science and Technology**, v. 21, p. 97-105. 1993
- SUN, Y.; SUN, Y.J.; WANG, M.T.; LI, X.Y.; GUO, X.; HU, R.; MA, J. Effects of seed priming on germination and seedling growth under water stress in rice. **Acta Agronomica Sinica**, v. 36, n.11, p. 1931-1940. 2010.
- SUÑE, A. D.; FRANKE, L. B.; SAMPAIO, T. G. Efeitos do condicionamento osmótico na qualidade fisiológica de sementes de *Adesmia latifolia* (Spreng.) Vog. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 24, n. 1, p. 18-23. 2002.
- SVEINSDÓTTIR, H.; YAN, F.; ZHU, Y.; PEITER-VOLK, T. Seed ageing-induced inhibition of germination and post-germination root growth is related to lower activity of plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase in maize roots. **Journal of Plant Physiology**, v. 166, n.1, p. 128-135. 2009.
- SZAFIROWSKA, A.; KHAN, A.; PECK, N. Osmoconditioning of carrot seeds to improve seedling establishment and yield in cold soil. **Agronomy Journal**, v.73, n.6, p. 845-848. 1981.
- TeKRONY, D.; EGLI, D. Relationship of seed vigor to crop yield: a review. **Crop Science**, v. 31, p. 816-822. 1991.
- THORNTON, J.M.; POWELL, A.A. Prolonged aerated hydration for improvement of seed quality in *Brassica oleracea* L. **Annals of Applied Biology**, Wellesbourne, v. 127, n. 1, p. 183-189. 1995.
- TOOROP, P.E.; VAN AELST, A.C.; HILHORST, H.W. Endosperm cap weakening and endo- $\beta$ -mannanase activity during priming of tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Money-maker) seeds are initiated upon crossing a threshold water potential. **Seed Science Research**, v. 8, p. 483-489. 1998.
- TRIGO, M.; NEDEL, J.; TRIGO, L. Condicionamento osmótico em sementes de cebola: I. Efeitos sobre a germinação. **Scientia Agricola**, v. 56, n. 4, p.1059-1067. 1999.
- VARIER, A., VARI, A. & DADLANI, M., 2010. The subcellular basis of seed priming. **Current Science**, v. 99, p.450-456. 2010.
- WATTANAKULPAKIN, P.; PHOTCHANACHAI, S.; RATANAKHANOKCHAI, K.; KYU, K.L.; RITTHICHAI, P.; MIYAGAWA, S. Hydropriming effects on carbohydrate metabolism,

antioxidant enzyme activity and seed vigor of maize (*Zea mays* L.). **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n.15, p. 3537-3547. 2012.

ZHANG, M.; WANG, Z.; YUAN, L.; YIN, C.; CHENG, J.; WANG, L.; HUANG, J.; ZHANG, H.;  
Osmopriming improves tomato seed vigor under aging and salinity stress. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 23, p. 6305-6311. 2012.