

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA AMBIENTAL - MESTRADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM GESTÃO E TECNOLOGIA AMBIENTAL

Paulo Roberto Fetter

**HIDROLISADOS DE RESÍDUOS DE RAÍZES E CAULES DE TABACO PARA
ESTIMULAÇÃO DA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE ARROZ E MILHO**

Santa Cruz do Sul

2018

Paulo Roberto Fetter

**HIDROLISADOS DE RESÍDUOS DE RAÍZES E CAULES DE TABACO PARA
ESTIMULAÇÃO DA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE ARROZ E MILHO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental – Mestrado, Área de Concentração em Gestão e Tecnologia Ambiental – Linha de Pesquisa: Revalorização, Tratamento e Disposição de Resíduos Sólidos, Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Tecnologia Ambiental.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Rosana de Cassia de S. Schneider

Santa Cruz do Sul

2018

Paulo Roberto Fetter

**HIDROLISADOS DE RESÍDUOS DE RAÍZES E CAULES DE TABACO PARA
ESTIMULAÇÃO DA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE ARROZ E MILHO**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Tecnologia Ambiental – Mestrado, Área de Concentração em Gestão e Tecnologia Ambiental, Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Tecnologia Ambiental.

Profa. Dra. Lucélia Hoenen
Universidade do Vale do Taquari - UNIVATES

Profa. Dra. Michele Hoeltz
Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC

Profa. Dra Rosana de Cassia de Souza Schneider – Orientadora
Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC

Santa Cruz do Sul, junho de 2018.

“Aprendi com Deus que acordamos todas as manhãs por que Ele é quem nos desperta para novas batalhas, novas vitórias, novas vivências”.

Autor desconhecido.

Dedico esta conquista aos meus pais, Edvino e Acela Ronida Fetter (in memoriam), meus maiores exemplos. A minha esposa Iris, meus filhos Barbara e Luis Felipe, as minhas irmãs Anisete Clarice, Liselena e Marilena que sempre me incentivaram e apoiaram.

AGRADECIMENTOS

A minha esposa Iris Valiente da Silva, pelo amor, apoio incondicional, compreensão, paciência e pelas horas incansáveis no desenvolvimento dos experimentos.

Aos meus filhos Bárbara e Luis Felipe Fetter que sempre incentivaram, acreditaram e ajudaram no desenvolvimento dos experimentos.

Ao meu genro Evandro Santos, a minha nora Débora Mendonza e suas filhas Carol e Bruna que ajudaram no desenvolvimento dos experimentos.

Ao meu sogro Lauro Gabriel da Silva que apoiou, incentivou, aconselhou e ajudou no desenvolvimento dos experimentos.

A família PROJEPEX pelos ensinamentos, incentivo nos momentos difíceis das incertezas.

A amiga Saray Saldanha por incentivar e acreditar desde os tempos da graduação na minha capacidade.

A minha orientadora Professora Dra. Rosana, de Cássia de S. Schneider por acreditar, pelos ensinamentos, pelo apoio incondicional, incentivo e amizade.

As funcionárias do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental – Mestrado, Área de Concentração em Gestão e Tecnologia Ambiental.

As monitoras Manuela Gassen, Gisele Alves, Jennifer Julich e Aline Rubert que ajudaram no desenvolvimento dos experimentos.

Aos coordenadores do Curso de Engenharia Agrícola pela atenção, apoio e dispor do laboratório de grãos.

Ao funcionário Robson Schneider do curso de Engenharia Agrícola pela atenção, apoio e amizade.

A UNISC pela oportunidade para a realização do Mestrado.

Agradeço a todos que de uma forma ou de outra ajudaram para que este desafio tornasse realidade.

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo verificar a influência de quatro hidrolisados produzidos por ataque (alcalinos e ácidos) através dos resíduos (raiz e caule) da lavoura de *Nicotiana tabacum* (tabaco) no processo de germinação de sementes e no desenvolvimento da plântula de *Oryza sativa* (arroz) e *Zea mays* (milho). Para a condução dos experimentos, foi usado como substrato papel toalha (germitest), embebido em água destilada com volume (mL) de 3 vezes o seu peso. Foram 16 tratamentos de 50 sementes cada, com 4 repetições, embebidas com os hidrolisados alcalinos e ácidos diluídos a 20 e 80%, pH variando entre 5 e 8, nos volumes de 2 e 3 mL por 48 horas, para o controle as sementes foram embebidas em água destilada nos mesmos volumes e tempo de embebedimento, após incubadas na câmara germinadora, na temperatura de 25°C. Os experimentos foram baseados no RAS (Brasil, 2009). A primeira abertura foi no segundo dia após a incubação para a contagem de sementes germinadas, usou-se como critério a protrusão da radícula. No quarto e sétimo dia foi coletado radículas e partes aéreas para dessecar e após pesagem da matéria seca para avaliação da produção de raízes e partes aéreas com o controle. Os hidrolisados produzidos por ataque alcalino e ácido possuem na sua composição aminoácidos e açúcares importantes para a estimulação do processo de germinação. Concluiu-se que os hidrolisados testados não influenciam significativamente na aceleração da germinação, no entanto os resultados foram promissores para considerar estas soluções obtidas de resíduos de tabaco (caule e raiz) como potencial para estimular o crescimento da plântula de ambas as culturas testadas.

ABSTRACT

HYDROLYSATE FROM RESIDUAL TOBACCO ROOTS AND STEMS AS A GERMINATION STIMULATION TO RICE AND CORN SEEDS.

The present study aimed to evaluate the influence of four tobacco hydrolysates produced by alkaline and acid attack from the tobacco waste (root and stem) on seed germination process of *Oryza sativa* (rice) and *Zea mays* (corn). For the experiments, paper towel (germitest), soaked in distilled water with volume (mL) of 3 times its weight, was used as substrate. In the planning, it was accomplished 16 treatments of 50 seeds each, with 4 replicates, imbibed with tobacco hydrolysates and diluted at 20 and 80%. The pH was adjusted in 5 to 8. The imbibition step it was used 2 and 3 mL for 48 and for the control the seeds were imbibed in distilled water in the same volumes and time of imbibition. The incubation was in the germination chamber at a temperature of 25°C. The experiments followed the RAS Manual (Brazil, 2009). The first opening was on the second day after the incubation for the germinated seed count, the protrusion of the radicle was used as criterion. On the fourth and seventh day, radicles and aerial parts were collected to dry out and weigh. The hydrolysates produced by alkaline and acid attack had in their composition amino acids and sugars are important for the stimulation of the germination process. It was concluded that the hydrolysates do not significantly influence the acceleration of germination; however, the results were promising to consider these solutions from tobacco residues (stem and root) as potential to stimulate seedling growth of both cultures tested (rice and corn).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Processo de germinação segundo modelo estudado com cevada para sementes monocotiledôneas. Adaptado de Zhenguo et al. (2017).....	19
Figura 2. Processos metabólicos que ocorrem no embrião e no endosperma durante a germinação de uma semente monocotiledônea conforme estudo realizado com a cevada de acordo com Zhenguo et al. (2017).....	22
Figura 3. Germinação epígea de semente de dicotiledônea.	23
Figura 4. Germinação hipógeade semente de monocotiledônea.	23
Figura 5. Registro fotográfico do resíduo de tabaco na lavoura da ExpoAgro Afubra.	31
Figura 6. Fluxograma da metodologia.	33
Figura 7. Amostra do caule e raiz triturados.	34
Figura 8. A) Sementes de <i>Oryza sativa</i> L. (arroz); e B) Sementes de Zeamays(milho).	36
Figura 9. Soluções de hidrolisados do caule e da raiz (20 e 80%), produzidos por ataque alcalino e ácido e respectivas etapas de embebedimento.	36
Figura 10. Registro fotográfico do primeiro experimento RA13 com hidrolisado da raiz de tabaco e Controle A7 no segundo e sétimo dia de incubação que apresentaram os melhores resultados para germinação de semente de arroz. Onde: A) 2º dia “RA13” 88% germinação, B) 2º dia “Controle” 88% germinação; C) 7º dia “RA13” 88% germinação; D) 7º dia “Controle 7” 88% germinação.....	43
Figura 11. Registro fotográfico do experimento RA13 que apresentou o melhor resultado para germinação de semente de arroz com hidrolisado da raiz de tabaco. Onde: A) 2º dia “CA6” 84% germinação; B) 2º dia “Controle 7” 88% germinação; C) 7º dia “CA1” 94% germinação; D) 7º dia “Controle 7” 88% germinação.	47
Figura 12. Representação gráfica do número de sementes de arroz germinadas com relação a cada tratamento do planejamento experimental para os hidrolisados do caule de tabaco (HC) e para os hidrolisados da raiz de tabaco (HR) comparados a germinação em água nas mesmas condições.....	48
Figura 13. Germinação de sementes de arroz no segundo dia de incubação em relação aos tratamentos realizados com hidrolisado de raiz (H.R.), hidrolisado de caule (H.C.) e água como controle.	48
Figura 14. Gráficos de pareto referente ao primeiro e segundo experimento, considerando a variável tempo de germinação de semente de arroz, volume de hidrolisado no embebedimento e diluição do hidrolisado, sendo: A) hidrolisado de caule de tabaco e massa de parte aérea emergiu; B) hidrolisado de caule de tabaco e massa de raiz formada; C) hidrolisado de raiz de tabaco e massa de parte aérea emergiu; D) hidrolisado de raiz de tabaco e massa de raiz formada.....	49
Figura 15. Gráficos 3D do estudo da produção de massa da parte aérea formada na germinação de sementes de arroz empregando hidrolisado alcalino (A) do caule de tabaco após 7 dias de incubação e (B) da raiz de tabaco após 7 dias de incubação.	50
Figura 16. Gráficos 3D do estudo da produção de massa da parte aérea formada na germinação de sementes de arroz empregando hidrolisado ácido (A) do caule de tabaco após 7 dias de incubação e (B) da raiz de tabaco após 7 dias de incubação.	51
Figura 17. Gráficos 3D do estudo de germinação do arroz empregando hidrolisado ácido do caule de tabaco após 4 (A) e 7 (B) dias e da raiz de tabaco após 4 (C) e 7 (D) considerando a massa de raiz coletada.....	51

Figura 18. Gráficos 3D do estudo de germinação do arroz empregando hidrolisado alcalino do caule de tabaco após 4 (A) e 7 (B) dias e da raiz de tabaco após 4 (C) e 7 (D) considerando a massa de raiz.....	52
Figura 19. Representação gráfica considerando média e desvio padrão das amostras.	52
Figura 20. Registro fotográfico dos experimentos que apresentaram melhores resultados para germinação de semente de milho com hidrolisado da raiz de tabaco. Onde: A) Experimento “RM12” ácido 100% e B) Controle 100%.	53
Figura 21. Registro fotográfico do experimento CM6que apresentou melhor rendimento para germinação de semente de milho com hidrolisado de caule de tabaco.....	55
Figura 22. Germinação de sementes de milho no segundo dia de incubação em relação aos tratamentos realizados com hidrolisado de raiz (H.R.), hidrolisado de caule (H.C.) e água como controle.	57
Figura 23 Representação gráfica do número de sementes de milho germinadas com relação a cada tratamento do planejamento experimental para os hidrolisados do caule de tabaco (HC) e para os hidrolisados da raiz de tabaco (HR) comparados a germinação em água nas mesmas condições.	57
Figura 24. Gráficos de pareto referente ao primeiro e segundo experimento, considerando as variáveis, tempo de germinação de semente de milho, volume de hidrolisado no embebedimento e diluição do hidrolisado, sendo: A) hidrolisado de caule de tabaco e massa de parte aérea eclodida; B) hidrolisado de caule de tabaco e massa de raiz formada; C) hidrolisado de raiz de tabaco e massa de parte aérea eclodida; D) hidrolisado de raiz de tabaco e massa de raiz formada.....	58
Figura 25. Gráficos 3D do estudo de germinação do milho empregando hidrolisado alcalino do caule de tabaco após 7 dias (A) e da raiz de tabaco após 7dias (B) considerando a massa da parte aérea coletada.....	59
Figura 26. Gráficos 3D do estudo de germinação do milho empregando hidrolisado ácido do caule de tabaco após 7dias (A) e da raiz de tabaco após 7 dias (B) considerando a massa da parte aérea coletada.....	59
Figura 27. Gráficos 3D do estudo de germinação do milho empregando hidrolisado alcalino do caule de tabaco após 7 dias (A) e da raiz de tabaco após 7dias (B) considerando a massa da raiz coletada.....	60
Figura 28. Gráficos 3D do estudo de germinação do milho empregando hidrolisado ácido do caule de tabaco após 7 dias (A) dias e da raiz de tabaco após 7 (B) considerando a massa da raiz coletada.....	60
Figura 29. Representação gráfica considerando média e desvio padrão das amostras.	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. pH inicial e final dos hidrolisados	35
Tabela 2. Análise elementar de caule e raiz de tabaco coletados em lavouras do Vale do Rio Pardo.	39
Tabela 3. Teor de açúcares presentes nos polissacarídeos contidos nas amostras de caule e raiz de tabaco.....	40
Tabela 4. Teor de aminoácidos encontrados nos hidrolisados utilizados nos experimentos de germinação de sementes de milho e arroz.....	41
Tabela 5. Taxa de germinação de semente de arroz estimulada por hidrolisado de raiz (HR) de tabaco no primeiro e segundo experimento.....	44
Tabela 6. Taxa de germinação de semente de arroz estimulada por hidrolisado de caule (HC) de tabaco no primeiro e segundo experimento.	46
Tabela 7. Valores de p obtidos a partir das médias das massas obtidas de parte aérea e de raiz de arroz após germinação após cada conjunto de experimentos, empregando o teste Mann Whitney com software Graph Pad Prism 7.0 onde ($p < 0,05$).	53
Tabela 8. Taxa de germinação de semente de milho estimulada por hidrolisado de raiz (HR) de tabaco no primeiro e segundo experimento.....	54
Tabela 9. Taxa de germinação de semente de milho estimulada por hidrolisado do caule (HC) de tabaco no primeiro e segundo experimento.	56
Tabela 10. Valores de p obtidos a partir das médias das massas obtidas de parte aérea e de raiz de milho após germinação após cada conjunto de experimentos, empregando o teste Mann Whitney com software Graph Pad Prism 7.0 onde ($p < 0,05$).....	61

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	Objetivo Geral.....	16
2.2	Objetivos específicos	16
3	REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1	Fatores que afetam a germinação	18
3.1.1	Água.....	19
3.1.2	Influência do oxigênio e gás carbônico	19
3.1.3	Temperatura.....	20
3.1.4	Luz	20
3.2	Teste de germinação	21
3.3	Processo de germinação.....	22
3.4	Tipos de Germinação	23
3.5	Aceleradores de germinação	24
3.5.1	Substâncias húmicas e ácidos fúlvicos	25
3.5.2	Hidrolisados de proteínas e outros compostos contendo Nitrogênio (N)	26
3.5.3	Extratos de algas marinhas e vegetais.....	26
3.5.4	Quitosana e outros biopolímeros	27
3.5.5	Compostos inorgânicos	27
3.5.6	Fungos.....	28
3.5.7	Bactérias.....	28
3.5.8	Características comuns dos bioestimulantes	29
3.6	<i>Nicotiana tabacum</i> (tabaco).....	30
3.7	Arroz e milho	31
4	METODOLOGIA	33
4.1	Delineamento da pesquisa.....	33
4.2	Local da Pesquisa	34
4.3	Preparação dos hidrolisados.....	34
4.4	Produção dos Hidrolisados ácidos e alcalinos por ataque	34
4.5	Teste de germinação	36
4.6	Tratamento estatístico	37
5	RESULTADOS.....	39

5.1	Caracterização dos hidrolisados de caule e raiz de tabaco	39
5.2	Estudo de germinação com sementes de arroz.....	42
5.2.1	Influência dos hidrolisados na taxa de germinação de semente de arroz	42
5.2.1.1	Hidrolisado da raiz de tabaco	42
5.2.1.2	Hidrolisado do caule de tabaco	45
5.2.1.3	Comparações com o controle	47
5.2.2	Influência dos hidrolisados como estimulante na formação de radículas e partes aéreas coletadas na germinação das sementes de arroz.....	49
5.2.3	Análise das massas com relação ao tipo de hidrolisado	50
5.3	Estudo da germinação com sementes de milho.....	53
5.3.1	Influência dos hidrolisados como estimulante na formação de radículas e parte aérea na germinação de milho	53
5.3.1.1	Hidrolisado da raiz de tabaco	53
5.3.1.2	Hidrolisados do caule de tabaco	55
5.3.1.3	Comparações com o controle	57
5.3.2	Massa de parte aérea e raiz coletada na germinação de semente de milho	58
5.3.3	Análise das massas com relação ao tipo de hidrolisado	58
6	DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	62
7	CONCLUSÃO	64
8	Trabalhos Futuros.....	65
9	REFERÊNCIAS	66

1 INTRODUÇÃO

O crescimento da população mundial a partir dos anos 50 levou o homem a expandir as fronteiras agrícolas, implantar novas técnicas de plantio, investir em estudos de melhoramentos genéticos em sementes para que alcançar maior produtividade, maior resistência às doenças e reduzir os impactos ambientais.

Ainda que vários estudos recentes venham tentando esclarecer o status regulatório dos bioestimulantes, não existe definição legal ou regulatória de bioestimulantes em qualquer parte do mundo, incluindo na Europa e nos Estados Unidos, o que impede uma análise mais pormenorizada, bem como uma listagem e categorização das substâncias e microrganismos que o conceito abrange (CALVO et al., 2014).

Portanto, métodos diferentes são utilizados e pesquisados a cada ano visando fomentar a produção através do melhoramento do poder germinativo de sementes, tais como a aceleração da germinação, o estabelecimento da lavoura diminuindo a competição entre a cultura e plantas invasoras, diminuição do uso de agroquímicos e antecipando o processo de maturação para a colheita, como a do arroz e do milho.

Para Rathore et al. (2009), qualquer tipo de melhoria no sistema agrícola que traga como consequência aumento na produção, pode reduzir o impacto ambiental negativo, estimular a agricultura e aumentar a sustentabilidade econômica do sistema. Uma dessas abordagens é o uso de substâncias renováveis como os bioestimulantes, que podem aumentar a eficácia do fertilizante mineral convencional.

Neste sentido, várias culturas podem ser utilizadas para o desenvolvimento destes bioestimulantes, incluindo o aproveitamento de partes de plantas não utilizadas para os fins que elas são produzidas. O tabaco é uma planta que se encaixa nesta situação, uma vez que é produzido para uso de folhas para a fabricação de cigarros e, raízes e caules não são utilizadas. É uma cultura perene que no uso agrícola é produzida de forma sazonal. Os restos culturais (raízes, caules e folhas menos nobres) não comerciais tornam-se resíduos da cultura (COLLINS et al. 2011).

Segundo Teixeira et al. (2002) os resíduos de vegetais e animais expostos na natureza e que possam poluir o meio ambiente podem ser transformados em outros compostos orgânicos, os quais podem ter interesse comercial.

No município de Santa Cruz do Sul e municípios vizinhos, bem como outras regiões do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná, há uma grande produção de tabaco e os resíduos vegetais gerados podem ser muito grandes, podendo sustentar um empreendimento que use este resíduo como insumo, uma vez que a logística de transporte deste resíduo pode ser conduzida de forma organizada como ocorre com as folhas secas em estufas.

O aproveitamento destes resíduos para produzir novos compostos que auxiliem no desenvolvimento da agricultura é importante para o desenvolvimento regional e diversificação do uso do tabaco.

Assim, desenvolver bioestimuladores de germinação tem um apelo tecnológico ambiental e econômico. Devido à potencialidade de melhorar a fertilidade na germinação, empregando hidrolisados de uma planta produzida com adequada carga de nutrientes, buscou-se o bioestimulante de germinação de sementes a partir de caule e raiz de tabaco, como mais um produto comercial dos resíduos da lavoura, gerando renda para o agricultor e reduzindo os impactos ambientais.

Além disso, os bioestimulantes disponíveis no mercado são usados na aplicação foliar. Raras são as informações dos efeitos no tratamento de sementes na fase inicial do desenvolvimento da plântula (CARVALHO et al, 2013).

Desta forma, torna-se importante a avaliação de hidrolisados de raiz e caule de tabaco como bioestimulante na etapa de germinação e formação da plântula de plantas como o milho e o arroz.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Em um estudo exploratório visando uma alternativa para acelerar o processo germinativo de sementes de arroz e milho, objetivou-se produzir quatro hidrolisados: dois por ataque ácido e dois por ataque alcalino, como aceleradores de germinação, empregando resíduos (raiz e caule) da produção agrícola de folhas de *Nicotiana tabacum*. Por conseguinte, analisar e avaliar a influência destes hidrolisados como bioestimulante de germinação em sementes de *Oryza sativa* (arroz) e *Zea mays* (milho).

2.2 Objetivos específicos

Como objetivos específicos têm-se:

- I. Produzir dois hidrolisados por ataque ácido a partir do caule e da raiz do *Nicotiana tabacum*(tabaco);
- II. Produzir dois hidrolisados por ataque alcalino a partir do caule e da raiz do *Nicotiana tabacum*(tabaco);
- III. Avaliar a influência dos hidrolisados como aceleradores de germinação da semente de *Oryza sativa* (arroz);
- IV. Avaliar a influência dos hidrolisados como aceleradores de germinação da semente de (*Zea mays*) milho;
- V. Avaliar os hidrolisados como nutriente durante a germinação, auxiliando no desenvolvimento das plântulas de arroz e de milho.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

As plantas, cujo sistema de reprodução é sexuado, se utilizam da semente como forma de propagação. É o processo de germinação desta que faz gerar uma nova planta, ciclo que se fechará com a formação de novas sementes. Moraes (2007, p. 5) descreve: “A germinação é um fenômeno biológico que pode ser considerado botanicamente como a retomada do crescimento do eixo embrionário, com o conseqüente rompimento do tegumento pela radícula”.

A germinação das sementes é um dos estádios fundamentais no ciclo de vida da planta, tendo início com a absorção de água pela semente e seu término na protusão da radícula e o alongamento do eixo embrionário (BEWLEY, 1997).

O processo de germinação compreende diversos eventos como embebição, reativação do metabolismo, aumento na atividade respiratória, atividade enzimática e de organelas, síntese de proteínas e ácidos nucléicos, hidratação das proteínas, mudanças estruturais e alongamento celular, que juntos transformam a semente com baixo teor de água e metabolismo, em uma semente com metabolismo ativo culminando como alongamento do embrião (BEWLEY & BLACK, 1994).

A germinação é um processo que requer consumo considerável de energia. Conforme Flávio (2014), nas células vivas, os principais processos de obtenção de energia são: a respiração e a fermentação. Ambos os processos implicam em trocas de gases (O_2 e CO_2) entre as células e o meio. Portanto, a germinação é profundamente afetada pela atmosfera que circunda a semente, e condições ideais são fundamentais para o desenvolvimento adequado das sementes e a formação de plantas saudáveis.

Para Kerbauy (2008), a palavra germinação refere-se ao conjunto de processos associados ao desenvolvimento de uma estrutura reprodutiva (semente, esporo ou gema) na sua fase inicial, este conceito é aplicado tradicionalmente ao crescimento do embrião - particularmente do eixo radicular - em sementes maduras de espermatófitos.

Conforme Ataíde (2016), no decorrer desse processo ocorre uma sequência de atividades metabólicas e reações químicas, com exigências próprias para estabelecer o crescimento do embrião e a emissão das estruturas, que são responsáveis pela formação de uma nova planta.

A germinação é um processo natural, que se desencadeia dentro das condições ideais que a semente encontra para gerar uma nova planta. No entanto, Ramos et al. (1985) destacam a necessidade de condições ambientais ideais para que ocorra a germinação, destacando os

fatores intrínsecos, como as condições da própria semente, e extrínsecos, que são a água, a temperatura, a luz e oxigênio. No processo de germinação a semente absorve água, desencadeando um processo metabólico que ativa as reservas nutricionais, iniciando assim o crescimento do embrião e o desenvolvimento da plântula.

Sob o ponto de vista fisiológico, um terço das espécies de sementes germina logo que os fatores externos ofereçam condições favoráveis, sendo que as demais ainda permanecem em dormência.

Dias-Arieria et al. (2012) relatam que o processo germinativo compreende quatro fases: embebição de água, alongamento das células, divisão celular e diferenciação das células em tecidos. Afirmam também que, sob o ponto de vista fisio-bioquímico, a germinação compreende “a reidratação (embebição), aumento da respiração, formação de enzimas, digestão enzimática das reservas, mobilização e transporte das reservas, assimilação metabólica e crescimento e diferenciação dos tecidos” (p. 171)

3.1 Fatores que afetam a germinação

Para haver germinação são indispensáveis certas condições, umas próprias da semente e outras do ambiente. Conforme Hopkins (1999), as condições próprias do ambiente (extrínsecas) são: composição química apropriada do solo; umidade adequada; arejamento (já que nesta fase a respiração é muito intensa); luminosidade e temperatura adequadas.

Já no que se refere às condições próprias da semente (intrínsecas), podem ser salientadas: integridade, isto é, possuir os órgãos essenciais (sem nenhum dano físico e mecânico); ter vitalidade (estar viva e respirando); maturidade (que se refere a ter o embrião completamente desenvolvido e com reservas nutritivas acumuladas).

Conforme Floriano (2004), o processo germinativo de sementes é constituído por uma sequência de eventos fisiológicos, que sofrem a influência de fatores externos e internos que podem atuar por si ou em interação com os demais. Entre os primeiros, destacam-se a luz, a temperatura, a disponibilidade de água e de O₂; entre os fatores internos, são importantes os inibidores e os promotores da germinação.

Segundo Popinigis (1985) para que a germinação ocorra são necessárias que as sementes sejam viáveis, ou seja: condições internas favoráveis à germinação (livre de dormência); condições ambientais devem ser propícias (água, temperatura, oxigênio, luz) e condições satisfatórias de sanidade (ausência de agentes patogênicos).

3.1.1 Água

Conforme Floriano (2004), a permeabilidade do tegumento é que controla a entrada de água na semente. São três as fases distintas do processo de absorção de água pela semente. A fase I é a embebição, que consiste na absorção de água, a qual é um processo físico que ocorre em consequência das forças coloidais. Na fase II praticamente não ocorre absorção de água e, apesar de que as sementes dormentes (dormência do embrião) e as não viáveis possam chegar a esta fase, apenas as que germinam entram na fase III, que coincide com o alongamento e emergência da radícula ou do coleóptilo. Estas fases estão apresentadas na Figura 1.

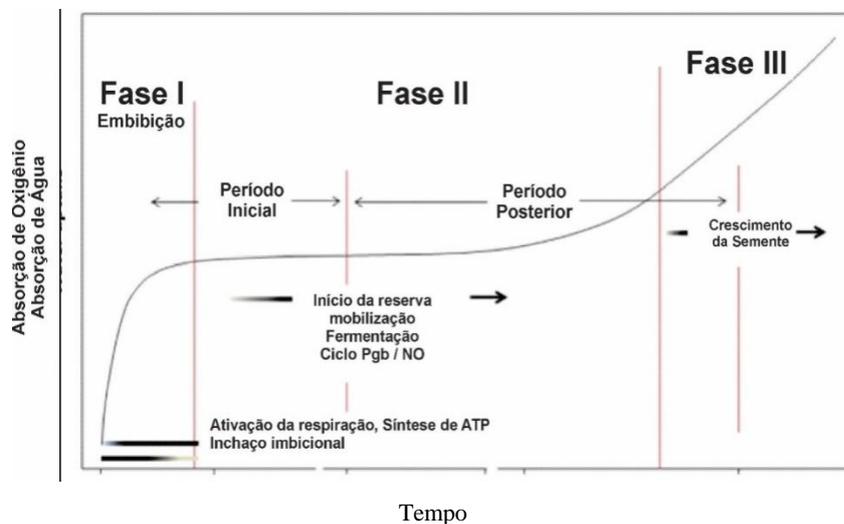


Figura 1. Processo de germinação segundo modelo estudado com cevada para sementes monocotiledôneas. Adaptado de Zhenguo et al. (2017).

Segundo Luo et al. (2017), ocorre nesta etapa um grande incremento na absorção de água, na qual há influência da osmose de moléculas pequenas como glicose, sacarose, frutose, aminoácidos, ácidos orgânicos e outros. Estas moléculas de baixo peso molecular são formadas pela hidrólise de macromoléculas, reduzindo o potencial osmótico.

3.1.2 Influência do oxigênio e gás carbônico

Em sementes viáveis, e somente nessas, ocorre a germinação (emergência da radícula ou do coleóptilo) com o consequente estabelecimento da plântula, dois processos que requerem muita energia. Essa energia provém da respiração das reservas estocadas, que se realiza somente com a presença de oxigênio. Conforme Hopkins (1999), a germinação da maioria das sementes viáveis ocorre numa atmosfera normal com 21% de O_2 e 0,03% de CO_2 . Experiências em

laboratório constataram que o processo de germinação de algumas sementes é beneficiado pelo aumento na concentração de O₂ (TAIZ e ZEIGER, 2002; SILVA, 2010); contudo, a literatura indica que a maioria das espécies sofre inibição da germinação com a diminuição da concentração de O₂.

3.1.3 Temperatura

A temperatura ótima para a germinação depende de cada espécie. A diferença se refere, muitas vezes, à própria evolução da espécie, como clima da região de origem, entre outros (FLORIANO, 2004). A temperatura ótima para a germinação é aquela em que ocorre, num menor tempo, a maior percentagem de germinação (LUO et al, 2017). Conforme Hopkins (1999), “acima ou abaixo deste ótimo, as sementes podem atingir 100% de germinação, mas o tempo gasto será maior e em geral, temperaturas muito baixas ou muito altas, inibem a germinação”.

Contudo algumas sementes embebidas requerem, para um perfeito processo de germinação, um pré-tratamento com temperaturas baixas (0 a 10°C), quebrando a relação entre a baixa temperatura e a temperatura ótima para germinação. Conforme Weitbrecht, et al. (2011), o tratamento com baixa temperatura chama-se estratificação e as sementes submetidas ao frio germinam na primavera, sendo processo comum em climas temperados, sob condições naturais.

3.1.4 Luz

Existem três tipos de sementes, de acordo com sua fotossensibilidade: as fotoblásticas positivas, são aquelas que têm seu processo de germinação estimulado pela luz; se, ao contrário, a luz inibe o processo, as sementes são chamadas de fotoblásticas negativas. No entanto, muitas sementes, em que se incluem a maioria das plantas cultivadas, não sofrem influência da luz, germinando na luz ou no escuro, chamadas de fotoblásticas neutras. De acordo com Floriano (2004), a classificação não é definitiva, pois as sementes podem sofrer mudanças com o tempo ou no período de dormência secundária. As sementes secas não têm, em geral, sensibilidade à luz, levando a crer que qualquer mudança na resposta tenha relação com a bioquímica da mesma.

3.2 Teste de germinação

Os testes germinativos antigos eram feitos pela avaliação física observacional das sementes pelas partes interessadas. No entanto, Silva (2014) comenta que o comércio e o crescimento das necessidades do produto levaram a problemas relacionados à qualidade que modificou a metodologia de avaliação.

Marcos Filho et al. (2009, p. 103) revelam que a finalidade dos testes de vigor é, principalmente, “identificar diferenças associadas ao desempenho de lotes de sementes durante o armazenamento ou após a semeadura, procurando destacar lotes com maior eficiência para o estabelecimento do estande sob ampla variação das condições de ambiente”.

As análises precisam ser executadas em locais apropriados, que são os Laboratórios de Análise de Sementes (LAS), e sua validade é reconhecida se forem feitas com amostra representativa dos lotes. Silva (2014), afirma que se não houver homogeneidade no lote ou se ocorrer erro na amostragem, as informações serão incorretas, prejudicando ou beneficiando os interessados. Conforme a autora, “o teste mais usado para determinar a qualidade das sementes é o teste de germinação” (p. 19).

Lima Júnior et al. (2010), relatam que, no Brasil, a comercialização interna, assim como as exportações, fiscalização e a legislação de sementes têm respaldo em testes que se realizam nos LAS, em conformidade com as Regras para Análise de Sementes (RAS), cujo amparo é dado por força do Decreto no 5.153, de 24 de julho de 2004, que aprovou o Sistema Nacional de Sementes e Mudanças, (Lei nº 10.711, de 5 de agosto de 2003).

A semente constitui-se num insumo de importância fundamental no agrobusiness e somente a sua correta avaliação será capaz de permitir seu uso adequado, determinando dessa forma, aumento da produtividade e sucesso da produção agrícola. Silva (2014, p. 19) complementa: “As análises feitas nos laboratórios objetivam e determinam a qualidade física, fisiológica e sanitária das sementes, e são a única forma de conhecer a qualidade real de um lote de sementes de forma segura”.

O principal objetivo da realização do teste de germinação em laboratório é determinar o potencial máximo de germinação (BRASIL, 2009). A sua importância reside no fato de que o valor obtido no teste poderá ser utilizado a campo, como forma de estimar o número de sementes que deverão ser utilizadas na semeadura, bem como para comparar lotes de sementes.

3.3 Processo de germinação

Weitbrecht et al. (2011) classificou o processo de germinação em três fases:

Na fase I com a embebição da semente inicia a absorção da água, aumentando o volume de água absorvida de acordo com a área umedecida, aumentando a respiração e ativando o metabolismo com a liberação de gases e lixiviação de açúcares, ácidos orgânicos, aminoácidos e outros.

Já na fase II há uma redução da absorção de água e da atividade respiratória, influenciando na liberação de energia para os processos de digestão, translocação e assimilação, que são os estágios onde a semente usa as substâncias de reservas armazenadas como carboidratos, lipídios e proteínas. Na digestão há a decomposição das reservas e sua transformação em substâncias solúvel e difusível; na translocação há transferência de reservas para o eixo embrionário, principalmente para a extremidade da plúmula e da radícula e por último na assimilação há a reorganização das reservas que formarão novos tecidos.

Na fase III inicia o crescimento do embrião, aumenta a absorção de água e a taxa de respiração. Assim a germinação pode ocorrer entre o final da fase II e início da fase III, com a emissão das radículas, coleóptilo e formação da plântula. A representação do processo metabólico de uma semente monocotiledônea está apresentada na Figura 2.

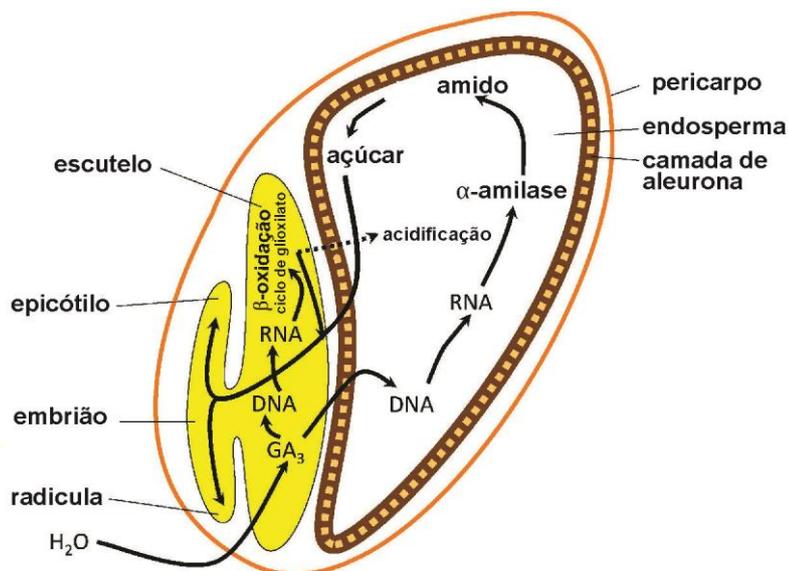


Figura 2. Processos metabólicos que ocorrem no embrião e no endosperma durante a germinação de uma semente monocotiledônea conforme estudo realizado com a cevada de acordo com Zhenguo et al. (2017).

3.4 Tipos de Germinação

Existem dois tipos de germinação caracterizados pela posição dos cotilédones. Na germinação epígea (Figura 3), os cotilédones ou endosperma ficam acima do solo, podendo se tornar verdes e fotossintetizantes. Este tipo é o que ocorre, por exemplo, no feijão, na mamona e na cebola, entre outras. Na germinação hipógea (Figura 4), os cotilédones ou o grão permanecem sob o solo e não se tornam fotossintetizantes, como ocorre no sorgo, no arroz, no milho, entre outras.

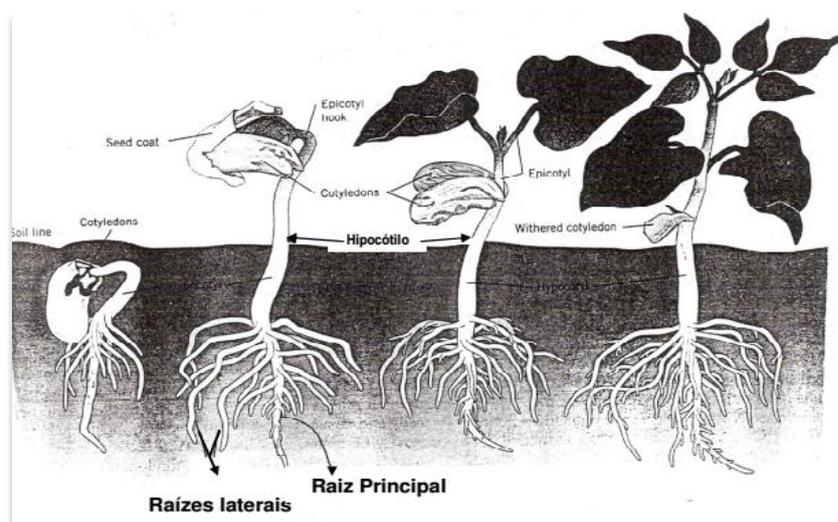


Figura 3. Germinação epígea de semente de dicotiledônea.

Fonte: HOPKINS (2010)

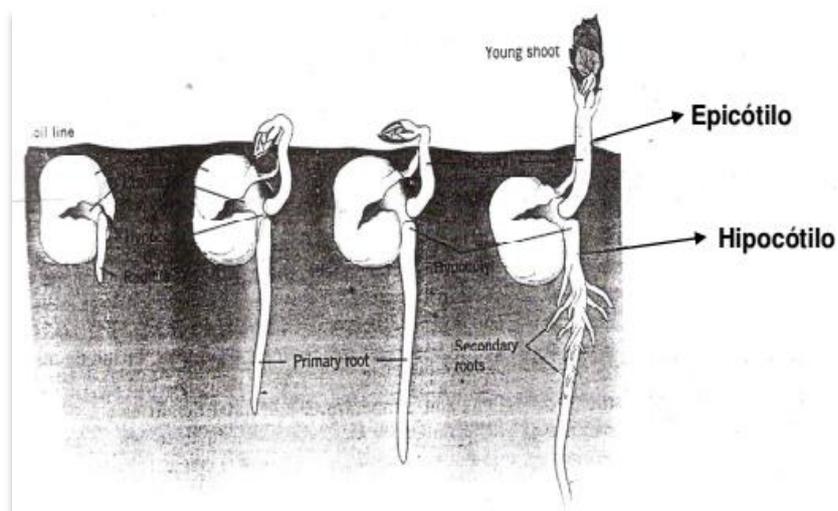


Figura 4. Germinação hipógea de semente de monocotiledônea.

Fonte: HOPKINS (2010)

3.5 Aceleradores de germinação

Muitas são as técnicas ou estratégias estudadas que a agricultura vem utilizando, visando aumentar a produção e a produtividade. Desde a adubação, até a manipulação genética das plantas, visando maior eficiência produtiva, maior resistência a pragas e doenças, bem como, diminuição do tempo semeadura/colheita, os processos vêm se aperfeiçoando e chegam aos estimuladores de crescimento e aos aceleradores de germinação (DU JARDIN, 2015).

Conforme Santos et al. (2013, p. 308), “os biorreguladores favorecem a expressão do potencial genético das plantas mediante alterações nos processos vitais e estruturais, promovem o equilíbrio hormonal e estimulam o desenvolvimento do sistema radicular”. Já Binsfeld et al. (2014, p. 89), comenta que “os controladores hormonais, ou reguladores de crescimento vegetal, têm despertado atenção cada vez maior, no agronegócio, à medida em que as técnicas de cultivo evoluem, principalmente em culturas de grande importância econômica”.

Segundo Ávila et al. (2016), a importância do uso de bioestimulantes reside no fato de que são substâncias naturais ou sintéticas, que podem ser aplicadas nas sementes, nas plantas ou no próprio solo, com a capacidade de mudar os processos vitais e estruturais das plantas, implicando em aumento do rendimento da planta. Conforme Prieto et al. (2017), têm a capacidade de promover o equilíbrio hormonal das plantas, com o consequente favorecimento do seu potencial genético, incitando o desenvolvimento de raízes.

Assim, os bioestimulantes apresentam aminoácidos, as auxinas, as citocininas, as giberilinas, ácido abscísico, os retardadores, os inibidores e o etileno que tem a propriedade de influenciar ou modificar os processos fisiológicos, exercendo controle da atividade meristemática e que aplicados exogenamente, alcançam efeitos similares ao grupo de hormônios produzidos pela planta (CASTRO et al., 2008; PRIETO et al, 2017).

Entre os benefícios resultantes da aplicação de bioestimulantes químicos (de produtos naturais ou sintéticos), está à promoção do crescimento, a modulação do desenvolvimento de características de qualidade e aumento da tolerância ao estresse ambiental. Conforme Scalón et al. (2009), levando-se em consideração que o desenvolvimento das plântulas é lento, a aplicação de bioestimulantes de crescimento pode contribuir para acelerar o processo de produção de mudas, melhorando a produtividade.

Os bioestimulantes, mesmo aqueles que contêm minerais, normalmente têm a capacidade de suprir todas as necessidades minerais exigidas pelas plantas, possibilitando aumento do crescimento radicular das mesmas sem sujeitá-las ao estresse, aumentando a defesa

antioxidante. As fertilizações do solo são influenciadas pela adição de nutrientes aos nutrientes pré-existentes no solo (RATHORE et al. 200).

Colla et al. (2017) comenta que tem sido muito bem aceita a aplicação de hidrolisados de proteína (PHs) como bioestimulantes em uma ampla gama de culturas hortícolas e agronômicas. Estes PHs têm demonstrado, em grande parte das culturas, desempenhar um papel importante como estimuladores naturais na modulação de plantas moleculares e de processos fisiológicos que desencadeiam crescimento, aumentam o rendimento e aliviam o impacto do estresse abiótico nas culturas. Ao mesmo tempo, muitos destes complexos proporcionam maior poder de defesa da plântula.

Scalon et al. (2009) mencionam estudos que utilizaram a giberelina (GA3) e a citocinina, em tratamentos isolados ou em associação em sementes de *Passiflora edulis f. flavicarpa* (maracujá amarelo) e *Passiflora alata* Curtis (maracujá doce), obtendo aumentos significativos na germinação das sementes. “O efeito da giberelina baseia-se na ativação de enzimas hidrolíticas de reservas nutritivas disponibilizando para o embrião energia e compostos intermediários para o crescimento e desenvolvimento do mesmo” (p. 98).

Segundo Lana et al. (2009) os bioestimulantes agem como incremento hormonal e nutricional na superação de estresses abióticos. Durante o desenvolvimento das plantas a aplicação de reguladores de crescimento e no tratamento de sementes pode estimular o desenvolvimento radicular.

Segundo Du Jardin (2015) há uma disponibilidade de bioestimulantes numa variedade de formulações e com ingredientes variados, contudo, ele classifica-os em três grandes grupos com base em sua fonte e conteúdo. São eles, os grupos que incluem substâncias húmicas (SH), os produtos que contêm hormonas (HCPs) e o conteúdo em aminoácidos (AACP). Conforme o autor, os “HCPs, como extratos de algas marinhas, contêm quantidades identificáveis de substâncias ativas de crescimento de plantas, como auxinas, citocininas ou seus derivados”.

3.5.1 Substâncias húmicas e ácidos fúlvicos

Du Jardin (2015) descreve as substâncias húmicas (SH) como constituintes naturais do solo, isto é, a matéria orgânica, que resulta da decomposição de resíduos vegetais, animais e da atividade microbianos, como também da atividade metabólica de micróbios do solo, que usam estes substratos. Halpern et al. (2015) descrevem as substâncias húmicas como coleções de compostos heterogêneos, originalmente categorizados de acordo com seu peso molecular e solubilidade em huminas, ácidos húmicos e ácidos fúlvicos. Estes compostos apresentam

dinâmicas complexas de associação/dissociação em colóides supramoleculares, que sofrem a influência das raízes das plantas através da libertação de protões e exsudados. Assim, a interação entre a ação microbiótica, a matéria orgânica e as raízes das plantas no solo tem como resultado essas SH.

Desde há muito tem sido reconhecido o valor das SH como substâncias que contribuem para a fertilidade do solo, agindo de forma física, físico-química, química e biológica. Na forma de bioestimulante, os benefícios das SH referem-se à melhoria da nutrição da raiz, através de diferentes mecanismos.

3.5.2 Hidrolisados de proteínas e outros compostos contendo Nitrogênio (N)

A obtenção de aminoácidos e misturas de peptídeos ocorre por hidrólise protéica enzimática de subprodutos agroindustriais, de fontes vegetais (resíduos da colheita) ou resíduos animais (CALVO et al., 2014). Conforme Du Jardin (2015, p. 5), “estes compostos demonstraram desempenhar vários papéis como bioestimulantes do crescimento das plantas”. Halpern et al. (2015) destacam os efeitos diretos nas plantas, destacando a modulação da absorção e assimilação de N, que ocorre pela regulação de enzimas envolvidas na assimilação de N e de seus genes estruturais, atuando na via de sinalização de aquisição de N nas raízes.

Dias-Arieria et al. (2012) afirmam que existem efeitos indiretos importantes na nutrição e crescimento quando são aplicados hidrolisados de proteínas às plantas e solos. Conforme Du Jardin (2015, p. 5), “sabe-se que os hidrolisados de proteínas aumentam biomassa e atividade microbiana, respiração do solo, melhorando a fertilidade”.

3.5.3 Extratos de algas marinhas e vegetais

Não é algo novo a utilização de algas frescas como fonte de matéria orgânica e fertilizante na agricultura; contudo, de acordo com Rathore et al. (2009), os seus efeitos como bioestimulantes foram estudados e explorados apenas recentemente. Substâncias bioativas extraídas de algas marinhas são utilizadas em culturas agrícolas e hortícolas, com excelentes resultados em termos de aumento de rendimento e de qualidade. As algas agem nos solos e nas plantas (DU JARDIN, 2015).

Rathore et al. (2009) e Calvo et al. (2014) relatam a atividade das algas marinhas sobre as plantas em diversos estágios. Como fertilizante, seu efeito nutricional se manifesta pela

provisão de macro e micronutrientes. Nas sementes, geram impactos germinativos, determinando o crescimento e desenvolvimento adicionais, associados a efeitos hormonais, que se constituem nas principais causas de atividade de bioestimulação em plantas cultivadas.

Em ensaios laboratoriais, Craigie (2011) identificou nos extratos de algas marinhas citocininas, auxinas, ácido abscísico, giberilinas e outras classes de compostos semelhantes a hormônios, como: esteróis e poliaminas.

3.5.4 Quitosana e outros biopolímeros

A quitosana é uma forma de biopolímero quitina acetilada, produzida naturalmente e industrialmente. Halpern et al. (2015) relatam os efeitos fisiológicos dos oligômeros de quitosana em plantas, como resultado da capacidade deste composto policatiônico para ligar uma ampla gama de componentes celulares, incluindo DNA, membrana plasmática e constituintes da parede celular.

3.5.5 Compostos inorgânicos

Os elementos benéficos são aqueles elementos químicos capazes de promover o crescimento das plantas, sendo essenciais para algumas em particular, contudo não necessariamente para todas as plantas (DU JARDIN, 2012). Entre esses, ainda são destacados elementos essenciais, quais sejam o alumínio (Al), o cobalto (Co), o sódio (Na), o selênio (Se) e o silício (Si), que estão presentes em solos e em plantas como diferentes sais inorgânicos, bem como em formas insolúveis de sílica amorfa ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) em espécies gramináceas (CRAIGIE, 2011).

A literatura científica é farta em relatar efeitos de elementos benéficos dos compostos inorgânicos, como a promoção do crescimento das plantas (RATHORE et al., 2009; DIAS-ARIERIA et al., 2012; DU JARDIN, 2015), a qualidade de produtos vegetais (CALVO et al., 2014;) e a tolerância ao estresse abiótico (CALVO et al., 2014; DU JARDIN, 2015; COLLA et al., 2017). Possuem função bioestimulante, pois atuam no crescimento das plantas, aumentando a eficiência nutricional e a tolerância ao estresse abiótico (DU JARDIN, 2015), ainda que esses sais (cloretos, fosfatos, fosfitos, silicatos e carbonatos) tenham sido utilizados como fungicidas.

3.5.6 Fungos

Existe uma interação, estabelecida de diferentes maneiras, entre as raízes das plantas e os fungos, a partir de simbioses mutualistas, isto é, ambos os organismos vivem em contato direto entre si estabelecendo relações mutuamente benéficas. De acordo com Du Jardin (2015, p. 6), “fungos de micorrizas são um grupo heterogêneo de táxons que estabelecem simbioses com mais de 90% de todas as espécies de plantas.

Gianinazzi et al. (2010), comenta o crescente interesse pela utilização de micorriza como medida de desenvolver uma agricultura sustentável, levando em consideração que existem benefícios das simbioses para a eficiência nutricional (para ambos os macronutrientes, especialmente P, e micronutrientes), balanço hídrico, proteção do estresse biótico e abiótico de plantas amplamente aceitos.

Para Halpern et al. (2015), quando aplicados às plantas com o intuito de promover a eficiência nutricional, a tolerância ao estresse, o rendimento das culturas e a qualidade do produto, os produtos à base de fungos podem ser considerados como bioestimulantes. Para Colla et al. (2015), considerando os efeitos acima descritos, esses endófitos fúngicos podem ser considerados como bioestimulantes, mesmo que a sua utilização primária seja como biopesticidas.

3.5.7 Bactérias

As bactérias estão em constante interação com as plantas, de todas as formas possíveis. Conforme Du Jardin (2012), no que diz respeito à utilização de bioestimulantes na agricultura, o autor destaca dois como os principais tipos que devem ser considerados, dentro de uma diversidade taxonômica, funcional e ecológica: (a) endossimbiontes, tipo *Rhizobium*, é um “biofertilizador, isto é, inoculante microbiano que facilita a aquisição de nutrientes pelas plantas” (DU JARDIN, 2015, p. 7).e (b) GPRs mutualistas e rizosféricos, que é um vegetal rizobactérias promotor do crescimento, com multifuncionalidade e influenciando na vida vegetal em todos os aspectos: nutrição e crescimento, morfogênese e desenvolvimento, resposta ao estresse biótico/abiótico e interações com outros organismos nos agroecossistemas (HALPERN et al., 2015).

Apesar de apresentar resultados práticos inconsistentes, de acordo com Berendsen et al. (2012), cresce no mercado mundial a utilização de bioestimulantes bacterianos, e atualmente os inoculantes GPR são considerados como um tipo de "probióticos" de plantas, ou seja, estimuladores muito eficientes da nutrição e da imunidade.

3.5.8 Características comuns dos bioestimulantes

Os bioestimulantes têm sido utilizados de forma muito ampla na agricultura, seja para acelerar o crescimento das plantas, para melhorar suas defesas ou para estimular o poder germinativo de sementes. Faria (2017, p. 22) comenta que a aplicação de bioestimulante, o Stimulate®, em sementes de *Phaseolus vulgaris* L. (feijão comum) “proporcionou melhor uniformidade de germinação, favorecendo o surgimento de plântulas com qualidade superior”. Conforme a autora, “as plantas desenvolveram raízes mais vigorosas, maior quantidade de massa seca, tendo seu crescimento e o comprimento total superiores aos encontrados nas plantas não tratadas, aspecto que certamente influi positivamente na produtividade das plantas”.

É diversificada a natureza dos bioestimulantes, pois, conforme Gómez-Merino e Trejo-Téllez (2015), envolve substâncias e microrganismos. Estas substâncias podem ser de composição única, como a glicina e betaína, ou grupos de compostos de origem natural, como os extratos de algas marinhas. Também as funções fisiológicas dos bioestimulantes, isto é, qualquer ação nos processos da planta é diversa. Para Du Jardin (2015, p. 8), os benefícios agrícolas advindos do uso de bioestimulantes são “econômicos e ambientais e se traduzem em maior rendimento da safra, economia de fertilizantes, aumento da qualidade e rentabilidade dos cultivos, produtos melhores, serviços ecossistêmicos, etc.”.

Ainda no que se refere às características dos bioestimulantes, Du Jardin (2015, p. 8) comenta que “os efeitos cientificamente demonstrados de todos os bioestimulantes convergem para pelo menos um ou vários das seguintes funções: aumenta a eficiência da nutrição, tolerância ao estresse abiótico e/ou características de qualidade da cultura”.

Ávila et al.(2008) (apud SILVA et al., 2017) comentam que tem se destacado o uso de bioestimulantes por se constituírem em substâncias naturais ou sintéticas que, ao serem aplicadas às sementes, plantas e solo, promovem mudanças nos processos vitais e estruturais das plantas e aumentando o rendimento das mesmas.

3.6 *Nicotiana tabacum* (tabaco)

Segundo Collins e Hawks (2011) o tabaco tem como origem a América Central, no México, leste dos USA e Canadá, era plantado o tabaco do gênero *Nicotiana rústica*, de folhas pequenas e uma grande concentração de nicotina. Já o *Nicotiana tabacum* de folhas largas pode ser originário do Norte da Argentina ou Sudeste da Bolívia. Cultivado entre as latitudes 60° Norte e 40° Sul, é uma planta perene suscetível a baixas temperaturas, não resistindo a fortes geadas, onde as partes aéreas (caule e folhas) são as primeiras a morrerem, as raízes ainda resistem por mais algum tempo.

Da planta do tabaco, a principal parte comercial são suas folhas para a fabricação de cigarros, também utilizada como matéria prima para a produção de outros produtos.

O tabaco é semeado no sistema float (flutuante) no mês de maio, o transplante pode variar entre 60 a 90 dias em função da cobertura e escolha da data pelo produtor em meados do mês de julho, estendendo-se até os meses de agosto e setembro. O processo de colheita inicia em torno de 60 dias após o transplante, começando pelas folhas baixas, oriundas das sementeiras, em condições normais em média amadurecem 2 a 4 folhas por semana, estendendo-se a colheita das folhas em 5 a 7 semanas. Portanto, na colheita das folhas utilizadas na indústria de cigarros há um processo de coleta organizada classificadas por grupo: baixas (baixa); semimeias; meias; alto pé e pontas (alta) (LUDTKE, 2016).

Ao final da colheita restam na lavoura raízes, caules e folhas não comercializáveis, como mostra a Figura 5, seguido a exterminação dos restos culturais (raízes e caules), com objetivo de reduzir o desenvolvimento e proliferação de vários insetos e agentes patogênicos para o próximo plantio (COLLINS e HAWKS, 2011).

O tabaco de estufa possui em sua constituição, substâncias orgânicas entre elas ácidos orgânicos; alcalóides, bases orgânicas, compostos nitrogenados, carboidratos, resinas e óleos essenciais (COLLINS e HAWKS, 2011).



Figura 5. Registro fotográfico do resíduo de tabaco na lavoura da ExpoAgro Afubra.

3.7 Arroz e milho

Segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), é produzido atualmente no mundo em torno de 2,5 bilhões de toneladas de grãos. Na safra de 2016/2017 a produção de grãos de milho atingiu 1,06 bilhões de toneladas, sendo o responsável por uma produção de mais de 40% dos grãos produzidos mundialmente. O milho é de extrema importância na alimentação humana e animal, também na produção de combustíveis e na fabricação de outros produtos como medicamentos e colas.

O arroz e o milho são culturas de grande expressividade econômica para o Brasil e alimentos mundialmente importantes.

De Melo Machado (2010) argumenta que o arroz é alimento básico em grande parte dos países asiáticos e compõe juntamente com outros, como feijão, açúcar, soja e milho, um complexo que supre muitas das necessidades nutricionais fundamentais do homem. Por sua vez, o milho compõe a base da alimentação de muitos animais que alimentam o homem e mesmo a alimentação deste, na forma de farinhas e em formas industrializadas.

Dada a importância destes dois cereais para a vida humana, destaca-se a importância de melhorar a sua produção e sua produtividade, buscando todas as possíveis alternativas para que se possa produzir melhor e em menos tempo.

O arroz e o milho pertencem a classe das monocotiledôneas por possuírem um só cotilédono, raízes fasciculadas com origem em único ponto, as substâncias que vão nutrir o embrião estão armazenadas no endosperma.

Com relação à fisiologia da germinação do arroz no final do processo de maturação das sementes, o desenvolvimento do embrião é interrompido, entrando em estado de latência, havendo o bloqueio das atividades metabólicas. As sementes de arroz depois de colhidas entram

em estado de dormência, porque o tegumento e o pericarpo impossibilitam a entrada de O₂ pela ação dos inibidores intrínsecos da germinação.

Entende-se que sementes **quiescentes** apresentam condições intrínsecas normais e permanecem em repouso fisiológico devido à ausência de condições favoráveis do ambiente (extrínsecas), as sementes **dormentes** são aquelas que não retomam o crescimento do embrião, mesmo sob condições favoráveis, devido aos fatores intrínsecos (PESKE et al., 1998).

O processo de germinação da semente de milho começa com a absorção de água, reativando os mecanismos bioquímicos e fisiológicos até a emissão da radícula (RESENDE et al., 2003).

Segundo Taiz e Zeiger (2002) a partir da absorção de água pelo embrião é ativado o ácido giberélico que vai ativar as amilases da camada da aleurona e do escutelo liberadas no endosperma; as giberilinas também vão ativar as proteases que são liberadas da camada da aleurona seguidas pela ativação das amilases com a desramificação, hidrolisando o amido do endosperma com as proteases agindo na digestão de proteínas para aminoácidos, os produtos resultantes destes processos são exportados para o escutelo com o início do desenvolvimento. A primeira estrutura a surgir é a radícula, seguida pelo coleóptilo. Conforme imagens mostradas da germinação do milho no capítulo de resultados.

4 METODOLOGIA

4.1 Delineamento da pesquisa

A pesquisa foi desenvolvida em duas etapas, sendo a primeira a produção do hidrolisado de caule e raiz residuais da produção de tabaco, os quais remanescem na lavoura após-colheita das folhas para a fabricação de cigarros. A segunda etapa foi constituída de testes de germinação com sementes de arroz e milho, empregando os hidrolisados produzidos na primeira etapa. A pesquisa foi conduzida conforme a Figura 6.

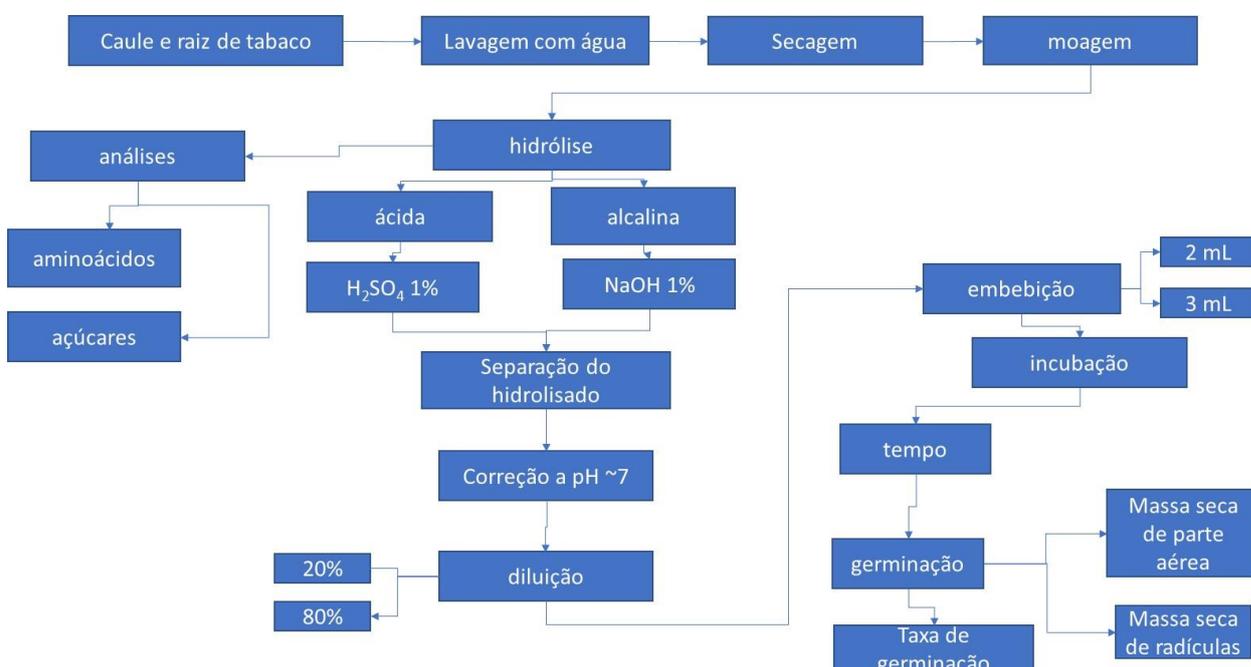


Figura 6. Fluxograma da metodologia.

Para a produção dos hidrolisados foram utilizados o caule e a raiz do tabaco Virgínia, residuais da colheita de folhas, comumente utilizadas para a produção de cigarros. Os ensaios de germinação foram realizados com sementes das culturas de *Oryza sativa* L. (arroz) e *Zea mays* (milho). As amostras do caule e da raiz do *Nicotiana tabacum* (tabaco) foram coletadas em uma lavoura do município de Arroio do Tigre/RS.

As sementes de arroz testadas eram da variedade Bluebelle e as sementes de milho conhecidas como sementes crioulas, procedentes de agricultores da região, adquiridas na loja Agro Comercial Kist & Heemann, em Santa Cruz do Sul/RS. Optou-se por estas sementes para

testar os hidrolisados por estarem livres de quaisquer tratamentos químicos ou biológicos que poderiam interferir nos resultados da pesquisa.

4.2 Local da Pesquisa

O estudo foi realizado nos laboratórios do Centro de Excelência em Produtos e Processos Oleoquímica e Biotecnológicos e no laboratório de Processamento de Grãos, do Curso de Engenharia Agrícola da Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC, na cidade de Santa Cruz do Sul – /RS.

4.3 Preparação dos hidrolisados

Para a preparação dos hidrolisados, os caules e raízes do tabaco foram submetidos a retirada de resíduos sólidos tais como: solo, gramíneas e outros, após lavados em água corrente, secados, cortados em pedaços menores e triturados até atingirem grânulos de 20 a 80 mesh.



Figura 7. Amostra do caule e raiz triturados.

4.4 Produção dos Hidrolisados ácidos e alcalinos por ataque

Para a produção dos hidrolisados ácidos e alcalinos das raízes e caules do tabaco seguiu-se as seguintes técnicas: para os hidrolisados ácidos utilizaram-se os volumes de 1000 mL de solução de ácido sulfúrico a 1%, para hidrolisar 100 g das amostras (10% das biomassas). Para produzir os hidrolisados alcalinos de iguais volumes e pesos, usou-se hidróxido de sódio a 1%. As soluções foram colocadas em autoclave por 1 hora a 121°C. Os hidrolisados produzidos foram centrifugados (velocidade de 4000 rpm por 15 minutos em temperatura de 20°C) e os sobrenadantes (fase líquido-hidrolisado) foram separados e o pH foi ajustado para

aproximadamente 5 a 8 com solução de hidróxido de sódio a 20% para os hidrolisados ácidos e para os hidrolisados alcalinos o pH foi ajustado com solução de ácido sulfúrico a 20%. Os valores de pH (inicial e final) estão apresentados na Tabela 1.

Os hidrolisados foram analisados por Cromatografia Líquida de alta eficiência (HPLC) para determinar a presença de açúcares. Partes das soluções foram armazenadas para a realização de outros testes.

As análises dos hidrolisados para identificar e quantificar aminoácidos foram realizadas por HPLC no Parque Científico e Tecnológico da UNIVATES - TECNOVATES em Lajeado.

Após as separações dos hidrolisados, os precipitados foram retirados, lavados com água deionizada, filtrados em funil de Büchner e secos em estufa a 80°C até peso constante. Os valores encontrados corresponderam à fração não hidrolisada das amostras.

Tabela 1. pH inicial e final dos hidrolisados

Hidrolisado	Amostra	pH inicial	pH final
Alcalino	Raiz	11,56	7,37
	Caule	11,51	7,30
Ácido	Raiz	1,43	5,40
	Caule	1,41	8,49

Para os testes de germinação foram utilizadas bandejas plásticas, sacos plásticos transparentes, potes transparentes descartáveis com tampas, caixas organizadoras de plástico incolor, pipeta graduada, papel toalha (germitest), pinça anatômica serrilhada, balança digital centesimal/divisão 0,001g, água potável, soluções ácidas e alcalinas nas concentrações de 20 e 80% e câmara para germinação e entomologia (germinador com alternância de temperatura e fotoperíodo JP 1000) estufa.

No primeiro ensaio as sementes foram submetidas a 16 tratamentos com 4 repetições por lote com 50 sementes cada, acondicionadas em potes plásticos descartáveis e com tampa. Para a realização do planejamento de experimento foram necessárias 3200 sementes o cultivar *Oryza sativa* L. (arroz) (Figura 8A) e 3200 sementes da cultivar *Zea mays* (milho) (Figura 8B).

Para identificação dos lotes usou-se a numeração de 1 a 16; as letras “C” para o hidrolisado do caule”, “R” para o hidrolisado da raiz, “Cont” para controle água (H₂O), “A” para semente de arroz. “M” para semente de milho, “AC” para o hidrolisado ácido, “ALC” para o hidrolisado alcalino, para as concentrações das soluções 20 e 80%, volumes das soluções 2mL e 3mL para o embebimento (Figura 9) das sementes e “T” tempo para abertura, contagem e coleta das radículas e parte aérea.

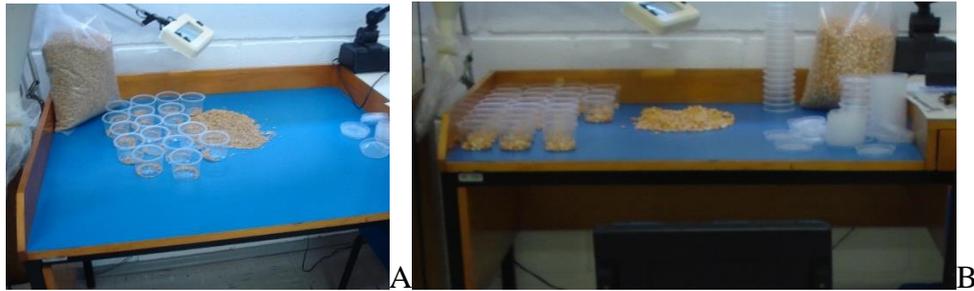


Figura 8.A) Sementes de *Oryza sativa* L. (arroz); e B) Sementes de *Zeamays*(milho).

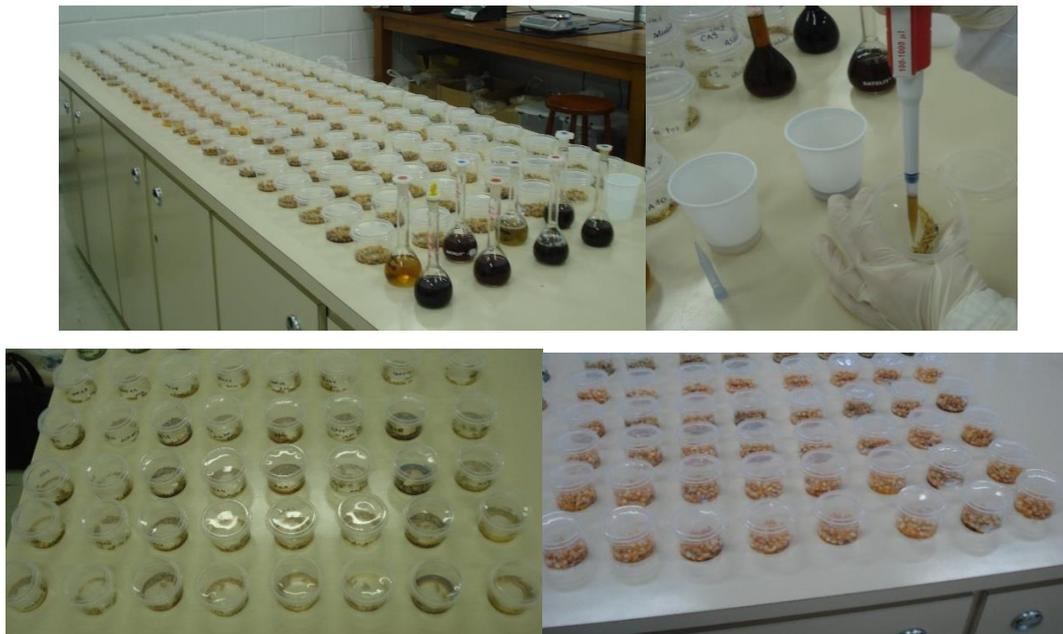


Figura 9.Soluções de hidrolisados do caule e da raiz (20 e 80%), produzidos por ataque alcalino e ácido e respectivas etapas de embebimento.

4.5 Teste de germinação

As sementes de *Oryza sativa* L. (arroz) e *Zea mays* (milho) foram escolhidas aleatoriamente de um todo maior, separadas em 16 lotes de 50 sementes cada, acondicionadas em potes plásticos descartáveis transparentes com tampa, previamente identificados (origem, espécie, número experimento, solução, concentração da solução, volume de embebimento e

tempo de incubação). As sementes foram embebidas nas soluções ácidas e alcalinas nas concentrações de 20 e 80% e volumes de 2 e 3 mL pelo período de 48 horas, baseadas com o RAS –Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

Como substrato usou-se papel toalha (germitest) previamente embebidas em água potável, na proporção de 3,0 vezes o peso do substrato seco e o resultado igual ao volume (mL) de água usado para o embebedimento do mesmo. As sementes foram semeadas entre papel (EP), distribuídas na proporção de 5 X 10 totalizando 50 sementes por folha, também embebidas em água potável. Após enroladas em forma de cartucho e acondicionadas em sacos plásticos transparentes, para evitar contato e interferências entre os experimentos, posicionadas em caixas plásticas transparentes com tampa e colocadas na câmara germinadora ligada na energia, regulada 24 horas antes na temperatura de 25°C e luz artificial branca produzida por 4 lâmpadas fluorescentes de 40 W cada, com períodos programados, simulando o fotoperíodo de 10 horas diárias (BRASIL, 2009).

A primeira abertura dos experimentos para contagem das sementes germinadas do arroz e do milho foi de 48 h após a incubação. Como critério de avaliação para os testes dos hidrolisados foram observadas as taxas de emergência da radícula, coleóptilo ou vice-versa (parte aérea) e a contagem da quantidade de sementes germinadas. No quarto e sétimo dia de incubação os cartuchos de papel foram abertos para contar as sementes germinadas, coletar radículas e partes aéreas, dessecar e pesar as massas secas. As massas coletadas foram depositadas separadamente em copos plásticos descartáveis, identificados por cultura, experimento e lote, levadas para secagem em estufa com circulador de ar na temperatura de 48°C, durante 3 dias. Após a secagem as amostras da matéria seca foram pesadas e comparadas com as amostras coletadas dos experimentos dos controles. Os experimentos de número 1 ao número 8, corresponderam a 4 dias de incubação e os experimentos de número 9 ao número 16, corresponderam a 7 dias de incubação. As massas secas das partes aéreas e das raízes foram pesadas e os resultados expressos em gramas.

4.6 Tratamento estatístico

Para interpretação dos resultados estatisticamente usou-se o software Chemoface v1.6 e o software Graph Pad Prism 7.04. Conhecendo os resultados de pesagem das matérias secas (radículas e partes aéreas) de cada ensaio e os resultados dos percentuais de sementes germinadas, foram inseridos no software Chemoface v1.61, também foi empregado o teste

Mann Whitney com software Graph Pad Prism 7.04 para a análise de significância, quando identificou diferenças significativas identificadas por valor de $p < 0,05$, fornecendo informações das influências, interferências e ações dos hidrolisados produzidos do caule e raiz do tabaco no processo da estimulação de germinação das sementes de arroz e milho

5 RESULTADOS

5.1 Caracterização dos hidrolisados de caule e raiz de tabaco

A Análise elementar realizada por CHNS demonstrou que os caules e raízes de tabaco empregados como matéria prima para a produção dos hidrolisados apresentaram a composição da Tabela 2. Estes resultados indicam a presença de elementos como Carbono mais do que 40%, Nitrogênio <3% e Enxofre aproximadamente 1%, tanto na raiz como no caule. Estes elementos compõem as estruturas celulares e a composição química mais importante para a formação do tecido vegetal. A composição em CHNS inclui as proteínas, que ao serem hidrolisadas separam-se em aminoácidos e polissacarídeos que hidrolisam em açúcares, produtos da quebra em moléculas menores devido a hidrólise alcalina ou ácida.

Tabela 2 Análise elementar de caule e raiz de tabaco coletados em lavouras do Vale do Rio Pardo.

Amostra	CARBONO (%)	HIDROGÊNIO (%)	NITROGÊNIO	ENXOFRE (%)
CVC1	40,85	5,90	1,62	1,04
CVC2	40,66	5,86	1,52	1,04
Média CVC	40,75	5,88	1,57	1,04
RVC1	42,49	5,91	1,93	1,01
RVC2	42,66	6,06	1,97	1,08
Média RVC	42,57	5,98	1,95	1,04
CAT1	41,14	6,07	2,53	1,08
CAT2	40,89	6,00	2,36	1,04
Média CAT	41,01	6,03	2,44	1,06
RAT1	40,70	6,08	2,03	1,08
RAT2	41,45	6,18	2,13	1,12
Média RAT	41,07	6,13	2,08	1,10

CVC e RCV- Caule e Raiz de tabaco coletado em Vera Cruz; CAT e RAT - Caule e Raiz de tabaco coletado em Arroio do Tigre.

Os resíduos de tabaco foram analisados quanto a presença de polissacarídeos através da hidrólise com ácido concentrado. Os resultados da hidrólise indicam que aproximadamente 60% da mistura de caule e raiz de tabaco colhidas por pé de tabaco remanescente na lavoura, correspondem a polissacarídeos. Estes polissacarídeos apresentam principalmente monômeros de glicose, demonstrando que este resíduo é rico em celulose.

No que se refere a produção de hidrolisados ácidos e alcalinos destes resíduos de tabaco destaca-se que a hidrólise controlada pode gerar os açúcares que estão na Tabela 3.

Tabela 3. Teor de açúcares presentes nos polissacarídeos contidos nas amostras de caule e raiz de tabaco.

Amostra	glicose	xilose	arabinose	total
1	38,66	14,07	4,67	57,40
2	36,01	15,09	9,43	60,52
3	31,27	17,75	10,98	60,00
Média	35,31	15,63	8,36	59,30

A presença de açúcares no hidrolisado pode ser um fator importante, uma vez que, conforme Galdiano et al. (2013) em estudo com *Cattleya violacea* (Kunth) açúcar são fonte de energia durante a respiração e, portanto, atuam como precursores para a biossíntese de componentes estruturais e funcionais como oligossacarídeos, aminoácidos e outras moléculas. No hidrolisado, um suprimento exógeno de açúcar, pode-se estar contribuindo para as reservas de amido e sacarose na plântula e acelerando as adaptações fisiológicas. Além disso, Oliveira Júnior et al. (2009) apresentam para o milho resultados que indicam que concentrações baixas de glicose podem ocasionar estímulo na germinação e desenvolvimento e, concentrações altas podem retardar o desenvolvimento devido a formação de do ácido abscísico.

Segundo CASTRO et al. (2014) a utilização de aminoácidos na agricultura vem sendo aplicada por vários anos em diversas culturas no Brasil e no Mundo. São relatados por técnicos e produtores os benefícios no emprego destes produtos, porém há divergências na utilização de aminoácidos, visto que os efeitos não têm sido significativos.

São poucos os trabalhos científicos que comprovam suas eficiências, visto que com a aplicação de fertilizantes dificulta a análise da eficiência dos aminoácidos nas plantas (CARVALHO et al., 2013). Diversas são as hipóteses sobre os efeitos e funções dos aminoácidos no desenvolvimento das plantas, podem ser: na síntese de proteínas, compostos intermediários dos hormônios vegetais endógenos, efeitos em nutrientes e agroquímicos, maior resistência ao estresse hídrico, a temperaturas elevadas e maior tolerância ao ataque de doenças e pragas. No entanto, estas hipóteses ainda necessitam de pesquisas, pois existem dúvidas ainda no que se refere a absorção de aminoácidos exógenos e onde se dá o metabolismo vegetal.

Aminoácidos podem influir na proteção das plantas, na atuação dos sais minerais e agroquímicos ou desenvolvendo a absorção e efeitos destes produtos. Os aminoácidos podem ser inseridos como antiestressantes, influenciar nos processos morfofisiológicos do vegetal

como incentivador de um hormônio endógeno ou de enzimas e da disponibilidade de compostos formadores de crescimento (CASTRO, 2014).

Nos resultados encontrados destaca-se a presença dos aminoácidos de asparagina, glutamina, alanina, fenilalanina e lisina como mostram a Tabela 4, mostrando que os hidrolisados podem servir de uma fonte de aminoácidos.

Tabela 4. Teor de aminoácidos encontrados nos hidrolisados utilizados nos experimentos de germinação de sementes de milho e arroz.

Amostras	Tratamento alcalino		Tratamento ácido	
	Caule de tabaco	Raiz de tabaco	Caule de tabaco	Raiz de tabaco
Asparagina ($\mu\text{mol mL}^{-1}$)	3,33	0,99	9,95	2,23
Treonina ($\mu\text{mol mL}^{-1}$)	0,16	0,21	1,25	0,31
Serina ($\mu\text{mol mL}^{-1}$)	1,08	0,82	5,73	0,55
Glutamina ($\mu\text{mol mL}^{-1}$)	10,76	< LD	< LD	< LD
Prolina ($\mu\text{mol mL}^{-1}$)	< LD	< LD	< LD	< LD
Glicina ($\mu\text{mol mL}^{-1}$)	0,70	0,43	0,73	0,37
Alanina ($\mu\text{mol mL}^{-1}$)	3,32	1,40	4,16	1,41
Cisteína ($\mu\text{mol mL}^{-1}$)	0,26	0,13	0,71	0,33
Valina ($\mu\text{mol mL}^{-1}$)	0,11	0,18	0,34	0,25
Metionina ($\mu\text{mol mL}^{-1}$)	0,63	0,15	1,07	0,48
Isoleucina ($\mu\text{mol mL}^{-1}$)	0,51	0,37	2,10	1,45
Leucina ($\mu\text{mol mL}^{-1}$)	0,82	0,37	0,99	0,65
Tirosina ($\mu\text{mol mL}^{-1}$)	0,37	0,24	0,96	0,87
Fenilalanina ($\mu\text{mol mL}^{-1}$)	1,73	1,13	3,17	1,16
Histidina ($\mu\text{mol mL}^{-1}$)	0,02	< LD	0,02	< LD
Lisina ($\mu\text{mol mL}^{-1}$)	17,38	4,60	19,54	3,52
Arginina ($\mu\text{mol mL}^{-1}$)	< LD	< LD	< LD	< LD

Após o tratamento alcalino do caule de tabaco observa-se uma maior concentração de lisina, alanina, glutamina e asparagina. Já o hidrolisado por ataque alcalino de raiz de tabaco, apresentou menos aminoácidos totais. A partir do hidrolisado ácido, observa-se um comportamento similar para caule e raiz, no entanto, os aminoácidos de destaque são asparagina, serina, isoleucina, fenilalanina e lisina.

Dentre estes, destaca-se a asparagina, que é um dos principais aminoácidos fixadores e transportadores de nitrogênio na seiva do xilema e a glutamina por transportar o nitrogênio orgânico, agindo no crescimento e no desenvolvimento das plantas. A glutamina influencia na fitomassa e na produtividade (LEA et al., 20; FERREIRA et al., 2002).

De todos os aminoácidos encontrados, a lisina está em maior concentração nos hidrolisados. Isto se reflete na germinação uma vez que Castro e Carvalho (2014) apresentam que os aminoácidos essenciais ácidos glutâmicos, lisina, histidina, fenilalanina, leucina, isoleucina, valina, serina e prolina, têm efeito positivo no crescimento, nas condições estudadas pelo autor.

A importância da presença destes aminoácidos no hidrolisado é comprovada por Castro e Carvalho (2014) ao apresentar que estas substâncias são absorvidas em germinação e plântulas em desenvolvimento, como citado para orquídeas.

5.2 Estudo de germinação com sementes de arroz

Os resultados obtidos de avaliação dos hidrolisados na estimulação de germinação das sementes de arroz estão descritos a seguir.

5.2.1 Influência dos hidrolisados na taxa de germinação de semente de arroz

5.2.1.1 Hidrolisado da raiz de tabaco

Para avaliar a influência dos hidrolisados na germinação das sementes usou-se como critério o início do alongamento do eixo embrionário (BEWLEY e BLACK, 1994). São visualizados na Tabela 5 os resultados do primeiro e do segundo experimento dos hidrolisados por ataque ácido e alcalino, produzidos da raiz do tabaco, utilizando os volumes de 2 e 3 mL para o embebedimento das sementes.

Observou-se que no primeiro experimento, no segundo dia de incubação, as taxas de germinação do experimento “RA13”, embebido com 3 mL do hidrolisado alcalino diluído a 20% e comparado com o controle, tiveram a mesma taxa de sementes germinadas. Porém, no sétimo dia de incubação, observou-se que os experimentos aumentaram as taxas de germinação e o experimento “RA8”, embebido com 3 mL do hidrolisado ácido, obteve a taxa de sementes germinadas de 94%. No sétimo dia observou-se que o hidrolisado ácido, diluído a 80% e com volume de embebedimento de 3 mL, aumentou a taxa de sementes germinadas em 94%. Assim, os hidrolisados produzidos da raiz do tabaco não influenciaram no processo de aceleração da germinação das sementes, comparado com o controle no segundo dia de incubadora. Observou-

se que no sétimo dia de incubação o fator tempo e o hidrolisado ácido, diluído a 80% e com volume de embebedimento de 3 mL aumentaram. Já no segundo experimento observou-se que o melhor resultado, no segundo dia de incubação, foi o experimento “RA16” embebido com o hidrolisado ácido, diluído a 80% e com volume de embebedimento de 3 mL, o qual apresentou uma taxa de germinação de 74%. Comparado com o controle também com 3 mL de embebedimento das sementes, o resultado não foi significativamente superior (68% de sementes germinadas).

Observou-se que os experimentos tiveram uma taxa de germinação crescente com destaque para o RA1 que alcançou 90% de germinação. No entanto, os melhores resultados foram próximos aos melhores resultados com o controle. Um exemplo do resultado encontrado pode ser observado na Figura 10.

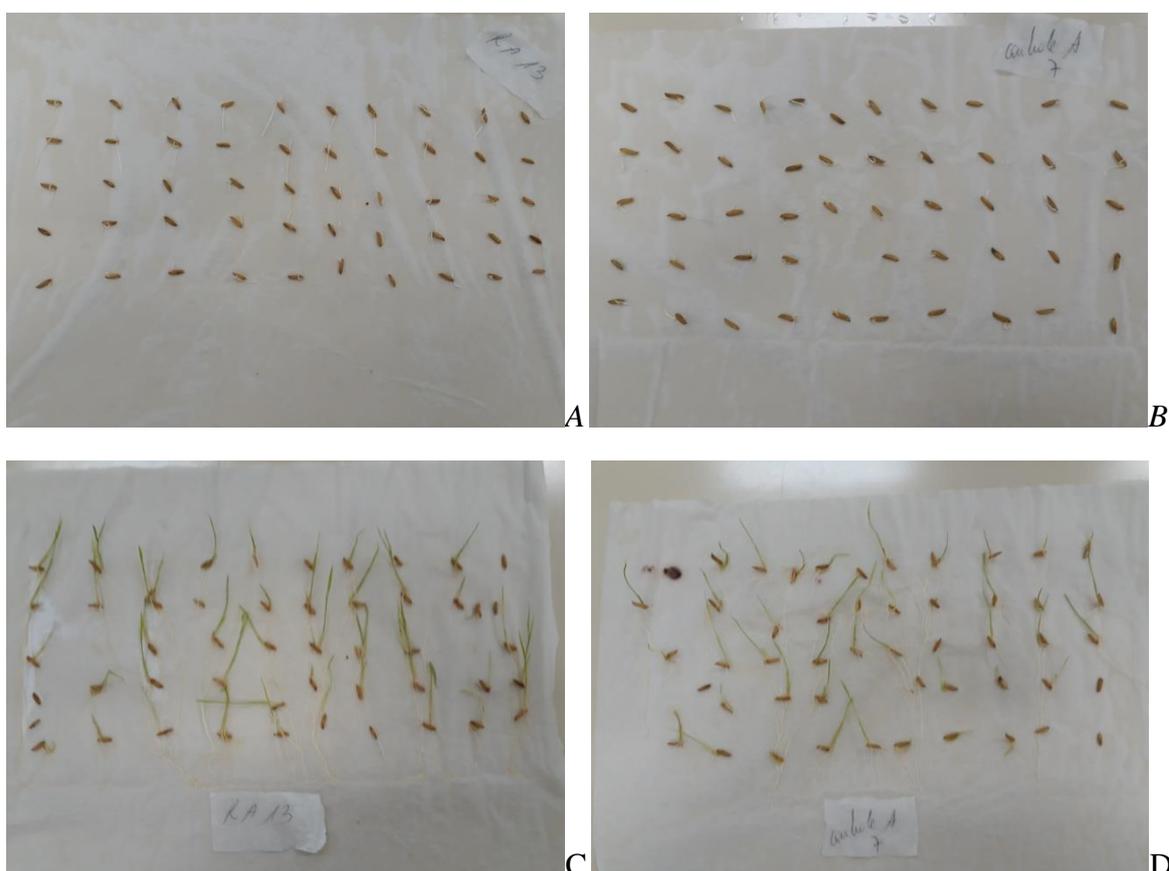


Figura 10. Registro fotográfico do primeiro experimento RA13 com hidrolisado da raiz de tabaco e Controle A7 no segundo e sétimo dia de incubação que apresentaram os melhores resultados para germinação de semente de arroz. Onde: A) 2º dia “RA13” 88% germinação, B) 2º dia “Controle” 88% germinação; C) 7º dia “RA13” 88% germinação; D) 7º dia “Controle 7” 88% germinação.

Tabela 5. Taxa de germinação de semente de arroz estimulada por hidrolisado de raiz (HR) de tabaco no primeiro e segundo experimento.

Identificação	Tipo de hidrolisado	Volume		Tempo de incubação (dias)							
		Diluição (%)	Embebimento (mL)	Primeiro experimento			Segundo experimento				
				2 (%)	7 (%)	9 (%)	2(%)	4(%)	6(%)	7(%)	
R - A -1	Alcalino	20	2	74	86		50	78	90		
R - A -2	Acido	20	2	76	86		52	72	72		
R - A -3	Alcalino	80	2	78	82		60	76	76		
R - A -4	Acido	80	2	60	74		46	70	70		
R - A -5	Alcalino	20	3	76	86		46	78	80		
R - A -6	Acido	20	3	74	86		62	68	76		
R - A -7	Alcalino	80	3	70	70		40	64	70		
R - A -8	Acido	80	3	82	94		48	72	72		
R - A -9	Alcalino	20	2	86		92	54	78			78
R - A -10	Acido	20	2	76		90	60	72			72
R - A -11	Alcalino	80	2	56		78	46	62			62
R - A -12	Acido	80	2	74		84	54	72			72
R - A -13	Alcalino	20	3	88		88	54	72			72
R - A -14	Acido	20	3	80		86	62	72			72
R - A -15	Alcalino	80	3	70		74	46	64			64
R - A -16	Acido	80	3	76		80	74	82			82
Cont -1	-	-	2	74	84						
Cont - 2	-	-	3	88	88						
Cont -1			2				50	80			
Cont - 2			3				68	88			

5.2.1.2 *Hidrolisado do caule de tabaco*

Com relação aos resultados dos hidrolisados obtidos a partir do caule do tabaco, são visualizados os dados da Tabela 6. Estes dados se referem ao primeiro e segundo experimento com os hidrolisados por ataque ácido e alcalino.

Observou-se no segundo dia de incubação que, no primeiro experimento, o melhor resultado comparado com o controle que apresentou 88% de sementes germinadas, foi o experimento “CA6”, com taxa de 84% de sementes germinadas. No sétimo dia de incubação, observou-se que o experimento “CA1”, destacou-se dos demais experimentos com taxa de 94% de sementes germinadas.

Já no segundo experimento observou-se que, o melhor resultado no segundo dia de incubação, foi o experimento “CA9”, embebido com o hidrolisado alcalino, diluído a 20% e com volume de embebedimento de 2mL, obteve-se uma taxa de germinação de 78%. No sétimo dia de incubação observou-se que os experimentos em sua maioria aumentaram as taxas de germinação e comparados com o controle que manteve a taxa de germinação em 88% até o final do experimento. Um exemplo do tratamento com hidrolisados do caule estão na Figura 11.

Assim constatou-se a taxa de germinação alta com todos os hidrolisados e com o controle. Para identificar se há um efeito positivo na germinação de arroz é necessário avaliar estatisticamente.

Tabela 6. Taxa de germinação de semente de arroz estimulada por hidrolisado de caule (HC) de tabaco no primeiro e segundo experimento.

Identificação	Tipo de hidrolisado	Volume		Tempo de incubação (dias)						
		Diluição(%)	Embebimento(mL)	1° Exp.			2° Exp.			
				2	7	9	2	4	7	9
C - A -1	alcalino	20	2	80	94		62	64	72	
C - A -2	acido	20	2	80	90		56	70	76	
C - A -3	alcalino	80	2	40	62		52	72	72	
C - A -4	acido	80	2	50	74		56	74	84	
C - A -5	alcalino	20	3	74	86		44	62	64	
C - A -6	acido	20	3	84	86		60	78	80	
C - A -7	alcalino	80	3	68	82		56	76	78	
C - A -8	acido	80	3	48	70		46	70	70	
C - A -9	alcalino	20	2	64		76	78	78		78
C - A -10	acido	20	2	70		86	74	78		78
C - A -11	alcalino	80	2	60		70	68	80		80
C - A -12	acido	80	2	58		82	64	70		70
C - A -13	alcalino	20	3	76		78	66	80		80
C - A -14	acido	20	3	70		72	60	60		60
C - A -15	alcalino	80	3	58		64	64	76		76
C - A -16	acido	80	3	66		80	60	68		68
Cont -1	-	-	2	74	84					
Cont -2	-	-	3	88	88					
Cont -1			2				50	80		
Cont -2			3				68	88		

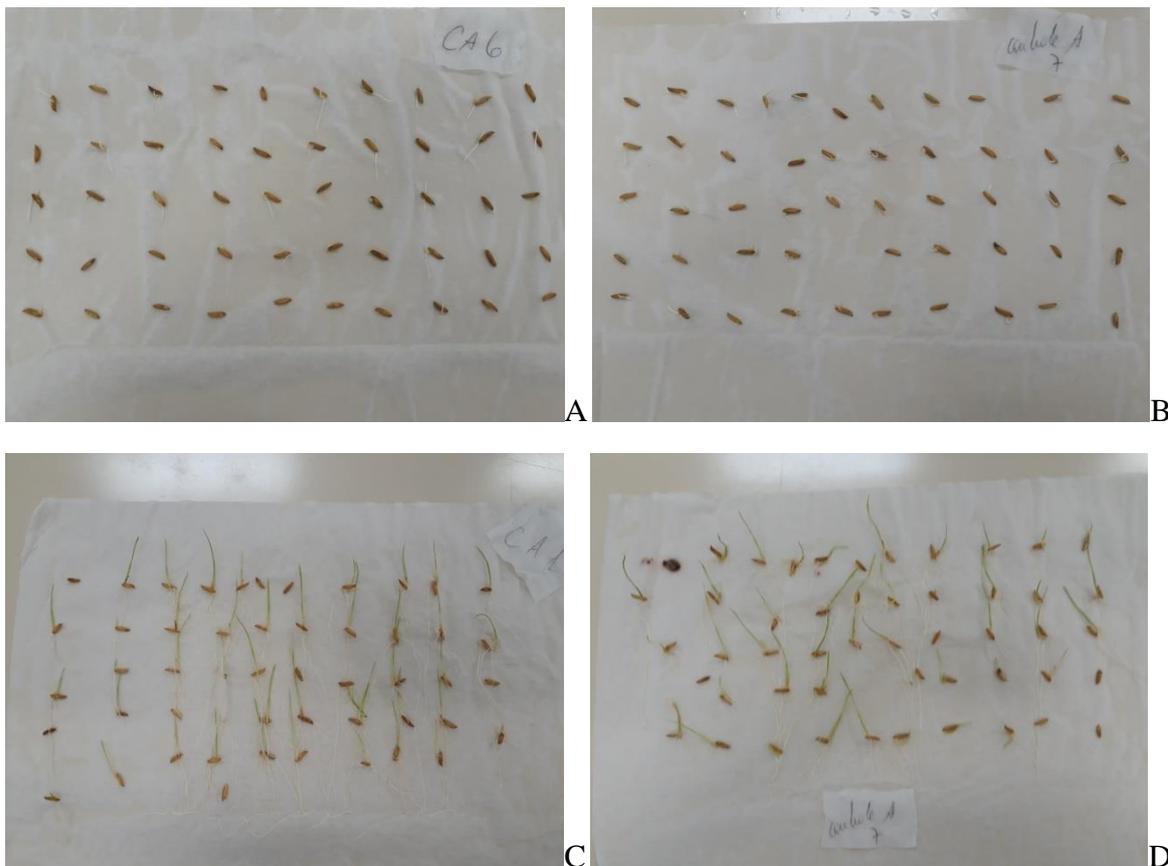


Figura 11. Registro fotográfico do experimento RA13 que apresentou o melhor resultado para germinação de semente de arroz com hidrolisado da raiz de tabaco. Onde: A) 2º dia “CA6” 84% germinação; B) 2º dia “Control 7” 88% germinação; C) 7º dia “CA1” 94% germinação; D) 7º dia “Control 7” 88% germinação.

5.2.1.3 Comparações com o controle

Considerando todos os experimentos comparados ao controle, identifica-se uma tendência geral de maior número de sementes germinadas quando os experimentos são comparados ao controle com água, como mostra a Figura 12. Estes resultados foram analisados com múltiplas comparações, empregando método não paramétrico (Friedman Test). Com este teste estatístico não foram encontradas diferenças significativas entre as germinações empregando HR, HC e H₂O.

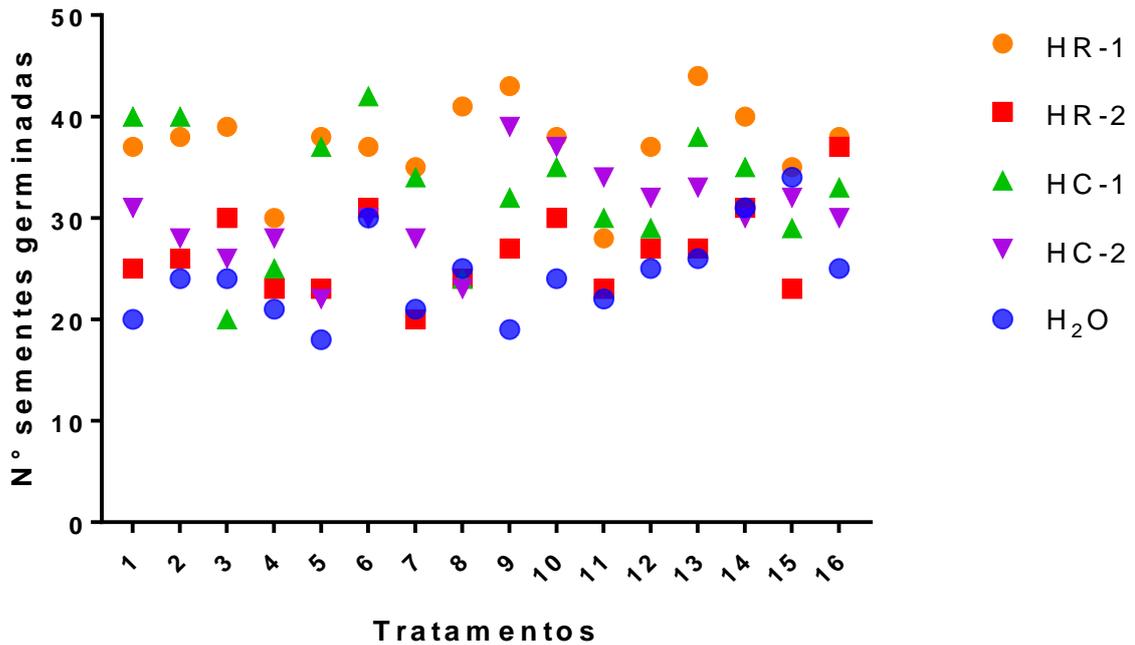


Figura 12. Representação gráfica do número de sementes de arroz germinadas com relação a cada tratamento do planejamento experimental para os hidrolisados do caule de tabaco (HC) e para os hidrolisados da raiz de tabaco (HR) comparados a germinação em água nas mesmas condições.

A diferença considerando todos os experimentos com hidrolisados do tabaco comparado ao número de sementes germinadas em água está na Figura 13.

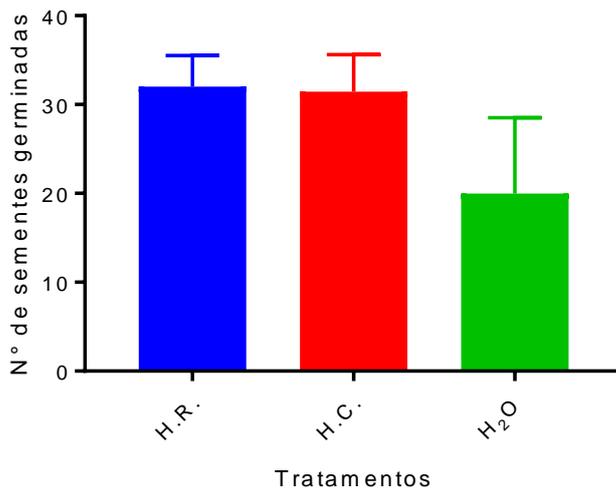


Figura 13. Germinação de sementes de arroz no segundo dia de incubação em relação aos tratamentos realizados com hidrolisado de raiz (H.R.), hidrolisado de caule (H.C.) e água como controle.

5.2.2 Influência dos hidrolisados como estimulante na formação de radículas e partes aéreas coletadas na germinação das sementes de arroz

Os resultados foram analisados a partir do software Chemoface v1.61. Identifica-se o efeito das variáveis obtendo-se os gráficos de pareto da Figura 14.

Conforme é visualizado nos gráficos de pareto, o gráfico “A”, referente ao primeiro experimento onde foram testados os hidrolisados produzidos do caule do tabaco, a variável tempo de incubação foi relevante na produção de massa aérea. No gráfico “B”, hidrolisado de caule de tabaco e massa de raiz formada; “C” hidrolisado de raiz de tabaco e massa de parte aérea emergiu e “D” hidrolisado de raiz de tabaco e massa de raiz formada, não interferiram no processo de germinação.

No entanto as variações dos experimentos levam o tratamento estatístico a não encontrar significância. A dispersão dos resultados pode ser observada na Figura 23.

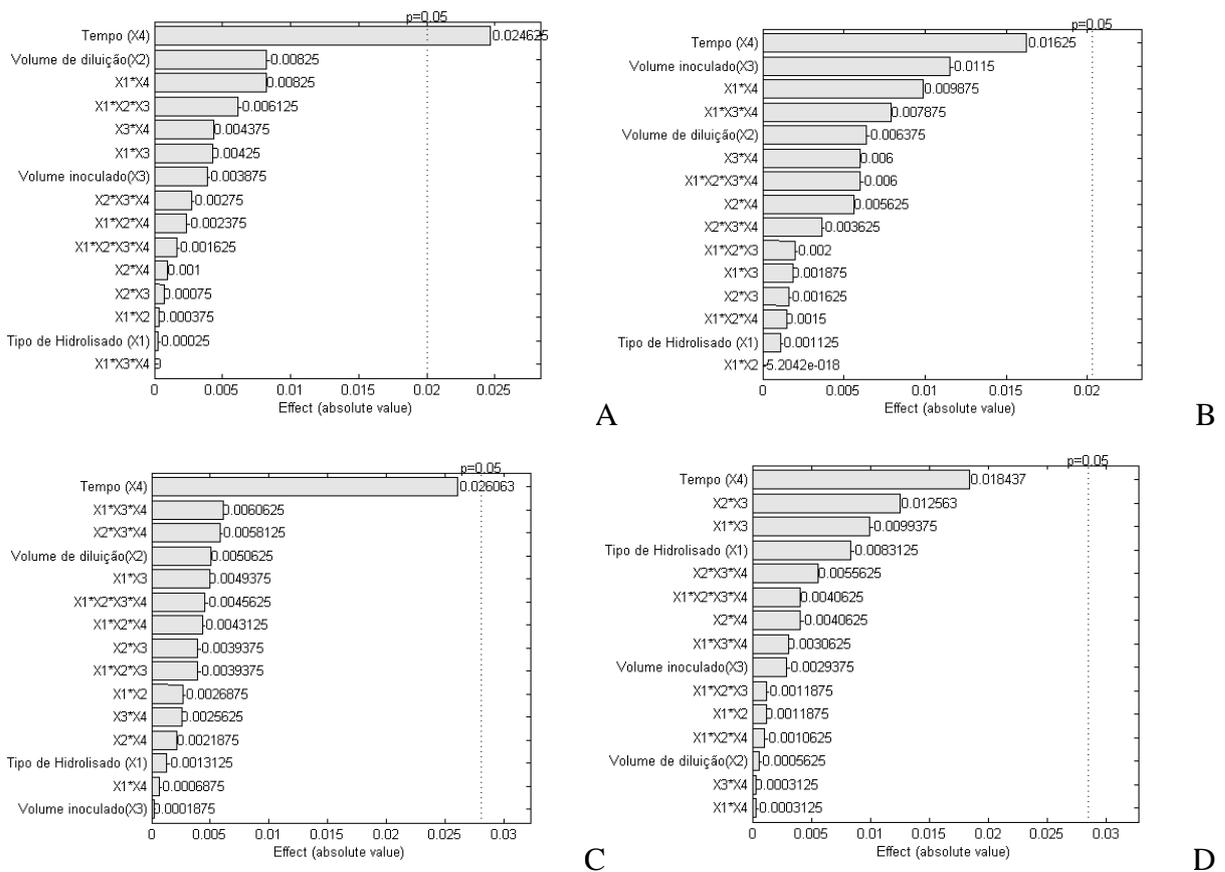


Figura 14. Gráficos de pareto referente ao primeiro e segundo experimento, considerando a variável tempo de germinação de semente de arroz, volume de hidrolisado no embebimento e diluição do hidrolisado, sendo: A) hidrolisado de caule de tabaco e massa de parte aérea emergiu; B) hidrolisado de caule de tabaco e massa de raiz formada; C) hidrolisado de raiz de

tabaco e massa de parte aérea emergio;D) hidrolisado de raiz de tabaco e massa de raiz formada.

5.2.3 Análise das massas com relação ao tipo de hidrolisado

Na Figura 15 apresentamos os gráficos 3D do material coletado da parte aérea dos experimentos do arroz realizados com hidrolisado ataque alcalino, respectivamente do caule (HC-Alc) e da raiz (HR-Alc) de tabaco.

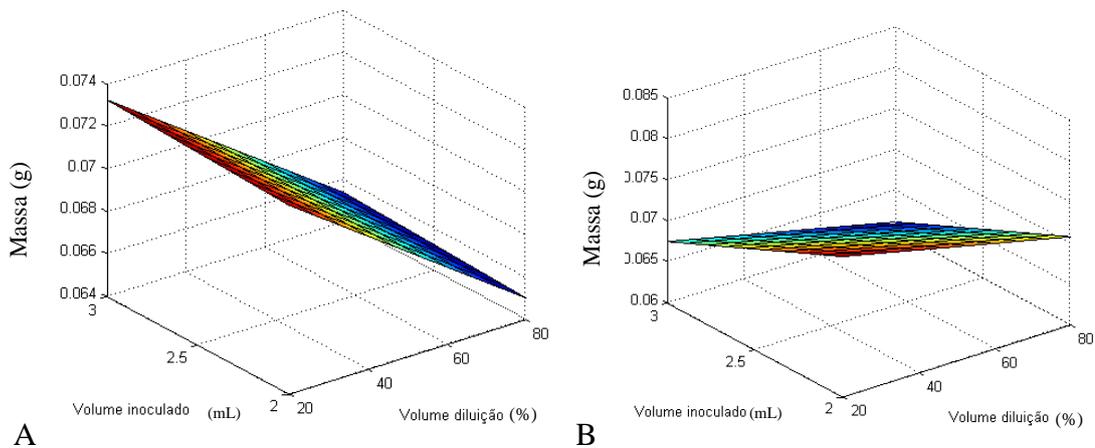


Figura 15. Gráficos 3D do estudo da produção de massa da parte aérea formada na germinação de sementes de arroz empregando hidrolisado **alcalino** (A) do caule de tabaco após 7 dias de incubação e (B) da raiz de tabaco após 7 dias de incubação.

Observou-se que, independentemente do tempo de incubação, o hidrolisado por ataque alcalino apresentou mais massa de parte aérea quando foram mais diluídos. Quando utilizamos o hidrolisado de raiz de tabaco houve uma diferença no comportamento visualizado comparado com a utilização de hidrolisado de caule de tabaco. Neste caso, os melhores resultados foram encontrados com diferentes volumes de embebição.

Na Figura 16 apresentamos os gráficos 3D do material coletado da parte aérea dos experimentos realizados com hidrolisado por ataque ácido respectivamente, do caule (HC-Ac) e da raiz (HR-Ac) de tabaco.

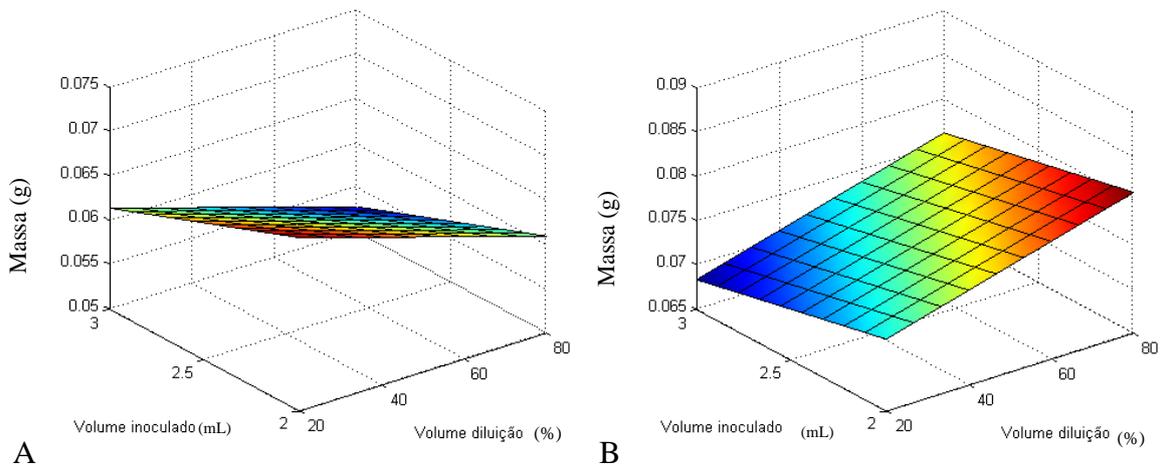


Figura 16. Gráficos 3D do estudo da produção de massa da parte aérea formada na germinação de sementes de arroz empregando hidrolisado ácido (A) do caule de tabaco após 7 dias de incubação e (B) da raiz de tabaco após 7 dias de incubação.

Com relação à massa de raiz observou-se que há diferença entre o resultado obtido para o hidrolisado ácido de raiz e hidrolisado ácido de caule (Figura 17). Para o hidrolisado de caule de tabaco e da raiz os melhores resultados foram obtidos com maior diluição. Resultado semelhante é observado com o hidrolisado alcalino para a formação de raízes, no entanto, a diferença do efeito da diluição é mais acentuada, como mostra a Figura 18.

Observou-se também, que o menor volume de embebição levou a melhores resultados de formação de raízes na germinação, tanto para o hidrolisado ácido (Figura 17) como para o hidrolisado alcalino (Figura 18), com exceção do HR-Ac.

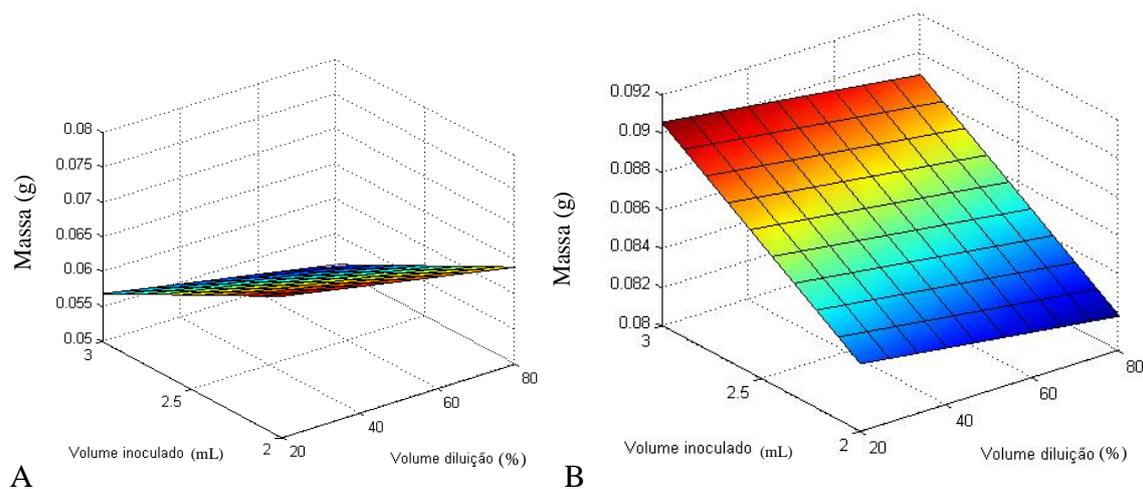


Figura 17. Gráficos 3D do estudo de germinação do arroz empregando hidrolisado ácido do caule de tabaco após 4 (A) e 7 (B) dias e da raiz de tabaco após 4 (C) e 7 (D) considerando a massa de raiz coletada.

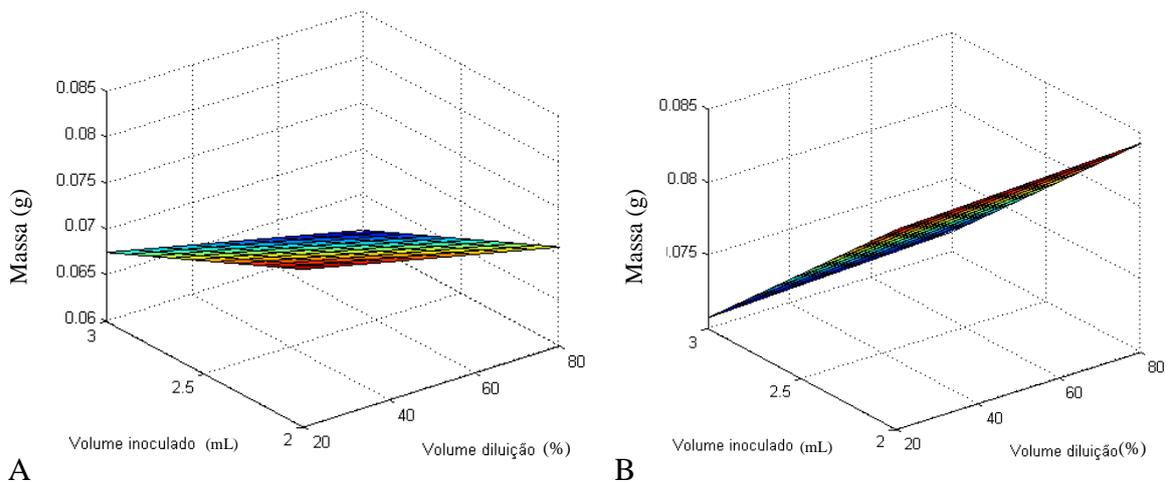


Figura 18. Gráficos 3D do estudo de germinação do arroz empregando hidrolisado alcalino do caule de tabaco após 4 (A) e 7 (B) dias e da raiz de tabaco após 4 (C) e 7 (D) considerando a massa de raiz.

As médias das massas coletadas obtidas da raiz e da parte aérea de arroz na germinação estão na Figura 19. Considerando todos os experimentos não se observa diferença entre os resultados. No entanto, considerando os dados pareados para cada experimento (Tabela 7), observa-se que há significativamente mais massa de parte aérea com os hidrolisados da raiz (alcalino e ácido) e do caule (ácido) comparados aos respectivos controles.

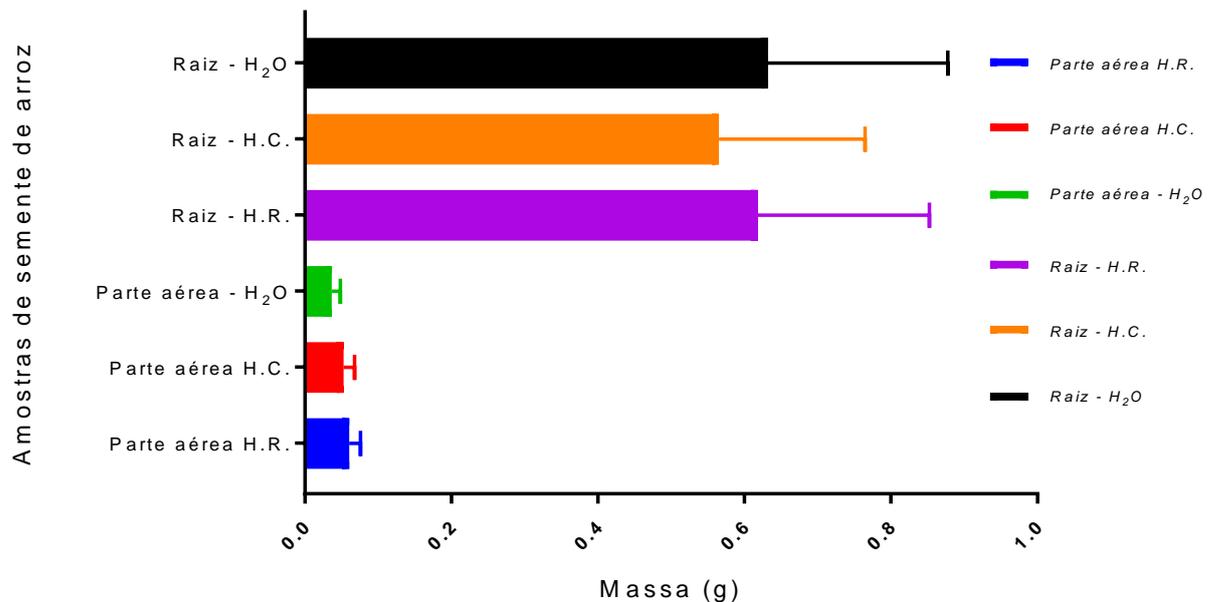


Figura 19. Representação gráfica considerando média e desvio padrão das amostras.

Tabela 7. Valores de p obtidos a partir das médias das massas obtidas de parte aérea e de raiz de **arroz** após germinação após cada conjunto de experimentos, empregando o teste Mann Whitney com software Graph Pad Prism 7.0 onde ($p < 0,05$).

		Valor de p	
		Massa parte aérea	Raiz
Hidrolisado da raiz	Alcalino	0,0404	0,9591
	Ácido	0,0002	0,6657
Hidrolisado do caule	Alcalino	0,2786	0,3823
	Ácido	0,0011	0,7984

5.3 Estudo da germinação com sementes de milho

5.3.1 Influência dos hidrolisados como estimulante na formação de radículas e parte aérea na germinação de milho

5.3.1.1 Hidrolisado da raiz de tabaco

Para avaliar a influência dos hidrolisados na germinação das sementes de milho usou-se como critério o início do alongamento do eixo embrionário, protrusão de radículas e coleóptilos ou vice-versa. Os resultados estão apresentados na Tabela 8.

São visualizados na Tabela 8 os resultados do primeiro e segundo experimento com os hidrolisados ácido e alcalino produzidos da raiz do tabaco. Não se observou visualmente no segundo dia de incubação, tanto no primeiro como no segundo experimento, diferença na aceleração da germinação quando comparados com o controle. Na Figura 20 apresenta-se o registro fotográfico de um dos experimentos com os hidrolisados e controle para o milho.

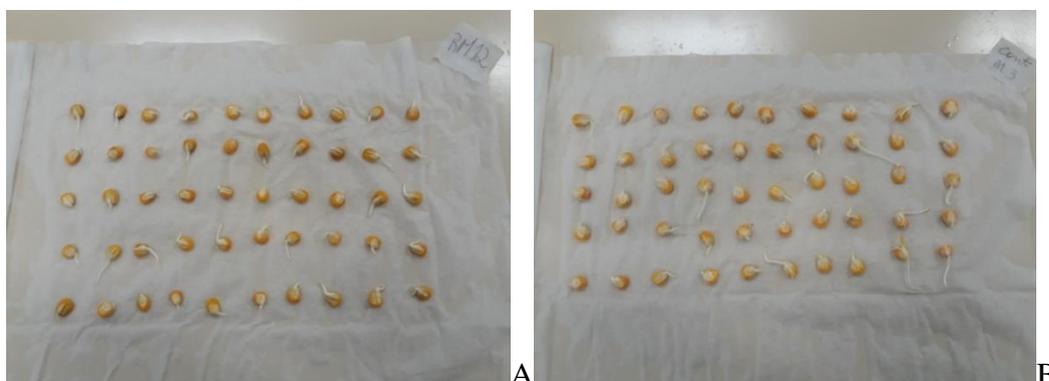


Figura 20. Registro fotográfico dos experimentos que apresentaram melhores resultados para germinação de semente de milho com hidrolisado da raiz de tabaco. Onde: A) Experimento “RM12” ácido 100% e B) Controle 100%.

Tabela 8. Taxa de germinação de semente de milho estimulada por hidrolisado de raiz (HR) de tabaco no primeiro e segundo experimento.

Identificação	Tipo de hidrolisado	Volume		Tempo de incubação (dias)						
		Diluição(%)	Embebimento(mL)	1° Exp.			2° Exp.			
				2	4	7	2	4	7	9
R - M -1	alcalino	20	2	96	98	98	98	98	98	
R - M -2	acido	20	2	94	94	94	96	100	100	
R - M -3	alcalino	80	2	84	96	96	92	100	100	
R - M -4	acido	80	2	98	98	98	92	96	96	
R - M -5	alcalino	20	3	100	100	100	94	96	96	
R - M -6	acido	20	3	100	100	100	96	100	100	
R - M -7	alcalino	80	3	92	94	94	90	96	96	
R - M -8	acido	80	3	90	98	98	94	98	98	
R - M -9	alcalino	20	2	98	98	98	100	100		100
R - M -10	acido	20	2	92	96	96	96	98		98
R - M -11	alcalino	80	2	94	96	96	98	98		98
R - M -12	acido	80	2	100	100	100	90	96		96
R - M -13	alcalino	20	3	96	98	98	98	98		98
R - M -14	acido	20	3	96	96	96	94	94		94
R - M -15	alcalino	80	3	86	96	96	96	96		96
R - M -16	acido	80	3	94	94	94	84	90		90
Cont -1	-	-	2	100		100				
Cont -2	-	-	3	98		100				
Cont -1			2				100			
Cont -2			3				100			

5.3.1.2 Hidrolisados do caule de tabaco

No segundo experimento no segundo dia de incubação abriram-se os cartuchos de papel toalha das sementes de milho, embebidas no hidrolisado (caule) ácido e alcalino, diluídos a 20 e 80% (Tabela 9). Observou-se que 75% dos experimentos apresentaram um índice igual ou maior que 90% de sementes germinadas com os melhores resultados para os experimentos “C-M-6” do hidrolisado ácido diluído a 20% e volume de embeбimento de 3 mL com taxa de 100% de sementes germinadas. O experimento “C-M-2”, que foi com hidrolisado ácido diluído a 20% e volume de embeбimento de 2 mL, apresentou taxa de 96% de sementes germinadas, aumentando a taxa no quarto dia para 100% de germinação. No experimento “C-M- 16”, embebido no hidrolisado ácido, diluído a 80% e volume de embeбição de 3 mL, observou-se que no segundo dia de incubação 96% das sementes germinaram, aumentando a taxa no quarto dia para 100%. A representação fotográfica do experimento C-M-6 está na Figura 21.

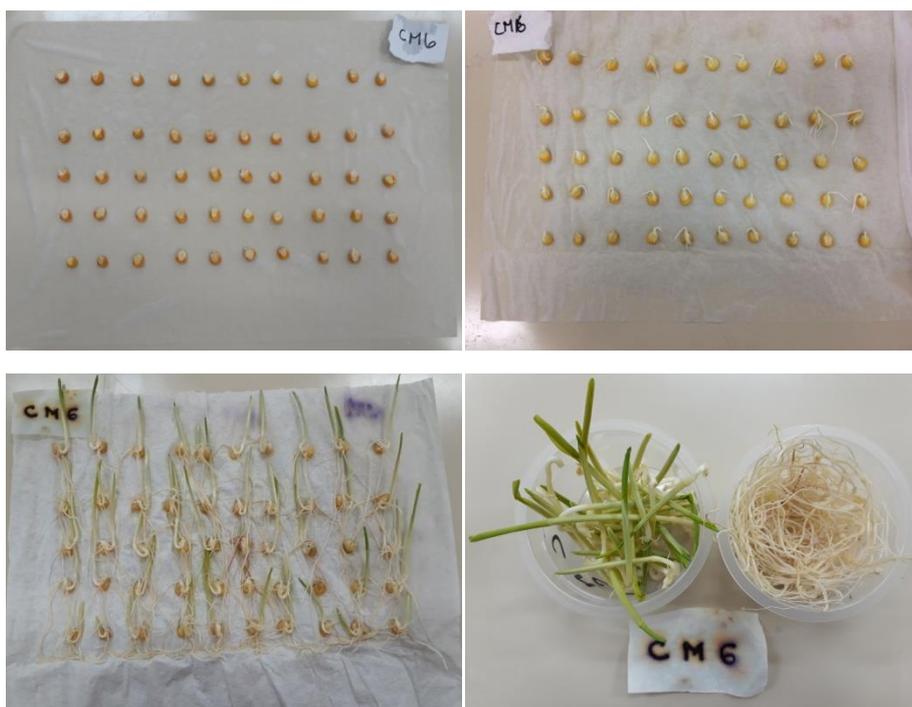


Figura 21. Registro fotográfico do experimento CM6 que apresentou melhor rendimento para germinação de semente de milho com hidrolisado de caule de tabaco.

Tabela 9. Taxa de germinação de semente de milho estimulada por hidrolisado do caule (HC) de tabaco no primeiro e segundo experimento.

Identificação	Tipo de hidrolisado	Volume		Tempo de incubação (dias)						
		Diluição(%)	Embebimento(mL)	1° Exp.			2° Exp.			
				2	4	7	2	4	7	9
C - M -1	alcalino	20	2	96	98	98	98	98	98	
C - M -2	acido	20	2	94	94	94	100	100	100	
C - M -3	alcalino	80	2	84	96	96	94	98	98	
C - M -4	acido	80	2	98	98	98	90	96	98	
C - M -5	alcalino	20	3	100	100	100	98	100	100	
C - M -6	acido	20	3	100	100	100	98	98	98	
C - M -7	alcalino	80	3	92	94	94	94	94	96	
C - M -8	acido	80	3	90	98	98	100	100	100	
C - M -9	alcalino	20	2	98	98	98	94	98	98	98
C - M -10	acido	20	2	92	96	96	98	98	98	98
C - M -11	alcalino	80	2	94	96	96	94	98	98	98
C - M -12	acido	80	2	100	100	100	98	100	100	100
C - M -13	alcalino	20	3	96	98	98	100	100	100	100
C - M -14	acido	20	3	96	96	96	92	94	94	94
C - M -15	alcalino	80	3	86	96	96	94	98	100	100
C - M -16	acido	80	3	94	94	94	96	100	100	100
Cont -1	-	-	2	100		100				
Cont - 2	-	-	3	98		100				
Cont -1			2				100			
Cont - 2			3				100			

5.3.1.3 Comparações com o controle

Analisando comparativamente à água (controle) obteve-se o gráfico da Figura 22. Visualmente observa-se a mesma taxa de germinação para todos os experimentos. Além disso, na análise estatística de todos os experimentos do planejamento, comparados para as mesmas variáveis, não houve diferença significativa ($p>0,05$).

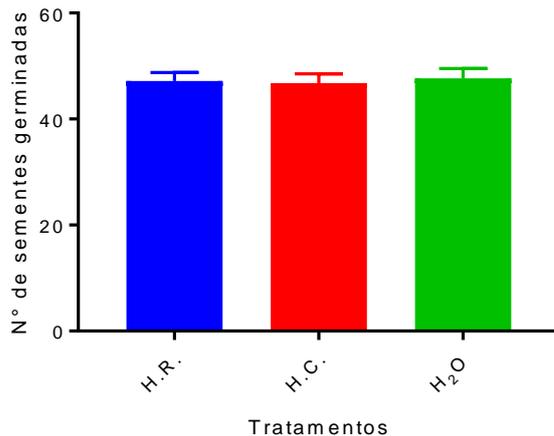


Figura 22. Germinação de sementes de milho no segundo dia de incubação em relação aos tratamentos realizados com hidrolisado de raiz (H.R.), hidrolisado de caule (H.C.) e água como controle.

Os dados plotados no gráfico da Figura 23 referente a germinação do milho comparados aos dados anteriormente plotados na Figura 12 referente a germinação do arroz demonstram que os hidrolisados influenciaram de forma diferente nestes dois tipos de semente.

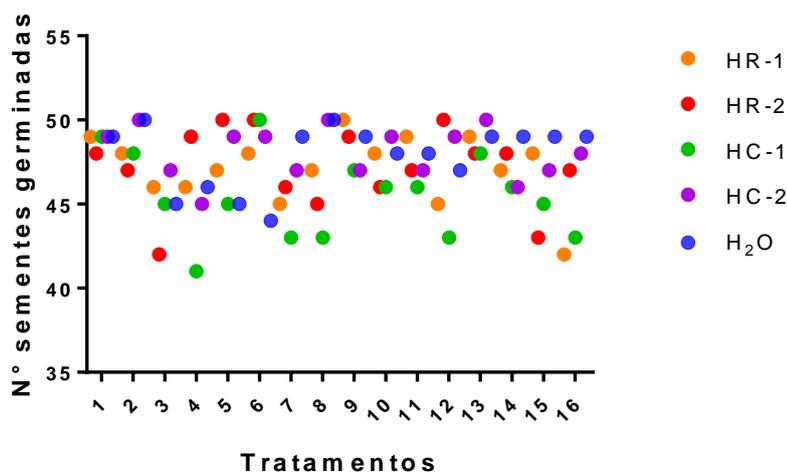


Figura 23 Representação gráfica do número de sementes de milho germinadas com relação a cada tratamento do planejamento experimental para os hidrolisados do caule de tabaco (HC) e para os hidrolisados da raiz de tabaco (HR) comparados a germinação em água nas mesmas condições.

5.3.2 Massa de parte aérea e raiz coletada na germinação de semente de milho

Com relação às variáveis controladas no planejamento de experimentos, os resultados foram analisados a partir do software Chemoface v1.61, visando identificar o efeito das variáveis obtendo-se os gráficos de pareto da Figura 24. Observou-se que para a massa de parte aérea e massa de raiz com os hidrolisados de caule e raiz de tabaco, houve um efeito significativo de crescimento em relação ao tempo de incubação.

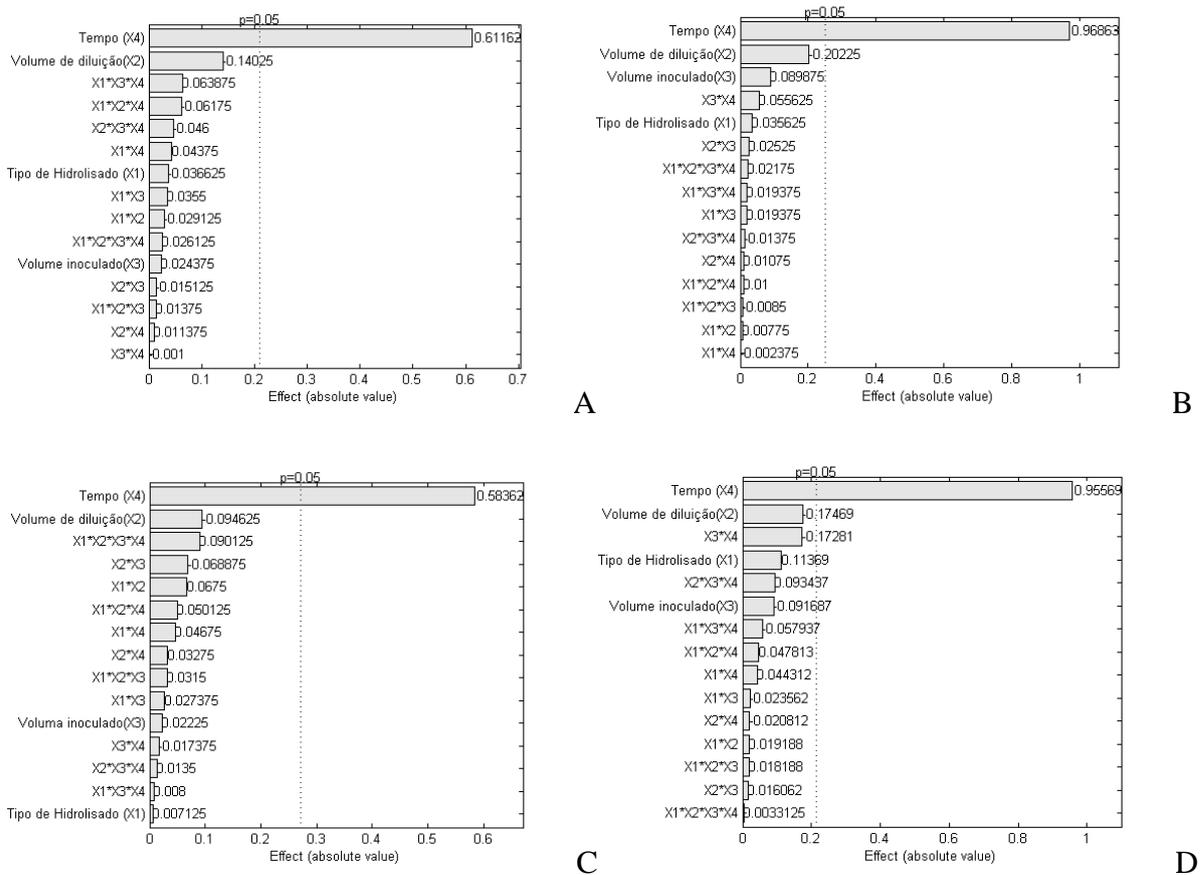


Figura 24. Gráficos de pareto referente ao primeiro e segundo experimento, considerando as variáveis, tempo de germinação de semente de milho, volume de hidrolisado no embebedimento e diluição do hidrolisado, sendo: A) hidrolisado de caule de tabaco e massa de parte aérea eclodida; B) hidrolisado de caule de tabaco e massa de raiz formada; C) hidrolisado de raiz de tabaco e massa de parte aérea eclodida; D) hidrolisado de raiz de tabaco e massa de raiz formada.

5.3.3 Análise das massas com relação ao tipo de hidrolisado

Na Figura 25 e Figura 26 apresentamos os gráficos 3D do material coletado da parte aérea dos experimentos realizados com hidrolisado alcalino e hidrolisado ácido, respectivamente do caule

e da raiz de tabaco. Observam-se nos gráficos da Figura 25 que para o hidrolisado alcalino de caule de tabaco houve maior massa coletada de parte aérea quando foi empregado 3mL de hidrolisado no embeбimento e diluído a 20%, o mesmo resultado foi observado para o hidrolisado de raiz de tabaco.

Para o hidrolisado ácido, a menor diluição do hidrolisado também apresentou a maior massa de parte aérea coletada.

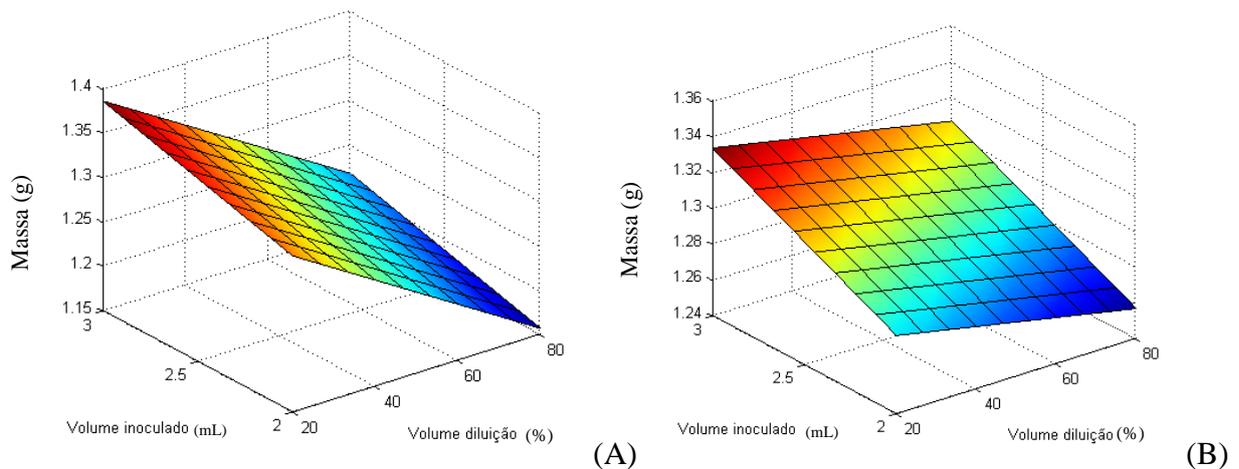


Figura 25. Gráficos 3D do estudo de germinação do milho empregando hidrolisado **alcalino** do caule de tabaco após 7 dias (A) e da raiz de tabaco após 7 dias (B) considerando a massa da parte aérea coletada.

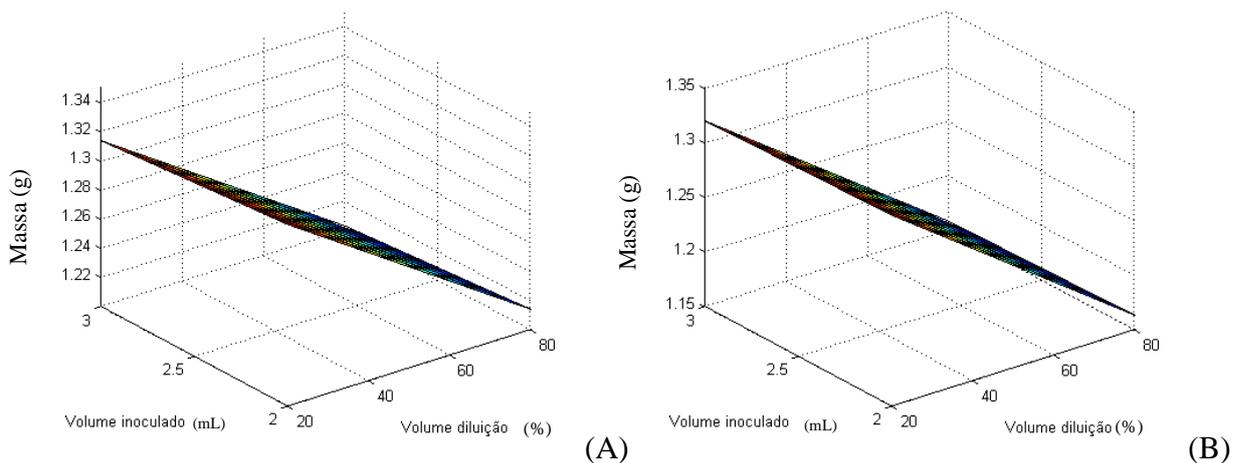


Figura 26. Gráficos 3D do estudo de germinação do milho empregando hidrolisado **ácido** do caule de tabaco após 7 dias (A) e da raiz de tabaco após 7 dias (B) considerando a massa da parte aérea coletada.

Com relação à massa de raiz coletada quando a germinação foi realizada com hidrolisados do caule, apresenta-se o comportamento do planejamento na Figura 27 e Figura 28. Tanto com o hidrolisado alcalino de caule como o de raiz de tabaco, observa-se que os

melhores resultados são encontrados com as soluções mais diluídas, sendo que no primeiro, a massa foi maior com 3 mL de embeбimento e no segundo, com 2 mL. O mesmo ocorreu para os hidrolisados ácidos.

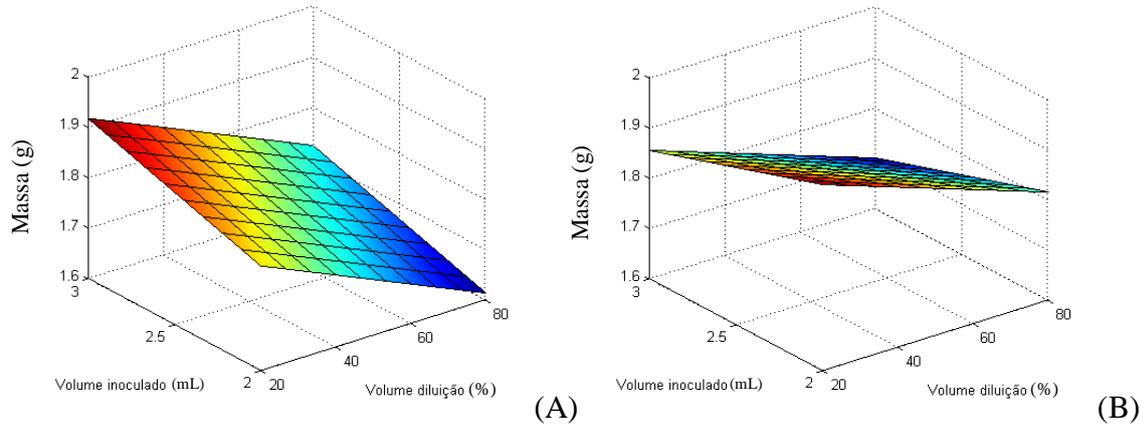


Figura 27. Gráficos 3D do estudo de germinação do milho empregando hidrolisado alcalino do caule de tabaco após 7 dias (A) e da raiz de tabaco após 7 dias (B) considerando a massa da raiz coletada.

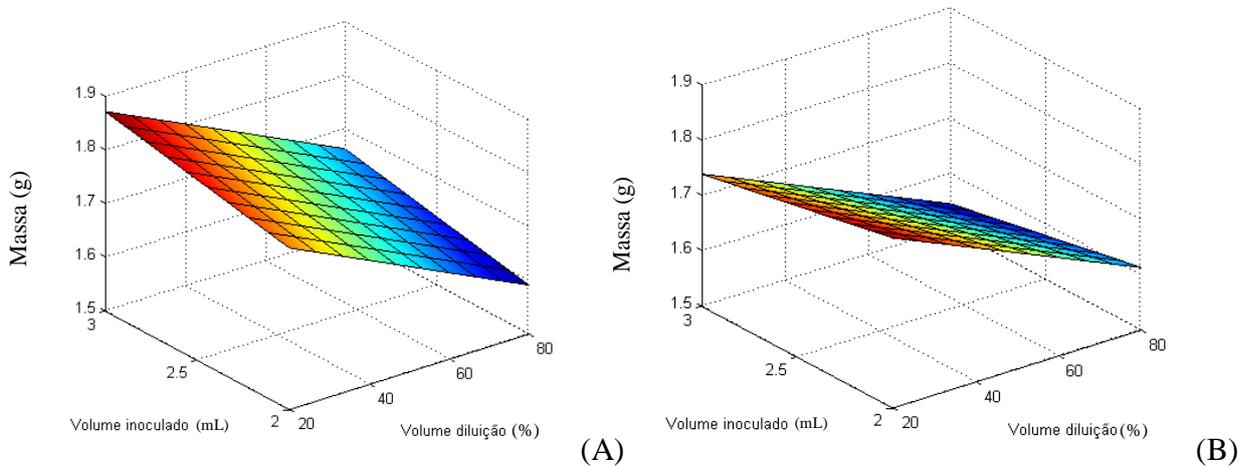


Figura 28. Gráficos 3D do estudo de germinação do milho empregando hidrolisado ácido do caule de tabaco após 7 dias (A) dias e da raiz de tabaco após 7 (B) considerando a massa da raiz coletada.

Os valores de massas no controle foram comparados aos valores obtidos para as amostras de hidrolisados de caule e de raiz de tabaco. Os gráficos que representam o conjunto de experimentos do planejamento comparados ao controle estão na Figura 29. E o tratamento estatístico destes dados está na Tabela 10. Esta tabela mostra que houve diferença significativa entre o controle e os resultados com hidrolisados ácidos do caule e alcalino da raiz para

produção de raiz. E para a produção de massa aérea foi o hidrolisado ácido da raiz e ácido do caule como mostra os valores de p obtidos pelo teste Mann Whitney.

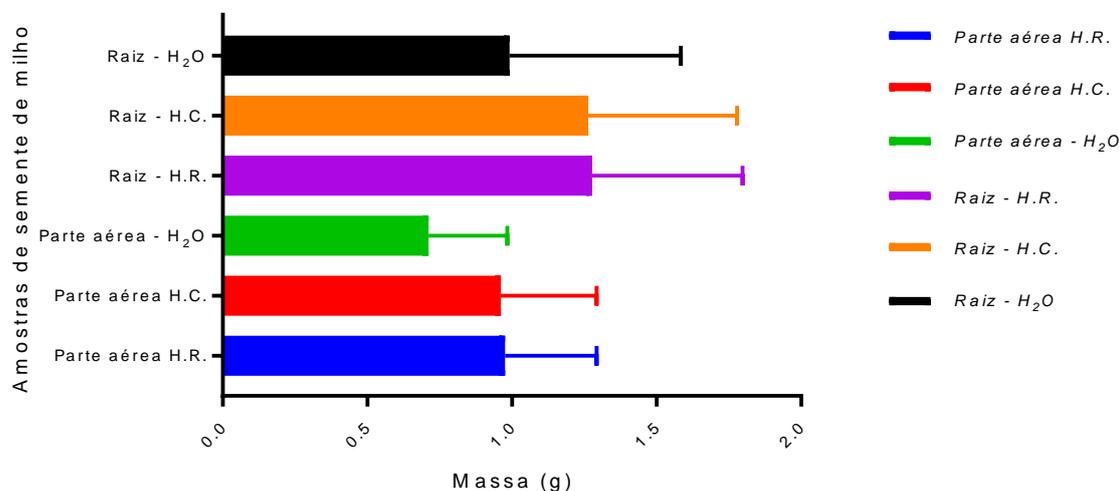


Figura 29. Representação gráfica considerando média e desvio padrão das amostras.

Tabela 10. Valores de p obtidos a partir das médias das massas obtidas de parte aérea e de raiz de milho após germinação após cada conjunto de experimentos, empregando o teste Mann Whitney com software Graph Pad Prism 7.04 onde ($p < 0,05$).

		Valor de p	
		massa parte aérea	raiz
Hidrolisado da raiz	Alcalino	0,3823	0,0281
	Ácido	0,0207	0,9591
Hidrolisado do caule	Alcalino	0,7209	0,7209
	Ácido	0,0281	0,0281

Portanto, com os resultados da Tabela 9, comprovou-se que há um maior crescimento da plântula quando se utilizou hidrolisados de resíduo de tabaco para a embebição das sementes de milho.

6 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

No primeiro e segundo experimento com as sementes de arroz, o melhor resultado no segundo dia de incubação, foi com o hidrolisado alcalino, diluído a 20% e 2 mL de volume de embebição, produzido a partir da raiz do tabaco. Na contagem das sementes observou-se que 86% das sementes germinaram, no sétimo dia de incubação houve a formação das raízes secundárias e que os hidrolisados influenciaram também na emissão de pelos absorventes. Considerando o fator tempo de incubação, os hidrolisados, ácido e alcalino, interferiram e surtiram efeitos no processo de germinação e desenvolvimento da parte aérea das sementes de arroz independentemente dos volumes de 2 e 3mL usados na embebição.

No primeiro e segundo experimento com as sementes de milho, o melhor resultado obteve-se no segundo dia de incubação, com os hidrolisados produzidos do caule e da raiz do tabaco. O hidrolisado do ataque ácido diluído a 20%, independentemente dos volumes de embebição, apresentou taxas de 100% de sementes germinadas, no sétimo dia de incubação, houve o surgimento das raízes nodais ou fasciculadas (sistema radicular definitivo). Considerando o fator tempo de incubação, os hidrolisados obtidos por ataque ácido e alcalino, interferiram e surtiram efeitos no processo de germinação, radicular e partes aéreas das sementes de milho, independentemente dos volumes 2 e 3mL usados na embebição.

Comparando estes resultados encontrados com sementes de arroz e de milho com outras pesquisas já publicadas com bioestimulantes, identifica-se que o principal resultado encontrado com os hidrolisados de tabaco (raiz e caule), obtidos por ataque ácido ou alcalino, foram relacionados ao crescimento da plântula. Isso é evidenciado pelo trabalho realizado por Prado Neto et al. (2007).

Prado Neto et al. (2007) destacou que o emprego de estimulante de germinação leva a maiores índices de germinação e a um maior alongamento celular das plântulas, identificado por um comprimento total maior em relação ao controle. Este resultado foi relacionado a presença de ácido giberélico no produto estimulante e a pesquisa destes autores foi realizada com sementes de Jenipapo.

O efeito de aminoácidos, presentes nos hidrolisados, pode ser relacionado a processo vital que controla o crescimento, marcado pela produtividade final ou pode ser relacionado a processos de inibição (CARVALHO et al., 2013). No contexto deste trabalho não foi possível identificar ação inibitória preponderante a ação de estimulante, causada pelos hidrolisados, uma vez que os resultados foram iguais ou melhores que os resultados obtidos com o controle (água),

tanto no período inicial da germinação (alongamento do embrião e protrusão da radícula) como no crescimento da plântula.

Com base na comprovação de que o caule de tabaco hidrolisado contribuiu com diferentes aminoácidos no tratamento pode-se constatar que estes hidrolisados têm potencial para agir como biorregulador de crescimento, sendo necessário analisar em estudos futuros a composição de outros compostos de interesse como as giberilinas, citocinina e auxina.

Por outro lado, segundo Carvalho et al. (2013), a bioestimulação da germinação e a formação de plântulas pode ajudar a planta em situações de déficit hídrico quando há tratamento com aminoácidos. Desta forma, a diluição do hidrolisado para a aplicação do bioestimulante nas sementes pode ser também um fator a ser mais explorado em trabalhos futuros.

Segundo Scalon et al. (2009) os bioestimulantes atuam no crescimento (divisão e alongamento celular) sendo relacionados a absorção e utilização de nutrientes pela planta.

Destaca-se ainda que a regulação do crescimento possa ser reflexo da presença de substâncias no tratamento que podem promover, inibir ou mesmo, modificar os processos fisiológicos dos tecidos vegetais (DINIZ et al., 2007).

Com relação a germinação observou-se que os resultados foram similares para o controle e para os hidrolisados, não demonstrando que são mais adequados para a superação da dormência, como foi observado com o produto comercial Booster ® para diásporos de Teca (*Tectona grandis*), o qual apresenta extrato de algas na composição (SOUZA et al., 2016).

Desta forma, existem aspectos importantes a serem explorados para identificar se há uma promoção do crescimento, no entanto, o uso de hidrolisado de caule e de raiz já demonstram que são adequados para promover o crescimento da plântula como foi observado nos resultados apresentados para a formação de massa de parte aérea e de raiz apresentados anteriormente para o arroz e para o milho.

Assim, resultados relevantes sobre crescimento da planta empregando bioestimulantes diversos, corroboram com os resultados encontrados nesta pesquisa, são apresentados por Selanon et al. (2014), Scalon et al. (2009), Klahold (2005), Santos et al. (2013) e atuam no crescimento de várias plantas.

7 CONCLUSÃO

Na avaliação dos resultados apresentados nos experimentos dos hidrolisados produzidos do caule e da raiz do tabaco e testados nas sementes de arroz e milho foi possível concluir que os objetivos estudados foram alcançados.

Com relação à produção dos hidrolisados obtidos por ataque ácido e alcalino a partir do caule e da raiz do *Nicotiana tabacum* (tabaco) foi possível constatar que pelos dois métodos houve a formação de hidrolisados com composição importante para estimulação do processo de germinação.

Com o uso dos hidrolisados, obtidos por ataque ácido ou alcalino, de resíduos da lavoura de tabaco (caule e raiz) em experimentos de germinação controlada não foi observado influência significativa na aceleração da germinação, tanto das sementes de arroz como de milho.

Por outro lado, avaliando as massas de parte aérea e de raiz produzidas durante a germinação controlada de sementes de arroz e milho (massa seca) tratadas com os hidrolisados, foi possível concluir que os hidrolisados testados têm potencial para estimular o crescimento da plântula de ambas às culturas testadas.

Assim, destaca-se que o emprego de biomassa residual das lavouras de tabaco (raiz e caule), a qual não é atualmente aproveitada economicamente, pode ser um fator de indução da economia regional uma vez que, podem-se obter benefícios de produtividade em lavouras de outras culturas com o emprego de hidrolisados desta biomassa residual.

Além disso, há benefícios para os fumicultores que podem dar um destino a biomassa residual, reduzindo o uso de agroquímicos devido à potencialidade de desenvolvimento de agentes patógenos na cultura do tabaco de uma safra para outra, evidenciado pela atual manutenção do resíduo na lavoura.

Por último, o desenvolvimento de novos produtos oriundos de resíduos agrícola, neste caso, os hidrolisados de tabaco, é um elo da Universidade com o desenvolvimento econômico regional, viabilizado pelo uso da infraestrutura do Parque Científico e Tecnológico Regional – TECNOUNISC, onde foi realizada esta pesquisa.

8 TRABALHOS FUTUROS

Alguns trabalhos que podem ser desenvolvidos a partir deste trabalho:

- Avaliar o uso de hidrolisados microbianos de caule e raiz de tabaco.
- Avaliar em sistemas de plantio o emprego dos hidrolisados;
- Estudar a composição completa dos hidrolisados identificando outras moléculas presentes e que possam interferir no desenvolvimento da planta;
- Continuar estudando as dosagens ideais para o crescimento, vigor da plântula;
- Realizar o estudo do hidrolisado para bioestimulante foliar;
- Realizar estudos do hidrolisado nas culturas estudadas e outras em laboratório e a campo.
- Realizar estudos do hidrolisado na resistência e produtividade das culturas, entre outras.

9 REFERÊNCIAS

ATAÍDE, Glauciana M.; BORGES, Eduardo E. L.; GONÇALVES, José Francisco C. et al. Alterações fisiológicas durante a hidratação de sementes de *Dalbergia nigra* (Vell.). **Ciência Florestal**. Santa Maria, v. 26, n. 2016.

ÁVILA, Marizangela Rizzatti et al. Bioregulator application, agronomic efficiency, and quality of soybean seeds. **Scientia Agricola**, v. 65, n. 6, p. 604-612, 2008.

BERENDSEN, Roeland L.; PIETERSE, Corne MJ; BAKKER, Peter AHM. The rhizosphere microbiome and plant health. **Trends in plant science**, v. 17, n. 8, p. 478-486, 2012.

BEWLEY, J. Derek. Seed germination and dormancy. **The plant cell**, v. 9, n. 7, p. 1055, 1997.

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

BINSFELD, José Adolfo et al. Uso de bioativador, bioestimulante e complexo de nutrientes em sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 44, n. 1, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. 2009.

CALVO, Pamela; NELSON, Louise; KLOEPPER, Joseph W. Agricultural uses of plant biostimulants. **Plant and Soil**, v. 383, n. 1-2, p. 3-41, 2014.

CARVALHO, Tereza Cristina de et al. Influência de bioestimulantes na germinação e desenvolvimento de plântulas de *Phaseolus vulgaris* sob restrição hídrica. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, n. 2, p. 199-205, 2013.

CASTRO, Gustavo Spadotti Amaral et al. Tratamento de sementes de soja com inseticidas e um bioestimulante. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, p. 1311-1318, 2008.

CASTRO, Paulo R.C; CARVALHO, Marcia E.A. Aminoácidos e suas aplicações na agricultura – Piracicaba: ESALQ – Divisão de Biblioteca, 2014. 58 p.: il. (Série Produtor Rural, nº 57)

COLLA, Giuseppe.; HOAGLAND, Lori.; RUZZI, Maurizio et al. Biostimulant action of protein hydrolysates: unraveling their effects on plant physiology and microbiome. **Frontiers in Plant Science**. Melbourne, v. 8, n. 2202, p. 1-14, dec., 2017.

COLLINS, W. K.; HAWKS JR, S. N. Fundamentos da produção do tabaco de estufa. **Tradução de Ernani A. Weiss. Santa Cruz do Sul: [sn]**, 2011.

CRAIGIE, James S. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. **Journal of Applied Phycology**, v. 23, n. 3, p. 371-393, 2011.

DIAS-ARIERIA, Claudia Regina et al. Effect of *Azospirillum brasilense*, stimulate® and potassium phosphite to control *Pratylenchus brachyurus* in soybean and maize. **Nematropica**, v. 42, n. 1, p. 170-175, 2012.

DINIZ, Kênia Almeida et al. Qualidade fisiológica e atividade enzimática de sementes de alface revestidas com diferentes doses de micronutrientes, aminoácidos e reguladores de crescimento. **Revista Ciência Agronômica**, v. 38, n. 4, 2007.

DU JARDIN, Patrick. **The Science of Plant Biostimulants—A bibliographic analysis, Ad hoc study report**. European Commission, 2012.

DU JARDIN, Patrick du. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**. Texas, v. 196, p. 3-14, 2015.

FARIA, Tatiana C. **Desempenho de bioestimulante e sua viabilidade econômica na cultura da soja**. Goiania, UFG, 2017. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, 2017. Disponível em: https://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/6943?locale=pt_BR.

FERREIRA, Vilma Marques et al. Metabolismo do nitrogênio associado à deficiência hídrica e sua recuperação em genótipos de milho. **Ciência Rural**, v. 32, n. 1, p. 13-17, 2002.

FLÁVIO, João José P. **Qualidade fisiológica de sementes de *Senna multijugade* diferentes procedências do Estado de São Paulo**. Jaboticabal, UNESP, 2014. Tese (Doutorado Agronomia). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, 2014. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/123979>. Acesso em 10 ago., 2017.

FLORIANO, Eduardo Pagel. Germinação e dormência de sementes florestais. **Santa Rosa: ANORGS**, 2004.

GALDIANO JÚNIOR, Renato Fernandes et al. Desenvolvimento inicial e crescimento in vitro de *Cattleya violacea* (Kunth) Rolfe em diferentes concentrações de sacarose. **Acta Amazonica**, p. 127-134, 2013.

GIANINAZZI, Silvio et al. Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. **Mycorrhiza**, v. 20, n. 8, p. 519-530, 2010.

HALPERN, M.; BAR-TAL, A.; OFEK, M. et al. The use of biostimulants for enhancing nutrient uptake. In: SPARKS, D. L. (Ed.). **Advances in Agronomy**. v. 129. Newark: Elsevier, 2015, p. 141–174.

HOPKINS, William G. et al. **Introduction to plant physiology**. John Wiley and Sons, 1999.

KERBAUY, Gilberto Barbante. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

KLAHOLD, Celestina Alflen et al. Resposta da soja (*Glycinemax* (L.) Merrill) à ação de bioestimulante. Tese apresentada no Programa de Pós-graduação em Agronomia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2005.

LANA, Regina Maria Quintão et al. Aplicação de reguladores de crescimento na cultura do feijoeiro. **Bioscience Journal**, v. 25, n. 1, 2009.

LEA, Peter J. et al. Asparagine in plants. *Annals of Applied Biology*, v 150, n. 1, p 1-26,2007.

LIMA JUNIOR, Manoel J. V.; FIGLIOLIA, Marcos B., PIÑA-RODRIGUES, Francisco C. M. et al. **Manual de procedimentos para análise de sementes florestais**. Manaus: UFAM, 2010. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Fatima_Pina_Rodrigues/publication/232768692_manual_de_procedimentos_para_analise_de_sementes_florestais/links/0912f50953d0105ee3000000/Manual-de-procedimentos-para-analise-de-sementes-florestais.pdf.

LUDTKE, Rosiéle Cristiane et al. Iniciativas de diversificação ao cultivo do tabaco no município de Santa Cruz do Sul–RS: um estudo de caso. 2016.

LUO, Yuan et al. Seed germination test for toxicity evaluation of compost: Its roles, problems and prospects. **Waste Management**, 2017.

Zhenguo, MA; BYKOVA, Natalia V.; IGAMBERDIEV, Abir U. Cell signaling mechanisms and metabolic regulation of germination and dormancy in barley seeds. **The Crop Journal**, 2017.

DE MELO MACHADO, Rita de Cássia. Cultura do arroz: Importância econômica e principais pragas no Rio Grande do Sul.

MARCOS FILHO, Julio et al. Métodos para avaliação do vigor de sementes de soja, incluindo a análise computadorizada de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 1, p. 102-112, 2009.

GÓMEZ-MERINO, Fernando C.; TREJO-TÉLLEZ, Libia I. Biostimulant activity of phosphite in horticulture. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 82-90, 2015.

MORAES, Jane Valadares. **Morfologia e germinação de sementes de *Poecilanthe parviflora* Bentham** (Fabaceae - *Faboideae*). Jaboticabal, UNESP, 2007. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Produção e Tecnologia de Sementes). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, 2007. Disponível em: <http://www.fcav.unesp.br/download/pgtrabs/pts/m/2881.pdf>.

PRADO NETO, Manoel et al. Germinação de sementes de jenipapeiro submetidas à pré-embrição em regulador e estimulante vegetal. **Ciência e Agrotecnologia, Lavras**, v. 31, n. 3, p. 693-698, 2007.

OLIVEIRA JÚNIOR, Luiz Fernando Ganassali et al. Insulina e glicose como moduladores do desenvolvimento de plântulas de milho doce (Su1). **Acta Botanica Brasiliense**, v. 23, n. 3, p. 751-755, 2009.

PESKE, Silma T.; NEDEL, Jorge L.; BARROS, Antonio C. S. A. Produção de arroz irrigado. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 659 p.;il. 1998.

POPINIGIS, Flavio. Fisiologia da semente. **Brasília: Agiplan**, v. 2, 1985.

PRIETO, Carlos Alderete et al. Bioestimulante, biofertilizante e inoculação de sementes no crescimento e produtividade da soja. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 4, n. 2, p. 1-8, 2017.

RAMOS, Milton G.; ZANINI NETO, João Afonso; MOREL, Dario A. et al. **Manual de produção do arroz irrigado**. Florianópolis: EMPASC/ACARESC, 1985.

RATHORE, S. S. et al. Effect of seaweed extract on the growth, yield and nutrient uptake of soybean (*Glycine max*) under rainfed conditions. **South African Journal of Botany**, v. 75, n. 2, p. 351-355, 2009.

RESENDE, Morethson; ALBUQUERQUE, Paulo E.P.; COUTO, Lairson. A cultura do milho irrigado. EMBRAPA MILHO E SORGO, Brasília, DF, 2003.

SANTOS, Valdere M.; MELO, Aurélio V.; CARDOSO, Dione P. Uso de bioestimulantes no crescimento de plantas de *Zea mays* L. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**. Sete Lagoas, v. 12, n. 3, p. 307-318, 2013.

SCALON, Silvana de Paula Quintão et al. Germinação de sementes e crescimento inicial de mudas de *Campomanesia adamantium* Camb.: Efeito da lavagem, temperatura e de bioestimulantes. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 2, p. 96-103, 2009.

SELANON, Onuma; SAETAE, Donlaporn; SUNTORNSUK, Worapot. Utilization of *Jatropha curcas* seed cake as a plant growth stimulant. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 3, n. 4, p. 114-120, 2014.

SILVA, M. A. Biorreguladores: nova tecnologia para maior produtividade e longevidade do canavial. **Pesquisa & Tecnologia**, v. 7, n. 2, p. 1-4, 2010.

SILVA, Danielle O. **Análise da qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes no Laboratório Oficial de Análise de Sementes, Santa Catarina**. Florianópolis, UFSC, 2014. Relatório de Estágio (Engenharia Agrônômica). Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, 2014. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/pdf>.

SANTOS, João Paulo et al. EFEITO DE BIOESTIMULANTE NO DESENVOLVIMENTO DO FEIJOEIRO DOI: <http://dx.doi.org/10.5892/ruvrd.v15i1.3131>. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 15, n. 1, p. 815-824, 2017.

SOUZA, Patrícia A. et al. Superação e dormência e uso de bioestimulante na germinação de diásporos de teca. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer – Goiânia, v.13 n.24; p.953 2016 -
www.conhecer.org.br/enciclop/2016b/agrarias/superacao%20de%20dormencia.pdf

TAIZ, L., ZEIGER, E. **Plant Physiology**. 2nd ed. Massachusetts: Sinauer Associates, 2002.

TEIXEIRA, Leopoldo Brito et al. **Comparação de composto orgânico de Barcarena com adubos orgânicos tradicionais quanto às propriedades químicas**. Embrapa Amazônia Oriental, 2002.

WEITBRECHT, Karin; MÜLLER, Kerstin; LEUBNER-METZGER, Gerhard. First off the mark: early seed germination. **Journal of experimental botany**, v. 62, n. 10, p. 3289-3309, 2011.