

ALICE DE SOUZA SILVEIRA

**OSMOCONDICIONAMENTO COM SELÊNIO EM SEMENTES DE TOMATE
SUBMETIDAS AO DÉFICIT HÍDRICO**

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

Orientador: Laércio Junio da Silva

Coorientadores: Daniel Teixeira Pinheiro
Rafael M. de Oliveira

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2021**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

S587o
2021
Silveira, Alice de Souza, 2021-
Osmocondicionamento com selênio em sementes de tomate
submetidas ao déficit hídrico / Alice de Souza Silveira. – Viçosa,
MG, 2021.
92 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Laércio Junio da Silva.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. *Solanum lycopersicum* L. 2. Stress (Fisiologia).
3. Introgessão. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Fitotecnia. Programa de Pós-Graduação em
Fitotecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 635.642


ALICE DE SOUZA SILVEIRA

**OSMOCONDICIONAMENTO COM SELÊNIO EM SEMENTES DE TOMATE
SUBMETIDAS AO DÉFICIT HÍDRICO**

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

APROVADA: 19 de março de 2021.

Assentimento:


Alice de Souza Silveira
Autora


Laércio Júnio da Silva
Orientador

Ao meu filho Guilherme Silveira de Oliveira e ao meu esposo Rafael Macedo de

Oliveira

DEDICO

Aos meus pais Ana Hilda de Souza Silveira e Sérgio Campos da Silveira

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus e Santa Rita de Cássia por estarem ao meu lado em todos momentos, me acalmando e abençoando meus passos.

Aos meus pais Ana Hilda de Souza Silveira e Sérgio Campos da Silveira pelas orações, pelo amor, carinho, apoio e incentivo para nunca desistir dos estudos.

Ao meu irmão Victor de Souza Silveira pelas conversas e amizade.

Ao meu filho Guilherme Silveira de Oliveira, que praticamente participou de todo o meu doutorado, da barriga até seus três aninhos, mesmo sem compreender muitas vezes a minha ausência, foi meu maior incentivador para não desanimar de mais essa etapa da minha vida.

Ao meu esposo Rafael Macedo de Oliveira pelo companheirismo, ajuda e incentivo.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia pela oportunidade, disponibilidade e contribuição para a minha formação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de Doutorado.

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

Ao meu orientador Laércio Junio da Silva pelos ensinamentos, contribuição, compreensão e profissionalismo.

Ao meu coorientador Rafael Macedo de Oliveira pela contribuição e ajuda imensurável na execução dos experimentos de campo e laboratório e nas análises estatísticas, a qual sem elas não seria possível que eu finalizasse o meu doutorado.

Ao meu coorientador Daniel Teixeira Pinheiro pela amizade, paciência e por tamanha ajuda na condução dos experimentos e na execução das análises, muita gratidão.

Aos membros da Banca de Defesa, professora Denise Cunha Fernandes dos Santo Dias, Dra. Ariadne Morbeck Santos Oliveira, Dra. Carla do Carmo Milagres e Dr. Daniel Teixeira Pinheiro pelos ensinamentos e contribuição para melhoria do trabalho.

Aos pós-graduandos Juno Diniz e Herika Pessoa pelo fornecimento das sementes de tomate.

Ao professor Eduardo Fontes Araújo pelo acolhimento em seu laboratório e disponibilidade.

Aos professores Fernando Luiz Finger, Eduardo Euclides de Lima e Borges e Raul Narciso Carvalho Guedes, por disponibilizar os laboratórios e/ou equipamentos para as análises bioquímicas e de imagens de raios X.

À técnica de laboratório Maria Carmen Bhering pela amizade, carinho e ajuda.

Aos técnicos de laboratório Wander Pereira, José Maurício, José Mauro e José Custódio, ao doutorando Nicolas e pós-doutorando Lírio, pelo apoio e disponibilidade.

Aos colegas de laboratório, Bruno Antônio, Geraldo, Tássia, Valéria, Fabrício, Miquéias, Ana Bernardo, Tiago Viana, Hugo Tiago, Sindy, Carla Michele, Elizeth Raisse, Dalton pelas conversas, conselhos e ajuda na condução dos experimentos iniciais.

Ao Sr. Vinicio, Ricardo Arizono, Flávia Angelo, Aline Martins, Ana Carolina por toda ajuda e contribuição na execução dos experimentos de campo e laboratório.

À Faculdade Univértix por disponibilizar sua estrutura para execução de parte dos experimentos.

À Eva e a Thaís por cuidarem do Guilherme quando eu precisei me ausentar.

Ao meus amigos e familiares pelo carinho e incentivo.

Muito obrigada!

BIOGRAFIA

Alice de Souza Silveira, filha de Ana Hilda de Souza Silveira e Sérgio Campos da Silveira, nasceu no dia 11 de abril de 1989 em Viçosa, Minas Gerais.

Em março de 2008 ingressou no curso de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa e tornou-se Engenheira Agrônoma em julho de 2013.

Em agosto de 2013, iniciou o curso de Mestrado em Fitotecnia pela Universidade Federal de Viçosa, sendo defendida em julho de 2015, intitulada “Atributos sensoriais dos cafés cultivados em diferentes altitudes e faces de exposição na região das Matas de Minas”.

Em agosto de 2017 iniciou o Doutorado em Fitotecnia pela Universidade Federal de Viçosa.

Em março de 2021 submeteu-se a defesa de sua Tese.

RESUMO

SILVEIRA, Alice de Souza, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março 2021. **Osmocondicionamento com selênio em sementes de tomate submetidas ao déficit hídrico.** Orientador: Laércio Junio da Silva. Coorientadores: Daniel Teixeira Pinheiro e Rafael Macedo de Oliveira.

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é considerado sensível ao déficit hídrico e ainda não há disponíveis cultivares comerciais com níveis satisfatórios de tolerância à seca. Dessa forma, o uso de genótipos e elementos químicos como o selênio (Se), que possam expressar maior tolerância à estresses abióticos vêm sendo estudados. Assim, os objetivos com o presente trabalho foram: (I) avaliar o desempenho de sementes de duas linhagens de tomate osmocondicionadas com solução de Se e submetidas ao déficit hídrico durante a germinação; (II) determinar o binômio concentração de Se e tempo de osmocondicionamento mais adequado para ser utilizado nas sementes de tomate e (III) avaliar a qualidade física, fisiológica e atividade enzimática de sementes de duas linhagens de tomate osmocondicionadas com Se e posteriormente submetidas ao déficit hídrico durante a germinação. No Experimento I, sementes de duas linhagens de tomate LA 3475 e LA 4050, com menor e maior tolerância ao déficit hídrico durante o processo de germinação, respectivamente, foram submetidas ao osmocondicionamento com Na_2SeO_4 , na concentração de 60 μM , em solução de PEG 6000 a -1,0 MPa durante 24, 48 e 72 horas. O controle consistiu em sementes não osmocondicionadas. Posteriormente, as sementes foram submetidas à germinação sob déficit hídrico à -0,3 Mpa. No tratamento sem déficit hídrico foi utilizado água destilada (0,0 MPa). No Experimento II, sementes das duas linhagens foram submetidas ao osmocondicionamento com Na_2SeO_4 , nas concentrações de 0,0; 12,5; 25,0; 37,5 e 50,0 μM em solução de PEG 6000 a -1,0 MPa durante 24 e 48 h. Em seguida, foi avaliado o potencial de germinação das sementes. No Experimento III, as sementes foram submetidas ao osmocondicionamento com solução Na_2SeO_4 , na concentração de 12,5 μM , em solução PEG 6000 a -1,0 MPa durante 24 h. O controle consistiu em sementes não osmocondicionadas (0 h). Logo após, as sementes provenientes dos diferentes tratamentos foram submetidas ao déficit hídrico (PEG -0,3 MPa) durante a germinação, conforme metodologia adotada no Experimento I. Nos

dois primeiros experimentos, foram avaliadas a germinação (protrusão radicular) e porcentagem de plântulas normais, na primeira e última contagem do teste de germinação e o índice de velocidade de germinação. No experimento III, além da qualidade fisiológica, foram realizadas análise da qualidade física das sementes e da atividade enzimática em plântulas. Foi também realizada análise multivariada de componentes principais (PCA) para todas as características avaliadas e correlação de Pearson (r), calculada com os dados obtidos em todas as avaliações para as duas linhagens. Nos três experimentos, o déficit hídrico reduziu a germinação, a velocidade e a uniformidade de germinação das sementes. No Experimento I, a concentração de 60 μM de Se utilizada no osmocondicionamento não foi benéfica para as sementes de ambas as linhagens. No Experimento II, o osmocondicionamento das sementes com 12,5 μM de Se por 24 h proporcionou maior porcentagem de germinação para ambas as linhagens. No Experimento III, em condição de déficit hídrico, o osmocondicionamento das sementes com Se não proporcionou benefícios para a germinação das sementes em relação àquelas osmocondicionadas sem Se. Em síntese, sementes osmocondicionadas com PEG a -1,0 MPa apresentaram melhoria na qualidade fisiológica e em atributos físicos. Em condições de déficit hídrico, o osmocondicionamento com Se na concentração de 12 μM por 24 h não melhora o desempenho fisiológico e atividade enzimática de sementes das linhagens de tomate LA3475 e LA 4050.

Palavras-chave: *Solanum lycopersicum* L.. Estresse Abiótico. Linhagens de Introgressão. Condicionamento Osmótico. Qualidade de Sementes.

ABSTRACT

SILVEIRA, Alice de Souza, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2021. **Osmopriming with selenium in tomato seeds under water deficit.** Adviser: Laércio Junio da Silva. Co-advisers: Daniel Teixeira Pinheiro and Rafael Macedo de Oliveira.

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is considered sensitive to water deficit and there are not yet available commercial cultivars with satisfactory levels of drought tolerance. Thus, the use of genotypes and chemical elements such as selenium (Se) has been studied to improve tolerance to abiotic stresses. Therefore, the present study aimed: (I) to evaluate the performance of tomato seeds from two lineages osmoprimed with Se solution and submitted to water deficit during the germination; (II) to determine the most appropriate combination of Se concentration and osmopriming time for tomato seeds; and (III) evaluate the physical and physiological quality and the enzymatic activity of tomato seeds from two lineages osmoprimed with Se and submitted to water deficit during the germination. In experiment I, tomato seeds from two lineages (LA 3475 and LA 4050), which had lower and higher tolerance to water deficit during the germination, respectively, were osmoprimed using Na_2SeO_4 at a concentration of 60 μM in a PEG 6000 solution at -1.0 MPa for 24, 48, and 72 hours. Non-primed seeds were taken as the control. After that, seeds were placed to germinate under water deficit at -0.3 MPa. The treatment with no water deficit stress used distilled water (0,0 MPa). In experiment II, seeds of both lineages were osmoprimed using Na_2SeO_4 at a concentration of 0.0, 12.5, 25.0, 37.5, and 50 μM in a PEG 6000 solution at -1.0 MPa for 24 and 48 hours. Then, the germination potential of seeds was evaluated. In experiment III, seeds were osmoprimed using Na_2SeO_4 solution at a concentration of 12.5 μM in a PEG 6000 solution at -1.0 MPa for 24 h. Non-primed (0 h) seeds were taken as the control. Then, seeds from different treatments were submitted to water deficit (PEG -0.3 MPa) during the germination, according to the methodology of experiment I. In both experiments I and II, germination (radicle protrusion) and percentage of normal seedlings in the first and last count of germination test, and germination speed index were evaluated. In experiment III, besides the physiological quality, the analysis of the physical quality of seeds and the enzymatic activity of seedlings was evaluated. In addition, the Principal

Components Analysis (PCA) was performed using all parameters evaluated and Person correlation (r) was calculated using data from all evaluations of both lineages. In experiment I, the concentration of 60 μM Se used in the osmopriming was not beneficial for both seeds lineages. In experiment II, osmoprimed seeds with 12.5 μM Se for 24 h provided a higher germination percentage for both lineages. In experiment III, under water deficit conditions, osmopriming with Se did not provide benefits for seed germination compared to osmopriming without Se. In summary, seeds osmoprimed with PEG 6000 at -1.0 MPa ameliorated physiological quality and physical attributes. Under water deficit conditions, osmopriming with Se at a concentration of 12 μM did not improve the physiological performance and enzymatic activity of tomato seeds from lineages LA3475 and LA 4050.

Keywords: *Solanum lycopersicum* L.. Abiotic Stress. Introgression Lineages. Osmopriming. Seed Quality.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16
CAPÍTULO 1	22
Efeito do osmocondicionamento com selênio na germinação e vigor de sementes de tomate contrastantes quanto à tolerância ao déficit hídrico	22
RESUMO	22
Effect of osmopriming with selenium on germination and vigor of contrasting tomato seeds regarding water deficit tolerance	24
ABSTRACT	24
INTRODUÇÃO	26
MATERIAL E MÉTODOS	27
Experimento I	27
Primeira contagem de germinação (PCG) e protrusão radicular (PR)	28
Germinação (G) e protrusão radicular (PR)	29
Índice de velocidade de germinação (IVG)	29
Análise estatística	29
Experimento II	29
Análises estatísticas	30
RESULTADOS	30
Experimento I	30
Experimento II	37
DISCUSSÃO	41
CONCLUSÕES	46
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
CAPÍTULO 2	52
RESUMO	52
Physical, physiological quality and enzymatic activity of osmoprimed seeds with and without selenium under water deficit	54
ABSTRACT	54
INTRODUÇÃO	56
MATERIAL E MÉTODOS	60
Osmocondicionamento das sementes	60
Análises físicas (Teste de Raios X)	60
Análises fisiológicas	61
Atividade enzimática e teor de proteínas	62
Análise estatística	63
RESULTADOS	64

Análises físicas (raios X).....	64
Análises fisiológicas.....	68
Atividade enzimática e teor de proteínas	72
Análise de Componentes Principais (PCA).....	74
DISCUSSÃO	75
CONCLUSÕES	83

INTRODUÇÃO GERAL

A água é um dos fatores mais importantes para a germinação de sementes. É por meio da sua absorção que a semente inicia o processo de germinação, primeiramente por meio da reidratação dos tecidos, que culmina no aumento da atividade metabólica da semente, como a respiração, levando ao fornecimento de energia e nutrientes, responsáveis pelo crescimento do eixo embrionário e consequente protrusão da raiz primária (Bewley *et al.*, 2013; Ataíde, Borges e Leite Filho, 2016).

Potenciais hídricos muito baixos no início da embebição podem acarretar em problemas durante todo o processo germinativo (Bansal, Bhati e Sen, 1980). Dentre os efeitos da baixa disponibilidade hídrica, estão a redução na velocidade de hidratação dos tecidos e de difusão do oxigênio, retardamento do início da atividade enzimática, redução do crescimento meristemático, problemas no alongamento celular, na síntese de parede e na emissão da radícula (Hadas, 1976; Giroto *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2016). Todos esses fatores contribuem para a redução na porcentagem de sementes germinadas e no estande final desuniforme com maior número de plântulas anormais e danificadas (Demir *et al.*, 2006).

O estresse por seca também pode provocar mudanças estruturais na membrana celular devido à desnaturação de proteínas. A redução do volume celular poderá acarretar na junção de componentes citoplasmáticos, aumentando a viscosidade do citoplasma, podendo resultar em interações indesejáveis capazes de causar a degradação de proteínas e fusão de membrana (Hoekstra, Golovina e Buitink, 2001).

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é uma cultura altamente exigente em água durante todo o ciclo (Alvarenga e Coelho, 2013) e, quando em condições de déficit hídrico, acarreta prejuízos no crescimento, desenvolvimento e produtividade (Bray, 2004). Por isso, a obtenção de cultivares tolerantes a essa condição torna-se alternativa de baixo custo no manejo da cultura e eficiente para locais onde se tem problemas de distribuição de água, uma vez que a sua falta afeta negativamente a produção agrícola e a segurança alimentar (Giroto *et al.*, 2012; Berenguer, 2015; Esan *et al.*, 2018).

Até o momento não há disponível genótipos comerciais de tomateiro com boas características agrônômicas aliadas a níveis satisfatórios de tolerância à seca (Maciel *et al.*, 2017). Uma das alternativas para o aumento da tolerância ao déficit hídrico em novas cultivares é o cruzamento de linhagens ou espécies selvagens com cultivares comerciais (Morales, 2012). Dentre as espécies selvagens que se desenvolvem em ambientes áridos, destaca-se *Solanum pennellii* que, em relação a *S. lycopersicum*, possui maior eficiência do uso da água (Easlon e Richards, 2009). *S. pennellii* possui frequência estomática 29% menor, suas folhas são 54% mais espessas, com espaços aéreos equivalentes a 31% do volume relativo ao total do volume de tecido foliar comparado com *S. lycopersicum*. Além disso, possui 13% menos clorofila e 11% menos atividade da ribulose-1,5-bifosfato carboxilase oxigenase (Rubisco) por unidade de área foliar quando comparado com o tomate comercial (Kebede *et al.*, 1994).

A espécie selvagem tem uma sequência genômica completa e possui coleção de linhagens de introgressão segmentar (ILs), composta por 76 ILs sendo que cada uma carrega apenas um segmento introgressivo homozigoto, bem caracterizado (Eshed e Zamir, 1995; Liu e Zamir, 1999; Chitwood *et al.*, 2013). Estes segmentos cobrem todo o genoma do doador *S. pennellii* (LA 716) no fundo genético de *Solanum lycopersicum* (cultivar M82), sensível ao déficit hídrico (Eshed e Zamir, 1995). Cruzamentos de ILs de *S. pennellii* com *S. lycopersicum* vêm sendo utilizados para definição de lócus de características quantitativas (QTLs), tais como rendimento, composição química, produção de biomassa, adaptação morfológica, tolerância a estresse abiótico e elevado vigor híbrido (Arumuganathan e Earle, 1991; Lippman, Semel e Zamir, 2007; Kamenetzky *et al.*, 2010).

A fim de simular o estresse hídrico *in vitro*, o uso de soluções osmóticas em sementes e plântulas tem sido utilizado com eficiência em pesquisas com o intuito de selecionar genótipos e cultivares tolerantes à seca (Hamidi e Safarnejad, 2010; Kumar e Padmanabh, 2015; Borba *et al.*, 2017; Machado *et al.*, 2017; Maciel *et al.*, 2017). Dentre as substâncias utilizadas, destaca-se o polietilenoglicol (PEG), que possui características favoráveis, como não ser tóxico, não penetrar nas células e não ser degradado por possuir alto peso molecular, permitindo embebição lenta e controlada nas sementes (Hasegawa

et al., 1985; Villela, Doni Filho e Sequeira, 1991). Pessoa (2018) indentificou linhagens de introgressão (ILs) derivadas de *S. pennellii* mais tolerantes ao déficit hídrico (simulado com solução de PEG) durante a germinação. Dentre as selecionadas, a IL 1-4-18 (LA 4050) foi classificada como candidata para novos estudos para poder validá-la como tolerante a essa característica.

Além de linhagens de introgressão que possam expressar tolerância à estresses abióticos, a utilização de elementos químicos também está sendo empregada destacando-se o Selênio (Se). Apesar de não ser considerado um elemento essencial para as plantas (Diao *et al.*, 2014), o Se atua promovendo o crescimento vegetal, por exemplo, aumentando o teor de clorofila nas folhas (Dong *et al.*, 2012), além de induzir resistência às condições estressantes, sejam abióticas, como déficit hídrico (Hasanuzzaman e Fujita, 2011; Nawaz *et al.*, 2013), estresse térmico (Balal *et al.*, 2016), estresse salino (AbulSoud e Abd Elrahman, 2016), contaminação por metais pesados (Li *et al.*, 2016), dentre outros; ou bióticas, como ataque de pragas e doenças (Pilon-Smits *et al.*, 2009; El Mehdawi e Pilon-Smits, 2012).

A disponibilidade de Se na natureza para os vegetais é via solo, sendo encontrado naturalmente nas formas orgânicas, selenometionina (SeMet) e selenocisteína (SeCis), elementar (Se⁰) e inorgânicas, selenato (SeO₄⁻²), selenito (SeO₃⁻²) e seleneto (Se⁻²) (Ježek *et al.*, 2012; Fordyce, 2013; Kaur *et al.*, 2014). As plantas acumulam mais as formas selenato (SeO₄⁻²) e selenito (SeO₃⁻²) (White *et al.*, 2007). O Se pode ser fornecido às plantas por diferentes formas. Dentre elas, tem-se a biofortificação por meio de fertilizantes químicos artificiais (Cartes, Gianfreda e Mora, 2005), pulverização foliar (Boldrin *et al.*, 2013; Nawaz *et al.*, 2016) e osmocondicionamento ou *priming* (Khaliq *et al.*, 2015; Moullick *et al.*, 2016), que consiste na hidratação controlada de sementes sob baixo potencial hídrico ativando as fases iniciais da germinação sem, contudo, permitir a emissão da radícula. O osmocondicionamento favorece o estabelecimento mais rápido e uniforme de plântulas no campo (Di Girolamo e Barbanti, 2012; Bewley *et al.*, 2013; Paparella *et al.*, 2015).

O osmocondicionamento em sementes é uma técnica simples, fácil e de baixo custo, sendo alternativa para o fornecimento de Se às culturas agrônômicas (Ahmad *et al.*, 2015). Na literatura, são escassos os trabalhos com a aplicação de Se via osmocondicionamento em sementes de tomate e de

outras hortaliças (Oliveira, 2016; Prado *et al.*, 2017; Puccinelli *et al.*, 2017). Em sementes de arroz (Khaliq *et al.*, 2015; Moulick *et al.*, 2016) e trigo (Nawaz *et al.*, 2013), por exemplo, mais trabalhos são encontrados.

O papel protetor do Se contra estresses em plantas e sementes parece estar associado à sua capacidade de diminuir a peroxidação de lipídeos (Pilon-Smits *et al.*, 2009), por meio do sistema antioxidante (Djanaguiraman, Prasad e Seppanen, 2010). O Se é o centro catalítico de selenoproteínas, como a glutathiona peroxidase (GPX) e tioredoxinas redutases (TR), além da catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) (Rayman, 2000; Pilon-Smits *et al.*, 2009; Nawaz *et al.*, 2016) reduzindo, em especial, os íons $O_2^{\cdot-}$ e/ou H_2O_2 (Feng, Wei e Tu, 2013). Porém, concentrações elevadas de Se em plantas agem antagonicamente, provocando estresse oxidativo nas mesmas (Mroczek-Zdyrska e Wójcik, 2012; Schiavon *et al.*, 2012).

Desta forma, o objetivo com o presente trabalho foi ajustar metodologia de osmocondicionamento de sementes de tomate utilizando-se solução de Se; e investigar os efeitos deste tratamento em características físicas, fisiológicas e bioquímicas das sementes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABULSOUD, M.; ABD ELRAHMAN, S. H. Foliar selenium application to improve the tolerance of eggplant grown under salt stress conditions. **International Journal of Plant & Soil Science**, v. 9, n. 1, p.1-10, jan, 2016.

AHAMAD, R.; WARAICH, E. A.; NAWAZ F.; ASHRAF, M. Y.; KHALID, M. Selenium (Se) improves drought tolerance in crop plants – a myth or fact? **Journal of the science of food and agriculture**, v. 96, n. 2, p. 372-380, 2015.

ALVARENGA, M. A. R.; COELHO, F. S. Sistema de produção. *In*: ALVARENGA, M. A. R. **Tomate: produção em campo, casa de vegetação e hidroponia**. 2 ed. rev. e ampl., Lavras: Editora UFLA, 2013. p. 202-243.

ARUMUGANATHAN, K.; EARLE, E. D. Nuclear DNA content of some important plant species. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 9, n. 3, ago, p. 208-218, 1991.

ATAÍDE, G. M.; BORGES, E. E. L.; LEITE FILHO, A. T. Alterações fisiológicas e biométricas em sementes de *Melanoxylon brauna* schott durante a germinação em diferentes temperaturas. **Revista Árvore**, v. 40, n. 1, p. 61–70, 2016.

BALAL, R. M.; SHAHID, M. A.; JAVAID, M. M.; IQBAL, Z.; ANJUM, M. A.; GARCIA-SÁNCHEZ, F.; MATTSON, N. S. The role of selenium in amelioration of heat-induced oxidative damage in cucumber under high temperature stress. **Acta Physiol. Plantarum**, v. 38, n. 158, p. 1-14, maio, 2016.

BANSAL, R. P.; BHATI, P. R.; SEN, D. N. Differential specificity in water imbibition of Indian Arid Zone seeds. **Biologia Plantarum (PRAHA)**, v. 22, p. 327-331, set, 1980.

BERENGUER, A. F. **Seleção indireta em genótipos de tomateiro para tolerância ao estresse hídrico**. 2015. Dissertação. (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal de Uberlândia. UFU. Uberlândia-MG. 2015.

BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M.; NONGAKI, H. Seed's physiology of development, germination and dormancy. *In*: Bewley, J. D.; Bradford, K.; Hilhorst, H.; Nonogaki, H. **Seed's physiology of development, Germination and dormancy**. 3 ed. New York: Springer; 2013. 392p.

BOLDRIN, P. F.; FAQUIN, V.; RAMOS, S. J.; BOLDRIN, K. V. F.; ÁVILA, F. W.; GUILHERME, L. R. G. Soil and foliar application of selenium in rice biofortification. **Journal Food Compost Anal**, v. 31, n. 2, p. 238-244, set., 2013.

BORBA, M. E. A.; MACIEL, G. M.; MARQUEZ, G. R.; FRAGA JÚNIOR, E. F.; NOGUEIRA, G. G. S. Genetic diversity and selection in tomato genotypes under water stress induced by mannitol. **Bioscience Journal**, v. 33, n. 3, p. 592-600, maio-jun, 2017.

BRAY, E. A. Genes commonly regulated by water-deficit stress in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, n. 407, p. 2331-2341, nov., 2004.

CARTES, P.; GIANFREDA, L.; MORA, M. L. Uptake of Selenium and its antioxidant activity in ryegrass when applied as selenate and selenite forms. **Plant Soil**, v. 276, p. 359-367, out., 2005.

CHITWOOD, D. H.; KUMAR, R.; HEADLAND, L. R.; RANJAN, A.; COVINGTON, M. F.; ICHIHASHI, Y.; FULOP, D.; JIMÉNEZ-GÓMEZ, J. M.; PENG, J.; MALOOF, J. N.; SINHA, N. R. A quantitative genetic basis for leaf morphology in a set of precisely defined tomato introgression lines. **Plant Cell**, v. 25, n. 7, p. 2465-2481, jul, 2013.

DEMIR, A. O.; GÖKSOY, A. T.; BÜYÜKCANGAZ, H.; TURAN, Z. M.; KÖKSAL, E. S. Deficit irrigation of sunflower (*Helianthus annuus* L.) in a sub-humid climate. **Irrigation Science**, v. 24, p. 279-289, jan., 2006.

DIAO, M.; MA, L.; WANG, J.; CUI, J.; FU, A.; LIU, H. Y. Selenium promotes the growth and photosynthesis of tomato seedlings under salt stress by enhancing chloroplast antioxidant defense system. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 33, n. 3, p. 671-682, set., 2014.

DI GIROLAMO G.; BARBANTI, L. Treatment conditions and biochemical processes influencing seed priming effectiveness. **Italian Journal of Agronomy**, v. 7, n. 25, p. 178-188, maio, 2012.

DJANAGUIRAMAN, M.; PRASAD, P. V. V.; SEPPANEN, M. Selenium protects sorghum leaves from oxidative damage under high temperature stress by enhancing antioxidant defense system. **Plant Physiol. Biochem**, v. 48, n.12, p. 999-1007, dez, 2010.

DONG, J. Z.; WANG, Y.; WANG, S. H.; YIN, L. P.; XU, G. J.; ZHENG, C.; LEI, C.; ZHANG, M. Z. Selenium increases chlorogenic acid, chlorophyll and carotenoids of *Lycium chinense* leaves. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 2, p. 310-315, maio, 2012.

EASLON H. M.; RICHARDS J. H. Drought response in self-compatible species of tomato (Solanaceae). **American Journal of Botany**, v. 96, n. 3, p. 605-611, mar., 2009.

EL MEHDAWI, A. F.; PILON-SMITS, E. A. H. Ecological aspects of plant selenium hyperaccumulation. **Plant Biology (Stuttg.)**, v. 14, n. 1, p. 1–10, jan., 2012.

ESHED, Y.; ZAMIR, D. An introgression line population of *Lycopersicon pennellii* in the cultivated tomato enables the identification and fine mapping of yield-associated QTL. **Genetics**, v. 141, n. 3, p. 1147-1162, nov., 1995.

ESAN, V. I.; AYANBAMIJI, T. A.; ADEYEMO, J. O.; OLUWAFEMI, S. Effect of drought on seed germination and early seedling of tomato genotypes using polyethylene glycol 6000. **International Journal of Sciences**, v. 7, n. 2, p. 36-43, fev., 2018.

FENG, R.; WEI, C.; TU, S. The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. **Environmental and Experimental Botany**, Elmosford, v. 87, p. 58–68, 2013.

FORDYCE F. M. Selenium deficiency and toxicity in the environment. *In*: SELENIUS, O.; ALLOWAY, B.; CENTENO, J. A.; FINKELMAN, R. B.; FUGE, R.; LINDH, U.; SMEDLEY, P. (Eds) **Essentials of medical geology**. revised edn. Dordrecht: Springer, 2013. p. 375–416.

GIROTTI, L.; ALVES, J. D.; DEUNER, S.; ALBUQUERQUE, A. C. S.; TOMAZONI, A. P. Tolerância à seca de genótipos de trigo utilizando agentes indutores de estresse no processo de seleção. **Revista Ceres**, v. 59, n. 2, p. 192–199, mar./abr., 2012.

HADAS, A. Water uptake and germination of leguminous seeds under changing external water potential in osmotic solutions. **Journal of Experimental Botany**, v. 27, n. 98, p. 480-489, jun., 1976.

HAMIDI, H.; SAFARNEJAD, A. Effect of drought stress on alfalfa cultivars (*Medicago sativa* L.) in germination stage. **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**, v. 8, n. 6, p. 705-709, 2010.

HASANUZZAMAN, M.; FUJITA, M. Selenium pretreatment upregulates the antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system and confers enhanced tolerance to drought stress in rapeseed seedlings. **Biological Trace Element Research**, v. 143, n. 3, p. 1758-1776, dez., 2011.

HASEGAWA, P. M.; BRESSAN, R. A.; HANDA, S.; IYANAGA, A. K. Cellular mechanisms of tolerance to water stress [in tomatoes]. **HortScience**, Alexandria, v. 19, n. 3, p. 371-377, 1985.

HOEKSTRA, F. A.; GOLOVINA, E. A.; BUITINK, J. Mechanisms of plant desiccation tolerance. **Trends Plant Science**, v. 6, n. 9, p. 431-438, set., 2001.

JEŽEK, P.; ŠKARPA, P.; LOŠÁK, J.; HLUŠEK, J.; JÚZL, M.; ELZNER, P. Selenium - an important antioxidant in crops biofortification. *In: _____*. (Ed.). **Antioxidant Enzyme**. In Tech: Croatia, 2012, p. 343-368

KAMENETZKY, L.; ASÍS, R.; BASSI, S.; DE GODOY, F.; BERMÚDEZ, L.; FERNIE, A. R.; VAN SLUYS, M. A.; VREBALOV, J.; GIOVANNONI, J. J.; ROSSI, M.; CARRARI, F. Genomic analysis of wild tomato introgressions determining metabolism - and yield - associated traits. **Plant Physiology**, v. 152, p. 1772-1786, abr., 2010.

KAUR, N.; SHARMA, S.; KAUR, S.; NAYYAR, H. Selenium in agriculture: a nutrient or contaminant for crops? **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 60, n. 12, p. 1593-1624, maio, 2014.

KHALIQ, A.; ASLAM, F.; MATLOOB, A.; HUSSAIN, S.; GENG, M.; WAHID, A.; REHMAN, H. Seed priming with Selenium: consequences for emergence, seedling growth and biochemical attributes of rice. **Biological Trace Element Research**, v. 166, n. 2, p. 236- 244, fev., 2015.

KEBEDE, H.; MARTIN, B.; NIENHUIS, J.; KING, G. Leaf anatomy of two lycopersicon species with contrasting gas exchange properties. **Crop Science**, v. 34, n. 1, p. 108-113, jan., 1994.

KUMAR, J. K.; PADMANABH, D. Physiological analysis of tomato genotype under PEG induced drought stress. **Trends in Biosciences**, v. 8, n. 11, p. 2768-2771, jun., 2015.

LI, M. Q.; HASSAN, M. K.; LI, C. X.; AHAMMED, G. J.; XIA, X. J.; SHI, K.; ZHOU, Y. H.; REITER, R. J.; YU, J. Q.; XU, M. X.; ZHOU, J. Melatonin mediates selenium-induced tolerance to cadmium stress in tomato plants. **Journal of Pineal Research**, v. 61, n. 3, p. 291-302, out., 2016.

LIPPMAN, Z. B.; SEMEL, Y.; ZAMIR, D. An integrated view of quantitative trait variation using tomato interspecific introgression lines. **Current Opinion in Genetics & Development**, v. 17, n. 6, p. 545-552, dez., 2007.

LIU, Y. S.; ZAMIR, D. Second generation *L. pennellii* introgression lines and the concept of bin mapping. **Tomato Genet Coop.**, v. 49, p. 26–30, 1999.

MACHADO, F. H. B.; DAVID, A. M. S. S.; CANGUSSÚ, L. V. S.; FIGUEIREDO, J. C.; AMARO, H. T. R. Physiological quality of seed and seedling performance of crambe genotypes under water stress. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** v. 21, n. 3, p.175-179, 2017.

MACIEL, G. M.; BERENQUER, A. F.; SILVA, E. C. da; FRAGA JÚNIOR, E. F.; ROCHA, D. K.; ROCHA, J. P. R. da. Estresse hídrico induzido por manitol para seleção de genótipos de tomateiro. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 60, n. 4, p. 315-321, out-dez., 2017.

MORALES, R. G. F. **Resistência ao déficit hídrico em famílias de tomateiro derivados de *Solanum pennellii***. 2012, Tese (Doutorado em Produção Vegetal). Universidade Federal de Lavras. Lavras-MG. 2012.

MOULICK, D.; GHOSH, D.; SANTRA, S. C. Evaluation of effectiveness of seed priming with selenium in rice during germination under arsenic stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 109, p. 571-578, dez., 2016.

MROCZEK-ZDYRSKA, M.; WÓJCIK, M. The influence of selenium on root growth and oxidative stress induced by lead in *Vicia faba* L. minor plants. **Biological Trace Element Reseach** v. 147, n. 1-3, p. 320–328, jun., 2012.

NAWAZ, F., ASHRAF, M. Y., AHMAD, R., WARAICH, E. A. Selenium (Se) Seed Priming Induced Growth and Biochemical Changes in Wheat Under Water Deficit Conditions. **Biological Trace Element Research**, v. 151, n. 2, p. 284–293, 2013.

NAWAZ, F.; NAEEM, M.; ASHRAF, M. Y.; TAHIR M. N.; ZULFIQAR, B.; SALAHUDDIN, M.; SHABBIR, R. N.; ASLAM, M. Selenium supplementation affects physiological and biochemical processes to improve fodder yield and quality of maize (*Zea mays* L.) under water deficit conditions. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. 1438, p. 1-13, set., 2016.

OLIVEIRA, A. C. **Papel do selênio no crescimento e resposta ao déficit hídrico em tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.)**. 2016. Dissertação (Mestrado em Botânica). Universidade Federal de Viçosa. UFV. Viçosa-MG. 2016.

OLIVEIRA, S. S. C. de; CRUZ, S. J. S.; MARTINS, C. C. Estresse hídrico e salino na germinação de sementes e crescimento de plântulas de nabo forrageiro. **Magistra**, v. 30, p. 435-444, 2019.

PAPARELLA, S.; ARAÚJO, S. S.; ROSSI, G.; WIJAYASINGHE, M.; CARBONERA, D.; BALESTRAZZI, A. Seed priming: state of the art and new perspectives. **Plant Cell Reports**, v. 34, n. 8, p. 1281-1293, mar., 2015.

PILON-SMITS, E. A. H.; QUINN, C. F.; TAPKEN, W.; MALAGOLI, M.; SCHIAVON, M. Physiological functions of beneficial elements. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, n. 3, p. 267-274, 2009.

PRADO, E. R.; ALVES, L. R.; CARREGARI, S. M. R.; OLIVEIRA, R. de; GRATÃO, P. L. Seed priming with selenium improves drought stress tolerance in radish seedling. **Holoes Environment** (Online), p. 163-173, 2017.

PUCCINELLI, M.; MALORGIO, F.; PEZZAROSSA, B. Selenium enrichment of horticultural crops. **Molecules**, v. 22, n. 6, p. 933, jun., 2017.

RAYMAN, M. P. The importance of selenium to human health. **Lancet**, v. 356, n. 9225, p. 233-241, jul., 2000.

SCHIAVON, M.; MORO, I.; PILON-SMITS, E. A. H.; MATOZZO, V., MALAGOLI, M.; DALLA VECCHIA, F. Accumulation of selenium in *Ulva* sp. and effects on morphology, ultrastructure and antioxidant enzymes and metabolites. **Aquatic Toxicology**. v. 122–123, p. 222–231, out., 2012.

SILVA, M. L. M.; ALVES, E. U.; BRUNO, R. L. A.; SANTOS-MOURA, S. S.; SANTOS NETO, A. P. Germinação de sementes de *Chorisia glaziovii* O. kuntze submetidas ao estresse hídrico em diferentes temperaturas. **Ciência Florestal**, v. 26, n. 3, p. 999–1007, jul-set., 2016.

VILLELA, F. A.; DONI FILHO, L.; SEQUEIRA, E. L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.26, n. 11/12, p.1957-1968, nov./dez., 1991.

WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R.; BOWEN, H. C.; JOHNSON S. E. Selenium and its Relationship with Sulfur. *In*: HAWKESFORD, M. J.; KOK, L. J. de. **Sulfur in Plants An Ecological Perspective**. The Netherlands:Springer, v. 6, 2007. p. 225-252.

CAPÍTULO 1

Efeito do osmocondicionamento com selênio na germinação e vigor de sementes de tomate contrastantes quanto à tolerância ao déficit hídrico

RESUMO

SILVEIRA, Alice de Souza, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março 2021. **Efeito do osmocondicionamento com selênio na germinação e vigor de sementes de tomate contrastantes quanto a tolerância ao déficit hídrico**. Orientador: Laércio Junio da Silva. Coorientadores: Daniel Teixeira Pinheiro e Rafael Macedo de Oliveira.

O primeiro e o mais importante efeito da seca para as sementes é o prejuízo à germinação e a desuniformidade no estabelecimento de plântulas no campo. Assim, o uso de genótipos e elementos químicos que possam contribuir para o aumento da tolerância das plantas à estresses abióticos vêm se tornando objeto de estudos para diversas espécies agrícolas. O selênio (Se) pode induzir resistência ao déficit hídrico em sementes e plantas. Assim, os objetivos com o presente trabalho foram: (I) avaliar o desempenho de sementes de duas linhagens de tomate osmocondicionadas com solução de Se e submetidas ao déficit hídrico; e (II) determinar o binômio concentração de selênio e tempo de osmocondicionamento mais adequado para ser aplicado nas sementes de tomate. No Experimento I, sementes de tomate *Solanum lycopersicum* das linhagens LA 3475 e LA 4050, com menor e maior tolerância ao déficit hídrico, respectivamente, foram submetidas ao osmocondicionamento com Na_2SeO_4 , nas concentrações de 0,0 e 60 μM em solução de PEG 6000 a -1,0 MPa durante 24, 48 e 72 horas. O controle consistiu em sementes não osmocondicionadas (0 h). Após secas, as sementes foram submetidas ao teste de germinação sob déficit hídrico à -0,3 MPa. No controle não houve déficit hídrico (0,0 MPa). No Experimento II, sementes das duas linhagens foram submetidas ao osmocondicionamento com Na_2SeO_4 nas concentrações de 0,0; 12,5; 25,0; 37,5 e 50,0 μM em solução de PEG 6000 a -1,0 MPa durante 24 e 48 h. A metodologia do osmocondicionamento foi a mesma utilizada no Experimento I. No segundo experimento, as sementes foram colocadas para germinar em condições ideais do teste de germinação. Nos dois experimentos,

foram avaliadas a germinação (protrusão radicular) e porcentagem de plântulas normais, na primeira e última contagem do teste de germinação, além do índice de velocidade de germinação. No experimento I, para as sementes das duas linhagens, o déficit hídrico reduziu a germinação, a porcentagem de plântulas normais e a velocidade de germinação das sementes. Em geral, o osmocondicionamento com Se não induziu tolerância às sementes ao déficit hídrico. No experimento II, o osmocondicionamento sem selênio ou na concentração de 12,5 μM por 24 h proporcionou melhores respostas para as sementes de ambas linhagens. Assim, o binômio osmocondicionamento com concentração de 12,5 μM de Se e tempo de 24 h de condicionamento tem potencial para ser utilizado em sementes de tomate provindas de linhagens com diferentes níveis de tolerância ao déficit hídrico.

Palavras-chave: *Solanum lycopersicum* L.. Priming. M82. Elemento Benéfico. Seca.

CHAPTER 1

Effect of osmopriming with selenium on germination and vigor of contrasting tomato seeds regarding water deficit tolerance

ABSTRACT

SILVEIRA, Alice de Souza, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2021. **Effect of osmopriming with selenium on germination and vigor of contrasting tomato seeds regarding water deficit tolerance.** Adviser: Laércio Junio da Silva. Co-advisers: Daniel Teixeira Pinheiro and Rafael Macedo de Oliveira.

The first and most important effect of drought on seeds is the damage to germination and the lack of uniformity in seedling establishment in the field. Therefore, using genotypes and chemical elements can contribute to increase the tolerance of plants to abiotic stresses, which have become a study subject for different agricultural species. Selenium (Se) can induce resistance to water stress in seeds and plants. Thus, this study aimed: (I) to evaluate the performance of tomato seeds from two lineages osmoprimed with Se solution and submitted to water deficit; and (II) to determine the most appropriate combination of Se concentration and osmopriming time for tomato seeds. In experiment I, tomato seeds (*Solanum lycopersicum* L.) from lineages LA 3475 and LA 4050, which had lower and higher tolerance to water deficit, respectively, were osmoprimed with Na₂SeO₄ at concentrations of 0.0 and 60 µM in a PEG 6000 solution at -1.0 MPa for 24, 48, and 72 hours. Non-osmoprimed seeds were taken as the control (0 h). Dried seeds were placed to germinate under water deficit at -0.3 MPa. The control seeds had no water deficit (0.0 MPa). In experiment II, seeds from both lineages were osmoprimed with Na₂SeO₄ at concentrations of 0.0, 12.5, 25.0, 37.5, and 50 µM in a PEG 6000 solution at -1.0 MPa for 24 and 48 h. The osmopriming methodology used was the same as in experiment I. In experiment II, seeds were placed to germinate in optimum conditions for the germination test. Germination (radicle protrusion), percentage of normal seedlings in the first and last count of the germination test, and the germination speed index were evaluated in both

experiments. In experiment I, the water deficit reduced the germination, percentage of normal seedlings, and seed germination speed in both lineages. Overall, the osmopriming with Se did not induce tolerance in seeds under water deficit. In experiment II, the osmopriming without Se or at a concentration of 12.5 μM for 24 h provided better responses for seeds from both lineages. Therefore, the combination of Se concentration (12.5 μM) and osmopriming time (24 h) has the potential to be used in tomato seeds from two lineages with different levels of tolerance to water deficit.

Keywords: *Solanum lycopersicum* L.. Priming. M82. Beneficial Element. Drought.

INTRODUÇÃO

O primeiro e o mais importante efeito da seca na fase de implantação de uma cultura é o prejuízo à germinação das sementes e a desuniformidade no estabelecimento de plântulas no campo (Harris, Tripathi e Joshi, 2002). A disponibilidade de água para as sementes, quando em quantidades inadequadas, afeta negativamente o processo de embebição e, conseqüentemente, de germinação (Machado *et al.*, 2017; Oliveira, Cruz e Martins, 2019). A embebição é influenciada por diversos fatores, tais como permeabilidade e composição do tegumento, disponibilidade hídrica no meio, área de contato substrato semente, pressão hidrostática, temperatura e características fisiológicas da semente (Bela *et al.*, 2009).

Mudanças no uso e consumo de água pela agricultura em todo o mundo são uma realidade, não sendo limitante apenas em regiões áridas e semiáridas, mas até mesmo em locais com abundância de recursos hídricos, porém, com alta exigência hídrica (Telles e Costa, 2010). O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é uma cultura de grande importância econômica, sendo a segunda hortaliça mais cultivada no mundo (Moreira *et al.*, 2013) e demanda grande volume de água durante o ciclo (Alvarenga e Coelho, 2013), fazendo com que sua produção em condições de déficit hídrico seja prejudicada.

Assim, uma alternativa para a obtenção de genótipos de tomate tolerantes à seca é por meio do cruzamento de linhagens ou espécies selvagens com cultivares comerciais (Morales, 2012). Dentre as espécies selvagens, a *Solanum pennellii* é uma boa opção por ser mais eficiente no uso da água (Easlon e Richards, 2009). Neste contexto, regiões do genoma de *S. lycopersicum* podem ser substituídas por segmentos de *S. pennellii*, sendo possível a obtenção de desempenho agrônômico superior (Gur e Zamir, 2004).

Dessa forma, com o intuito de selecionar genótipos e cultivares tolerantes à seca, têm sido utilizadas soluções osmóticas para simular déficit hídrico *in vitro* (Hamidi e Safarnejad, 2010; Kumar e Padmanabh, 2015; Borba *et al.*, 2017; Machado *et al.*, 2017; Maciel *et al.*, 2017). Além de linhagens de introgressão que possam expressar tolerância à estresses abióticos, a utilização de elementos químicos também vem sendo empregada, destacando-se o selênio (Se). O Se é um elemento não essencial para as plantas (Diao *et*

al., 2014), capaz de induzir resistência a condições estressantes (Pilon-Smits *et al.*, 2009; Hasanuzzaman e Fujita, 2011; El Mehdawi e Pilon-Smits, 2012; Nawaz *et al.*, 2013; AbulSoud e Abd Elrahman, 2016; Balal *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2016). Uma maneira de fornecer Se para induzir respostas à plantas é por meio do osmocondicionamento de sementes (Khaliq *et al.*, 2015; Moulick *et al.*, 2016). Porém, para sementes de tomate há falta de trabalhos que utilizaram o osmocondicionamento com selênio a fim de obter respostas à tolerância em condições estressantes. Carvalho (2016) investigou o efeito do *priming* com Se sobre as características fisiológicas e metabólicas de plantas de tomateiro sob déficit hídrico e verificou alterações no crescimento das mesmas não associados a alterações fotossintéticas, fotoquímicas, ou do sistema antioxidativo e não foi investigado os efeitos nas sementes.

Diante do exposto, os objetivos do presente trabalho foram: (I) avaliar o desempenho de sementes de duas linhagens de tomate osmocondicionadas com solução de Se e submetidas ao déficit hídrico induzido por polietilenoglicol (PEG); e (II) determinar o binômio concentração de Se e tempo de osmocondicionamento mais adequado para ser aplicado em sementes de tomate.

MATERIAL E MÉTODOS

Dois experimentos foram realizados no Laboratório de Pesquisa de Sementes do Departamento de Agronomia, da Universidade Federal de Viçosa, *campus* Viçosa, Minas Gerais, visando à adequação da concentração e do tempo de osmocondicionamento com solução de Se em sementes de tomate.

Experimento I

As sementes de tomate *Solanum lycopersicum* cultivar M82 (acesso LA 3475) e IL 1-4-18 (acesso LA 4050) foram submetidas ao osmocondicionamento com solução de selenato de sódio (Na_2SeO_4 - Sigma-Aldrich), na concentração de 60 μM ou sem selênio (0,0 μM), em solução de polietilenoglicol (PEG 6000) a -1,0 MPa durante 0, 24, 48 e 72 horas. O controle consistiu em sementes não osmocondicionadas (0 h).

As sementes foram mantidas na solução com ou sem Se, em Erlenmeyer com capacidade de 1000 mL, juntamente com PEG 6000 a -1,0 MPa (Villela, Doni Filho e Sequeira, 1991) sob temperatura de 15 °C, para que não ocorresse a protrusão radicular, em câmara tipo B.O.D. Os Erlenmeyers foram vedados e submetidos à aeração forçada por meio de uma bomba de ar, na presença de luz, ambos constantes.

Após os períodos de osmocondicionamento, as sementes foram lavadas em água corrente e secas sob temperatura ambiente (25 ± 2 °C) até que a umidade se estabilizasse. Feito isto, as sementes provenientes dos diferentes tratamentos foram submetidas ao teste de germinação sob condição de déficit hídrico induzido por PEG 6000 na concentração de -0,3 MPa (Jangid e Dwivedi, 2015; Borba *et al.*, 2017; Maciel *et al.*, 2017), preparado segundo Villela, Doni Filho e Sequeira (1991). Na condição controle, foi utilizado apenas água destilada (0,0 MPa).

Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes por tratamento, dispostas em caixas do tipo *gerbox*, sobre duas folhas de papel *germitest*, umedecidas com 2,5 vezes o peso do papel seco com a solução de PEG 6000 (-0,3 MPa) ou água destilada (0,0 MPa). Os *gerbox* foram embalados em sacos de plástico transparente e colocados em câmara do tipo B.O.D., sob temperatura constante de 25 °C e fotoperíodo de 8 h de luz e 16 h de escuro. Foram avaliadas as seguintes características:

Primeira contagem de germinação (PCG) e protrusão radicular (PR)

A avaliação foi realizada no sétimo dia após o início do teste (Brasil, 2009). Foram contabilizados o número de sementes apresentando protrusão radicular (sementes germinadas apresentando radícula maior que 1 mm) e o número de plântulas normais. As plântulas normais foram as que apresentavam radícula e parte aérea com tamanhos proporcionais (1:1), com as primeiras folhas cotiledonares visíveis e com coloração verde, independentemente se estavam fechadas.

Germinação (G) e protrusão radicular (PR)

A avaliação foi realizada no décimo quarto dia após o início do teste (Brasil, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem de sementes germinadas (protrusão radicular) e porcentagem de plântulas normais, de acordo com os critérios adotados na primeira contagem do teste.

Índice de velocidade de germinação (IVG)

A contagem do número de sementes germinadas (com protrusão da radícula) foi quantificada diariamente. Os dados obtidos foram utilizados para o cálculo do IVG, de acordo com a equação proposta por Maguire (1962).

Análise estatística

O experimento foi conduzido em esquema fatorial $2 \times 2 \times 3 + 2$, sendo dois níveis de déficit hídrico (sem ou com déficit hídrico induzido por PEG 6000); dois tratamentos de osmocondicionamento (com ou sem Se) e três tempos de osmocondicionamento (24, 48 e 72 h). Os tratamentos adicionais consistiram de sementes não osmocondicionadas (0 h) com e sem déficit hídrico durante o teste de germinação. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado e as médias comparadas pelo teste F a 5% de probabilidade. Quando necessário foram realizados a comparação das médias pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. As médias dos tratamentos foram comparadas com o tratamento adicional pelo teste de Dunnett, a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas no programa R (R Development Core Team, 2019). As linhagens foram avaliadas individualmente.

Experimento II

As sementes de tomate *Solanum lycopersicum* cultivar M82 (acesso LA 3475) e IL 1-4-18 (acesso LA 4050) foram submetidas ao osmocondicionamento com soluções de selenato de sódio (Na_2SeO_4 - Sigma-Aldrich), nas concentrações de 0,0; 12,5; 25,0; 37,5 e 50,0 μM em solução de PEG 6000 a -1,0 MPa durante 24 e 48 h. A concentração de 0,0 μM consistiu em sementes osmocondicionadas apenas com PEG 6000 a -1,0 MPa. Para o osmocondicionamento foi utilizada a metodologia descrita no Experimento I.

As sementes provenientes dos diferentes tratamentos foram submetidas às mesmas avaliações do experimento I, utilizando-se as metodologias descritas anteriormente.

Análises estatísticas

O experimento foi realizado em esquema fatorial 2x5, sendo dois tempos de osmocondicionamento (24 e 48 h) e cinco concentrações de Se (0,0; 12,5; 25,0; 37,5 e 50,0 μM). O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado e as médias comparadas pelo teste F a 5% de probabilidade. Quando necessário, foi realizado a comparação das médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados da LA 4050 de primeira contagem de germinação foram transformados em raiz quadrada ($y = \text{raiz quadrada } x$) e os de porcentagem de plântulas normais na primeira contagem de germinação em arco seno ($y = \text{arc sen raiz } (x/100)$). Assim como os dados da LA 3475 de porcentagem de plântulas normais na primeira contagem de germinação, em log ($y = \text{Log } x$). As análises estatísticas foram realizadas no programa R (R Development Core Team, 2019). As linhagens foram avaliadas individualmente.

RESULTADOS

Experimento I

Para a linhagem LA 4050, houve interação significativa entre os fatores tempo de condicionamento e os tratamentos de osmocondicionamento para os dados de protrusão radicular na primeira contagem (PCG) (Tabela 1) e contagem final de germinação (Tabela 2). Houve efeito dos fatores osmocondicionamento, déficit hídrico e tempo de condicionamento para porcentagem de plântulas normais na PCG (Tabela 3), na contagem final (Tabela 4) e no IVG (Tabela 5).

Tabela 1. Porcentagem de protrusão radicular na primeira contagem do teste de germinação de sementes de tomate da linhagem 4050, sob déficit hídrico (-0,3 MPa), osmocondicionadas em solução de PEG a -1,0 Mpa, com (selenato de sódio, 60 µM) ou sem selênio.

Tempo (h)	Com selênio		Sem selênio		Média
	Água	PEG	Água	PEG	
24	98,0Aa	70,0Aa	100,0Aa	99,0Aa	91,8
48	97,0Aa	82,0Aa	95,0Ab	74,0Bb	87,0
72	99,0Aa	80,0Aa	97,0Ab	74,0Bb	87,5
Média	98,0 ^x	77,3	97,3 ^x	82,3	
Média osmocond.	87,7		89,8		
Sem osmocondicionamento + PEG			79,0		
Sem osmocondicionamento + Água			97,0		
CV (%)	12,90				

^x - Diferença significativa entre os tratamentos PEG (com déficit hídrico) e Água (sem déficit hídrico) dentro de cada osmocondicionamento (com e sem Se) pelo teste F (p < 0,05).

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha, comparando as sementes osmocondicionadas (com e sem Se) dentro de PEG ou de Água, não diferem pelo teste F (p < 0,05).

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, comparando o tempo de condicionamento dentro de PEG ou de Água, não diferem pelo teste de Tukey (p < 0,05).

Tabela 2. Porcentagem de protrusão radicular na contagem final do teste de germinação de sementes de tomate da linhagem 4050, sob déficit hídrico (-0,3 MPa), osmocondicionadas em solução de PEG a -1,0 Mpa, com (selenato de sódio, 60 µM) ou sem selênio.

Tempo (h)	Com selênio		Sem selênio		Média
	Água	PEG	Água	PEG	
24	99,0Ba	80,0Ba	100,0Aa	99,0Aa	94,5
48	98,0Aa	84,0Aa	95,0Ab	82,0Ab	89,8
72	99,0Aa	88,0Aa	100,0Aab	85,0Aab	93,0
Média	98,7 ^x	84,0	98,3 ^x	88,7	
Média osmocond.	91,4		93,5		
Sem osmocondicionamento + PEG			84,0		
Sem osmocondicionamento + Água			97,0		
CV (%)	7,83				

^x - Diferença significativa entre os tratamentos PEG (com déficit hídrico) e Água (sem déficit hídrico) dentro de cada osmocondicionamento (com e sem Se) pelo teste F (p < 0,05).

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha, comparando as sementes osmocondicionadas (com e sem Se) dentro de PEG ou de Água, não diferem pelo teste F (p < 0,05).

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, comparando o tempo de condicionamento dentro de PEG ou de Água, não diferem pelo teste de Tukey (p < 0,05).

Tabela 3. Porcentagem de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação de sementes de tomate da linhagem 4050, sob déficit hídrico (-0,3 MPa), osmocondicionadas em solução de PEG a -1,0 Mpa, com (selenato de sódio, 60 µM) ou sem selênio.

Tempo (h)	Com selênio		Sem selênio		Média
	Água	PEG	Água	PEG	
24	84,0 ^x Aa	8,0 Ba	88,0 ^x Aa	20,0 Aa*	50,0
48	80,0 ^x Aa	12,0 Aa	88,0 ^x Aa	4,00 Ab	46,0
72	82,0 ^x Aa	9,0 Aa	78,0 ^x Aa	8,00 Ab	44,3
Média	82,0	9,7	84,7	10,7	
Média osmocond.	45,9		47,7		
Sem osmocondicionamento + PEG			7,00		
Sem osmocondicionamento + Água			77,0		
CV (%)	13,43				

^x - Diferença significativa entre os tratamentos PEG (com déficit hídrico) e Água (sem déficit hídrico) dentro de cada osmocondicionamento (com e sem Se) pelo teste F ($p < 0,05$).

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha, comparando as sementes osmocondicionadas (com e sem Se) dentro de PEG ou de Água, não diferem pelo teste F ($p < 0,05$).

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, comparando o tempo de condicionamento dentro de PEG ou de Água, não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

* Diferem do tratamento controle (Sem osmocondicionamento) pelo teste Dunnett ($p < 0,05$).

Tabela 4. Porcentagem de plântulas normais na contagem final de germinação de sementes de tomate da linhagem 4050, sob déficit hídrico (-0,3 MPa), osmocondicionadas em solução de PEG a -1,0 Mpa, com (selenato de sódio, 60 µM) ou sem selênio.

Tempo (h)	Com selênio		Sem selênio		Média
	Água	PEG	Água	PEG	
24	95,0 ^x Aa	31,0Ba	94,0 ^x Aa	60,0Aa	70,0
48	89,0 ^x Aa	49,0Aa	96,0 ^x Aa	26,0Bb	65,0
72	90,0 ^x Aa	38,0Aa	87,0 ^x Aa	35,0Ab	62,5
Média	91,3	39,3	92,3	40,3	
Média osmocond.	65,3		66,3		
Sem osmocondicionamento + PEG			32,0		
Sem osmocondicionamento + Água			90,0		
CV (%)	17,84				

^x - Diferença significativa entre os tratamentos PEG (com déficit hídrico) e Água (sem déficit hídrico) dentro de cada osmocondicionamento (com e sem Se) pelo teste F ($p < 0,05$).

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha, comparando as sementes osmocondicionadas (com e sem Se) dentro de PEG ou de Água, não diferem pelo teste F ($p < 0,05$).

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, comparando o tempo de condicionamento dentro de PEG ou de Água, não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 5. Índice de velocidade de germinação de sementes de tomate da linhagem 4050, sob déficit hídrico (-0,3 MPa), osmocondicionadas em solução de PEG a -1,0 Mpa, com (selenato de sódio, 60 µM) ou sem selênio.

Tempo (h)	Com selênio		Sem selênio		Média
	Água	PEG	Água	PEG	
24	11,78 ^x Aa*	4,82Ba	11,98 ^x Aa*	7,79 Aa*	9,09
48	11,73 ^x Aa*	5,76Aa	11,67 ^x Aa*	4,97Ab	8,53
72	12,22 ^x Aa*	6,03Aa	10,63 ^x Ba	4,89Ab	8,44
Média	11,91	5,54	11,43	5,88	
Média osmocond.	8,73		8,66		
Sem osmocondicionamento + PEG			5,22		
Sem osmocondicionamento + Água			9,69		
CV (%)	10,30				

^x - Diferença significativa entre os tratamentos PEG (com déficit hídrico) e Água (sem déficit hídrico) dentro de cada osmocondicionamento (com e sem Se) pelo teste F (p < 0,05).

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha, comparando as sementes osmocondicionadas (com e sem Se) dentro de PEG ou de Água, não diferem pelo teste F (p < 0,05).

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, comparando o tempo de condicionamento dentro de PEG ou de Água, não diferem pelo teste de Tukey (p < 0,05).

* Diferem do tratamento controle (Sem osmocondicionamento) pelo teste Dunnet (p < 0,05).

Quando as sementes foram submetidas ao déficit hídrico durante a germinação, o osmocondicionamento sem o Se por 24 h foi o que proporcionou maior porcentagem de plântulas normais na PCG, contagem final e IVG, em relação ao osmocondicionamento com Se e às sementes não condicionadas. Independentemente do déficit hídrico, o tempo de condicionamento de 24 h também promoveu maior germinação na PCG e contagem final das sementes condicionadas sem Se. Quando as sementes foram osmocondicionadas com Se e colocadas para germinar em água, os tempos de 48 e 72 h resultaram em maior porcentagem de plântulas normais na germinação final e IVG, respectivamente.

Para a linhagem LA 3475, houve interação significativa entre os fatores osmocondicionamento e déficit hídrico durante a germinação, no número plântulas normais na PCG (Tabelas 6 e 8, respectivamente) e no IVG (Tabela 10). Houve efeito simples dos fatores osmocondicionamento e déficit hídrico na germinação e no número de plântulas normais na contagem final (Tabelas 7 e 9, respectivamente).

Tabela 6. Porcentagem de protrusão radicular na primeira contagem do teste de germinação de sementes de tomate da linhagem 3475, sob déficit hídrico (-0,3 MPa), osmocondicionadas em solução de PEG a -1,0 Mpa, com (selenato de sódio, 60 µM) ou sem selênio.

Tempo (h)	Com selênio		Sem selênio		Média
	Água	PEG	Água	PEG	
24	93,0 ^x A	32,0B	97,0 ^x A	69,0A	73,7a
48	95,0 ^x A	30,0B	95,0 ^x A	78,0A	74,5a
72	95,0 ^x A	67,0B	97,0 ^x A	82,0A	85,3a
Média	94,3	43,0	96,3	76,3	
Média osmocond.	68,7		86,3		
Sem osmocondicionamento + PEG			69,0		
Sem osmocondicionamento + Água			95,0		
CV (%)	17,97				

^x - Diferença significativa entre os tratamentos PEG (com déficit hídrico) e Água (sem déficit hídrico) dentro de cada osmocondicionamento (com e sem Se) pelo teste F ($p < 0,05$).

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha, comparando as sementes osmocondicionadas (com e sem Se) dentro de PEG ou de Água, não diferem pelo teste F ($p < 0,05$).

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, comparando o tempo de condicionamento dentro de PEG ou de Água, não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 7. Porcentagem de protrusão radicular na contagem final do teste de germinação de sementes de tomate da linhagem 3475, sob déficit hídrico (-0,3 MPa), osmocondicionadas em solução de PEG a -1,0 Mpa, com (selenato de sódio, 60 µM) ou sem selênio.

Tempo (h)	Com selênio		Sem selênio		Média
	Água	PEG	Água	PEG	
24	93,0	68,0	97,0	83,0	85,3a
48	95,0	69,0	95,0	86,0	86,3a
72	96,0	79,0	97,0	88,0	90,0a
Média	94,7 ^x	72,0	96,3 ^x	85,7	
Média osmocond.	83,4B		91,0A		
Sem osmocondicionamento + PEG			80,0		
Sem osmocondicionamento + Água			96,0		
CV (%)	12,95				

^x - Diferença significativa entre os tratamentos PEG (com déficit hídrico) e Água (sem déficit hídrico) dentro de cada osmocondicionamento (com e sem Se) pelo teste F ($p < 0,05$).

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha, comparando as sementes osmocondicionadas (com e sem Se) dentro de PEG ou de Água, não diferem pelo teste F ($p < 0,05$).

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, comparando o tempo de condicionamento dentro de PEG ou de Água, não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 8. Porcentagem de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação de sementes de tomate da linhagem 3475, sob déficit hídrico (-0,3 MPa), osmocondicionadas em solução de PEG a -1,0 Mpa, com (selenato de sódio, 60 µM) ou sem selênio.

Tempo (h)	Com selênio		Sem selênio		Média
	Água	PEG	Água	PEG	
24	75,0 ^x A	0,0B	77,0 ^x A	4,0A [*]	39,0b
48	79,0 ^x A	0,0B	79,0 ^x A	11,0A [*]	42,3ab
72	86,0 ^x A	2,0B	81,0 ^x A	8,0A [*]	44,3a
Média	80,0	0,5	79,0	7,7	
Média osmoc.	40,3		43,4		
Sem osmocondicionamento + PEG			0,0		
Sem osmocondicionamento + Água			69,0		
CV (%)	14,91				

^x - Diferença significativa entre os tratamentos PEG (com déficit hídrico) e Água (sem déficit hídrico) dentro de cada osmocondicionamento (com e sem Se) pelo teste F (p < 0,05).

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha, comparando as sementes osmocondicionadas (com e sem Se) dentro de PEG ou de Água, não diferem pelo teste F (p < 0,05).

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, comparando o tempo de condicionamento dentro de PEG ou de Água, não diferem pelo teste de Tukey (p < 0,05).

* Diferem do tratamento controle (Sem osmocondicionamento) pelo teste Dunnet (p < 0,05).

Tabela 9. Porcentagem de plântulas normais na contagem final do teste de germinação de sementes de tomate da linhagem 3475, sob déficit hídrico (-0,3 MPa), osmocondicionadas em solução de PEG a -1,0 Mpa, com (selenato de sódio, 60 µM) ou sem selênio.

Tempo (h)	Com selênio		Sem selênio		Média
	Água	PEG	Água	PEG	
24	87,0	26,0	93,0	36,0	60,5a
48	87,0	26,0	91,0	49,0 [*]	63,3a
72	91,0	27,0	92,0	38,0	62,0a
Média	88,3 ^x	26,3	92,0 ^x	41,0	
Média osmoc.	57,3 B		66,5 A		
Sem osmocondicionamento + PEG			14,0		
Sem osmocondicionamento + Água			89,0		
CV (%)	17,29				

^x - Diferença significativa entre os tratamentos PEG (com déficit hídrico) e Água (sem déficit hídrico) dentro de cada osmocondicionamento (com e sem Se) pelo teste F (p < 0,05).

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha, comparando as sementes osmocondicionadas (com e sem Se) dentro de PEG ou de Água, não diferem pelo teste F (p < 0,05).

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, comparando o tempo de condicionamento dentro de PEG ou de Água, não diferem pelo teste de Tukey (p < 0,05).

* Diferem do tratamento controle (Sem osmocondicionamento) pelo teste Dunnet (p < 0,05).

Tabela 10. Índice de velocidade de germinação de sementes de tomate da linhagem 3475, sob déficit hídrico (-0,3 MPa), osmocondicionadas em solução de PEG a -1,0 Mpa, com (selenato de sódio, 60 µM) ou sem selênio.

Tempo (h)	Com selênio		Sem selênio		Média
	Água	PEG	Água	PEG	
24	10,19 ^x A*	2,50B	10,20 ^x A*	4,90A	6,94b
48	9,91 ^x A*	2,73B	9,70 ^x A*	5,35A	6,92b
72	11,02 ^x A*	4,25B	11,58 ^x A*	6,52A*	8,34a
Média	10,38	3,16	10,49	5,59	
Média osmocond.	6,77		8,04		
Sem osmocondicionamento + PEG			4,14		
Sem osmocondicionamento + Água			8,00		
CV (%)	13,38				

^x - Diferença significativa entre os tratamentos PEG (com déficit hídrico) e Água (sem déficit hídrico) dentro de cada osmocondicionamento (com e sem Se) pelo teste F ($p < 0,05$).

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha, comparando as sementes osmocondicionadas (com e sem Se) dentro de PEG ou de Água, não diferem pelo teste F ($p < 0,05$).

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, comparando o tempo de condicionamento dentro de PEG ou de Água, não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

* Diferem do tratamento controle (Sem osmocondicionamento) pelo teste Dunnet ($p < 0,05$).

Sob déficit hídrico, a porcentagem de germinação e de plântulas normais na PCG e o IVG foi superior no tratamento com osmocondicionamento sem Se em relação ao osmocondicionamento com Se. Ao compararmos as sementes não osmocondicionadas com as osmocondicionadas (sem e com Se) sob déficit hídrico, foi observado que o osmocondicionamento sem Se também melhorou o desempenho das mesmas. Em geral, as médias obtidas para os tempos de osmocondicionamento não diferiram entre si, porém, sob déficit hídrico, 72 h e 48 h apresentaram-se como os tempos mais indicados para o condicionamento das sementes, com maiores valores de IVG e de plântulas normais na última contagem do teste de germinação, respectivamente.

Em síntese, o osmocondicionamento com Se não mostrou benefícios para a germinação das sementes em relação àquelas em que o osmocondicionamento foi realizado sem Se. O osmocondicionamento sem Se foi benéfico para as sementes, principalmente para aquelas sob déficit hídrico, contribuindo para o aumento do número de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação, da porcentagem de germinação e do IVG. Os tempos de condicionamento osmótico das sementes de 24 e 48 h foram os mais promissores para as sementes das duas linhagens de tomate. Nestes

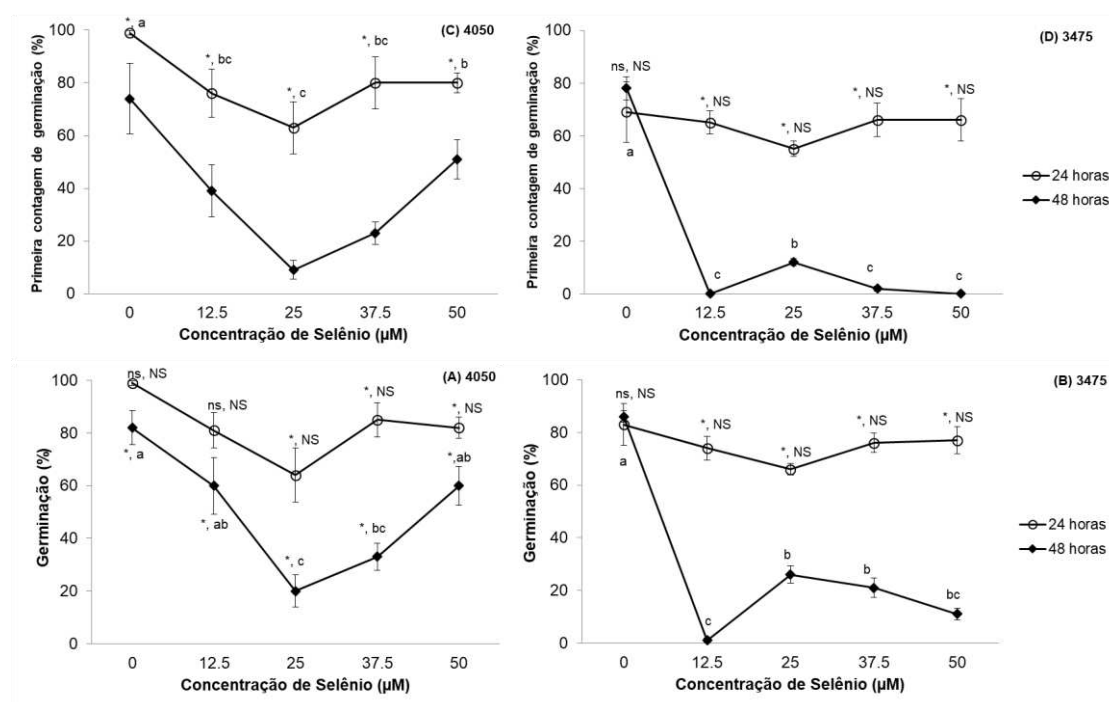
tempos, foram observados maiores valores de germinação, plântulas normais na PCG e IVG. Portanto, no segundo experimento foram utilizadas esses dois tempos, a fim de validar o mais adequado para ser aplicado em trabalhos futuros.

Como foi observado efeito não satisfatório da concentração de Se utilizada, concentrações menores foram testadas no condicionamento das sementes.

Experimento II

A fim de definir a melhor concentração de Se a ser utilizada no osmocondicionamento, as sementes foram osmocondicionadas por 24 e 48 h, conforme resultados obtidos no primeiro experimento, em solução de Se nas concentrações de 0,0; 12,5; 25,0; 37,5 e 50,0 μM .

Foi verificado, para as duas linhagens, efeito das concentrações de Se e do tempo de osmocondicionamento na germinação das sementes e no número de plântulas normais na primeira contagem de germinação, na contagem final do teste de germinação e no IVG (Figura 1).



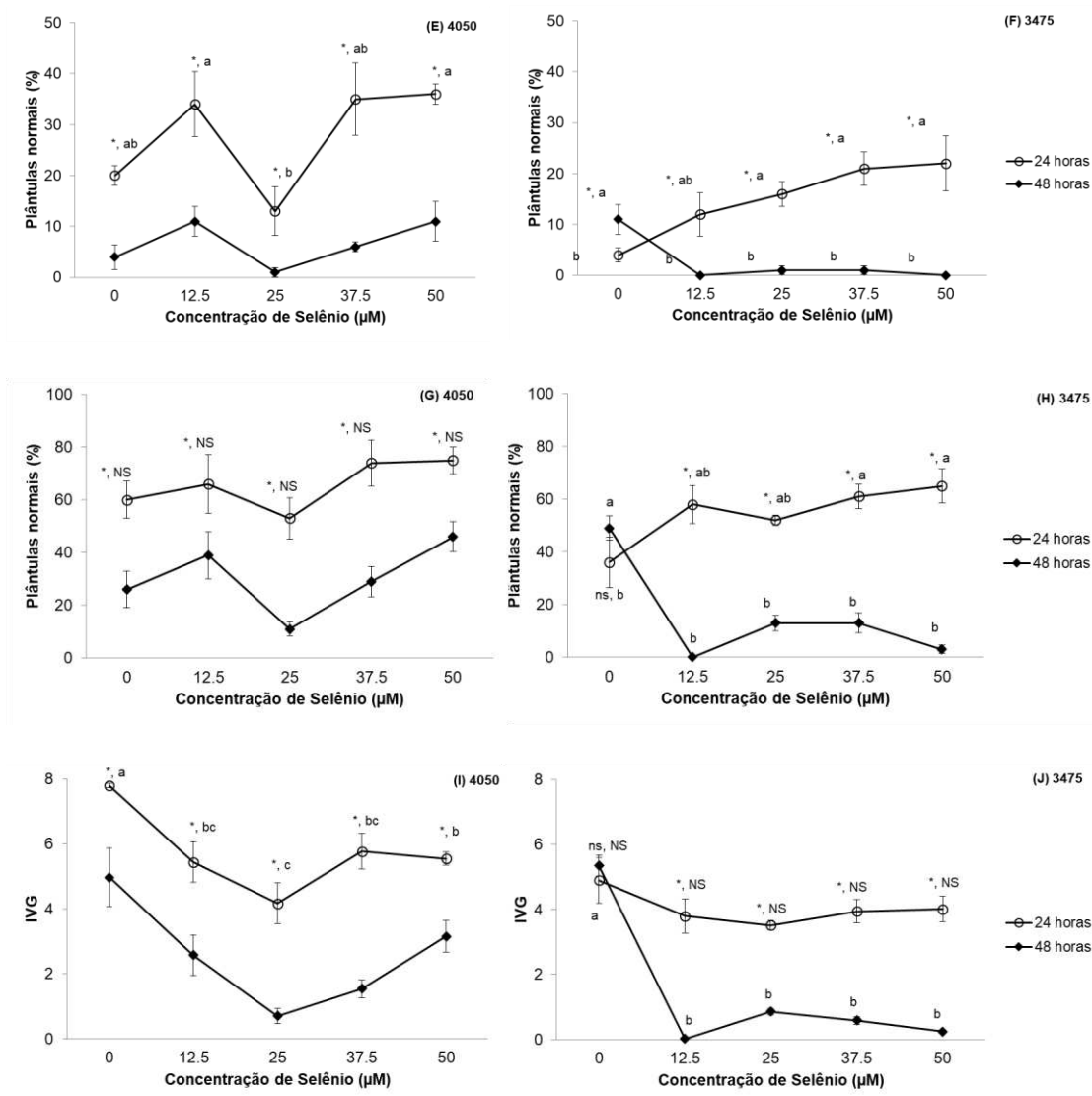


Figura 1. Primeira contagem de germinação (A e B); germinação (C e D); porcentagem de plântulas normais na PC (E e F) e contagem final de germinação (G e H) e IVG (I e J) de sementes de tomate das linhagens 4050 e 3475 osmocondicionadas com diferentes soluções de selênio (selenato de sódio, 0,0; 12,5; 25,0; 37,5 e 50,0 µM) a -1,0 MPa por 24 e 48 horas. * - Diferença significativa entre os tempos de condicionamento pelo teste F ($p < 0,05$). NS - Diferença não significativa entre as concentrações. ns - Diferença não significativa entre os tempos de condicionamento. Letras minúsculas comparam o efeito de concentração de selênio em cada nível de tempo de osmocondicionamento pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Sementes da linhagem LA 4050 apresentaram maior porcentagem de germinação na PCG na concentração de 0,0 µM de Se em relação às demais concentrações. Nas sementes osmocondicionadas por 24 h, foi observado maiores porcentagens de germinação na PCG em relação àquelas osmocondicionadas por 48 h (Figura 1A).

Para as sementes da linhagem LA 3475 osmocondicionadas por 24 h, não foi observada diferença entre as concentrações para a porcentagem de germinação na PCG. Sementes osmocondicionadas por 48 h sem Se

(concentração de 0,0 μM) apresentaram maior porcentagem de germinação na PCG comparadas às demais concentrações. As sementes nas demais concentrações apresentaram maior germinação quando foram osmocondicionadas por 24 h. Porém, nos dois tempos de condicionamento não foram verificadas diferenças para as sementes condicionadas sem Se (0,0 μM) (Figura 1B).

Para a linhagem LA 4050, as sementes osmocondicionadas sem Se (0,0 μM), nos dois tempos de condicionamento, não apresentaram diferença na porcentagem final de germinação. Não foi observada diferença na porcentagem de germinação das sementes osmocondicionadas nas diferentes concentrações, por 24 h. As sementes osmocondicionadas por 48 h sem Se (0,0 μM) apresentaram maior porcentagem de germinação, porém não diferiu dos valores obtidos nas concentrações de 12,5 e 50,0 μM (Figura 1C).

Para as sementes da LA 3475, não houve diferença na germinação entre os tempos de condicionamento na concentração de 0,0 μM de Se. As sementes osmocondicionadas por 24 h, em todas as demais concentrações também não apresentaram diferenças entre si quanto a germinação. Por outro lado, o condicionamento por 48 h com 0,0 μM de Se promoveu maior porcentagem de germinação das sementes em relação às demais concentrações de Se avaliadas (Figura 1D).

Nas sementes da LA 4050, para os dois tempos de condicionamento, foi observado maior número de plântulas normais nas concentrações de 12,5 e 50,0 μM de Se, ocorrendo redução mais acentuada na concentração de 25,0 μM . Foi observada maior porcentagem de plântulas normais na primeira contagem de germinação nas sementes osmocondicionadas por 24 h, comparadas às sementes condicionadas por 48 h (Figura 1E).

No tempo de 24 h, o osmocondicionamento das sementes da LA 3475 nas concentrações de Se, promoveu maior porcentagem de plântulas normais em relação à concentração de 0,0 μM . Por outro lado, no tempo de 48 h, o comportamento das sementes foi o oposto, com redução da porcentagem de plântulas normais (Figura 1F).

Para as sementes da LA 4050, em todas as concentrações, não foi observada diferenças na porcentagem de plântulas normais na última contagem do teste de germinação. Sementes osmocondicionadas por 24 h

apresentaram maior número de plântulas normais em relação àquelas osmocondicionadas por 48 h (Figura 1G).

Para as sementes da LA 3475 osmocondicionadas por 24 h, a concentração de 0,0 μM proporcionou redução na porcentagem de plântulas normais. Nas concentrações de 37,5 e 50,0 μM de Se foi observado maior número de plântulas normais em relação às demais concentrações. O osmocondicionamento de sementes por 48 h com 0,0 μM apresentou maior porcentagem de plântulas normais em relação às demais concentrações (Figura 1H).

Sementes da LA 4050 osmocondicionadas com 0,0 μM de Se apresentaram maior IVG quando comparadas àquelas das demais concentrações de Se, assim como as sementes osmocondicionadas por 24 h em relação às osmocondicionadas por 48 h (Figura 1I).

As sementes da LA 3475 osmocondicionadas por 24 h, em todas as concentrações apresentaram IVG semelhante. Na concentração de 0,0 μM de Se, o IVG das sementes osmocondicionadas por 24 e 48 h não diferiu, sendo que no osmocondicionamento por 48 h estas apresentaram maiores valores de IVG em relação às demais concentrações. No tempo de 24 h ocorreu redução do IVG com as doses de Se (Figura 1J).

Em síntese, pode-se constatar que para as sementes da linhagem LA 4050, o condicionamento das sementes sem a utilização do Se (concentração de 0,0 μM) se destacou, proporcionando aumento de germinação e do número de plântulas normais em relação às outras concentrações de Se avaliadas. Além disso, as sementes osmocondicionadas nas concentrações de 12,5; 25,0; 37,5 e 50,0 μM de Se não diferiram entre si para as características avaliadas. Para as sementes desta linhagem, o tempo de 24 horas de condicionamento osmótico foi o mais adequado. Para as sementes da linhagem LA 3475 foi observado que ocorreu interação entre as concentrações de Se e o tempo de osmocondicionamento em todas as características avaliadas. Neste contexto, o osmocondicionamento na concentração de 0,0 μM , ou seja, sem Se, foi satisfatório apenas no tempo de 48 h. O osmocondicionamento das sementes por 24 horas mostrou-se mais adequado, apesar de não ter proporcionado aumento na porcentagem de germinação e de plântulas normais.

DISCUSSÃO

No experimento I, as sementes não osmocondicionadas de ambas as linhagens e posteriormente submetidas a condição de déficit hídrico durante a germinação apresentaram médias inferiores para a maioria das características avaliadas. Maciel *et al.* (2017) simularam déficit hídrico com soluções de manitol em várias potências osmóticas em sementes de tomate selvagem acesso LA-716 (*Solanum pennellii*) e da cultivar Santa Clara (*Solanum lycopersicum* L.), padrão de tolerância e sensibilidade ao déficit hídrico, respectivamente. Os autores concluíram que o potencial de -0,3 MPa foi o mais adequado para selecionar genótipos de tomateiro tolerante e suscetível ao déficit hídrico. As sementes que foram submetidas ao déficit hídrico apresentaram menor germinação e vigor, o que também foi observado no presente estudo nas sementes não osmocondicionadas, sendo que as sementes da linhagem LA 3475 (mais sensível ao déficit hídrico) apresentaram atraso no início do processo de germinação em relação às da linhagem LA 4050. Da mesma forma, Florido *et al.* (2018) também em sementes de acessos de tomate contrastantes quanto à tolerância ao déficit hídrico, utilizaram diferentes concentrações de PEG 6000 (-0,25; -0,5; -0,75 e -1 MPa) e um controle com água destilada, e verificaram redução da germinação a partir do potencial -0,5 MPa.

Quando se expõem sementes ao déficit hídrico ocorre menor ou mais lenta embebição de água, o que acarreta em problemas durante todo o processo de germinação (Hamidi e Safarnejad, 2010), tornando o processo mais demorado e irregular, o que afeta de forma negativa o vigor (Machado *et al.*, 2017). Nestas situações, ocorre a redução na velocidade de hidratação dos tecidos e difusão de oxigênio, retardamento do início da atividade enzimática, redução do crescimento meristemático, problemas no alongamento celular, na síntese de parede e na emissão da radícula (Giroto *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2016), o que explica os menores valores de germinação e de velocidade de germinação observados para as sementes das duas linhagens avaliadas sob condição de déficit hídrico.

De maneira geral, para ambas as linhagens foi verificada semelhança entre as características avaliadas de acordo com os tempos e o osmocondicionamento empregado. Para as sementes não osmocondicionadas

(0 h) da linhagem LA 4050, observou-se menor porcentagem de germinação e IVG, principalmente quando sob déficit hídrico, em relação aos demais tratamentos. O tempo de osmocondicionamento por 24 horas sem Se e posterior emprego do déficit hídrico nas sementes resultou em maior germinação e IVG. Para as sementes da linhagem LA 3475 também foi verificado aumento no desempenho quando estas passaram sobretudo pelo osmocondicionamento sem Se. Portanto, submetê-las ao osmocondicionamento com Se, independentemente do tempo, não mostrou benefícios para a germinação e desempenho inicial das mesmas em relação àquelas osmocondicionadas sem Se.

O osmocondicionamento ou *priming* é uma técnica de hidratação controlada das sementes com determinada solução por um certo período permitindo o início de atividades pré-metabólicas, porém, sem a emissão da radícula (Ibrahim, 2016). Essa técnica melhora a germinação das sementes por facilitar a embebição, em plântulas promove emergência mais rápida, crescimento mais vigoroso e maiores chances de sucesso sob condições adversas (Sadeghi *et al.*, 2011; Elouaer e Hannachi, 2012). Desta forma, nossos resultados evidenciam o potencial da técnica para ser utilizada no aumento da tolerância das sementes e plântulas de tomate ao déficit hídrico.

O osmocondicionamento em sementes é simples, fácil e de baixo custo, podendo ser utilizado para o incremento de Se às culturas agrônômicas (Ahmad *et al.*, 2015). No entanto, alguns fatores podem afetar a resposta à esta técnica como potencial hídrico, duração, temperatura, vigor das sementes, espécie e condição de armazenamento das sementes anteriores à aplicação da técnica (Ibrahim, 2016).

Alguns estudos comprovam a eficiência do Se na melhoria do desempenho de espécies vegetais, alterando características fisiológicas e/ou bioquímicas, de modo a favorecer o crescimento e produtividade das mesmas, seja em condições ótimas ou estressantes (Hasanuzzaman e Fujita, 2011; Dong *et al.*, 2012; Boldrin *et al.*, 2013; Khaliq *et al.*, 2015).

O osmocondicionamento com Se utilizando a concentração de 60,0 μM teve efeito negativo no desempenho das sementes de tomate sob condição de déficit hídrico, tanto na LA 3475 (cultivar M82), mais sensível ao estresse por seca e na LA 4050, candidata à tolerante à condição de escassez de água

(Pessoa, 2018). Esperaria-se que o Se provocasse benefício às sementes sob tal condição, como já verificado em trabalhos com outras espécies, tais como arroz (Hasanuzzaman e Fujita, 2011) e trigo (Nawaz *et al.*, 2013). No entanto, há uma estreita janela entre eficiência e toxicidade pelo selênio (Pilon-Smits *et al.*, 2009) e concentrações elevadas em plantas agem antagonicamente, provocando estresse oxidativo nas mesmas (Mroczek-Zdyrska e Wójcik, 2012; Schiavon *et al.*, 2012), sendo o nível entre benefício e toxicidade dependente da espécie e ambiente (Wiesner-Reinhold *et al.*, 2017).

O osmocondicionamento com selenito de sódio em sementes de duas cultivares de arroz (*Oryza sativa*), com concentrações variando de 0 a 105 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Se promoveu redução no tempo de emergência e taxa de crescimento das plântulas (concentrações entre 15 e 60 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ de Se) e nas maiores concentrações (90 e 105 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ de Se) foi verificado efeito negativo nas características fisiológicas das sementes (Khaliq *et al.*, 2015). Esses resultados reforçam que cada espécie e/ou genótipo possuem comportamentos diferentes de acordo com o método de aplicação do Se. A concentração de 60 μM para as sementes de tomate pareceu ser tóxica, mas para as sementes de arroz foi benéfica, sendo observada ainda que elevadas concentrações provocam redução na germinação e crescimento, fato também observado no presente trabalho.

A toxicidade provocada pelo Se pode estar associada às suas semelhanças químicas com o enxofre (S), que compartilha vias de assimilação com esse elemento (Freeman *et al.*, 2010). Todos os metabólitos do S possuem o Se incorporado, como os aminoácidos sulfurados selenometionina e selenocisteína, moléculas similares a metionina e a cisteína, respectivamente (White, 2016). A substituição não específica de S por Se em compostos contendo S, em elevadas concentrações, faz com que o Se provoque toxicidade nas plantas, devido à uma disfunção metabólica (Terry *et al.*, 2000; Kabata-Pendias, 2001). Isso pode ter ocorrido no presente estudo, porém, como são escassos trabalhos de fornecimento de Se via osmocondicionamento em sementes de tomate, sugere-se a realização de novas pesquisas visando a adequação de concentração e tempo de condicionamento para as sementes desta espécie.

Em nosso trabalho, o osmocondicionamento com solução de Se não induziu tolerância às sementes ao déficit hídrico durante a germinação. De maneira geral, as sementes osmocondicionadas ou não com Se e submetidas a germinação em água não apresentaram diferenças nos três tempos e para as duas linhagens. Em sementes de rabanete (*Raphanus sativus* L.) osmocondicionadas com selenito de sódio (0; 10; 40 e 70 μM de Se) por tempo de duas horas e submetidas ao déficit hídrico (PEG -0,1 MPa) foi verificada a redução não significativa na germinação e aumento tempo médio de germinação de sementes (Prado *et al.*, 2017). A espécie, as concentrações e a duração do condicionamento osmótico, provavelmente influenciaram esses resultados.

O osmocondicionamento de sementes de trigo (*Triticum* spp.) com soluções de selenato de sódio (0; 25; 50; 75 e 100 μM de Se) foi eficaz para melhorar a tolerância das sementes à seca durante germinação. As concentrações mais baixas de Se não melhoraram significativamente o crescimento de plântulas em condições de déficit hídrico, sendo que a melhoria significativa foi observada apenas em concentrações mais altas. Para trigo, a combinação osmocondicionamento com Se por uma hora e concentração de 75 μM mostrou melhores respostas (Nawaz *et al.*, 2013). Estes resultados confirmam que para cada espécie ajustar o binômio tempo e concentração é de extrema importância. Em nosso trabalho, a concentração de 60 μM não foi eficiente para aumentar a tolerância das sementes à condição de estresse por seca, mas devemos considerar que são sementes de espécies diferentes, com características distintas. Possivelmente, a concentração mais elevada traga benefícios às sementes de tomate se o tempo de osmocondicionamento for reduzido em relação aos tempos utilizados no presente estudo.

No experimento II, a duração do tratamento e a concentração de Se aplicada via osmocondicionamento nas sementes também interferiram em suas respostas. Em síntese, para as características avaliadas, as sementes da linhagem LA 3475 submetidas à concentração de 0,0 μM e osmocondicionadas por 48 h apresentaram melhor desempenho que as sementes nas demais concentrações de Se, sob o mesmo tempo de condicionamento. Enquanto as sementes osmocondicionadas por 24 h apresentaram diferentes respostas em relação a concentração aplicada nas mesmas. Nas sementes da linhagem LA

4050, nos dois tempos de condicionamento, aquelas que passaram pelo osmocondicionamento com concentração de 0,0 μM de Se apresentaram maior porcentagem de germinação e de IVG em relação às demais concentrações. De maneira geral, para as duas linhagens, as sementes osmocondicionadas por 24 h em todas as concentrações apresentaram melhores respostas em relação as sementes osmocondicionadas por 48 h. Os efeitos benéficos do osmocondicionamento podem alterar as respostas de acordo com a duração do tratamento (Armondés *et al.*, 2016).

Desta forma, Carvalho *et al.* (2003) observaram redução da germinação em sementes de alface, tomate e rabanete suplementadas com elevadas concentrações de Se (> 29 ppm), indicando que quando estas são relativamente altas (200 ppm) podem inibir a germinação e o crescimento de plântulas. O efeito do Se é variável com a espécie e com o genótipo. Pode-se observar que foram obtidas respostas diferentes para as sementes da linhagem LA 4050 comparadas às da linhagem LA 3475 em relação às concentrações de Se e tempo de osmocondicionamento, confirmando a estreita relação entre benefício ou não desse elemento. Sob déficit hídrico verificou-se que a linhagem LA 4050, mais tolerante, apresentou maiores valores de porcentagem de germinação que a linhagem LA 3475, mais sensível a tal condição. É importante ressaltar que a única diferença genética entre as duas linhagens é a introgressão de um pequeno fragmento de *S. pennellii* na cultivar M82 (linhagem LA 4050) em relação a linhagem LA 3475 (cultivar M82). Esse resultado se assemelha ao encontrado por Pessoa (2018), que trabalhando com sementes de diferentes linhagens de introgressão de *S. pennellii* submetidas ao déficit hídrico, observou aumento ou diminuição das características avaliadas nas mesmas. A autora atribuiu os diferentes níveis de tolerância ao déficit hídrico na germinação das sementes das linhagens aos fragmentos introgrididos nos diferentes cromossomos e às regiões de um mesmo cromossomo. Assim, novos estudos buscando identificar genes candidados nesse fragmento podem contribuir para a elucidação dos mecanismos responsáveis pela maior tolerância da linhagem LA 4050 ao déficit hídrico durante o processo de germinação.

A concentração de 60 μM de selênio utilizada nas sementes de tomate desencadeou efeito negativo ou não melhorou a germinação e início do

desenvolvimento das plântulas. No entanto, quando as concentrações aplicadas foram reduzidas, apesar de nem sempre terem resultado em maior germinação e vigor das sementes, também não causaram efeito prejudicial. Conhecer a atividade enzimática das sementes de tomate expostas a estas condições torna-se essencial para buscar mais respostas dos possíveis efeitos do Se nas sementes, uma vez que na literatura há relatos que o excesso de Se pode resultar na formação de espécies reativas de oxigênio (ERO's) e subsequente peroxidação lipídica contribuindo para a fitotoxicidade do Se nas plantas (Terry *et al.*, 2000), bem como a aplicação de concentração correta pode ser benéfico às plantas por melhorar o sistema de defesa antioxidante por meio da ativação de mecanismos antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos (Hasanuzzaman e Fujita, 2011; Khaliq *et al.*, 2015).

Devido a estreita relação entre toxicidade e benefício do Se, assim como os efeitos diversos de sua forma de aplicação, os resultados encontrados sugerem a importância de se realizar novas experimentações a nível físico, fisiológico e bioquímico com o objetivo de elucidar os mecanismos envolvidos nas respostas encontradas no presente estudo, considerando que na literatura são escassos trabalhos com a espécie e com a forma de fornecimento do Se via osmocondicionamento a fim de induzir tolerância ao déficit hídrico em sementes.

CONCLUSÕES

O osmocondicionamento utilizando-se 60 μM de Se não beneficia a germinação e o vigor das sementes de tomate da linhagem LA 3475, sensível ao déficit hídrico.

O osmocondicionamento utilizando-se 60 μM de Se contribui para o aumento na porcentagem de plântulas normais e velocidade de germinação nas sementes de tomate da linhagem LA 4050, nos tempos de 48 e 72 horas, respectivamente.

O binômio osmocondicionamento com concentração de 12,5 μM de Se e tempo de 24 h tem potencial para ser utilizado em sementes de tomate provindas de linhagens tolerantes e suscetíveis ao déficit hídrico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABULSOUD, M.; ABD ELRAHMAN, S. H. Foliar selenium application to improve the tolerance of eggplant grown under salt stress conditions. **International Journal of Plant & Soil Science**, v. 9, n. 1, p.1-10, jan, 2016.

AHAMAD, R.; WARAICH, E. A.; NAWAZ F.; ASHRAF, M. Y.; KHALID, M. Selenium (Se) improves drought tolerance in crop plants – a myth or fact? **Journal of the science of food and agriculture**, v. 96, n. 2, p. 372-380, 2015.

ALVARENGA, M. A. R.; COELHO, F. S. Sistema de produção. *In*: ALVARENGA, M. A. R. **Tomate: produção em campo, casa de vegetação e hidroponia**. 2 ed. rev. e ampl., Lavras: Editora UFLA, 2013. p. 202-243.

ARMONDES, K. A. P.; DIAS, D. C. F. S.; MARTÍNEZ, P. A. H.; SILVA, L. J.; HILST, P. C. Condicionamento osmótico e desempenho de sementes de repolho com diferentes níveis de vigor. **Horticultura Brasileira**, v. 34, n. 3, p. 428-434, 2016.

BALAL, R. M.; SHAHID, M. A.; JAVAID, M. M.; IQBAL, Z.; ANJUM, M. A.; GARCIA-SÁNCHEZ, F.; MATTSON, N. S. The role of selenium in amelioration of heat-induced oxidative damage in cucumber under high temperature stress. **Acta Physiol. Plantarum**, v. 38, n. 158, p. 1-14, maio, 2016.

BELA, G.; ZEMEDE, A.; ASSEFA, K.; WOLD, G. M.; TEFERA, H. Seed size effect on grain weight and agronomic performance of tef [*Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter]. **African Journal of Agricultural Research**, v. 4, n. 9, p. 836-839, set., 2009.

BOLDRIN, P. F.; FAQUIN, V.; RAMOS, S. J.; BOLDRIN, K. V. F.; ÁVILA, F. W.; GUILHERME, L. R. G. Soil and foliar application of selenium in rice biofortification. **Journal Food Compost Anal**, v. 31, n. 2, p. 238-244, set., 2013.

BORBA, M. E. A.; MACIEL, G. M.; MARQUEZ, G. R.; FRAGA JÚNIOR, E. F.; NOGUEIRA, G. G. S. Genetic diversity and selection in tomato genotypes under water stress induced by mannitol. **Bioscience Journal**, v. 33, n. 3, p. 592-600, maio-jun, 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009, 399 p.

CARVALHO, K. M.; GALLARDO-WILLIAMS, M. T.; BENSON, R. F.; MARTIN, D. F. Effects of selenium supplementation on four agricultural crops. **J. Agric. Food Chem.**, v. 51, n. 3, p. 704-709, jan., 2003.

CARVALHO, N. M. de; NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência, Tecnologia e Produção**. 5 ed. Jaboticabal: Editora Funep, 2012, 590 p.

DIAO, M.; MA, L.; WANG, J.; CUI, J.; FU, A.; LIU, H. Y. Selenium promotes the growth and photosynthesis of tomato seedlings under salt stress by enhancing chloroplast antioxidant defense system. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 33, n. 3, p. 671-682, set., 2014.

DONG, J. Z.; WANG, Y.; WANG, S. H.; YIN, L. P.; XU, G. J.; ZHENG, C.; LEI, C.; ZHANG, M. Z. Selenium increases chlorogenic acid, chlorophyll and carotenoids of *Lycium chinense* leaves. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 2, p. 310-315, maio, 2012.

EASLON H. M.; RICHARDS J. H. Drought response in self-compatible species of tomato (Solanaceae). **American Journal of Botany**, v. 96, n. 3, p. 605-611, mar., 2009.

EL MEHDAWI, A. F.; PILON-SMITS, E. A. H. Ecological aspects of plant selenium hyperaccumulation. **Plant Biology (Stuttg.)**, v. 14, n. 1, p. 1–10, jan., 2012.

ELOUAER, M. A.; HANNACHI, C. Seed priming to improve germination and seedling growth of safflower (*Carthamus tinctorius*) under salt stress. **EurAsian Journal of Biosciences**, v. 6, p. 76-84, 2012.

FLORIDO, M.; BAO, L.; LARA, R. M.; CASTRO, Y.; ACOSTA, R.; ÁLVAREZ, M. Efecto del estrés hídrico simulado con peg 6000 en la germinación en tomate (*Solanum* sección *Lycopersicon*). **Cultivos Tropicales**, vol. 39, no. 1, pp. 87-92, 2018.

FREEMAN, J. L.; TAMOKI, M.; STUSHNOFF, C.; QUINN, C. F.; CAPPA, J. J.; DEVONSHIRE, J.; FAKRA, S. C.; MARCUS, M. A.; MCGRATH, S. P.; HOEWYK, D. V.; PILON-SMITS, E. A. H. Molecular mechanisms of selenium tolerance and hyperaccumulation in *Stanleya pinnata*. **Plant Physiology**, v. 153, p. 1630-1652, ago., 2010.

GIROTTO, L.; ALVES, J. D.; DEUNER, S.; ALBUQUERQUE, A. C. S.; TOMAZONI, A. P. Tolerância à seca de genótipos de trigo utilizando agentes indutores de estresse no processo de seleção. **Revista Ceres**, v. 59, n. 2, p. 192–199, mar./abr., 2012.

GUR, A.; ZAMIR, D. Unused natural variation can lift yield barriers in plant breeding. **PLoS Biology**, v. 2, n. 10, p. 1610-1615, out., 2004.

HARRIS, D.; TRIPATHI, R. S.; JOSHI, A. On-farm seed priming to improve crop establishment and yield in dry direct-seeded rice. *In*: PANDEY, S., MORTIMER, M., WADE, L., TUONG, T. P., LOPEZ, K.; HARDY, B. **Direct Seeding: research strategies and opportunities**. Irri Books, 2002, p. 231-240.

HASANUZZAMAN, M.; FUJITA, M. Selenium pretreatment upregulates the antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system and confers enhanced tolerance to drought stress in rapeseed seedlings. **Biological Trace Element Research**, v. 143, n. 3, p. 1758-1776, dez., 2011.

IBRAHIM, E. A. Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. **Journal of Plant Physiology**, v. 192, n. 15, p. 38-46, mar., 2016.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants**. 3 ed., Boca Ranton: CRC Press, 2001.

KHALIQ, A.; ASLAM, F.; MATLOOB, A.; HUSSAIN, S.; GENG, M.; WAHID, A.; REHMAN, H. Seed priming with Selenium: consequences for emergence, seedling growth and biochemical attributes of rice. **Biological Trace Element Research**, v. 166, n. 2, p. 236- 244, fev., 2015.

KUMAR, J. K.; PADMANABH, D. Physiological analysis of tomato genotype under PEG induced drought stress. **Trends in Biosciences**, v. 8, n. 11, p. 2768-2771, jun., 2015.

MACHADO, F. H. B.; DAVID, A. M. S. S.; CANGUSSÚ, L. V. S.; FIGUEIREDO, J. C.; AMARO, H. T. R. Physiological quality of seed and seedling performance of crambe genotypes under water stress. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** v. 21, n. 3, p.175-179, 2017.

MACIEL, G. M.; BERENQUER, A. F.; SILVA, E. C. da; FRAGA JÚNIOR, E. F.; ROCHA, D. K.; ROCHA, J. P. R. da. Estresse hídrico induzido por manitol para seleção de genótipos de tomateiro. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 60, n. 4, p. 315-321, out-dez., 2017.

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

MORALES, R. G. F. **Resistência ao déficit hídrico em famílias de tomateiro derivados de *Solanum pennellii***. 2012, Tese (Doutorado em Produção Vegetal). Universidade Federal de Lavras. Lavras-MG. 2012.

MOREIRA, G. R.; SILVA, D. J. H. da; CARNEIRO, P. C. S.; PICANÇO, M. C.; VASCONCELOS, A. A.; PINTO, C. M. F. Herança de caracteres de resistência por antixenose de *Solanum pennellii* à traça-do-tomateiro em cruzamento com 'Santa Clara'. **Horticultura Brasileira**, v. 31, n. 4, p. 574-581, 2013.

MOULICK, D.; GHOSH, D.; SANTRA, S. C. Evaluation of effectiveness of seed priming with selenium in rice during germination under arsenic stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 109, p. 571-578, dez., 2016.

MROCZEK-ZDYRSKA, M.; WÓJCIK, M. The influence of selenium on root growth and oxidative stress induced by lead in *Vicia faba* L. minor plants. **Biological Trace Element Reseach** v. 147, n. 1-3, p. 320–328, jun., 2012.

NAWAZ, F., ASHRAF, M. Y., AHMAD, R., WARAICH, E. A. Selenium (Se) Seed Priming Induced Growth and Biochemical Changes in Wheat Under Water Deficit Conditions. **Biological Trace Element Research**, v. 151, n. 2, p. 284–293, 2013.

OLIVEIRA, S. S. C. de; CRUZ, S. J. S.; MARTINS, C. C. Estresse hídrico e salino na germinação de sementes e crescimento de plântulas de nabo forrageiro. **Magistra**, v. 30, p. 435-444, 2019.

PESSOA, H. P. **Linhagens de introgressão derivadas de *Solanum pennellii*: tolerância ao déficit hídrico durante a germinação e no estágio de plântula**. 2018. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal de Viçosa. UFV. Viçosa-MG. 2018.

PILON-SMITS, E. A. H.; QUINN, C. F.; TAPKEN, W.; MALAGOLI, M.; SCHIAVON, M. Physiological functions of beneficial elements. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, n. 3, p. 267-274, 2009.

PRADO, E. R.; ALVES, L. R.; CARREGARI, S. M. R.; OLIVEIRA, R. de; GRATÃO, P. L. Seed priming with selenium improves drought stress tolerance in radish seedling. **Holoes Environment** (Online), p. 163-173, 2017.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Available from: <http://www.R-project.org/>. Acesso em: 15.out.2019.

SADEGHI, H.; KHAZAEI, F.; YARI, L.; SHEIDAEI, S. Effect of seed osmopriming on seed germination behavior and vigor of soybean (*Glycine max* L.). **ARNP Journal of Agricultural and Biological Science**, v. 6, n. 1, p. 39-43 2011.

SCHIAVON, M.; MORO, I.; PILON-SMITS, E. A. H.; MATOZZO, V., MALAGOLI, M.; DALLA VECCHIA, F. Accumulation of selenium in *Ulva* sp. and effects on morphology, ultrastructure and antioxidant enzymes and metabolites. **Aquatic Toxicology**. v. 122–123, p. 222–231, out., 2012.

SILVA, M. L. M.; ALVES, E. U.; BRUNO, R. L. A.; SANTOS-MOURA, S. S.; SANTOS NETO, A. P. Germinação de sementes de *Chorisia glaziovii* O. kuntze submetidas ao estresse hídrico em diferentes temperaturas. **Ciência Florestal**, v. 26, n. 3, p. 999–1007, jul-set., 2016.

TELLES, D. D.; COSTA, R. P. **Reúso da água: Conceitos, teorias e práticas**. 2. ed. São Paulo:Editora Blucher, 2010, 424 p.

TERRY, N.; ZAYED, A. M.; SOUZA, M. P. de; TARUN, A. S. Selenium in higher plants. **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.** v. 51, p. 401–432, jun., 2000.

VILLELA, F. A.; DONI FILHO, L.; SEQUEIRA, E. L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.26, n. 11/12, p.1957-1968, nov./dez., 1991.

WHITE, P. J. Selenium accumulation by plants. **Annals of Botany**, London, v. 117, n. 2, p. 217–235, fev., 2016.

WIESNER-REINHOLD, M.; SCHREINER, M.; BALDERMANN, S.; SCHWARZ, D.; HANSCHEN, F. S.; KIPP, A. P.; ROWAN, D. D.; BENTLEY-HEWITT, K. L.; MCKENZIE, M. J. Mechanisms of selenium enrichment and measurement in brassicaceous vegetables, and their application to human health. **Front Plant Science**, v. 8, p. 1-20, ago., 2017.

CAPÍTULO 2

Qualidade física, fisiológica e atividade enzimática de sementes de tomate osmocondicionadas com e sem selênio e submetidas ao déficit hídrico

RESUMO

SILVEIRA, Alice de Souza, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março 2021. **Qualidade física, fisiológica e atividade enzimática de sementes de tomate osmocondicionadas com e sem selênio e submetidas ao déficit hídrico**. Orientador: Laércio Junio da Silva. Coorientadores: Daniel Teixeira Pinheiro e Rafael Macedo de Oliveira.

As respostas de sementes e plantas à seca envolvem processos bioquímicos, fisiológicos e moleculares. Estudos recentes vêm comprovando o papel do selênio (Se) em promover a resistência de plantas à estresses. Isto devido a sua capacidade de diminuir a peroxidação de lipídeos por meio dos seus efeitos no sistema antioxidante. Correlacionando à qualidade fisiológica de sementes, como a germinação, a análise de imagens por raios X tornou-se ferramenta importante para a avaliação física das mesmas. Diante do exposto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a qualidade física e fisiológica, bem como a atividade de enzimas do sistema antioxidante de sementes de duas linhagens de tomate osmocondicionadas, com e sem Se, e posteriormente submetidas ao déficit hídrico durante o processo de germinação. As sementes do acesso LA 3475 e da isolinha LA 4050 foram submetidas a duas formas de osmocondicionamento: com solução de polietilenoglicol (PEG 6000) a -1,0 MPa mais selenato de sódio (Na_2SeO_4) na concentração de 12,5 μM ou apenas com solução de polietilenoglicol (PEG 6000) a -1,0 MPa, ambos por 24 horas. O controle consistiu em sementes não osmocondicionadas (0 h). Logo após, as sementes provenientes dos diferentes tratamentos foram submetidas ao déficit hídrico induzido por PEG 6000 na concentração de -0,3 MPa ou ao controle com água destilada (0,0 MPa). Foram realizadas análises de imagens (raios X), sendo obtidas as variáveis: Área (mm); Perímetro (mm); Largura (mm); Comprimento (mm); Circularidade (mm); Solidez; Densidade relativa (cinza.pixel⁻¹); Densidade integrada (cinza pixel.mm⁻¹); Média de cinza

(cinza.mm⁻¹) e Preenchimento (%). Em seguida, as mesmas sementes foram submetidas ao teste de germinação. Foram avaliadas a porcentagem de protrusão radicular e de plântulas normais na primeira e última contagem do teste de germinação e índices de velocidade de germinação. Além disso, foram analisadas as atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidase (POX) e o teor de proteínas das plântulas oriundas das sementes submetidas ao déficit hídrico. O osmocondicionamento, sobretudo com PEG, proporcionou às sementes de ambas as linhagens maiores densidade relativa e média de cinza nas radiografias quando comparadas às sementes não condicionadas. As sementes em condição de déficit hídrico apresentaram menor desempenho fisiológico e menor atividade enzimática. Da mesma forma, o Se não induziu resistência às sementes ao déficit. Assim, o osmocondicionamento com PEG 6000 a -1,0 MPa apresenta ser uma técnica eficiente para melhoria da qualidade fisiológica de sementes das linhagens de tomate suscetíveis e tolerantes ao déficit hídrico.

Palavras-chave: Germinação. Estresse Abiótico. Atividade Enzimática. Raios X. Osmocondicionamento.

CHAPTER 2

Physical, physiological quality and enzymatic activity of osmoprimed seeds with and without selenium under water deficit

ABSTRACT

SILVEIRA, Alice de Souza, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2021. **Physical and physiological quality and enzymatic activity of osmoprimed seeds with and without selenium under water deficit.** Adviser: Laércio Junio da Silva. Co-advisers: Daniel Teixeira Pinheiro and Rafael Macedo de Oliveira.

Seed and plant responses to drought involve biochemical, physiological, and molecular processes. Recent studies have proven the role of selenium (Se) in promoting plant resistance to stress. This fact is due to its ability to reduce lipid peroxidation through its effects on the antioxidant system. The analysis of images using X-rays became an important tool to provide a physical evaluation of seeds by correlating their physiological quality, such as using germination. Given the above, the present study aimed to evaluate physical and physiological quality, as well as the activity of antioxidant enzymes in tomato seeds from two lineages osmoprimed with and without Se under water deficit during the germination process. Seeds from LA 3475 access and LA 4050 isoline were osmoprimed in two different ways: using a polyethylene glycol solution (PEG 6000) at -1.0 MPa with 12.5 μM of Na_2SeO_4 or using only a PEG 6000 solution at -1.0 MPa, both for 24 hours. Non-primed seeds were taken as the control (0 h). Soon after, seeds from different treatments were submitted to water deficit induced by PEG 6000 at a concentration of -0.3 MPa or to a control with distilled water (0.0 MPa). Image analyzes (X-rays) were performed to obtain the following variables: Area (mm^2); Perimeter (mm); Width (mm); Length (mm); Circularity (mm); Solidity; Relative density ($\text{grey}\cdot\text{pixel}^{-1}$); Integrated density ($\text{grey}\cdot\text{pixel}\cdot\text{mm}^{-1}$); Grey mean ($\text{grey}\cdot\text{mm}^{-1}$); and filling (%). Then, the same seeds were submitted to the germination test. The percentage of radicle protrusion, percentage of normal seedlings in the first and last count, and the germination speed indexes were evaluated. In addition, the activity of

superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and peroxidase (POX) enzymes, and the protein content of seedlings from seeds under water deficit were evaluated. The osmopriming, especially with PEG, promoted higher values of relative density and grey mean in radiographs of seeds from both lineages when compared to non-primed seeds. Seeds under water deficit showed lower physiological performance and lower enzymatic activity. Therefore, osmopriming with PEG 6000 at -1.0 MPa is an efficient technique to improve the physiological quality of tomato seeds from susceptible and tolerant to water deficit lineages.

Keywords: Germination. Abiotic Stress. Enzymatic Activity. X-Rays. Osmopriming.

INTRODUÇÃO

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é de grande importância econômica, sendo a segunda hortaliça mais cultivada mundialmente, superada apenas pela batata (Moreira *et al.*, 2013). É uma cultura altamente exigente em água desde a germinação até a frutificação (Alverenga e Coelho, 2013), requerendo volume entre 0,89 e 2,30 L planta⁻¹ dia⁻¹ de água para uma boa produção (Wahb-Allah, Alsadon e Ibrahim, 2011). Sendo assim, o tomateiro é considerado sensível ao déficit hídrico (Santana *et al.*, 2009).

Para o tomateiro, são escassas pesquisas que visem à obtenção de genótipos tolerantes a estresses abióticos como a seca. Segundo Bernier *et al.* (2008), esse fato está relacionado à complexidade da característica, já que é controlada por muitos genes com diferentes efeitos, sendo também afetada pela intensidade do estresse. Não há disponíveis cultivares comerciais de tomate com níveis satisfatórios de tolerância à seca. Desta forma, o melhoramento genético torna-se importante principalmente para as regiões sujeitas ao estresse hídrico (Berenguer, 2015).

Existem espécies selvagens de tomate que ocorrem naturalmente em ambientes escassos em água e que servem como fonte genética de caracteres morfológicos, fisiológicos e bioquímicos (Rousseaux *et al.*, 2015), possibilitando serem utilizados em pesquisas com a finalidade de obter plantas tolerantes ao estresse hídrico. Introduzir essas características em germoplasma comercial, por meio do melhoramento genético, poderá possibilitar a produção de tomates em ambientes áridos, com disponibilidade limitada de água (Morales, 2012). *Solanum pennellii* é uma dessas espécies, naturalmente tolerante à seca, originária das regiões Andinas da América do Sul (Bolger, Lohse e Usadel, 2014), possui maior eficiência no uso da água apresentando características morfológicas distintas ao *S. lycopersicum* (Martin e Thorstenson, 1988; Kebede *et al.*, 1994; Torrecillas *et al.*, 1995; Lake *et al.*, 2001; Camargo e Marengo, 2011). *S. pennellii* tem uma sequência genômica completa (Bolger *et al.*, 2014) e uma coleção composta por 76 linhagens de introgressão (ILs) bem caracterizada que cobre todo o genoma do progenitor doador *S. pennellii* no fundo genético da cultivar M82 de *S. lycopersicum*, sensível ao déficit hídrico (Eshed e Zamir, 1995).

As respostas das plantas ao déficit hídrico envolvem diversos processos bioquímicos, fisiológicos e moleculares (Samota *et al.*, 2017). Primeiramente, a falta de água afeta a germinação. A embebição é influenciada por fatores físicos e fisiológicos da semente, como permeabilidade e composição química do tegumento e das condições do meio em que se encontra, como temperatura e potencial hídrico (Bela *et al.*, 2009). A disponibilidade de água deve ser o suficiente para ativar as reações químicas relacionadas ao metabolismo promovendo a retomada do crescimento do embrião e consequente protrusão da radícula (Bewley *et al.*, 2013). Nesse sentido, a presença de água é indispensável, pois é o veículo responsável pelo aumento da atividade respiratória na semente, culminando em translocação e transformação de reservas utilizadas como fonte de energia e substrato para estruturas celulares, fundamentais para a germinação e crescimento de plântulas (Kikuchi *et al.*, 2006; Ataíde, Borges e Leite Filho, 2016).

Durante o processo de germinação, várias enzimas participam de reações metabólicas relacionadas à síntese e degradação de moléculas, como a α -amilase; à atividade respiratória, como a malato desidrogenase e álcool desidrogenase. Da mesma forma, existem enzimas que removem os radicais livres nas células. Estas pertencem aos sistemas antioxidantes, não enzimático (ácido ascórbico (AsA), glutathiona (GSH), compostos fenólicos, alcalóides, aminoácidos não protéicos e α -tocoferóis) e enzimático (superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), peroxidase (POD), glutathiona redutase (GR), monodesidroascorbato redutase (MDHAR), desidroascorbato redutase (DHAR), glutathiona peroxidase (GPX) e glutathiona S-transferase (GST), dentre outras) (McDonald, 1999; Gill e Tujeta, 2010).

Em condições de estresse, o equilíbrio entre a produção de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) e a sua eliminação, necessário para a normal homeostase celular, é perturbado (Das e Roychoudhury, 2014). Os sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos estão envolvidos na eliminação de EROs produzidas em excesso por plantas em condições adversas, como por exemplo, sob déficit hídrico. Elas provocam danos a proteínas, carboidratos, lipídios, moléculas de DNA e RNA, membranas celulares que, em última instância, resultará no estresse oxidativo podendo provocar até mesmo a morte

celular (Mittler, 2002; Gill e Tuteja, 2010). As EROs constituem os radicais livres ($O_2^{\bullet-}$, radical superóxido; OH^{\bullet} , radical hidroxil; HO_2^{\bullet} , radical perhydroxil e RO^{\bullet} , radicais alcoxil) e as formas não-radicais (moleculares) (H_2O_2 , peróxido de hidrogênio e 1O_2 , oxigênio singlete) (Gill e Tuteja, 2010).

Existem vários mecanismos que podem contribuir para a eliminação das EROs em plantas. Estudos recentes vêm comprovando o papel do selênio (Se) promovendo a resistência de plantas a estresses bióticos (Pilon-Smits *et al.*, 2009; El Mehdawi e Pilon-Smits, 2012) e abióticos (Hasanuzzaman e Fujita, 2011; Nawaz *et al.*, 2013; AbulSoud e Abd Elrahman, 2016; Balal *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2016). Apesar do Se não ser considerado essencial para os vegetais, ele é reconhecido como benéfico, favorecendo o desenvolvimento e crescimento de plantas, estando presente na composição de várias proteínas e enzimas, demonstrando o seu forte papel nutricional (Rios *et al.*, 2010; Ávila *et al.*, 2013; Kaur *et al.*, 2014).

A função protetora do Se contra estresses em plantas está associada à sua capacidade de diminuir a peroxidação de lipídeos (Pilon-Smits *et al.*, 2009) por meio do sistema antioxidante (Djanaguiraman *et al.*, 2010, White, 2016). Atua como centro catalítico de selenoproteínas como a glutathiona peroxidase (GPX) e tioredoxinas redutases (TR), da catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) (Rayman, 2000; Pilon-Smits *et al.*, 2009; Nawaz *et al.*, 2016) reduzindo, em especial, os íons $O_2^{\bullet-}$ e/ou H_2O_2 (Feng, Wei e Tu, 2013). Outro fato a ser considerado é a sua semelhança química com o enxofre (S), compartilhando vias de assimilação com esse elemento (Freeman *et al.*, 2010). Portanto, todos os metabólitos do S possuem o Se incorporado, como os aminoácidos sulfurados selenometionina e selenocisteína, moléculas similares a metionina e a cisteína, respectivamente (White, 2016). Como consequência à substituição não específica de S por Se em compostos contendo S, em elevadas concentrações, o Se pode provocar toxicidade nas plantas (Terry *et al.*, 2000; Kabata-Pendias e Pendias, 2001), além de sua absorção, em geral, ser limitada por altos níveis de S (Malagoli *et al.*, 2015). Desta forma, concentrações elevadas de Se em plantas causam estresse oxidativo (Mroczek-Zdyrska e Wójcik, 2012; Schiavon *et al.*, 2012; White, 2016) e o limite entre esses dois extremos dependerá da espécie vegetal e do ambiente (Wiesner-Reinhold *et al.*, 2017).

Dentre as formas de fornecimento artificial do Se para as plantas, o *priming* ou osmocondicionamento de sementes vêm mostrando resultados promissores para algumas espécies (Hasanuzzaman e Fujita, 2011; Nawaz *et al.*, 2013). O osmocondicionamento é uma técnica de hidratação controlada de sementes, utilizando soluções osmóticas, iniciando os processos pré-germinativos, porém, não permite que ocorra a protrusão da radícula, o que pode promover maior tolerância à estresses abióticos (Paparella *et al.*, 2015). O osmocondicionamento com Se permitiu maior tolerância à seca em colza (*Brassica napus*) melhorando seu sistema de defesa antioxidante por meio da atividade enzimática e não-enzimática (Hasanuzzaman e Fujita, 2011). Em trigo (*Triticum aestivum* L.), o osmocondicionamento aumentou o conteúdo total de açúcar e aminoácidos livres totais (Nawaz *et al.*, 2013).

Além das análises fisiológicas e bioquímicas em sementes e/ou plântulas com o intuito de avaliar os efeitos do tratamento com osmocondicionamento associados à tolerância ao déficit hídrico, atualmente a análise de imagens por raios X (ISTA, 2004) tornou-se ferramenta importante para avaliação da qualidade física de sementes e para correlacioná-las aos resultados fisiológicos, como a germinação (Kobori, Cicero e Medina, 2012). Por meio das radiografias, pode-se verificar a morfologia interna da semente e conseqüentemente, verificar a ocorrência de danos mecânicos e por insetos e até mesmo aqueles advindos da má formação (ISTA, 2004; Pinto *et al.*, 2009; Cicero, 2010; Abud, Cicero e Gomes Junior, 2018; Borges *et al.*, 2019; Medeiros *et al.*, 2020c), de maneira rápida, não destrutiva e de fácil execução (Carvalho *et al.*, 2009). Borges *et al.* (2019) verificaram que a análise de imagens por meio da técnica de raios X para sementes de tomate em diferentes estádios de maturação é eficiente para o estudo da germinação e maturidade desta espécie. No entanto, as informações que relacionam o osmocondicionamento com Se e os atributos físicos podem auxiliar na melhor compreensão dos eventos associados às respostas ao condicionamento.

Diante do exposto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a qualidade física, fisiológica e atividade enzimática de sementes de duas linhagens de tomate osmocondicionadas com Se e posteriormente submetidas ao déficit hídrico durante o processo de germinação.

MATERIAL E MÉTODOS

Osmocondicionamento das sementes

Sementes de tomate da cultivar M82 (acesso LA 3475) e da linhagem IL 1-4-18 (acesso LA 4050) foram submetidas ao osmocondicionamento com solução de selenato de sódio (Na_2SeO_4 - Sigma-Aldrich), na concentração de $12,5 \mu\text{M}$, ou sem o Se, ambos em solução de polietilenoglicol (PEG 6000) a $-1,0 \text{ Mpa}$ (Villela, Doni Filho e Sequeira, 1991), durante 24 horas. O controle consistiu em sementes não osmocondicionadas.

As sementes foram mantidas na solução com ou sem Na_2SeO_4 , em Erlenmeyer (capacidade de 1000 mL), juntamente com PEG, sob temperatura de $15 \text{ }^\circ\text{C}$, em câmara do tipo B.O.D. Os Erlenmeyers foram vedados e submetidos à aeração forçada por meio de uma bomba de ar e sob iluminação, ambos constantes.

Após os períodos de osmocondicionamento, as sementes foram lavadas em água corrente e secas sob temperatura ambiente ($25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$), até que a umidade se estabilizasse. Em seguida, as sementes foram submetidas ao teste de raios X e, na sequência, ao teste de germinação sob déficit hídrico induzido por PEG 6000, na concentração de $-0,3 \text{ MPa}$ (Jangid e Dwivedi, 2015; Borba *et al.*, 2017; Maciel *et al.*, 2017), preparado segundo Villela, Doni Filho e Sequeira (1991) ou apenas água destilada ($0,0 \text{ MPa}$).

Análises físicas (Teste de Raios X)

As sementes foram submetidas à análise de seus tecidos internos por meio da técnica de raios X com a utilização de 160 sementes de cada tratamento, fixadas em grupos de 20 sementes de forma ordenada e equidistante em papel adesivo. Este procedimento foi realizado para permitir a identificação individual de cada semente nas análises posteriores, como a germinação das mesmas.

As imagens radiográficas foram geradas por um dispositivo Faxitron, modelo MX-20 (Faxitron x-ray Corp. Wheeling, IL, EUA). O equipamento foi ajustado para uma tensão de 23 kV e as sementes foram expostas à radiação por 10 segundos, à uma distância focal de $41,6 \text{ cm}$. O contraste da imagem foi

calibrado em 970 (width) x 2300 (center). As imagens foram salvas em *Tagged Image File Format* (TIFF) e, em seguida, analisadas.

A análise das imagens automatizadas foi realizada no software livre ImageJ® (<https://imagej.nih.gov/ij/download.html>), realizada com o auxílio da macro *IJCropSeed* (Medeiros *et al.*, 2020a). As variáveis obtidas nesta análise foram:

Área (mm): área dentro do polígono definido pelo perímetro;

Perímetro (mm): Comprimento do limite externo da seleção;

Largura (mm): Largura do menor retângulo que abrange a seleção;

Comprimento (mm): Altura do menor retângulo que abrange a seleção;

Circularidade (mm): Definido pela fórmula $4 \times \text{Área} / (\pi \text{ eixo principal}^2)$;

Solidez: Definida pela fórmula $\text{Área} / \text{Área convexa}$;

Densidade relativa (cinza pixel⁻¹): Média dos valores de cinza de todos os pixels na área selecionada;

Densidade integrada (cinza pixel mm⁻¹): Soma dos valores dos pixels na imagem ou na seleção;

Média de cinza (cinza mm⁻¹): Escala de cinza mediana;

Preenchimento (%): Duas máscaras são criadas, uma selecionando um método de limite que seleciona pixels com valores mais altos na seleção e outra capaz de selecionar toda a semente, incluindo furos. Ao final, as máscaras binarizadas são subtraídas e o resultado é a porcentagem de tecidos com maior densidade (cinza definido pelo primeiro método) dentro da semente.

Análises fisiológicas

As mesmas sementes utilizadas nas análises de imagens por raios X foram avaliadas quanto à sua qualidade fisiológica. Para tanto, precedeu-se o teste de germinação. As sementes foram dispostas em caixas do tipo *gerbox* na mesma ordem das imagens radiográficas, visando permitir a análise individualizada.

Foram utilizadas oito repetições de 25 sementes por tratamento. As sementes foram semeadas sobre duas folhas de papel *germitest*, umedecidas com 2,5 vezes o peso do papel seco com PEG 6000 (-0,3 MPa) ou água destilada (0,0 MPa). Os *gerbox* foram embalados em sacos de plástico

transparente e colocados em câmara do tipo B.O.D., sob temperatura constante de 25 °C e fotoperíodo de 8 h de luz e 16 h de escuro.

Foram realizadas contagens diárias do número de sementes germinadas (protrusão radicular) e de plântulas normais. A partir desses dados, foram calculados os percentuais de protrusão radicular (radícula maior que 2 mm) e plântulas (radícula e parte aérea na proporção de 1:1 e com as primeiras folhas visíveis, com coloração verde, independente se estavam fechadas), primeira contagem de germinação (PC), índice de velocidade de germinação (IVG), massa fresca de plântula (MF), tempo para germinação de 50% das sementes (t50), uniformidade de germinação (UnifG), tempo médio de germinação (TMG), taxa média de germinação (TaMG), variância do tempo de germinação (VarGer), sincronia de germinação (Sinc) e coeficiente de velocidade de germinação (CVG), utilizando-se o pacote SeedCalc do R (Silva *et al.*, 2019).

Atividade enzimática e teor de proteínas

Para a análise da atividade das enzimas antioxidativas, as sementes foram colocadas para germinar, conforme descrito para o teste de germinação.

Após 14 dias, as plântulas foram congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -20 °C. Os extratos enzimáticos brutos foram obtidos por meio da maceração de 0,2 g de material vegetal em nitrogênio líquido, seguida de adição de 2 mL de meio de extração, tampão fosfato de potássio (0,1M, pH 6,8), contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) (0,1 mM), fluoreto de fenilmetilsulfônico (PMSF) (1,0 mM) e polivinilpolipirrolidona (PVPP) 1% (p/v) (Peixoto *et al.*, 1999). O homogeneizado foi centrifugado a 19.000 g por 15 min., a 4 °C.

Em seguida, o extrato bruto foi utilizado para a obtenção do teor de proteínas solúveis e para a avaliação das atividades das enzimas Superóxido Dismutase, Catalase e Peroxidases, conforme metodologias descritas a seguir:

Teor de proteínas: Foi determinado utilizando-se albumina bovina (BSA) como padrão (Bradford, 1976). Utilizou-se 50 µL do extrato enzimático adicionado a 1 mL do reagente de Bradford, seguido de agitação. Após 20 minutos, foi realizada a leitura da absorbância da amostra em espectrofotômetro a 595 nm. Os resultados foram expressos em mg.g⁻¹ de matéria fresca.

Superóxido dismutase (SOD): Determinada pela adição de 100 µL do extrato enzimático bruto a 2,90 mL de meio de reação, constituído de tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 7,8, contendo metionina 13 mM, azul de p-nitro tetrazólio (NBT) 75 µM, EDTA 0,1 mM e riboflavina 2 µM (Del Longo *et al.*, 1993). A reação foi conduzida a 25 °C, em uma câmara de reação iluminada com uma lâmpada fluorescente de 15 W. Após 5 min de exposição à luz, a iluminação foi interrompida e a formazana azul, produzida pela fotorredução do NBT, foi medida pela absorvância a 560 nm. O valor da absorvância de um meio de reação igual ao anterior, mas mantido no escuro pelo mesmo período, serviu como branco e foi subtraído da leitura de cada amostra que recebeu iluminação (Giannopolitis e Ries, 1977). Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir em 50% a fotorredução do NBT (Beauchamp e Fridovich, 1971). Os resultados foram expressos em $U \text{ min}^{-1} \mu\text{g}^{-1}$ proteína.

Catalase (CAT): Determinada pela adição de 100 µL do extrato enzimático bruto a 2,90 mL de meio de reação, constituído de tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,0 e H_2O_2 12,5 mM (adaptado de Havir e McHale, 1987). O decréscimo na absorvância a 240 nm a 25°C foi medido durante o primeiro minuto de reação. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de $36 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ (Anderson *et al.*, 1995) e os resultados expressos em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína.

Peroxidase (POX): Determinada pela adição de 100 µL do extrato enzimático bruto a 2,90 mL de meio de reação, constituído de tampão fosfato de potássio 25 mM, pH 6,8, pirogalol 20 mM e H_2O_2 20 mM (adaptado de Kar e Mishra, 1976). A produção de purpurogalina foi medida por meio do incremento da absorvância a 420 nm a 25 °C. A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de $2,47 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ (Chance e Maehly, 1955) e os resultados expressos em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína.

Análise estatística

O experimento foi conduzido em esquema fatorial 3x2, sendo três tratamentos de osmocondicionamentos (com Se, sem Se e sementes não condicionadas) e dois níveis de déficit hídrico durante a germinação (com ou sem déficit hídrico). O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado,

com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância. As médias dos tratamentos de condicionamento foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. As médias obtidas para os tratamentos de déficit hídrico durante a germinação foram comparadas pelo teste F, a 5% de probabilidade. As duas linhagens foram avaliadas individualmente.

Foi realizada uma análise multivariada de componentes principais (PCA) para os atributos fisiológicos e bioquímicos. Uma matriz “n x p” foi obtida, onde n corresponde ao número de tratamentos (n = 6) e “p” o número de variáveis analisadas (p = 15). Os autovalores e autovetores foram calculados a partir das matrizes de covariância e plotados em gráficos bidimensionais (diagrama de ordenação de categorias e círculo de correlações), geradas a partir do pacote Factoextra (Kassambara e Mundt, 2016). A correlação de Pearson (r) foi calculada com os dados obtidos em todas as avaliações para as duas linhagens. O software estatístico R foi utilizado em todas as análises (R Core Team, 2020).

RESULTADOS

Análises físicas (raios X)

De maneira geral, os atributos físicos relacionados à forma, como área (AREA), perímetro (PER), largura (LARG), comprimento (COMP) e circularidade (CIRC), não diferiram estatisticamente entre os tratamentos de osmocondicionamento (Tabela 1 e 2). Da mesma forma, para a solidez (SOLID), preenchimento das sementes (PREENCH) e a densidade integrada (DENS.INT) também não foram verificadas diferenças entre os condicionamentos. Por outro lado, foi possível observar que o osmocondicionamento, sobretudo com PEG, proporcionou nas sementes de ambas as linhagens, maior densidade relativa (DENS.REL) e maior média de cinza (MED.CINZA) quando comparadas às sementes não condicionadas (Tabelas 1 e 2).

Na Figura 1, é possível visualizar que as sementes osmocondicionadas (PEG e PEG + Se) apresentaram maior desenvolvimento embrionário em relação àquelas não osmocondicionadas, o que pode ser relacionado com a

maior densidade relativa dessas sementes comparado aos demais tratamentos (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Atributos físicos de sementes de tomate da linhagem 4050 submetidas a diferentes tratamentos de osmocondicionamento.

Condicionamento	ÁREA (mm)	PER (mm)	LARG (mm)	COMP (mm)	CIRC ($4\text{Área}/(\pi \text{ eixo principal}^2)$)
PEG	3,99 B	7,77 B	2,29 B	2,39 A	0,819 A
PEG + Se	4,27 A	8,03 A	2,45 A	2,37 A	0,822 A
Não condicionadas	4,22 AB	8,02 A	2,41 A	2,39 A	0,820 A
CV (%)	4,61	2,36	3,69	3	1,59
Condicionamento	SOLID	DENS. REL. (cinza pixel ⁻¹)	DENS. INT. (cinza pixel mm ⁻¹)	MED. CINZA (cinza mm ⁻¹)	PREENCH (%)
PEG	0,964 A	72,31 A	291,55 A	75,57 A	99,87 A
PEG + Se	0,965 A	67,19 B	289,82 A	70,17 B	99,77 A
Não condicionadas	0,962 A	64,16 C	274,06 A	66,25 C	99,86 A
CV (%)	0,962 A	3,3	6,26	3,19	0,08

Área (ÁREA); perímetro (PER); largura (LARG); comprimento (COMP); circularidade (CIRC); solidez (SOLID.); densidade relativa (DENS. REL.); densidade integrada (DENS. INT.); média de cinza (MED. CINZA); preenchimento (PREENCH). Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna, comparando efeito do osmocondicionamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 2. Atributos físicos de sementes de tomate da linhagem 3475 submetidas a diferentes tratamentos de osmocondicionamento.

Condicionamento	ÁREA (mm)	PER (mm)	LARG (mm)	COMP (mm)	CIRC (4Área /(π eixo principal ²))
PEG	4,71 B	8,48 B	2,65 A	2,44 B	0,789 A
PEG + Se	5,02 A	8,74 A	2,56 A	2,69 A	0,787 A
Não condicionadas	5,05 A	8,79 A	2,55 A	2,71 A	0,792 A
CV (%)	3,14	1,71	3,87	2,73	1,58
Condicionamento	SOLID	DENS. REL. (cinza pixel ⁻¹)	DENS. INT. (cinza pixel mm ⁻¹)	MED. CINZA (cinza mm ⁻¹)	PREENCH (%)
PEG	0,966 A	71,16 A	337,08 A	74,16 A	99,81 A
PEG + Se	0,966 A	67,82 B	340,38 A	70,98 B	99,7 B
Não condicionadas	0,964 A	66,14 B	335,51 A	68,41 B	99,87 A
CV (%)	0,48	2,78	4,27	2,84	0,06

Área (ÁREA); perímetro (PER); largura (LARG); comprimento (COMP); circularidade (CIRC); solidez (SOLID.); densidade relativa (DENS. REL.); densidade integrada (DENS. INT.); média de cinza (MED. CINZA); preenchimento (PREENCH). Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna, comparando efeito do osmocondicionamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

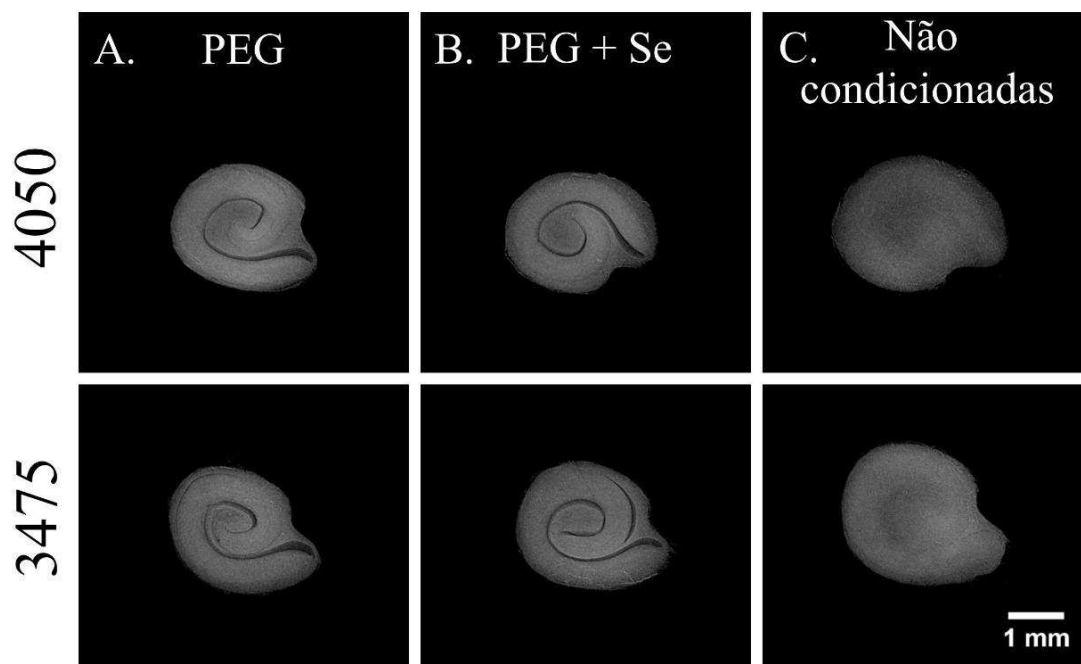


Figura 1. Radiografias de sementes de duas linhagens de tomate (LA 4050 e LA 3475) osmocondicionadas com PEG (A), osmocondicionadas com PEG + Se (B) e não condicionadas (C).

Análises fisiológicas

O déficit hídrico reduziu os valores de qualidade fisiológica analisados nas sementes das duas linhagens (Tabelas 3 e 4).

Para as sementes da linhagem LA 4050 (Tabela 3), que apresenta maior tolerância ao déficit hídrico, os resultados de protrusão radicular (PR); plântulas normais (PN) e índice de velocidade de germinação (IVG) foram semelhantes entre os tratamentos de déficit hídrico e entre os tratamentos de osmocondicionamento. O osmocondicionamento com PEG ou PEG + Se melhorou o desempenho das sementes submetidas ao déficit hídrico quando comparadas às sementes não osmocondicionadas. Em relação ao controle (sementes não submetidas ao déficit hídrico), a porcentagem de PN foi reduzida nas sementes osmocondicionadas com PEG + Se e submetidas ao déficit hídrico. O tempo para germinação de 50% das sementes (t_{50}), uniformidade de germinação (UnifG) e tempo médio de germinação (TMG) foi maior nas sementes sob déficit hídrico, principalmente naquelas não osmocondicionadas. Não foi verificada diferenças na MF das plântulas

independentemente do osmocodicionamento e do tratamento de déficit hídrico. O osmocondicionamento apenas com PEG contribuiu para o aumento da qualidade fisiológica das sementes, com maiores valores de taxa média de germinação (TaMG), variância do tempo de germinação (VarGer), sincronia de germinação (Sinc), coeficiente de velocidade de germinação (CVG), especialmente em relação às sementes não condicionadas, sendo que sob déficit isso ficou mais evidente.

Em relação às sementes da LA 3475 (Tabela 4), foi verificada para protrusão radicular (PR) e plântulas normais (PN) que os osmocondicionamentos (PEG e PEG + Se) não melhoraram o desempenho das sementes, tanto na condição sob déficit hídrico, quanto no tratamento sem o déficit (controle). Sementes não osmocondicionadas apresentaram menor porcentagem de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação (PC) em relação às sementes condicionadas com PEG e PEG + Se. Da mesma forma que nas sementes da linhagem LA 4050, o tempo para germinação de 50% das sementes (t_{50}), uniformidade de germinação (UnifG) e tempo médio de germinação (TMG) foram maiores para as sementes sob déficit hídrico e, principalmente, para as não osmocondicionadas. Sob déficit hídrico, a MF foi reduzida em todos os tratamentos. Os osmocondicionamentos (PEG e PEG + Se) não melhoraram o desempenho das sementes em relação a taxa média de germinação (TaMG), variância do tempo de germinação (VarGer), sincronia de germinação (Sinc), coeficiente de velocidade de germinação (CVG) e as sementes não condicionadas apresentaram redução na TaMG e CVG, tanto no tratamento controle, sem déficit, quanto sob déficit hídrico.

Tabela 3. Qualidade fisiológica de sementes de tomate da linhagem 4050 submetidas a diferentes tratamentos de condicionamento osmótico e déficit hídrico durante o processo de germinação.

PR (%)			PN (%)			PC (%)			IVG			
Condicionamento	Déficit	Controle	Média	Déficit	Controle	Média	Déficit	Controle	Média	Déficit	Controle	Média
PEG	86 Ba	96 Aa	91	82 Ba	93 Aa	88	49	94	72 A	3,97 Ba	7,10 Aa	5,53
PEG + Se	91 Aa	98 Aa	94	86 Ba	97 Aa	91	43	93	68 A	4,18 Ba	7,07 Aa	5,62
Não condicionadas	69 Bb	95 Aa	82	56 Bb	98 Aa	77	29	96	63 A	2,41 Bb	7,17 Aa	4,79
Média	82	96		75	96		40 b	94 a		3,52	7,11	
CV (%)	6,61			7,19			16,27			7,8		
t50 (dias)			UnifG			TMG (dias)			TaMG			
Condicionamento	Déficit	Controle	Média	Déficit	Controle	Média	Déficit	Controle	Média	Déficit	Controle	Média
PEG	7,82 Ab	4,64 Ba	6,23	3,04 Ab	2,09 Ba	2,57	8,45 Ab	5,35 Ba	6,89	0,118	0,187	0,153 A
PEG + Se	7,94 Ab	4,86 Ba	6,4	4,12 Ab	2,54 Ba	3,33	8,57 Ab	5,63 Ba	7,1	0,117	0,178	0,147 AB
Não condicionadas	9,26 Aa	4,86 Ba	7,06	5,72 Aa	2,12 Ba	3,92	9,78 Aa	5,54 Ba	7,66	0,103	0,181	0,142 B
Média	8,34	4,79		4,3	2,25		8,93	5,51		0,113 b	0,182 a	
CV (%)	7			18,81			5,31			4,74		
VarGer			Sinc			CVG			MF			
Condicionamento	Déficit	Controle	Média	Déficit	Controle	Média	Déficit	Controle	Média	Déficit	Controle	Média
PEG	1,75 Ab	0,67 Aa	1,21	0,246	0,552	0,399 A	11,86	18,71	15,28 A	0,0136	0,0331	0,0233 A
PEG + Se	3,33 Aa	0,99 Ba	2,16	0,171	0,403	0,287 B	11,69	17,78	14,74 AB	0,0117	0,0274	0,0195 A
Não condicionadas	4,23 Aa	0,62 Ba	2,42	0,149	0,495	0,323 AB	10,25	18,08	14,17 B	0,0757	0,0369	0,0563 A
Média	3,1	0,76		0,189 b	0,483 a		11,27 b	18,19 a		0,0337 a	0,0324 a	
CV (%)	38			21,65			4,74			132,29		

Protrusão radicular (PR); plântulas normais (PN); primeira contagem de germinação (PC); índice de velocidade de germinação (IVG); tempo para germinação de 50% das sementes (t50), uniformidade de germinação (UnifG), tempo médio de germinação (TMG), taxa média de germinação (TaMG), variância do tempo de germinação (VarGer), sincronia de germinação (Sinc), coeficiente de velocidade de germinação (CVG) e matéria fresca de plântula (MF). Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas, comparando o efeito dos tratamentos de osmocondicionamento, não diferem pelo teste F ($p < 0,05$); Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas, comparando o efeito do déficit hídrico, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 4. Qualidade fisiológica de sementes de tomate da linhagem 3475 submetidas a diferentes tratamentos de condicionamento osmótico e déficit hídrico durante o processo de germinação.

PR (%)				PN (%)			PC (%)			IVG		
Condicionamento	Déficit	Controle	Média	Déficit	Controle	Média	Déficit	Controle	Média	Déficit	Controle	Média
PEG	86	96	91 A	75	93	84 A	38,5	90	64 A	3,56 Ba	6,711 Aa	5,13
PEG + Se	83	97	90 A	71	93	82 A	36	89,5	63 A	3,49 Ba	6,45 Aa	4,97
Não condicionadas	85	92	88 A	73	79	76 A	23,5	59,5	42 B	3,13 Ba	4,25 Ab	3,69
Média	84 b	95 a		73 b	88 a		33 b	80 a		3,39	5,8	
CV (%)	5,08			8,74			20,71			13,24		
t50 (dias)				UnifG			TMG			TaMG		
Condicionamento	Déficit	Controle	Média	Déficit	Controle	Média	Déficit	Controle	Média	Déficit	Controle	Média
PEG	7,92	4,94	6,43 B	4,08 Aa	2,14 Bb	3,11	8,73	5,65	7,19 B	0,115 Ba	0,177 Aa	0,146
PEG + Se	7,76	5,26	6,51 B	3,98 Aa	2,78 Bab	3,38	8,52	6,01	7,26 B	0,118 Ba	0,166 Aa	0,142
Não condicionadas	8,89	6,88	7,89 A	3,27 Aa	3,77 Aa	3,53	9,49	7,86	8,68 A	0,105 Ba	0,129 Ab	0,117
Média	8,19 a	5,69 b		3,78	2,9		8,91 a	6,51 b		0,113	0,157	
CV (%)	8,3			22,07			7,68			7,16		
VarGer				Sinc			CVG			MF		
Condicionamento	Déficit	Controle	Média	Déficit	Controle	Média	Déficit	Controle	Média	Déficit	Controle	Média
PEG	2,59	1,03	1,81 A	0,206	0,403	0,304 A	11,48 Ba	17,73 Aa	14,61	0,0109	0,0342	0,0226 A
PEG + Se	2,56	2,02	2,29 A	0,216	0,314	0,265 AB	11,82 Ba	16,66 Aa	14,24	0,0093	0,0331	0,0212 A
Não condicionadas	2,29	2,81	2,55 A	0,175	0,268	0,222 B	10,55 Ba	12,86 Ab	11,7	0,0155	0,0331	0,0243 A
Média	2,48 a	1,95 a		0,199 b	0,328 a		11,28	15,75		0,0119 b	0,0335 a	
CV (%)	43,08			22,69			7,16			24,58		

Protrusão radicular (PR); plântulas normais (PN); primeira contagem de germinação (PC); índice de velocidade de germinação (IVG); tempo para germinação de 50% das sementes (t50), uniformidade de germinação (UnifG), tempo médio de germinação (TMG), taxa média de germinação (TaMG), variância do tempo de germinação (VarGer), sincronia de germinação (Sinc), coeficiente de velocidade de germinação (CVG) e matéria fresca de plântula (MF). Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas, comparando o efeito dos tratamentos de osmocondicionamento, não diferem pelo teste F ($p < 0,05$); Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas, comparando o efeito do déficit hídrico, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Atividade enzimática e teor de proteínas

De maneira geral, a atividade das enzimas do sistema antioxidante foi reduzida nas plântulas sob déficit hídrico nas duas linhagens de tomate (Figuras 2 e 3).

Nas plântulas da linhagem LA 405 oriundas de sementes não osmocondicionadas, para a atividade da SOD e POX houve interação significativa entre os fatores osmocondicionamento e déficit hídrico (Figura 2A e 2B). Sob déficit hídrico, a atividade dessas duas enzimas não diferiu entre os tratamentos de osmocondicionamento. Porém, no controle foi verificada aumento de atividade enzimática em plântulas oriundas de sementes osmocondicionadas. Para a CAT, o osmocondicionamento com PEG reduziu a atividade da enzima, mas esta não diferiu dos valores obtidos para as sementes osmocondicionadas com PEG + Se (Figura 2D).

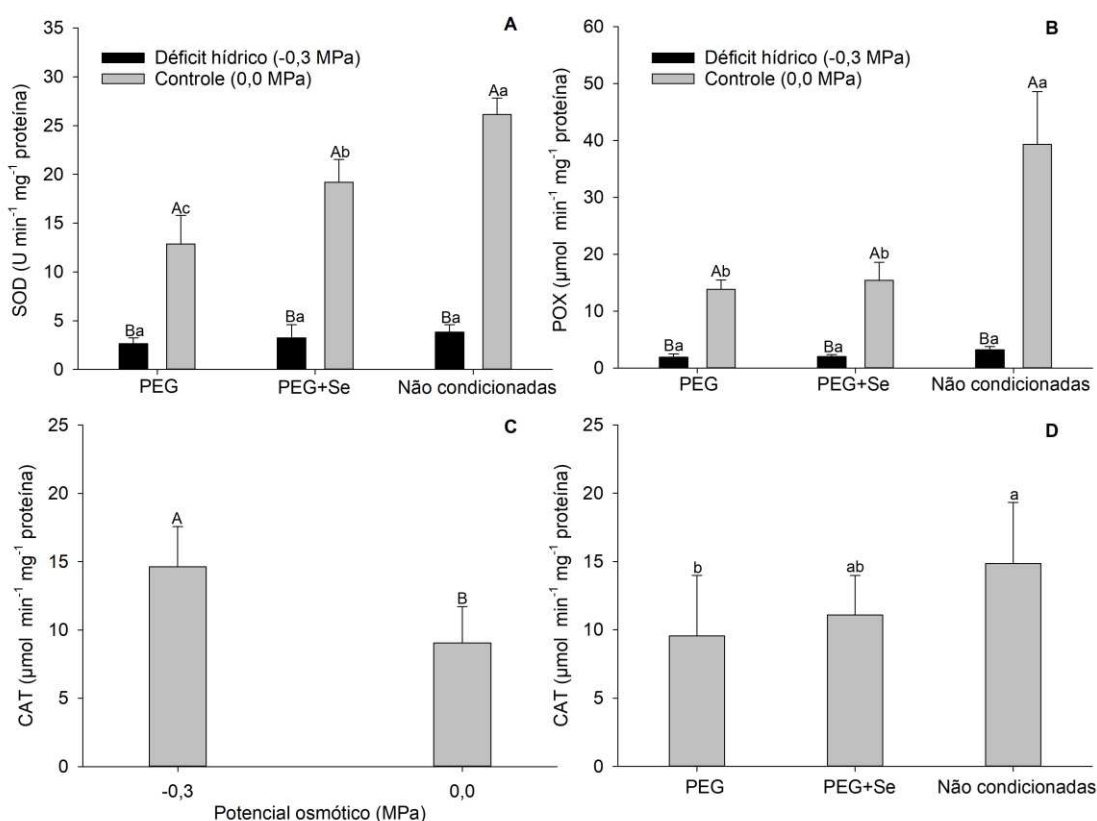


Figura 2. Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) (A), peroxidase (POX) (B) e catalase (CAT) (C e D) em plântulas de tomate da linhagem 4050 providas de sementes osmocondicionadas com PEG ou Se e submetidas ao déficit hídrico durante a germinação. Médias seguidas pela mesmas letras minúsculas, comparando o efeito do condicionamento osmótico, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas, comparando o efeito do déficit hídrico, não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

Em plântulas da linhagem LA 3475, foi verificada interação entre os fatores osmocondicionamento e déficit hídrico para a atividade das enzimas SOD, POX e CAT (Figura 3). Sob déficit hídrico, a atividade da SOD e POX não diferiu entre os tratamentos de osmocondicionamento. No controle, o osmocondicionamento com PEG proporcionou aumento na atividade das enzimas em relação aos demais tratamentos de condicionamento. Em sementes não osmocondicionadas, não houve diferença entre a atividade da SOD e POX sob déficit ou sem déficit hídrico (Figura 3-A e 3-B), o que também foi verificado em sementes osmocondicionadas com PEG + Se quanto a atividade da POX (Figura 3-B). Sob déficit hídrico, ocorreu menor atividade da CAT em sementes osmocondicionadas com PEG. No controle, as plântulas oriundas de sementes não condicionadas tiveram maior atividade desta enzima em comparação às osmocondicionadas (PEG e PEG + Se). Não foi observada diferença na atividade da enzima CAT em plântulas sob déficit hídrico ou sem déficit, oriundas de sementes osmocondicionadas com PEG ou PEG + Se (Figura 3-C).

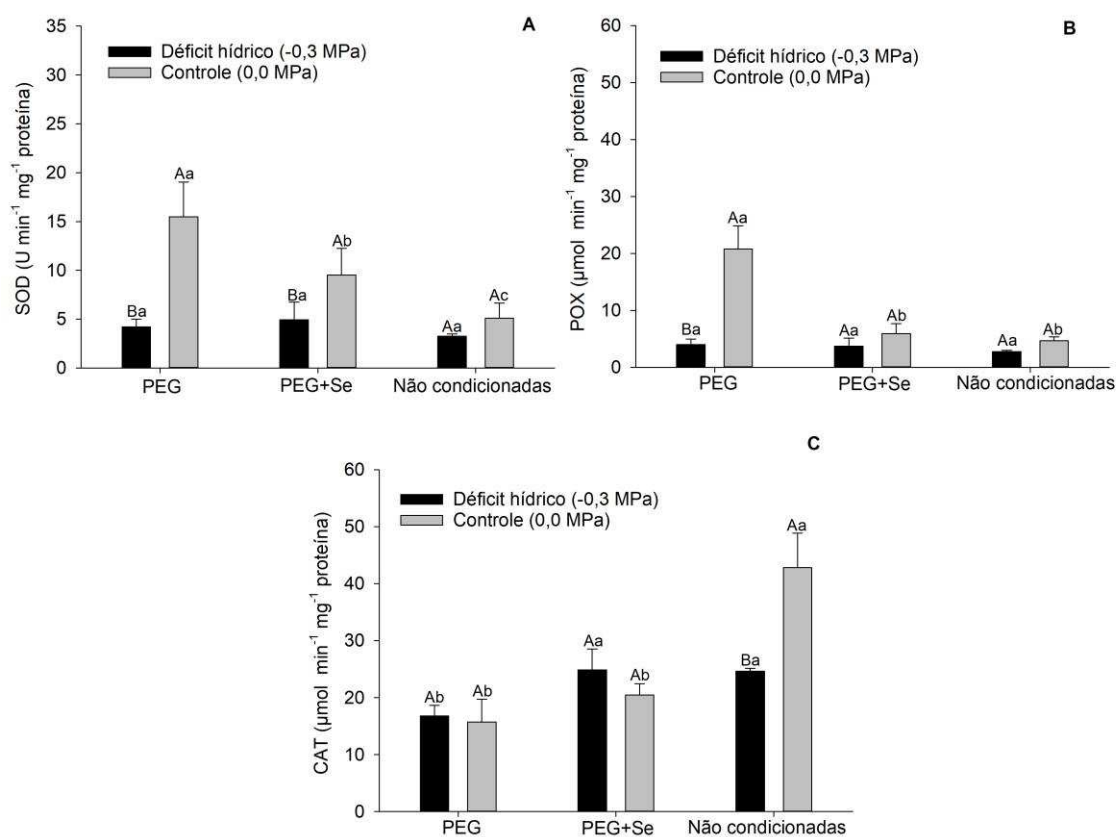


Figura 3. Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) (A), peroxidase (POX) (B) e catalase (CAT) (C e D) em plântulas de tomate da linhagem 3475 providas de sementes

osmocondicionadas com PEG ou Se e submetidas ao déficit hídrico durante a germinação. Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas, comparando o efeito do déficit hídrico, não diferem entre si pelo teste F ($p < 0,05$).

Análise de Componentes Principais (PCA)

Por meio da análise de componentes principais (PCA), observa-se que para ambas as linhagens (Figura 4A e 4B), os componentes 1 (PC1) e 2 (PC2), explicaram mais de 80% da variabilidade dos dados. Os vetores de qualidade fisiológica (cor vermelha), relacionados à germinação e à velocidade e uniformidade de germinação, se concentraram em sua maioria nos escores positivos do componente 1 (PC1+), próximos aos vetores bioquímicos (cor azul) referentes às enzimas SOD e POX e aos tratamentos controle (Figura 4A e B). Os tratamentos com déficit hídrico (Não condicionadas-Déficit, PEG-Déficit e PEG+Se-Déficit) se concentraram nos escores negativos do componente 1 (PC1-), próximos aos vetores da CAT, UnifG, VarGer, TMG e t50.

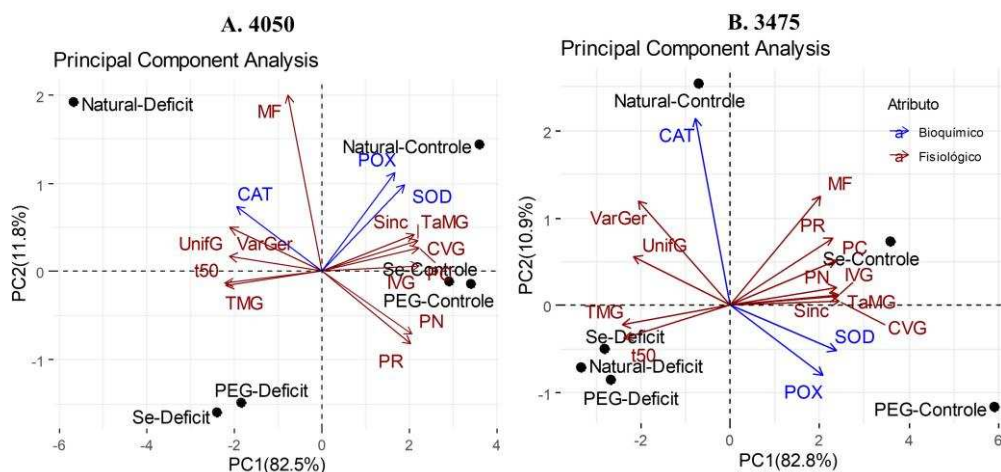


Figura 4. Gráfico *biplot* da análise de componentes principais (PCA) obtido pela combinação linear das variáveis fisiológicas e bioquímicas de sementes e plântulas das linhagens de tomate 4050 (A) e 3475 (B). As sementes foram submetidas a diferentes condições de condicionamento osmótico (PEG, PEG + Se e sementes não condicionadas) e ao déficit hídrico durante a germinação. PC1(Componente principal 1); PC2 (Componente principal 2); PR (Protrusão radicular); PN (Plântulas normais); PC (Primeira contagem de germinação); IVG (índice de velocidade de germinação); t50 (tempo para germinação de 50% das sementes); UnifG (uniformidade de germinação); TMG (tempo médio de germinação); TaMG (taxa média de germinação); VarGer (variância do tempo de germinação); Sinc (sincronia de germinação); CVG (coeficiente de velocidade de germinação); MF (matéria fresca de plântulas); SOD (superóxido dismutase); POX (peroxidase); CAT (catalase).

Assim como por meio da comparação das médias e do PCA, pela análise de correlação de Pearson, os resultados previamente observados são confirmados, sendo o comportamento semelhante para as duas linhagens

(Figura 5A e B). Houve correlações negativas entre t50, UnifG e TMG com PR, PN, PC, IVG, SOD e POX. Para a LA 4050, a CAT apresentou correlações negativas com PR, PN, PC e IVG e correlações positivas com t50, UnifG e TMG. Os atributos físicos também não apresentaram correlações significativas com os de qualidade fisiológica e atividade enzimática (bioquímico) para as sementes desta linhagem (Figura 5A). Para a LA 3475, os descritores físicos, com exceção da densidade relativa (DENSREL) e média de cinza (MEDCINZA), também não apresentaram correlações significativas com os atributos fisiológicos e principalmente para a enzima CAT, atributo bioquímico (Figura 5B).

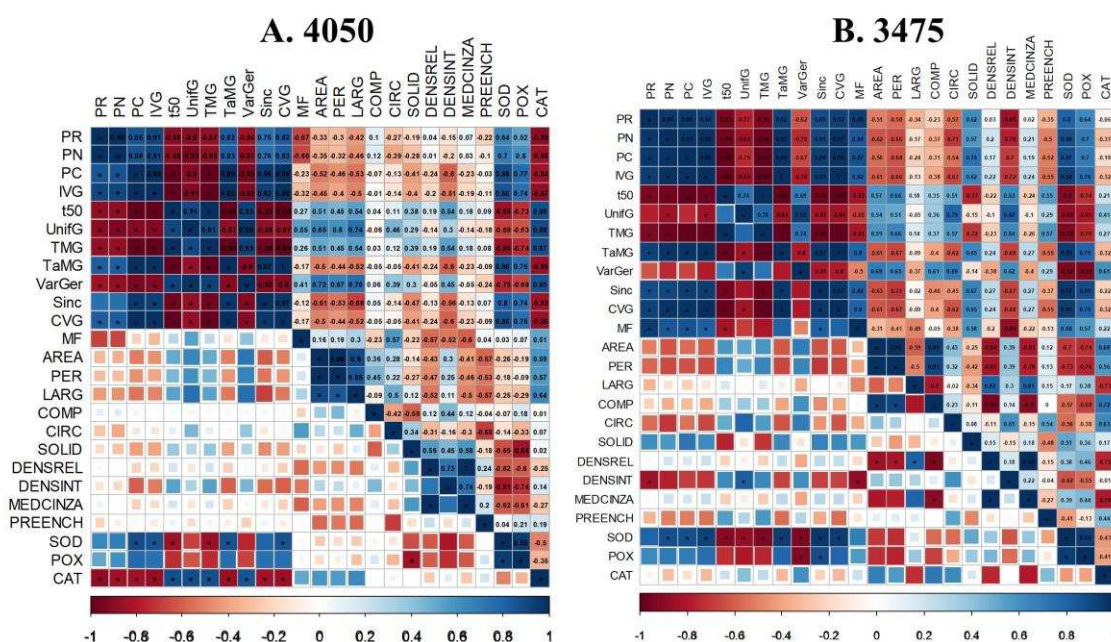


Figura 5. Correlação de Pearson entre todas as variáveis fisiológicas, físicas e bioquímicas de sementes e plântulas das linhagens de tomate 4050 (A) e 3475 (B). As sementes foram submetidas a diferentes condições de condicionamento osmótico (PEG, PEG + Se e sementes não condicionadas) e ao déficit hídrico durante a germinação. PR (Protrusão radicular); PN (Plântulas normais); PC (Primeira contagem); IVG (índice de velocidade de germinação); t50 (tempo para germinação de 50%); UnifG (uniformidade de germinação); TMG (tempo médio de germinação); TaMG (taxa média de germinação); VarGer (variância do tempo de germinação); Sinc (sincronia de germinação); CVG (coeficiente de velocidade de germinação); MF (matéria fresca de plântulas); AREA (área); PER (perímetro); LARG (largura); COMP (comprimento); ARRED (arredondamento); SOLID (solidez); DENSREL (densidade relativa); DENSINT (densidade integrada); MEDCINZA (média de cinza); PREENCH (preenchimento); SOD (superóxido dismutase); POX (peroxidase); CAT (catalase).

DISCUSSÃO

Análises de imagens de raios X são eficientes para prever a performance das sementes de tomate por meio da avaliação da morfologia do

embrião, permitindo a seleção de sementes de alta qualidade (Borges *et al.*, 2019). Ao analisar os resultados do teste de raios X, pode-se verificar que ocorreu maior desenvolvimento embrionário nas sementes osmocondicionadas, em especial com PEG, sendo representado pela maior densidade relativa de tecidos (Tabelas 1 e 2), o que implicou em melhores respostas fisiológicas como uniformidade e velocidade de germinação, isto para as duas linhagens (Tabelas 3 e 4). A densidade relativa é um parâmetro utilizado para inferir sobre a qualidade fisiológica, pois está relacionado com a densidade dos tecidos internos das sementes (Abud, Cicero e Gomes Junior, 2018). A maior densidade dos tecidos aqui relacionadas positivamente com a qualidade fisiológica das sementes já foi observado em tomate (Borges *et al.*, 2019) e outras espécies como *Piptadenia gonoacantha* (Pinheiro *et al.*, 2020); *Leucaena leucocephala* (Medeiros *et al.*, 2018) e *Jatropha curcas* (Medeiros *et al.*, 2020b). Esse parâmetro relaciona-se diretamente com a formação do embrião e acúmulo de reservas utilizadas durante o processo de germinação (Cheng *et al.*, 2015).

Para as sementes osmocondicionadas, foi possível observar nas imagens de raios X que elas apresentaram um espaço entre o embrião e o endosperma, que pode ser associado ao maior desenvolvimento embrionário pelo consumo de parte do endosperma, devido ao tratamento a que foram submetidas (Liu *et al.*, 1999) e não à área vazia na semente. Alguns atributos físicos das sementes estão mais relacionados ao genótipo, como por exemplo área, perímetro, largura, comprimento e circularidade. Assim, para estes parâmetros, em geral, não foram observadas diferenças entre os tratamentos de osmocondicionamento.

O déficit hídrico reduziu a germinação, o crescimento inicial e a uniformidade de plântulas das duas linhagens de tomate. Resultados semelhantes foram encontrados por Florido *et al.* (2018) em sementes de acessos de tomate contrastantes quanto a tolerância ao déficit hídrico, verificando que sob baixos potenciais osmóticos simulados com PEG os materiais tiveram redução da germinação. A resposta ao estresse hídrico envolve diversos processos bioquímicos, fisiológicos e moleculares (Samota *et al.*, 2017). A falta de água durante a embebição das sementes provoca redução na velocidade de hidratação dos tecidos e difusão de oxigênio,

retardamento do início da atividade enzimática, redução do crescimento meristemático, problemas no alongamento celular, na síntese de parede e na emissão da radícula (Hadas, 1976; Girotto *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2016). Além disso, diferentes respostas ao déficit hídrico dependem da espécie e/ou cultivar utilizada, bem como o tempo e duração da condição (Galviz-Fajardo *et al.*, 2020).

O osmocondicionamento, em síntese, beneficiou o desempenho fisiológico das sementes, principalmente de sementes da linhagem LA 4050, mais tolerante ao déficit hídrico. Essa técnica expõe as sementes a baixos potenciais hídricos o que permite a embebição parcial ativando eventos da germinação como o reparo e a síntese de DNA e RNA, atividade respiratória, mobilização de reservas, síntese enzimática, sem, contudo, ocorrer a protrusão da radícula. Desta forma, o osmocondicionamento promove maior uniformidade e sincronismo na germinação, bem como na emergência e no desenvolvimento de plântulas (Kissmann *et al.*, 2010; Varier *et al.*, 2010; Chen e Arora, 2013), tanto em condições normais quanto sob estresses abióticos (Bradford, 1976).

Em nosso trabalho, sementes sob déficit hídrico apresentaram menor porcentagem de germinação e crescimento inicial de plântulas em relação ao controle. Ao compararmos as sementes osmocondicionadas (PEG + Se e PEG) com as não osmocondicionadas, sob déficit hídrico ou não, ocorreram melhores respostas nas sementes submetidas à técnica de condicionamento.

Galviz-Fajardo *et al.* (2020) osmocondicionaram sementes de tomate com ácido salicílico e as submeteram ao déficit hídrico, foi verificado a redução de parâmetros fisiológicos das sementes e plântulas comparadas ao controle com água destilada. Segundo Bruce *et al.* (2007), o osmocondicionamento funcionaria como uma exposição da semente a um estresse pré-germinativo, as deixando com uma “memória ao estresse”. Ou seja, a técnica ativa as fases I e II da germinação, não permitindo que ocorra a fase III, que caracteriza-se como a fase de emissão da radícula (Bewley *et al.*, 2013). Por isso, quando as sementes são expostas, por exemplo, ao déficit hídrico após serem osmocondicionadas ocorre mais rápida germinação e estabelecimento inicial de plântulas em comparação às que não passaram pelo mesmo tratamento (Bruce *et al.*, 2007).

Para sementes de tomate, o osmocondicionamento resultou em embebição mais rápida, aumento na extensibilidade das paredes celulares da radícula e enfraquecimento do endosperma, provocando assim, redução da fase anterior à emergência da radícula (Haigh e Barlow, 1987). Portanto, a técnica mostra-se interessante, pois reduz o período de produção de mudas com alto vigor (Mavi *et al.*, 2006), até mesmo sob deficiência hídrica (Sadeghi e Robati, 2015).

De fato, as linhagens responderam diferentemente aos tratamentos, apesar de certa semelhança nos resultados. Para as sementes da linhagem LA 3475, o osmocondicionamento (PEG e PEG + Se), em geral, não mostrou melhoria no desempenho ligado às qualidade fisiológica das sementes, principalmente na germinação e crescimento de plântulas, sob déficit hídrico ou não. Porém, para as sementes não osmocondicionadas houve maior tempo necessário tanto para a germinação e quanto uniformidade de germinação. Para as sementes da linhagem LA 4050, mais tolerante ao déficit hídrico, foi observado que os osmocondicionamentos (PEG e PEG + Se) foram benéficos em relação às sementes não osmocondicionadas, em condição de déficit hídrico. Nesse caso, sementes osmocondicionadas sem Se apresentaram melhoria no desempenho fisiológico. Com isso, pode-se enfatizar que o genótipo pode resultar em respostas distintas ao fornecimento de Se (Eurola *et al.*, 1991) e do osmocondicionamento em si. O osmocondicionamento com PEG melhorou a germinação e o crescimento inicial de plântulas de cultivares arroz (*Oryza sativa* L.) sob déficit hídrico simulado com PEG (Sun *et al.*, 2010).

Em trigo (*Triticum aestivum* L.), o osmocondicionamento de sementes com Se (selenato de sódio a 25, 50, 75 e 100 μM por 0,5 ou 1 h a 25 °C) respondeu de forma distinta entre cultivares sob déficit hídrico, mas resultou em melhoria de parâmetros fisiológicos de plântulas (Nawaz *et al.*, 2013), o que para nossa pesquisa não ficou evidente. A resposta das sementes ao osmocondicionamento com Se dependem do nível de estresse a que foram expostas, espécie e/ou cultivar, duração, concentração e tempo (Hasanuzzaman e Fujita, 2011; Nawaz *et al.*, 2013; Khaliq *et al.*, 2015). Para o tomate, trabalhos relacionados ao papel desta técnica utilizando o Se devem ser mais explorados.

No presente estudo, os resultados de atividade enzimática em plântulas de tomate para as duas linhagens foi uma surpresa, pois esperava-se que a mesma aumentasse sob déficit hídrico e nas sementes osmocondicionadas, em especial com Se, haja visto o seu papel protetor. Segundo pesquisas, o papel do Se está principalmente relacionado a sua atuação no sistema antioxidante de plantas regulando a superprodução de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) em células sob condições de desequilíbrio provocados por estresses abióticos, em especial do íon superóxido ($O_2^{\bullet-}$) e/ou da molécula peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Feng, Wei e Tu, 2013). Porém, em concentrações elevadas, o Se é um pró-oxidante, causando redução no crescimento de plantas e aumento da peroxidação, e leva a uma superprodução das EROs (Hawrylak-Nowak, 2013). Por isso, torna-se importante mensurar a atividade enzimática em trabalhos com Se.

Para ambas as linhagens, o osmocondicionamento com Se não resultou maior atividade sistema de defesa antioxidante das plântulas e sob déficit hídrico houve menor atividade das enzimas SOD e POX. No controle, ou seja, água destilada, as plântulas da linhagem LA 3475 provenientes do osmocondicionamento com PEG e plântulas da linhagem LA 4050 provenientes de sementes não osmocondicionadas apresentaram maior atividade das enzimas SOD e POX em relação aos demais tratamentos. A SOD é a primeira enzima na linha de defesa das EROs em plantas sob estresses abióticos, ela catalisa a dismutação de $O_2^{\bullet-}$, em O_2 e H_2O_2 . O $O_2^{\bullet-}$ apesar de ser o mais tóxico possui baixa estabilidade, sendo convertido rapidamente a H_2O_2 (Wojtyla *et al.*, 2016). O H_2O_2 é degradado pela CAT, APX e muitas outras enzimas, resultando como produto final a água (Mittler, 2002; Grob *et al.*, 2013). A POX converte o H_2O_2 em O_2 (Dubey, 2011). Em contraste com os nossos resultados, sob restrição hídrica, cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) com diferentes níveis de tolerância ao déficit hídrico tiveram aumento na atividade da SOD e CAT em sementes osmocondicionadas com PEG (Sun *et al.*, 2010). Da mesma forma, Hasanuzzaman e Fujita (2011) relataram que o osmocondicionamento com Se melhorou a tolerância de colza ao déficit hídrico por meio do aumento nas atividades dos sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos.

Para a enzima CAT, em plântulas da linhagem LA 3475 sob déficit hídrico foi observada menor atividade enzimática nas sementes osmocondicionadas com PEG em relação às condicionadas com PEG + Se e não condicionadas. No tratamento controle, plântulas provindas de sementes não osmocondicionadas, foi obtido maior atividade desta enzima. Nas plântulas da linhagem LA 4050, a atividade da CAT foi aumentada sob déficit hídrico. Além disso, sementes não osmocondicionadas apresentaram maior atividade desta enzima que as osmocondicionadas com PEG. Resultados contrastantes ao presente estudo foram encontrados em sementes de arroz osmocondicionadas com Se, em que foi verificada aumento da atividade de antioxidantes enzimáticos (SOD, POX, CAT e GPX). Além disso, ocorreu aumento na emergência e no crescimento de plântulas de arroz em determinados tratamentos de *priming* com Se (Khaliq *et al.* 2015). Assim também, Nawaz *et al.* (2016) realizaram pulverização foliar com Se em plantas de milho (*Zea mays* L.) submetidas ou não a estresse hídrico e foi constatado que o Se exógeno provocou aumento na atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT, POX e APX nas plantas sob déficit hídrico comparadas ao controle.

Com nossos resultados, fica evidente a dificuldade em ajustar o tempo de osmocondicionamento e a concentração de Se para otimizar as respostas das sementes/plântulas, já que em elevadas concentrações o Se pode ocorrer toxicidade nas plantas (Terry *et al.*, 2000) e isso depende da espécie vegetal e do ambiente (Wiesner-Reinhold *et al.*, 2017). O tomate é uma espécie não acumuladora de Se, ou seja, quantidades maiores que 25 µg de Se/g de peso seco de raízes e folhas são tóxicas para a espécie, sendo esse valor dependente dos fatores tipo de solo, atividade microbiológica e concentração de sulfato na solução do solo, por exemplo (White *et al.*, 2004). Para o tomate, o Se fornecido em baixas concentrações (5 a 10 µM) via raiz, resultou em aumento na síntese de compostos fenólicos nas folhas e reduziu níveis de alguns elementos químicos nas raízes. Em concentrações maiores (25 a 50 µM) ocorreu aumento da enzima glutathiona redutase (GSH) nas folhas em torno de 3 a 5 vezes (Schiavon *et al.*, 2013). Porém, a forma que o Se foi fornecido pode influenciar nos resultados, sendo que não foram encontrados na literatura trabalhos prévios que realizaram osmocondicionamento com Se em sementes de tomate.

Para a linhagem LA 4050, a atividade da CAT aumentou sob condições de déficit hídrico. Sadeghi e Robati (2015), a fim de investigar diferentes métodos de condicionamento em sementes de chicória (*Cichorium intybus* L.) verificaram que ocorreu aumento na porcentagem de germinação e no crescimento inicial de plântulas em sementes sob água e déficit hídrico para todos os métodos utilizados. O déficit hídrico aumentou a atividade da CAT e POD, diminuiu a SOD, não afetando a da peroxidase do ascorbato (ASP). Ressalta-se que cada espécie se comporta de maneira diferente e existem muitos fatores que contribuem para as respostas. Além disso, os diferentes métodos de condicionamento afetam de maneira diferente a atividade das enzimas do sistema antioxidante numa mesma espécie. O osmocondicionamento com ácido salicílico (AS) em sementes de tomate submetidas a diferentes níveis de déficit hídrico culminou em aumento na atividade da SOD, no entanto, a CAT praticamente não alterou suas respostas (Galviz-Fajardo *et al.* 2020). A CAT pode desempenhar um papel mais importante que outras enzimas na eliminação do excesso de H₂O₂ em condições de déficit hídrico (Shi *et al.*, 2014). Estudos indicam correlação da sua atividade com a porcentagem de germinação de sementes de tomate (Badek *et al.*, 2016).

Em trabalho recente, utilizando a aplicação do Se em plantas de tomate via pulverização foliar e no solo (0, 20, ou 40 mM), Rady *et al.* (2020) concluíram que o Se tem papel regulatório em plantas sob baixa disponibilidade hídrica devido à sua influência positiva sobre as enzimas e componentes não enzimáticos do sistema de defesa antioxidante, sendo, portanto, indicado sua aplicação via solo na cultura do tomateiro com o objetivo de minimizar os efeitos do déficit hídrico.

Desta forma, a ação das enzimas deve ser de forma conjunta e integrada a fim de manter o equilíbrio das EROs a nível intracelular (Mittler, 2002). Bailly; El-Maaroufbouteau e Corbineau (2008) conceituam o papel das EROs na fisiologia das sementes como “janela oxidativa”, devido ao seu duplo papel, pois são importantes para as vias de sinalização celular e consequente germinação e produto tóxico, em condições de estresses abióticos como o déficit hídrico, levando à danos oxidativos, prejudicando ou impedindo a germinação e/ou provocando plântulas anormais. Por exemplo, as EROs

podem atuar no enfraquecimento do endosperma durante a germinação por meio do afrouxamento da parede celular (Wojtyla *et al.*, 2016).

Diante do exposto, os resultados do nosso trabalho podem ser explicados por duas possíveis vias, a primeira, que o déficit hídrico provocou aumento significativo das EROs, sem aumento na atividade de enzimas do sistema antioxidante, capaz de neutralizar o seus efeitos e a segunda, que a produção de EROs não foi suficiente para se tornar tóxica e aumentar a atividade do sistema de defesa antioxidante nas células. Desta forma, os níveis de EROs que são muito baixos ou muito altos são prejudiciais, ao passo que manter os níveis de EROs dentro da faixa certa promove benefícios (Mittler, 2017). A SOD dismuta o $O_2^{\cdot -}$, uma molécula de meia vida curta (1 a 4 μ s) e com baixa estabilidade e que é rapidamente convertida em H_2O_2 (Gill; Tuteja, 2010; Mittler, 2017). Portanto, a atividade da SOD nas plântulas de tomate das duas linhagens pode ter sido influenciada por esta instabilidade. Já o H_2O_2 possui meia vida longa (> 1 ms), além de ser menos tóxico e mais estável em comparação ao $O_2^{\cdot -}$ (Møller; Jensen; Hansson, 2007). Por isso, a enzima CAT se comportou de maneira diferente, tendo sua atividade aumentada. Provavelmente está relacionado à mecanismos regulatórios distintos destas enzimas. O aumento do H_2O_2 em sementes de tomate osmocondicionadas com AS pode resultar em aumento da atividade da CAT para completar o processo de germinação sob déficit hídrico (Galviz-Fajardo *et al.* 2020), o que pode ser uma possível explicação para os nossos resultados já que se trata da mesma espécie.

Em síntese, o déficit hídrico reduziu a germinação, a protrusão radicular e a velocidade de germinação, aumentando o tempo médio de germinação e reduzindo a uniformidade de germinação das sementes, em todos os tratamentos. Os atributos físicos como comprimento, área e perímetro tem baixa correlação com os tratamentos em que as sementes foram submetidas e com a qualidade fisiológica e atividade enzimática. O osmocondicionamento da sementes com Se, em geral, não melhorou o desempenho das mesmas. Porém, o osmocondicionamento com PEG mostrou-se como alternativa promissora para as sementes das duas linhagens, podendo ser utilizado para reduzir o tempo de germinação e aumentar a uniformidade de plântulas.

CONCLUSÕES

O osmocondicionamento das sementes de tomate com Se, na concentração de 12 μM por 24 h não é um método eficiente para melhoria da qualidade fisiológica e atividade enzimática de sementes das linhagens de tomate suscetível e tolerante ao déficit hídrico.

O osmocondicionamento com PEG, a -1,0 Mpa, apresenta potencial para aumentar a tolerância das sementes de tomate ao déficit hídrico durante o processo de germinação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUD, H. F.; CICERO, S. M.; GOMES JUNIOR, F. G. Radiographic images and relationship of the internal morphology and physiological potential of broccoli seeds. **Acta Scientiarum: Agronomy**, v. 40, n. 1, p. 1-9, 2018.

ABULSOUD, M.; ABD ELRAHMAN, S. H. Foliar selenium application to improve the tolerance of eggplant grown under salt stress conditions. **International Journal of Plant & Soil Science**, v. 9, n. 1, p.1-10, jan, 2016.

ALVARENGA, M. A. R.; COELHO, F. S. Sistema de produção. *In*: ALVARENGA, M. A. R. **Tomate: produção em campo, casa de vegetação e hidroponia**. 2 ed. rev. e ampl., Lavras: Editora UFLA, 2013. p. 202-243.

ANDERSON, M. D.; PRASAD, T. K.; STEWART, C. R. Changes in Isozyme Profiles of Catalase, Peroxidase, and Glutathione Reductase during Acclimation to Chilling in Mesocotyls of Maize Seedlings. **Plant Physiology**, v. 109, n. 4, p. 1247–1257, 1995.

ANESE, S.; DA SILVA, E. A. A.; DAVIDE, A. C.; FARIA, J. M. R.; SOARES, G. C. M.; MATOS, A. C. B. E.; TOOROP, P. E. Seed priming improves endosperm weakening, germination, and subsequent seedling development of *Solanum lycocarpum* St. Hil. **Seed Science and Technology**, v. 39, n. 1, p.125–139, 2011.

ATAÍDE, G. M.; BORGES, E. E. L.; LEITE FILHO, A. T. Alterações fisiológicas e biométricas em sementes de *Melanoxylon brauna* schott durante a germinação em diferentes temperaturas. **Revista Árvore**, v. 40, n. 1, p. 61–70, 2016.

ÁVILA, F. W.; FAQUIN, V.; YANG, Y.; RAMOS, S. J.; GUILHERME, L. R. G.; THANNHAUSER, T. W.; LI, L. Assessment of the Anticancer Compounds Se - Methylselenocysteine and Glucosinolates in Se-Biofortified Broccoli (*Brassica oleracea* L. var. italica) Sprouts and Florets. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 61, n. 26, p. 6216–6223, 2013.

BADEK, B.; ROMANOWSKA-DUDA, Z.; GRZESIK, M.; KURAS, A. Physiological markers for assessing germinability of *Lycopersicon esculentum* seeds primed by environment-friendly methods. **Polish Journal of Environmental Studies**, v.25, n.5, p.1831-1838, 2016.

BALAL, R. M.; SHAHID, M. A.; JAVAID, M. M.; IQBAL, Z.; ANJUM, M. A.; GARCIA-SÁNCHEZ, F.; MATTSON, N. S. The role of selenium in amelioration of heat-induced oxidative damage in cucumber under high temperature stress. **Acta Physiol. Plantarum**, v. 38, n. 158, p. 1-14, maio, 2016.

BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, v. 44, n. 1, p. 276–287, 1971.

BELA, G.; ZEMEDE, A.; ASSEFA, K.; WOLD, G. M.; TEFERA, H. Seed size effect on grain weight and agronomic performance of tef [*Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter]. **African Journal of Agricultural Research**, v. 4, n. 9, p. 836-839, set., 2009.

BERENGUER, A. F. **Seleção indireta em genótipos de tomateiro para tolerância ao estresse hídrico**. 2015. Dissertação. (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal de Uberlândia. UFU. Uberlândia-MG. 2015.

BERNIER, J.; ATLIN, G. N. SERRAJ, R.; KUMAR, A.; SPANER, D. Breeding upland rice for drought resistance. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, n. 6, p. 927-939, 2008.

BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M.; NONGAKI, H. Seed's physiology of development, germination and dormancy. *In*: Bewley, J. D.; Bradford, K.; Hilhorst, H.; Nonogaki, H. **Seed's physiology of development, Germination and dormancy**. 3 ed. New York: Springer; 2013. 392p.

BOLGER, A. M.; LOHSE, M.; USADEL, B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. **Bioinformatics**, v. 30, n. 15, p. 2114-2120, 2014.

BORBA, M. E. A.; MACIEL, G. M.; MARQUEZ, G. R.; FRAGA JÚNIOR, E. F.; NOGUEIRA, G. G. S. Genetic diversity and selection in tomato genotypes under water stress induced by mannitol. **Bioscience Journal**, v. 33, n. 3, p. 592-600, maio-jun, 2017.

BORGES S. R. S.; SILVA P. P.; ARAÚJO F. S.; SOUZA F. F. J.; NASCIMENTO W. M. Tomato seed image analysis during the maturation. **Journal of Seed Science**, v. 41. n. 1, p. 22-31, 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009, 399 p.

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.

BRUCE, T. J. A.; MATTHES, M. C.; NAPIER, J. A.; PICKETT, J. A. Stressful memories of plants: evidence and possible mechanisms. **Plant Science**, v. 173, n. 6, p. 603–608, 2007.

CAMARGO, M. A. B.; MARENCO, R. A. Density, size and distribution of stomata in 35 rainforest tree species in Central Amazonia. **Acta Amazonica**. v. 4, n. 2, p. 205-212, 2011.

CARVALHO, M. L. M.; SILVA, C. D.; OLIVEIRA, L. M.; SILVA, D. G.; CALDEIRA, C. M. Teste de raios x na avaliação da qualidade de sementes de abóbora. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 2, p. 221-227, 2009.

CHANCE, B.; MAEHLY, A. C. Assay of catalases and peroxidases. **Methods in Enzymology**, v. 2, p. 764–775, 1955.

CHEN, K.; ARORA, R. Priming memory invokes seed stress-tolerance. **Environmental and Experimental Botany**, v. 94, p. 33–45, out., 2013.

CHENG J.; CHENG X.; WANG L.; HE Y.; AN, C.; WANG, Z., ZHANG, H. Physiological characteristics of seed reserve utilization during the early seedling growth in rice. **Brazilian Journal of Botany**, v. 38, n. 4, p. 751-59, jul., 2015.

CICERO, S. M. Aplicação de imagens radiográficas no controle de qualidade de sementes. Análise de Imagens. **Informativo Abrates**, Londrina, v. 20, n. 3, p. 48-51, 2010.

DAS, K.; ROYCHOUDHURY, A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-Scavengers during environmental stress in plants. **Frontiers in Environmental Science**, v. 2, n. 53, p. 1-13, dez., 2014.

DEL LONGO, O. T.; GONZÁLEZ, C. A.; PASTORI, G. M.; TRIPPI, V. S. Antioxidant defences under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. **Plant and Cell Physiology**, v. 34, n. 7, p.1023–1028, out., 1993.

DJANAGUIRAMAN, M; PRASAD, P. V. V.; SEPPANEN, M. Selenium protects sorghum leaves from oxidative damage under high temperature stress by enhancing antioxidant defense system. **Plant Physiol. Biochem**, v. 48, n.12, p. 999-1007, dez, 2010.

DUBEY, R.S. Metal toxicity, oxidative stress and antioxidative defense system in plants. *In*: GUPTA, S. D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfield: Science Publishers, 2011, p.178-203.

EL MEHDAWI, A. F.; PILON-SMITS, E. A. H. Ecological aspects of plant selenium hyperaccumulation. **Plant Biology (Stuttg.)**, v. 14, n. 1, p. 1–10, jan., 2012.

ELOUAER, M. A.; HANNACHI, C. Seed priming to improve germination and seedling growth of safflower (*Carthamus tinctorius*) under salt stress. **EurAsian Journal of Biosciences**, v. 6, p. 76-84, 2012.

ESHED, Y.; ZAMIR, D. An introgression line population of *Lycopersicon pennellii* in the cultivated tomato enables the identification and fine mapping of yield-associated QTL. **Genetics**, v. 141, n. 3, p. 1147-1162, nov., 1995.

EUROLA, M. H.; EKHOLM, P. I.; YLINEN, M. E.; VARO, P. T.; KOIVISTOINEN, P. E. Selenium in Finnish foods after beginning the use of selenate-supplemented fertilizers. **Journal of the Science Food and Agriculture**, v. 56, n. 1, p. 57–70, 1991.

FENG, R.; WEI, C.; TU, S. The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. **Environmental and Experimental Botany**, Elmosford, v. 87, p. 58–68, 2013.

FLORIDO, M.; BAO, L.; LARA, R. M.; CASTRO, Y.; ACOSTA, R.; ÁLVAREZ, M. Efecto del estrés hídrico simulado con peg 6000 en la germinación en tomate (*Solanum* sección *Lycopersicon*). **Cultivos Tropicales**, vol. 39, no. 1, pp. 87-92, 2018.

FREEMAN, J. L.; TAMOKI, M.; STUSHNOFF, C.; QUINN, C. F.; CAPP, J. J.; DEVONSHIRE, J.; FAKRA, S. C.; MARCUS, M. A.; MCGRATH, S. P.; HOEWYK, D. V.; PILON-SMITS, E. A. H. Molecular mechanisms of selenium tolerance and hyperaccumulation in *Stanleya pinnata*. **Plant Physiology**, v. 153, p. 1630-1652, ago., 2010.

GALVIZ-FAJARDO, Y. C.; BORTOLIN, G. S.; DEUNER, S.; AMARANTE, L.; REOLON, F.; MORAES, D. M. Seed priming with salicylic acid potentiates water restriction-induced effects in tomato seed germination and early seedling growth. **Journal of Seed Science**, v. 42, p. 1-12, out., 2020.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v.59, n. 2, p. 309–314, 1977.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909– 930, 2010.

GIROTTI, L.; ALVES, J. D.; DEUNER, S.; ALBUQUERQUE, A. C. S.; TOMAZONI, A. P. Tolerância à seca de genótipos de trigo utilizando agentes indutores de estresse no processo de seleção. **Revista Ceres**, v. 59, n. 2, p. 192–199, mar./abr., 2012.

GROB, F.; DURNER, J.; GAUPELS, F. Nitric oxide, antioxidants and prooxidants in plant defence responses. **Front Plant Science**, v. 4, p.1-15, out., 2013.

HADAS, A. Water uptake and germination of leguminous seeds under changing external water potential in osmotic solutions. **Journal of Experimental Botany**, v. 27, n. 98, p. 480-489, jun., 1976.

HAIGH, A. H.; BARLOW, E. W. R. Water relations of tomato seed germination. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 14, n. 5, p. 485-492, 1987.

HASANUZZAMAN, M.; FUJITA, M. Selenium pretreatment upregulates the antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system and confers enhanced tolerance to drought stress in rapeseed seedlings. **Biological Trace Element Research**, v. 143, n. 3, p. 1758-1776, dez., 2011.

HASANUZZAMAN, M.; NAHAR, K.; ALAM, M. M.; ROYCHOWDHURY, R.; FUJITA, M. Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. **Inter J Mol Sci**. v. 14, n. 5, p. 9643–9684, 2013.

HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, v. 84, n. 2, p. 450–455, 1987.

HAWRYLAK-NOWAK, B. Comparative effects of selenite and selenate on growth and selenium accumulation in lettuce plants under hydroponic conditions. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 70, n. 2, p. 149–157, 2013.

IBRAHIM, E. A. Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds. **Journal of Plant Physiology**, v. 192, n. 15, p. 38-46, mar., 2016.

ISTA. **International Rules For Seed Testing Association**, Zurich, 174p. 2004.

KABATA-PENDIAS, A. **Trace elements in soils and plants**. 3 ed., Boca Ranton: CRC Press, 2001.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, v. 57, p.315–319, 1976.

KASSAMBARA, A.; MUNDT, F. **Factoextra**: extract and visualize the results of multivariate data analyses. R Package Version 1. 2016.

KAUR, N.; SHARMA, S.; KAUR, S.; NAYYAR, H. Selenium in agriculture: a nutrient or contaminant for crops? **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 60, n. 12, p. 1593-1624, maio, 2014.

KEBEDE, H.; MARTIN, B.; NIENHUIS, J.; KING, G. Leaf anatomy of two lycopersicon species with contrasting gas exchange properties. **Crop Science**, v. 34, n. 1, p. 108-113, jan., 1994.

KHALIQ, A.; ASLAM, F.; MATLOOB, A.; HUSSAIN, S.; GENG, M.; WAHID, A.; REHMAN, H. Seed priming with Selenium: consequences for emergence, seedling growth and biochemical attributes of rice. **Biological Trace Element Research**, v. 166, n. 2, p. 236- 244, fev., 2015.

KIKUCHI, K.; KOIZUMI, M.; ISHIDA, N.; KANO, H. Water uptake by dry beans observed by micro-magnetic resonance imaging. **Annals of Botany**, v. 98, n. 3, p. 545-553, 2006.

KISSMANN, C.; SCALON, S. P. Q.; MOTA, L. H. S.; VIEIRA, M. C. Germinação de sementes de *Stryphnodendron* Mart. osmocondicionadas. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 2, p. 26-35, 2010.

KOBORI, N. N.; CICERO, S. M.; MEDINA, P. F. Teste de raios-X na avaliação da qualidade de sementes de mamona. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 1, p. 125-133, 2012.

LAKE, J. A.; QUICK, W. P.; BEERLING, D. J.; WOODWARD, F. I. Signals from mature to new leaves. **Nature**, v. 411, p. 154, 2001.

LI, M. Q.; HASSAN, M. K.; LI, C. X.; AHAMMED, G. J.; XIA, X. J.; SHI, K.; ZHOU, Y. H.; REITER, R. J.; YU, J. Q.; XU, M. X.; ZHOU, J. Melatonin mediates selenium-induced tolerance to cadmium stress in tomato plants. **Journal of Pineal Research**, v. 61, n. 3, p. 291–302, out., 2016.

LIU, Y. S.; ZAMIR, D. Second generation *L. pennellii* introgression lines and the concept of bin mapping. **Tomato Genet Coop.**, v. 49, p. 26–30, 1999.

MACIEL, G. M.; BERENQUER, A. F.; SILVA, E. C. da; FRAGA JÚNIOR, E. F.; ROCHA, D. K.; ROCHA, J. P. R. da. Estresse hídrico induzido por manitol para seleção de genótipos de tomateiro. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 60, n. 4, p. 315-321, out-dez., 2017.

MALAGOLI, M.; SCHIAVON, M.; DALL'ACQUA, S.; PILON-SMITS, E. A. H. Effects of selenium biofortification on crop nutritional quality. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 280-285, abr., 2015.

MARTIN, B.; THORSTENSON, Y. R. Stable Carbon Isotope Composition (^{13}C), Water Use Efficiency, and Biomass Productivity of *Lycopersicon esculentum*, *Lycopersicon pennellii*, and the F1 Hybrid. **Plant Physiol.** v. 88, p. 214-217, 1988.

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

MEDEIROS, A. D., ARAÚJO, J. O., LEÓN, M. J. Z., SILVA, L. J., DIAS, D. C. F. S. Parameters based on X-ray images to assess the physical and physiological quality of *Leucaena leucocephala* seeds. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 42, n. 6, p. 643–652, 2018.

MEDEIROS, A. D.; SILVA, L. J.; SILVA, J. M.; DIAS, D. C. F. S.; PEREIRA, M. D. IJCropSeed: An open-access tool for high-throughput analysis of crop seed radiographs. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 175, 105555, 2020a.

MEDEIROS, A. D., PINHEIRO, D. T., XAVIER, W. A., SILVA, L. J., DIAS, D. C. F. S. Quality classification of *Jatropha curcas* seeds using radiographic images and machine learning. **Industrial Crops and Products**, v. 146, n. 112162, abr., 2020b.

MEDEIROS, A. D., ZAVALA - LEÓN, M. J., SILVA, L. J., OLIVEIRA, A. M. S., DIAS, D. C. F. S. Relationship between internal morphology and physiological quality of pepper seeds during fruit maturation and storage. **Agronomy Journal**. p.1-11, 2020c.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, n. 9, set., p. 405-410, 2002.

MITTLER, R. ROS Are Good. **Trends in Plant Science**, v. 22, n. 1, p. 11–19, jan. 2017.

MØLLER, I. M.; JENSEN, P. E.; HANSSON, A. Oxidative Modifications to Cellular Components in Plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 58, n. 1, p. 459–481, jun. 2007.

MOLES, T. M.; GUGLIELMINETTI, L.; REYES, T. H. Diferential effects of sodium chloride on germination and post-germination stages of two tomato genotypes. **Scientia Horticulturae**, v. 257, n. 108730, 2019.

MORALES, R. G. F. **Resistência ao déficit hídrico em famílias de tomateiro derivados de *Solanum pennellii***. 2012, Tese (Doutorado em Produção Vegetal). Universidade Federal de Lavras. Lavras-MG. 2012.

MOREIRA, G. R.; SILVA, D. J. H. da; CARNEIRO, P. C. S.; PICANÇO, M. C.; VASCONCELOS, A. A.; PINTO, C. M. F. Herança de caracteres de resistência por antixenose de *Solanum pennellii* à traça-do-tomateiro em cruzamento com 'Santa Clara'. **Horticultura Brasileira**, v. 31, n. 4, p. 574-581, 2013.

MROCZEK-ZDYRSKA, M.; WÓJCIK, M. The influence of selenium on root growth and oxidative stress induced by lead in *Vicia faba* L. minor plants. **Biological Trace Element Research** v. 147, n. 1-3, p. 320–328, jun., 2012.

NAWAZ, F., ASHRAF, M. Y., AHMAD, R., WARAICH, E. A. Selenium (Se) Seed Priming Induced Growth and Biochemical Changes in Wheat Under Water Deficit Conditions. **Biological Trace Element Research**, v. 151, n. 2, p. 284–293, 2013.

NAWAZ, F.; NAEEM, M.; ASHRAF, M. Y.; TAHIR M. N.; ZULFIQAR, B.; SALAHUDDIN, M.; SHABBIR, R. N.; ASLAM, M. Selenium supplementation affects physiological and biochemical processes to improve fodder yield and quality of maize (*Zea mays* L.) under water deficit conditions. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. 1438, p. 1-13, set., 2016.

PAPARELLA, S.; ARAÚJO, S. S.; ROSSI, G.; WIJAYASINGHE, M.; CARBONERA, D.; BALESTRAZZI, A. Seed priming: state of the art and new perspectives. **Plant Cell Reports**, v. 34, n. 8, p. 1281-1293, mar., 2015.

PESSOA, H. P. **Linhagens de introgressão derivadas de *Solanum pennellii*: tolerância ao déficit hídrico durante a germinação e no estágio de plântula**. 2018. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal de Viçosa. UFV. Viçosa-MG. 2018.

PEIXOTO, P. H. P.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANNA, R.; MOSQUIM, P. R.; MOREIRA, M. A. Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 11, n. 3, p.137–143, 1999.

PILON-SMITS, E. A. H.; QUINN, C. F.; TAPKEN, W.; MALAGOLI, M.; SCHIAVON, M. Physiological functions of beneficial elements. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, n. 3, p. 267-274, 2009.

PINHEIRO, D. T.; CAPOBIANGO, N. P.; MEDEIROS, A. D.; CAIAFA, K. F.; DIAS, D. C. F. S.; PINHEIRO, A. L. Assessment of the physical and physiological quality of *Piptadenia gonoacantha* seeds (MART.) J. F. MACBR. using image analysis. **Revista Árvore**, v. 44, e. 4426, p. 1-9, 2020.

PINTO, T. L. F.; CICERO, S. M.; FRANÇA-NETO, J. B.; FORTI, V. A. An assessment of mechanical and stink bug damage in soybean seed using X-ray analysis test. **Seed Science and Technology**, v. 37, n. 1, p. 110-120, 2009.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Available from: <http://www.R-project.org/>. Acesso em: 15.out.2019.

RADY, M. M.; BELAL, H. E. E.; GADALLAH, F. M.; SEMIDA, W. M. Selenium application in two methods promotes drought tolerance in *Solanum lycopersicum* plant by inducing the antioxidant defense system. **Scientia Horticulturae**, v. 266, n. 109290, maio, 2020.

RAYMAN, M. P. The importance of selenium to human health. **Lancet**, v. 356, n. 9225, p. 233-241, jul., 2000.

RIOS, J. J.; BLASCO, B.; ROSALES, M. A.; SANCHEZ-RODRIGUEZ, E.; LEYVA, R.; CERVILLA, L. M.; ROMERO, L.; RUIZ, J. M. Response of nitrogen metabolism in lettuce plants subjected to different doses and forms of selenium. **Journal of the Science Food and Agriculture**. London, v. 90, n. 11, p.1914-1919, 2014.

ROUSSEAU, M. C.; JONES, C. M.; ADAMS, D.; CHETELAT, R.; BENNETT, A.; POWELL, A. QTL analysis of fruit antioxidants in tomato using *Lycopersicon pennellii* introgression lines. **Theor Appl Genet.**, v. 111, n. 7, p. 1396-1408, 2015.

SADEGHI, H.; KHAZAEI, F.; YARI, L.; SHEIDAEI, S. Effect of seed osmopriming on seed germination behavior and vigor of soybean (*Glycine max* L.). **ARPN Journal of Agricultural and Biological Science**, v. 6, n. 1, p. 39-43 2011.

SADEGHI, H.; ROBATI, Z. Response of *Cichorium intybus* L. to eight seed priming methods under osmotic stress conditions. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 4, n. 4, p. 443–448, 2015.

SANTANA, M. J.; VIEIRA, T. A.; BARRETO, A. C. Efeito dos níveis de reposição de água no solo na produtividade do tomateiro. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, p. S1378-S1384, 2009.

SCHIAVON, M.; MORO, I.; PILON-SMITS, E. A. H.; MATOZZO, V., MALAGOLI, M.; DALLA VECCHIA, F. Accumulation of selenium in *Ulva* sp. and effects on morphology, ultrastructure and antioxidant enzymes and metabolites. **Aquatic Toxicology**, v. 122–123, p. 222–231, out., 2012.

SCHIAVON, M.; DALL'ACQUA, S.; MIETTO, A.; PILON-SMITS, E. A. H.; SAMBO, P.; MASI, A.; MALAGOLI, M. Selenium Fertilization Alters the Chemical Composition and Antioxidant Constituents of Tomato (*Solanum lycopersicon* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 44, p. 10542–10554, set., 2013.

SHI, Y.; ZHANG, Y.; YAO, H.; WU, J.; SUN, H.; GONG, H. Silicon improves seed germination and alleviates oxidative stress of bud seedlings in tomato under water deficit stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 78, p. 27–36, 2014.

SILVA, M. L. M.; ALVES, E. U.; BRUNO, R. L. A.; SANTOS-MOURA, S. S.; SANTOS NETO, A. P. Germinação de sementes de *Chorisia glaziovii* O. Kuntze submetidas ao estresse hídrico em diferentes temperaturas. **Ciência Florestal**, v. 26, n. 3, p. 999–1007, jul-set., 2016.

SILVA, L. J.; MEDEIROS, A. D.; OLIVEIRA, A. M. S. SeedCalc, a new automated R software tool for germination and seedling length data processing. **Journal of Seed Science**, v. 41, n.2, p. 250–257, abr. / jun., 2019.

SUN, Y. 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.

TERRY, N.; ZAYED, A. M.; SOUZA, M. P. de; TARUN, A. S. Selenium in higher plants. **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.** v. 51, p. 401–432, jun., 2000.

TOOROP, P. E. **The role of endo-B-mannanase activity in tomato seed germination**. 1998, Thesis. (PhD) Wageningen University, Holanda, 1998. 125p.

TOOROP, P. E.; VAN AELST, A. C.; HILHORST, H. W. M. The second step of the biphasic endosperm cap weakening that mediates tomato (*Lycopersicon esculentum*) seed germination is under the control of ABA. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, n. 349, p. 1371–1379, ago., 2000.

TORRECILLAS, A.; GUILLAUME, C.; ALARCÓN, J. J.; RUIZ-SÁNCHEZ, M. C. Water relations of two tomato species under water stress and recovery. **Plant Science**, v. 105, n. 2, p. 169-176, fev., 1995.

VARIER, A.; VARI, A. K., DADLANI, M. The subcellular basis of seed priming. **Curr. Sci.** v. 99, n. 4, p. 450–456, 2010.

VILLELA, F. A.; DONI FILHO, L.; SEQUEIRA, E. L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.26, n. 11/12, p.1957-1968, nov./dez., 1991.

WAHB-ALLAH, M. A.; ALSADON, A. A.; IBRAHIM, A. A. Drought tolerance of several tomato genotypes under greenhouse conditions. **World Applied Sciences Journal**, v. 15, n. 7, p. 933-940, 2011.

WHITE, P. J.; BOWEN, H. C.; PARMAGURU, P.; FRITZ, M.; SPRACKLEN, W. P.; SPIBY, R. E.; MEACHAM, M. C.; MEAD, A.; HARRIMAN, M.; TRUEMAN, L. J.; SMITH, B. M.; THOMAS, B.; BROADLEY, M. R. Interactions between selenium and sulphur nutrition in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Experimental Botany**. v. 55, n. 404, p. 1927-1937, ago., 2004.

WHITE, P. J. Selenium accumulation by plants. **Annals of Botany**, London, v. 117, n. 2, p. 217–235, fev., 2016.

WIESNER-REINHOLD, M.; SCHREINER, M.; BALDERMANN, S.; SCHWARZ, D.; HANSCHEN, F. S.; KIPP, A. P.; ROWAN, D. D.; BENTLEY-HEWITT, K. L.; MCKENZIE, M. J. Mechanisms of selenium enrichment and measurement in brassicaceous vegetables, and their application to human health. **Front Plant Science**, v. 8, p. 1-20, ago., 2017.

WOJTYLA, Ł. *et al.* Different Modes of Hydrogen Peroxide Action During Seed Germination. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. 66, p. 1–16, 4 fev. 2016.