

E R R A T A

- Página 9 - 2ª linha - Onde se lê : mais a germinação .....  
....., leia-se : maior germinação
- Página 41 - 3º parágrafo - 6ª linha - Onde se lê : continuamen  
te ....., leia-se : significativa  
mente
- Página 63 - 2º parágrafo - 6ª linha - Onde se lê : apresentaram  
maior germinação do que .....  
leia-se : apresentaram a mesma germinação  
que
- Página 113 - 3º parágrafo - 2ª linha : Onde se lê : produzida ..  
....., leia-se : reduzida
- Página 133 - 5ª linha : Onde se lê : 50°C ..... leia-se : 50%
- Página 133 - 2º parágrafo - 4ª linha : Onde se lê : Toole, 1963 .  
....., leia-se : Toole, 1973

GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE

. BETA VULGARIS L. CV. KAWEMEGAMONO

Este exemplar corresponde à redação  
final da tese defendida por Dora Suely  
Barbosa dos Santos e aprovada pela Comissão  
Julgadora.

Inf. Laetitia Pereira

CAMPINAS

1985

DORA SUELY BARBOSA DOS SANTOS  
PROFESSORA ADJUNTA NO DEPARTA  
MENTO DE BOTÂNICA DA UNIVERSI  
DADE FEDERAL DE PELOTAS.

GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE  
BETA VULGARIS L. CV. KAWEMEGAMONO

Tese apresentada ao Instituto  
de Biologia da Universidade  
Estadual de Campinas, para a  
obtenção do título de DOUTOR  
EM CIÊNCIAS.

Orientadora: PROF<sup>A</sup> DR<sup>A</sup> M. FÁTIMA D. ALEIXO PEREIRA

CAMPINAS  
1985

À minha mãe Dora e  
ao meu pai Pedro "in memorian"  
pelo carinho, dedicação e exemplo de vida

MINHA HOMENAGEM

Aos meus irmãos Leônidas e  
Pedrinho "in memorian",  
minha cunhada, Júlia  
aos meus sogros e  
aos meus sobrinhos  
Leonardo e Paulo Sergio

DEDICO

Ao meu esposo, Benedito, e  
aos meus filhos, Rodrigo e  
Rafael

COM CARINHO OFEREÇO

## Agradecimentos

À Profª. Drª. Maria de Fátima D.A. Pereira, pela valiosa orientação, dedicação, estímulo e amizade.

Aos professores Drª. Rosely Sharif; Dr. Ladaslav Sodek e Dr. Ivany F.M. Válio, pela convivência, pela amizade, pela revisão cuidadosa e sugestões apresentadas.

À Universidade Estadual de Campinas, pela realização deste curso.

À Universidade Federal de Pelotas, pelo incentivo e apoio financeiro durante a realização deste curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudo concedida.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA - UEPAE/Pelotas) e à INDUSEM (Sertaneja - Paraná), pela concessão do material vegetal utilizado neste trabalho.

Aos professores Antonio Celso Novaes de Magalhães e Luis Gonzaga Santoro, pela convivência e amizade.

Aos colegas de curso, Beatriz S. Pinheiro, Doris Groth, Enéas Gomes Filho, Izabel Cristina Leite, Lorette G. Hanna, Luis Edson M. de Oliveira, Maria Auxiliadora F. Gomes, Marilandi Carvalho, Vitor J.M. Cardoso e suas respectivas famílias, que pela convivência, estímulo, apoio e amizade, tornaram mais agradável a realização deste curso.

Ao Prof. Dr. Yong Kun Park, da Faculdade de Engenharia de Alimentos e à Raul J.H. Castro Gomez, pela colaboração.

À todos os Professores do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Pelotas, pela amizade e ajuda durante a realização deste trabalho.

À todos os Professores, Funcionários e Colegas do Curso de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, pela ajuda e amizade sincera.

Ao meu esposo, Benedito, pelo carinho, compreensão, apoio e palavras de incentivo em todos os momentos.

E a todos que, direta ou indiretamente, colaboraram para o êxito deste trabalho.

## ÍNDICE

I. INTRODUÇÃO .....	1
II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
III. MATERIAL E MÉTODOS .....	21
1. Material Vegetal .....	21
2. Teste de Tetrazólio .....	21
3. Método Geral de Germinação .....	22
4. Luz e Temperatura .....	23
4.1. Temperatura constante e alternada .....	23
4.2. Choques de temperatura .....	23
5. Posição da Semente .....	24
6. Escarificação .....	24
6.1. Química .....	24
6.2. Mecânica .....	26
7. Lavagem em Água Corrente .....	26
7.1. Lavagem constante .....	26
7.2. Lavagem intermitente .....	26
8. Análise de Substâncias de Crescimento .....	26
8.1. Extração e fracionamento .....	26
8.2. Cromatografia .....	27
8.3. Bioteste do alongamento do hipocótilo de alface .....	29

8.4. Germinação de sementes de beterraba açuca	
reira .....	29
9. Curva de Embebição .....	30
10. Impermeabilização da Região do Poro Basal e do	
Opérculo .....	30
10.1. Germinação .....	31
10.2. Consumo de O <sub>2</sub> .....	31
11. Volume de Água .....	33
12. Etileno .....	33
12.1. Exógeno .....	33
12.2. Detecção do etileno endógeno .....	33
12.2.1. Utilização de nitrato de prata	
(AgNO <sub>3</sub> ) .....	33
12.2.2. Utilização de nitrato de potás-	
sio (KNO <sub>3</sub> ) .....	34
12.2.3. Utilização de perclorato de mer	
cúrio (HgClO <sub>4</sub> ) .....	34
12.2.4. Cromatografia gasosa .....	35
13. Etanol .....	36
13.1. Determinação do etanol endógeno .....	36
13.2. Etanol exógeno .....	36
14. Umidade do Solo e Temperatura .....	37
14.1. Determinação do nível de umidade do solo	37
14.2. Emergência de plântulas em solos com di	
ferentes níveis de umidade .....	38
14.3. Determinação do peso seco de plântulas .	38
15. Cálculo do Tempo Médio para Germinação ou Emer	
gência .....	39

16. Análise Estatística .....	40
IV. RESULTADOS .....	41
1. Avaliação da Viabilidade pelo Teste de Tetrazólio .....	41
2. Fotoblastismo .....	41
2.1. Efeito de luz e tegumento .....	41
2.2. Efeito de temperatura .....	44
2.3. Efeito de choques de temperatura .....	53
3. Influência da Posição da Semente .....	58
4. Efeito da Escarificação Química .....	63
4.1. Influência da escarificação química na germinação de sementes mantidas em diferentes posições .....	63
4.2. Efeito de diferentes tempos de escarificação química .....	63
5. Efeito da Lixiviação na Germinação de Sementes Mantidas em Diferentes Posições .....	69
6. Efeito da Escarificação Mecânica .....	74
7. Efeito da Lavagem no Nível de Substâncias Endógenas .....	74
7.1. Fração ácida .....	77
7.2. Fração neutra .....	77
8. Efeito de Substâncias Endógenas do Tegumento na Germinação de Sementes de <i>Beta vulgaris</i> ...	80
9. Influência de Regiões Específicas do Tegumento .....	83



10. Influência de Regiões Específicas do Tegumento na Germinação e Trocas Gasosas .....	83
10.1. Influência do poro basal .....	85
10.2. Influência do opérculo .....	85
10.3. Estimativa do consumo de O <sub>2</sub> em sementes impermeabilizadas .....	88
11. Influência do Volume de Água .....	92
11.1. Efeito do volume de água na germinação de sementes em diferentes posições .....	92
11.2. Efeito do volume de água na germinação em diferentes temperaturas .....	92
11.3. Reversibilidade do efeito inibitório do excesso de água .....	97
12. Efeito do Etileno .....	105
12.1. Uso de CEPA (ácido 2-cloro-etil-fosfônico) .	105
12.2. Utilização de AgNO <sub>3</sub> e KNO <sub>3</sub> .....	109
12.3. Utilização do perclorato de mercúrio ....	113
12.4. Dosagem do etileno liberado pelas sementes .....	119
13. Efeito do Etanol .....	119
13.1. Dosagem do etanol liberado pelas sementes	119
13.2. Utilização do etanol exógeno .....	119
14. Influência da Umidade do Solo e da Temperatura	121
V. DISCUSSÃO .....	132
VI. CONCLUSÕES .....	147

VII. RESUMO .....	148
VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	150

## II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A germinação pode ser definida como uma série de eventos morfogênéticos que resultam na transformação de um embrião em plântula. É um processo que envolve divisão de células, espansão e formação dos órgãos da planta (Berlyn, 1972).

O processo germinativo pode ser dividido em protusão da radícula (fase I) e crescimento da plântula (fase II). A primeira é função da absorção de água e hidratação dos tecidos de reserva para a ativação dos sistemas enzimáticos, enquanto que a segunda é dependente da mobilização das reservas (Bewley e Black, 1978). Do ponto de vista agrônômico, a germinação só é considerada depois do estabelecimento de uma plântula normal (Mackay, 1972).

A germinação envolve a reativação, pela embebição de água, de sistemas que estão quiescentes desde o período de maturação da semente. A hidratação dos tecidos de reserva e a ativação dos sistemas enzimáticos, dependem sobremaneira da velocidade de embebição (Jones e Armstrong, 1971).

As sementes sob condições ótimas para germinação apresentam um padrão trifásico para absorção de água. A entrada inicial de água na fase I (embebição) é decorrente de forças matriciais das paredes das células e do conteúdo das mesmas ocorrendo igualmente tanto em tecidos vivos quanto mortos e portanto independe de atividade metabólica da semente, embora o metabolismo comece a ser ativado como consequência da hidratação. Na fase II o potencial matricial aumenta tanto quanto o potencial osmótico, estabelecendo um equilíbrio. O metabolismo é intensificado, pre

parando o embrião para a germinação. Sementes mortas ou dormentes permanecem nesta fase. A fase III está associada com a germinação (protusão da radícula) e é durante esta fase que ocorre o início da mobilização das reservas armazenadas. A duração de cada fase depende de propriedades inerentes a cada semente, como: conteúdo de substratos hidratáveis, permeabilidade do tegumento, absorção de oxigênio, tamanho da semente e disponibilidade de água no meio sob a forma líquida ou gasosa (Mayer e Poljakoff-Mayber, 1975; Bewley e Black, 1978).

A velocidade e quantidade de água absorvida são influenciadas pela temperatura. Sob temperaturas mais elevadas, ocorre absorção mais rápida, mas o volume de água absorvido no final do processo é maior em temperaturas mais baixas (Mayer e Poljakoff - Mayber, 1975; Copeland, 1976).

Em sementes de algodão, aveia e mamona foi verificado que a velocidade de absorção de água foi aumentada com a elevação da temperatura de 20 para 30°C (Burch e Delouche, 1959). Também a velocidade de absorção de água de sementes de feijão e amendoim foi aumentada quando submetidas às temperaturas de 20, 20-30 e 30°C e a de sementes de arroz pelas temperaturas de 15, 20 e 30°C, sendo que quanto maior a temperatura, maior a velocidade de absorção de água (Shafiei, 1981). Entretanto, em sementes de Castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa*), o aumento da temperatura não favoreceu a embebição das sementes (Reis, 1979).

Muitas vezes, o início da embebição é acompanhado por uma rápida lixiviação de substâncias (açúcares, ácidos orgânicos, aminoácidos, etc.) devido a alterações nas membranas decorrentes da hidratação, sendo que temperatura tem grande influência no pro

cesso (Hendricks e Taylorson, 1976; Gray, 1977; Rowland e Gusta, 1977; Bewley e Black, 1978; Cope, 1982). Geralmente, a injúria está associada com baixa temperatura durante o início da embebição (Bewley e Black, 1978). Injúria pelo frio nos estágios iniciais da embebição ocorre, por exemplo, em algodão no qual sementes expostas durante 30 minutos a 5°C originam plântulas com várias anormalidades, principalmente nas raízes e crescimento reduzido. Provavelmente, a baixa temperatura aumenta a lixiviação dos solutos devido a uma possível disfunção da membrana (Bewley e Black, 1982). Já em sementes de ervilha o tegumento oferece proteção contra os danos causados pelo resfriamento o que não ocorre em sementes de soja (Tully *et al.*, 1981). Embora nesta espécie, esta sensibilidade ao resfriamento seja variável de acordo com o cultivar (Bramlage *et al.*, 1979). Em sementes de soja, foi observado também, que temperaturas abaixo de 15°C provocavam um aumento na taxa de lixiviação de solutos nos primeiros 10 minutos de embebição, sendo que após esse período o processo era reduzido (Parrish e Leopold, 1977; Leopold, 1980).

Para que a germinação ocorra é necessário que haja um suprimento adequado de oxigênio ao embrião, para produção de energia que será utilizada no processo. Contudo, dependendo da estrutura do tegumento, haverá uma maior ou menor penetração dos gases (Leopold e Kriedmann, 1975), sendo que muitas vezes a não ocorrência da germinação é devida à impermeabilidade do tegumento e não a um suprimento insuficiente de oxigênio (Brown, 1940 e Coumans *et al.*, 1976).

A atividade respiratória do embrião é aumentada com a hidratação da semente e basicamente a absorção de oxigênio se dá em quatro fases. A primeira fase é atribuída à ativação e hidra

tação de enzimas mitocondriais associadas com o ciclo de Krebs e cadeia de transporte de elétrons. Na segunda fase há um período de repouso. A hidratação dos cotilédones é agora completada e todas as enzimas pré-existentes, são ativadas. Acredita-se que o fator limitante da respiração nesta fase seja o tegumento da semente, tanto que quando o mesmo é retirado esta fase tem menor duração. Na terceira fase há um aumento abrupto da respiração, atribuído em parte a um aumento no suprimento de oxigênio, devido a um aumento na síntese de novas mitocôndria e na atividade de enzimas respiratórias, nas células em divisão no eixo embrionário em crescimento. Na quarta fase é observada uma redução na respiração a qual coincide com a diminuição das reservas armazenadas. A duração dessas fases é variável de acordo com a espécie, e dentro de uma mesma espécie é variável de acordo com temperatura, disponibilidade de umidade e oxigênio (Bewley e Black, 1978).

Em sementes de inúmeras espécies, na fase inicial da germinação, a respiração é diferente da que ocorre nos estágios finais e seria a respiração alternativa, requerendo menor disponibilidade de oxigênio (Yentur e Leopold, 1976). Foi observado que mitocôndria de sementes de amendoim tinham pouco citocromo c até cerca de 16 horas após o início da embebição, sendo que a atividade respiratória durante este período era insensível ao cianeto (Wilson e Bonner, 1971). Por outro lado, foi observado que quando se testou o efeito de inibidores respiratórios como cianeto, monóxido de carbono e malonato, na germinação de sementes de 13 espécies, a maioria delas apresentou um aumento na germinação, mostrando que realmente deve haver uma via respiratória alternativa não dependente do citocromo c (Major e Roberts, 1968; Yentur e Leopold, 1976). Em macieira (*Pirus malus*) foi observado que o

7

cianeto de potássio (KCN) influenciava a germinação dos embriões, entretanto, seu efeito era dependente da temperatura, concentração utilizada e duração do tratamento (Perino e Côme, 1981).

Para que a germinação ocorra, há necessidade de que as sementes estejam viáveis e que as condições ambientais sejam favoráveis. Sendo assim, um adequado suprimento de água, faixa ideal de temperatura, composição adequada de gases e luz, para algumas espécies, são condições essenciais para o processo germinativo e subsequente crescimento da plântula (Mayer e Poljakoff-Mayber, 1975; Amaral, 1978, Bewley e Black, 1978). A exigência para estas condições varia de acordo com a espécie e variedade e é determinada tanto pelas condições que prevalecem durante a formação da semente como dos fatores hereditários (Mayer e Poljakoff-Mayber, 1975). Entretanto, uma semente dormente não germina, mesmo quando as condições são favoráveis, exigindo uma série de estímulos mais específicos.

A temperatura tem um importante papel na iniciação da germinação de sementes maduras. Tem efeito direto no processo respiratório, mas também exerce efeito sobre outros processos metabólicos necessários para que ocorra a germinação, os quais têm sua velocidade aumentada quando há elevação da temperatura mínima na qual eles ocorrem. Está associada com o transporte através das membranas celulares, devido a alterações em sua fluidez (Bewley e Black, 1982). A faixa de temperatura ótima é bastante variável, de acordo com a espécie, entretanto, geralmente a germinação é inibida por extremos de temperatura (Ikuma, 1964; Takeba e Matsubara, 1976; Toole, 1976; Boyce et al., 1976; Eastin, 1983; Ivens, 1983). Em sementes de tojo (*Ulex europaeus*) foi observado que a germinação sob regime de temperatura constante aumentou

linearmente com a temperatura, sendo mínima a 4°C e ótima a 18°C. A temperaturas superiores a 26°C, havia embebição, porém não havia germinação, sendo que acima de 35°C havia redução na viabilidade (Ivens, 1983). Também em sementes de beterraba açucareira (Brown, 1980), alfafa (Larsen, 1965), *Festuca arundinacea* (Danielson e Toole, 1976), *Stevia* (Randi e Pelippe, 1981), trevo (Ching, 1975) e de pepino (Simon et al., 1976), a temperatura ótima está situada entre 20 e 25°C, e acima ou abaixo destas temperaturas as diferenças existentes entre os cultivares eram bem mais acentuadas. Tanto em soja (Matthews e Hayes, 1982) como em colza (Kondra et al., 1983) foi observada grande diferença entre os cultivares em relação à sensibilidade ao frio, sendo que houve maior identificação entre emergência no campo com temperaturas baixas do que com temperaturas altas. Já em cana-de-açúcar a temperatura ótima está na faixa de 30 a 38°C, havendo redução na germinação em temperaturas inferiores a 30°C (Barnes, 1974; Yang e Chen, 1980). Verifica-se também que muitas vezes a germinação é favorecida por alternância de temperatura. Em sementes de alface (Gray, 1975, 1977), *Araucária angustifolia* (Ferreira e Handro, 1979), *Rumex* (Felippe, 1980; Totterdel e Roberts, 1981); uva (Peireira e Maeda, 1981), sorgo (Gaber et al., 1974); *Stylosanthes humilis* (Butler, 1975) e *Echinochloa crus-galli* (Harper, 1970), a temperatura alternada foi mais efetiva do que a constante na promoção da germinação.

Foi observado em beterraba açucareira, que tanto a germinação em laboratório, como a emergência no solo foi favorecida por temperaturas alternadas (Brown, 1980).

Geralmente, nas espécies cuja germinação é aumentada quando sob regime de temperatura alternada, este aumento está re



lacionado com o tempo de exposição à temperatura alta do ciclo , sendo que quanto menor este tempo, mais a germinação, conforme observado em Bentgrass (Toole e Koch, 1977), *Festuca arundinacea* (Danielson e Toole, 1976; Boyce et al., 1976), *Agropyron smithii* (Toole, 1976). Contudo, existem espécies cujas sementes são indiferentes à alternância de temperatura, como observado em tojo (Ivens, 1983) e *Stevia* (Randi e Felipe, 1981) que germinam melhor quando sob regime de temperatura constante. Em sementes de amendoim (McFarland e Smith, 1965), *Picea abies* (Simak e Kamra , 1970) e *Crambe abyssinica* (Larsen e Skaggs, 1969), não há prefêrência por temperatura constante ou alternada, sendo a germinação semelhante em qualquer uma destas condições.

Uma possível explicação para o fato de temperaturas alternadas promoverem a germinação, seria que provavelmente, as mesmas agiriam no controle da sincronização do processo germinativo, por alterar a velocidade de reações químicas necessárias ao processo (Côme e Tissaoui, 1972). Entretanto, ainda não está bem explicado o modo pelo qual a alternância de temperaturas promove a germinação, pois na literatura há trabalhos mostrando sua ação em etapas distintas do processo germinativo. Poderia haver um aumento da permeabilidade do tegumento a gases (Brown, 1940), ou promoção do crescimento do embrião, acarretando ruptura do tegumento (Koller, 1972).

Em relação à sensibilidade à luz, as sementes podem ser agrupadas em fotoblásticas positivas ou negativas, conforme tenham sua germinação promovida ou inibida pela luz (Smith, 1975 ; Bewley e Black, 1982), havendo contudo algumas que se mostram indiferentes à presença de luz, como se constata na maioria das espécies cultivadas. Entretanto, muitas vezes luz e temperatura

agem conjuntamente (Taylorson e Hendricks, 1972 ; Tolle, 1973 ; Danielson e Toole, 1976; Gramshaw, 1976; Toole, 1976; Tolle e Koch, 1977; Randi e Felipe, 1981; Corbineau e Côme, 1982), havendo inúmeros casos em que a sensibilidade à luz é modificada pela temperatura, conforme observado em *Rumex obtusifolius* (fotoblástica positiva) e *Cucumis anguria* (fotoblástica negativa) que quando submetidas a temperaturas alternadas (15-35°C) se mostraram diferentes a presença de luz para a germinação (Felipe, 1980 ; Takaki et al., 1981). Além disso, sementes de *Amaranthus caudatus* (fotoblástica negativa) germinaram tanto na luz quanto no escuro em temperaturas acima de 25°C (Kendrick e Frankland, 1969).

Por outro lado, é constatado também que a taxa de germinação diminui com o decréscimo no potencial hídrico do solo , e que para cada espécie há valores críticos de potencial hídrico do solo e hidratação da semente abaixo dos quais não ocorre germinação (Negbi et al., 1966; Hadas e Russo, 1974; Hadas, 1977 ; Cid et al., 1981; Bewley e Black, 1982; Façanha et al., 1983). Em sementes de *Ceratonia siliqua*, foi observado que o estresse hídrico severo além de retardar a germinação, provocou um decréscimo no crescimento do eixo embrionário, no peso seco total e na formação de amido no embrião (Spyropoulos e Lambiris, 1980).

O efeito adverso do estresse hídrico, na germinação é mais intenso em sementes com baixo vigor e também em extremos de temperatura, sendo que algumas sementes são mais sensíveis que outras. Em temperaturas abaixo da faixa ótima, para a germinação, usualmente há um aumento na sensibilidade ao estresse hídrico dessas sementes (Bewley e Black, 1982). Em beterraba açucareira foi verificada uma sensibilidade das sementes ao excesso de água durante a embebição, o qual causa uma inibição na germinação (Hey-

decker e Chetram, 1971; Perry e Harrison, 1974; Coumans et al., 1979). Sabe-se também que a disponibilidade de água durante o ciclo da cultura é de suma importância, pois a grande superfície foliar que possui, provoca intensa transpiração (Gardé, 1978). Além disso, a capacidade das plantas para utilizar água eficientemente para a produção de matéria seca, varia grandemente, tanto entre espécies como entre cultivares (Green e Read, 1983). Em cana-de-açúcar, foi observado que porcentagens mais altas de germinação ocorriam quando o potencial da água do solo era de 0,03 MPa, sendo que a mesma foi reduzida, em todos os cultivares testados, quando havia decréscimo do potencial mátrico, em decorrência da diminuição da disponibilidade de água (Yang e Chen, 1979, 1980). Também em colza a redução no potencial mátrico, acarreta redução na germinação, não só por seu efeito na disponibilidade de água, mas também devido ao contato superfície da semente e água do solo (Willians e Shaykewick, 1971).

Contudo, em solos com condições saturadas de água, geralmente há uma redução drástica da germinação de sementes, devido à falta de oxigênio (Barnes, 1974; Dasberg e Mendel, 1971; Yang e Chen, 1979).

Sabe-se que sementes, quando estão germinando têm alta atividade respiratória. O oxigênio limitado do solo, quando em excesso de água, pode ser consumido em um tempo relativamente curto. Desde que o suprimento de oxigênio da atmosfera para o solo ocorre por difusão e tal processo é dificultado pelo filme de água, a germinação é atrasada ou inibida, devido à falta de oxigênio disponível. Embora os dois processos sejam importantes na germinação, esta é a mais afetada pela disponibilidade de oxigênio (Yang e Chen, 1980).

Em pinheiro brasileiro, foi observado que a germinação das sementes era maior nos solos com menor poder de retenção de água do que em solos com pouca percolação, sugerindo que as propriedades do solo são fatores importantes a serem considerados na germinação dessa espécie, já que provavelmente, no solo com maior poder de retenção de água, havia menor disponibilidade de oxigênio (Aquila e Ferreira, 1984).

Sob condições de anaerobiose, álcool etílico pode ser produzido (Kenefik, 1962; Taylorson e Hendricks, 1977; Jackson et al., 1982; Joly e Crawford, 1983), ou então, ácido láctico, através da respiração anaeróbica ou fermentação (Bewley e Black, 1978), e esta pode ser a causa da não ocorrência da germinação. Em raízes de beterraba açucareira, submetidas a um severo estresse de oxigênio, etanol é o principal produto final acumulado, havendo uma relação exponencial entre o acúmulo de etanol e o estresse de oxigênio (Kenefik, 1962). Entretanto, sementes de *Echinochloa crus-galli* germinam e crescem na ausência de oxigênio, por períodos prolongados (Kennedy et al., 1980). Neste caso, estudos com  $^{14}\text{C}$  mostraram que quando sob anaerobiose o metabolismo é altamente ativado. A anaerobiose também pode provocar uma redução na síntese de etileno (Jackson et al., 1978; Konings et al., 1979; Jackson et al., 1981; Jones e Hall, 1981).

Em beterraba açucareira, os baixos índices de emergência, no campo, e germinação, no laboratório, têm sido associados à presença do pericarpo restringindo a absorção de água e oxigênio pela semente (Coumans et al., 1976; Coumans, 1978; Akeson, 1981), e também ao pequeno tamanho da semente verdadeira, que varia de 0,5 a 5,0 mm (Scott et al., 1974; Fick et al., 1978; Akeson et al., 1980; Winter, 1980). Alguns trabalhos sugerem que,

para melhorar a emergência, no campo, o plantio deveria ser feito mais superficialmente, devido ao pequeno tamanho da semente (Fick et al., 1978; Winter, 1980), em solo de textura fina e espaçamento pequeno, pois quando maiores do que 46 cm (cerca de 30.000 plantas/hectare) há redução na produção de raízes (Fick et al., 1978; Akeson et al., 1980; Winter, 1980).

Tem sido observado em outras espécies, comportamento semelhante entre a emergência no campo e alguns parâmetros como peso seco e altura da plântula, germinação padrão e teste de te trazólio (Chin et al., 1977; Yaklich e Kulik, 1979; Mason et al., 1982; Anfirud e Schneiter, 1984). Entretanto, em beterraba açuca reira, mesmo em sementes comerciais, beneficiadas, cujo teste de germinação em laboratório deu em torno de 90%, a emergência no campo foi muito baixa (Akeson e Widner, 1980; Akeson et al., 1981), mesmo com ótimas condições de fertilidade do solo, temperatura e umidade. Relacionou-se também a emergência no campo com o vigor da semente e para isto foram feitos testes de laboratório para darem melhor estimativa do vigor da semente de beterraba açuca reira, medindo-se a emergência de plântulas cultivadas em areia, pois nem sempre havia o mesmo comportamento entre o teste padrão de germinação feito em laboratório e a emergência no campo. Os resultados mostraram ótima correlação, pois através deles foi possível identificar os lotes de sementes de alto e baixo vigor. O teste padrão de germinação não teve comportamento semelhante ao da emergência no campo (Akeson e Widner, 1980; Winter, 1980).

Tem sido evidenciada na literatura a importância de partes específicas do tegumento no processo germinativo de beter raba açucareira, existindo no entanto uma controvérsia a respeito das funções exercidas por estas regiões específicas. Alguns

14

autores asseguram que o opêrculo é a porção mais importante (Coumans et al., 1976), enquanto que para outros o poro basal seria a região mais importante para promover a germinação, agindo possivelmente nas trocas gasosas ou entrada de água na semente (Perry e Harrison, 1974; Coumans, 1978; Coumans et al., 1979).

Em muitas outras espécies, tem-se verificado que a presença de um tegumento rígido tem muita influência, podendo estabelecer uma barreira à embebição e trocas gasosas (Mayer e Shain, 1974). Observa-se também que este impedimento oferecido pelo tegumento pode ser superado através do uso de substâncias químicas como agentes escarificantes. Dentre elas, temos o uso de ácidos fortes como ácido clorídico e ácido sulfúrico concentrado (Freitas e Cândido, 1972; Holm e Miller, 1972; Almeida et al., 1979; Oelke e Albrecht, 1980; Bianchetti, 1980; Lin et al., 1981; Eastin, 1983; Jordan et al., 1983; Tisher e Young, 1983). Em sementes de canafístula foi verificado o efeito da utilização de ácido sulfúrico concentrado por 2, 4, 6, 8, 10 e 30 minutos, sendo que a escarificação até 10 minutos foi eficiente na promoção da germinação (Bianchetti, 1981).

Também em mamoeira e guapuruvu, foi verificado o efeito do ácido sulfúrico, em diversos tempos, constatando-se uma promoção na germinação, porém a partir de 20 minutos (em mamoeira) e 2 horas (em guapuruvu), havia redução na viabilidade (Freitas e Cândido, 1972).

Tem sido empregado o uso de ácido nítrico na escarificação, porém seu efeito é menos eficaz do que o do ácido sulfúrico (Ledo, 1977).

Muitas vezes, a escarificação facilita a penetração de

substâncias reguladoras do crescimento, promovendo a germinação.

Em beterraba açucareira, foi observado um aumento na emergência no campo, quando as sementes eram tratadas previamente com ácido clorídrico, antes da adição de reguladores do crescimento (Akeson et al., 1981).

Foi observado o efeito da escarificação química e aplicação de ácido giberélico e cinetina em sementes de *Oryzopsis hymenoides*. Verificou-se que nas sementes intactas os hormônios não tiveram efeito, no entanto, promoveram a germinação de sementes escarificadas com ácido sulfúrico (McDonald e Khan, 1977).

Em beterraba açucareira, foi verificado que o ácido sulfúrico concentrado aumentava a emergência no campo, sugerindo que a impermeabilidade oferecida pelo tegumento exercia alguma barreira a germinação nesta espécie (Akeson et al., 1981).

A escarificação química também pode remover as substâncias inibidoras, conforme observado em sementes de *Luzula spicata* (Amen, 1967).

A escarificação mecânica, pelo uso de abrasivos, também promove a germinação (Holm e Miller, 1972; Almeida et al., 1979; Ferreira e Handro, 1979; Lin et al., 1981).

Em sementes de canafístula, foi testado o efeito da escarificação mecânica por diferentes períodos, sendo observada uma promoção na germinação (Bianchetti, 1981).

Foi observado que sementes de *Araucaria angustifolia* (Aquila e Ferreira, 1984) e de *Phaseolus mungo* (Rao e Mukherjee, 1978) apresentaram germinação bem mais elevada quando escarifica

das mecanicamente do que quando intactas. Também alguns cultivares de leguminosas forrageiras apresentaram melhor germinação quando escarificadas mecanicamente, por meio de lixas; entretanto, a escarificação química, com ácido sulfúrico concentrado, foi mais eficiente (Almeida et al., 1979).

Para sementes cuja impermeabilidade do tegumento é de vida à deposição de cutina e suberina, é recomendado o uso de solventes orgânicos, tais como acetona, durante uma hora (Phaneen dranath e Funk 1978) e éter etílico, por períodos de 15 a 30 minutos (Nikolaeva, 1977). Os solventes orgânicos removem a camada impermeabilizante ou lixiviam substâncias inibidoras solúveis nestes solventes (Mayer e Poljakoff-Mayber, 1975).

Foi observado que sementes de alface (Rao e Khan, 1975; Rao et al., 1976), beterraba, trigo e tomate (Milborrow 1963) tiveram a germinação promovida pela lavagem das sementes em solventes orgânicos.

A presença de substâncias inibidoras no tegumento, principalmente fenóis, reduz a disponibilidade de oxigênio para o embrião, por oxidação dos mesmos (Mikkelsen, 1966; Heydecker et al., 1971; Côme e Tissaoui, 1972; Enu-Kwesi e Dumbroff, 1980; Fernandez e Johnston, 1980; Murphy e Noland, 1981) e a germinação é aumentada quando as sementes são lavadas em água corrente durante algum tempo, conforme observado em curcubita (Brown, 1940). Atriplex repanda (Fernandez e Johnston, 1980), Avena fatua (Metzger e Sebesta, 1982) e beterraba vermelha (Chetram e Heydecker, 1967; Heydecker et al., 1971). Foi observado que sementes de Fraxinus, quando secas, não continham inibidor. Entretanto, quando eram embebidas, havia produção de grandes quantidades de inibidor, o que restringia a germinação (Villiers e Wareing, 1965). Contudo, nem



sempre a ocorrência de substâncias inibidoras no tegumento implica em que as mesmas tenham efeito inibidor na germinação dessas sementes, pois conforme foi observado em sementes de *Coumarouna odorata*, apesar das mesmas conterem altos níveis de cumarina, um potente inibidor da germinação, não têm sua germinação afetada pelo mesmo (Válio, 1973). Neste caso, o inibidor estaria favorecendo o estabelecimento dessa espécie, por reduzir a competição com outras plântulas (efeito alelopático).

A presença de inibidores pode afetar a distribuição de certas espécies, favorecendo algumas e impedindo a ocorrência de outras, de acordo com a sensibilidade dessas espécies ao inibidor (Mayer e Poljakoff-Mayber, 1975; Kheradnam e Bassiri, 1980).

Foi isolada, em sementes de beterraba açucareira, uma substância inibidora da germinação, não fenólica, porém não foi testado seu efeito na germinação de sementes de beterraba açucareira (Mitchell e Tolbert 1968). Alguns trabalhos sugerem que substâncias fenólicas atuem como inibidores da germinação nesta espécie (Coumans et al., 1976; Coumans et al., 1977). Entretanto, este fato não foi verificado, e como se sabe, a sensibilidade de sementes de diferentes espécies à mesma concentração do mesmo inibidor varia amplamente (Ketring, 1973).

Quando se estudou o efeito do ácido ferúlico na germinação de sementes de alface e de beterraba vermelha (onde ele é encontrado), verificou-se que o mesmo inibia a germinação de sementes de alface, mas que não tinha efeito na germinação de sementes de beterraba vermelha, mesmo quando em concentrações mais elevadas (Juntilla, 1976).

São encontrados na literatura vários trabalhos mostrando

do o efeito de substâncias endógenas do crescimento controlando a dormência em muitas espécies. Foram realizados vários estudos através da utilização de extratos de sementes, comprovando a influência desses hormônios na germinação (Amen et al., 1970; Khan, 1971; Holm e Miller, 1972; Khan et al., 1973; Lewak e Khan, 1977; Albrecht et al., 1979; Radley, 1979).

As reservas contidas nas sementes são hidrolizadas durante o processo germinativo e os produtos formados são translocados para o eixo embrionário. Acredita-se que as substâncias endógenas do crescimento estariam envolvidas neste processo, regulando a síntese ou ativação de enzimas utilizadas na degradação e mobilização das reservas, conforme observado em feijão por Metivier e Paulilo (1980), onde a atividade da amilase foi induzida pela aplicação de benziladenina (6-BA). Em outras espécies, a presença do eixo embrionário pode ser substituída pela aplicação de citocinina, na atividade hidrolítica dos cotilédones (Penner e Ashton, 1967).

Sabe-se que a giberelina tem influência na germinação de sementes de algumas espécies, mas apesar de seu envolvimento na síntese de amilase e protease em sementes de cevada (Crispeels e Varner, 1967; Jacobsen e Varner, 1967) sua função exata ainda não foi esclarecida (Mayer e Shain, 1974).

Em sementes de beterraba açucareira foi observado que a emergência das plântulas no campo foi aumentada com a aplicação de ácido giberélico ( $GA_3$ ), cinetina e 6-BA (Scott et al., 1974).

Nas sementes de muitas espécies o ácido abscísico (ABA) atua como inibidor da germinação quando aplicado exogenamente

(Wareing e Sanders, 1971). Sua ação está relacionada com a concentração encontrada no embrião, como no caso de *Fraxinus americana* (Milborrow, 1974).

Em sementes de beterraba açucareira, foi detectada, por cromatografia a gás, a presença de ABA no glomérulo menos opérculo e opérculo isolado, sendo que maior concentração endógena desta substância estava presente no opérculo. Entretanto, sugere-se que ABA não exerce papel importante no controle da dormência de sementes desta espécie, em relação à exercida por outras substâncias presentes no glomérulo, de natureza fenólica, as quais provavelmente absorveriam o oxigênio destinado ao embrião (Coumans et al., 1977).

Tem sido sugerido que o processo germinativo é controlado por um balanço hormonal (Khan, 1977; Taylorson e Hendricks, 1977; Prasad et al., 1981). Esse efeito dos hormônios é muitas vezes dependente das condições ambientais, sendo influenciados por luz e temperatura (Leff, 1964; Speer et al., 1974; Slabinik, 1977; Johnston, 1979; Randi e Felipe, 1981; Burger e Hackett, 1982).

O efeito de substâncias químicas na germinação tem sido observado em diferentes espécies (Hendricks e Taylorson, 1974; Curtis, 1981; Disa et al., 1982; Ivens, 1983; Vidovick e Murray, 1984).

Foi observado que às vezes o nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) inibe a germinação por impedir a ação do etileno endógeno (Beyer Jr., 1976; Curtis, 1981). Isto ocorre em sementes cuja germinação é influenciada pelo etileno, como no caso de *Avena fatua*, em que foi observado um pico de liberação de etileno, durante a germinação de sementes não dormentes, antes da protusão da radícula

(Adkins e Ross, 1981).

A germinação de muitas sementes é promovida quando em presença de nitrato de potássio ( $\text{KNO}_3$ ), sendo que na maioria das vezes a promoção é devida a indução da atividade da reductase do nitrato (Hendricks e Taylorson, 1974; Disa et al., 1982; Vidovick e Murray, 1984). Em sementes de tojo, não houve promoção da germinação quando mantidas em diversas concentrações de nitrato de potássio (Ivens, 1983).

Nikolaeva (1977), observou a promoção da germinação de algumas sementes tratadas com nitrato de potássio antes de serem submetidas a ação de substâncias reguladoras do crescimento.

Em sementes de *Eragrotis trichodes* o uso de nitrato de potássio nas concentrações de 0,1 e 0,2%, proporcionou um aumento na germinação, sendo porém observado um número elevado de plântulas anormais (Ahring et al., 1963).

### III - MATERIAL E MÉTODOS

#### 1. Material Vegetal

Utilizaram-se sementes de *Beta vulgaris* L. do cultivar Kawemegamono (monogêrmico), as quais foram gentilmente fornecidas pela EMBRAPA-UEPAE/Pelotas e pela INDUSEM (Sertaneja-Paraná). Até serem utilizadas, as sementes ficaram armazenadas em vidros hermeticamente fechados, em geladeira.

#### 2. Teste de Tetrazólio

A viabilidade das sementes foi avaliada pelo teste de tetrazólio (Delouche et al., 1962).

Para que fosse assegurada a penetração da solução, o tegumento foi perfurado com estilete na região oposta à da protusão da radícula. As sementes foram a seguir imersas em uma solução 0,1% de cloreto de 2, 3, 5-trifenil tetrazólio durante 24 horas a 30°C, no escuro. A amostragem foi de 4 repetições de 50 sementes.

Devido a não haver padrões de coloração definidos para a espécie em estudo, a avaliação dos resultados foi baseada em critérios adotados para estimar a viabilidade de outras espécies de dicotiledôneas, descritos por Delouche et al. (1962).

Foram consideradas inviáveis as sementes que apresenta

ram as seguintes características:

- a) ausência total de coloração no embrião;
- b) apenas a radícula sem coloração;
- c) metade da área cotiledonar não corada se prolongando até a região do hipocótilo;
- d) regiões sem coloração em quase toda a extensão da radícula e cotilédones.

### 3. Método Geral de Germinação

As sementes foram colocadas para germinar em caixas gerbox de 12 x 12 cm, com papel de filtro marca Germitest - Tipo CEL 065, previamente umidecido com 8 ml de solução de NYSTATIN 0,02mg/ml para prevenir o desenvolvimento de fungos. Quando substâncias exógenas foram aplicadas foi usada solução aquosa das mesmas.

Todos os ensaios de germinação foram conduzidos em câmaras de crescimento "Forma Scientific" modelo 24, com controle de temperatura.

Quando os experimentos foram realizados na luz, utilizaram-se lâmpadas fluorescentes ( $320 \mu\text{w}.\text{cm}^{-2}$ ). Para os tratamentos de escuro, as sementes foram mantidas em caixas gerbox pintadas externamente com tinta plástica preta.

A não ser que seja especificado separadamente, todos os ensaios foram realizados no escuro a  $25^{\circ}\text{C}$  e tiveram a duração de 12 dias.

Todos os tratamentos constaram de 5 repetições de 40 se mentes.

A protusão da radícula foi usada como parâmetro para a valiação da germinação, sendo que as sementes germinadas eram re radas das caixas gerbox. Foi utilizada luz verde de segurança pa ra contagem de germinação das sementes do tratamento de escuro.

No final de cada experimento foi feito teste de tetrazólio com as sementes que não germinaram a fim de verificar se a não ocorrência de germinação se deve a dormência ou a perda de viabi lidade das sementes decorrente do tratamento .

Foi descartado em todos os resultados de germinação o número de sementes não viáveis, sendo apresentada uma porcentagem de germinação corrigida.

#### 4. Luz e Temperatura

##### 4.1. Temperatura constante e alternada

As sementes previamente lavadas em água corrente por 3 horas, foram colocadas para germinar em presença de temperaturas constantes (5, 10, 15, 20, 25, 30 e 35°C). Utilizaram-se também regimes de temperaturas alternadas, mantendo a mesma faixa de tem peratura (5-35°C), alternando com 25°C, a cada 12 horas.

Todos os tratamentos foram montados na luz e no escuro.

##### 4.2. Choques de temperatura

Quando se testou o efeito de choques de temperaturas na germinação, as sementes foram lavadas em água corrente durante 3 horas e em seguida mantidas na luz ou no escuro, até completar 24 horas de embebição, a 25°C. Após este período, foram dados choques de 0, 1, 6 e 24 horas nas temperaturas de 5 ou 45°C, voltando em seguida às condições anteriores.

## 5. Posição da Semente

As sementes de beterraba açucareira possuem duas regiões bem caracterizadas, opostas, que são constituídas pelo poro basal e pelo opérculo (Fig. 1). Foi avaliada a germinação de sementes colocadas em duas posições específicas, isto é, com a região do opérculo (posição A) ou com a do poro basal (posição B) em contacto com o papel de filtro.

A não ser que seja especificado separadamente, todos os tratamentos foram montados com as sementes na posição B.

## 6. Escarificação

### 6.1. Química

As sementes foram colocadas em béquers contendo ácido sulfúrico concentrado e escarificado durante 0, 5, 15, 30, 60 e 120 minutos. Em seguida, foram lavadas em água corrente durante 3 horas.



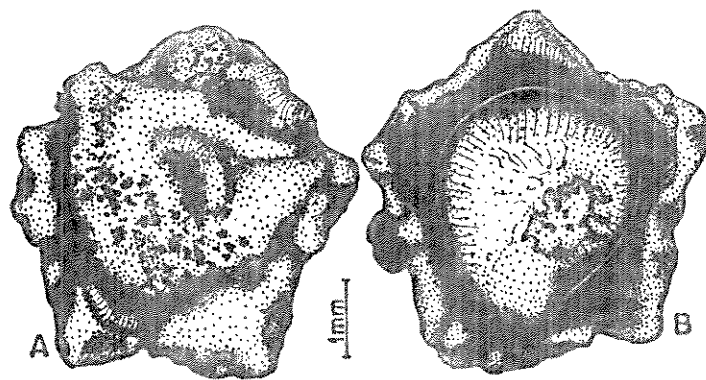


Figura 1 - Glomérulo de *Beta vulgaris* L. (cv. Kawemegamono)

A - vista da região do poro basal

B - vista da região do opérculo

## 6.2. Mecânica

Utilizou-se escarificador com lixa fina de papel.

As sementes foram colocadas entre duas lixas e, através de atrito durante 4, 7 e 10 minutos, removendo o tecido esponjoso que circunda a parede do fruto.

## 7. Lavagem em Água Corrente

### 7.1. Lavagem constante

As sementes colocadas em um funil de Buchner coberto com gaze presa por elástico, foram deixadas em água corrente durante 3 horas.

### 7.2. Lavagem intermitente

As sementes foram lavadas intermitentemente a cada 4 minutos, através de refluxo por meio de um extrator soxhlet por um período de 6 horas.

## 8. Análise de Substâncias de Crescimento

### 8.1. Extração e fracionamento

Foi utilizado o método descrito por Usberti (1979). Se

mentos foram trituradas em homogeneizador "Virtis-45", com metanol 80% (1 g de sementes para cada 10 ml de metanol 80%). O extrato obtido foi mantido a 5°C durante 24 horas. Em seguida foi filtrado à vácuo e o resíduo re-extraído em igual volume de metanol 80% por 24 horas. Foi feita nova filtração, a vácuo, e o filtrado juntado ao obtido anteriormente. Obteve-se assim o extrato metanólico bruto. Procedeu-se em seguida à eliminação do metanol por meio de um evaporador rotatório, sob pressão reduzida, à temperatura de 35°C. O extrato aquoso assim obtido foi submetido ao processo de fracionamento de acordo com o esquema I.

## 8.2. Cromatografia

As frações neutra e ácida foram cromatografadas em papel Whatman nº 3, cortado em tiras de 46 cm por 12 cm, desenvolvido descendentemente num percurso de 30 cm.

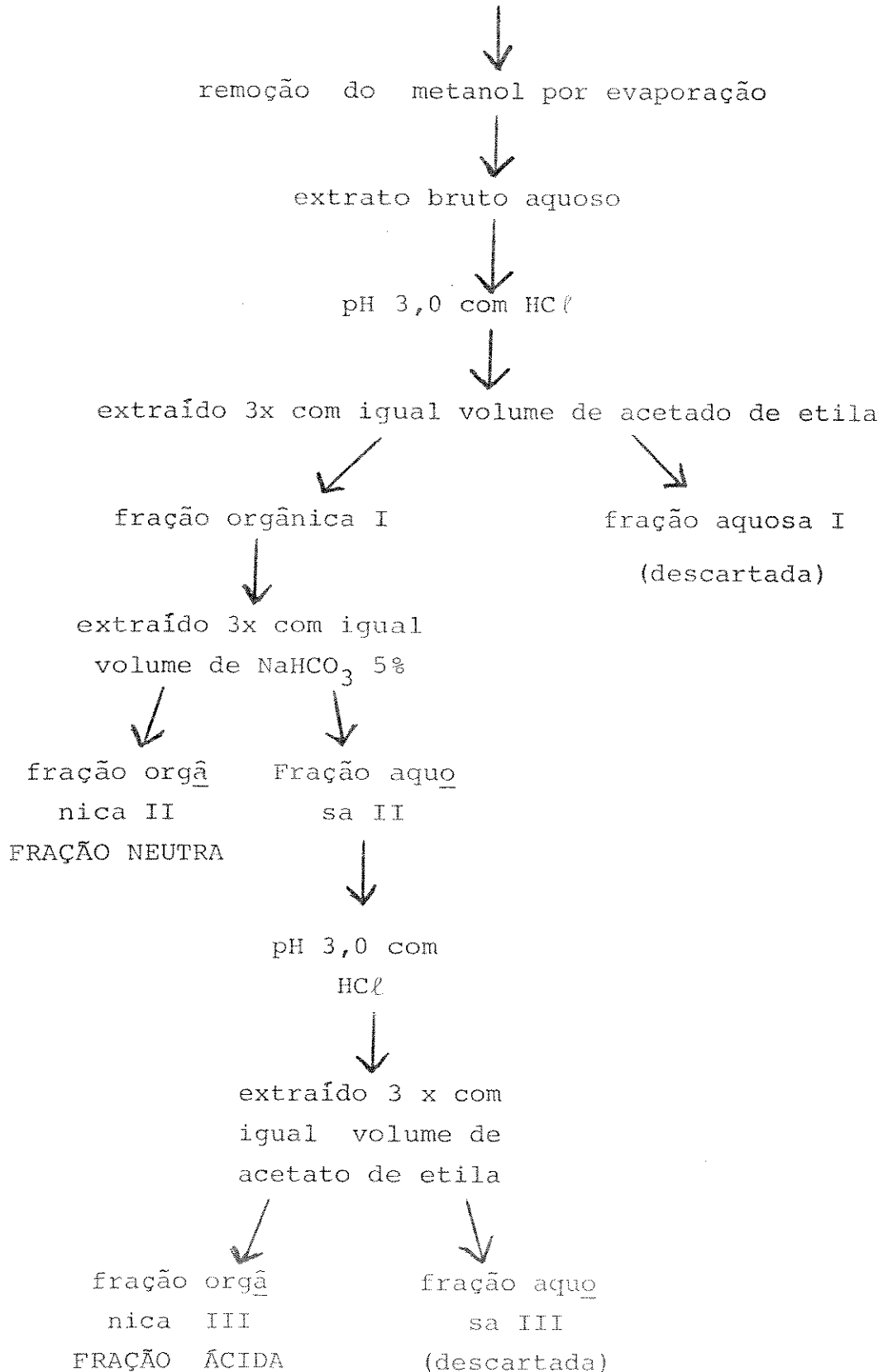
O sistema de solventes utilizado foi isopropanol, amônia e água na proporção de 10:1:1 v/v/v, sendo as cubas cromatográficas previamente saturadas, por um período de 12 horas.

Foi desenvolvido um cromatograma só com o sistema de solventes, para ser utilizado como controle.

O cromatograma foi então seco sob corrente de ar em capela durante 48 horas. Em seguida, foi dividido em 10 faixas transversais, desde o ponto de aplicação até a frente e, longitudinalmente em 4 partes que correspondiam as 4 repetições para cada faixa entre os RFs para ser biotestado.

Esquema I : MÉTODO DE EXTRAÇÃO E FRACIONAMENTO DO EXTRATO

extrato metanólico (1 g de peso fresco/10 ml de metanol 80%)



### 8.3. Bioteste do alongamento do hipocótilo de alface

O bioteste foi realizado de acordo com Frankland e Wareing (1960). Sementes de alface do cultivar "Grands Rapids" foram colocadas para germinar em placas de Petri a 25°C, por 24 horas, sob luz contínua. Em seguida, as plântulas foram selecionadas por homogeneidade de tamanho e colocadas em grupos de 4 em cubetas de forma de plástico, para gelo, contendo faixas de cromatograma, correspondente a cada repetição de faixa de Rf, umedecidas com 1,5 ml de água destilada. Utilizaram-se soluções de GA<sub>3</sub> nas concentrações de 10<sup>-7</sup>, 10<sup>-6</sup> e 10<sup>-5</sup>M para construção da curva padrão.

As formas de gelo foram colocadas em bandejas plásticas contendo papel absorvente, umedecidos de modo a formar um filme de água, tampadas com vidro transparente e em seguida transferidas para câmara Biotronette, a 25°C, sob luz contínua (6 lâmpadas fluorescentes e 4 incandescentes).

Após 3 dias, foram medidos os comprimentos dos hipocótilos, a fim de verificar a presença de substâncias promotoras do crescimento nas frações ácida e neutra. Os resultados foram transformados em porcentagem do controle.

### 8.4. Germinação de sementes de beterraba açucareira

Frações ácida e neutra de extrato de sementes, obtidas conforme método descrito no item 8.1, foram testadas na germinação de sementes de beterraba açucareira.

O papel de filtro colocado em placas de Petri foi umedecido

decido com um volume de extrato, correspondente a 0, 1, 2, 4, 6, 8 e 10 g de sementes. Após total evaporação do acetato de etila, o papel foi transferido para caixas gerbox e umedecido com 8 ml de água destilada, ficando bem molhado. Em seguida, colocaram-se as sementes, que foram mantidas nestas condições por 48 horas. A partir desse período, o papel foi mantido apenas ligeiramente umedecido.

### 9. Curva de Embebição

Para determinação da embebição foram utilizadas 5 repetições de 40 sementes, por tratamento. As sementes foram colocadas para embeber em caixas gerbox com papel de filtro umedecido com 10 ml de água destilada, nas posições A e B, na luz a 25°C.

A embebição foi medida nas primeiras 12 horas de 3 em 3 horas e depois com 24, 36 e 48 horas. A porcentagem de embebição foi determinada por diferença de peso, entre a semente seca e embebida nos tempos já especificados.

$$\% \text{ Embebição} = \frac{P_f - P_i}{P_i} \times 100 ,$$

onde:  $P_f$  = peso final

$P_i$  = peso inicial

### 10. Impermeabilização da Região do Poro Basal e do Opérculo

As sementes foram impermeabilizadas com parafina à temperatura de aproximadamente 30°C, na região do poro basal ou do opérculo, e a seguir foi feita a avaliação da germinação e do consumo O<sub>2</sub> das mesmas.

10.1. Germinação

- a) Sementes impermeabilizadas no poro basal, colocadas para germinar nas posições A ou B;
- b) Sementes impermeabilizadas no opérculo, colocadas para germinar nas posições A ou B;
- c) Sementes não impermeabilizadas, colocadas para germinar na posição A ou B.

10.2. Consumo de O<sub>2</sub>

Sementes intactas ou parafinadas nas regiões especificadas acima, após embebição em água destilada por 24 horas, tiveram o consumo de O<sub>2</sub> medido no Respirômetro de Warburg, de acordo com método descrita por Umbreitt et al. (1964).

Foram colocados 0,5 ml de KOH 20% na cisterna do frasco (para captação de CO<sub>2</sub> liberado), 0,7 ml de água destilada e 40 sementes no espaço situado ao redor da cisterna. Foi medido o volume ocupado pelas sementes, com auxílio de uma proveta graduada, com água destilada, sendo o mesmo igual a 1 ml. Como controle foram usados 3 termobarômetros. O ensaio constou de 4 repetições de 40 sementes, por tratamento, e foi realizado a 30°C.

Foram feitas leituras da variação do consumo de  $O_2$  de 15 em 15 minutos até 120 minutos e depois aos 150 e 180 minutos de incubação, sendo o consumo de  $O_2$  calculado multiplicando-se os valores obtidos pela constante de Warburg (K).

$$K = \frac{Vg \frac{273}{T} + Vf \cdot \alpha}{P_0}$$

Vg = volume total : volume do gás dentro do manômetro e do frasco (fase gasosa)

T = temperatura absoluta °K ( $0^{\circ}\text{C} + 273$ )

Vf = volume líquido colocado no frasco + volume do material vegetal

$\alpha$  = constante  $\rightarrow$  coeficiente de solubilidade do gás que está sendo medido (é encontrado em tabela, e tem valor de 0,026, para  $O_2$ , a  $30^{\circ}\text{C}$ )

$P_0$  = pressão (10.000)

Foi calculada a média aritmética dos resultados obtidos entre as 4 repetições de cada tratamento e o consumo de  $O_2$  expresso em termos de  $\mu\ell O_2/40$  sementes.

A partir desses resultados, foi calculada a taxa respiratória ( $QO_2$ ) durante as primeiras duas horas .

$QO_2 = \mu\ell O_2/40$  sementes.minutos



## 11. Volume de Água

O efeito do volume de água sobre a germinação de sementes foi verificado de 2 formas. Em um dos casos as sementes foram colocadas para germinar em caixas gerbox com papel de filtro umedecido com 5, 6, 8 ou 10 ml de água destilada e mantidas nestas condições até o final. No segundo caso foram colocadas sementes para germinar em papel umedecido com 10 ml de água destilada durante 0, 6, 12, 18, 24, 30, 48, 72 e 96 horas e em seguida transferidas para caixas gerbox com papel umedecido com 6 ml de água destilada. Todos tratamentos foram montados no escuro a 25 ou 35°C.

## 12. Etileno

### 12.1. Exógeno

Utilizaram-se 10 ml por placa de soluções de ácido 2-cloroetil-fosfônico (CEPA) a 0, 10, 25, 50 e 100 mg/l, para avaliar a germinação das sementes. Todas as placas foram vedadas com fita adesiva, logo após a montagem do experimento.

### 12.2. Detecção do etileno endógeno

#### 12.2.1. Utilização de nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>)

Foi avaliada a germinação de sementes submetidas à ação de diferentes concentrações de AgNO<sub>3</sub> (0, 50, 100, 200 e 500 mg/l),

sendo o papel umedecido com 6 ml de solução.

Em outro grupo de experimentos as sementes foram colocadas para germinar em papel umedecido com 10 ml de soluções de  $\text{AgNO}_3$  nas concentrações de 0, 100 e 200 mg/l durante 48 horas . Após este período o papel foi mantido apenas ligeiramente umedecido.

Para que fosse assegurada a penetração da solução, foi feito experimento em que se fez a perfuração do tegumento das sementes com estilete na região oposta à da protusão da radícula . As sementes foram então colocadas para germinar em caixas gerbox com papel de filtro umedecido com 10 ml das soluções de  $\text{AgNO}_3$  (0 e 500 mg/l, durante 48 horas. Após este período o papel foi mantido ligeiramente umedecido.

#### 12.2.2. Utilização de nitrato de potássio ( $\text{KNO}_3$ )

Foi testada a ação de diferentes concentrações de  $\text{KNO}_3$  (0, 50, 100, 200 e 500 mg/l), na germinação de sementes, em papel umedecido com 6 ml de solução.

#### 12.2.3. Utilização de perclorato de mercúrio ( $\text{HgClO}_4$ )

Em caixas gerbox com papel de filtro umedecido com 6 ml de água destilada, foi colocada no centro uma placa de Petri, de 5 cm de diâmetro destampada, com 2,5 ml de perclorato de mercúrio ou água destilada. As sementes foram dispostas, no papel de filtro, ao redor da placa de Petri. Depois de tampadas, as caixas

gerbox foram vedadas com fita crepe e colocadas em câmara de crescimento, na luz a 25°C.

O preparo da solução de perclorato de mercúrio foi feita de acordo com método descrito por Abeles (1973).

#### 12.2.4 Cromatografia gasosa

Sementes foram colocadas em frascos de vidro, com volume de 10 ml, dotados de tampa de borracha, contendo papel de filtro umedecido com 1,5 ou 4,0 ml de água destilada. Em seguida à colocação das sementes, os frascos foram tampados, vedados com vaselina sólida e transferidos para câmara de crescimento, na luz a 25°C.

Foram coletadas amostras de 0,5 ml de ar do interior de cada frasco por meio de uma seringa, cuja agulha era introduzida através da tampa de borracha.

A primeira amostra foi tomada após 6 horas de embebição e as seguintes diariamente, até o 12º dia. Cada amostra foi submetida à cromatografia gasosa para se verificar a presença de etileno no interior dos frascos. A metodologia empregada foi baseada na descrita por Abeles (1973).

O cromatógrafo a gás usado da marca "Varian" modelo 2440 equipado com detector de ionização de chama. Utilizou-se coluna de Purex de 6' x 1/4" preenchida com Poropak T 80/100 "mesh", sendo o nitrogênio utilizado como gás de arraste. O aparelho foi operado com as seguintes temperaturas: coluna 100°C; injetor 120°C e detector 175°C. As velocidades dos fluxos de gases foram : ar

sintético 300 ml/min.; nitrogênio 40 ml/min e hidrogênio 40 ml / min. O controle do atenuador foi usado em 4 e  $2 \times 10^{-11}$ . Foi utilizado como padrão etileno na concentração de 1 mg/l.

### 13. Etanol

#### 13.1. Determinação do etanol endógeno

Inicialmente as sementes foram colocadas para embeber em placas gerbox com papel de filtro umedecido com 10 ml de água destilada, durante 2 e 6 dias, no escuro a 25°C. Após estes períodos foi feita a extração de etanol conforme método descrito por Baskin e Baskin (1976). Foi feito extrato de 40, 80 e 120 sementes, a frio, com 4,5 ml de tampão tris-HCl 0,1M pH 8,0, com 7% de polyvinylpirrolidona, tendo sido utilizado almofariz e pistilo, pré-resfriados, para homogeneização do material. Os extratos foram centrifugados a 4°C, por 20 minutos a 1200 g e ensaiados em seguida. A dosagem do etanol foi feita pelo método colorimétrico do dicromato, de acordo com Kaye (1963).

#### 13.2. Etanol exógeno

Testou-se a germinação de sementes em presença de diferentes concentrações de etanol (0, 0.02, 0.05 e 0.5%) em papel de filtro umedecido com 6 ml de solução.

Foram colocadas sementes para embeber em béquers contendo 30 ml de solução de etanol de diversas concentrações (0 ,

0.05, 0.5 e 2%), durante 48 horas e em seguida as mesmas foram transferidas para caixas gerbox contendo papel umedecido com 6 ml das mesmas soluções, para avaliação da germinação durante 12 dias. Após o período de 6 dias foi feita extração de etanol de um lote de 40 sementes de cada tratamento segundo o método descrito no item 13.1. O teor de etanol presente no extrato foi detectado pelo método colorimétrico do dicromato (Kaye, 1963).

#### 14. Umidade do solo e Temperatura

##### 14.1. Determinação do nível de umidade do solo

A umidade foi determinada em solos irrigados tendo-se como base os resultados da análise realizada no laboratório de análise de solos do Planalsucar, Araras (Tabela 1).

Tabela 1 - Umidade do solo em função de vários potenciais de pressão

Pressão (bars)	Umidade do solo (% Peso seco) Amostras	
	A	B
0,001	50,14	50,04
0,01	40,80	42,31
0,1	18,40	18,28
0,3	14,00	13,90
1,0	12,20	12,10
3,0	11,90	11,80
6,0	11,60	10,80
15,0	10,20	10,50

Foram escolhidos três níveis de umidade, sendo um na faixa de deficiência de água (10%), outro próximo à capacidade de campo (12,3%) e outro com excesso de água (40%).

#### 14.2. Emergência de plântulas em solos com diferentes níveis de umidade

Para verificar a influência da umidade do solo sobre a emergência de plântulas, utilizaram-se vasos plásticos com capacidade para 500 ml, contendo substrato constituído por 75% de solo e 25% de areia.

A semeadura foi feita a 3 cm de profundidade, sendo a amostragem de 8 repetições de 4 sementes, por tratamento.

Cada vaso foi acondicionado em saco plástico transparente para evitar perda de água e colocado em câmara de crescimento à temperatura de 25 ou 35°C.

Os vasos foram pesados diariamente e quando necessário, foram adicionadas 2 a 3 gotas de água destilada, para manutenção do nível de umidade do solo, o que ocorreu apenas após a emergência das plântulas.

#### 14.3. Determinação do peso seco de plântulas

Plântulas com 10 dias de idade, foram colocadas para secar em estufa a 80°C durante 48 horas para determinação do peso seco.

## 15. Cálculo do Tempo Médio para Germinação ou Emergência

A velocidade de germinação ou emergência ( $\bar{t}$ ) foi calculada utilizando-se a expressão descrita por Handro (1969).

$$\bar{t} = \frac{\sum_{i=0}^{i=g} P_i \cdot t_i}{G}$$

$t_i$  = tempo de germinação

$t_g$  = tempo máximo de germinação

$t_0$  = tempo mínimo de germinação

$P_i$  = porcentagem de germinação no tempo  $t_i$

$G$  = capacidade de germinação (máxima porcentagem de germinação atingida)

Para comparação dos valores de  $\bar{t}$  obtidos foram calculados o erro padrão do tempo médio de germinação ou emergência ( $S_{\bar{t}}$ ) através da seguinte expressão utilizada por Handro (1969):

$$S_{\bar{t}} = \frac{\sqrt{\frac{\sum_{i=0}^{i=g} P_i (t_i - \bar{t})^2}{G - \frac{100}{N}}}}{\sqrt{\frac{GN}{100}}}$$

onde  $N$  é o número de sementes da amostra e o restante da notação é a mesma adotada anteriormente para o cálculo de  $\bar{t}$ .

Em todos os cálculos foram considerados os números de sementes viáveis.

A partir dos valores de  $S_{\bar{t}}$ , calculou-se o intervalo de confiança a 95%, para comparação dos diversos tratamentos.

## 16. Análise Estatística

As porcentagens de germinação foram transformadas em valor angular=ângulo arco-seno  $\sqrt{p}$ , onde p corresponde à proporção de sementes germinadas, para fins de normalizar sua distribuição (Snedecor e Cochran, 1967). Em seguida, foi feita análise de variância ou fatorial (experimentos com duas ou mais variáveis) , calculando-se a menor diferença significativa (DMS) ao nível de 5% pelo teste Tukey (Gomes, 1973) quando os valores de F foram significativos.

A representação da DMS nos gráficos foi feita através de uma barra vertical entre as curvas nos pontos analisados.

Para comparação entre dois tratamentos foi utilizado o teste T-student para 5% de probabilidade (Snedecor e Cochran , 1967).

Nos biotestes para detecção de substâncias endógenas , foi usado o teste F como método estatístico, para avaliar as diferencias entre cada faixa entre os Rfs do cromatograma. As regiões hachuradas nos histogramas correspondem às porcentagens significativas a 5%.



## IV - RESULTADOS

### 1. Avaliação da Viabilidade pelo Teste de Tetrazólio

A Tabela 2 mostra a porcentagem de viabilidade de sementes secas, lavadas e esscarificadas, com ácido sulfúrico concentrado por diferentes períodos.

Observa-se que não houve diferença significativa entre a viabilidade de sementes secas e lavadas. Nota-se ainda que a esscarificação química até 60 minutos não reduziu significativamente a viabilidade das sementes. Porém, com 120 minutos de esscarificação a viabilidade das mesmas foi significativamente reduzida.

### 2. Fotoblastismo

#### 2.1. Efeito de luz e tegumento

Pelos resultados apresentados na Fig. 2, observa-se que no início do processo germinativo não houve diferença no comportamento de sementes lavadas continuamente e não lavadas. Entretanto, à medida que o processo avançava, a germinação das sementes lavadas continuamente era maior que a das sementes secas, sendo que no 11º dia a lavagem contínua promoveu continuamente a germinação.

Não houve efeito de luz na germinação das sementes controle ou lavadas continuamente.

Tabela 2 - Viabilidade em sementes de *Beta vulgaris*  
secas ou escarificadas quimicamente com  
ácido sulfúrico concentrado

Tratamento	Viabilidade (arc sen $\sqrt{p}$ )
seca	73,6a*
lavadas	75,0a
esc. 15 min.	75,7a
esc. 30 min.	75,0a
esc. 60 min.	60,0a
esc. 120 min.	38,2b

\* Os valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a nível de 5%.

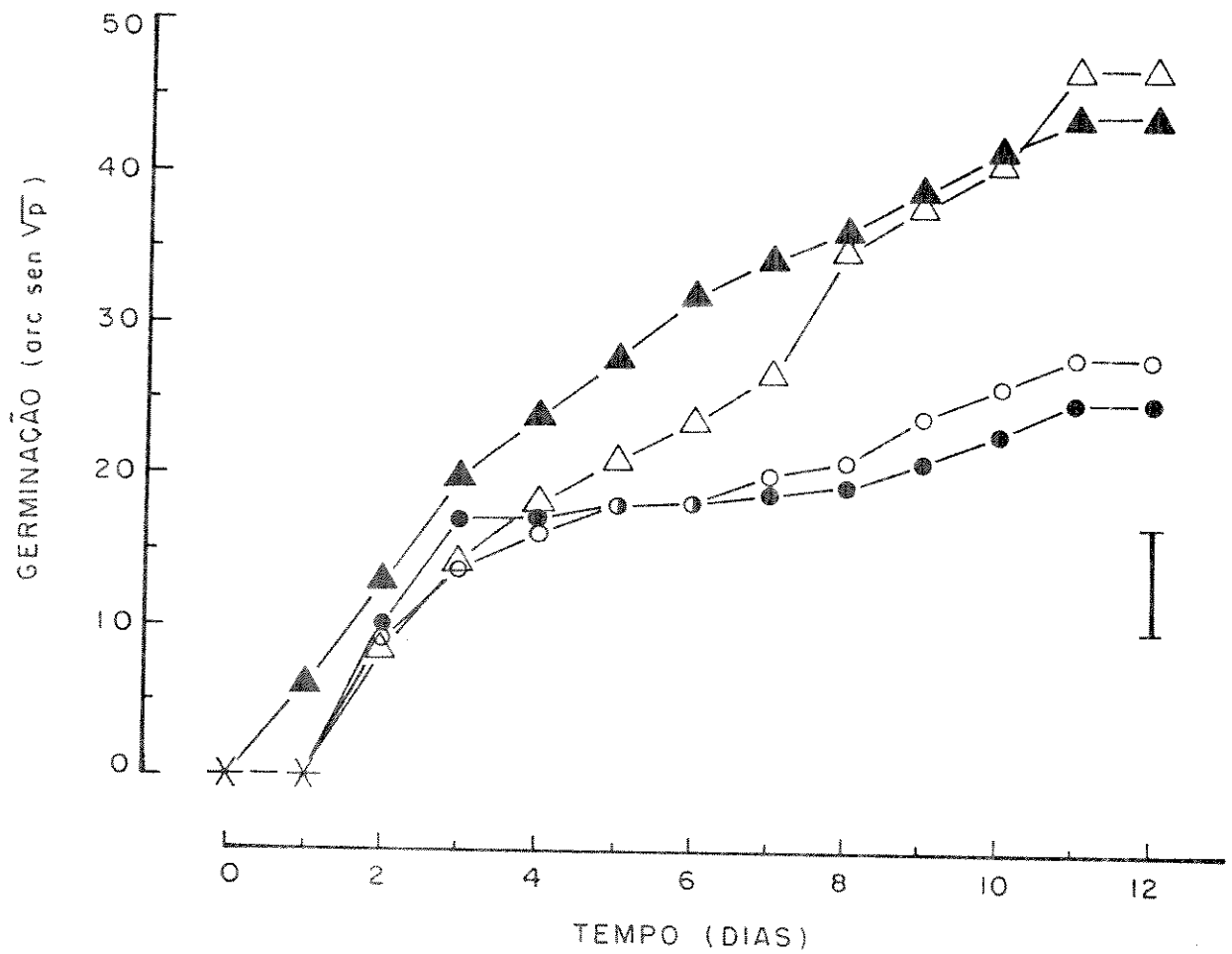


Figura 2 - Efeito da luz e lavagem na germinação de sementes de *Beta vulgaris*, a 25°C.

- - não lavada                      Δ - lavada  
 símbolos claros - luz  
 símbolos cheios - escuro  
 \* - pontos coincidentes

Constatou-se também uma promoção na germinação das sementes lavadas intermitentemente, conforme resultados apresentados na Fig. 3. O comportamento foi o mesmo com 6 ou 24 horas de lavagem. Novamente, neste caso, não houve diferença nos resultados obtidos com sementes mantidas na luz e no escuro, confirmando os resultados obtidos anteriormente.

Através dos resultados apresentados na Tab. 3, verifica-se que não houve redução na viabilidade das sementes (teste realizado com as sementes que não germinaram), mesmo com períodos mais prolongados de lavagem.

## 2.2. Efeito de temperatura

Os resultados da Tab. 4 mostram que não houve diferença significativa entre a velocidade de germinação de sementes submetidas ao efeito de temperaturas constantes, na faixa de 15 e 35°C. Já a 10°C a velocidade de germinação foi menor em relação às demais temperaturas e a 5°C não houve germinação.

A velocidade de germinação foi a mesma tanto na luz como no escuro.

Nota-se através da Fig. 4 um aumento da germinação à medida que se elevava a temperatura, sendo que o máximo foi atingido com a temperatura de 25°C. Em temperatura de 30°C e 35°C a porcentagem de germinação decresceu.

Foi observada uma promoção significativa da germinação no escuro quando comparada com a da luz, nas temperaturas de 10, 15 e 20°C. A partir de 25°C não é observado nenhum fotoblastismo,

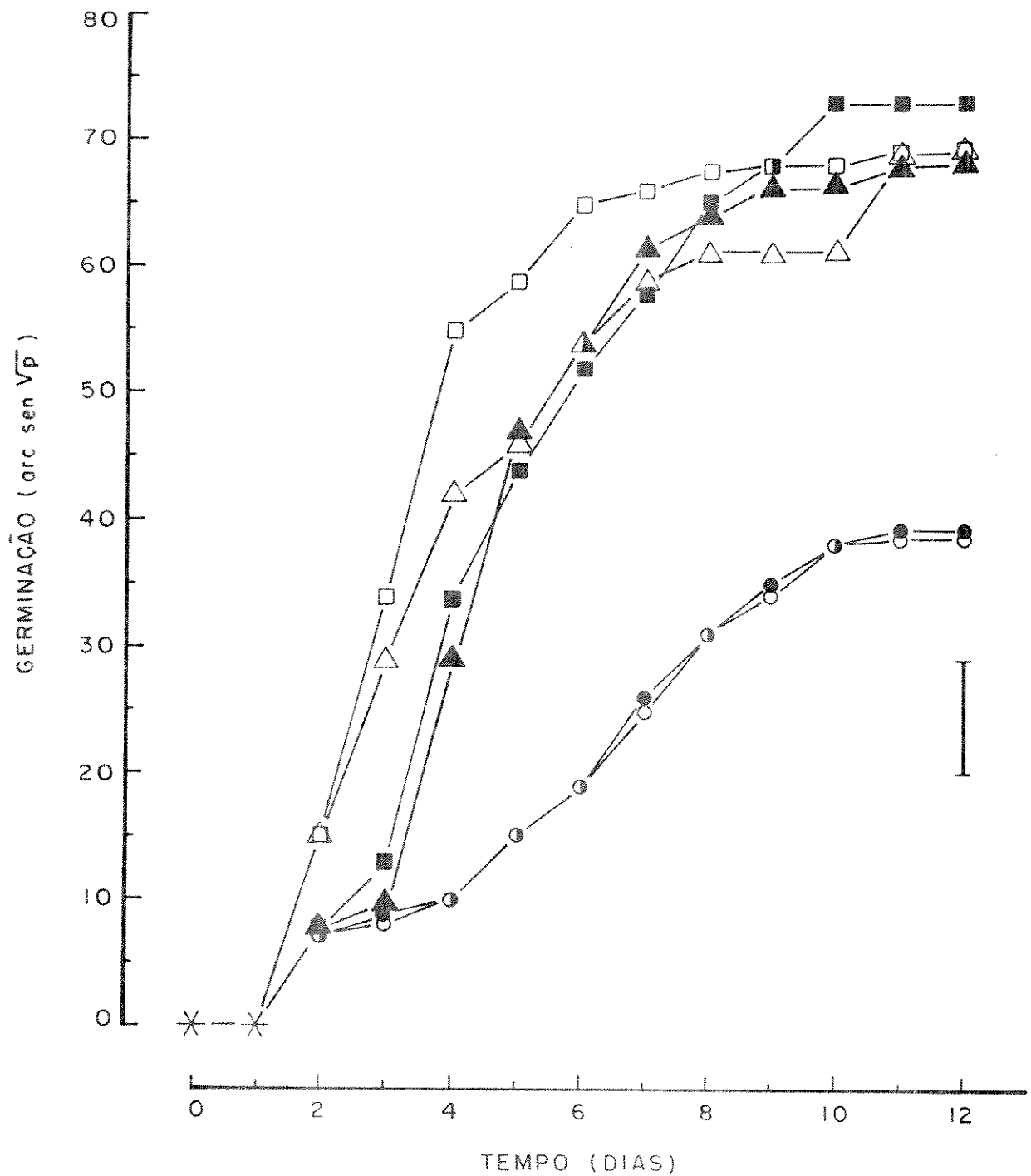


Figura 3 - Efeito da lavagem na germinação de sementes de *Beta vulgaris*, na luz e no escuro, a 25°C.

- - controle
- △ - 6 horas
- - 24 horas
- × - pontos coincidentes
- símbolos claros - luz
- símbolos cheios - escuro

Tabela 3 - Viabilidade de sementes de *Beta vulgaris* lavadas colocadas para germinar na luz e no escuro a 25°C

Tratamento	Duração (horas)	Viabilidade (arc sen p)	
		luz	escuro
lavagem	0	76,4a*	80,0a*
contínua	3	72,0a	74,1a
lavagem intermitente	0	74,1a	76,4a
	6	77,7a	77,1a
	24	81,9a	78,5a

\* Os valores seguidos pela mesma letra na vertical, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a nível de 5%.

Tabela 4 - Efeito da temperatura na velocidade de germinação de sementes de *Beta vulgaris*, na luz e no escuro

Temperatura (°C)	Tempo médio de germinação (dias)	
	luz	escuro
5	-	-
10	10,5b*	11,6b
15	7,9a	5,8a
20	6,3a	4,8a
25	6,7a	5,2a
30	5,6a	3,9a
35	5,2a	4,9a

- : não ocorreu germinação.

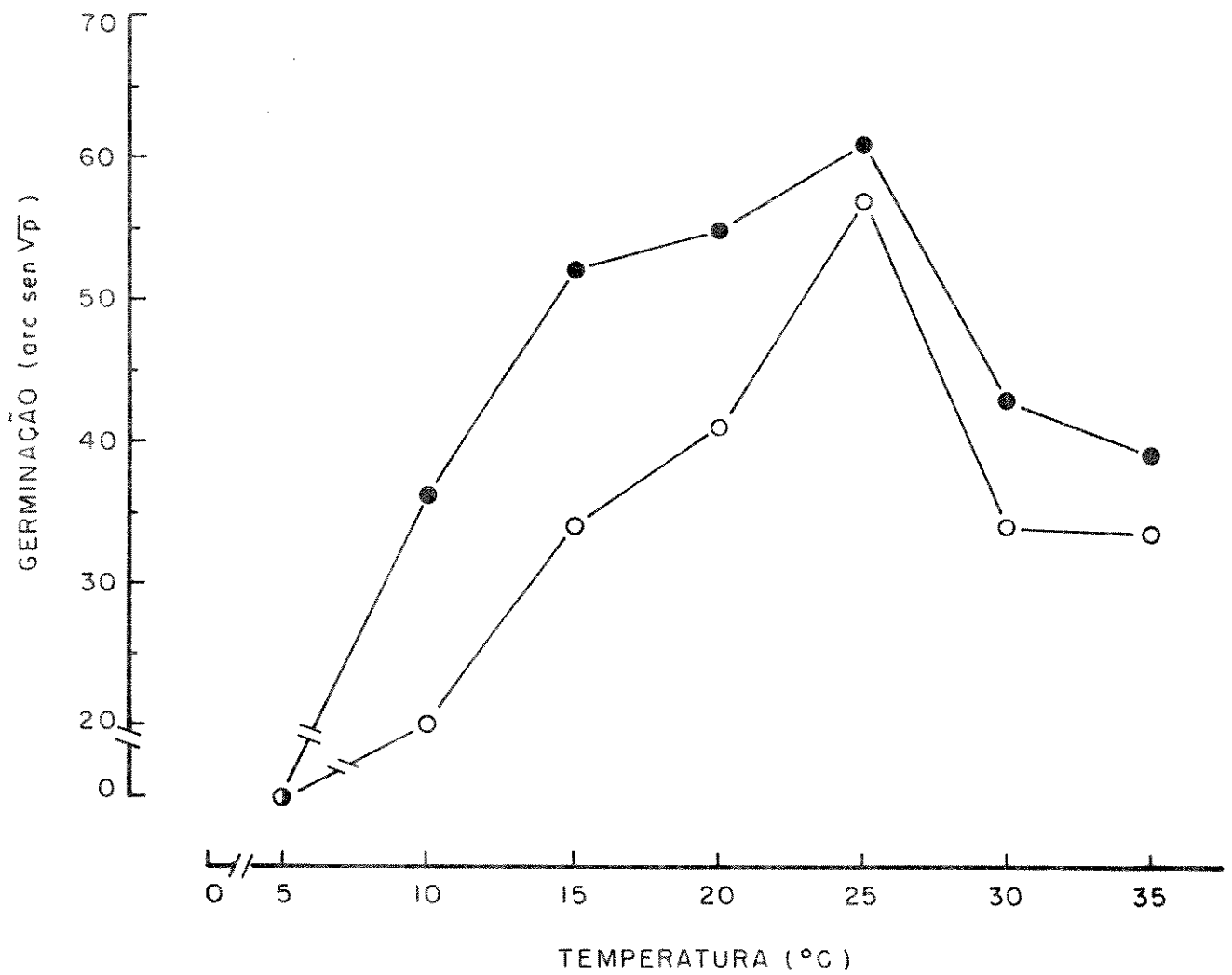


Figura 4 - Efeito da temperatura constante na germinação de sementes de *Beta vulgaris*.

○ - luz                      ● - escuro

DMS tem o valor, em ângulo, para o efeito de diferentes temperaturas, de 12 e para efeito de luz, de 8.



porém há uma redução significativa na germinação a 30 e 35°C, tanto na luz como no escuro, em relação a 25°C. Observa-se também que, tanto na luz como no escuro, houve um aumento na germinação à medida que se elevava a temperatura até 25°C.

As temperaturas de 30 e 35°C reduziram significativamente a viabilidade das sementes, conforme dados apresentados na Tab. 5.

Os dados apresentados na Tab. 6, mostram que não houve diferença significativa entre a velocidade de germinação de sementes, quando sob regime de temperaturas alternadas na faixa de 5 a 35°C. A velocidade foi a mesma tanto na luz como no escuro.

Temperaturas alternadas na faixa de 5 a 15°C e a 35°C promoveram a germinação das sementes tanto na luz como no escuro, quando comparadas com temperaturas constantes, nesta mesma faixa (Figs. 4 e 5).

No escuro, as temperaturas alternadas de 5, 10 e 15°C provocaram uma germinação significativamente maior, em relação à alternância 30-25°C. A temperatura de 25°C constante promoveu um aumento significativo na germinação, quando comparada com as alternâncias 20-25°C e 30-25°C.

É observado que, sob condições de luz, há um aumento na germinação até a temperatura de 25°C.

Foi constatado um fotoblastismo negativo quando as sementes foram mantidas em temperaturas alternadas na faixa de 5 a 15°C, alternada com 25°C.

Já em temperaturas alternadas acima de 20°C, estas sementes mostram-se indiferentes à presença de luz.

Tabela 5 - Viabilidade de sementes de *Beta vulgaris* mantidas em diferentes temperaturas constantes, na luz e no escuro

Temperatura (°C)	Viabilidade (arc sen $\sqrt{p}$ )	
	luz	escuro
5	70,63a*	70,63a*
10	73,05a	74,11a
15	76,44a	75,82a
20	74,11a	74,11a
25	69,30a	77,08a
30	56,79b	59,02b
35	46,72c	48,16c

\* Vide nota de rodapé da Tabela 3.

Tabela 6 - Efeito de temperaturas alternadas na velocidade de germinação de sementes de *Beta vulgaris*, na luz e no escuro

Temperatura (°C)	Tempo médio de germinação (dias)	
	luz	escuro
5-25	7,6a	8,9a
10-25	9,3a	7,6a
15-25	7,9a	5,6a
20-25	8,2a	5,6a
25-25	6,7a	5,1a
30-25	6,3a	4,0a
35-25	5,8a	3,8a



Quando submetidos às combinações de temperaturas de 30-25°C e 35-25°C, as sementes apresentaram uma redução significativa na viabilidade, tanto na luz como no escuro (Tab. 7).

### 2.3. Efeito de choques de temperatura

Os efeitos de choques de temperatura de 5°C e 45°C com diferentes durações, em sementes previamente embebidas por 24 horas, na luz e no escuro, são apresentados a seguir.

Analisando os dados apresentados na Tab. 8, verifica-se que a velocidade de germinação foi a mesma em qualquer período de choque de temperatura baixa testado. Observa-se também, que não houve efeito de luz na velocidade de germinação de sementes de beterraba açucareira submetidas a este tratamento.

Através dos resultados apresentados na Fig. 6, é notado que não houve efeito de luz em qualquer que fosse o período de choque de temperatura baixa (5°C). Foi observado que na luz não houve diferença na germinação em nenhum dos períodos de choques. Já em relação aos tratamentos mantidos no escuro, verifica-se que a germinação das sementes submetidas aos choques com duração de 6 e 24 horas foi significativamente maior que as das sementes com choque de 1 hora ou do controle.

Os resultados apresentados na Tab. 9 mostram que não houve efeito de choques de temperatura alta (45°C) na velocidade de germinação das sementes desta espécie. Nota-se também, que a velocidade não foi alterada pela presença ou ausência de luz.

Constata-se, através dos resultados apresentados na

Tabela 7 - Viabilidade de sementes de *Beta vulgaris*  
 mantidas em diferentes temperaturas al  
 ternadas, na luz e no escuro

Temperatura (°C)	Viabilidade (arc sen $\sqrt{p}$ )	
	luz	escuro
5-25	75,23a*	79,22a*
10-25	74,11a	77,75a
15-25	74,66a	79,22a
20-25	74,11a	70,18a
25-25	72,54a	77,08a
30-25	59,02b	57,42b
35-25	51,35b	48,16c

\* Vide nota de rodapé da Tabela 3.

Tabela 8 - Efeito de choques de temperatura baixa (5°C) com diferentes durações, na velocidade de germinação de sementes de *Beta vulgaris*, na luz e no escuro

duração do choque (horas)	tempo médio de germinação (dias)	
	luz	escuro
0	6,9a	6,4a
1	7,9a	6,1a
6	7,2a	7,0a
24	6,8a	6,4a

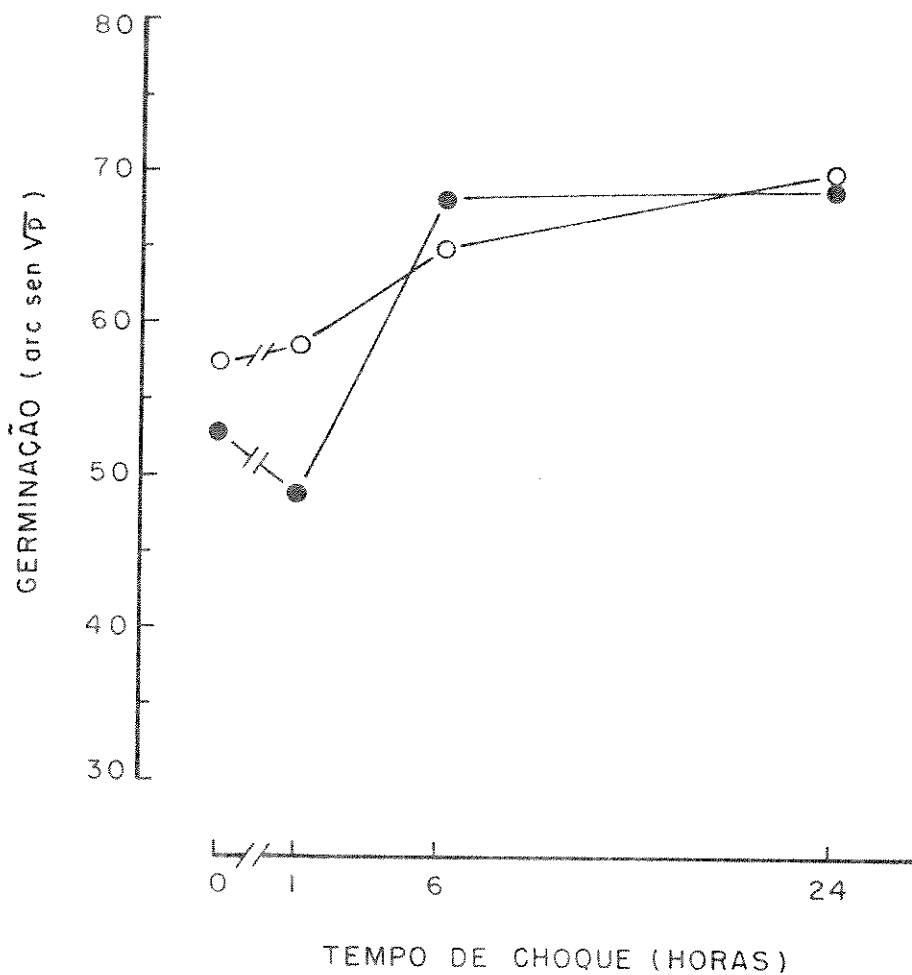


Figura 6 - Efeito do choque de temperatura ( $5^{\circ}\text{C}$ ) na germinação de sementes de *Beta vulgaris*.

○ - luz                      ● - escuro

DMS tem o valor, em ângulo, para o efeito de diferentes tempos de choque de temperatura, de 14 e para efeito de luz, nenhuma diferença é significativa.



Tabela 9 - Efeito de choques de temperatura alta (45°C), com diferentes durações, na luz e no escuro, na velocidade de germinação de sementes de *Beta vulgaris*

duração do choque (horas)	Tempo médio de germinação (dias)	
	luz	escuro
0	6,9a	6,4a
1	7,6a	8,3a
6	6,6a	8,1a
24	6,9a	8,0a

Fig. 7, que não houve efeito de luz em nenhum dos períodos de choques testados. Verifica-se que tanto na luz como no escuro não houve diferença entre a germinação do controle e de 1 hora de choque de temperatura alta. Entretanto, choques com duração de 6 a 24 horas reduziram significativamente a germinação quando comparados com o controle (25°C constante), sendo que 24 horas de choque reduziu significativamente a germinação em relação à redução causada pelo tratamento de 6 horas de choques. Não houve diferença significativa entre a germinação das sementes submetidas a choques com duração de 1 a 6 horas.

Analisando a Tab. 10, verifica-se que a viabilidade das sementes foi significativamente reduzida pelo choque de temperatura de 45°C, sendo que o efeito era maior à medida que se aumentava a duração do choque. O choque de temperatura baixa (5°C) não reduziu a viabilidade das sementes em nenhum período testado.

### 3. Influência da Posição da Semente

A posição em que se coloca a semente não tratada em contacto com o papel de filtro, tem efeito na germinação de sementes de beterraba açucareira, conforme resultados apresentados na Fig. 8. Observa-se que durante todo o período experimental a taxa de germinação das sementes colocadas com o poro basal livre (posição A) foi evidentemente maior do que a das colocadas com o opérculo livre (posição B). Não houve redução da viabilidade em nenhum dos tratamentos tratados (Tab. 11).

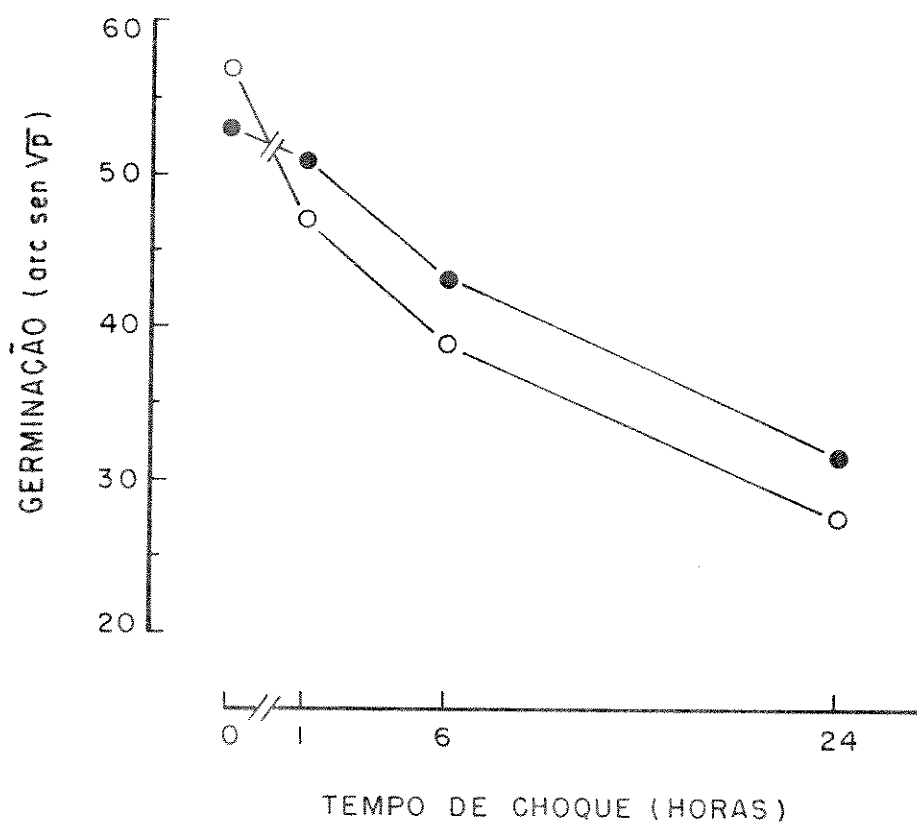


Figura 7 - Efeito do choque de temperatura ( $45^{\circ}\text{C}$ ) na germinação de sementes de *Beta vulgaris*.

○ - luz      ● - escuro

DMS, tem o valor, em ângulo, para o efeito de diferentes tempos de choque de temperatura de 10 e para efeito de luz, nenhuma diferença é significativa.

Tabela 10 - Viabilidade de sementes de *Beta vulgaris* submetidas a choques de temperatura ( 5 e 45°C), e colocadas para germinar a 25°C, na luz e no escuro

duração do choque (horas)	Viabilidade (arc sen $\sqrt{p}$ )			
	luz		escuro	
	5°C	45°C	5°C	45°C
0	78,46 a 78,46a*	75,82 a 75,82a*	75,82 a 75,82a*	75,82 a 75,82a*
1	77,08 a 65,65ab	65,65ab	75,82 a 63,79ab	63,79ab
6	73,57 a 53,73bc	53,73bc	75,82 a 53,13bc	53,13bc
24	75,82 a 46,72c	46,72c	74,11 a 40,98c	40,98c

\* Vide nota de rodapé da Tabela 3.

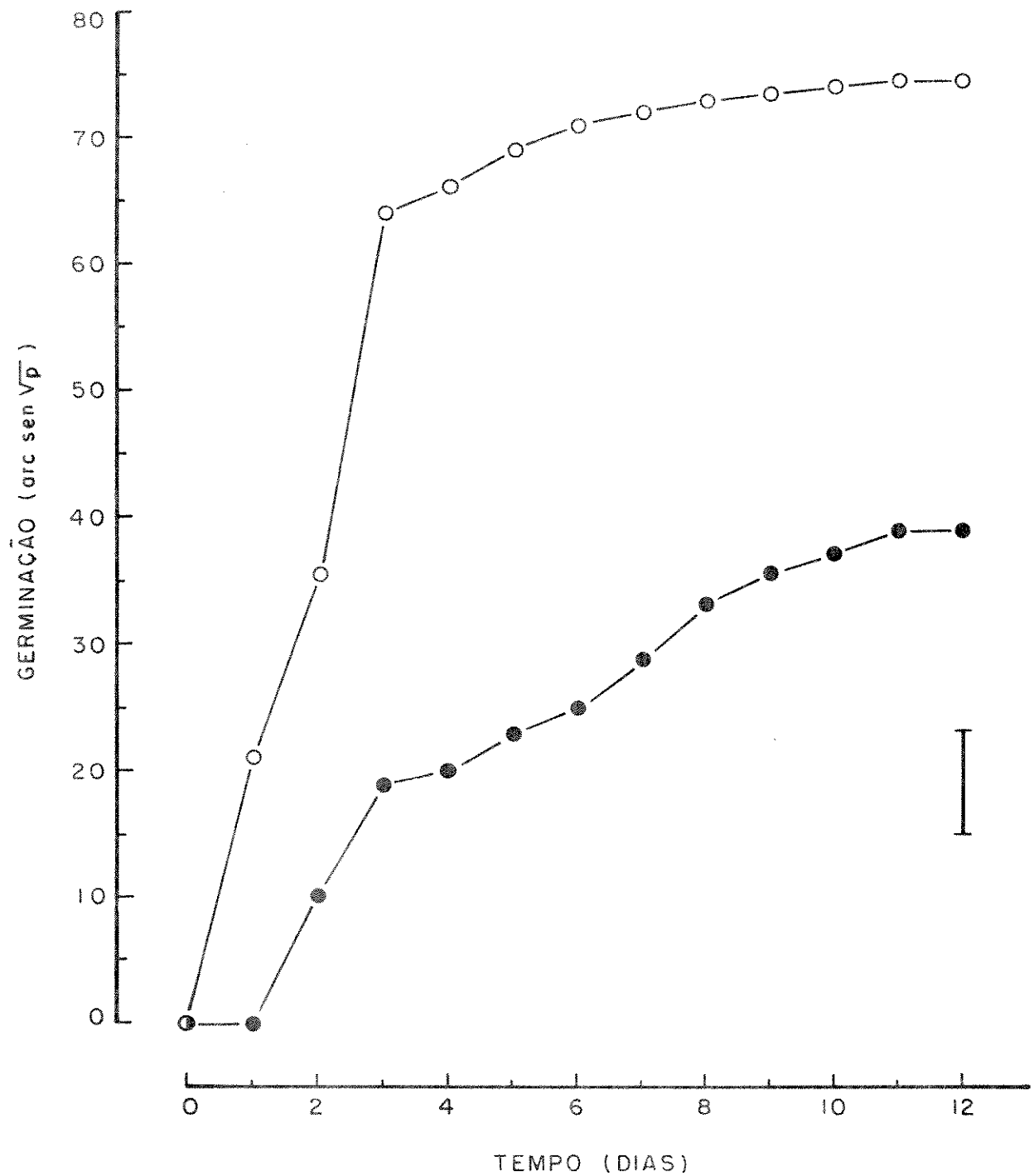


Figura 8 - Efeito da posição da semente de *Beta vulgaris* na germinação da mesma, no escuro a 25°C.

símbolos claros - posição A

símbolos cheios - posição B

Tabela 11 - Viabilidade de sementes de *Beta vulgaris*, colocadas para germinar em duas posições, no escuro a 25°C

Tratamento	Viabilidade (arc sen $\sqrt{p}$ )
Posição A	78,5a*
Posição B	73,0a

\* Vide nota de rodapé da Tabela 2.

#### 4. Efeito da Escarificação Química

##### 4.1. Influência da escarificação química na germinação de sementes mantidas em diferentes posições

Os resultados apresentados na Fig. 9 permitem afirmar que há influência da escarificação química (60 minutos em ácido sulfúrico concentrado) sobre a posição em que se coloca a semente para germinar.

Analisando os resultados, verifica-se que até o 4º dia a germinação de sementes não escarificadas foi semelhante a de sementes escarificadas quimicamente, tanto na posição A como na posição B. Entretanto, a partir do 5º dia, as sementes escarificadas colocadas na posição B (poro basal em contacto com o papel de filtro), apresentaram maior germinação do que sementes do controle colocadas na posição A (poro basal livre). A germinação só foi maior que a das sementes do controle, nesta mesma posição, no final do período experimental, ou seja, em torno do 9º dia. Também é observado que, durante todo o tempo, sementes não lavadas, colocadas para germinar na posição A apresentaram germinação maior do que a das colocadas na posição B. É constatado que a escarificação química elimina o efeito de posição, já que não houve diferença entre a germinação de sementes submetidas a este tratamento, quando colocadas com o poro basal livre ou em contacto com o papel de filtro.

##### 4.2. Efeito de diferentes tempos de escarificação química

Após serem escarificadas quimicamente com ácido sulfú

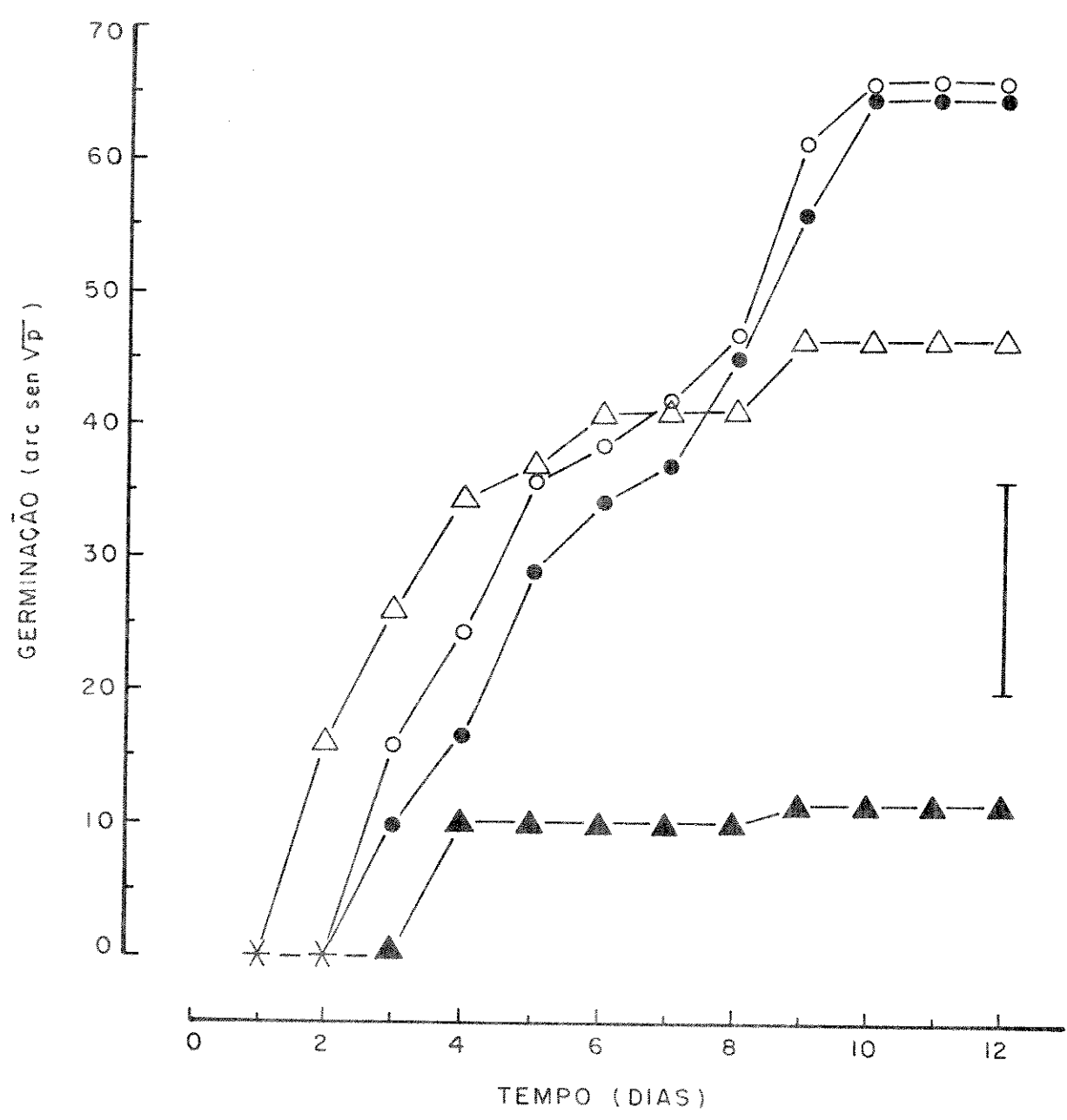


Figura 9 - Influência da posição da semente de *Beta vulgaris* e da escarificação química, na germinação, na luz a 25°C.

- Δ - controle seco
- - escarificada
- \* - pontos coincidentes
- símbolos claros - posição A
- símbolos cheios - posição B



rico concentrado, as sementes são lavadas durante 3 horas em água corrente, para remoção do ácido. Sendo assim, como controle foram utilizadas sementes lavadas em água corrente pelo mesmo período.

A Fig. 10 mostra os resultados de germinação de sementes escarificadas com ácido sulfúrico concentrado durante diferentes períodos de tempo. A análise desta figura, mostra que a escarificação química não promoveu a germinação em nenhum dos períodos testados. Como a germinação das sementes escarificadas quimicamente durante 5 minutos foi praticamente igual à do controle, foi verificado outra vez o efeito da escarificação química durante 5 e 120 minutos. Novamente não houve diferença significativa entre a germinação do controle e a dos demais tratamentos, sendo que a germinação das sementes escarificadas durante 5 minutos foi exatamente igual à do controle (Fig. 11).

O resultado do teste de tetrazólio das sementes escarificadas que não germinaram, mostra que os tratamentos não alteraram a viabilidade das sementes, exceto quando o tratamento foi feito por período mais prolongado, já que a escarificação química durante 120 minutos proporcionou um aumento na porcentagem de sementes mortas, conforme mostram os dados apresentados na Tab. 12.

Como foi mostrado que a escarificação química elimina o efeito da posição da semente e uma vez que este efeito promotor da germinação desapareceu quando as sementes controle foram lavadas em água corrente, tentou-se verificar se este efeito obtido com a escarificação química era devido realmente a este tratamento ou se devia à lavagem feita para remoção do ácido sulfúrico

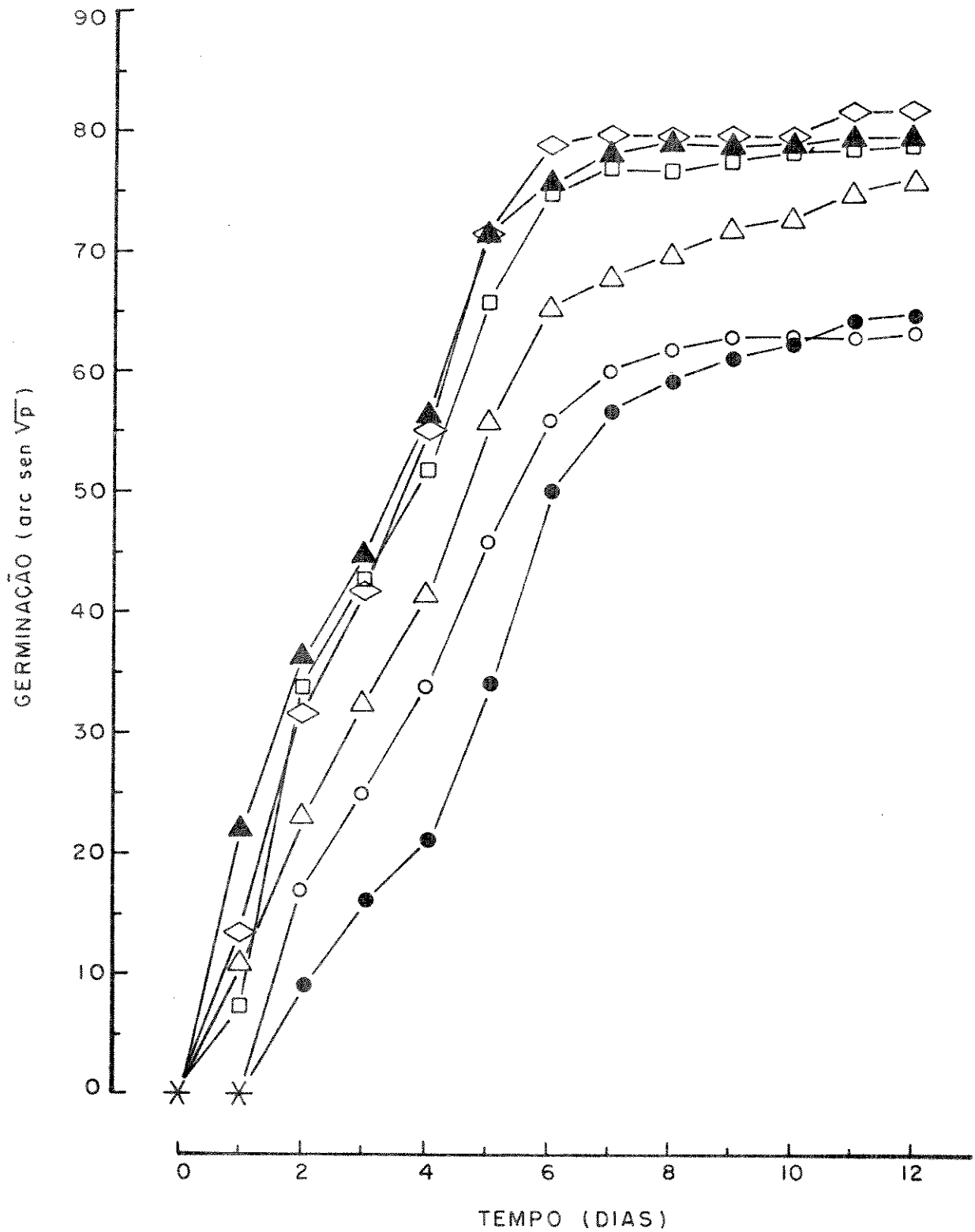


Figura 10 - Influência da escarificação química na germinação, na luz a 25°C

- - controle (lav. -3 h)      \* - pontos coincidentes  
 ● - 5 min.      △ - 15 min.      □ - 30 min.  
 ◇ - 60 min.      ▲ - 120 min.

- não houve diferença significativa entre os tratamentos.

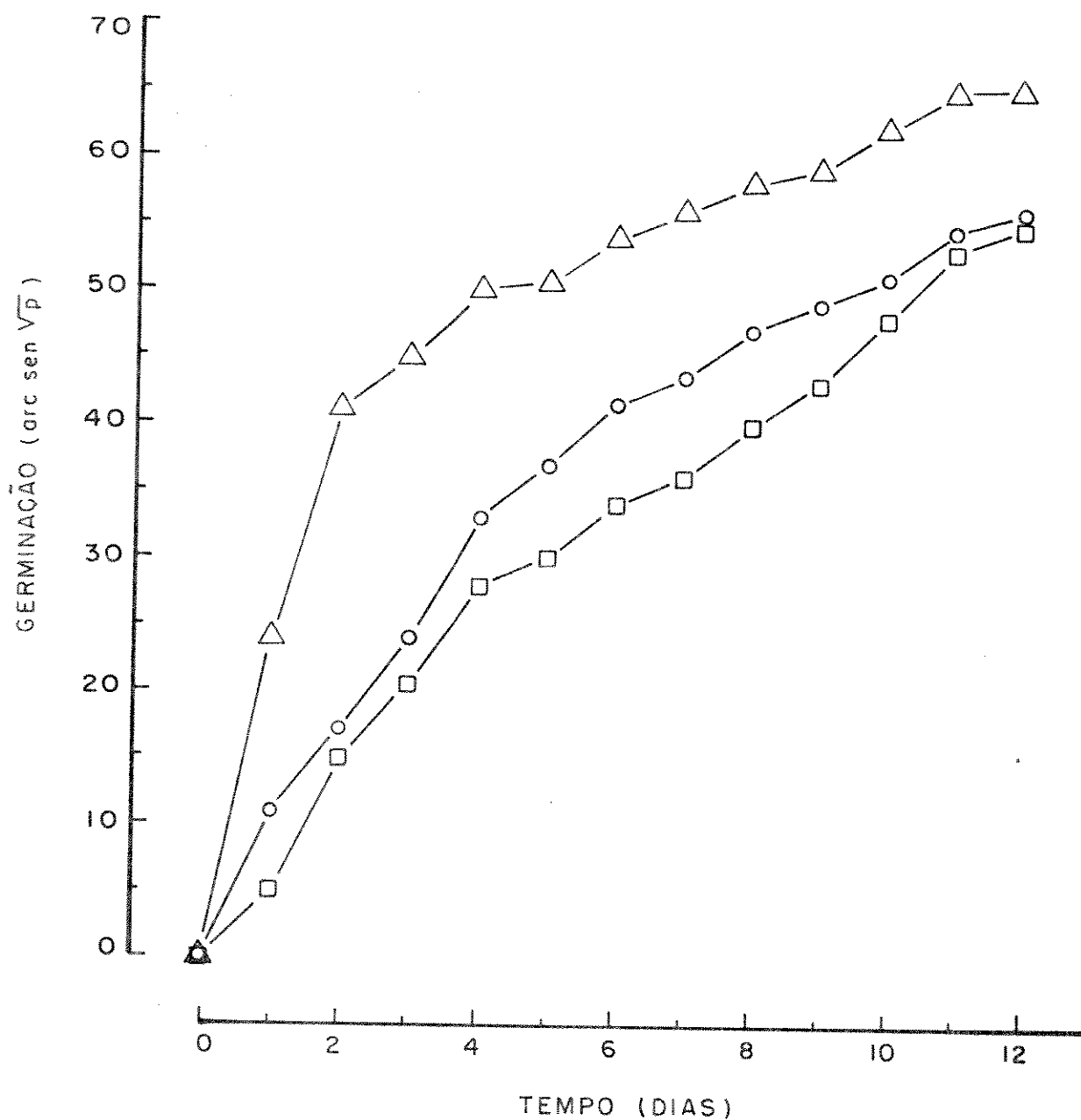


Figura 11 - Influência da escarificação química na germinação, na luz a 25°C.

○ - controle (láv. - 3 h)

□ - escarificada 5 min.

△ - escarificada 120 min.

- não houve diferença significativa entre os tratamentos.

Tabela 12 - Viabilidade de sementes de *Beta vulgaris* submetidas à escarificação química com ácido sulfúrico por diferentes tempos e depois mantidas na luz a 25°C

Tratamento	Viabilidade (arc sen $\sqrt{p}$ )	
	Exp.1	Exp.II
Controle	75,23a*	72,05a*
5 min.	74,66a	77,08a
15 min.	77,75a	-
30 min.	74,11a	-
60 min.	72,54a	-
120 min.	55,44b	54,33b

\* Vide nota de rodapé da Tabela 3.

concentrado. Baseando-se nos resultados apresentados na Fig. 12, pode-se afirmar que realmente não há diferença entre escarificar quimicamente (60 min, em ácido sulfúrico concentrado) ou lavar em água corrente, pois a germinação das sementes submetidas a estes dois tratamentos foi a mesma, sendo significativamente maior do que a de sementes não tratadas.

A viabilidade das sementes não foi alterada por nenhum dos tratamentos (Tab. 13).

#### 5. Efeito da Lavagem na Germinação de Sementes Mantidas em Diferentes Posições

Verificou-se a influência da lavagem das sementes durante 6 horas sobre o efeito da posição.

Através dos resultados da Fig. 13, observa-se que a lavagem promoveu a germinação, eliminando o efeito da posição, já que sementes lavadas colocadas na posição B (poro basal em contacto com o papel de filtro), tiveram a germinação igual a de sementes colocadas na posição A (poro basal livre), durante todo o período experimental. Quando se compara a germinação de sementes lavadas com a de sementes não lavadas, colocadas na posição A, verifica-se que durante todo o período experimental as diferenças não são grandes, sendo estatisticamente significativas no final do experimento (12º dia). Novamente foi confirmado o efeito de posição, desde que sementes não lavadas colocadas na posição A, germinaram significativamente mais do que sementes não lavadas mantidas na posição B.

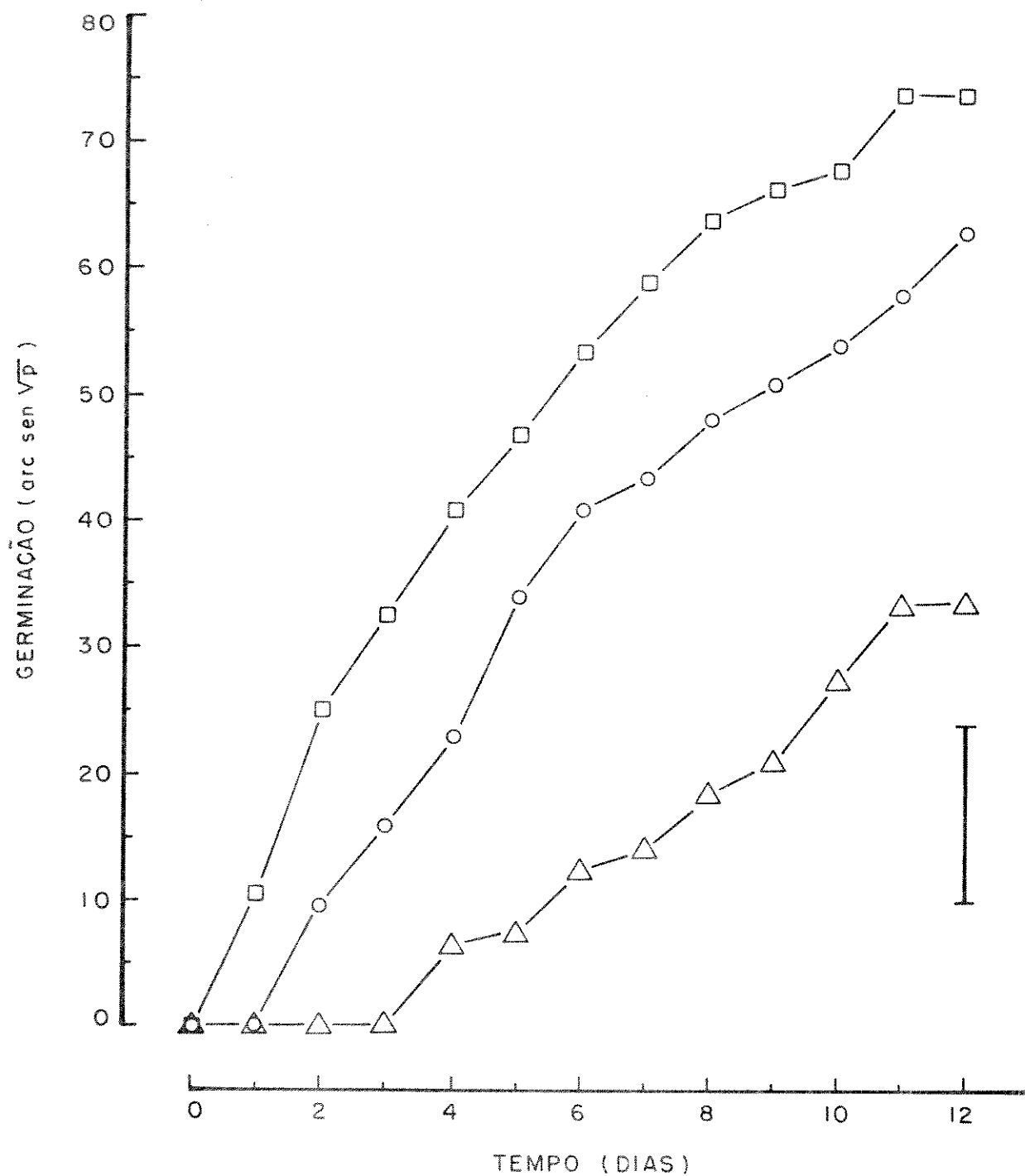


Figura 12 - Influência da escarificação química e da lavagem na germinação de sementes, na posição B, no escuro a 25°C.

Δ - seca                      □ - escarificada                      ○ - lavada

Tabela 13 - Viabilidade de sementes de *Beta vulgaris* lavadas (3 horas) ou escarificadas quimicamente com ácido sulfúrico concentrado e depois mantidas no escuro a 25°C, na posição B

Tratamento	Viabilidade (arc sen $\sqrt{p}$ )
não tratada	73,05a*
lavada	74,66a
escarificada	75,23a

\* Vide nota de rodapé da Tabela 3.

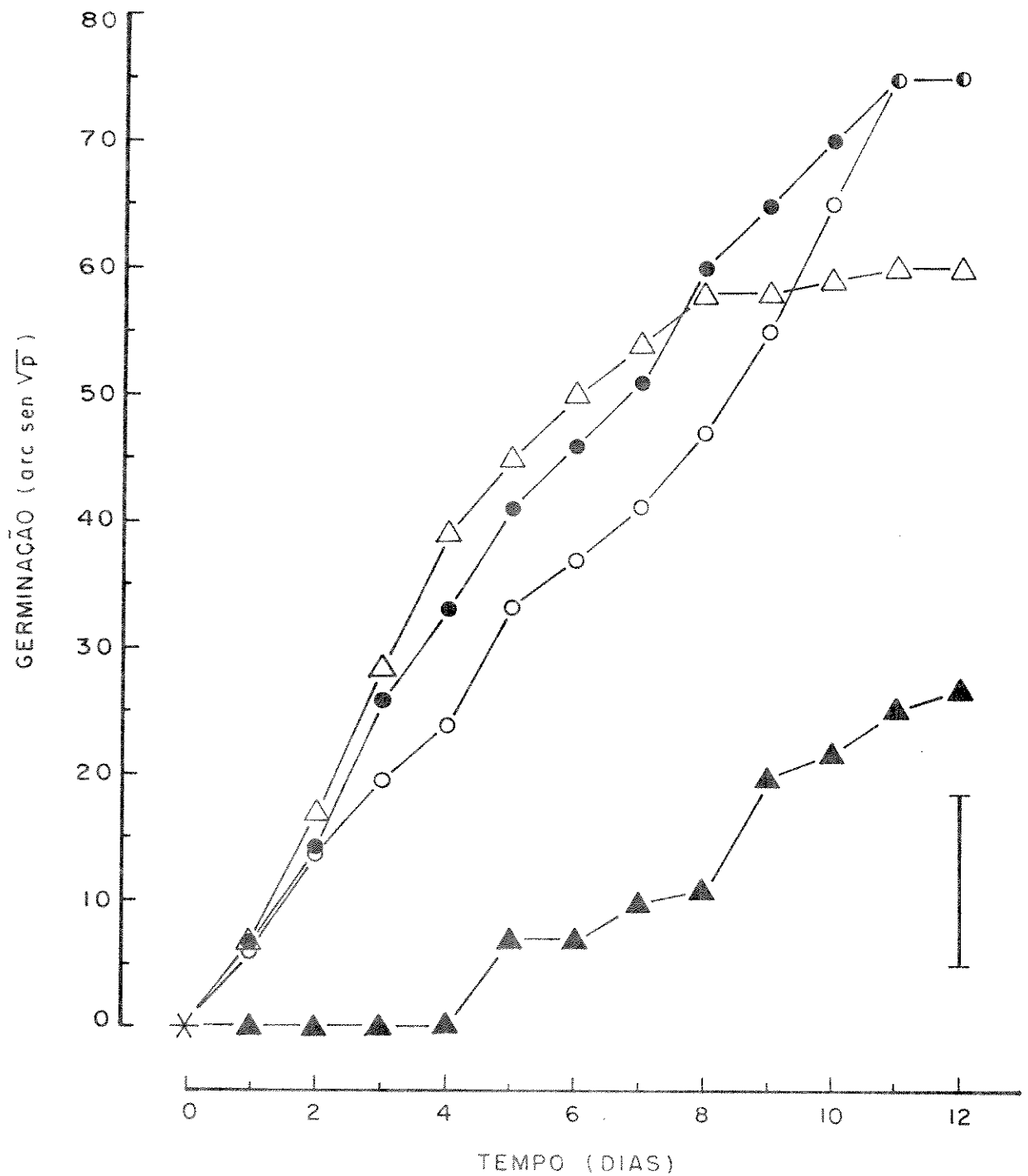


Figura 13 - Efeito da lavagem intermitente e da posição da semente na germinação, no escuro a 25°C.

$\Delta$  - controle (não lavada)

$\circ$  - lavadas

\* - pontos coincidentes

símbolos claros - posição A

símbolos cheios - posição B



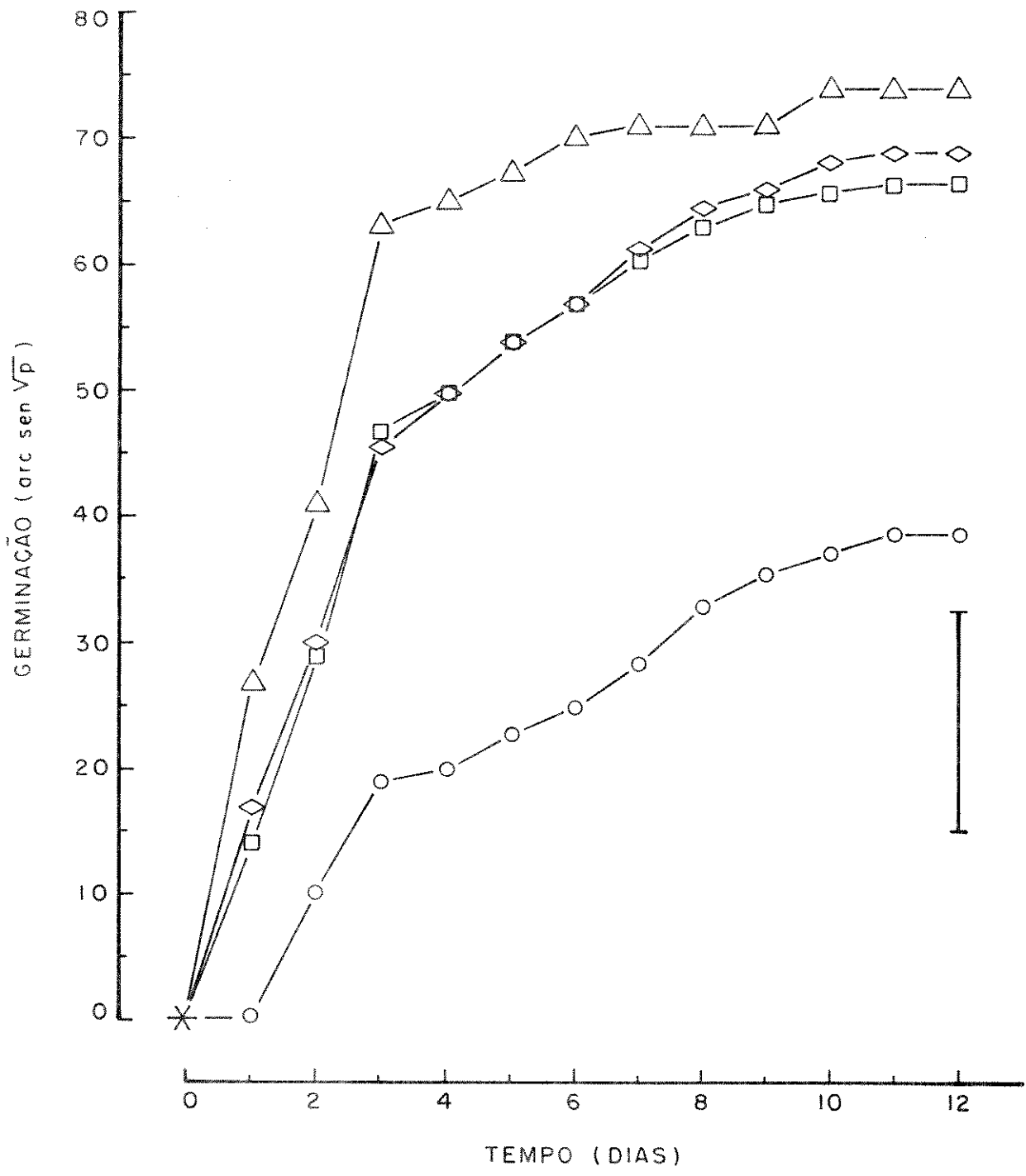


Figura 14 - Efeito da escarificação mecânica na germinação de sementes na posição B, no escuro a 25°C.

- - controle
- △ - escarificada 4 min.
- - escarificada 7 min.
- ◇ - escarificada 10 min.
- \* - pontos coincidentes

Através dos dados apresentados na Tab. 14, observa-se que a viabilidade não foi reduzida por nenhum tratamento.

#### 6. Efeito da Escarificação Mecânica

Através de resultados preliminares com dois minutos de esscarificação mecânica, foi observado que não houve diferença significativa entre este tratamento e o controle (semente não esscarificada na posição B), cujos resultados foram, em valor angular, 44.54 e 22.79, respectivamente.

Sendo assim, foi ampliado o tempo de esscarificação para 4, 7 e 10 minutos e os resultados são apresentados na Fig. 14. Observa-se que a esscarificação mecânica, em qualquer período de tempo testado, promoveu significativamente a germinação quando comparada com o controle, não havendo entretanto, diferença entre a germinação de sementes esscarificadas por 4, 7 e 10 minutos.

Pelos resultados mostrados na Tab. 15, verifica-se que a esscarificação mecânica, mesmo no período mais prolongado, não reduziu a viabilidade das sementes.

#### 7. Efeito da Lavagem no Nível de Substâncias Endógenas

Como a lavagem promoveu a germinação, foi feita extração de substâncias endógenas das sementes a fim de verificar se

Tabela 14 - Viabilidade de sementes de *Beta vulgaris*, lavadas intermitentemente (6 horas) e depois colocadas para germinar no escuro, a 25°C, em duas posições

Tratamento	Posição	Viabilidade (arc sen $\sqrt{p}$ )
Controle	A	77,08a*
	B	72,54a
Lavada	A	74,11a
	B	79,22a

\* Vide nota de rodapé da Tabela 2.

Tabela 15 - Viabilidade de sementes de *Beta vulgaris* submetidas à escarificação mecânica, durante 4, 7 e 10 minutos

Tempo de escarificação (minutos)	Viabilidade (arc sen $\sqrt{p}$ )
0 (controle)	73,05a*
4	79,86a
7	77,62a
10	76,95a

\* Vide nota de rodapé da Tabela 2.

11

havia algum inibidor da germinação no tegumento das sementes de beterraba açucareira.

### 7.1. Fração ácida

Na Fig. 15 A e B estão representados os resultados obtidos nos biotestes de frações ácidas de extratos de sementes não lavadas ou lavadas intermitentemente durante 6 horas, respectivamente.

Não foi observada em nenhum dos tratamentos atividade gerberelínica, apesar de nas condições utilizadas o bioteste se mostrar sensível na faixa de  $10^{-7}$  a  $10^{-5}$  M, conforme dados apresentados na Fig. 15C. Evidencia-se a presença de inibidores com diferentes mobilidades nestes sistema de solventes, tanto no extrato de sementes não lavadas como no de lavadas.

Agrupando-se esses inibidores em duas faixas (faixa I da origem até o Rf 0,5 e faixa II do Rf 0,5 até Rf 1.0) verifica-se que a inibição que existia em sementes não lavadas continua existindo em sementes lavadas. Entretanto, na faixa II o nível de inibição observado em sementes não lavadas é diminuído com a lavagem, sendo a redução mais marcante na faixa do Rf 0,5-0,6 e na faixa de Rf 0,9-1,0, não havendo atividade inibidora significativa nestas faixas de Rf.

### 7.2. Fração neutra

Os resultados apresentados na Fig. 16 A e B, relativos

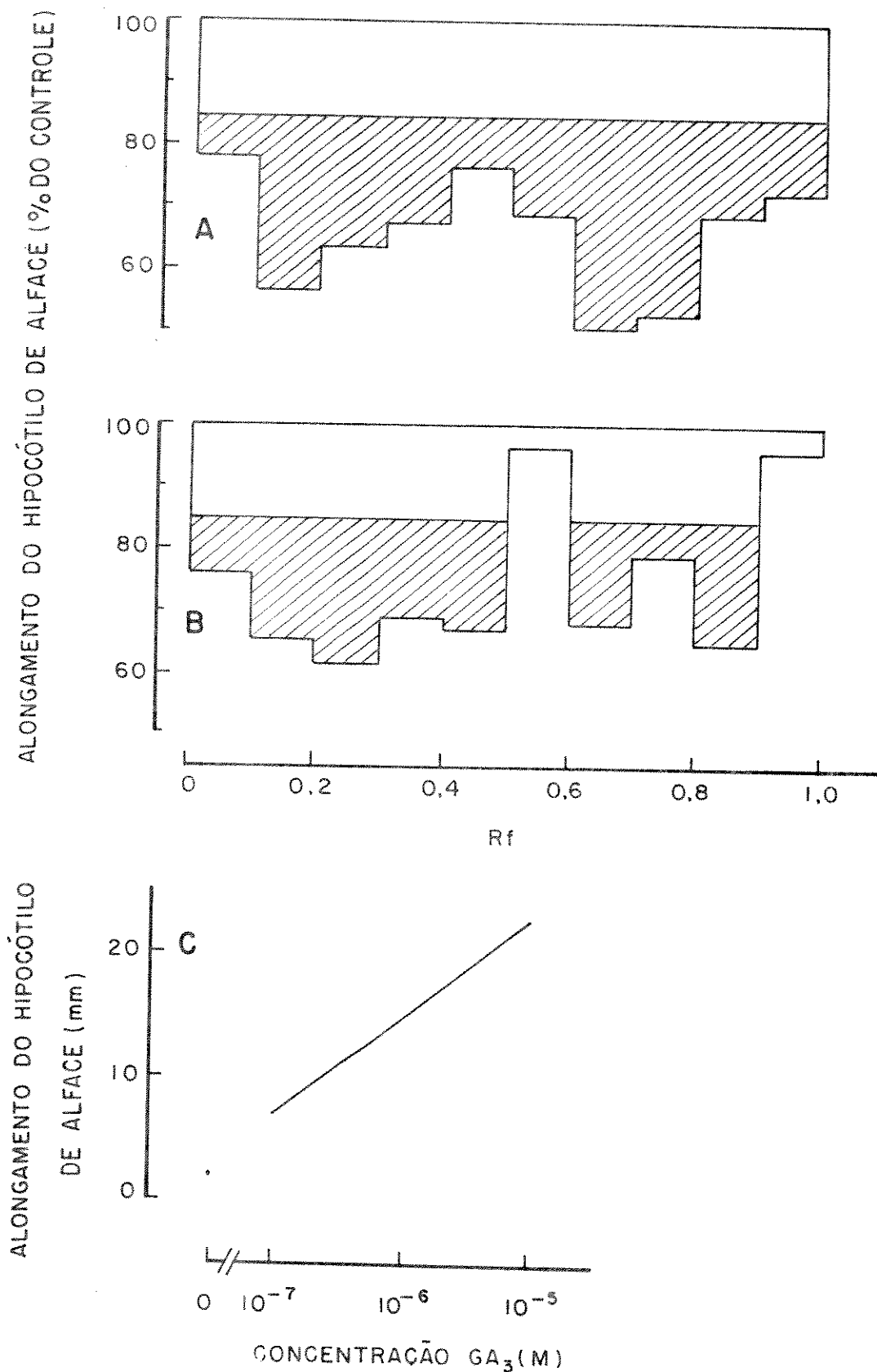


Figura 15 - Substâncias endógenas de crescimento detectadas na fração ácida de extratos de sementes de *Beta vulgaris*. Bioteste do alongamento do hipocótilo de alface. As áreas hachuradas são estatisticamente significativas ao nível de 5%.

A - extrato de sementes não lavadas

B - extrato de sementes lavadas

C - curva padrão de GA<sub>3</sub>

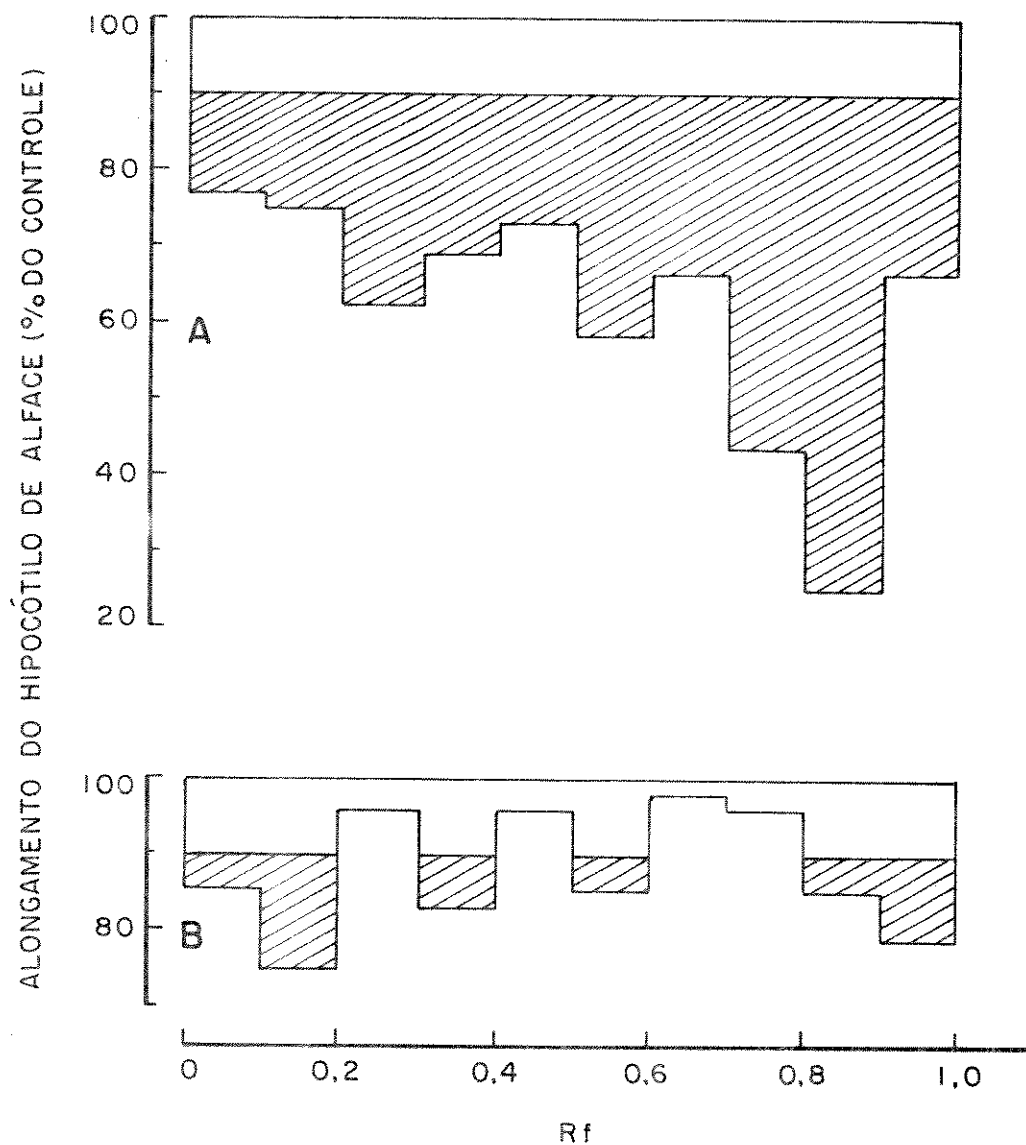


Figura 16 - Substâncias endógenas de crescimento detectadas na fração neutra de extratos de sementes de beterraba açucareira. Bioteste do alongamento do hipocótilo de alface. As áreas hachuradas são estatisticamente significativas no nível de 5%.

A - extrato de sementes não lavadas

B - extrato de sementes lavadas

a biotestes de frações neutras de extratos de sementes não lavadas e lavadas mostram a presença de inibidores nos dois extratos. Entretanto, verifica-se que os altos níveis de inibidores apresentados em extratos de sementes não lavadas são reduzidos sensivelmente quando as sementes são lavadas, ficando em torno de 17% da inibição encontrada em extratos de sementes não lavadas.

#### 8. Efeito de Substâncias Endógenas do Tegumento na Germinação de Sementes de *Beta vulgaris*

Foi verificado o efeito de substâncias inibidoras endógenas de sementes de *Beta vulgaris* extraídas em frações ácida e neutra na germinação da mesma.

Os resultados apresentados na Fig. 17 mostram o efeito das frações ácida e neutra de extrato de sementes não lavadas em diferentes concentrações. Observa-se que os inibidores presentes na fração ácida, detectados pelo bioteste do alongamento do hipocótilo de alface (Fig. 15A), não exercem influência na germinação de sementes de beterraba açucareira, mesmo quando em altas concentrações. Entretanto, os inibidores presentes na fração neutra causam forte inibição na germinação de sementes de beterraba açucareira. Extrato de 1 g de semente já é suficiente para reduzir a germinação, sendo o efeito cada vez mais marcante à medida que se aumenta a concentração do extrato.

Através dos resultados apresentados na Tab. 16, verifica-se que ocorreu apenas redução na germinação, já que a viabili



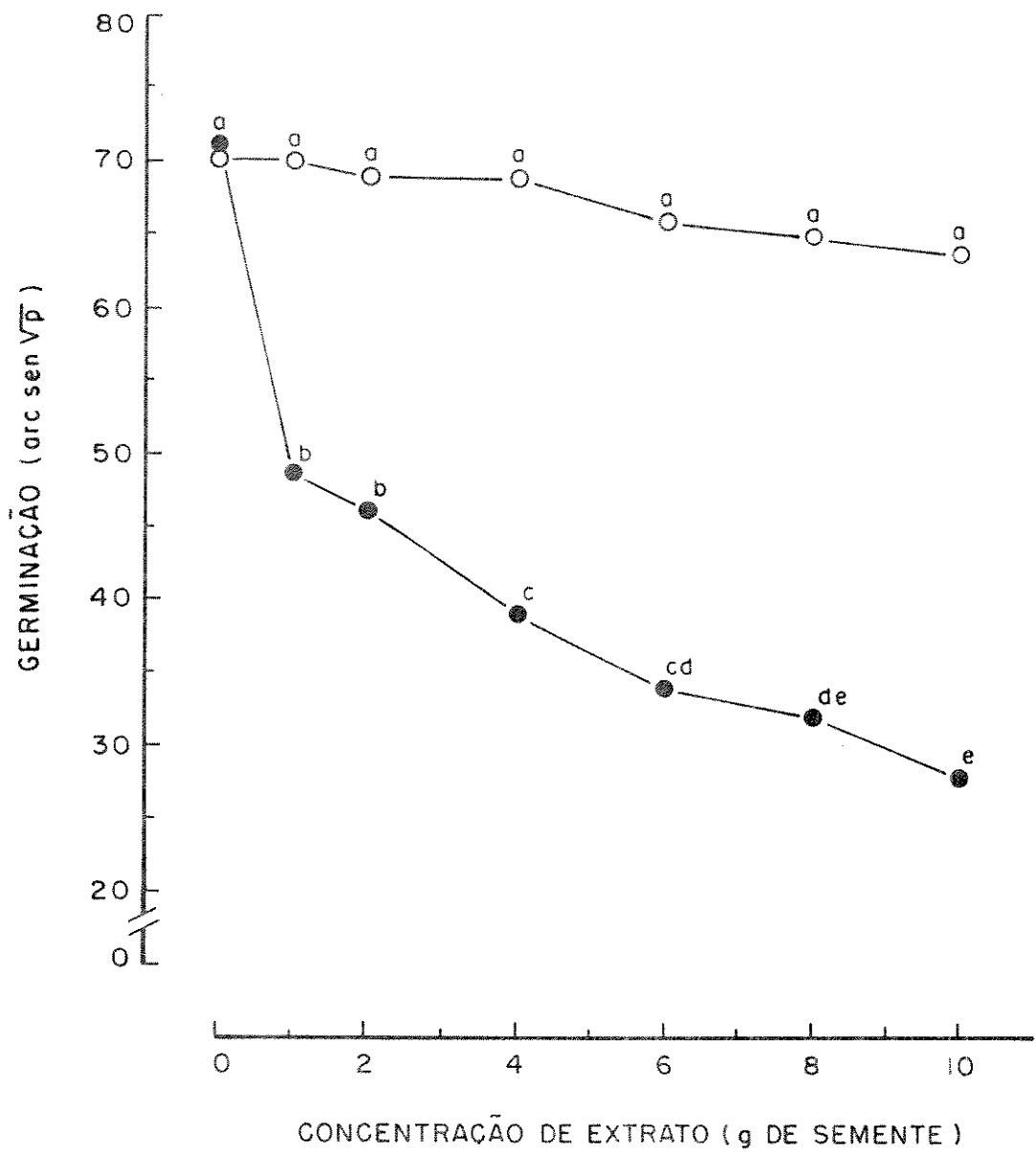


Figura 17 - Efeito da fração ácida e da fração neutra de extrato de sementes de *Beta vulgaris*, na germinação destas sementes, no escuro a 25°C.

- - fração ácida
- - fração neutra

Tabela 16 - Viabilidade de sementes de *Beta vulgaris* germinadas em presença de frações ácida e neutra de extratos destas sementes, no escuro, a 25°C

Concentração do extrato (g de semente)	Viabilidade (arc sen $\sqrt{p}$ )	
	Fração ácida	Fração neutra
0 (controle)	73,57a*	73,57a*
1	76,44a	75,23a
2	77,08a	73,57a
4	78,46a	76,44a
6	80,03a	76,44a
8	80,03a	74,11a
10	77,08a	77,08a

\* Vide nota de rodapé da Tabela 3.

dade das sementes não foi afetada pela presença de extrato em qualquer das concentrações testadas.

#### 9. Influência de Regiões Específicas do Tegumento na Embebição das Sementes

Foi verificado se havia diferença entre a absorção de água pelo poro basal e opérculo.

Através dos resultados apresentados na Fig. 18, observa-se que a velocidade de absorção de água é a mesma,, tanto em sementes colocadas na posição A (poro basal livre) como na posição B (opérculo livre), durante toda a fase de embebição. Nota-se que a velocidade de absorção de água é maior nas primeiras 3 horas de embebição, reduzindo a velocidade até 12 horas quando praticamente se estabiliza a entrada de água para a semente.

#### 10. Influência de Regiões Específicas do Tegumento na Germinação e Trocas Gasosas

Como a posição em que se coloca a semente em contacto com o papel de filtro, influencia a germinação e não exerce efeito na absorção de água, procurou-se verificar o papel de regiões específicas do tegumento nas trocas gasosas.

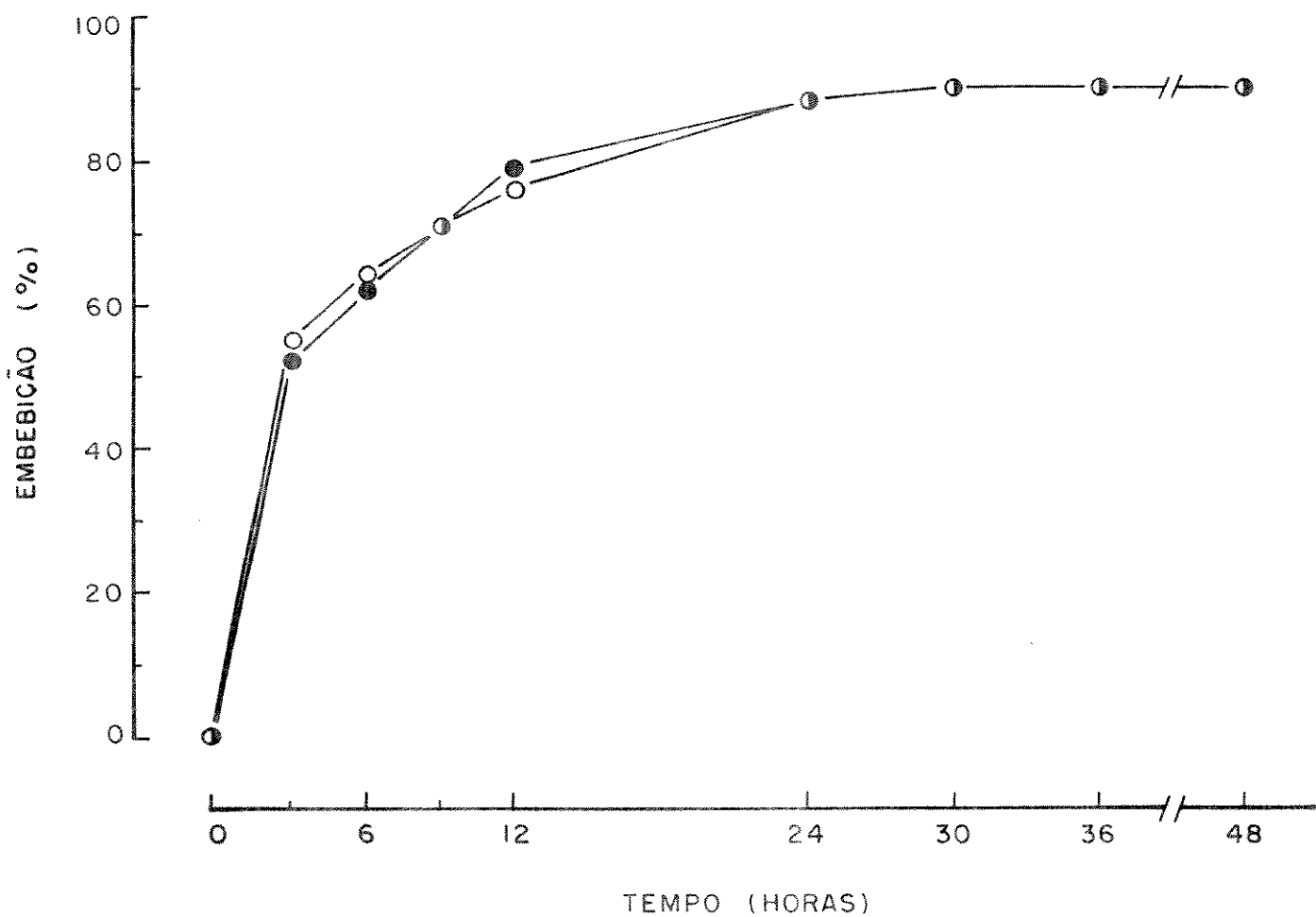


Figura 18 - Influência da posição da semente de *Beta vulgaris* sobre a embebição da mesma a 25°C.

- - posição A
- - posição B

### 10.1. Influência do poro basal

Os resultados apresentados na Fig. 19 mostram que quando se impermeabiliza o poro basal a germinação é significativamente reduzida, qualquer que seja a posição em que se coloca a semente para germinar. Aqui também o efeito de posição de semente é bem caracterizado, já que a germinação de sementes não impermeabilizadas, na posição A, foi significativamente maior que a das colocadas na posição B. Entretanto, o efeito da impermeabilização foi mais acentuado do que o da posição, já que a germinação de sementes impermeabilizadas foi a mesma, qualquer que fosse a posição utilizada.

### 10.2. Influência do opérculo

A impermeabilização do opérculo causa uma redução na germinação, conforme resultados apresentados na Fig. 20, embora esta seja menos acentuada do que a encontrada quando se impermeabiliza o poro basal.

Observa-se que sementes impermeabilizadas no opérculo colocadas para germinar na posição A, apresentam germinação maior do que a de sementes impermeabilizadas ou não, mantidas na posição B.

Sementes colocadas na posição B, impermeabilizadas ou não, apresentaram germinação semelhante durante praticamente todo o período experimental, sendo que no 12º dia as sementes impermeabilizadas apresentaram germinação significativamente menor do que as não impermeabilizadas.

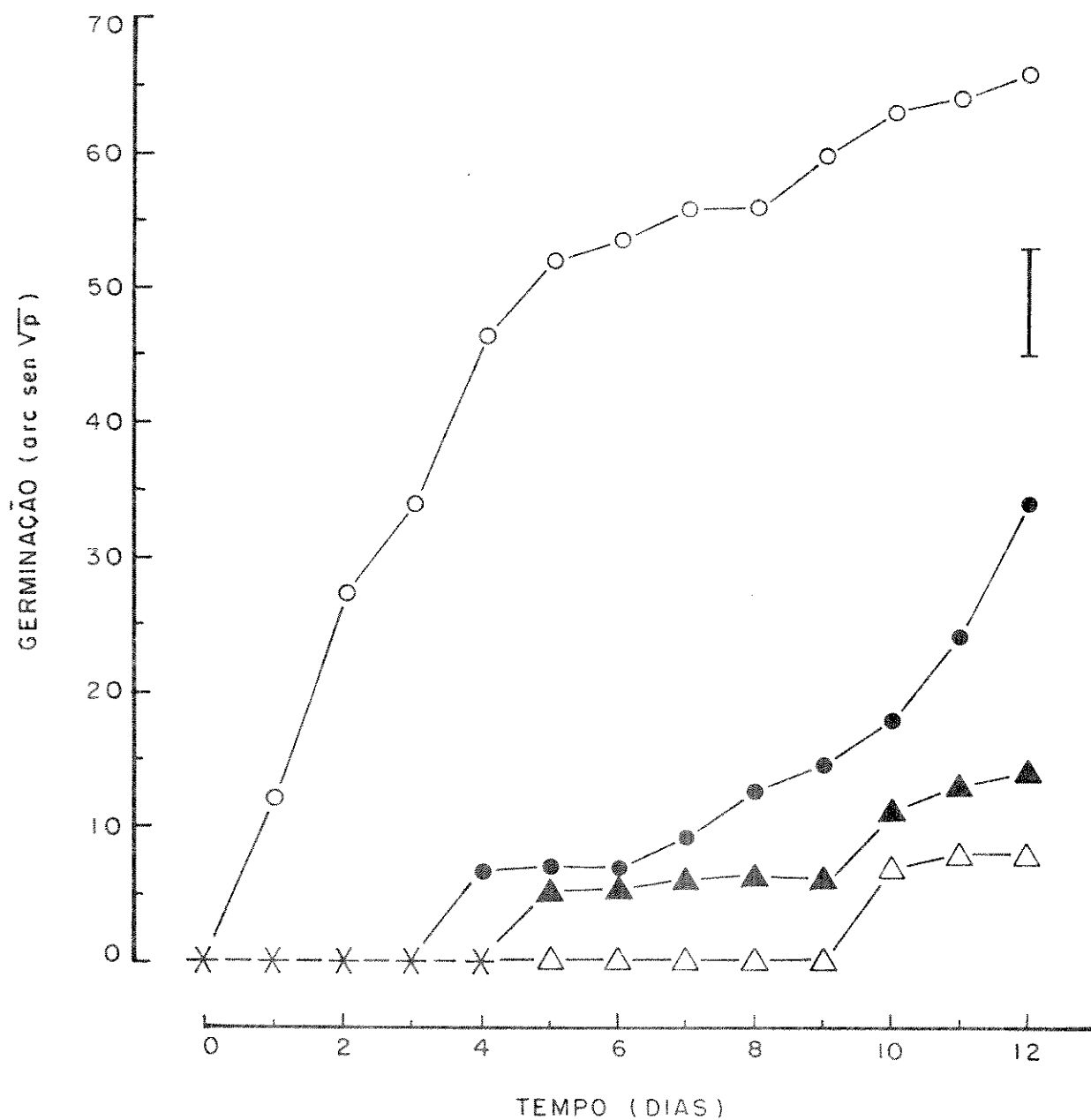


Figura 19 - Efeito da impermeabilização do poro basal na germinação de sementes de *Beta vulgaris* em duas posições , no escuro a 25°C.

- - controle
- △ - impermeabilizada
- \* - pontos coincidentes
- símbolos claros - posição A
- símbolos cheios - posição B

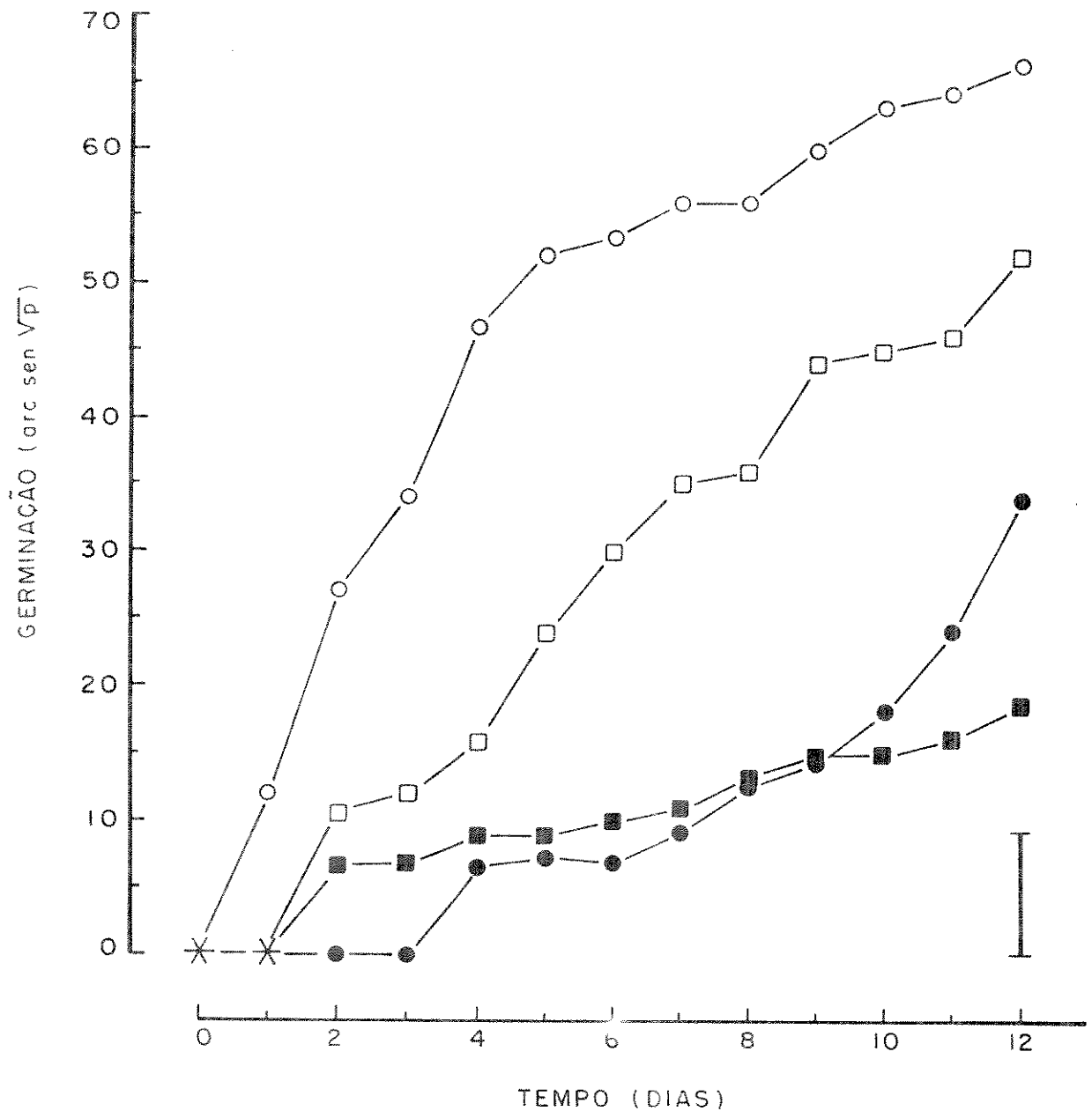


Figura 20 - Efeito da impermeabilização do opérculo e da posição da semente na germinação, no escuro a 25°C.

- - controle
- - impermeabilizada
- \* - pontos coincidentes
- - posição A
- - posição B

Neste caso, o efeito de posição da semente foi mais atuante do que o da impermeabilização, ao contrário do que ocorreu quando se impermeabilizou o poro basal, já que sementes impermeabilizadas ou não, colocadas na posição A, tiveram germinação significativamente maior do que a das sementes submetidas ao mesmo tratamento mantidas na posição B.

A viabilidade das sementes não foi afetada pela impermeabilização com parafina, tanto no poro basal como no opérculo, conforme dados apresentados na Tab. 17.

### 10.3. Estimativa do Consumo de O<sub>2</sub> em Sementes Impermeabilizadas

Sementes impermeabilizadas no poro basal ou no opérculo apresentam respiração reduzida (Fig. 21). Nos primeiros 15 minutos o consumo de oxigênio foi o mesmo em todos os tratamentos porém a partir deste período sementes impermeabilizadas no poro basal tiveram sua respiração reduzida, significativamente quando comparada com as dos demais tratamentos. Já as sementes impermeabilizadas no opérculo tiveram a respiração reduzida somente a partir de 60 minutos, sendo que a redução foi bem menor do que a das ocorridas em sementes impermeabilizadas no poro basal.

Através da Tab. 18, verifica-se que a taxa respiratória das sementes controle foi 3,3 vezes maior do que a das impermeabilizadas no poro basal e 1,4 vezes maior que a das impermeabilizadas no opérculo. As sementes impermeabilizadas no poro basal possuem taxa respiratória 2,4 vezes menor que a das impermeabilizadas no opérculo. Também, através de dados apresentados na Tab. 18, verifica-se que a impermeabilização com parafina não reduz a viabilidade das sementes.



Tabela 17 - Viabilidade de sementes de *Beta vulgaris*, impermeabilizadas no poro basal e no opérculo e colocadas para germinar, em duas posições, no escuro a 25°C

Tratamento	Viabilidade (arc sen $\sqrt{p}$ )	
	Posição A	Posição B
Controle	77,75a*	74,11a*
Imp. no poro basal	74,66a	75,82a
Imp. no opérculo	74,66a	77,08a

\* Vide nota de rodapé da Tabela 3.

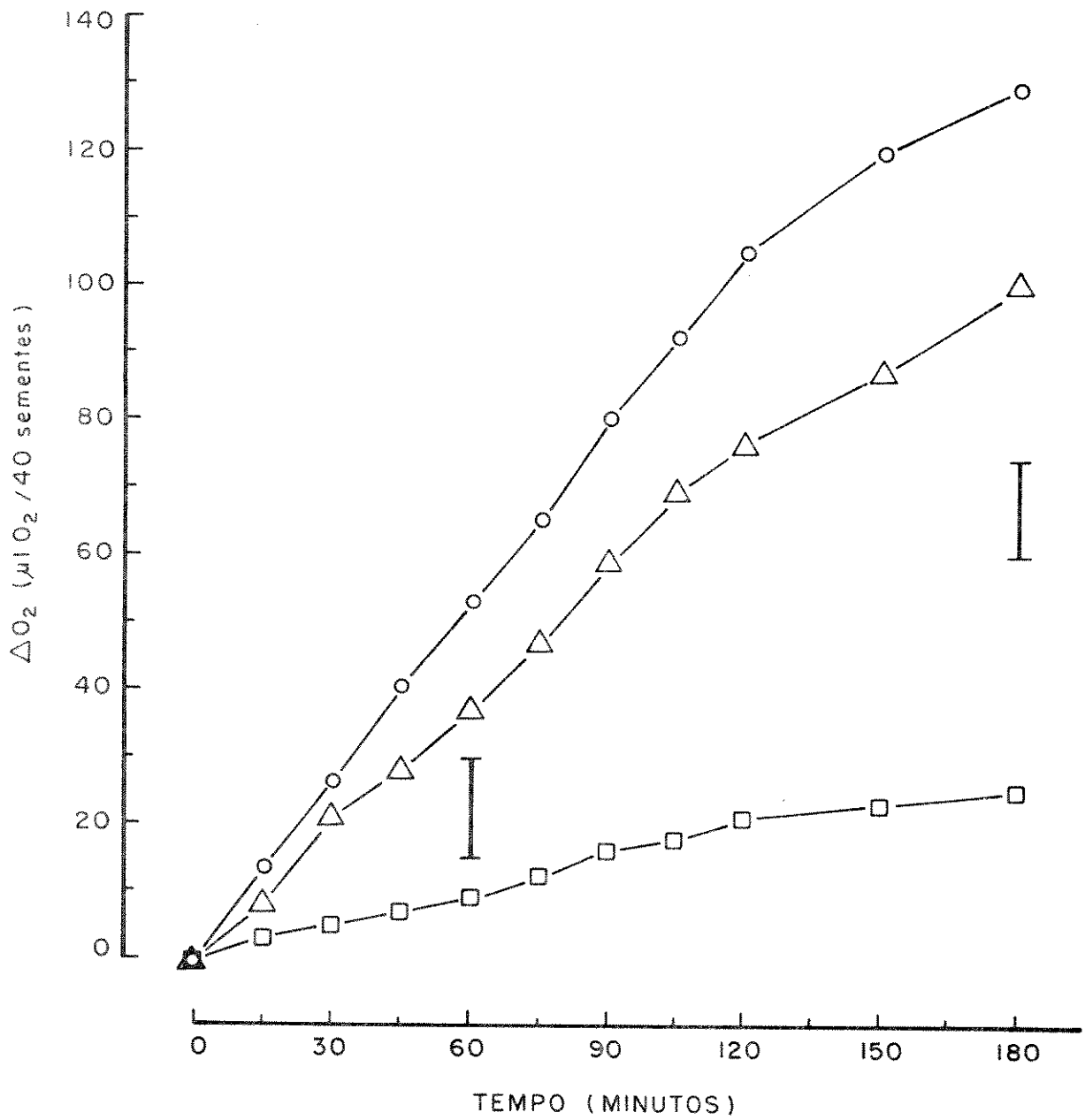


Figura 21 - Efeito da impermeabilização do poro basal e do opérculo na respiração de sementes de *Beta vulgaris*, a 30°C.

○ - controle

□ - imp. poro basal

△ - imp. opérculo

Tabela 18 - Taxa respiratória (durante 120 min) de sementes de *Beta vulgaris*, intactas, impermeabilizadas no opérculo ou poro basal, com 24 horas de embebição.

Tratamento	QO <sub>2</sub> ( $\mu$ lO <sub>2</sub> /40 sementes.min)	Viabilidade (arc sen $\sqrt{p}$ )
Intacta	0,87a*	77,1a*
Imp.opérculo	0,63b	78,8a
Imp.poro basal	0,17c	77,9a

\* Vide nota de rodapé da Tabela 3.

## 11. Influência do Volume de Água

### 11.1. Efeito do volume de água na germinação de sementes em diferentes posições

Através dos resultados apresentados na Fig. 22, verifica-se que o volume de água na caixa gerbox tem influencia sobre o efeito de posição da semente. Observa-se que sementes submetidas ao excesso de água (10 ml), colocadas na posição B, germinam significativamente menos do que as colocadas na posição A com o mesmo volume de água. Já as colocadas com menos volume de água (6 ml) possuem germinação semelhante em qualquer posição testada.

Neste caso, o volume de água teve efeito mais acentuado do que o da posição da semente, já que sementes colocadas em caixas gerbox com 6 ml de água, apresentaram a mesma germinação tanto na posição A como na B. Também sementes colocadas na posição A, em menor volume (6 ml) tiveram germinação significativamente maior do que a das sementes mantidas na mesma posição, em excesso de água (10 ml).

A viabilidade das sementes não foi reduzida quando as mesmas foram mantidas no excesso de água no papel de filtro (Tab. 19).

### 11.2. Efeito do volume de água na germinação em diferentes temperaturas

Foi verificado o efeito de diferentes volumes de água na germinação, nas temperaturas de 25 e 35°C, e os resultados são apresentados nas Figs. 23 e 24.

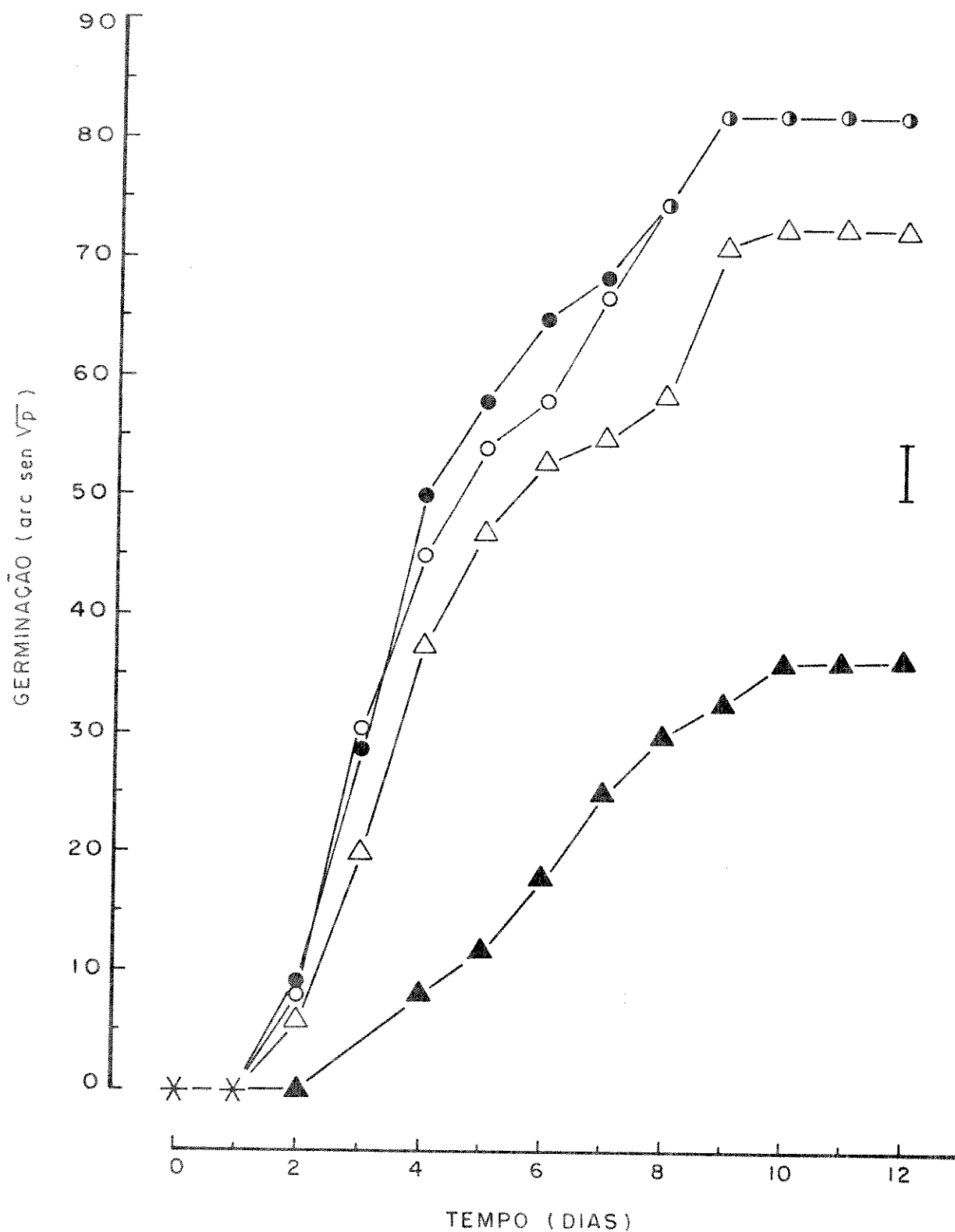


Figura 22 - Influência da posição da semente e do volume de água no papel de filtro, na germinação de *Beta vulgaris*, no es curo a 25°C.

○ - 6 ml.

△ - 10 ml.

\* - pontos coincidentes

símbolos claros - posição A

símbolos cheios - posição B

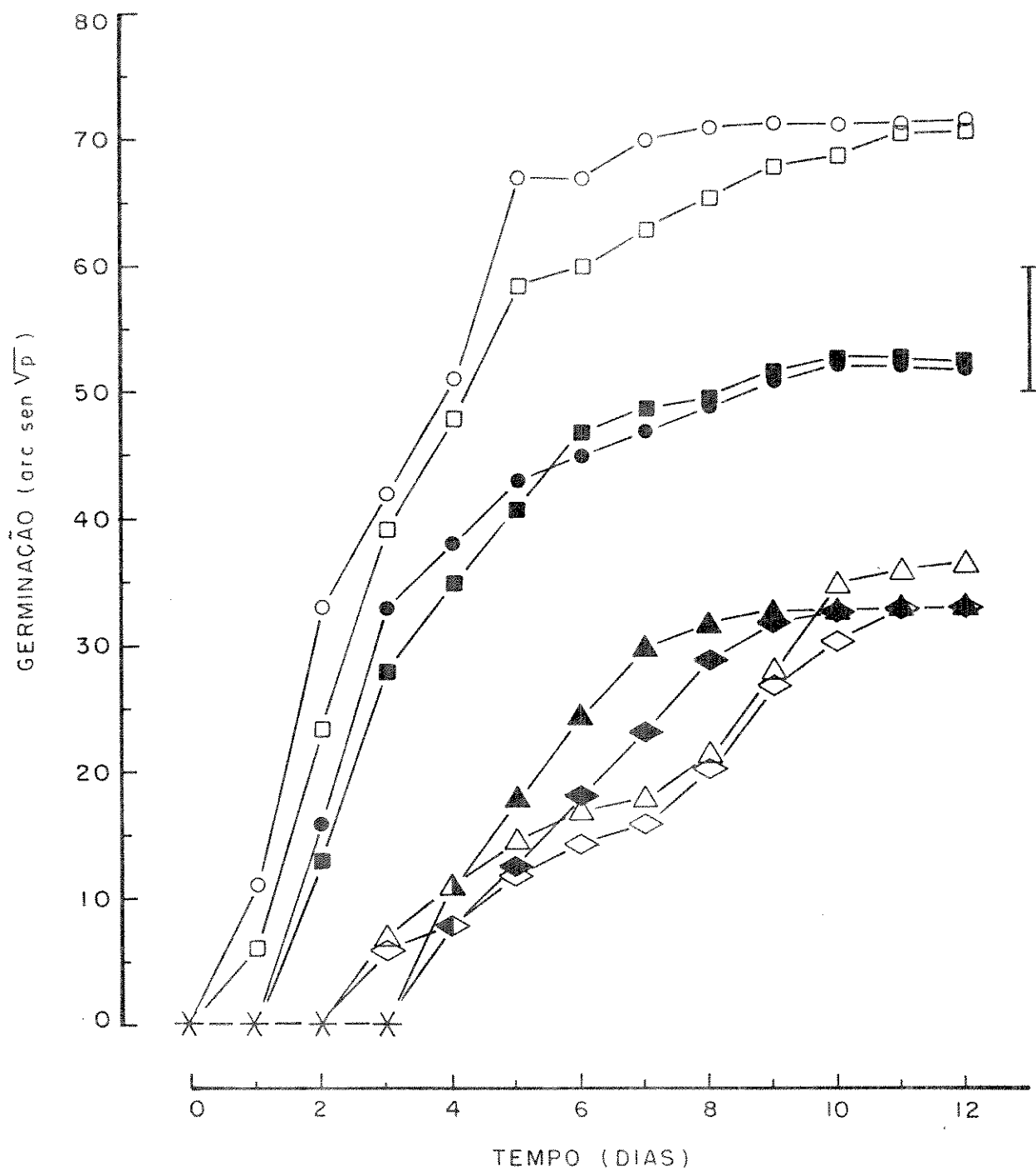


Figura 23 - Efeito do volume de água no papel de filtro, na germinação de sementes de *Beta vulgaris*, no escuro a 25 e 35°C.

- - 5 ml.                      □ - 6 ml.                      △ - 8 ml.  
 ◇ - 10 ml.                      \* - pontos coincidentes  
 símbolos claros - 25°C  
 símbolos cheios - 35°C

Tabela 19 - Viabilidade de sementes de *Beta vulgaris*, colocadas para germinar em papel umedecido com diferentes volumes de água, no escuro a 25°C, em duas posições

Volume de água (ml)	Viabilidade (arc sen $\sqrt{p}$ )	
	Posição A	Posição B
6,0	82,97a*	84,26a
10,0	80,90a	78,46a

\* Vide nota de rodapé da Tabela 3.

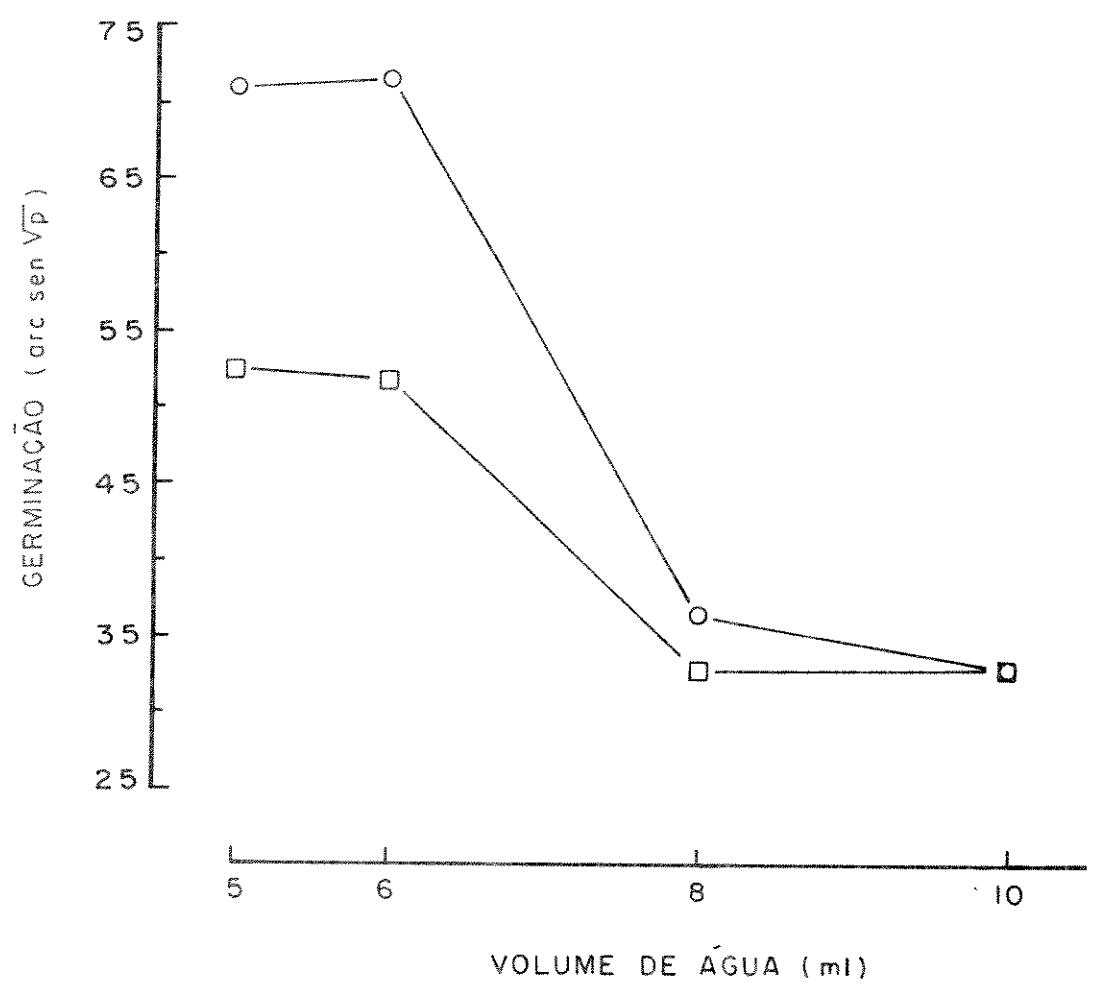


Figura 24 - Influência do volume de água no papel de filtro, na germinação de sementes de *Beta vulgaris*, em duas temperaturas, no escuro, na posição B.

○ - 25°C                      □ - 35°C

DMS, tem o valor, em ângulo, para o efeito de diferentes temperaturas de 5 e para efeito de volume de água de 10.



Através dos resultados apresentados na Fig. 23, observa-se que a 25°C, não houve diferença entre a germinação de sementes mantidas em 5 e 6 ml de água. Não houve também diferença entre a germinação das sementes colocadas para germinar em caixas gerbox com 8 e 10 ml de água. Verificou-se que a germinação das sementes submetidas à condição de pouca disponibilidade de água (5 e 6 ml) foi significativamente maior do que a das expostas à condição de excesso de água (8 e 10 ml).

Constata-se que, quando sob regime de temperatura alta (35°C) o comportamento das sementes em relação ao volume de água foi o mesmo que a 25°C.

Verifica-se também que a germinação a 25°C foi significativamente maior que a 35°C quando as sementes eram submetidas a 5 e 6 ml de água, pois quando sob regime de excesso de água (8 e 10 ml) não houve diferença na germinação (Fig. 24).

A temperatura de 35°C reduziu significativamente o número de sementes viáveis, em qualquer volume de água testado. A 25°C não houve diferença significativa entre a viabilidade das sementes em qualquer volume de água. Para um mesmo volume de água houve redução na viabilidade das sementes mantidas em temperatura alta (35°C) em relação às mantidas a 25°C, mostrando o efeito adverso desta condição do ambiente na germinação de sementes de beterraba açucareira (Tab. 20).

### 11.3. Reversibilidade do efeito inibitório do excesso de água

A fim de verificar se essa inibição pelo excesso de água (10 ml) era reversível, as sementes foram submetidas a essa

Tabela 20 - Viabilidade de sementes de *Beta vulgaris*, mantidas em diferentes volumes de água no papel de filtro, a 25°C a 35°C

Volume de H <sub>2</sub> O (ml)	Viabilidade (arc sen $\sqrt{p}$ )	
	25°C	35°C
5,0	81,28a*	62,38b*
6,0	82,08a	60,00b
8,0	72,54a	47,01c
10,0	75,05a	43,57c

\* Vide nota de rodapé da Tabela 2.

condição por diferentes tempos, e a seguir transferidas para caixas gerbox com papel de filtro umedecido com 6,0 ml de água.

Os dados apresentados na Tab. 21 mostram que a 25°C a velocidade de germinação das sementes foi a mesma em qualquer período de exposição ao excesso de água.

Verifica-se que a 35°C a velocidade de germinação foi semelhante à que ocorreu a 25°C.

Através da Fig. 25, observa-se que não houve diferença entre a porcentagem de germinação atingida pelas sementes submetidas aos diferentes tempos de exposição ao excesso de água, tanto a 25 como a 35°C, embora a germinação tenha sido significativamente maior a 25°C, do que a 35°C, em todos os casos.

Foi observado que a viabilidade das sementes não foi afetada pela exposição por diferentes períodos ao excesso de água a 25°C. A 35°C, houve uma redução na viabilidade a partir de 24 horas de exposição. Esta temperatura provocou também uma redução na viabilidade em todos os tratamentos, inclusive no controle (Tab. 22).

Quando se compara o efeito da exposição das sementes ao excesso de água por períodos mais prolongados a 35°C, sobre a velocidade de germinação, verifica-se que esta não foi afetada em qualquer período testado, já que seus resultados foram semelhantes ao do controle (Tab. 23). Quanto à porcentagem final de germinação até 4 dias de exposição ao excesso de água, esta não diferiu significativamente da observada no controle, mas as sementes que ficaram sob esta condição adversa durante todo o período experimental (12 dias), tiveram uma redução significativa na taxa de germinação atingida (Fig. 26). Através dos dados

Tabela 21 - Efeito do tempo de exposição da semente ao excesso de água (10 ml) no papel de filtro sobre a velocidade de germinação, no escuro a 25 ou 35°C

Tratamento (horas)	Tempo médio de germinação (dias)	
	25°C	35°C
0	3,6a	4,5a
6	6,2a	5,8a
12	5,2a	5,9a
18	4,9a	5,5a
24	5,8a	6,7a
30	5,8a	7,1a

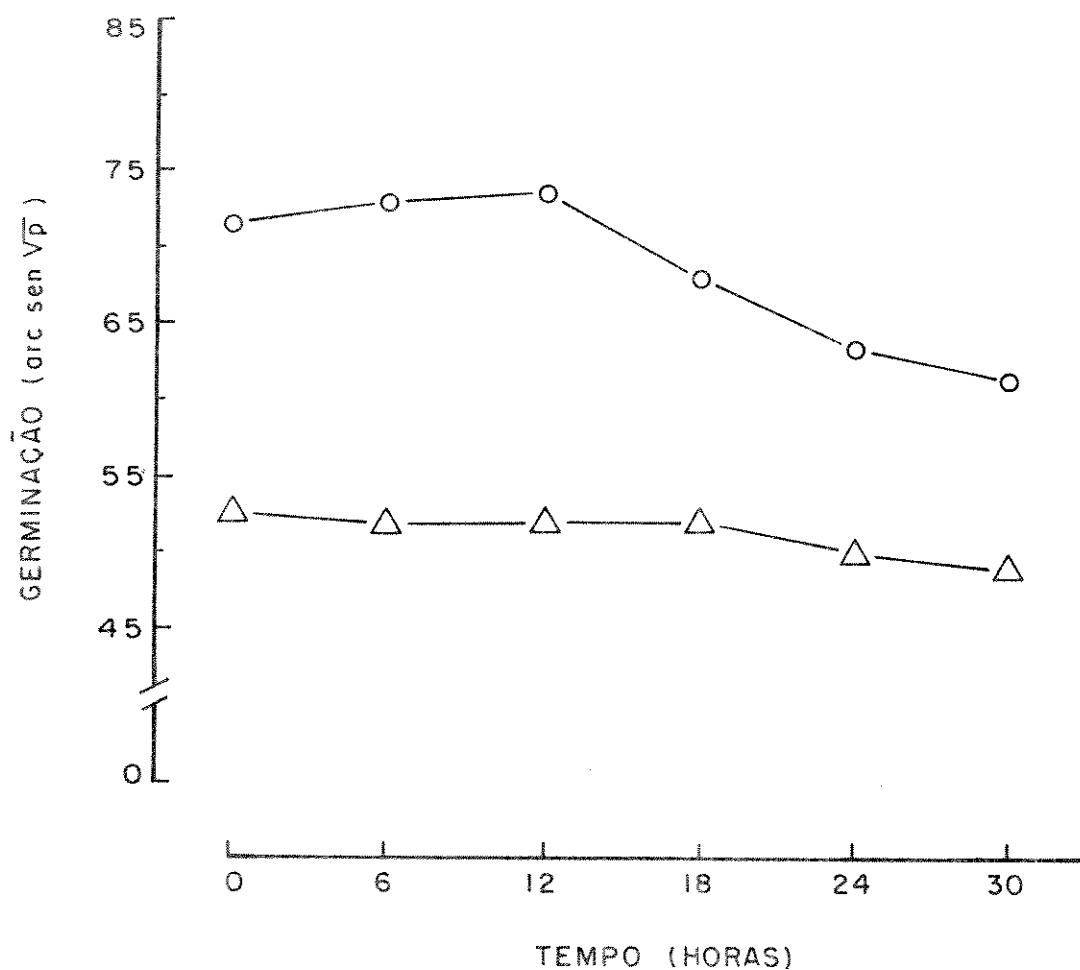


Figura 25 - Influência do tempo de exposição ao excesso de água (10 ml) no papel de filtro, na germinação de sementes de *Beta vulgaris*, em duas temperaturas, na posição B, no escuro.

○ - 25°C

△ - 35°C

DMS, tem o valor, em ângulo, para o efeito de temperatura, de 8 e para o efeito de tempo de exposição ao excesso de água, nenhuma diferença foi significativa.

Tabela 22 - Viabilidade de semente de *Beta vulgaris*, submetidas ao excesso de água (10 ml) durante diversos tempos e em seguida transferidas para pouca água (5 ml), no papel de filtro, a 25°C e a 35°C

Tempo de exposição ao excesso de H <sub>2</sub> O (horas)	Viabilidade (arc sen $\sqrt{p}$ )	
	25°C	35°C
0 (controle)	81,28a*	62,38a*
6	79,53a	59,02bc
12	75,82a	59,67bc
18	78,76a	56,17bc
24	74,66a	54,33cd
30	77,62a	51,06d

\*. Vide nota de rodapé da Tabela 2.

Tabela 23 - Efeito do tempo de exposição da semente ao excesso de água (10 ml), no papel de filtro, sobre a velocidade de germinação no escuro, a 35°C

Tratamento (dias)	tempo médio de germinação (dias)
0	7,3a
1	5,3a
2	9,8a
3	5,9a
4	6,8a
12	8,2a

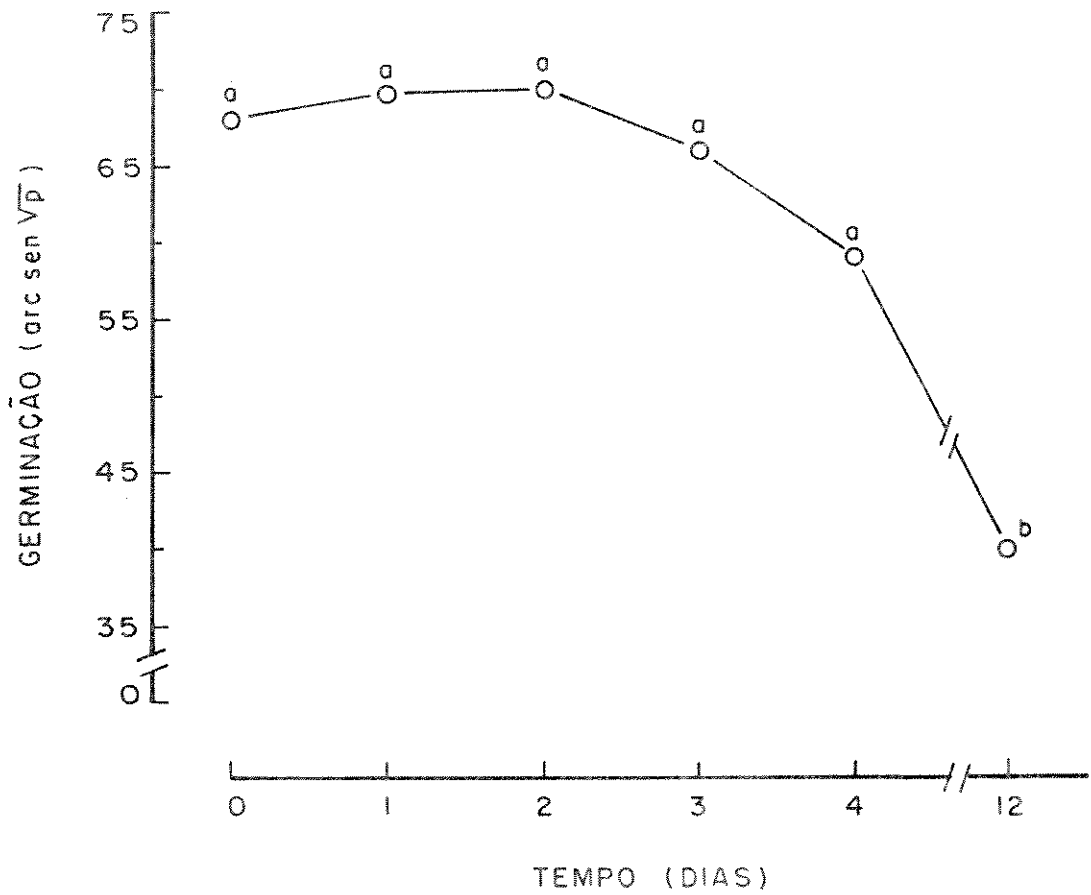


Figura 26 - Influência do tempo de exposição ao excesso de água (10 ml) no papel de filtro, na germinação de sementes de *Beta vulgaris*, no escuro a 35°C.



apresentados na Tab. 24, constata-se que sementes expostas ao excesso de água por períodos prolongados tiveram a viabilidade reduzida, sendo esta redução já evidenciada a partir de 3 dias. Sendo assim, a partir daí começa a haver uma redução na reversibilidade do processo, tornando esta redução muito acentuada, com 12 dias de exposição ao excesso de água.

## 12. Efeito do Etileno

Como o excesso de água reduz o oxigênio disponível, foi testado o envolvimento de etileno no processo de germinação, já que a síntese do mesmo é inibida sob baixa taxa de  $O_2$ .

### 12.1. Uso de CEPA (ácido 2-cloro-etil-fosfônico)

Foi verificado, através da utilização de etileno exógeno no CEPA, que o mesmo promove a germinação das sementes, conforme resultados apresentados nas Figs. 27 e 28.

Em presença da concentração de 10 mg/l de CEPA, a germinação de sementes não diferiu significativamente da das sementes controle, porém a partir de 25 mg/l a germinação foi promovida, sendo que não houve diferença significativa entre os efeitos de 25 e 50 mg/l em relação a 10 mg/l (Fig. 27).

Como não houve diferença significativa entre a germinação das sementes submetidas às concentrações de 25 e 50 mg/l de CEPA, testou-se a influência de uma concentração mais elevada. Através dos resultados apresentados na Fig. 28, verifica-se que

Tabela 24 - Viabilidade de sementes de *Beta vulgaris*, submetidas ao excesso de água (10 ml), no papel de filtro, em diferentes tempos (dias) e depois transferidas para 5 ml, no escuro, a 35°C

Tratamento (dias)	Viabilidade (arc sen $\sqrt{p}$ )
Controle	62,65a*
1	55,55ab
2	54,03ab
3	49,89bc
4	45,06bc
12	41,96c

\* Vide nota de rodapé da Tabela 2.

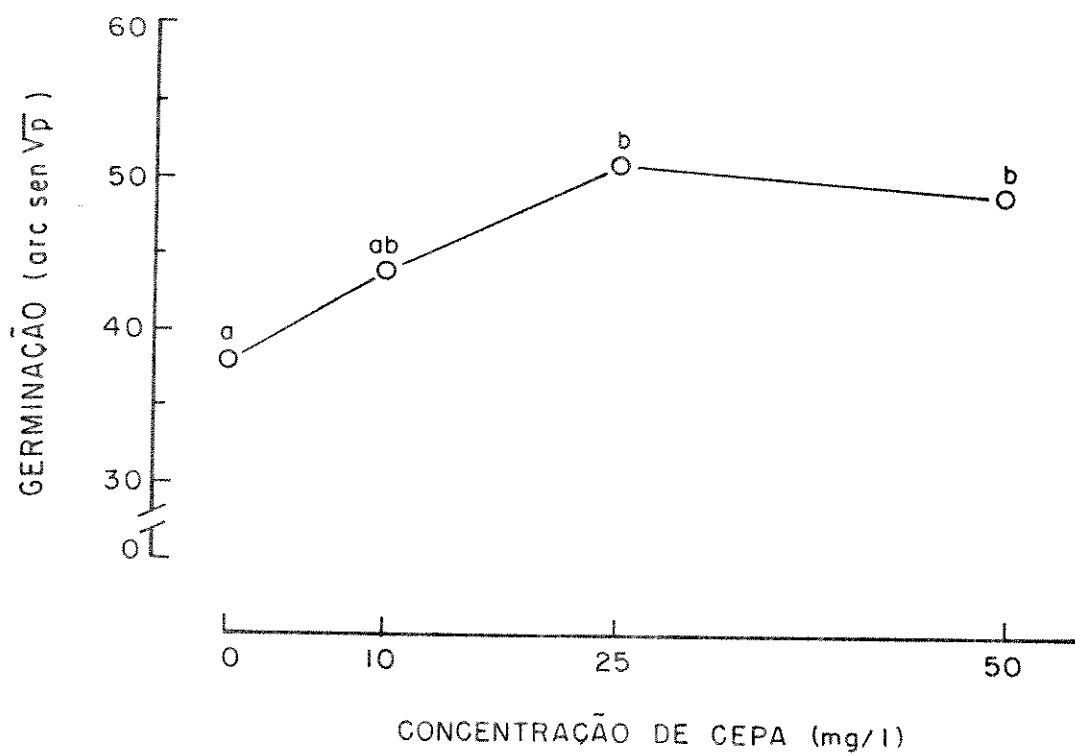


Figura 27 - Efeito de CEPA em diferentes concentrações na germinação de sementes de *Beta vulgaris*, no escuro a 25°C.

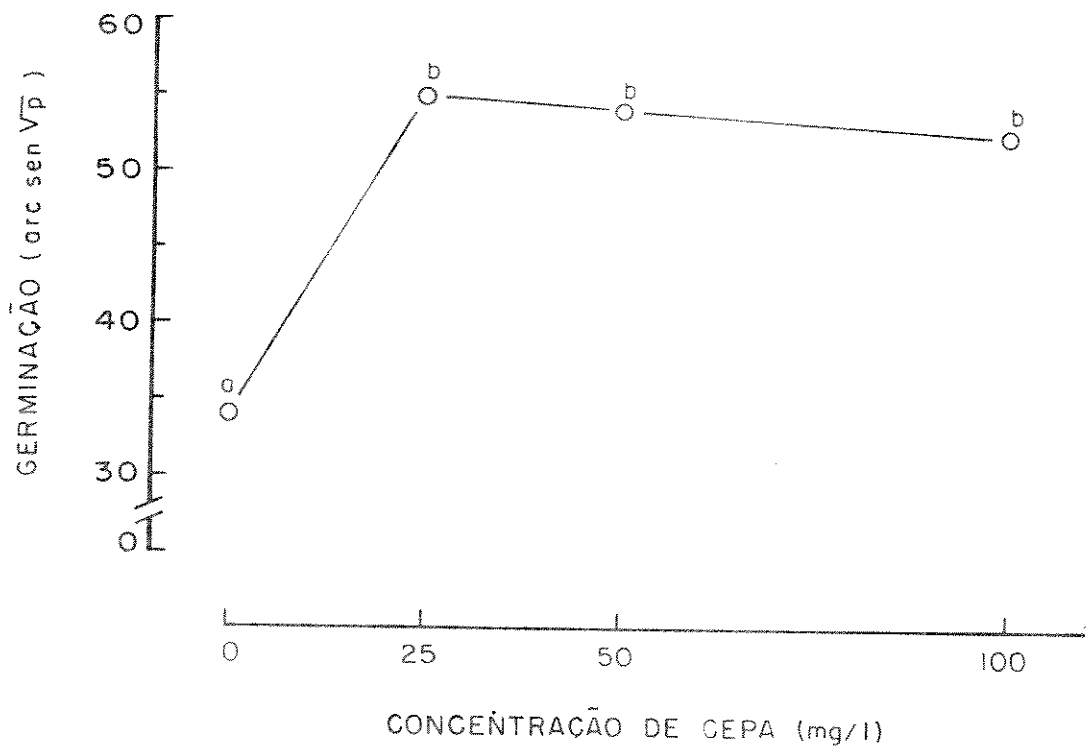


Figura 28 - Efeito da concentração de CEPA na germinação de sementes de *Beta vulgaris*, no escuro a 25°C.

novamente não houve diferença significativa entre a germinação das sementes quando sob influência de diferentes concentrações de CEPA, havendo no entanto uma promoção em relação ao controle, o que confirma os resultados obtidos anteriormente.

Observa-se que a viabilidade das sementes não foi reduzida por nenhum tratamento, conforme dados apresentados na Tab . 25.

### 12.2. Utilização de $\text{AgNO}_3$ e $\text{KNO}_3$

A fim de verificar se realmente etileno estava envolvido na germinação, fez-se aplicações de diferentes concentrações de nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ), utilizando-se 6 ml de solução por placa.

Verificou-se que não houve inibição por nenhuma das concentrações testadas, quando comparadas com o controle (Fig.29).

Como anteriormente o papel havia sido umedecido com 6 ml de solução, poderia ter havido uma redução na absorção do  $\text{AgNO}_3$ , sendo assim as sementes foram submetidas ao volume de 10 ml de solução por 48 horas e em seguida transferidas para 6 ml . Os resultados da Fig. 30 mostram que mais uma vez a germinação não foi inibida pela presença de  $\text{AgNO}_3$ .

Tentou-se então verificar se não havia uma impermeabilização do tegumento ao  $\text{AgNO}_3$  e para facilitar e garantir a penetração desta substância, foi feita uma perfuração no tegumento das sementes, com auxílio de um estilete, antes da embebição das mesmas nas diversas concentrações de  $\text{AgNO}_3$ . Observou-se que a

Tabela 25 - Viabilidade de sementes de *Beta vulgaris*, submetidas ao efeito de diversas concentrações de CEPA, no escuro, a 25°C

CEPA (mg/l)	Viabilidade (arc sen $\sqrt{p}$ )	
0 (controle)	71,57a	75,23a*
10	71,57a	-
25	73,05a	80,03a
50	72,05a	75,82a
100	-	78,46a

\* Vide nota de rodapé da Tabela 3.

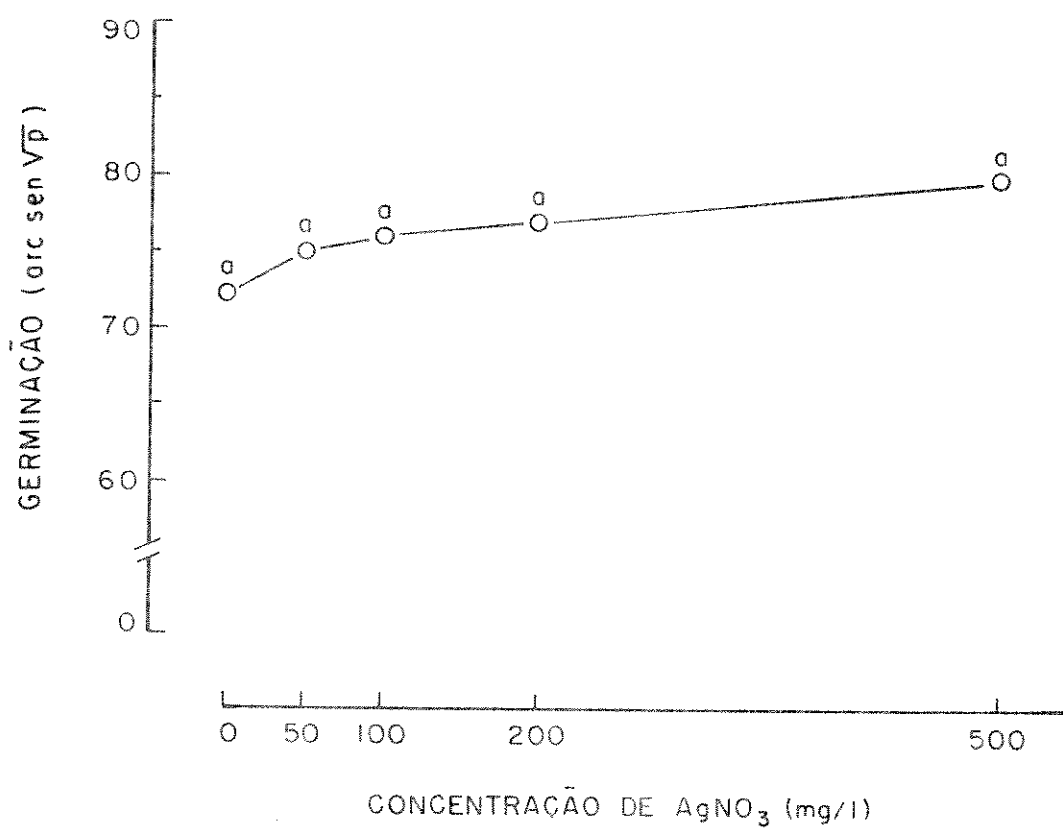


Figura 29 - Efeito da concentração de  $\text{AgNO}_3$  na germinação de sementes de *Beta vulgaris*, mantidas em papel umedecido com 6 ml de solução, no escuro a  $25^\circ\text{C}$ .

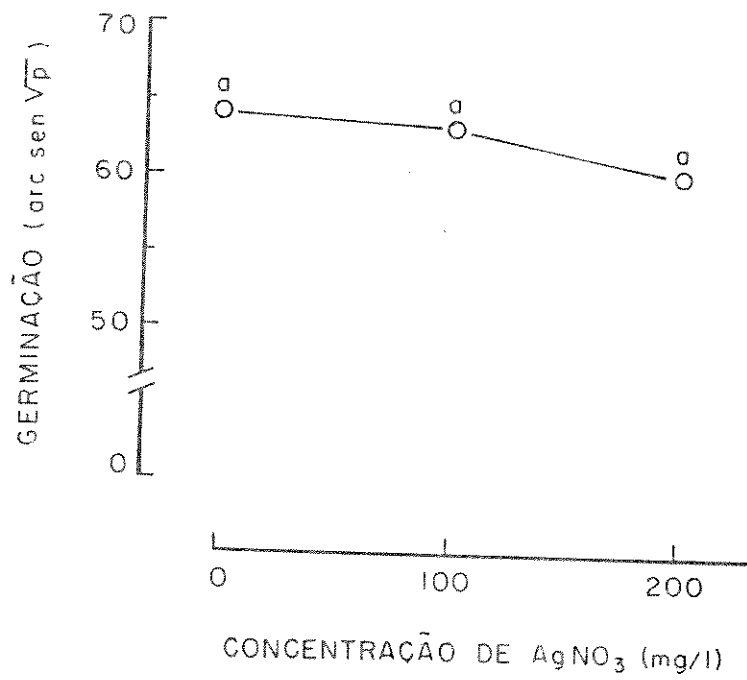


Figura 30 - Efeito da concentração de AgNO<sub>3</sub> na germinação de sementes de *Beta vulgaris*, mantidas por 48 horas em papel umedecido com 10 ml de solução e após transferidas para 6 ml, no escuro a 25°C.



germinação com 500 mg/l foi igual à do controle, conforme dados da Tab. 26.

Constatou-se também que nenhum dos tratamentos testados provocou redução na viabilidade das sementes (Tab. 27).

Uma das possibilidades da não inibição pelo  $\text{AgNO}_3$  seria a de que o  $\text{NO}_3^-$  estaria mascarando o efeito do íon prata, por promover a germinação. Sendo assim, foi testado o efeito de diferentes concentrações de nitrato de potássio ( $\text{KNO}_3$ ) na germinação das sementes. Através dos resultados da Fig. 31, observa-se que não houve diferença significativa entre a germinação das sementes controle e as dos demais tratamentos, mostrando que o  $\text{NO}_3^-$  não tinha influência na germinação destas sementes.

Verifica-se através da Tab. 28 que a viabilidade não foi produzida por nenhuma das concentrações de nitrato de potássio utilizada.

### 12.3. Utilização do perclorato de mercúrio

Foi verificado o efeito da possível redução do nível de etileno na atmosfera, pela ação do perclorato de mercúrio ( $\text{HgClO}_4$ ) na germinação de sementes de beterraba açucareira.

Através dos dados da Tab. 29 verifica-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos, mostrando que a germinação destas sementes não foi devida ao etileno liberado pelas mesmas.

Constata-se também que não ocorreu redução da viabilidade das sementes submetidas a estes tratamentos.

Tabela 26 - Efeito de  $\text{AgNO}_3$ , na germinação de sementes perfuradas de *Beta vulgaris*, no escuro, a  $25^\circ\text{C}$

Tratamento	Germinação final (arc sen $\sqrt{p}$ )
Controle	77,56a*
$\text{AgNO}_3$ (500 mg/l)	76,50a

\* Vide nota de rodapé da Tabela 2.

Tabela 27 - Viabilidade de sementes de *Beta vulgaris*, submetidas a diversas concentrações de  $\text{AgNO}_3$ , no escuro, a 25°C

AgNO <sub>3</sub> (mg/l)	Exp. I	Exp. II	Exp. III
	(6 ml/placa)	(10 ml/48 hs)	(tegumento perfurado)
Viabilidade (arc sen $\sqrt{p}$ )			
0 (controle)	80,03a*	79,22a*	75,82a*
50	-	75,82a	-
100	-	75,23a	72,54a
200	-	79,22a	74,66a
500	79,22a	82,97a	-

\* Vide nota de rodapé da Tabela 3.

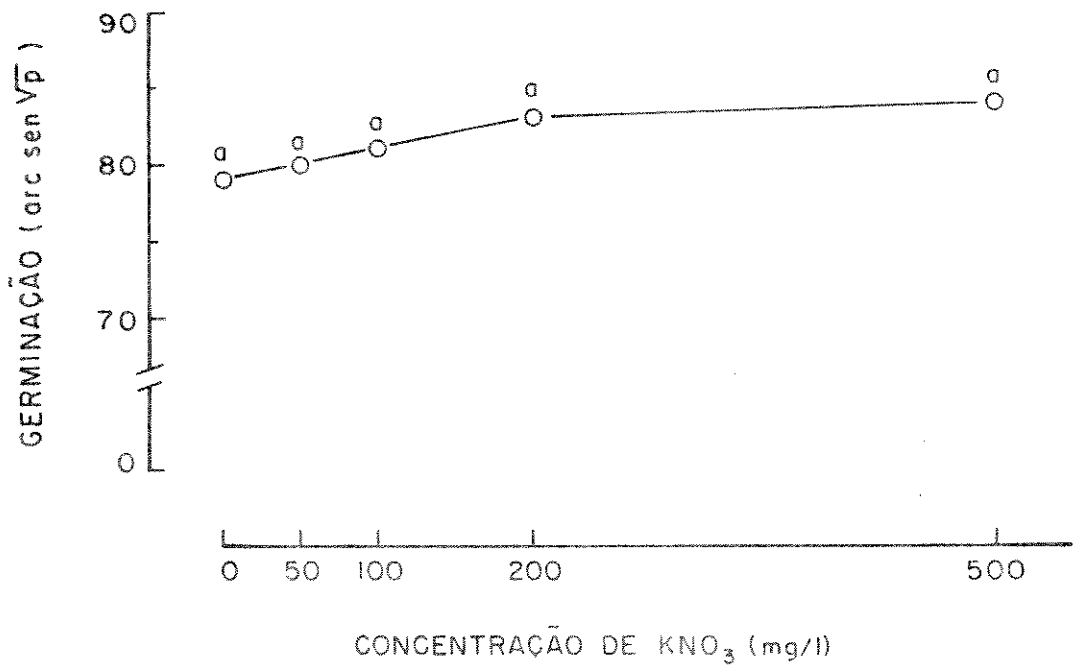


Figura 31 - Efeito da concentração de KNO<sub>3</sub> na germinação de sementes de *Beta vulgaris*, no escuro a 25°C.

Tabela 28 - Viabilidade de sementes de *Beta vulgaris*, germinadas em diferentes concentrações de  $\text{KNO}_3$ , no escuro, a 25°C

$\text{KNO}_3$ (mg/l)	Viabilidade (arc sen $\sqrt{p}$ )
0 (controle)	81,84a*
50	84,26a
100	80,03a
200	81,87a
500	82,97a

\* Vide nota de rodapé da Tabela 2.

#### 12.4. Dosagem do etileno liberado pelas sementes

Foi feita a dosagem do etileno liberado pelas sementes submetidas a diferentes volumes de água, através do uso da cromatografia a gás.

Observa-se pelos resultados da Tab. 30 que não foi detectado etileno liberado pelas sementes, em nenhum dos volumes de água testados, durante todo o período experimental.

### 13. Efeito do Etanol

Com as evidências de que uma redução no nível de etileno não está envolvida na inibição da germinação causada por volumes excessivos de água, procurou-se verificar se com a anaerobiose estaria ocorrendo a produção de etanol que então causaria a inibição da germinação.

#### 13.1. Dosagem de etanol liberado pelas sementes

Não se conseguiu detectar etanol em extratos de 40, 80 ou 120 sementes, submetidas ao excesso de água, pelo método colorimétrico do dicromato.

#### 13.2. Utilização de etanol exógeno

Quando se utilizaram diferentes concentrações de etanol

Tabela 30 - Dosagem de etileno endógeno, através de cromatografia a gás, em sementes de *Beta vulgaris*, embebidas em diferentes volumes de água, na luz, a 25°C, durante 12 dias

Tratamento	Altura do pico (unidades)	
	1º dia	12º dia
H <sub>2</sub> O	1,5 ml	0 b*
	4,0 ml	0 b
etileno (1ppm)	15 a	15 a

\* Vide nota de rodapé da Tabela 2.

(6 ml/placa) verificou-se que a germinação não foi reduzida por nenhuma das concentrações utilizadas, já que seus resultados foram semelhantes aos das sementes controle (Tab. 31). Constata-se que a viabilidade das sementes utilizadas não foi reduzida por nenhuma das concentrações testadas.

Como não houve diferença na germinação das sementes submetidas a diferentes concentrações de etanol, foi usado novo método de embebição, para assegurar melhor penetração do etanol e este foi utilizado, inclusive, em uma concentração mais elevada (2%).

Entretanto, os resultados confirmaram os obtidos anteriormente, já que mesmo a concentração de 2% do etanol não reduziu a germinação das sementes (Tab. 32). Nota-se também que a viabilidade das sementes não foi reduzida por nenhuma das concentrações de etanol. Contudo, extratos de sementes que foram mantidas em presença de etanol apresentaram níveis detectáveis pelo método do dicromato, somente quando a concentração utilizada foi de 2% (Tab. 33).

#### 14. Influência da Umidade do Solo e da Temperatura

Foi verificado o efeito de diferentes temperaturas sobre a emergência de plântulas cultivadas em solo com diferentes níveis de umidade.

Não houve diferença na velocidade de emergência das plântulas sob influência de diferentes níveis de umidade do solo a 25°C. Em 35°C não houve variação na velocidade de emergência



Tabela 31 - Efeito da concentração de etanol sobre a germinação e viabilidade de sementes de *Beta vulgaris*, após 12 dias, no escuro a 25°C

Concentração de etanol %	Germinação (arc sen $\sqrt{p}$ )	Viabilidade
0 (controle)	81,08a*	81,87a*
0,02	79,19a	82,97a
0,05	77,36a	81,87a
0,50	72,64a	79,22a

\* Vide nota de rodapé da Tabela 3.

Tabela 32 - Efeito da concentração de etanol (%) sobre a germinação e viabilidade de sementes de *Beta vulgaris*, após 12 dias, no escuro a 25°C

Tratamento	Germinação (arc sen $\sqrt{p}$ )	Viabilidade
0 (controle)	82,16a*	85,95a*
0,05	82,17a	82,97a
0,5	79,85a	82,97a
2,0	75,58a	78,46a

\* Vide nota de rodapé da Tabela 3.

Tabela 33 - Dosagem de etanol em sementes de *Beta vulgaris*, embebidas em soluções de diferentes concentrações, durante 6 dias, no escuro a 25°C

Concentração de etanol (%)	Absorbância (605 mm)
0 (controle)	0 b*
0,05	0 b
0,5	0 b
2,0	0,06 a

\* Vide nota de rodapé da Tabela 2.

das plântulas submetidas aos diferentes tratamentos, sendo a mesma semelhante a da obtida a 25°C (Tab. 34).

Observa-se também, através dos resultados da Fig. 32., que a 25°C não houve diferença significativa na porcentagem de emergência quando a umidade do solo era de 10,0 ou 12,3% , entretanto, ocorreu uma redução significativa quando em solo com 40% de umidade. Quando em temperatura de 35°C, a porcentagem de emergência não diferiu significativamente em solos com níveis de 10,0 e 12,3% de umidade, sendo, porém, significativamente reduzida quando em solo com 40% de umidade, onde aliás só ocorreu a emergência de uma plântula,

A temperatura teve efeito na porcentagem de emergência das plântulas, pois a 35°C a mesma foi reduzida significativamente tanto em solos com 10,0% como com 12,3% de umidade quando comparada com a ocorrida a 25°C. Entretanto, em solos com nível de 40% de umidade a emergência foi a mesma tanto a 25°C como a 35°C (Fig. 32).

Através dos dados apresentados na Tab. 35, verifica-se que a umidade de 40% provocou redução na viabilidade das sementes em qualquer temperatura testada. Entretanto, a 35°C a viabilidade das sementes foi significativamente mais reduzida do que a 25°C, inclusive em solos, com umidade de 10,0 e 12,3%.

A temperatura de 35°C não é adequada também, para o desenvolvimento das plântulas, pois reduz o vigor das mesmas, já que parte das plântulas emergidas morreram quando mantidas nesta temperatura por 3 a 4 dias, nas diferentes umidades de solo testadas, conforme mostram os dados da Tab. 36.

Tabela 34 - Efeito de diferentes temperaturas na velocidade de emergência de plântulas de *Beta vulgaris*, em solo com diferentes umidades

Umidade do solo (%)	tempo médio de emergência (dias)	
	25°C	35°C
10,0	5,6a*	5,54a*
12,3	4,76a	7,57a
40,0	4,87a	-

. - : só emergiu uma plântula.

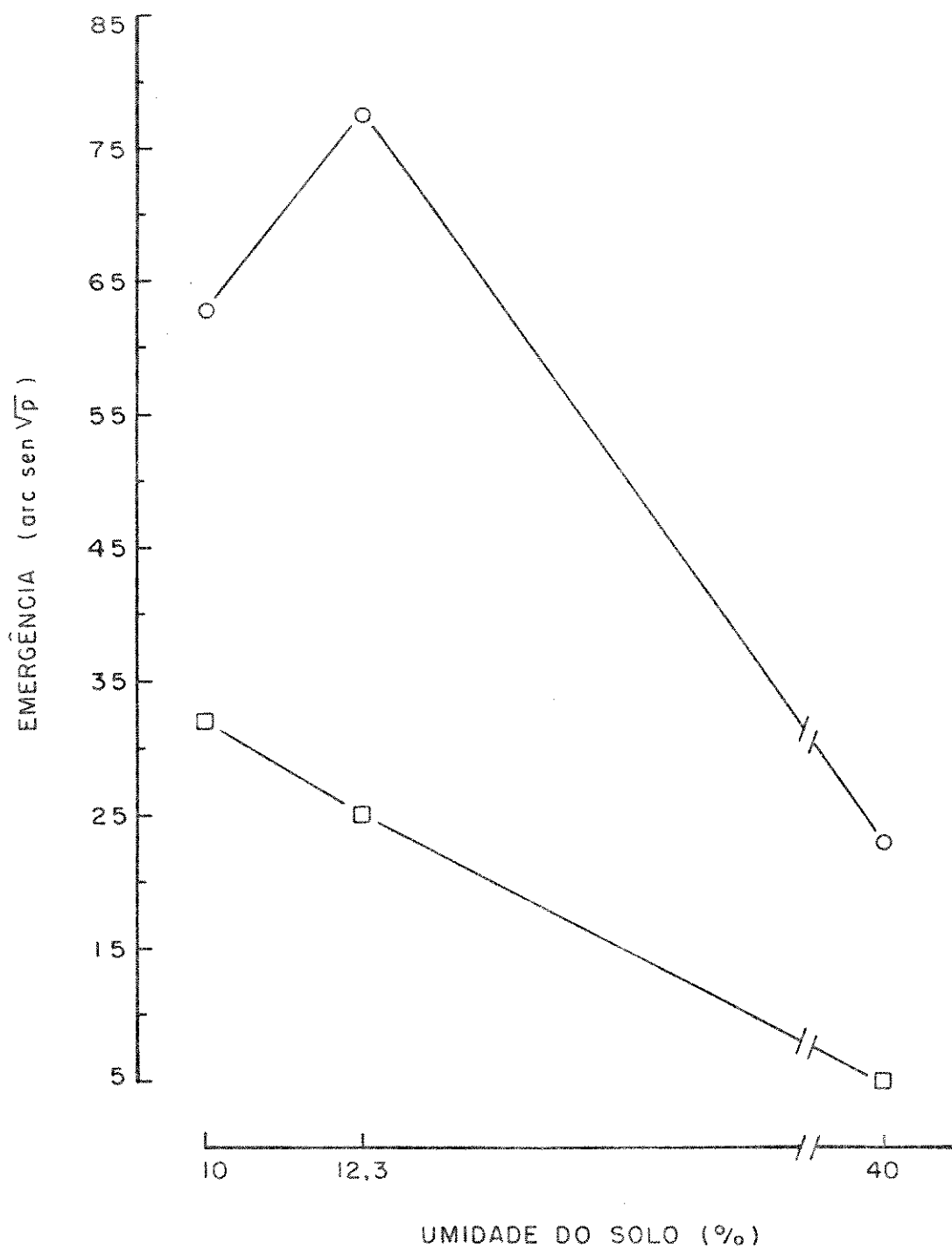


Figura 32 - Efeito da temperatura e da umidade do solo na emergência das plântulas de *Beta vulgaris*.

○ - 25°C

□ - 35°C

DMS, tem o valor, em ângulo, para o efeito de diferentes temperaturas de 23, e para efeito de umidade de 18.

Tabela 35 - Viabilidade de sementes de *Beta vulgaris*, submetidas a três regimes de umidades do solo (10; 12,3 e 40%) e a duas temperaturas (25°C e 35°C)

Umidade do solo (%)	Viabilidade (arc sen $\sqrt{p}$ )	
	25°C	35°C
10,0	85,56a*	59,67b*
12,3	85,56a	52,0b
40,0	59,67b	29,87c

\* Vide nota de rodapé da Tabela 2.

Tabela 36 - Razão entre número de plântulas mortas e número de plântulas emergidas em 3 regimes de umidade do solo e diferentes temperaturas

Umidade do solo (%)	Plântulas mortas/emergidas	
	25°C	35°C
10,0	0/25	3/11
12,3	0/29	6/8
40,0	0/8	0/1



Em temperatura de 25°C não ocorreu morte das plântulas.

Em relação ao crescimento das plântulas, verifica-se que o mesmo foi maior quando estas foram cultivadas em solo com 10,0 e 12,3% de umidade, tanto a 25°C como a 35°C. Entretanto, quando em solos com 40% de umidade, houve uma drástica redução do crescimento, principalmente a 35°C.

A temperatura teve influência sobre o crescimento das plântulas, pois tanto em solos com pouca disponibilidade de água (10% de umidade) como em solos com excesso de água (40% de umidade) o acúmulo de matéria seca das plântulas foi reduzido a 35°C em relação ao observado a 25°C (Fig. 33).

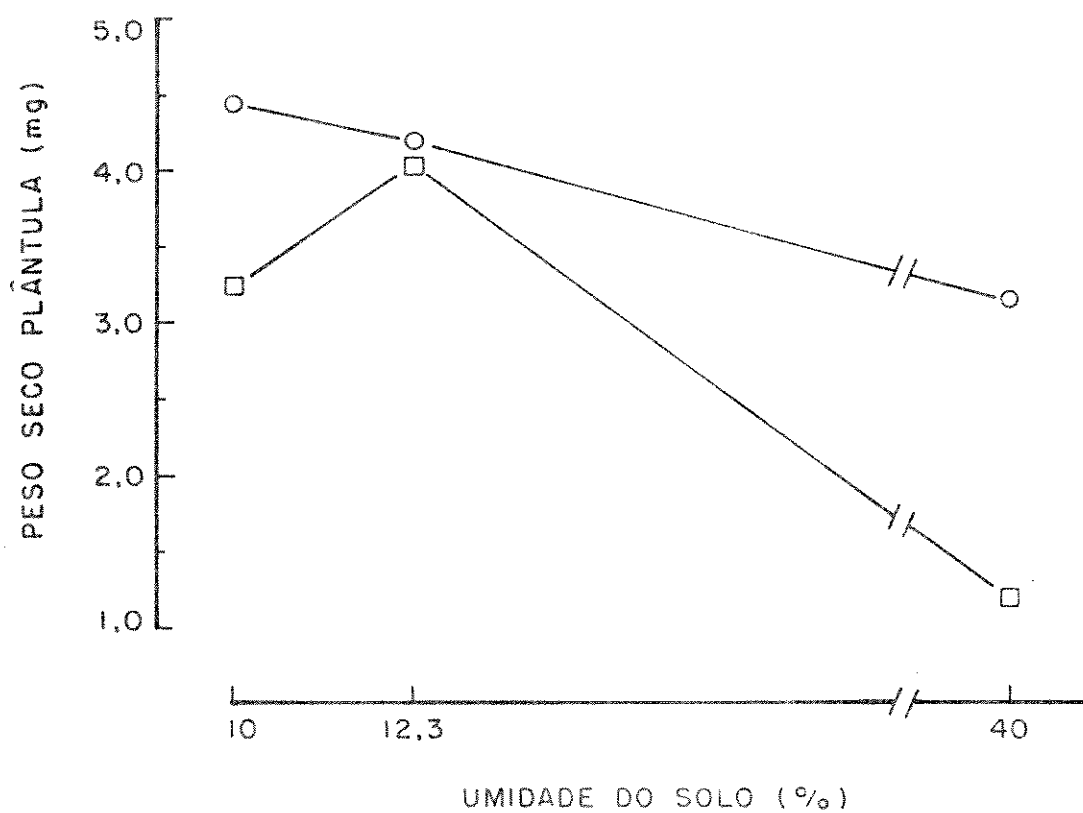


Figura 33 - Influência da temperatura e da umidade do solo no acúmulo de matéria seca em plântulas de *Beta vulgaris*.

○ 25°C

□ 35°C

## V - DISCUSSÃO

A primeira condição para a germinação de uma semente viável e não dormente é a disponibilidade de água para a sua reidratação. O aumento das atividades respiratórias da semente a um nível capaz de sustentar o crescimento do embrião, com fornecimento suficiente de energia e de substâncias orgânicas, depende do aumento do grau de hidratação dos seus tecidos.

A germinação da semente é um processo complexo, que envolve diversas fases, as quais são afetadas pela temperatura.

Na faixa de temperatura em que uma semente germina, há geralmente uma temperatura ótima na qual ocorre maior porcentagem de germinação em um período curto, acima ou abaixo da qual a germinação é reduzida ou não ocorre (Mayer e Poljakoff-Mayber, 1975).

Em sementes de beterraba açucareira, a faixa de temperatura constante ótima para a germinação parece estar entre 15°C e 25°C, quando no escuro. Na luz a temperatura ótima é de 25°C. Já em relação a temperaturas alternadas, a máxima germinação foi obtida no escuro com temperaturas de 5, 10, 15, 25 e 35°C, alternadas a cada 12 horas com 25°C, porém, a temperatura de 35°C provocou uma redução na viabilidade das sementes. Geralmente a temperatura ótima para a germinação está sempre mais próxima da temperatura máxima em que ocorre a germinação do que da mínima, como ocorre, por exemplo, em soja (Pollock, 1972). O comportamento de sementes de beterraba açucareira, em relação à temperatura não ilustrou este fato. Para as sementes de plantas cultiva

Tabela 29 - Efeito do perclorato de mercúrio na germinação e viabilidade de sementes de *Beta vulgaris*, após 12 dias, na luz a 25°C.

Tratamento	Germinação (arc sen $\sqrt{p}$ )	Viabilidade
Controle	80,19a*	84,26a*
Perclorato de Hg	80,21a	80,90a

\* Vide nota de rodapé da Tabela 3.

das, como algodão, feijão, milho e soja, a germinação ocorre tão bem a 30°C constante como a 20-30°C alternada. Entretanto, no caso de algumas gramíneas, melhor germinação ocorre a temperaturas alternadas, pois a 20 e 30°C constantes, as sementes não germinaram e sob influência da alternância 20-30°C, houve 50% de germinação (Harrington, 1953).

Em sementes de alfafa, foi observado que a germinação aumenta com a elevação da temperatura de 10 a 25°C, sendo máxima nesta temperatura, e decrescendo a partir daí, chegando a não ocorrer germinação a 40°C (Larsen, 1965). Em alho-porro, a temperatura de 30°C causou uma redução na germinação, quando comparada com a ocorrida à 25°C (Gelmond, 1965).

Em *Poa pratensis*, a alternância de 15-25°C causou alta germinação, o que não ocorreu em nenhuma temperatura constante testada, e a permanência na temperatura de 25°C podia variar de 2 a 16 horas (Toole, 1963). Também, foi observado que sementes de *Vitis vinifera* germinaram melhor em temperaturas alternadas, já que praticamente não ocorreu germinação na faixa de temperatura constante de 5 a 42°C, havendo no entanto germinação somente quando as sementes foram mantidas na alternância 15-35°C (Pereira e Maeda, 1981).

A alternância de temperatura deve estar associada com alguma alteração metabólica já que sementes de beterraba açucareira quando mantidas em temperaturas baixas (5 e 10°C) não germinavam ou apresentavam uma germinação muito baixa, e quando mantidas sob a influência destas temperaturas baixas, alternadas com 25°C, apresentaram germinação semelhante à ocorrida em sementes mantidas a 25°C. É provável que a alternância afeta a permeabili

dade da membrana (Toole, 1973), ou as reações químicas envolvidas no processo germinativo (Côme e Tissaoui, 1972).

Choques de temperatura baixa ( $5^{\circ}\text{C}$ ) mesmo por períodos mais prolongados, promoveram a germinação das sementes no escuro, mostrando que realmente esta alternância  $5\text{--}25^{\circ}\text{C}$  pode ser empregada na germinação desta espécie, inclusive durante a embebição. Estes resultados discordam da idéia de que a temperatura baixa causa danos nas fases iniciais da embebição, pois nesta fase a integridade funcional das membranas é estabelecida e o frio contínuo alteraria a cinética das reações enzimáticas associadas às organelas (Taylorson e Hendricks, 1977) e acarretaria uma maior lixiviação de solutos, causando injúria (Bewley e Black, 1982). Em algão a exposição por um período curto (30 minutos) à temperatura de  $5^{\circ}\text{C}$ , provocou a formação de plântulas anormais.

As sementes de beterraba açucareira são mais sensíveis à temperatura alta, pois a exposição a choques de temperatura de  $45^{\circ}\text{C}$ , provocou uma redução na germinação, sendo esta mais acentuada com o aumento da duração do choque. Além disso, a exposição a esta temperatura por um período curto (1 hora) causou uma redução na viabilidade das sementes, sendo que a exposição à  $45^{\circ}\text{C}$  por 24 horas provocou uma redução drástica da viabilidade, já que a mesma passou de 78,46 a  $25^{\circ}\text{C}$  para 46,72 a  $45^{\circ}\text{C}$ . Um outro fator que demonstrou a sensibilidade das sementes desta espécie à temperatura alta, é que quando submetidas a temperaturas de 30 ou  $35^{\circ}\text{C}$ , constante ou alternada, houve uma redução na viabilidade das sementes. Em *Ulex europaeus*, também foi observada uma redução na viabilidade das sementes, quando expostas a temperaturas altas, a partir de  $35^{\circ}\text{C}$  (Ivens, 1983).

Muitas vezes, a germinação da semente está associada com a presença ou ausência de luz, o que lhe daria a característica de semente fotoblástica. Estas sementes só respondem ao estímulo luminoso quando embebidas e a resposta à luz para a germinação é extremamente sensível à temperatura, conforme observado em *Rumex* (fotoblástica positiva), cujas sementes germinam no escuro, quando mantidas em temperaturas altas (Isikawa e Fujii, 1961), e em *Ricinus communis* (fotoblástica negativa), em que as sementes tornam-se indiferentes à presença de luz quando mantidas na temperatura de 20°C (Lagôa e Pereira, 1982). As sementes de *Beta vulgaris*, cv. Kawemegamono, apresentaram um fotoblastismo negativo dependente da temperatura, já que germinaram melhor na ausência de luz, quando sob regime de temperatura alternada na faixa de 5 a 15°C. A partir de 20°C, germinaram igualmente na luz e no escuro, mostrando-se portanto, indiferentes à presença de luz, conforme ocorre na maioria das espécies cultivadas. Esta sensibilidade à luz dependente da temperatura mostra como é importante que ao se classificar uma espécie como fotoblástica negativa ou positiva, se indique a temperatura utilizada (Kendrick, 1976). O tegumento das sementes pode controlar a germinação através do impedimento à penetração de água e às trocas gasosas, pela imposição mecânica ao crescimento do embrião e por conter inibidores da germinação (Koller et al., 1962).

Em sementes de beterraba açucareira, tanto o poro basal como o opérculo (regiões específicas do tegumento) exercem grande influência na germinação desta espécie. No entanto, há uma controvérsia na literatura sobre como seria este controle e qual das regiões seria a mais importante. Heydecker e Chetram (1971) e Coumans et al. (1976) sugerem que o opérculo poderia controlar a en

trada de água e trocas gasosas. Outros trabalhos já mostram que o poro basal seria a região principal no controle da germinação (Perry e Harrison, 1974; Coumans, 1978; Coumans et al., 1979) . Neste estudo, ficou evidenciado que realmente estas regiões exercem um certo controle na germinação já que a posição que se coloca a semente em contacto com o papel de filtro na caixa gerbox , influencia marcadamente a germinação.

Normalmente, o impedimento à entrada de água e trocas gasosas no tegumento, é superado pela esscarificação. A esscarificação química das sementes com ácido sulfúrico é uma técnica que tem sido bastante utilizada. Sementes de algumas leguminosas forrageiras (Almeida et al., 1979) *Sorghum bicolour* (Gaber et al. , 1974) e de *Peltophorum dubium* (Bianchetti, 1980), tiveram sua germinação promovida quando submetidas a este tipo de esscarificação.

Os resultados obtidos para sementes de beterraba açucareira mostram que aparentemente a esscarificação química elimina o efeito de posição, ocorrendo promoção da germinação. No entanto, esta promoção ocorre somente quando se utilizam sementes não lavadas como controle. Quando as sementes do controle foram lavadas em água corrente, a porcentagem de germinação das sementes controle e das sementes esscarificadas com ácido sulfúrico concentrado foi semelhante. Como sementes esscarificadas quimicamente são lavadas em água corrente, para remoção do ácido sulfúrico, o efeito promotor da germinação provavelmente foi devido à lavagem e não à esscarificação química. Posteriormente, verificou-se que não havia diferença entre o efeito da lavagem em água corrente e o de esscarificação química, comprovando a idéia de que a lavagem é que tinha efeito promotor.



157

O efeito promotor da lavagem na germinação de sementes tem sido amplamente observado em várias culturas, que apresentam dormência devido à presença de inibidores no tegumento. Assim, sementes de beterraba açucareira (Heydecker et al., 1971), de *Curcubita* (Brown, 1940) e de *Atriplex repanda* (Fernandez e Johnston, 1980), apresentaram melhor germinação depois de lavadas em água corrente. Entretanto, este efeito não é universal, pois tanto em sementes de *Datura stramonium* (Villar, 1982), como de *Ricinus communis* (Lagõa, 1983) a lavagem das sementes, mesmo por períodos curtos, inibe a germinação, sugerindo que substâncias promotoras da germinação estariam sendo removidas com a lavagem. Corroborando esta idéia, sementes de *Ricinus communis* tiveram sua germinação levemente promovida quando germinadas em água de lavagem de sementes desta espécie (Lagõa, 1983).

A escarificação química tem se mostrado efetiva na promoção da germinação de várias espécies, como, por exemplo, em algumas leguminosas forrageiras (Almeida et al., 1979). *Phaseolus mungo* (Rao e Mukherjee, 1978) e *Canafístula* (Bianchetti, 1981), ocorrendo o mesmo em beterraba açucareira. A escarificação mecânica foi efetiva na promoção da germinação a partir de 4 minutos, tendo o mesmo efeito por períodos mais prolongados.

A promoção da germinação devido à lavagem em água corrente ou escarificação mecânica sugere que no tegumento existe alguma substância inibidora, que é removida por estes dois processos. Nenhum destes dois tratamentos reduziu a viabilidade das sementes, entretanto, em sementes de uva e lavagem contínua, por períodos mais prolongados, aumentou o número de sementes mortas, possivelmente por dificultar a respiração das sementes, já que a la

vagem intermitente não provocou redução da viabilidade (Maeda e Pereira, 1982).

Os resultados obtidos com a lavagem e a escarificação mecânica das sementes, sugeriram que no caso de beterraba açucareira, a dormência está ligada à presença de substâncias inibidoras no tegumento.

A análise dos níveis de substâncias de crescimento endógenas extraídas nas frações ácida e neutra do extrato de sementes de beterraba açucareira através do bioteste do hipocótilo de alface, mostrou a presença de substâncias inibidoras, cujo nível foi reduzido com a lavagem das sementes, sendo esta redução mais marcante na fração neutra. Não foi detectada atividade giberelínica na fração ácida. Juntilla (1976) verificou que sementes de beterraba vermelha continham inibidores fenólicos em seu tegumento, os quais tinham efeito inibitório na germinação de sementes de alface, não inibindo porém a germinação das sementes onde eles ocorriam. Em *Beta vulgaris* (cv. SL129 x 133) foi isolada uma substância inibidora da germinação, porém seu efeito só foi testado em outras espécies, não sendo verificada a ação em sementes da própria espécie (Mitchell e Tolbert, 1968). Além disso, vários trabalhos sugerem que as sementes desta espécie possuem substâncias fenólicas em seu tegumento, que provavelmente seriam responsáveis pela inibição da germinação desta espécie (Heidecker e Chetram, 1971; Coumans et al., 1976; Coumans et al., 1977). Contudo, este efeito inibitório não foi verificado. Quando se testou o efeito das frações ácida e neutra de extratos de sementes de beterraba açucareira na germinação de sementes desta espécie, verificou-se que substâncias inibitórias presentes na fração ácida

não tinham efeito na germinação das sementes. Entretanto, os ini  
bidores presentes na fração neutra provocaram uma diminuição na  
germinação, sendo que a redução se acentuava a medida que se au  
mentava a concentração do extrato, mostrando que nas sementes desta  
espécie, uma das causas da dormência seria a presença de subst  
tâncias inibidoras no tegumento.

Sabe-se que inibidores fenólicos presentes no tegumento  
de sementes podem inibir a germinação por diminuir a disponibilidi  
dade de oxigênio para o embrião (Côme, 1968; Côme e Tissaoui, 1972;  
Murphy e Noland, 1981). O fato da fração neutra ser a que tem ação  
inibidora na germinação de sementes de beterraba açucareira suge  
re a possibilidade de que ABA não seja o inibidor da germinação  
destas sementes. Coumans et al. (1977) mostrou que em *Beta vulga*  
*ris*, cv. X/90 (monogérmico), ABA não é o inibidor ativo da germi  
nação. Com isto, poderia se pensar que os inibidores presentes no  
tegumento destas sementes seriam de natureza fenólica. Entretanto,  
para se confirmar tal hipótese, são necessários estudos mais detalha  
lhados.

Com relação à presença de substâncias inibidoras no te  
gumento, sementes de beterraba açucareira possuem ainda regiões  
específicas no tegumento, que poderiam estar associadas ao control  
e da entrada de água ou trocas gasosas, sendo que a posição desde  
sas estruturas em relação ao papel de filtro na caixa gerbox pode  
ria reduzir estes processos. Contudo, a curva de embebição feita  
com sementes com o poro basal ou o opérculo em contacto com o pa  
pel de filtro, mostrou que a velocidade de absorção e quantidade  
de água absorvida foi a mesma em qualquer que fosse a posição uti  
lizada. Com isto, foi descartada a hipótese de que estas regiões  
específicas do tegumento estariam restringindo a entrada de água

na semente.

Em muitas espécies o tegumento tem grande importância na germinação, por controlar a absorção de água, como observado em algodão (Wiles e Downs, 1977) de *Vitis vinífera* (Maeda et al., 1984), sendo que nesta espécie frutos imaturos possuem sementes com tegumento mais permeável do que as dos maduros.

A curva de embebição de sementes, geralmente é constituída por um período inicial de velocidade de absorção mais intensa, seguido por um período de absorção mais lento (Pollock e Toole, 1966). Em sementes de beterraba açucareira, estas fases foram bem características, sendo que a fase inicial foi completada, após 3 horas.

Com a comprovação de que não havia restrição à entrada de água, o que estava acontecendo poderia ser uma redução no processo respiratório, devido às dificuldades encontradas para realização das trocas gasosas.

Através da impermeabilização dessas regiões específicas do tegumento, com parafina, verificou-se que tanto a germinação como a respiração são reduzidas com maior intensidade quando se obstrui o poro basal do que quando se impermeabiliza o opérculo, mostrando que o poro basal se constitui na principal via de trocas gasosas nesta espécie.

O consumo de oxigênio foi bastante reduzido quando o mesmo estava impermeabilizado. Estes resultados contradizem a idéia de Heydecker e Chetram (1971) e Coumans et al. (1976) de que o opérculo seria a região mais importante no controle da germinação das sementes desta espécie.

As sementes de *Beta vulgaris* (cv. Detroit Globe e Amo  
no) são muito sensíveis ao excesso de água, tendo sua germinação  
reduzida, quando mantidas nesta condições (Heydecker e Chetram ,  
1971; Perry e Harrison, 1974).

Em caixas gerbox com excesso de água (10 ml), há forma  
ção de um filme de água que obstrui o poro basal das sementes  
quando este está em contacto com o papel de filtro dificultando  
as trocas gasosas. Sendo assim, confirma-se novamente a importân  
cia do poro basal na germinação de sementes de beterraba açuca  
reira, já que, quando mantidas em caixas gerbox com o papel de  
filtro apenas ligeiramente umedecido (6 ml), o efeito de posição  
é eliminado, pois neste caso as trocas gasosas não são afetadas,  
e a germinação ocorre normalmente.

Em vista destas evidências, pode-se postular a hipóte  
se de que existiriam dois mecanismos de inibição à germinação em  
sementes de *Beta vulgaris*, cv. Kawemegamono. Um deles seria a  
presença de substâncias inibidoras no tegumento e o outro a difi  
culdade na realização das trocas gasosas. Quando sob condição de  
excesso de água, os dois mecanismos seriam atuantes e por isto  
não ocorreria germinação. Neste caso, poderia se pensar que além  
da inibição exercida pelas substâncias que ocorrem no tegumento  
a obstrução do poro basal não permitiria a entrada de oxigênio  
para o embrião. Esta redução na disponibilidade de oxigênio pa  
ra o embrião devido ao excesso de água, dificultando a livre di  
fusão do oxigênio, foi observada em cana-de-açúcar, onde a germi  
nação foi bastante reduzida quando nesta condição (Dasberg e Men  
del, 1971; Yang e Chen, 1979). Quando em volume reduzido de água,  
apesar da presença dos inibidores a germinação ocorre normalmen  
te. Este fato poderia ser explicado pela livre difusão de oxigênio

através do poro basal, sendo suficiente para manter o processo da germinação.

A remoção de substâncias inibidoras do tegumento, com tratamentos de lavagem das sementes, anula o efeito inibidor da germinação causado pela obstrução do poro basal, devido ao volume excessivo de água corroborando a hipótese da existência de dois mecanismos independentes no controle da germinação destas sementes.

A diminuição da respiração quando sob anaerobiose em consequência do excesso de água, poderia limitar a síntese de etileno, provocando uma redução na germinação, já que este gás está envolvido na germinação de várias espécies (Mayer e Poljakoff-Mayber, 1975; Jackson et al., 1981; Jones e Hall, 1981).

O nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) geralmente inibe a germinação de sementes, por inibir a ação do etileno endógeno (Beyer Jr., 1976; Cardoso e Felipe, 1983). Em sementes de beterraba açucareira não foi verificada inibição da germinação por ação do  $\text{AgNO}_3$ . Foi aventada a hipótese de que o íon  $\text{NO}_3^-$  poderia estar mascarando a inibição exercida pelo íon  $\text{Ag}^+$ . Testou-se então o efeito do  $\text{NO}_3^-$  na germinação das sementes, pelo uso do  $\text{KNO}_3$ ; entretanto, nenhuma promoção foi observada.

Na literatura é salientada a ação do perclorato de mercúrio na captação do etileno liberado para o ambiente, reduzindo a germinação, por redução do nível de etileno (Abeles, 1973). Quando este efeito foi testado em sementes de beterraba açucareira, não houve redução na germinação. Através da utilização de cromatografia a gás não foi detectada a presença de etileno. Pelo exposto, acredita-se que etileno provavelmente não está envolvido

diretamente na germinação de sementes de *Beta vulgaris*, cv. Kawe megamono.

Já que a inibição da germinação devido a redução na respiração não foi causada pela supressão na síntese de etileno, sugeriu-se que a anaerobiose (devido ao excesso de água), poderia estar provocando a produção de etanol através da fermentação alcóolica, e que este inibiria a germinação por causa de sua toxicidade. Não se conseguiu entretanto, detectar etanol em extratos de sementes mantidas em excesso de água. Também sementes mantidas em placas com papel umedecido com etanol em diversas concentrações não tiveram sua germinação inibida. Deve-se salientar, entretanto, que etanol foi detectado em extratos de sementes mantidas em placas com papel de filtro umedecido com etanol a 2%, durante 6 dias, tratamento que não afetou a germinação, mostrando que quantidades detectáveis pelo método colorimétrico do dicromato estão abaixo da concentração com atividade biológica (causa inibição da germinação). Provavelmente, o etanol detectado é resíduo da solução utilizada e não produzido por respiração anaeróbica ou fermentação alcóolica.

Crawford (1977) postulou que o acúmulo de etanol, causa danos nos tecidos embrionários de sementes de ervilha, através de seu efeito na estrutura da membrana e que etanol suprido exogenamente era menos tóxico do que o produzido endogenamente. Por outro lado, Jackson et al. (1982), não conseguiram demonstrar nenhuma toxicidade de etanol em plantas intactas ou pecíolos isolados de ervilha, mantidos em solos com alta disponibilidade de água.

Em cevada, foi observado acúmulo de etanol em tecidos

de sementes mantidas em solos com quantidade excessiva de água. Entretanto, sementes não deterioradas toleraram maiores concentrações de etanol do que sementes deterioradas, isto porque nas últimas a protusão da radícula demorou mais a ocorrer, havendo acúmulo de etanol em níveis tóxicos (Ellerton e Perry, 1983). Em soja foi demonstrado que sementes deterioradas acumulam mais etanol e acetaldeído do que sementes não deterioradas, durante a embebição, e sugere-se que isto ocorre devido a um desbalanceamento entre glicólise e Ciclo de Krebs, causado pelo processo de deterioração. Em torno de 4 a 8 horas de embebição, o nível de etanol e acetaldeído declina, possivelmente por causa da utilização metabólica de etanol, via acetaldeído, pelo ciclo de Krebs (Woodstock e Taylorson, 1981). Sabe-se que sob condições aeróbicas, etanol pode ser oxidado a acetaldeído, este convertido em acetato e finalmente utilizado no ciclo de Krebs (Oppenheim e Castelfranco, 1967). Contudo, etanol é somente um dos vários produtos da respiração anaeróbica e outros compostos intermediários, tais como ácido láctico, acetaldeído e dióxido de carbono podem estar envolvidos e atuar aditivamente ou sinergisticamente, como observado por Andrews e Pomeroy (1979), em plântulas de cevada onde havia morte das mesmas quando etanol e  $\text{CO}_2$  ocorriam juntos, não havendo efeito quando isolados. Portanto, a concentração de etanol detectada em sementes pode ser vista como um indicador do período e nível de respiração anaeróbica e não necessariamente como a causa da perda da viabilidade. Em sementes de *Chorisia speciosa* a anaerobiose não afeta a germinação, mas no entanto provoca redução no subsequente crescimento das plântulas, ocorrendo morte das mesmas, devido ao acúmulo de etanol. Foi observado um aumento nas concentrações de malato e lactato, só que em níveis bem inferiores ao de etanol (Joly e Crawford, 1983).



Sabe-se também, que a tolerância à falta de oxigênio, devido ao excesso de água, é função da limitação da produção de etanol, pois nas espécies mais tolerantes, etanol praticamente não se acumula, sendo que sua produção está associada com a diminuição da viabilidade. Em ervilha, houve maior produção de etanol e perda mais rápida da viabilidade do que em arroz, que é mais tolerante a anaerobiose (Crawford, 1977).

O comportamento das sementes no solo quando sob excesso de água foi semelhante ao ocorrido sob condições de laboratório.

A emergência das plântulas foi influenciada pelo conteúdo de água do solo e pela temperatura do ambiente. O excesso de umidade do solo (40%), reduziu drasticamente a velocidade de emergência, tanto a 25°C como a 35°C, porém a temperatura de 35°C exerceu influência negativa no desenvolvimento das plântulas, reduzindo o vigor, já que ocorreu morte de grande parte das plântulas emergidas. É possível que o excesso de água no solo tenha reduzido a disponibilidade de oxigênio, acarretando a redução na emergência das plântulas, por diminuir a respiração alterando o metabolismo das plântulas. Sob condição de laboratório foi observado comportamento semelhante, em relação ao excesso de água (10 ml), sendo que a 35°C houve uma redução da viabilidade, sob qualquer condição de volume de água testado. Em sementes de beterraba açucareira foi observado que a sensibilidade ao excesso de água era variável de acordo com o lote, salientando a hipótese de haver diferença no vigor das sementes (Perry, 1972). Segundo Perry e Harrison (1974), em beterraba açucareira este efeito adverso devido à disponibilidade excessiva de água, não é letal, já que quando sementes mantidas sob esta condição, são colocadas

em placas com papel umedecido com pouca água, germinam normalmente. No cultivar utilizado neste trabalho, a partir do 4º dia começou a haver redução na viabilidade de sementes mantidas a 35°C e com excesso de água, sendo que aos 12 dias a redução foi bem acentuada. Sendo assim, a interação entre estes dois fatores do ambiente faz com que os mesmos afetem o vigor das sementes, chegando a um ponto em que a perda da viabilidade é tão acentuada que o processo se torna irreversível.

## VI - CONCLUSÕES

Baseando-se nos resultados apresentados neste trabalho, pode-se afirmar que as condições de temperatura ideais para a germinação de sementes de *Beta vulgaris*, cv. Kawemegamono, seriam de temperatura constante na faixa de 15 a 25°C no escuro, sendo que a 25°C a ocorrência da germinação independe da presença ou não de luz. Quando em temperaturas alternadas com 25°C a cada 12 horas, a germinação máxima ocorre, sem perda da viabilidade das sementes, a 5, 10 e 15°C, no escuro. Já a 25°C, ocorre tanto na luz quanto no escuro. As sementes deste cultivar possuem portanto um fotoblastismo dependente de temperatura. Em presença de temperaturas altas (30 e 35°C) as sementes perdem rapidamente a viabilidade.

Neste cultivar, o tegumento das sementes exerce grande influência no controle da germinação, tanto pela sua morfologia externa, onde o poro basal se constitui em uma região bastante importante, devido a estar envolvido no controle das trocas gasosas, como também pela presença de substâncias inibidoras da germinação.

Em relação à disponibilidade de água, estas sementes só atingem alta germinação quando mantidas em um baixo teor de umidade tanto no solo como em caixas gerbox. A redução na respiração causada pelo volume excessivo de água, não é devida à ação do etanol ou redução da disponibilidade de etileno, já que os mesmos aparentemente não estão envolvidos diretamente no processo germinativo desta espécie.

A lavagem em água corrente e a escarificação mecânica, promoveram a germinação das sementes deste cultivar.

## VII - RESUMO

Em virtude da carência de informação a respeito da fisiologia da germinação de sementes de beterraba açucareira (*Beta vulgaris* L.) e de sua importância econômica, procurou-se determinar as condições ambientais ideais para a germinação destas sementes e também quais as causas da baixa germinação e como superá-las.

A temperatura tem grande influencia na germinação das sementes desta espécie, sendo a faixa ótima localizada entre 15°C e 25°C constante, quando no escuro, pois a partir de 30°C já ocorre redução na viabilidade. Na luz a temperatura ótima é de 25°C. Quando em temperaturas alternadas, ocorre maior germinação na ausência de luz, em temperaturas abaixo de 20°C, mas a partir daí elas se comportam como indiferentes à presença de luz. A 35°C apesar da germinação ser alta, não é aconselhável o seu uso, já que há uma redução acentuada na viabilidade das sementes.

De uma maneira geral, ficou comprovado que as sementes de beterraba açucareira possuem dois tipos de impedimentos à sua germinação. Um seria a presença de inibidores no tegumento. O outro seria a própria morfologia da semente. A semente desta espécie apresenta duas regiões bem distintas, as quais são formadas pelo poro basal e pelo opérculo, sendo constatado que o poro basal é a principal região atuando nas trocas gasosas.

As sementes desta espécie são sensíveis à disponibilidade de água no substrato de cultivo, tendo sua germinação reduzida

quando mantidas em volume excessivo de água. Esta sensibilidade das sementes ao excesso de água está ligada à redução na respiração. A diminuição do processo respiratório, a qual causa redução na germinação, poderia estar associada à supressão na síntese de etileno ou produção de etanol. Contudo, ficou comprovado que nenhum dos dois processos é responsável pela inibição da germinação de sementes de beterraba açucareira quando em presença de excesso de água.

Pode-se afirmar, que tanto a lavagem em água corrente como a escarificação mecânica, são eficientes na promoção da germinação das sementes de *Beta vulgaris*, cv. Kawemagamoto.

## VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABELES, F.B.; 1973. *Ethylene in Plant Biology*. Academic Press, London. 302p.
- ADKINS, S.W. & ROSS, J.D.; 1981. Studies in wild cat seed dormancy. *Plant Physiol.*, 67:358-362.
- AHRING, M; WILLAMS, W.A. & WYSER, E. 1963. Effects of various treatment in breaking seed dormancy in sand lovergrass. *Tragrostis trichoides* (Nutt.) wood. *Crop. Sci.*, 3:131-133.
- AKESON, W.R. and WIDNER, J.N. 1980. Laboratory packed sand test for measuring vigor of sugar beet seed. *Crop. Sci.* 20:641-643.
- AKESON, W.R.; HENSON, M.A.; FREYTAG, A.H. & WESTFALL, D.G. 1980. Sugarbeet fruit germination and emergence under moisture and temperature stress. *Crop Sci.* 20:735-739.
- AKESON, W.R. 1981. Relationship of sugarbeet fruit size to vigor of commercially processed seed lots and cultivars. *Crop. Sci.* 21:61-65.
- ALBRECHT, K.A.; OELKE, E.A. & BRENNER, M.L. 1979. Abscisic acid levels in the grain of wild Rice. *Crop. Sci.* 19:671-676.
- ALMEIDA, L.D.A; MAEDA, J.A. & FALIVENE, S.M.P. 1979. Efeitos de métodos de escarificação na germinação de sementes de cinco leguminosas forrageiras. *Bragantia*, 38:83-96.
- AMARAL, J.D. 1978. *A beterraba sacarina*. Lisboa, Classica Editora. 606p.
- AMEN, R.D. 1967. The effects of gibberellic and scarification on the seed dormancy and germination in *Luzula spicata* L. *Physiol. Plant.* 20:6-12.
- AMEN, R.D. & CARTER, G.E. & KELLY, R.J. 1970. The nature of seed dormancy and germination in the salt Marsh Grass (*Distichlis spicata*). *New Phytol.*, 69:1005-1013.

- ANDREWS, C.J. & POMEROY, M.K. 1979. Toxicity of anaerobic metabolites accumulating in winter wheat seedlings during ice encasement *Plant Physiol.*, 64:120-125.
- ANFIRUD, M.N. & SCHNEITER, A.A. 1984. Relationship of sunflower germination and vigor tests to field performance. *Crop. Sci.*, 24:341-344.
- AQUILA, M.E. & FERREIRA, A.G. 1984. Germinação de sementes escarificadas de *Araucaria angustifolia* em solo. *Ciência e Cultura*, 36:1583-1589.
- ARTSWAGER, E. 1927. Development of flowers and seed in the sugar beet. *J. Agric. Res.*, 34:1-25.
- BARNES, A.C. 1974. *The sugar cane*. (2<sup>o</sup> ed.). Leonard Hill Books. Anglesbury, Books, 504p.
- BASKIN, J.M. & BASKIN, C.C. 1976. Evidence for metabolic adaptation to flooding in *Leavenworthia uniflora*, *J. Chem. Ecology*, 2:441-447.
- BENNET, C.W. & ESAU, K. 1936. Further studies on the relation of the curly top virus to plant tissues. *J. Agric. Res.*, 53:595-620.
- BERLYN, G.P. 1972. Seed germination and morphogenesis. In: *Seed Biology I* (Kozlowski, T.T.; ed.). New York, Academic Press. pp. 223-312.
- BEWLEY, J.D. & BLACK, M. 1978. *Physiology and Biochemistry of seeds*. (Vol. I). Springer-Verlag, New York, USA. 306 p.
- BEWLEY, J.D. & BLACK, M. 1982. *Physiology and Biochemistry of seeds*. (Vol. II). Springer-Verlag, New York, USA. 339p.
- BEYER, Jr., E.M. 1976. A potent inhibitor of ethylene action in plants. *Plant. Physiol.* 58:268-271.
- BIANCHETTI, A. 1980. Testes de quebra de dormência para sementes de Guapuruvu (*Schizolobium parahyba*). Blake. *Resumo dos trabalhos técnicos*. 11.<sup>a</sup> Reunião Nacional da Pesquisa de sementes de essências florestais. Canela, RS. p.20.
- BIANCHETTI, A. 1981. Quebra de dormência em sementes de Canafístula

- (*Peltophorum dubium*) (Spreng). Taubert. *Resumos dos trabalhos técnicos*. 2.<sup>o</sup> Congresso Brasileiro de Sementes. Recife, PE. p. 106.
- BOYCE, G.; COLE, D.F. & CHILCOTE, D.O. 1976. Effect of temperature and dormancy on germination of Tall Fescue. *Crop. Sci.*, 16:15-18.
- BRAMLAGE, W.G.; LEOPOLD, A.C. & SPECHT, J.E. 1979. Inhibitional chilling sensitivity among soybean cultivars, *Crop. Sci.* 19: 811-814.
- BROWN, R. 1940. An experimental study of permeability to gases of the seed coat membranes of *Curcubita*. *Ann. Bot.*, 4:379-395.
- BROWN, S.J. 1980. Variation in germination and seedling emergence of sugar beet at sub-optimal temperatures. *Ann. Appl. Biol.* 95:143-150.
- BURCH, T.A. & DELOUCHE, J.C. 1959. Absorption of water by seeds. *Proc. Ass. Off. seed anal.*, 49:142-150.
- BURGER, D.W. & HACKETT, W.P. 1982. Influence of low temperature and gibberellic acid treatment on the germination of "Valencia" orange seeds. *Hort Science*, 17:801-803.
- BUTLER, J.E. 1975. Germination of *Stylosanthes humilis* (Townsville stylo) in cycles of alternating temperature. *Seed Sci. & Technol.*, 3:523-528.
- CARDOSO, V.J.M. & FELIPPE, G.M. 1983. Endogenous hormones and the germination of *Cucumis anguria* L. *Revta brasil. Bot.* 6:29-31.
- CHETRAM, R.S. & HEYDECKER, W. 1967. Moisture sensitivity, mechanical injury and gibberelin treatment of *Beta vulgaris* seed. *Nature*, 215:210-211.
- CHING, T.M. 1975. Temperature regulation of germination in Crimson clover seeds. *Plant Physiol.*, 56:768-771.
- CHING, T.M. & HEDTKES, S.; BOULGER, M.C. & KRONTAD, W.E. 1977. Correlation of field emergence rate and seed vigor criteria in Barley Cultivars, *Crop. Sci.*, 17:312-314.



- CHRISPEELS, M.J. & VARNER, J.E. 1967. Hormonal control of enzyme synthesis on the mode of action of gibberellic acid and abscisic acid in aleurone layers of barley. *Plant Physiol.* , 42:1008-1016.
- CID, L.P.B.; OLIVA, M.A. & CARDOSO, A.A. 1981. Efeito do potencial hídrico sobre a embebição, a respiração e a germinação da leguminosa *Cratylia floribunda*. *Pesq. agropec. bras.* , 16:883-890.
- CÔME, D. 1968. Relations entre l'oxygene et les phenomenes de dormance embryonnaire et d'inhibition tegumentaire. *Bull. Soc. Fr. Physiol. Veg.* 13:31-45.
- CÔME, D. & TISSAIOIU, T. 1972. Interrelated effects of imbibition temperature and oxygen on seed germination. In: *Seed Ecology* (HEYDECKER, W., ed.), Butterworths. pp. 157-168.
- COPE, W.A. 1982. Inhibition of germination and seedling growth of eight forage species by leachates from seeds. *Crop. Sci.* , 22:1109-1111.
- COPELAND, L.O. 1976. *Principles of seed science and technology*. Minneapolis, Burgess. 82 p.
- CORBINEAU, F. & CÔME, D. 1982. Effect of the intensity and duration of light at various temperatures on the germination of *Oldenlandia corymbosa* L. seeds. *Plant. Physiol.* , 70: 1518-1520.
- COUMANS, M. 1978. Rôle du pore basal dans la germination du glomérule de betterave sucrière. *Biol. Plant.* , 20:114-118.
- COUMANS, M. & CÔME, D. & GASPAR, T. 1976. Stabilized dormancy in sugarbeet fruits. I. Seeds coats as a physico-chemical barrier to oxygen. *Bot. Gaz.* , 137:274-278.
- COUMANS, M. & CEULEMANS, E. & GASPAR, T. 1977. Dormance stabilisée de semences de betterave sucrière. II. Rôle de l'acide abscisique *Physiol. Vég.* , 15:589-595.
- COUMANS, M. & CEULEMANS, E. & GASPAR, T. 1979. Stabilized dormancy in sugarbeet fruits. III. Water sensitivity. *Bot. Gaz.* 140:389-392.

- CRAWFORD, R.M.M. 1977. Tolerance of anoxia and ethanol metabolism in germinating seeds. *New Phytol.*, 79:511-517.
- CURTIS, R.W. 1981. Light requirement for AgNO<sub>3</sub> inhibition of ethrel-induced leaf abscission from cuttings of *Vigna radiata*. *Plant Physiol.*, 68:1249-1252.
- DANIELSON, R. & TOOLE, V.K. 1976. Action of temperature and light on the control of seed germination in Tall Fescue (*Festuca arundinacea*). *Crop. Sci.*, 16:317-319.
- DASBERG, S. & MENDEL, K. 1971. The effect of soil water and aeration on seed germination. *J. Exp. Bot.*, 22:992-998.
- DELOUCHE, J.C.; STILL, T.W.; RASPPERT, M. & LIENHARD, M. 1962. The tetrazolium test seed viability. *Miss. Agr. Exp. Sta. Tech. Bull.*, 51:1-63.
- DISA, S.; GUPTA, A.; RAJASEKHAR, V.K.; GUHA-MUKHERJEE, S. & SOPORY, S.K. 1982. Rhythmicity in nitrate reductase activity in wheat embryos during germination. *New Phytol.* 92:495-499.
- DONEY, D.L. & THEURER, J.C. 1980. Alcohol fuel from sugarbeets. *Utah Sci.*, 41:40-43.
- DONEY, D.L. & THEURER, J.C. 1984. Potential of Breeding for Ethanol fuel in sugarbeet. *Crop. Sci.*, 24:255-257.
- EASTIN, E.F. 1983. Redweed (*Melochia corchorifolia*) germination as influenced by scarification, temperature, and seedling depth. *Weed Sci.*, 31:229-231.
- ELLERTON, D.R. & PERRY, D.A. 1983. The influence of anoxia and ethanol on barley seed death. *Ann appl. Biol.*, 102:193-202.
- ELLIS, R.H. & ROBERTS, E.H. 1979. Germination of stored cassava seed at constant and alternating temperatures. *Ann. Bot.*, 44:677-684.
- ENU-KWESI, L. & DUMBROFF, E.B. 1980. Changes in phenolic inhibitors in seeds of *acer sacharum* during stratification, *J. Exp. Bot.*, 31:425-436.
- FAÇANHA, J.G.V.; OLIVA, M.A.; LOPES, N.F. & BARROS, N.F. 1983. Relação germinação/crescimento em espécies de Eucalipto submetidas a stresse hídrico. *Revista Árvore*, 7:177-187.

- FELIPPE, G.M. 1980. Germination of the light sensitive seeds of *Cucumis anguria* and *Rumex obtusifolius*: Effects of temperature. *New Phytol.*, 84:439-448.
- FERREIRA, A.G. & HANDRO, W. 1979. Aspects of seed germination in *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze., *Revta. brasil. Bot.*, 2:7-13.
- FERNANDEZ, G. H. & JOHNSTON, M.B. 1980. Rol del pericarpio de *Atriplex repanda* en la germinacion. II. Efectos y características del extracto acuoso del fruto. *Phyton.*, 38:59-65.
- FICK, G.W.; LOOMIS, R.S. & WILLIAMS, W.A. 1978. Sugarbeet. In: *Crop. Physiol.* (EVANS, L.T., ed.). Cambridge Univ. Press. pp. 259-295.
- FRANKLAND, B. & WAREING, P.F. 1960. Effects of gibberellic acid on hypocotyl growth of lettuce seedling. *Nature*, 185:255-256.
- FREITAS, J.A.C. & CÂNDIDO, J.F. 1972. Tratamento químico para abreviar a germinação de sementes de guapuruvu (*Schizolobium excelsum* Vog.) e de mamoeira (*Tachigalia multijuga* Bth.). *Seiva*, 76:1-10.
- GABER, S.D.; ABDALLA, F.H. & MAHDY, M.T. 1974. Treatments affecting dormancy in sweet sorghum seed. *Seed Sci. & Technol.*, 2: 305-316.
- GARDÉ, A.H.A. 1978. *Beterraba Scarina*. Lisboa, Classica Editora. 95 p. (Agricultura Moderna, 5).
- GELMOND, H. 1965. Pretreatment of leek seed as a means of overcoming super optimal temperatures of germination. *Proc. Int. Seed Test. Ass.* 30:737-742.
- GOMES, F.P. 1973. *Curso de estatística experimental*, 3 ed. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". 404 p.
- GRAMSHAW, D. 1976. Temperature/light interactions and the effect of seed source on germination of annual ryegrass (*Lolium rigidum* Gand) seed. *Aust. J. Agric. Res.*, 27:779-786.
- GRAY, D. 1975. Effects of temperature on the germination and emergence of lettuce (*Lactuca sativa* L.) varieties. *J. Hort. Sci.*, 50:349-361.

- GRAY, D. 1977. Temperature sensitive phases during the germination of lettuce (*Lactuca sativa* L.) seeds. *Ann. Appl. Biol.*, 86: 77-86.
- GREEN, D.G. & READ, D.W.L. 1983. Water use efficiency of corn, sunflower and wheat with limiting soil moisture. *Can. J. Plant. Sci.*, 63:747-749.
- HADAS, A. 1977. Water uptake and germination of leguminous seeds in soils of changing matric and osmotic water potential. *J. Exp. Bot.*, 28:977-985.
- HADAS, A. & RUSSO, D. 1974. Water uptake by seeds as affected by water stress, capillary conductivity and seed-soil water contact. I. Experimental study. *Agron. J.*, 66:643-647.
- HANDRO, W. 1969. Contribuição ao estudo da unidade de dispersão e da plântula de *Andira humilis* Mart. Ex. Benth. (*Leguminosae fotoideae*). Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo - *Boletim* 349, *Botânica*, nº 27.
- HARPER, L.W. 1970. Dormancy in japanese millet (*Echinochloa crus galli*) var. *frumentacea* (Roxb) wight.) seed. *Proc. Ass. Off. seed An.*, 60:132-137.
- HARRINGTON, G.T. 1953. The use of alternating temperatures in the germination of seeds. *J. Agric. Res.*, 23:295-332.
- HENDRICKS, S.B. & TAYLORSON, R.B. 1974. Promotion of seed germination by nitrate, nitrite, hydroxylamine, and ammonium salts. *Plant Physiol.*, 54:304-309.
- HENDRICKS, S.B. & TAYLORSON, R.B. 1976. Variation in germination and amino acid leakage of seeds with temperature related to membrane phase change. *Plant. Physiol.*, 58:7-11.
- HEYDECKER, E. & CHETRAM, R.S. 1971. Water relations of beet root seed germination. I Microbial factors with special reference to laboratory germination. *Ann. Bot.*, 35:17-29.
- HEYDECKER, W. ; CHETRAM, R.S. & HEYDECKER, J.C. 1971. Water relations of Beetroot seed germination. II. Effects of the ovary cap and of the endogenous inhibitors. *Ann. Bot.*, 35:31-42.
- HOLM, R.E. & MILLER, M.R. 1972. Weed seed germination responses to

- chemical and physical treatments. *Weed Sci.*, 20:150-152.
- IKUMA, J. 1964. The effects of temperature on the germination and radicle growth of photosensitive lettuce seed. *Pl. Cell Physiol.*, 5:429-439.
- ISIKAWA, S. & FUJII, T. 1961. Photocontrol and temperature dependence of germination of *Rumex* species. *Pl. Cell Physiol.*, 2: 51-62.
- IVENS, G.W. 1983. The influence of temperature on germination of gorse (*Ulex europaeus* L.). *Weed Res.*, 23:207-216.
- JACKSON, M.B.; CALES, K. & CAMPBELL, J. 1978. Effect of waterlogged soil conditions on the production of ethylene and on water relationships in tomato plants. *J. Exp. Bot.*, 29:183-193.
- JACKSON, M.B.; DREW, M.C. & GIFFARD, S.C. 1981. Effects of applying to the root system of *Zea mays* on the growth and nutrient concentration in relation to flooding tolerance. *Physiol. Plant.*, 52:23-28.
- JACKSON, M.B.; HERMAN, B. & GOODENOUGH, A. 1982. An examination of the importance of ethanol in causing injury to flooded plants. *Pl. Cell Environment*, 5:163-172.
- JACOBSEN, J.V. & VARNER, J.E. 1967. Gibberellic acid induced synthesis of protease by isolated aleurone layer of barley. *Plant Physiol.*, 42:1596-1603.
- JOHNSTON, M.E.H. 1979. Germination of seed. In: *Advances in research and technology of seeds*. Part 4 (Thomson, J.R. ed.). Academic Press, New York. pp. 43-48.
- JOLY, C.A. & CRAWFORD, R.M.M. 1983. Germination and some aspects of the metabolism of *Chorisia speciosa* St. Hil. seeds under anoxia. *Revta brasil. Bot.*, 6:85-90.
- JONES, J.F. & HALL, M.A. 1981. The effects of ethylene on quantitative and qualitative aspects of respiration during the breaking of dormancy of *Spergula arvensis* L. seeds, *Ann. Bot.*, 48:291-300.
- JONES, R.L. & ARMSTRONG, J.E. 1971. Evidence for osmotic regulation of hydrolitic enzyme production in germinating barley seeds. *Plant. Physiol.*, 48:139-142.

- JORDAN, J.L.; JORDAN, L.S. & JORDAN, C.M. 1983. Some effects of sulphuric acid scarification on *Polygonum pensylvanicum* L. *Ann. Bot.*, 51:855-858.
- JUNTILLA, O. 1976. Germination inhibitors in fruit extract of Red beet (*Beta vulgaris*, cv. Rubra). *J. Exp. Bot.*, 27:827-836.
- KAYE, S. 1963. Isolations of volatile poisons. In: GRADWOHL'S *Chemical Laboratory Methods and Diagnosis* (S. FRANKEL; S. REITMAN, eds.). The C.V. Mosby Co., New York, pp. 332-336.
- KENDRICK, R.E. 1976. Photocontrol of seed germination. *Sci. Prog.*, 63:347-367.
- KENDRICK, R.E. & FRANKLAND, B. 1969. Photocontrol of seed germination in *Amaranthus caudatus*. *Planta*, 85:326-339.
- KENEFICK, D.G. 1962. Formation and elimination of ethanol in sugar beet roots. *Plant Physiol.*, 37:434-439.
- KENNEDY, R.A.; BARRET, S.C.H.; VADERZEE, D.; RUMPHO, M.E. 1980. Germination and seedling growth under anaerobic conditions in *Echinochloa crus-galli* (barnyard grass). *Plant Cell and Environment*, 3:243-248.
- KETRING, D.L. 1973. Germination inhibitors. *Seed. Sci. & Technol.*, 15:305-324.
- KHAN, A.A. 1971. Cytokinins: Permissive role in seed germination. *Science*, 171:853-859.
- KHAN, A.A. ed. 1977. Seed dormancy: changing concepts and theories. In: *The Physiology and Biochemistry of seed Dormancy and Germination*. New York, North-Holland Publishing Company, pp.29-45.
- KHAN, A.A. TAO, K.L.; ROE, C.H. 1973. Application of chemicals in organic solvents to dry seeds. *Plant Physiol.*, 52:79-81.
- KHERADNAM, M. & BASSIRI, A. 1980. Seed germination and seedling growth inhibition caused sanfflower seed extracts. *Agron. J.*, 72:31-35.
- KOLLER, D. 1972. Environment control of seed germination. In: *Seed Biology Vol. II*. (Kozlowski, T.T. ed.). New York, Academic Press, pp. 1-101.

KOLLER, D.; MAYER, A.M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. & KLEIN, S. 1962. Seed germination. *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, 13: pp.1-35.

KONDRA, Z.P.; CAMPBELL, D.C.; KING, J.K. 1983. Temperature effects on germination of rapessed (*Brassic napus L.* and *B. campestris L.*). *Can.J. Plant. Sci.*, 63:1063-1065.

KONINGS, H. & JACKSON, M.B. 1979. A relationship between rates of ethylene production by roots and the promoting or inhibiting effects of exogenous ethylene and water on root elongation. *Z. Pflanzenphysiol. Bd.*, 92:385-397.

LAGOA, A.M.M.A. 1983. Fatores que afetam a germinação de *Ricinus communis L.* Tese de Mestrado - UNICAMP - 84 p.

LAGOA, A.M.M.A. & PEREIRA, M.F.A. 1982. Fotoblastismo em sementes de *Ricinus communis*: Efeito do tegumento e da temperatura. 2º Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo. *Resumo dos trabalhos técnicos.* p. 15.

LARSEN, A.L. 1965. Use for thermogradient plate for studying temperature effects on seed germination. *Proc. Int. Seed Test. Ass.*, 30:861-868.

LARSEN, A.L. & SKAGGS, D.P. 1969. Crambe seed germination response on a thermogradient plate. *Proc. Assoc. off. seed Anal.*, 59: 44-50.

LEDO, A.A.M. 1977. Estudo da causa da dormência em sementes de guapuruvu (*Schizolobium parahybum (Vell)*) Blake e orelha de negro (*Enterolobium contortisiguum (Vell)*) Morong. e métodos para sua quebra. Tese de Mestrado - Universidade Federal de Viçosa- 57 p.

LEFF, J. 1964. Interaction between kinetin and light on germination of grand rapids lettuce seeds. *Plant Physiol.*, 39:299-303.

LEOPOLD, A.C. 1980. Temperature effects on soybean inhibition and leakage. *Plant Physiol.*, 65:1096-1098.

LEOPOLD, A.C. & KRIEDEMANN, P.E. 1975. *Plant Growth and Development.* McGraw-Hill Book Co., New York. 545 p.

LEWAK, S. & KHAN, A.A. 1977. Mode of action of gibberellic acid and light on lettuce seed. *Plant Physiol.*, 60:575-577.

- LIN, N.Y.; KHATAMIAN, H.; FRETCH, T.A. 1981. Seed coat structure of three wood legume species after chemical and physical treatments to increase seed germination. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 106:691-694.
- MACKAY, D.B. 1972. The measurement of viability. In: *Viability of seeds* (ROBERTS, E.H., ed.), Chapman and Hall Ltd. London, England, pp. 172-208.
- MAEDA, J.A. & PEREIRA, M.F.A. 1982. Lavagem da semente de uva : Efeito na dormência e variação nos níveis de substância endógenas. 29 Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo. *Resumo dos Trabalhos Técnicos*. p. 20.
- MAEDA, J.A.; PEREIRA, M.F.A. & TERRA, M.M. 1984. Qualidade da semente do Cultivar Patrícia de videira: Efeito do estágio de desenvolvimento do fruto. *Bragantia* (no prelo).
- MAJOR, W. & ROBERTS, E.H. 1968. Dormancy in cereal seeds. I. The effects of oxygen and respiratory inhibitors. *J. Exp. Bot.*, 19:77-89.
- MASON, S.C.; VORST, J.J.; HANKINS, B.J. & HOLT, D.A. 1982. Standard, cold, and tetrazolium tests as estimators of field emergence of mechanically damaged soybean seed. *Agron. J.*, 74:546-550.
- MATTHEWS, D.J. & HAYES, P. 1982. Effect of temperature on germination and emergence of six cultivars of soybean (*Glycine max*). *Seed Sci. Technol.*, 10:547-556.
- MAYER, A.M. & POLJAKOFF-MAYBER, A. 1975. *The Germination of seeds* 2 nd. Ed., Pergamon Press. New York, 192 p.
- MAYER, A.M. & SHAIN, Y. 1974. Control of seed germination. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 25:167-193.
- MC DONALD, M.B. & KHAN, A.A. 1977. Factors determining germination of indian ricegrass seeds. *Agron. J.*, 69:558-563.
- MC FARLAND, A.G. & SMITH, H.L. 1965. Predrying as a method of overcoming dormancy in Virginia runner type peanut seed. *Proc. Assoc. off. seed. Anal.*, 55:121-123.
- METIVIER, J. & PAULILO, M.T. 1980. The utilization of cotyledona



- ry reserves in *Phaseolus vulgaris* L. Cv. Carioca. II The effects of 6-Benziladenina and gibberellic acid upon embryonated and detached. *J. Exp. Bot.* 31:1271-1282.
- METZGER, J.D. & SEBESTA, D.K. 1982. Role of endogenous growth regulators in seed dormancy of *Avena fatua*. I - short chain fatty acids. *Plant Physiol.*, 70:1480-1485.
- MIKKELSEN, D.S. 1966. Germination inhibitors as a possible factor in rice dormancy. *Int. Rice Comm. News Lett.* pp. 132-145.
- MILBORROW, B.V. 1963. Permeation of seeds by acetone solutes. *Nature*, 199:716-717.
- MILBORROW, B.V. 1974. The chemistry and physiology of abscisic acid. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 25:259-307.
- MITCHELL Jr., E.D. & TOLBERT, N.E. 1968. Isolation from sugar beet fruit and characterization of CIS-4-cyclohexene-1-2-dicarboximide as a germination inhibition. *Biochemistry*, 7:1019-1025.
- MURPHY, J.B. & NOLAND, T.L. 1981. Changes in phenolic acids and abscisic acid in sugar pine seed coats during stratification. *Physiol. Plant.* 52:370-374.
- NEGBI, M.; RUSHKIN, E. & KOLLER, D. 1966. Dynamic aspects of water-relations in germination of *Hirschfeldia incana* seeds. *Plant & Cell Physiol.*, 7:363-376.
- NIKOLAEVA, M.G. 1977. Factores Controlling the dormancy. In: *The Physiology and Biochemistry of seed Dormancy e Germination* (KHAN, A.A. ed.) New York, North-Holland Publishing Company. pp. 51-71.
- OELKE, E.A. & ALBRECHT, K.A. 1980. Influence of chemical seed treatments on germination of dormant wild rice seeds. *Crop.Sci.*, 20:595-598.
- OPPENHEIM, A. & CASTELFRANCO, P.A. 1967. An acetaldehyde dehydrogenase from germinating seeds. *Plant Physiol.*, 42:125.
- PARRISH, D.J. & LEOPOLD, A.C. 1977. Transient changes during soybean inhibition. *Plant Physiol.* 59:111-115.

- PENNER, D. & ASHTON, F.M. 1967. Hormonal control of proteinases activity in squash cotyledons. *Plant Physiol.* 42:791-796.
- PEREIRA, M.F.A. & MAEDA, J.A. 1981. Germinação em sementes de uva: Efeito de luz e temperatura. 1º Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo. *Resumo dos trabalhos técnicos.* p.20.
- PERINO, C. & CÔME, D. 1981. Influence du cyanure de potassium sur la germination de l'embryon de Pommier (*Pirus malus L.*) non dormant. *Physiol. Veg.*, 19:219-227.
- PERRY, D.A. 1972. Interacting effects of seed vigour and environment on seedling establishment. In: *Seed Ecology* (Heydecker, W. ed.), Butterworths. pp. 311-323.
- PERRY, D.A. & HARRISON, J.G. 1974. Studies on the sensitivity of monogerm sugarbeet germination to water. *Ann. Appl. Biol.*, 77: 51-60.
- PHANEENDRANATH, B.R. & FUNK, C.R. 1978. Germination stimulation of Kentucky Bluegrass seed permeated with plant-growth regulators dissolved in acetone. *Crop. Sci.*, 18:1037-1039.
- POLLOCK, B.M. 1972. Effects of environment after sowing on viability. In: *Viability of seeds.* (Roberts, E.H. ed.) Syracuse, USA Syracuse Univ. Press. pp. 150-171.
- POLLOCK, B.M. & TOOLE, V.K. 1966. Inhibition period as the critical temperature sensitive stage in germination of lima bean seed. *Plant Physiol.*, 41:221-229.
- PRASAD, S.V.; KUMAR, A.V.; RAO, K.N.; RAO, G.R. 1981. Relative levels of cytokinin and abscisic acid like substances in the seed and leachates of black grain *Phaseolus mungo*. *Indian J. Exp. Biol.* 19:1131-1134.
- RADLEY, M. 1979. The role of gibberellin, abscisic acid, and auxin in the regulation of developing wheat grains. *J. Exp. Bot.*, 30: 381-389.
- RANDI, A.M. & FELIPPE, G.M. 1981. Efeito da temperatura, luz e reguladores de crescimento na germinação de *Stevia rebaudiana* Bert. *Ciência e Cultura*, 33:404-411.
- RAO, S.P. & MUKHERJEE, R.K. 1978. Dormancy studies in Black Gram

(*Phaseolus mungo*, L.). *Biologia Plantarum*, 20:81-85.

RAO, V.S. & KHAN, A.A. 1975. Promotion of dark germination of lettuce seed by organic solvents and kinetin. *Plant Physiol.* 56: 80-85.

RAO, V.S. & BRAUN, J.W & KHAN, A.A. 1976. Promotive effects of organic solvents and kinetin on dark germination of lettuce seeds. *Plant Physiol.*, 57: 446-449.

REIS, G.G. 1979. Absorção de água pelas sementes de castanha - do - Brasil. *Pesq. Agropec. Bras.* 14:397-400.

ROWLAND, G.G. & GUSTA, L.V. 1977. Effects of soaking seed moisture content, temperature and seed leakage on germination of faba beans (*Vicia faba*) and peas (*Pisum sativum*). *Can.J.Plant.Sci.*, 57:401-406.

SCOTT, R.K.; HARPER, F. WOOD, D.W. & JAGGARD, K.W. 1974. Effect of seed size on growth development and yield of monogerm sugar beet. *J. Agric. Sci.*, 82:517-530.

SHAFIEL, H.S.A., 1981. Water absorption by seed of several morphological types. M. Sc. Thesis. Mississippi State University. State College. 56 p.

SIMAK, M. & KAMRA, S.K. 1970. Germination studies on norway spruce (*Picea abies*) seed of different provenances under alternating and constant temperatures. *Proc. Int. seed Test. Ass.*, 35: 383-391.

SIMON, E.W.; MINCHIN, A; MACMENAMIN, M.M.; SMITH, J.M. 1976. The low temperature limit for seed germination. *New Phytol.*, 77: 301.311.

SLABINIK, E. 1977. Fitocromo y niveles endógenos de substancias tipo giberelinas en la germinacion de *Lactuca sativa*, cv. Grand rapids. *Phyton*, 35:1-101.

SMITH, H. 1975. *Phytochrome and Photomorphogenesis*. McGraw-Hill. 235 p.

SNEDECOR, G.W. & COCHRAN, W.G. 1967. *Statistical Methods*. The Iowa State University Press, Ames., Iowa.

- SPEER, H.L.; HSIAO, A.I. & VIDAGER, W. 1974. Effects of germination-promoting substances given in conjunction with red light on the phytochrome-mediated germination of dormant lettuce seeds (*Lactuca sativa* L.) *Plant Physiol.*, 54:852-854.
- SPYROPOULOS, C.G. & LAMBIRIS, M.P. 1980. Effect of water stress on germination and reserve carbohydrate metabolism in germinating seeds of *Ceratonia siliqua*. L. *J. Exp. Bot.*, 31:851-857.
- STUBBENDIECK, J. & McCully, W.G. 1976. Effect of temperature and photoperiod on germination and survival of sand bluestem. *J. Range Management.*, 29:206-208.
- TAKAKI, M.; KENDRICK, R.E. & DIETRICH, S.M.C. 1981. Interaction of light and temperature on the germination of *Rumex obtusifolius* L. *Planta*, 152:209-214.
- TAKEBA, G. & MATSUBARA, S. 1976. Analysis of temperature effect on the germination of New York Lettuce seeds. *Plant. Cell. Physiol.*, 17:91-101.
- TAYLORSON, R.B. & HENDRICKS, S.B. 1972. Phytochrome control of germination of *Rumex crispis* L. seeds induced by temperature shifts. *Plant Physiol.*, 50:645-648.
- TAYLORSON, R.B. & HENDRICKS, S.B. 1977. Dormancy in seeds. *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, 28:331-354.
- TISCHER, C.R. & YOUNG, B.A. 1983. Effects of chemical and physical treatments on germination of freshly-harvested Bleingrass seed. *Crop. Sci.*, 23:789-792.
- TOOLE, V.K. 1973. Effects of light, temperature and their interactions on germination of seed. *Seed. Sci. Technol.*, 1:389-396.
- TOOLE, V.K. 1976. Light and temperature control of germination in *Agropyron smithii* seeds. *Plant, Cell Physiol.*, 17:1263-1272.
- TOOLE, V.K. & KOCH, E.J. 1977. Light and temperature controls of dormancy and germination in *Bentgrass* seeds. *Crop. Sci.*, 17:806-811.
- TOTTERDELL, S. & ROBERTS, E.H. 1981. Ontogenetic variation in response to temperatures change in the control of seed dormancy of *Rumex obtusifolius*, L. and *Rumex Crispis* L. *Plant & Cell Environment*, 4:75-80.

- YAKLICH, R.W. & KULIK, M.M. 1979. Evaluation of vigor tests in soybean seeds: relationship of the standard germination test, seedling vigor classification seedling length, and tetrazolium staining to field performance. *Crop. Sci.*, 19:245-252.
- YANG, S.J. & CHEN, J.B. 1979. Influence of soil moisture on germination of four sugarcane varieties. *Report of the Taiwan Sugar Research Institute.*, 83:25.34.
- YANG, S.J. & CHEN, J.B. 1980. Germination response of sugarcane cultivars to soil moisture and temperature. In: *Congress of the International Society of Sugarcane Technologists.* pp. 30-37.
- YENTUR, S. & LEOPOLD, A.C. 1976. Respiratory transition during seed germination. *Plant Physiol.*, 57:274-276.