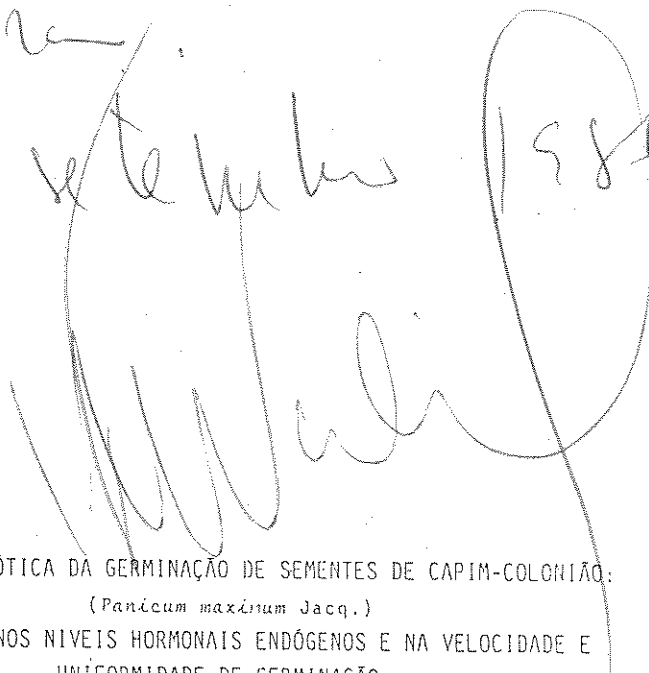


Este exemplar corresponde à
redação final da Tese defendida
pelo aluno ROBERTO USBERTI
e aprovada pela Comissão
Julgadora.

16 setembro 1986

A large, stylized handwritten signature in black ink, likely belonging to a member of the jury or the advisor.

INIBIÇÃO OSMÓTICA DA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE CAPIM-COLONIAO:
(*Panicum maximum* Jacq.)
INFLUÊNCIA NOS NÍVEIS HORMONAIS ENDÓGENOS E NA VELOCIDADE E
UNIFORMIDADE DE GERMINAÇÃO.

INIBIÇÃO OSMÓTICA DA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE CAPIM-COLONIÃO:
(*Panicum maximum* Jacq.)
INFLUÊNCIA NOS NIVEIS HORMONAIS ENDÓGENOS E NA VELOCIDADE E
UNIFORMIDADE DE GERMINAÇÃO.

ROBERTO USBERTI

Orientador: Ivany Ferraz M. Valio

Tese apresentada ao Instituto de
Biologia, da Universidade Esta-
dual de Campinas, para a obten-
ção de título de Doutor em Ciên-
cias.

CAMPINAS
ESTADO DE SÃO PAULO
1986

U N I C A M P
BIBLIOTECA CENTRAL

H O M E N A G E M

Ao meu irmão

FLÁVIO NASCIMENTO ("in memoriam"),

incentivador constante para a elaboração desta Tese

À minha esposa

MARIA HELENA e aos meus filhos

ROBERTO, BEATRIZ HELENA e FÁBIO LUIZ

D E D I C O

II

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. IVANY FERRAZ MARQUES VÁLIO, pela amizade, segurança e dedicação na orientação deste trabalho.

As biólogas ODILA VICTOR e REGINA STELA BRANDÃO DOS SANTOS, pela colaboração nos trabalhos de laboratório.

Ao irmão Dr. JOSÉ ALFREDO USBERTI FILHO, pelas críticas e correção do texto em inglês.

A Sra. MARIA REGINA DE AZEVEDO FIGUEIREDO GARCIA, pela dactilografia dos manuscritos.

A COORDENADORIA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA INTEGRAL, da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, pela oportunidade oferecida para participar do Curso de Pós-Graduação de Biologia Vegetal.

Ao DEPARTAMENTO DE FISILOGIA VEGETAL, do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, pelo Curso de Pós-Graduação em Biologia Vegetal.

Ao CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO, pela bolsa de pesquisa oferecida durante todo o transcorrer deste trabalho.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, nossos agradecimentos.

Í N D I C E

	PÁGINA
I - INTRODUÇÃO	01
II - MATERIAL E MÉTODOS	11
A - MATERIAL	11
B - MÉTODOS	11
1 - Germinação	11
2 - Inibição osmótica de germinação	15
3 - Extração de substâncias endógenas	20
4 - Análise estatística	30
III - RESULTADOS	31
A - GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE CAPIM-COLONIÃO	31
1 - Efeito de luz branca e escuro	31
2 - Efeito de temperaturas constantes	31
3 - Efeito de alternância de temperaturas	34
4 - Efeito de escarificação química com H ₂ SO ₄	34
5 - Efeito do tratamento com fungicida	42
6 - Efeitos de escarificações manual e química com H ₂ SO ₄ concentrado	44
B - INIBIÇÃO OSMÓTICA DE GERMINAÇÃO	45
1 - Embebição das sementes em água	45
2 - Embebição das sementes em PEG-6000	48
3 - Efeito da inibição osmótica em sementes intactas .	48
4 - Efeito da inibição osmótica em sementes intactas e escarificadas	53
5 - Teste final - Inibição osmótica de germinação em sementes de capim-colonião	65

C	- SUBSTÂNCIAS DE CRESCIMENTO ENDÓGENAS	72
1	- Efeito da aplicação de GA ₃ , 6-BA e ETREL nas se- mentes	74
2	- Aplicação de ácido abscísico nas sementes	76
3	- Inibição de germinação de sementes de alface por frações ácidas	76
4	- Extração de sementes intactas e escarificadas	77
5	- Detecção de substâncias promotoras nos cromatogra- mas	78
5.1	- Frações ácidas	78
5.2	- Frações neutras	84
5.3	- Frações básicas	88
6	- Determinação de ABA por espectroscopia	95
IV	- DISCUSSÃO	100
V	- RESUMO	107
VI	- SUMMARY	109
VII	- REFERÊNCIAS	111

I - INTRODUÇÃO

A semente é uma estrutura altamente organizada que contém um embrião quiescente, um complexo de matérias primas imprescindíveis para a organização celular bem como todas as informações necessárias para a germinação, crescimento, morfogênese e propagação da espécie. Além disso essas informações estão perfeitamente programadas para produzir um padrão de desenvolvimento específico nas condições ambientais para as quais a espécie está adaptada pelo processo de evolução (BERLYN, 1972).

As sementes secas são bastante resistentes a condições ambientais extremas, podendo reter sua capacidade para germinar, ou viabilidade, por consideráveis períodos de tempo, que dependem das condições de armazenamento e do tipo de semente e que são determinados geneticamente e por fatores do meio ambiente. Em geral, a viabilidade é mantida melhor sob baixas temperaturas e altas concentrações de CO₂, condições essas que reduzem a atividade metabólica das sementes (MAYER e POLJAKOFF - MAYBER, 1975).

As sementes não apresentam germinação normal até que tenham transposto um período considerável de crescimento e desenvolvimento, acumulando reservas e tornando-se secas. Elas estão então quiescentes, podendo ser armazenadas por meses ou anos sem danos, mas uma vez supridas com água hidratam-se novamente e iniciam nova fase de atividade, que resulta na protrusão da radícula e depois da plúmula à custa de materiais de reserva. Portanto, a semente seca caracteriza-se como o ponto decisivo na vida da semente entre a fase de desenvolvimento e a fase de germinação (SIMON, 1984).

Quando uma semente viável é umedecida, a água é absorvida e tem início a respiração, a síntese protéica e outras atividades metabólicas, ocorrendo após um certo período a germinação, geralmente através da protrusão da radícula, desde que haja oxigênio suficiente para permi-

tir alguma respiração aeróbica e também uma temperatura adequada para que os vários processos ocorram a uma velocidade desejada. As fases que conduzem até a germinação visível são: embebição (rápida absorção de água), fase de descanso (ocorre a maioria dos eventos metabólicos preparatórios de germinação) e germinação (BEWLEY e BLACK, 1978).

A germinação da semente de uma planta superior compreende um número consecutivo de passos que faz com que uma semente quiescente, com baixo teor de umidade, apresente um aumento em sua atividade metabólica e inicie a formação de uma plântula a partir do embrião. O momento exato em que acaba a germinação e começa o crescimento é extremamente difícil de definir, pois a germinação é identificada pela protrusão de alguma parte do embrião pelo tegumento da semente, o que em si já é um resultado de crescimento (MAYER e POLJAKOFF-MAYBER, 1975).

Morfologicamente, germinação é a transformação de um embrião em uma plântula; fisiologicamente, é a retomada do metabolismo e crescimento suspenso anteriormente e o início de transcrição do genoma; bioquimicamente, é a diferenciação sequencial de caminhos oxidativos e sintéticos. Portanto, germinação é o direcionamento do eixo embrionário para um estado suspenso temporariamente durante a quiescência ou dormência e a iniciação de novos programas genéticos. A embebição de água é certamente essencial, pois algumas das primeiras atividades bioquímicas durante a hidratação devem envolver atividade hidrolítica (JANN e AMEN, 1977).

A grande maioria das espécies apresenta sementes com comportamento ortodoxo, isto é, o seu período de viabilidade é aumentado pelo decréscimo da temperatura, do teor de umidade e de pressão de oxigênio; entretanto, pouco se sabe sobre os efeitos quantitativos dos fatores ambientais na viabilidade de um grupo menor de espécies, chamadas recalcitrantes, em que as sementes não podem ter o seu teor de umidade reduzido abaixo de um valor relativamente alto sem danos às mesmas (ROBERTS, 1973).

O armazenamento de sementes abrange um período que vai desde a sua maturação na planta até o seu plantio, durante o qual ocorre a dete -

riação, de acordo com as espécies e condições ambientais. O ponto mais aceito como de maturidade da semente é quando atinge o máximo peso seco, chamado ponto de maturidade fisiológica, quando apresenta alto teor de umidade e máximo vigor; a partir daí começam a envelhecer e perder a qualidade. A velocidade de envelhecimento das sementes é afetada diretamente pela umidade relativa do ar (ligada ao teor de umidade das sementes) e pela temperatura, que afeta as taxas de processos bioquímicos (HARRINGTON, 1972).

A qualidade inicial das sementes a serem armazenadas é de fundamental importância, visto que o armazenamento não melhora a qualidade das mesmas. Além disso, a deterioração é um processo irreversível, que não pode ser evitado mas pode ser controlado. Quando ocorre a deterioração, a perda de germinação é apenas uma consequência mensurável, ocorrendo juntamente com outras mudanças prejudiciais. A vida média de sementes varia com as diferentes famílias, gêneros e espécies (DELOUCHE, 1968).

Há uma regra geral de que o decréscimo de 1% no teor de umidade dobra o período de viabilidade de um lote de sementes; entretanto, sementes sob armazenamento seco prolongado apresentam uma alta taxa de mutação e perdem rapidamente sua viabilidade com o aumento do teor de umidade, talvez devido ao acúmulo de mutações deletérias. Por outro lado, sabe-se que sementes podem permanecer no solo em condições que evitam a germinação e, posteriormente, produzirem plântulas vigorosas, devido aos sistemas de manutenção e reparos genéticos que são capazes de operar nessas condições (VILLIERS e EDGCUMBE, 1975).

A viabilidade de sementes pode ser determinada rapidamente através do teste bioquímico de tetrazólio, usando-se uma solução salina incolor de cloreto de 2,3,5 trifenil tetrazolium que, reagindo com átomos de hidrogênio liberados por enzimas desidrogenases envolvidas nos processos de respiração de tecidos vivos, resulta na formação de um pigmento vermelho lipossolúvel mas insolúvel em água, chamado formazan. As diferenças de cor obtidas entre tecidos de embriões normal, fraco e morto, juntamen

te com outros parâmetros, permitem uma rápida estimativa do potencial de germinação e da sanidade do embrião da semente (DELOUCHE et al, 1962 ; MOORE, 1973).

A habilidade de sementes reterem a viabilidade por prolongados períodos sem germinar, isto é, a dormência, é uma das mais importantes propriedades adaptativas das plantas, permitindo-as sobreviver durante condições sazonais adversas. Ela pode se manifestar pela ausência de condições favoráveis para germinar (por exemplo: baixo teor de umidade) ou então devido às propriedades intrínsecas da semente. No curso da evolução, diversos padrões de dormência tem surgido, os quais são característicos de certos grupos taxonômicos de espécies e que correspondem às condições climáticas de seu habitat (NIKOLAEVA, 1977).

As causas da dormência são muitas e variadas, tais como: impermeabilidade do tegumento à água e gases, imaturidade do embrião, requisitos especiais de luz e temperatura, presença de inibidores endógenos e restrição mecânica ao crescimento e desenvolvimento do embrião ou à protrusão da radícula. O grau de dormência varia mesmo dentro de um determinado lote de sementes. As sementes dormentes embebidas não germinam devido a um bloqueio metabólico, mas aparentemente mantêm uma reciclagem regular de muitos constituintes celulares e podem reparar continuamente qualquer dano citológico que ocorra (TRAN e CAVANACH, 1984).

As estruturas que impõem e mantêm a dormência variam entre as espécies, mas incluem glumas, lemas e páleas (para gramíneas) bem como pericarpo, testa, perisperma e endosperma. A completa remoção do tegumento nem sempre é necessária, pois em muitos casos várias operações físicas e químicas no mesmo, como por exemplo abrasão, perfuração e exposição ao H_2SO_4 concentrado, permitem a germinação do embrião (BEWLEY e BLACK, 1982).

Os hormônios são considerados como os agentes primários de germinação, sendo as giberelinas, ácido abscísico, citocininas, auxinas e etileno frequentemente associados à fisiologia de sementes . 0

mecanismo geral de ação hormonal como agente de mudança de um estado fisiológico para outro é por transcrição diferencial (giberelinas), por ativação da tradução (citocininas) ou por alteração na permeabilidade das membranas celulares (auxinas). Há indicações que os níveis hormonais endógenos são ajustados durante a germinação, em vez de ocorrer um balanço fisiologicamente significativo antes da embebição. Os eventos hormonais são: translocação de etileno bloqueado por auxina, dissipação de etileno, translocação de auxina e formação de giberelina, alongação celular e hidrólise de polímeros, produção de citocininas e divisão celular (JANN e AMEN, 1977).

A dormência ou a germinabilidade de uma semente parece ser controlada pela natureza de mudanças pré e pós-colheita, que são dependentes do genótipo da semente e sua sensibilidade a estímulos específicos do meio ambiente. Mudanças na semente em desenvolvimento e em tecidos na planta mãe tem sido atribuídas à possível presença de hormônios (KHAN, 1980/81).

As giberelinas aplicadas exogenamente estimulam a germinação em sementes onde a dormência ou a quiescência é imposta por muitos mecanismos, tais como desenvolvimento incompleto do embrião, tegumentos mecanicamente resistentes, presença de inibidores de germinação e fatores ligados à capacidade fisiológica do eixo embrionário. As hipóteses sobre o modo de ação baseiam-se no seu papel definido na mobilização do endosperma de sementes de cevada; assim sendo, acredita-se que em todas as sementes cuja germinação é estimulada por giberelinas, a primeira etapa desse processo é a ação enzimática na decomposição do amido e outros substratos (JONES e STODDART, 1977).

Em geral, a atividade de citocinina é alta em frutos e sementes em desenvolvimento mas, assim que os tecidos amadurecem os níveis caem, tornando difícil a sua detecção. A perda de atividade detectável pode ser devido à conversão de bases e ribonucleosídeos ativos de citocininas em ribonucleotídeos biologicamente inativos. Estudos sobre os níveis

endógenos e a aplicação exógena de citocininas levam à conclusão de que elas estão envolvidas no controle de dormência de gemas e sementes (THOMAS, 1977).

Os inibidores endógenos podem exercer controle durante a embriogênese e a maturação da semente, particularmente na prevenção de germinação precoce. Podem também ser responsáveis pelo início e manutenção da dormência, mas seus efeitos podem ser sobrepujados por promotores endógenos assim que a dormência termina (BLACK, 1980/81). Observações de que o ácido abscísico (ABA) é um inibidor efetivo de crescimento e que ocorre em sementes levam a concluir que tem um papel específico na germinação, particularmente nas sementes que passam por um período de dormência. Vários experimentos têm mostrado que os níveis de ABA caem após tratamentos para quebra de dormência e também que aplicações exógenas do mesmo inibem a germinação de sementes (WALTON, 1977).

Para a máxima eficiência no estabelecimento e desenvolvimento de uma cultura de interesse econômico é essencial que suas sementes germinem de uma maneira rápida e sincronizada, o que minimiza os efeitos de fatores adversos nos primeiros estágios da embebição e permite uma competição mais favorável com as sementes silvestres. Entretanto, muitas espécies vegetais apresentam baixa porcentagem de germinação e grande variabilidade no tempo decorrido entre a semeadura e a emergência das plântulas.

Em termos de sementes de grande cultura seria desejável que a maioria dos processos que se desenvolvem até o início do crescimento, marcado pela protrusão da radícula, ocorresse antes do seu plantio, reduzindo assim o tempo decorrido entre a semeadura e a germinação visível. Entre os vários métodos usados para preconditionar as sementes visando melhorar o seu estabelecimento destacam-se ciclos alternados de embebição e secagem, pré-germinação das sementes e hidratação controlada por meio de uma solução osmótica, tais como os polímeros de polietileno glicol - PEG (osmocondicionamento).

Os primeiros resultados sobre aceleração de germinação de sementes datam de 1959; em 1963 foram obtidos os primeiros sucessos com o uso de polietileno glicol (PEG), confirmados posteriormente em 1971; a definição de uma metodologia geral de utilização de PEG provêm de 1972; um tratamento sob temperatura de 15°C com 288g de PEG-6000 (-11,0 bars) durante 14 dias tem sido usado para muitas espécies de sementes (HEYDECKER, 1973/74).

Foi desenvolvida uma técnica em que as sementes são colocadas, em condições aeróbicas, por um período determinado (geralmente 1 ou mais semanas) e a uma temperatura específica, em contacto com uma solução de PEG-6000 quimicamente inerte mas osmoticamente ativa, em uma concentração que é suficientemente baixa para permitir a embebição quase completa tal que os processos iniciais de germinação ocorram, mas alta apenas o suficiente para evitar a emergência das radículas. Durante esse período de espera na barreira osmótica as sementes mais lentas para germinar tendem a alcançar as mais rápidas; após o tratamento as sementes podem então ser secas novamente e armazenadas; posteriormente, quando são semeadas num meio apropriado, as suas radículas emergem rápida e quase simultaneamente, mesmo sob temperaturas baixas (HEYDECKER et al, 1975).

Os critérios para a escolha de uma substância osmótica incluem que esta não deve ser tóxica nas condições de uso e deve evitar a germinação das sementes sob tratamento por um período suficientemente longo para deixá-las aptas para a germinação subsequente. Os polietileno glicóis são considerados mais inertes que outros solutos; entretanto os polímeros com peso molecular acima de 4.000 são tão viscosos que interferem com o fornecimento de oxigênio às sementes, que no caso de PEG-6000 é reduzido para 5% (HEYDECKER e COOLBEAR, 1977).

Potenciais osmóticos de soluções aquosas de PEG-6000 foram relacionados curvilinearmente com a concentração; em determinadas concentrações os potenciais osmóticos aumentaram linearmente com a temperatura. Os efeitos de concentração e temperatura nos potenciais osmóticos de so-

luções de PEG diferem daqueles da maioria de sais e açúcares. Uma equação empírica permite o cálculo do potencial osmótico de concentrações conhecidas de PEG em temperaturas de 15 a 35°C (MICHEL e KAUFMANN, 1973).

O osmocondicionamento de sementes em solução de PEG induz aumentos na germinação e no vigor, talvez devido à mobilização de materiais de reserva como açúcares, gorduras e proteínas pela ativação ou síntese "de novo" de enzimas-chave. O aumento na síntese de RNA, proteínas e enzimas em sementes tratadas pode ser devido à remoção de ácido abscísico e/ou produção de fatores promotores (KHAN et al, 1978).

Resultados altamente promissores foram obtidos após osmocondicionamento em polietileno glicol de sementes de cebola (HEYDECKER et al, 1973), aveia (AKALEHIWOT e BEWLEY, 1977), tomate (RUMPEL e SZUDYGA, 1978), aipo (RENNICK e TIERNAN, 1978), soja, sorgo e milho (BODSWORTH e BEWLEY, 1981) e gramíneas forrageiras (ADEGBUYI et al, 1981). O osmocondicionamento pode também ser usado para manter sementes em um estado não germinado mas embebido por períodos prolongados (KING e ROBERTS, 1982; ATHERTON e FAROQUE, 1983).

Para o sucesso do osmocondicionamento vários fatores têm que ser analisados, tais como o potencial osmótico, a temperatura e duração do tratamento bem como o efeito de secagem nas vantagens obtidas. Segundo KHAN et al (1980/81), os requisitos gerais para osmocondicionamento de sementes com PEG-6000 são:

- a) o potencial osmótico deve ser de -5 a -20 bars;
- b) a temperatura deve ser de 10 a 20°C;
- c) a duração do tratamento pode variar de 4 a 35 dias;
- d) as sementes devem ser protegidas do ataque de microorganismos e proliferação de patógenos;
- e) deve haver amplo suprimento de oxigênio.

O melhoramento vegetal em cereais tem-se direcionado para a obtenção de cultivares com germinação rápida e uniforme, conduzindo a

uma frutificação sincronizada e facilitando as operações de colheita , visto que o rendimento econômico geralmente situa-se na produção final de sementes. Em gramíneas forrageiras, entretanto, o rendimento econômico de cultura provém do crescimento vegetativo, sendo que a produção de sementes pode depreciá-lo; deste modo os melhoristas têm concentrado esforços nas características vegetativas, resultando que a germinação permanece similar às espécies e raças não cultivadas, sendo em geral lenta e abrangendo considerável período de tempo.

A espécie Panicum maximum Jacq. é uma apomítica facultativa, nativa da África tropical e sub-tropical e largamente usada como gramínea forrageira em climas quentes. É uma espécie geneticamente variável, cujos cultivares incluem muitos tipos morfológicos diferentes, sendo que as sementes frescas da maioria deles são difíceis de germinar em laboratório. A baixa qualidade das sementes é devido à maturação desuniforme, degradação rápida da semente madura e a presença de dormência (HARTY et al, 1983).

A ocorrência de dormência em sementes de Panicum maximum Jacq. já é um fato comum na literatura científica e várias tentativas tem sido feitas para induzir a germinação em sementes dormentes. Os melhores resultados para a quebra da dormência dessas sementes foram obtidos com utilização de armazenamento seco (HARTY e BUTLER, 1975; SMITH, 1979) ou então com a escarificação química com ácido sulfúrico concentrado (HANSEN e NICHOLS, 1965; SMITH, 1971). O teste de tetrazólio tem sido usado com sucesso para testar a qualidade e prever o potencial de germinação dessas sementes (JOHNSTON e TATTERFIELD, 1971; USBERTI e ORTOLANI, 1975).

A escolha do capim-colonião (Panicum maximum Jacq.) para este trabalho deveu-se ao fato de que, com o advento de moderna tecnologia para a formação de pastagens através de sementes, ele tornou-se a gramínea forrageira mais utilizada para este fim, devido principalmente à sua rusticidade, boas características zootécnicas e fácil obtenção de sementes. A semente comercial de capim-colonião é uma espiguetas, consistindo

de um cariopse enclausurado por uma rígida lema e pálea para formar o florete fértil, que por sua vez é envolto pela lema e pálea do florete estéril e as glumas.

O longo período de tempo requerido e a grande desuniformidade na germinação das sementes de capim-colonião tem acarretado muitas falhas no estabelecimento da cultura, problema este que se torna antieconômico e é agravado quando utiliza-se a sementeira aérea. A variabilidade na amplitude de germinação, por outro lado, parece ser devida, em grande parte, à presença de ecotipos diferentes e à desuniformidade de maturação das sementes de um mesmo lote.

O objetivo geral deste trabalho é o desenvolvimento de metodologia adequada para acelerar e uniformizar a germinação de sementes de capim-colonião, segundo a técnica preconizada por HEYDECKER et al (1975). Inicialmente serão determinadas as condições ideais para a germinação, testando-se a influência de luz e de temperatura. A seguir proceder-se-á a embebição das sementes em solução osmótica de polietileno glicol 6000, em diferentes tempos e sob diferentes temperaturas; a partir daí as sementes serão secas artificialmente até o seu teor de umidade inicial e posteriormente submetidas a teste normal de germinação. Serão ainda verificadas as relações hormonais endógenas em sementes dormentes e quiescentes, antes e após osmocondicionamento em PEG-6000, visando-se elucidar a dormência bem como os processos para acelerar e uniformizar a germinação.

II - MATERIAL E MÉTODOS

A - MATERIAL

Foram utilizadas "sementes" (botanicamente espiguetas) de capim-colonião (Panicum maximum Jacq.) provenientes das regiões de Araçatuba e São José do Rio Preto, no Estado de São Paulo e colhidas nos anos de 1979, 1980, 1981 e 1983. Na escolha das amostras de sementes visou-se obter a maior variabilidade quanto à origem e porcentagens de germinação e de pureza física. Para os testes de inibição osmótica de germinação com o uso de polietileno-glicol 6000 Carbowax (PEG) bem como para a extração de substâncias endógenas foram usadas seis amostras de sementes do ano de 1983, sendo que duas apresentavam alta dormência e as quatro outras baixa dormência, detectada por escarificação química com ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado, que estão especificadas na página 19, item 2.5.

B - MÉTODOS

1 - Germinação

Para os estudos de germinação foram tomadas, ao acaso, quatro repetições de 100 sementes puras de cada amostra em teste, que foram semeadas em caixas plásticas para germinação (gerbox) tendo como substrato duas folhas de papel de filtro $250g/m^2$, previamente umedecidas em água destilada ou solução a 0,2% de nitrato de potássio (KNO_3). Efeetuaram-se contagens periódicas de germinação, considerando-se como germinadas as sementes que originaram plântulas com sistema radicular e plúmula bem definidos. O reumedecimento dos substratos, quando necessário, foi feito exclusivamente com água destilada.

As amostras de sementes permaneceram, durante o período de teste, acondicionadas em sacos de papel e armazenadas em condições de câmara seca (20°C e 35% de umidade relativa do ar). Todas as amostras de sementes foram inicialmente uniformizadas, reduzidas até a obtenção de amostras de trabalho e a seguir conduzidas para a análise de pureza, obtendo-se então as sementes puras, de acordo com as prescrições de Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1976).

A viabilidade das sementes foi detectada pelo teste de tetrazólio (DELOUCHE et al, 1962), utilizando-se quatro repetições de 50 sementes puras de cada amostra, que foram inicialmente pré-embecidas em água destilada durante 14 horas e a seguir cortadas longitudinalmente ao meio, colocando-se uma das metades em solução a 0,2% de cloreto de 2,3,5 trifenil tetrazolium, onde permaneceram por 6 horas; procedeu-se então à leitura do teste, adotando-se como padrão de semente viável a presença de cor vermelha em regiões vitais do embrião, devido à formação de formazan (USBERTI e ORTOLANI, 1975). Os resultados de viabilidade foram adotados como parâmetros da porcentagem máxima de germinação das amostras de sementes.

Para se determinar as condições ideais para obter a máxima porcentagem de germinação de sementes de capim-colonião foram analisados os efeitos de luz e escuro, de temperaturas constantes, de alternância de temperaturas, de escarificação manual e química com H₂SO₄ concentrado e de tratamento com fungicida.

1.1 - Luz branca e escuro

Foram utilizadas dez amostras de sementes, ano 1979, que foram colocadas para germinar sob luz branca a 25°C-constante, sob escuro a 25°C-constante e sob alternância de temperaturas de 15-35°C (16 e 8 horas diárias, respectivamente, com luz branca a 35°C), que é o teste padrão de germinação prescrito pelas Regras para Análise de

Sementes (BRASIL, 1976). As contagens parciais de germinação foram efetuadas aos 3,5,8,11,14 e 17 dias e a final aos 28 dias. Determinou-se também a viabilidade de cada amostra de sementes através do teste de tetrazólio. A temperatura constante de 25°C com luz branca ou escuro foi obtida em câmara climática Forma Scientific enquanto que a alternância de temperaturas foi obtida em germinador automático FANEM modelo 348.

1.2 - Temperaturas constantes e alternadas

Neste experimento foram utilizadas dez amostras de sementes, ano 1979, que foram colocadas para germinar em temperaturas constantes (15°C, 20°C, 25°C, 30°C e 35°C, sob luz branca) e em alternância de temperaturas (15-35°C, luz a 35°C; 15-35°C, luz contínua; 20-30°C, luz contínua; 15-35°C, luz a 15°C; 20-35°C, luz contínua; 25-35°C, luz contínua; 30-35°C, luz contínua). Para tanto foram utilizados germinadores automáticos FANEM modelos 346 e 348, procedendo-se a contagens intermediárias de germinação aos 7 e 14 dias e uma final aos 21 dias.

1.3 - Escarificação química com H₂SO₄ concentrado

Neste experimento analisou-se o efeito da escarificação com ácido sulfúrico concentrado e temperatura de 25°C e alternância de 15-35°C na eliminação de uma possível dormência em sementes de capim-colonião. Foram usadas vinte e uma amostras de sementes, sendo treze do ano 1980 e oito de 1979. Após a instalação do teste padrão de germinação, foram retiradas ao acaso, das sementes puras de cada amostra, três frações de aproximadamente 1.200 sementes, que foram tratadas com H₂SO₄ concentrado durante 3, 5 e 10 minutos, respectivamente. A seguir as sementes foram lavadas em água corrente durante

um minuto e deixadas imersas em água destilada durante uma hora, sendo posteriormente postas para secar sobre folhas de papel de filtro, a permanecerem por mais 2 horas. De cada uma das frações de sementes foram retiradas ao acaso oito repetições de 100 sementes, sendo que quatro repetições foram colocadas para germinar sob 25°C sob luz contínua e as outras quatro sob alternância de temperaturas de 15-35°C, com luz a 35°C.

Assim sendo, para cada uma das amostras de sementes foram testados os seguintes tratamentos:

- Semente intacta - germinação a 15-35°C (teste padrão de germinação);
- Semente escarificada com H₂SO₄ concentrado durante 3 minutos:
 - germinação a 25°C;
 - germinação a 15-35°C;
- Semente escarificada com H₂SO₄ concentrado durante 5 minutos:
 - germinação a 25°C;
 - germinação a 15-35°C;
- Semente escarificada com H₂SO₄ concentrado durante 10 minutos:
 - germinação a 25°C;
 - germinação a 15-35°C

1.4 - Tratamento com fungicida

Para se determinar o efeito de fungicida Kobutol (Pentacloro nitrobenzeno PCNB - 75%) na velocidade e total de germinação foram usadas nove amostras de sementes intactas, ano 1980, que, sem tratamento e com a aplicação do defensivo na dosagem de 2,5g do produto/kg de sementes foram colocadas para germinar sob 25°C e alternância de 15-35°C. Foram utilizados germinadores automáticos FANEM modelo 348 e as contagens de germinação iniciaram-se aos dois dias e prosseguiram até a obtenção do total de germinação.

1.5 - Escarificações manual e química com H₂SO₄ concentrado

Neste experimento analisou-se o efeito de escarificação química com H₂SO₄ concentrado durante 5 minutos e escarificação manual na velocidade e total de germinação das sementes. Foram utilizadas quatro amostras de sementes, ano 1980, que foram colocadas para germinar sob alternância de 15-35°C, com luz a 35°C, obtida em germinador automático FANEM modelo 348, efetuando-se contagens parciais de germinação aos 5,8,12 e 19 e a final aos 25 dias.

1.6 - Velocidade de germinação

Para todos os testes de germinação efetuados determinou-se paralelamente a velocidade de germinação, através do coeficiente de velocidade de KOTOWSKI (1926) abaixo:

$$\text{Coeficiente de velocidade} = 100 \cdot \frac{A_1 + A_2 + \dots + A_n}{A_1T_1 + A_2T_2 + \dots + A_nT_n}$$

onde A = número de sementes germinadas

T = tempo em dias correspondentes a A

Para representação gráfica a velocidade de germinação foi calculada em porcentagem sobre o total de germinação obtido (valor máximo).

2 - Inibição osmótica de germinação

Foram instalados vários experimentos para se determinar as melhores condições para a inibição osmótica de germinação de sementes de capim-colonião. Para tanto as sementes foram embebidas, em gerbox com duas folhas de papel de filtro, com solução contendo 288g de PEG- 6000 por quilo de água, em diferentes tempos e sob várias temperaturas. Estudou-se também a embebição dessas sementes em água destilada.

Para o cálculo dos potenciais osmóticos da solução de

PEG-6000 nas temperaturas em teste adotou-se a fórmula de MICHEL e KAUFMANN (1973), obtendo-se:

15°C = - 11,0 bars

20°C = - 10,3 bars

25°C = - 9,5 bars

2.1 - Embebição das sementes em água

Este experimento teve a finalidade de determinar a velocidade e demais características da embebição de sementes de capim-colônião em água destilada e para tanto foram analisados períodos de tempo até 48 horas, que é o ponto próximo do qual começa a ocorrer a germinação visível (protrusão da radícula). Foram utilizadas vinte amostras de sementes, ano 1980, determinando-se o seu teor de umidade, através de estufa seca a $105^{\circ}\text{C} \pm 3$ durante 24 horas, usando-se duas repetições de 10g de sementes por amostra e calculando-se por diferença de peso com base no peso úmido das sementes. De cada amostra retiraram-se inicialmente doze repetições de 1,0g de sementes puras intactas, que foram colocadas para embeber em água durante 15', 30', 45', 1h, 4h, 7h, 12h, 14h, 21h, 24h e 48 horas, após o que foram secas sobre papéis de filtro e pesadas em balança sensível a 0,001g.

2.2 - Teste preliminar - Inibição osmótica de germinação em sementes intactas

Neste experimento buscou-se verificar a efetividade da embebição e inibição osmótica de germinação de sementes de capim-colônião

nião. Foram utilizadas duas amostras de sementes, ano 1980, testando-se uma solução osmótica de PEG-6000 (288g/kg de água), quatro períodos de tempo (7, 14, 21 e 28 dias) e duas temperaturas (15 e 20°C). Inicialmente determinaram-se o total e a velocidade de germinação das sementes; então retiraram-se oito repetições de 2,0g de sementes puras intactas de cada amostra, que foram colocadas para embeber na solução osmótica sob as temperaturas e durante os períodos de tempo citados. A seguir foram retiradas da solução, lavadas em água corrente e postas a germinar, procedendo-se a várias contagens parciais de germinação, sendo a final aos 16 dias.

2.3 - Embebição das sementes em PEG-6000

Para se determinar o teor de umidade de equilíbrio de sementes de capim-colonião embebidas em solução osmótica de PEG-6000, sob três temperaturas, para posterior comparação com os resultados da embebição em água, foram utilizadas dez amostras de sementes, ano 1980, com teor de umidade inicial conhecido. Retiraram-se a seguir três repetições de 1,0g de sementes puras intactas de cada amostra, que foram colocadas em contacto, em gerbox com duas folhas de papel de filtro, com uma solução osmótica de PEG-6000 (288g/kg de água), transferidas então para germinadores automáticos FANEM modelo 348, sob temperaturas constantes de 15°C, 20°C e 25°C. Após 48 horas, tempo a partir do qual começa a ocorrer a germinação visível na embebição em água, as sementes foram retiradas da solução, lavadas em água destilada, secas superficialmente em papéis de filtro e pesadas em balança sensível a 0,001g.

2.4 - Teste preliminar - Inibição osmótica de germinação em sementes intactas e escarificadas

Com base nos resultados dos experimentos anteriores, analisou-se a seguir os efeitos de temperatura e de período de embebição em solução osmótica na inibição de germinação e revigoração de sementes de capim-colonião, intactas e escarificadas quimicamente. Foram utilizadas seis amostras de sementes, sendo quatro do ano de 1981 e duas do ano de 1980, apresentando diferentes índices de dormência detectados por pré-tratamento com H_2SO_4 concentrado. Para cada amostra formaram-se dois grupos de sementes: intactas e escarificadas com H_2SO_4 concentrado durante 5 minutos. Durante a embebição das sementes em solução osmótica (288g de PEG-6000 por kg de água) foram testadas três temperaturas (15, 20 e 25°C) e os períodos de 7 e 14 dias. Para tanto várias sub-amostras de 1,5g de sementes, intactas ou escarificadas, foram colocadas em gerbox com duas folhas de papel de filtro, onde permaneceram em contacto com 25ml de solução osmótica sob as temperaturas e durante os períodos de tempo em teste. A seguir as sementes foram retiradas dessa solução, lavadas em água corrente por um minuto, colocadas durante 20 minutos em solução de hipoclorito de sódio a 5%, lavadas novamente em água corrente por um minuto e postas a secar sobre papéis de filtro; então parte dessas sementes foi encaminhada para armazenamento durante 2 e 5 meses a 10°C e o resto encaminhado para a obtenção do total e velocidade de germinação. Assim sendo, desenvolveu-se para sementes intactas e para sementes escarificadas os seguintes tratamentos:

PEG - 15°C - 7 dias	PEG - 15°C - 14 dias
PEG - 20°C - 7 dias	PEG - 20°C - 14 dias
PEG - 25°C - 7 dias	PEG - 25°C - 14 dias

Durante a embebição na solução osmótica verificou-se que sob 15°C e 20°C as sementes apresentaram baixa infestação de fungos,

enquanto que a 25°C a incidência foi alta; notou-se também em todos os tratamentos a quase inexistência de sementes germinadas. As contagens parciais de germinação foram aos 3,4,5,6,7,10,14 e 17 dias e a final aos 21 dias.

2.5 - Teste final - Inibição osmótica de germinação em sementes intactas e escarificadas

Neste ponto verificou-se que as amostras de sementes utilizadas em experimentos anteriores apresentavam drástica redução nos índices de germinação, inviabilizando-as portanto para o teste. Deste modo houve necessidade de se encontrar novas amostras com características de dormência semelhantes às anteriormente usadas (anos 1980 e 1981). Isto foi conseguido com seis amostras de sementes do ano 1983, escolhidas por apresentarem diferentes níveis de dormência detectados por pré-tratamento com H_2SO_4 concentrado, como se pode observar no quadro abaixo:

Amostra	Pureza Física %	Germinação %	
		Normal	H_2SO_4
1	23,9	7	42
2	62,7	18	25
3	51,6	16	28
4	57,7	14	22
5	70,2	9	19
6	58,2	4	43

Estas amostras de sementes foram utilizadas no teste final de inibição osmótica de germinação, adotando-se para tanto todos os parâmetros que conduziram aos melhores resultados em experimentos anteriores (item 2.5), ou sejam:

- a) solução osmótica: 288g de PEG-6000 por kg de água;
- b) o período de embebição de sementes intactas e escarificadas na solução osmótica foi de 7 dias, sob temperaturas de 25°C e 15°C, respectivamente;
- c) após a embebição na solução osmótica, as sementes foram lavadas em água corrente durante um minuto, colocadas por 20 minutos em solução de hipoclorito de sódio a 5%, lavadas novamente em água corrente por um minuto e postas a secar sobre papéis de filtro; então parte dessas sementes foi encaminhada para determinação de velocidade e total de germinação e a outra parte armazenada a 10°C durante dois meses. Obteve-se, portanto, os seguintes tratamentos:

PEG - 15°C - 7 dias - para sementes escarificadas

PEG - 25°C - 7 dias - para sementes intactas

As contagens parciais de germinação foram efetuadas aos 3,4,5,6,7,10,14 e 17 dias e a final aos 21 dias.

3 - Extração de substâncias endógenas

Vários experimentos preliminares foram instalados para orientar na definição da metodologia a ser utilizada para a extração de substâncias endógenas em sementes de capim-colonião.

3.1 - Aplicação de GA₃, 6-BA e ETREL nas sementes

O efeito da aplicação exógena de substâncias promotoras de crescimento na velocidade e total de germinação foi analisado visando-se relacionar a presença de substâncias inibidoras de germinação com a possível dormência nas sementes, comprovada por pré-tratamento com H₂SO₄ concentrado durante 5 minutos. Foram utilizadas duas amostras -

tras de sementes anos 1980 e 1981, com alta e média dormência, respectivamente; de cada amostra retiraram-se sete sub-amostras de 400 sementes puras intactas cada, que foram colocadas para germinar em substratos embebidos em água e em soluções de GA₃ 10⁻³M, GA₃ 10⁻⁴M, 6-BA 10⁻⁴M, 6-BA 10⁻⁵M, Etre1 60 ppm e Etre1 6 ppm. As contagens parciais de germinação foram aos 3,5,7 e 14 dias e a final aos 20 dias.

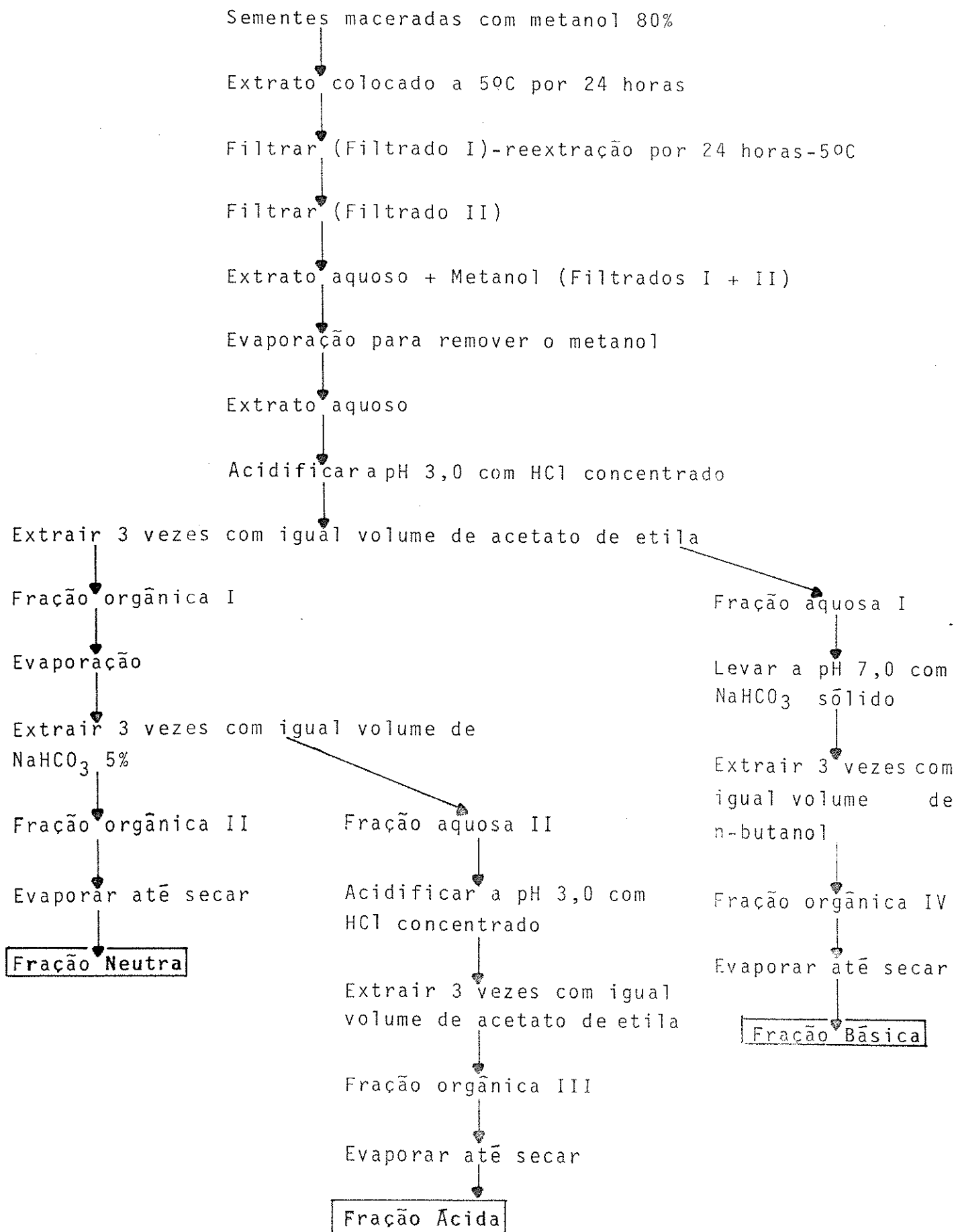
3.2 - Aplicação de ácido abscísico nas sementes

Foi analisado o efeito de ácido abscísico (ABA) na germinação de sementes intactas e escarificadas quimicamente com H₂SO₄ concentrado, visando-se determinar uma concentração específica a partir da qual começa a ocorrer a inibição de germinação e ao mesmo tempo complementar o experimento anterior (item 3.1). Foram utilizadas duas amostras de sementes, anos 1980 e 1981, com índices de dormência alto e baixo, respectivamente. De cada amostra retiraram-se sementes puras de modo a se estabelecer dois grupos: sementes intactas e sementes escarificadas; em sequência formaram-se sub-amostras com 400 sementes de cada um desses grupos, que foram colocadas para germinar em água e em soluções de ABA 10⁻³M, 10⁻⁴M e 10⁻⁵M. Efetuaram-se contagens parciais de germinação aos 4,7,9 e 15 dias e final aos 20 dias.

3.3 - Esquema de extração e fracionamento

Procedeu-se à extração e fracionamento para determinar as relações entre os níveis endógenos de substâncias reguladoras de crescimento em sementes de capim-colonião com diferentes níveis de dormência, bem como para verificar as possíveis alterações dessas relações após a embebição das sementes em solução osmótica de PEG-6000. Para tanto adotou-se a metodologia de extração apresentada na página seguinte, extraída da VÁLIO (1969) e modificada por GHERARDI (1974).

MÉTODO DE EXTRAÇÃO



Inicialmente procedeu-se a uma homogeneização das sementes durante 3 minutos em aparelho ultrasom, com cerca de 50ml de metanol 80%, sendo o nível deste completado a seguir até 100ml. Os extratos foram colocados em refrigerador por 24 horas.

Após este período as amostras foram filtradas a vácuo, sendo os filtrados (Filtrado I) colocados em novos frascos e os resíduos colocados novamente em 100ml de metanol 80% para nova extração. Todos os frascos retornaram para geladeira por mais 24 horas.

Então procedeu-se a nova filtragem a vácuo, e os filtrados (Filtrado II) foram juntados aos Filtrado I e mantidos em congelador a -10°C até o posterior fracionamento para a obtenção de frações ácidas, básicas e neutras.

3.4 - Inibição de germinação de sementes de alface por frações ácidas

Neste experimento tentou-se detectar, através de germinação de sementes de alface, a presença de inibidores de germinação relacionados com a possível dormência de sementes de capim-colonião. Foram utilizadas duas amostras de sementes, anos 1980 e 1981, com índices de dormência alto e baixo, respectivamente, detectados por H₂SO₄ concentrado. Para a extração usou-se 5,0g de sementes puras intactas de cada amostra, de acordo com o esquema citado em 3.3.

A seguir procedeu-se ao teste de inibição de germinação de sementes de alface usando-se as frações ácidas obtidas, ajustando-se os volumes para 5ml e retirando-se 1ml, que foi colocado em papel de filtro dentro de placa de Petri, deixando-se secar por meia hora. Então esses papeis foram umedecidos com água destilada, colocando-se 100 sementes de alface em cada um deles; como controle usou-se papel de filtro embebido em água destilada.

As sementes foram colocadas para germinar sob 25°C com

luz branca, em câmara climática Forma Scientific, procedendo-se à leitura inicial de germinação após 48 horas e final após 120 horas, considerando-se como critério de germinação a protrusão da radícula.

3.5 - Extração de sementes intactas e escarificadas

Foram extraídas seis amostras de sementes, ano 1983 (item 2.5), intactas e escarificadas quimicamente com H_2SO_4 concentrado durante 5 minutos, antes da embebição em solução osmótica de PEG-6000 (Testemunha-Tratamento A), imediatamente após (Tratamento B) e 2 meses depois: armazenamento a $100^\circ C$ (Tratamento C). De cada amostra retiraram-se sementes puras de modo a se estabelecer dois grupos: sementes intactas e sementes escarificadas; em sequência obteve-se duas sub-amostras de cada um destes grupos, sendo uma encaminhada para determinação da velocidade e total de germinação e a outra para extração e fracionamento. Deste modo, os resultados obtidos para velocidade e total de germinação puderam ser comparados com as relações entre níveis endógenos de substâncias de crescimento, pois provieram das mesmas sub-amostras de sementes. Para cálculo e interpretação dos resultados as amostras foram divididas em grupos de alta dormência (Amostras 1 e 6) e baixa dormência (Amostras 2,3,4 e 5).

3.6 - Cromatografia de camada delgada

As frações ácidas, básicas e neutras foram cromatografadas sobre placas de vidro de 20 x 20cm, com uma camada de sílica de 1,0mm de suspensão de silicagel G e água na proporção de 1:2 (g de sílica/ml de água destilada), com ativação por uma hora a $100^\circ C$. Os cromatogramas foram desenvolvidos num percurso de 15cm, realizado em cubas cromatográficas previamente saturadas com o sistema solvente acetato de etila: clorofórmio: ácido acético na proporção de 15:5:1 (v/v/v). Para

o caso específico de frações ácidas para detecção de ABA por fluorescência e espectroscopia, foi aplicada nas placas uma camada de sílica de 1,0mm de suspensão de silicagel fluorescente e água na mesma proporção acima.

3.7 - Biotestes

Os cromatogramas das frações ácidas, básicas e neutras a serem biotestados foram divididos em 10 faixas transversais correspondentes a 10 faixas de Rf, entre o ponto de aplicação e a frente (Rf 1.0), as quais foram subdivididas, no sentido longitudinal, em três partes iguais, originando assim as repetições de cada Rf. De cada repetição foi removida a sílica e colocada ao acaso em cubetas de polietileno, adicionando-se então 2ml de água destilada (ou de soluções padrão) e uma folha de papel de filtro por cubeta. Como controle e para as soluções padrão usou-se a mesma quantidade de sílica proveniente de placas percorridas só pelo sistema solvente. Somente foram biotestadas as regiões do cromatograma que em experimentos preliminares, demonstraram a ocorrência de substâncias promotoras.

3.7.1 - Alongamento do hipocótilo de alface

Para detecção de substâncias com atividade giberelínica foi utilizado o bioteste de alongamento do hipocótilo de alface (FRANKLAND e WAREING, 1960). Substâncias com atividade giberelínica promovem o alongamento do hipocótilo de alface, enquanto substâncias inibidoras de crescimento inibem este alongamento. Foram utilizadas sementes de alface do cultivar "Grand Rapids", que foram colocadas para germinar em placa de Petri a 25°C por 24 horas, sob luz contínua. Após este período as plântulas selecionadas por homogeneidade de tamanho foram transferidas para cubetas de polietileno, em número de quatro plântulas por

cubeta, onde foram postas em contacto com um terço de cada faixa de Rfs de um cromatograma em teste ou de controle, ou também com as soluções padrão de GA₃ da EASTMAN (0,0625; 0,125; 0,25 e 0,50 ppm). A seguir as cubetas foram transferidas para câmara de crescimento Forma Scientific a 25°C sob luz contínua, onde permaneceram por três dias, procedendo-se então à medição dos hipocótilos das plântulas em mm.

3.7.2 - Aumento do peso fresco de cotilédones de rabanete

Para detecção de substâncias tipo citocininas foi utilizado o bioteste dos cotilédones de rabanete, de acordo com LETHAM et al (1968). As substâncias com atividade citocinínica promovem o aumento do peso fresco de cotilédones de rabanete, devido principalmente à maior absorção de água. Sementes de rabanete do cultivar "Vermelho redondo" foram colocadas para germinar em placas de Petri a 30°C durante 24 horas. Após este período foi retirado o cotilédone externo de cada plântula os quais, após serem lavados em água destilada e selecionados por uniformidade de tamanho, foram transferidos para cubetas de polietileno em número de quatro cotilédones por cubeta, aã ficando em contacto com um terço de uma faixa de Rfs de um cromatograma em teste ou de controle ou também com soluções padrão de 6-Benziladenina (6-BA: 0.25; 0.50 ; 1.00; 1.25 ppm). A seguir as cubetas foram transferidas para câmara de crescimento a 25°C sob luz contínua, onde permaneceram por seis dias, procedendo-se então a pesagem dos grupos de quatro cotilédones de cada cubeta em mg.

3.8 - Detecção de regiões promotoras nos cromatogramas

Foram instalados vários experimentos com a finalidade de se detectar nos cromatogramas, obtidos a partir de frações ácidas, básicas e neutras provenientes das seis amostras de sementes intactas e esca

rificadas de capim-colonião do ano 1983, as regiões com atividade promotora tipo giberelínica ou citocinínica e, deste modo, restringir a aplicação dos biotestes específicos a essas regiões.

3.8.1 - Frações ácidas

Inicialmente tentou-se detectar em cromatogramas de frações ácidas as regiões de promoção e inibição de germinação de sementes de alface. Para tanto foram aplicadas nas cromatoplasacas 20 x 20 cm quantidades de frações ácidas equivalentes a 1,0g de sementes intactas ou escarificadas de capim-colonião, sem inibição osmótica em PEG-6000, referentes à Amostra 1, ano 1983, com alta dormência. Após o desenvolvimento das placas, os cromatogramas foram divididos conforme item 3.7 e a sílica removida para cubetas de polietileno, usando-se como controle a mesma quantidade de sílica proveniente de placas percorridas só pelo sistema solvente.

Então foram colocadas em cada cubeta dez sementes de alface "Grand Rapids", procedendo-se a contagens de germinação após 24 horas, adotando-se como padrão a protrusão da radícula; a seguir foi instalado nessas mesmas cubetas um bioteste de alongamento de hipocótilo de alface.

3.8.2 - Frações neutras

Foi instalado um bioteste preliminar, aplicando-se em cromatoplasacas 20 x 20cm quantidades de frações neutras equivalentes a 1,0g de sementes intactas da Amostra 1 - 1983 (alta dormência) sem embebição, imediatamente após e dois meses após embebição em PEG-6000. Após o desenvolvimento das placas, os cromatogramas foram divididos conforme item 3.7 e a sílica removida para cubetas de polietileno, usando-se como controle a mesma quantidade de sílica proveniente de placas percorridas

são com o sistema solvente.

3.8.3 - Frações básicas

As citocininas foram detectadas por métodos químicos e biológicos. Para se determinar quimicamente as regiões com reações de substâncias tipo citocininas no cromatograma usou-se o reagente de WOOD (AgNO₃ 2% - bromofenol azul 0,4% em acetona v/v), que é específico para substâncias purínicas, desenvolvendo forte cor azul na presença de tais grupos (WOOD, 1955). Para tanto foram aplicadas em duas cromatopla_{ca}s 20 x 20cm quantidades de frações básicas equivalentes a 1,0g de sementes intactas, sem embebição em solução osmótica de PEG-6000, da Amostra 1 - ano 1983 (alta dormência). Após o desenvolvimento das placas, um dos cromatogramas foi pulverizado com o reagente de WOOD, detectando pela cor azul a presença de grupos purina na região dos Rfs 0,1 e 0,5; com o outro cromatograma instalou-se um bioteste de aumento do peso fresco de cotilédones de rabanete conforme item 3.7.

3.9 - Determinação de ácido abscísico nos cromatogramas

3.9.1 - Fluorescência em luz ultravioleta

Todas as frações ácidas provenientes das seis amostras de sementes de capim-colonião, ano 1983, foram cromatografadas sobre cromatopla_{ca}s 20 x 20cm, com uma camada de 1,0mm de suspensão de silicagel fluorescente e água destilada (item 3.6). Para tanto foram aplicadas nas cromatopla_{ca}s quantidades de frações ácidas equivalentes a 1,0g de sementes dos vários tratamentos citados em 3.5; foi também aplicada nessas placas uma solução padrão de ABA (10⁻³M).

Após o desenvolvimento no sistema solvente, os cromato-

gramas foram observados sob luz ultravioleta, onde as regiões com o ABA apresentaram-se escuras em contraste com a fluorescência das placas. Deste modo, todas as regiões marcadas pela solução padrão de ABA foram acrescidas de uma região entre Rfs acima e abaixo, identificadas nas placas e a seguir eluidas em solução metanólica de ácido acético a 1% durante 24 horas a 50°C; posteriormente os volumes foram ajustados para 10ml (suficientes para duas leituras no espectrofotômetro), centrifugados e encaminhados para leitura por espectroscopia.

3.9.2 - Espectroscopia em luz ultravioleta

Para a quantificação de ABA por espectroscopia (KEFELI, 1978) a absorvância das soluções obtidas conforme 3.9.1 foram lidas em espectrofotômetro Varian a 230mm, comprimento de onda onde se observou o pico de absorvância da solução padrão de ABA. Os valores obtidos foram comparados com uma curva padrão de ABA; usou-se como controle no espectrofotômetro solução metanólica de ácido acético proveniente da eluição e centrifugação de faixas equivalentes de cromatogramas com sílica fluorescente desenvolvidos somente com o sistema solvente.

3.9.3 - Curva padrão de ABA para espectroscopia

Inicialmente foram obtidas as concentrações de 1.10^{-6} , 2.10^{-6} , 4.10^{-6} , 6.10^{-6} , 8.10^{-6} e 1.10^{-5} M de ABA, tomando-se então 10ml de cada uma para aplicação em placas de vidro 20 x 20cm com sílicagem fluorescente. Após o desenvolvimento das placas no sistema solvente, os cromatogramas foram observados sob luz ultravioleta e marcadas as regiões escuras correspondentes ao ABA, que foram eluidas em solução de metanol acético a 1% durante 24 horas a 50°C. A seguir, após centrifugação, os volumes foram ajustados até 10ml, procedendo-se a duas leituras em espectrofotômetro VARIAN a 230mm e então, com os resultados obtidos, determi-

nou-se uma curva padrão de ABA.

4 - Análise estatística

Os delineamentos estatísticos utilizados foram blocos ao acaso (efeitos de luz, escuro, temperaturas constantes e alternadas na germinação), completamente casualizado (biotestes), regressão (curva padrão de ABA) e fatorial (demais experimentos) (SOKAL e ROHLF, 1969). Para a análise estatística os valores totais de germinação em porcentagem foram transformados em arco sen $\sqrt{\%}$. Quando na análise de variância o teste F deu significativo a 5%, determinou-se a D.M.S. (Diferença Mínima Significativa) a 5%, que foi usada para comparação entre as médias dos tratamentos através do teste de Tukey. Nos biotestes para detecção de substâncias endógenas, utilizou-se na análise de variância o teste F para análise das diferenças entre cada faixa de mesmo Rf de cromatogramas de tratamentos diferentes.

Os símbolos usados na apresentação da análise estatística foram:

* Estatisticamente significativo ao nível de 5% de probabilidade

N.S. Não significativo

D.M.S. Diferença Mínima Significativa

C.V. Coeficiente de variação

No Teste de Tukey, a (s) média (s) seguida (s) de mesma (s) letra (s) não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de probabilidade.

III - RESULTADOS

A - GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE CAPIM-COLONIÃO

Os efeitos de luz e escuro, de temperaturas constantes, de alternância de temperaturas, de escarificação manual e química e de tratamento com fungicida, bem como a viabilidade pelo teste de tetrazólio foram analisados para se detectar as condições que conduzem ao máximo de germinação dessas sementes.

1 - Efeito de luz branca e escuro

Os resultados de germinação de sementes de capim-colonião sob luz branca e escuro, juntamente com os de teste padrão e de viabilidade pelo tetrazolium são apresentados na Figura 1. Verifica-se inicialmente que aos 3 dias os valores de germinação obtidos sob 25°C e escuro foram aparentemente superiores aos demais tratamentos, mas a partir daí e até o final do experimento os valores para 25°C com luz branca foram os mais altos, igualando-se aos resultados de viabilidade obtidos pelo teste de tetrazólio.

Pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, verifica-se que os valores totais de germinação obtidos sob alternância de 15-35°C e sob 25°C escuro não diferiram entre si, mas foram estatisticamente inferiores aos obtidos sob 25°C luz branca e pelo teste de tetrazólio.

2 - Efeito de temperaturas constantes

No Quadro 1 são apresentados os valores médios de $\sqrt{\%$ germinação de amostras de sementes, obtidos sob várias temperaturas constantes, bem como a análise estatística ao nível de 5% de

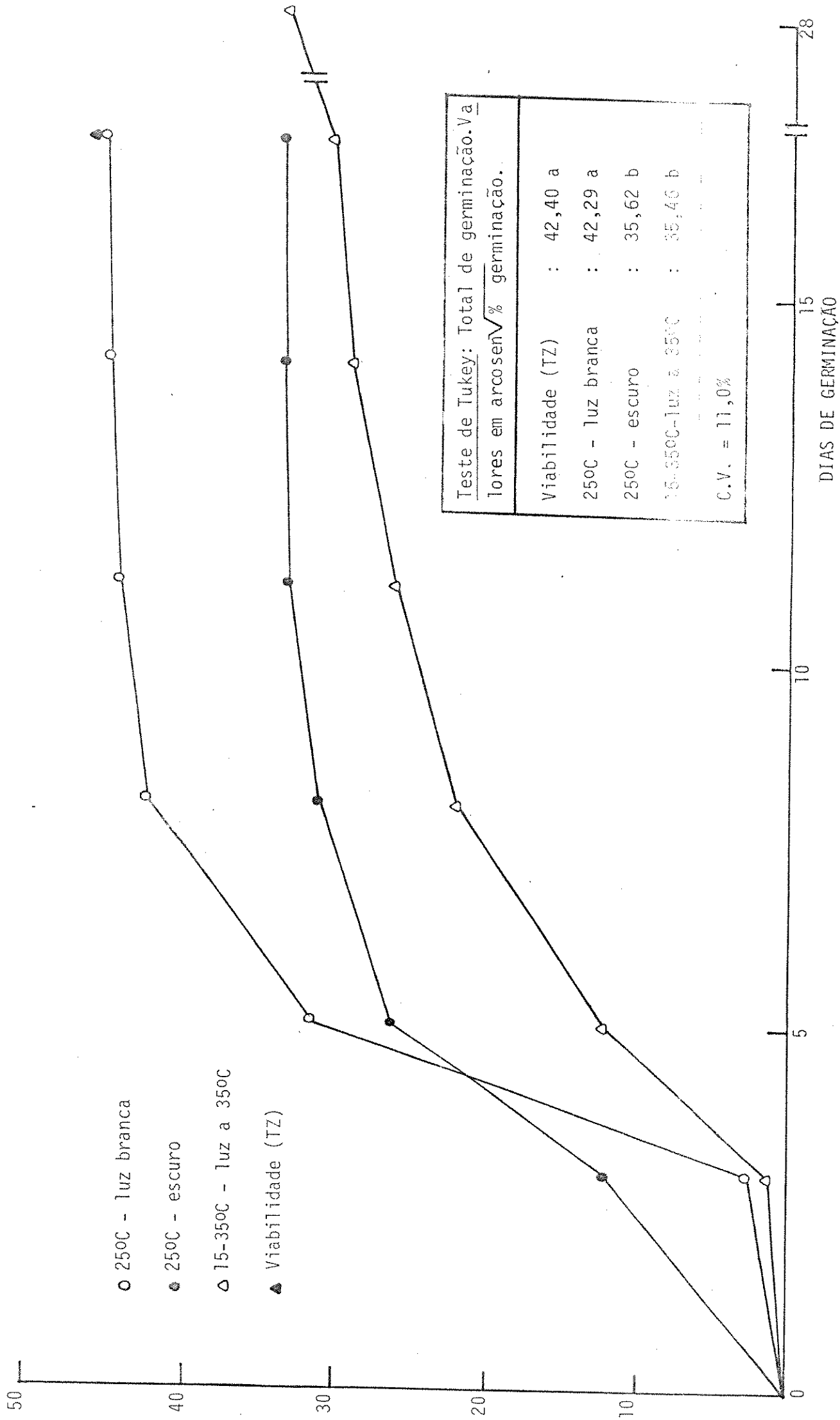


GRAFICO 1 - EFEITO DE LUZ BRANCA E DE ESCURO NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES INTACTAS DE 10 AMOSTRAS DE CAPIM-COLONIAO, ANO 1979. TESTE DE TUKEY, AO NÍVEL DE 5% DE PROBABILIDADE, COM BASE EM VALORES DE $\arcsen \sqrt{\% \text{ GERMINAÇÃO}}$. TAMBÉM É APRESENTADO.

Quadro 1 - Efeito de temperatura constante na germinação de sementes de capim-colonião. Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade é apresentado com base nos valores de arco sen $\sqrt{\%}$ germinação.

D I A S D E G E R M I N A Ç Ã O		
7	14	21
15°C : 00,00 c	15°C : 22,03 d	15°C : 27,17 c
20°C : 22,69 b	20°C : 29,17 b	20°C : 29,95 b
25°C : 32,21 a	25°C : 34,51 a	25°C : 34,51 a
30°C : 30,11 a	30°C : 31,66 b	30°C : 31,66 b
35°C : 24,23 b	35°C : 24,99 c	35°C : 24,99 c
C.V. 14,6%	10,3%	9,2%
F. 161,29*	29,16*	18,62*

C.V. = Coeficiente de variação

* = Estatisticamente significativo

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de probabilidade.

probabilidade. Verifica-se inicialmente que aos 7 dias os resultados obtidos a 25°C não diferiram dos de 30°C, mas foram estatisticamente superiores aos de 35°C e 20°C, os quais também não diferiram entre si, mas foram superiores aos obtidos a 15°C. Aos 14 dias os resultados de 25°C não diferiram dos de 30°C, mas foram superiores aos obtidos a 20°C, 35°C e 15°C; observa-se também que as temperaturas constantes menos eficientes foram as de 15°C e 35°C, que são as usadas em alternância no teste padrão de germinação. Aos 21 dias a situação anterior se repetiu, com exceção de que os resultados obtidos a 25°C foram estatisticamente superiores aos obtidos para as demais temperaturas testadas. Deve-se aqui ressaltar que o total de germinação das sementes foi alcançado no período máximo de 21 dias, para todas as temperaturas testadas.

3 - Efeito de alternância de temperaturas

Os valores de arcosen $\sqrt{\%$ germinação de amostras de sementes de capim-colonião obtidos sob várias alternâncias de temperaturas, bem como a análise estatística ao nível de 5% de probabilidade são apresentados no Quadro 2. Nota-se que aos 7 e 14 dias os resultados obtidos pelo teste padrão de germinação foram estatisticamente inferiores aos demais; entretanto, aos 21 dias, não ocorreram diferenças significativas entre as alternâncias de temperaturas.

4 - Efeito de escarificação química com H₂SO₄

As comparações entre as médias de porcentagens de germinação (transformadas em arcosen $\sqrt{\%$) obtidas em amostras de sementes de capim colonião acham-se nos Quadros 3 e 4, respectivamente, para sementes de 1980 e 1979.

Os resultados do Quadro 3 mostram que houve um aumento estatisticamente significativo na porcentagem de germinação após tratamento

Quadro 2 - Efeito de alternância de temperaturas na germinação de sementes de capim-colonião. Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade é apresentado com base nos valores de arco $\text{sen}\sqrt{\%}$ germinação.

D I A S D E G E R M I N A Ç Ã O		
7	14	21
15-35°C : 27,25 bc (luz a 15°C)	15-35°C : 31,50 a (luz a 15°C)	15-35°C : 32,32 (luz a 15°C)
15-35°C : 26,34 c (luz contínua)	15-35°C : 30,78 a (luz contínua)	15-35°C : 31,64 (luz contínua)
20-30°C : 26,24 c	20-30°C : 30,79 a	20-30°C : 30,79
20-35°C : 26,71 c	20-35°C : 29,55 ab	20-35°C : 30,46
25-35°C : 31,05 a	25-35°C : 31,91 a	25-35°C : 32,13
30-35°C : 30,07 ab	30-35°C : 31,03 a	30-35°C : 31,15
T P G : 22,42 d	T P G : 27,46 b	T P G : 29,45
C.V. 12,2%	10,1%	9,8%
F. 7,31*	2,37*	1,09 n.s

TPG = Teste Padrão de Germinação: 15-35°C, com luz a 35°C

C.V. = Coeficiente de variação

* = Estatisticamente significativo

n.s = Não significativo

As médias seguidas pela (s) mesma (s) letra (s) não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de probabilidade.

Quadro 3 - Comparação entre médias de percentagens de germinação (transformadas em $\arcsen\sqrt{\%}$) de amostras de sementes de capim - colonião - Ano 1980

Tratamentos		Percentagens médias de germinação (expressa em $\arcsen\sqrt{\%}$)
Permanência das sementes em H ₂ SO ₄ concentrado (Minutos)	Temperatura de germinação	
10	15-35°C	39,89 a
5	15-35°C	39,00 a b
3	15-35°C	37,37 b
10	25°C	34,98 c
5	25°C	33,40 c
3	25°C	31,12 d
Teste padrão de germinação (sem emprego de H ₂ SO ₄ concentrado)		27,23 e

Coeficiente de variação: C.V. = 9,8%

Diferença Mínima Significativa: D.M.S. (5%) = 1,98

As médias acompanhadas da(s) mesma(s) letra(s) não diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade (Teste de Tukey).

Quadro 4 - Comparação entre médias de percentagens de germinação (transformadas em $\arcsen\sqrt{\%}$) de amostras de sementes de capim colonião - Ano 1979

Tratamentos		Percentagens médias de germinação (expressa em $\arcsen\sqrt{\%}$)
Permanência das sementes em H ₂ SO ₄ concentrado (Minutos)	Temperatura de germinação	
5	25°C	40,51 a
3	25°C	40,02 a b
10	25°C	38,24 a b
3	15-35°C	38,44 a b
5	15-35°C	37,60 b
10	15-35°C	33,72 c
Teste padrão de germinação (sem emprego de H ₂ SO ₄ concentrado)	15-35°C	30,13 d

Coeficiente de variação: C.V. = 9,3%

Diferença Mínima Significativa: D.M.S. (5%) = 2,53

As médias acompanhadas da(s) mesma(s) letra(s) não diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade (Teste de Tukey).

com H_2SO_4 concentrado, efeito esse que foi maior de acordo com o aumento do período de permanência das sementes no ácido. A alternância de temperaturas de 15-35°C mostrou um efeito adicional na porcentagem de germinação das sementes escarificadas, sendo que os resultados mais elevados foram obtidos após permanência das mesmas durante 5 ou 10 minutos no ácido. Verifica-se também que os tratamentos sob temperatura constante de 25°C, embora conduzindo a porcentagens de germinação inferiores às obtidas sob alternância de 15-35°C, resultaram em valores de germinação superiores aos obtidos pelo teste padrão de germinação.

Pelo Quadro 4 observa-se que, após 12 meses sob armazenamento seco (20°C e 35% de umidade relativa do ar) as sementes de capim-colônião apresentaram maiores porcentagens de germinação após escarificação por até 10 minutos em H_2SO_4 concentrado e também que, mais uma vez, o teste padrão de germinação conduziu aos valores de germinação estatisticamente mais baixos.

As velocidades de germinação, calculadas em porcentagens sobre o total de germinação, para cada tratamento, são apresentadas nas Figuras 2 e 3, para amostras de sementes dos anos 1980 e 1979, respectivamente. Pela Figura 2 verifica-se que o total de germinação, pelo teste padrão de germinação, foi obtido após 24 dias, enquanto que para os demais tratamentos o foi após 21 dias. Pela análise estatística dos coeficientes de velocidade da Figura 2, apresentada a seguir, nota-se que a temperatura de 25°C conduziu a velocidades de germinação superiores às obtidas sob 15-35°C; entretanto, os valores referentes aos tempos de permanência das sementes em H_2SO_4 foram estatisticamente iguais.

Análise estatística - Coeficiente de velocidade de germinação

Análise de variância

F para tratamentos	8,4*
F para tempos de permanência em H_2SO_4	0,9 n.s.
F para temperaturas	2,5*

C.V. = 16,1%

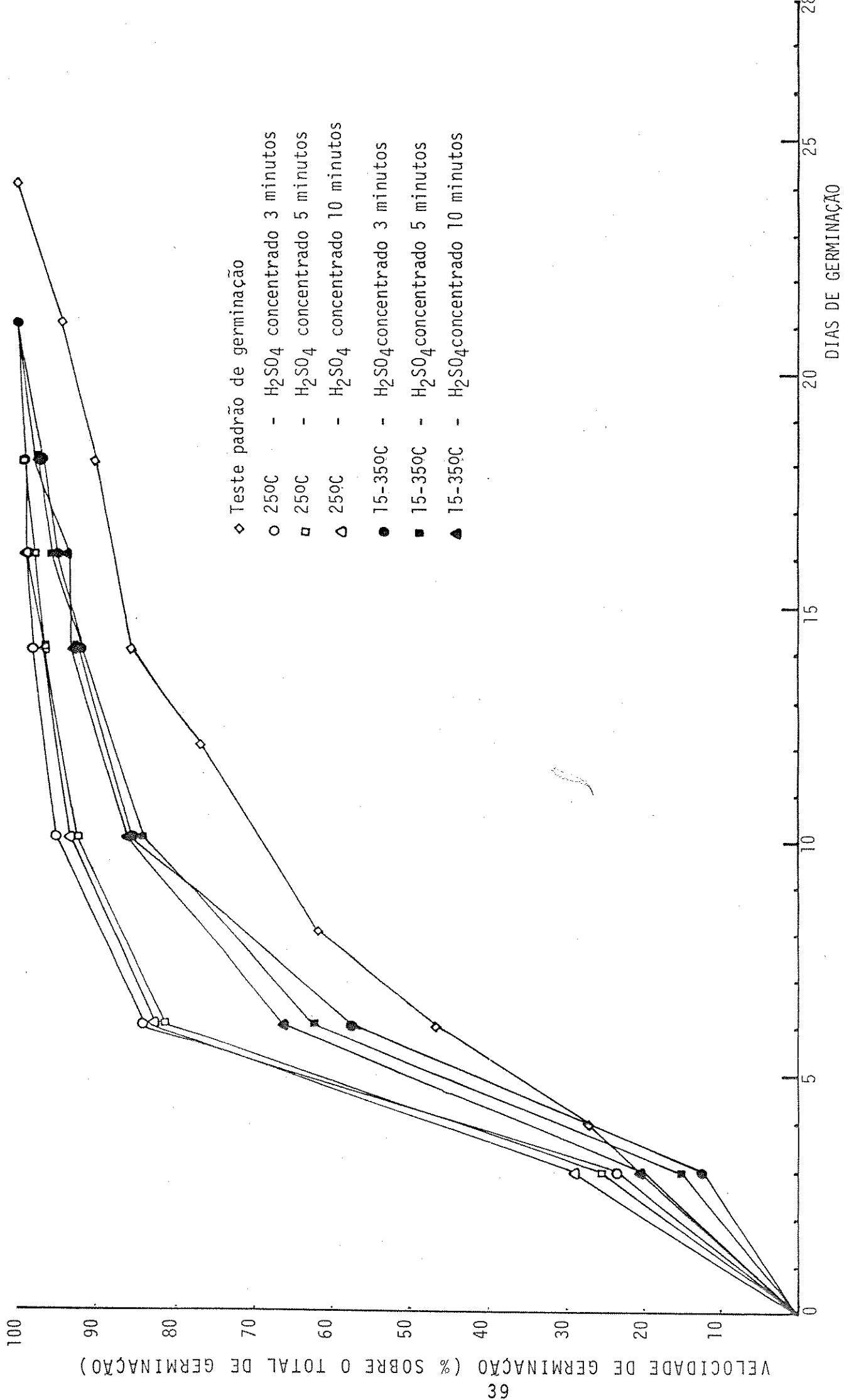


FIGURA 2 - EFEITO DE ESCARIFICAÇÃO COM H₂SO₄ CONCENTRADO E DE TEMPERATURA NA VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE 13 AMOSTRAS DE CAPIM-COLONIAO, ANO 1980.

Teste Tukey

a) Para tratamentos:

25°C	- 10 minutos	16,5	a	
25°C	- 3 minutos	16,5	a	
25°C	- 5 minutos	16,2	a	
T.P.G.		13,4	b	D.M.S. = 2,7
15-35°C	- 10 minutos	13,4	b	
15-35°C	- 5 minutos	12,7	b	
15-35°C	- 3 minutos	12,3	b	

b) Para temperaturas:

25°C		16,4	a	
T.P.G.		13,4	b	D.M.S. = 1,4
15-35°C		12,9	b	

Pela Figura 3 nota-se que, após doze meses de armazenamento seco, a velocidade do teste padrão de germinação foi acelerada, alcançando o total de germinação após 21 dias de teste. Pela análise estatística dos coeficientes de velocidade, apresentada a seguir, verifica-se que a temperatura de 25°C conduziu a velocidades de germinação superiores às obtidas sob 15-35°C e TPG.

Análise estatística - Coeficiente de velocidade de germinação

Análise de variância

F para tratamentos	5,6*
F para tempos de permanência em H ₂ SO ₄	2,3 n.s.
F para temperaturas	14,7*
C.V. = 16,8%	

Teste Tukey

a) Para tratamentos:

25°C	- 10 minutos	18,6	a	
25°C	- 5 minutos	18,3	a b	
25°C	- 3 minutos	16,5	a b c	
15-35°C	- 10 minutos	14,7	a b c	D.M.S. = 4,0
15-35°C	- 5 minutos	14,3	b c	
15-35°C	- 3 minutos	13,5	c	
T.P.G.		13,3	c	

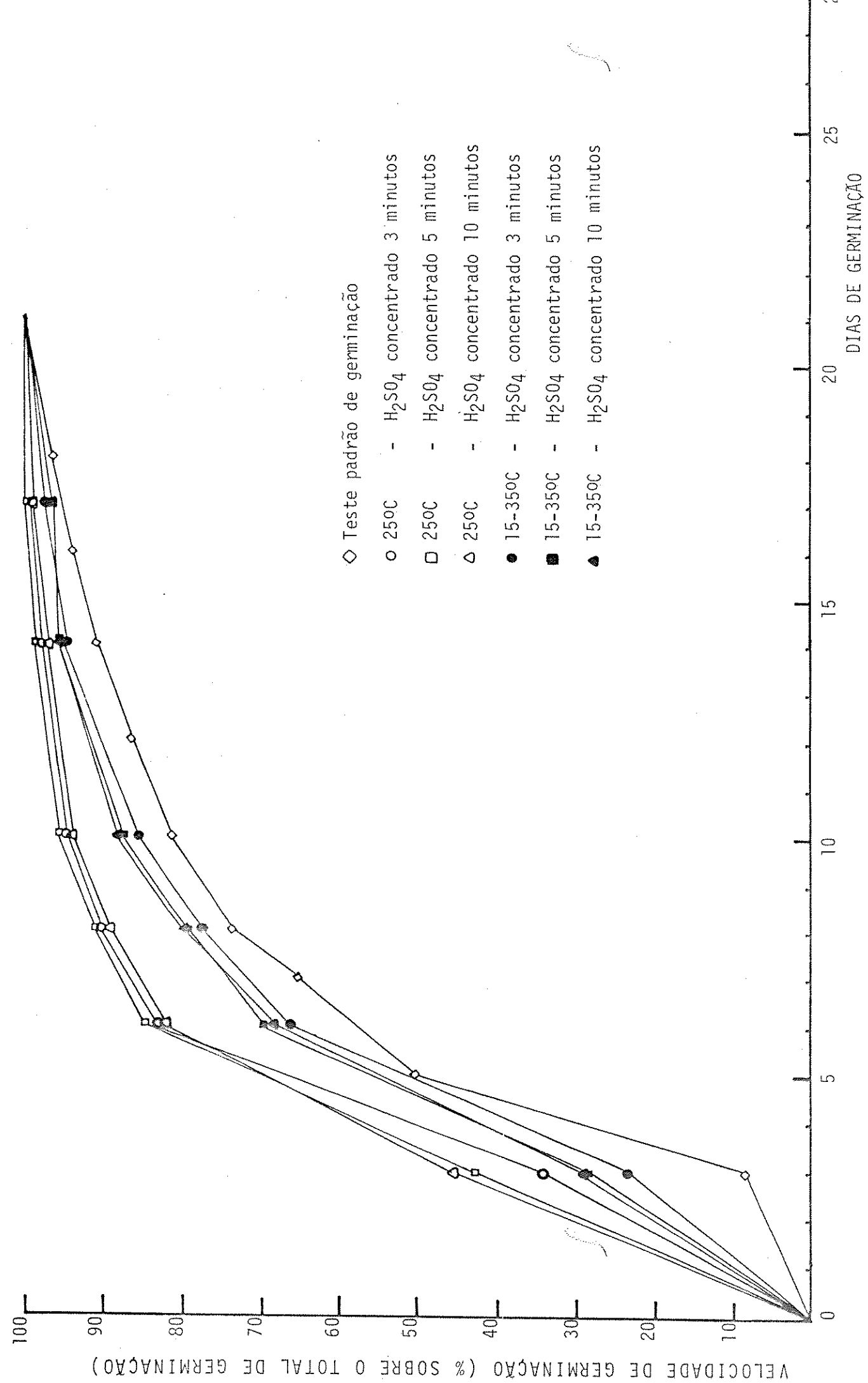


FIGURA 3 - EFEITO DE ESCARIFICAÇÃO COM H₂SO₄ CONCENTRADO E DE TEMPERATURA NA VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE 8 AMOSTRAS DE CAPIM-COLONIAO, ANO 1979.

b) Para temperaturas:

25°C	17,8 a	
15-35°C	14,2 b	D.M.S. = 2,1
T.P.G.	13,3 b	

5 - Efeito do tratamento com fungicida

Pela análise estatística dos resultados, apresentada a seguir em valores de $\arcsen \sqrt{\% \text{ germinação}}$, verifica-se que a alternância de temperaturas de 15-35°C conduziu a resultados de germinação superiores aos obtidos com a temperatura constante de 25°C; além disso a aplicação de fungicida PCNB às sementes foi efetiva, acarretando os mais elevados valores de germinação sob alternância de 15-35°C.

Análise estatística - Germinação em $\arcsen \sqrt{\%}$

Análise de variância

F para tratamentos	49,9*
F para amostras	25,6*
F para interação tratamentos x amostras	1,7 n.s.
C.V. = 13,3%	

Teste Tukey para tratamentos:

15-35°C	+	PCNB	32,13 a	
15-35°C		Controle	28,45 b	D.M.S. (5%) = 3,68
25°C	+	PCNB	23,72 c	
25°C		Controle	23,30 c	

As velocidades de germinação de amostras de sementes de capim - colômbio tratadas e não tratadas com fungicida são apresentadas na Figura 4. Verifica-se que sob 15-35°C, a aplicação de fungicida conduziu à obtenção do total de germinação aos 25 dias, enquanto que para os outros tratamentos o tempo necessário foi de 12 dias. Pela análise estatística dos coeficientes de velocidade, apresentada a seguir, nota-se que o tratamento das sementes com o fungicida PCNB reduziu as velocidades de

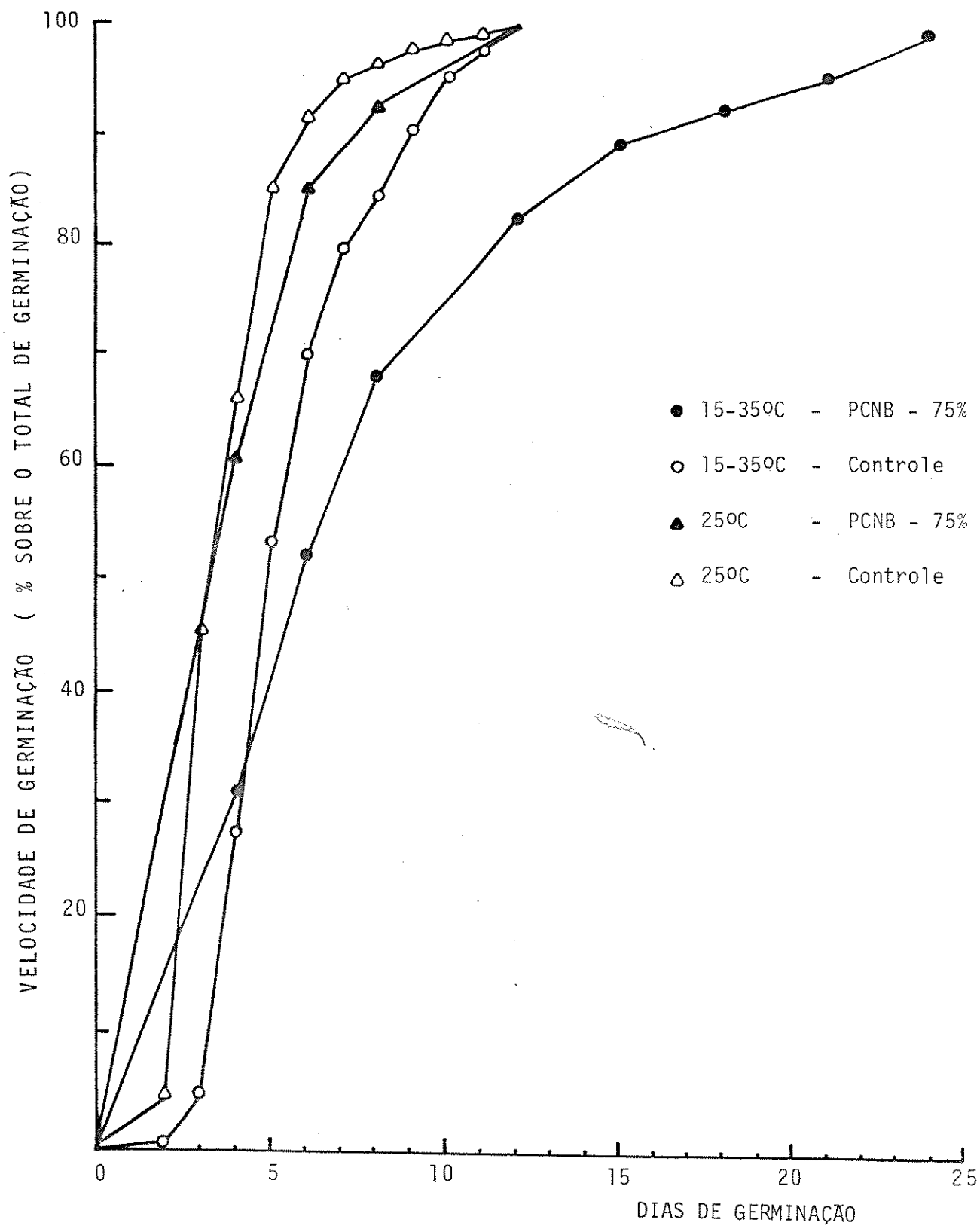


FIGURA 4 - EFEITO DE TRATAMENTO COM FUNGICIDA PCNB-75% E DE TEMPERATURA NA VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES INTACTAS DE 9 AMOSTRAS DE CAPIM-COLONIÃO, ANO 1980.

germinação e também que sob 25°C a germinação foi mais rápida do que sob 15-35°C.

Análise estatística - Coeficiente de velocidade de germinação

Análise de variância

F para tratamentos (com ou sem fungicida)	11,2*
F para temperaturas	65,4*
C.V. = 3,3%	

Teste Tukey

a) Para tratamentos:

Sementes sem fungicida	19,7 a	D.M.S. = 2,7
Sementes com fungicida	15,2 b	

b) Para temperaturas:

25°C	21,1 a	D.M.S. = 1,9
15-35°C	14,8 b	

6 - Efeitos de esscarificações manual e química com H₂SO₄ concentrado

Pela análise estatística dos resultados, apresentada a seguir em valores de $\arcsen\sqrt{\% \text{ germinação}}$, verifica-se que não houve diferença entre os resultados de germinação obtidos após esscarificações química e manual, mas ambos foram superiores aos resultados obtidos com sementes intactas (teste padrão de germinação); deste modo, parece que o efeito real do H₂SO₄ na germinação das sementes está na eliminação de glumas, lemas e pãleas.

Análise estatística - Germinação em $\arcsen\sqrt{\%}$

Análise de variância

F para tratamentos	11,8*
F para amostras	4,9*
F para interação tratamentos x amostras	1,8 n.s.
C.V. = 8,1%	

Teste Tukey para tratamentos:

Escarificação manual	44,73 a	
Escarificação química (H ₂ SO ₄)	42,46 a	D.M.S. (5%) = 2,93
Sementes intactas	38,57 b	

As velocidades de germinação de amostras de sementes de capim - coloniã, intactas e escarificadas manual e quimicamente são apresentadas na Figura 5. Verifica-se que, para todos os tratamentos o total de germinação foi alcançado aos 25 dias. Pela análise estatística dos coeficientes de velocidade, apresentado a seguir, verifica-se que a escarificação manual conduziu à velocidade de germinação superior à obtida após escarificação com H₂SO₄, mas estatisticamente igual à obtida em sementes intactas.

Análise estatística - Coeficiente de velocidade de germinação

Análise de variância

F para tratamentos	5,1*
C.V. = 10,3%	

Teste Tukey

Escarificação manual	10,3 a	
T.P.G.	9,0 a b	D.M.S. = 1,9
Escarificação com H ₂ SO ₄	8,1 b	

B - INIBIÇÃO OSMÔTICA DE GERMINAÇÃO

Nesta fase do experimento foram analisados os efeitos de inibição osmótica em solução de PEG-6000, sob várias temperaturas e períodos de tempo, na germinação subsequente de sementes intactas e escarificadas de capim-coloniã. Foi analisado também a embebição dessas sementes em água destilada.

1 - Embebição das sementes em água

Pela Figura 6 verifica-se que o aumento de peso (% sobre o

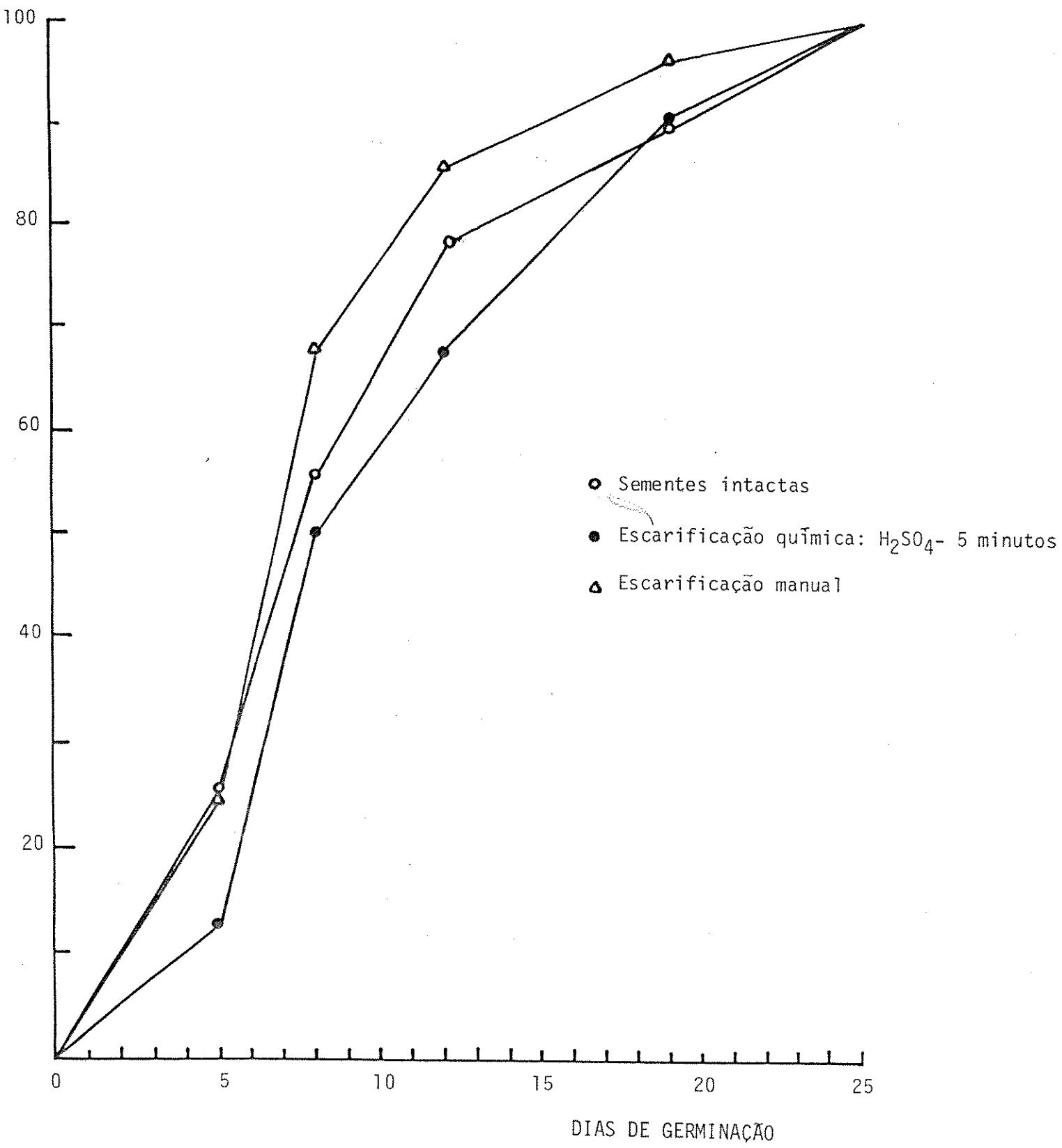


FIGURA 5 - EFEITO DE ESCARIFICAÇÕES MANUAL E QUÍMICA COM H₂SO₄ CONCENTRADO NA VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE 4 AMOSTRAS DE CAPIM-COLONIAO, ANO 1980.

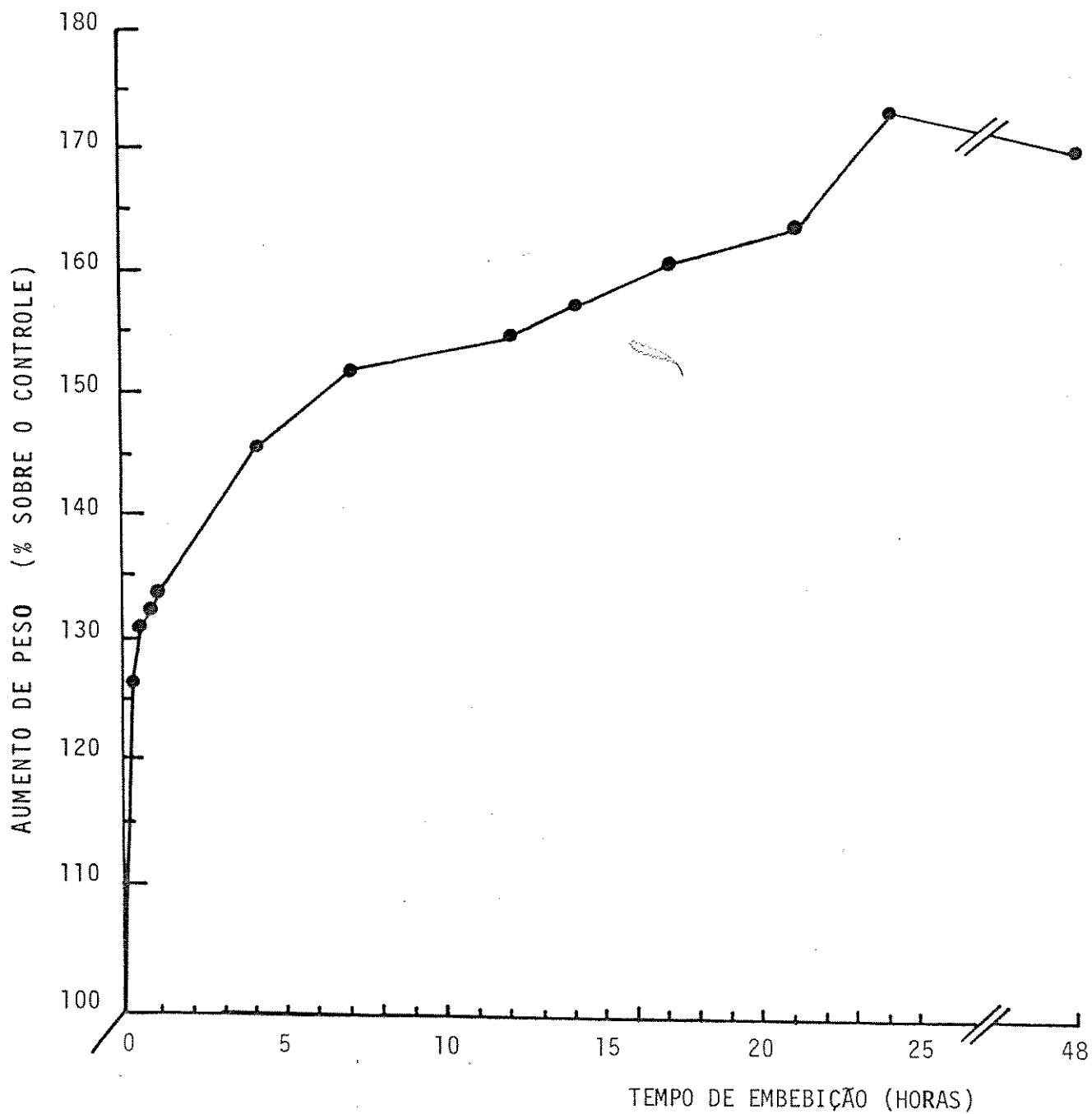


FIGURA 6 - VELOCIDADE DE EMBEBIÇÃO EM ÁGUA DE SEMENTES INTACTAS DE 20 AMOSTRAS DE CAPIM-COLONIÃO, ANO 1980. RESULTADOS APRESENTADOS EM AUMENTOS MÉDIOS DE PESO (% SOBRE O CONTROLE).

controle) obtido durante os vários períodos de embebição foi crescente até 24 horas, mantendo-se praticamente constante daí até 48 horas; nota-se também que ocorreu um aumento brusco durante a primeira hora de embebição e até 7 horas, mantendo-se mais suave daí até 24 horas.

Pela análise estatística, apresentada na Tabela 1, verifica-se a grande precisão nos resultados obtidos em todas as fases, face aos baixos coeficientes de variação obtidos (em torno de 3,5%) e grande variabilidade nas amostras de sementes testadas; nota-se também que o início da germinação visível dessas sementes (a partir de 48 horas) ocorreu com teor de umidade em torno de 80%.

2 - Embebição das sementes em PEG-6000

Pela análise dos resultados apresentados na Tabela 2 verifica-se que a temperatura teve efeito direto e crescente na embebição das sementes, talvez pela variação no potencial osmótico da solução de PEG; entretanto esta variação não foi proporcional à elevação de temperatura, pois de 15°C para 20°C o teor de umidade manteve-se praticamente constante, em contraste com o aumento observado de 20°C para 25°C.

Considerando-se que o início da germinação visível de sementes de capim-colonião ocorreu a partir de 48 horas de embebição em água, com o teor de umidade em torno de 80%, verifica-se que o teor de umidade de equilíbrio sob solução osmótica de PEG a 25°C foi o que mais se aproximou daquele valor, situando-se em torno de 70%; portanto, utilizando-se solução osmótica contendo 288g de PEG-6000/kg de água devem ser testadas temperaturas próximas a 25°C para a obtenção dos melhores resultados na inibição de germinação dessas sementes.

3 - Efeito da inibição osmótica em sementes intactas

Pela análise estatística dos resultados, apresentada a seguir em valores de arco sen $\sqrt{\%}$ germinação, observa-se pelo Teste Tukey

Tabela 1 - Análise estatística de amostras de sementes de capim-colo -
 nião, após embebição em água durante vários períodos de tem-
 po. Teor de umidade inicial médio das sementes = 11,8%

Determina- ção Perí- do de em- bebição	Peso(gramas) Média aritm.	Desvio Padrão	Erro padrão da Média	Coefficiente de Variação(%)	Aumento de Peso (%so- bre contr.)	Teor de Umidade %
15'	1,261	0,040	1,261 ± 0,009	3,2	26,1	37,9
30'	1,308	0,055	1,308 ± 0,012	4,2	30,8	42,6
45'	1,319	0,039	1,319 ± 0,009	3,0	31,9	43,7
1 hora	1,335	0,033	1,335 ± 0,007	2,5	33,5	45,3
4 horas	1,454	0,055	1,454 ± 0,012	3,7	45,4	57,2
7 horas	1,517	0,051	1,517 ± 0,011	3,4	51,7	63,5
12 horas	1,546	0,049	1,546 ± 0,011	3,2	54,6	66,4
14 horas	1,573	0,046	1,573 ± 0,010	3,0	57,3	69,1
17 horas	1,608	0,055	1,608 ± 0,012	3,4	60,8	72,6
21 horas	1,639	0,055	1,639 ± 0,012	3,4	63,9	75,7
24 horas	1,736	0,090	1,736 ± 0,020	5,2	73,6	85,4
48 horas	1,702	0,073	1,702 ± 0,016	4,3	70,2	82,0

Tabela 2 - Análise estatística de amostras de sementes de capim-colo -
nião, após embebição em solução osmótica de polietileno gli-
col 6000 (288g do produto por kg de água) durante 48 horas.
Teor de umidade inicial médio das sementes = 11,8%

Determina- ção - Tempe- ratura de embe- bição	Peso (gramas) Média aritm.	Desvio Padrão	Erro padrão da Média	Coefficiente de Variação(%)	Aumento de Peso (% so- bre contr.)	Teor de Umidade %
150C	1,419	0,074	1,419 ± 0,024	5,2	41,9	53,7
200C	1,441	0,070	1,441 ± 0,022	4,8	44,1	55,9
250C	1,567	0,057	1,567 ± 0,018	3,6	56,7	68,5

para tratamentos que a testemunha e PEG sob 7 e 14 dias (15 e 20°C) não diferiram estatisticamente entre si, mas foram superiores a PEG-21 e 28 dias (15 e 20°C). Deste modo, ficou estabelecido neste experimento que o melhor período de embebição de sementes em solução de PEG está entre 7 e 14 dias, descartando-se os períodos de 21 e 28 dias como prejudiciais à germinação posterior das sementes. Portanto, nos próximos experimentos serão fixados os períodos de tempo de 7 e 14 dias e serem testadas novas temperaturas (por exemplo: 25°C), bem como duração do efeito de inibição de germinação adquirido após embebição das sementes em solução osmótica, detectando-se deste modo a conservabilidade do mesmo.

Análise estatística - Germinação em $\arcsen \sqrt{\%}$

Análise de variância

F para tratamentos	18,1*
F para amostras	302,3*
F para interação tratamentos x amostras	2,9*
C.V. = 11,6%	

Teste Tukey para tratamentos

Testemunha	29,95 a	
PEG - 7 dias - 20°C	29,36 a	
PEG - 14 dias - 20°C	29,30 a	
PEG - 7 dias - 15°C	28,82 a	D.M.S. (5%) = 4,79
PEG - 14 dias - 15°C	27,42 a b	
PEG - 21 dias - 20°C	23,67 b c	
PEG - 28 dias - 15°C	22,71 b c d	
PEG - 21 dias - 15°C	20,37 c d	
PEG - 28 dias - 20°C	17,92 d	

Os resultados de velocidade de germinação de sementes intactas de capim-colonião após embebição em solução osmótica de PEG- 6000 sob duas temperaturas (15 e 20°C) e quatro períodos de tempo (7, 14, 21 e 28 dias) são apresentados na Figura 7. Verifica-se que o total de germinação foi obtido a partir dos 12 dias e até os 16 dias do início do teste. Pela análise estatística dos coeficientes de velocidade, apresentada a seguir, verifica-se que a temperatura de 20°C conduziu a velocidade

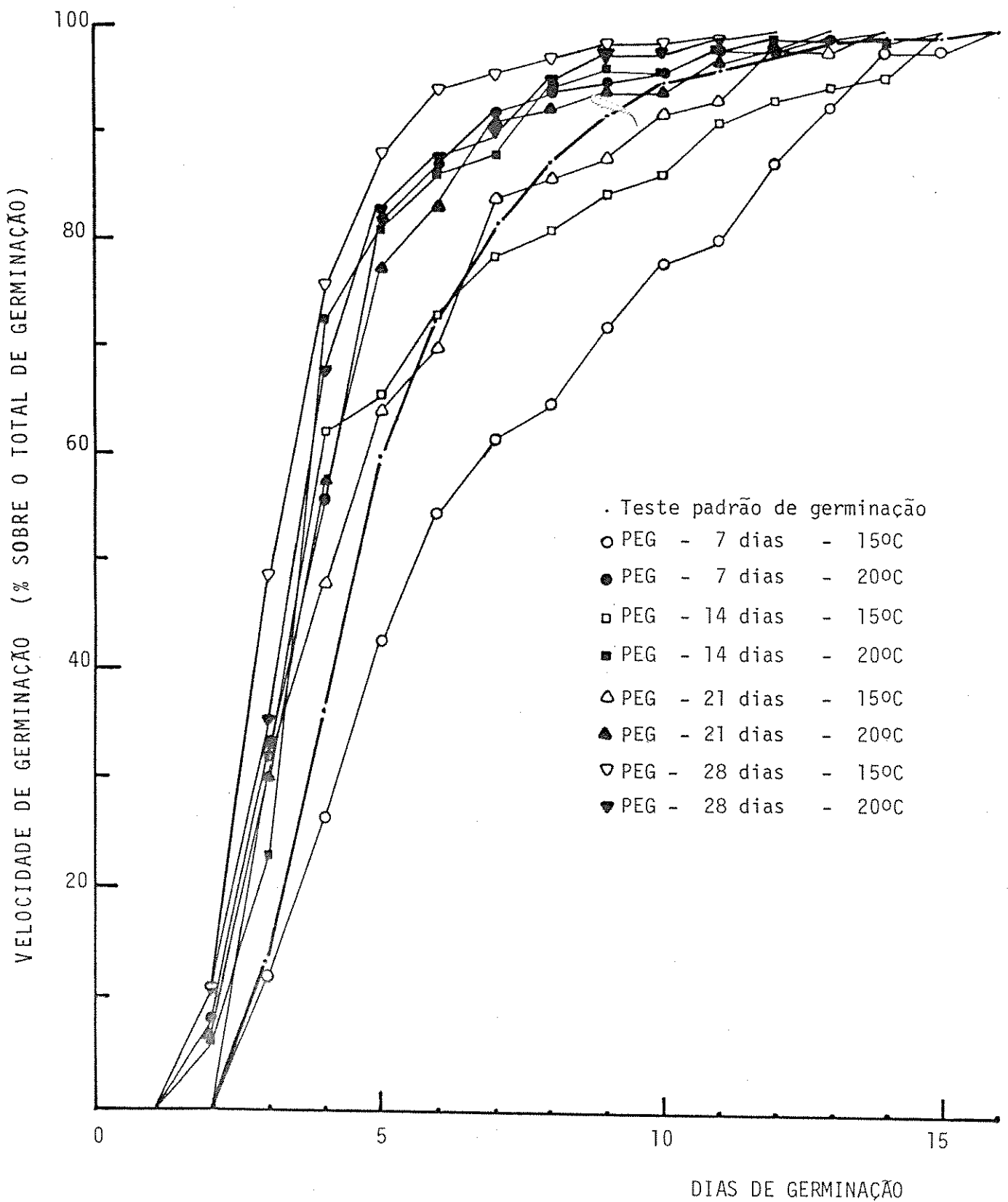


FIGURA 7 - EFEITO DE EMBEBIÇÃO EM SOLUÇÃO OSMÓTICA DE PEG-6000 DURANTE 4 PERÍODOS (7,14,21 E 28 DIAS) E 2 TEMPERATURAS (15 E 20°C) NA VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES INTACTAS DE 2 AMOSTRAS DE CAPIM-COLONIÃO, ANO 1980.

des de germinação superiores a 15°C; entretanto os valores referentes aos períodos de tempo testados foram estatisticamente iguais com exceção de 7 dias - 15°C.

Análise estatística - Coeficiente de velocidade de germinação

Análise de variância

F para tratamentos	3,6*
F para temperaturas	7,0*
F para períodos de tempo	2,0 n.s.
C.V. = 12,4%	

Teste Tukey

a) Para tratamentos:

28 dias - 20°C	23,7 a	
28 dias - 15°C	22,9 a	
14 dias - 20°C	22,9 a	
7 dias - 20°C	21,5 a	
21 dias - 20°C	21,5 a	D.M.S. = 7,3
21 dias - 15°C	17,9 a b	
T.P.G.	17,5 a b	
14 dias - 15°C	17,3 a b	
7 dias - 15°C	13,2 b	

b) Para temperaturas:

20°C	22,4 a	
15°C	17,8 b	D.M.S. = 3,7
T.P.G.	17,5 b	

4 - Efeito da inibição osmótica em sementes intactas e escarificadas

Os resultados de velocidade e total de germinação, obtidos após embebição em solução osmótica de PEG-6000 sob três temperaturas (15, 20 e 25°C) e dois períodos de tempo (7 e 14 dias) são analisados a seguir separadamente para sementes intactas e para sementes escarificadas. São também analisados os efeitos de armazenamento a 10°C, durante 2 e 5 meses após a embebição em solução osmótica de PEG-6000, na manutenção do revigoramento das sementes.

4.1 - Imediatamente após embebição em solução osmótica de PEG-6000

4.1.1 - Análise dos resultados: sementes intactas

Pela análise estatística dos resultados, apresentada a seguir em valores de arcosen $\sqrt{\%$ germinação, verifica-se pelo Teste de Tukey que os tratamentos PEG-25°C - 7-14 dias foram estatisticamente superiores aos demais, enquanto que os tratamentos PEG-15°C - 7-14 dias foram os mais baixos.

Análise estatística - Germinação em arcosen $\sqrt{\%$

Análise de variância

F para tratamentos	12,1*
F para amostras	179,4*
F para interação tratamentos x amostras	10,0*
C.V. = 18,3%	

Teste Tukey para tratamentos

PEG - 25°C - 7 dias	30,27 a	
PEG - 25°C - 14 dias	29,08 a b	
PEG - 20°C - 14 dias	26,16 b c	
Testemunha	24,88 c d	D.M.S. (5%)=4,02
PEG - 20°C - 7 dias	23,23 c d	
PEG - 15°C - 14 dias	22,27 c d	
PEG - 15°C - 7 dias	21,87 d	

Com relação à velocidade de germinação, observa-se pela Figura 8 que o total de germinação para todos os tratamentos foi obtido aos 21 dias. Pela análise estatística dos coeficientes de velocidade, apresentada a seguir, nota-se que não ocorreram diferenças nas velocidades de germinação com relação aos períodos de tempo e temperaturas testadas, mas o teste padrão de germinação foi estatisticamente superior a todos os demais tratamentos.

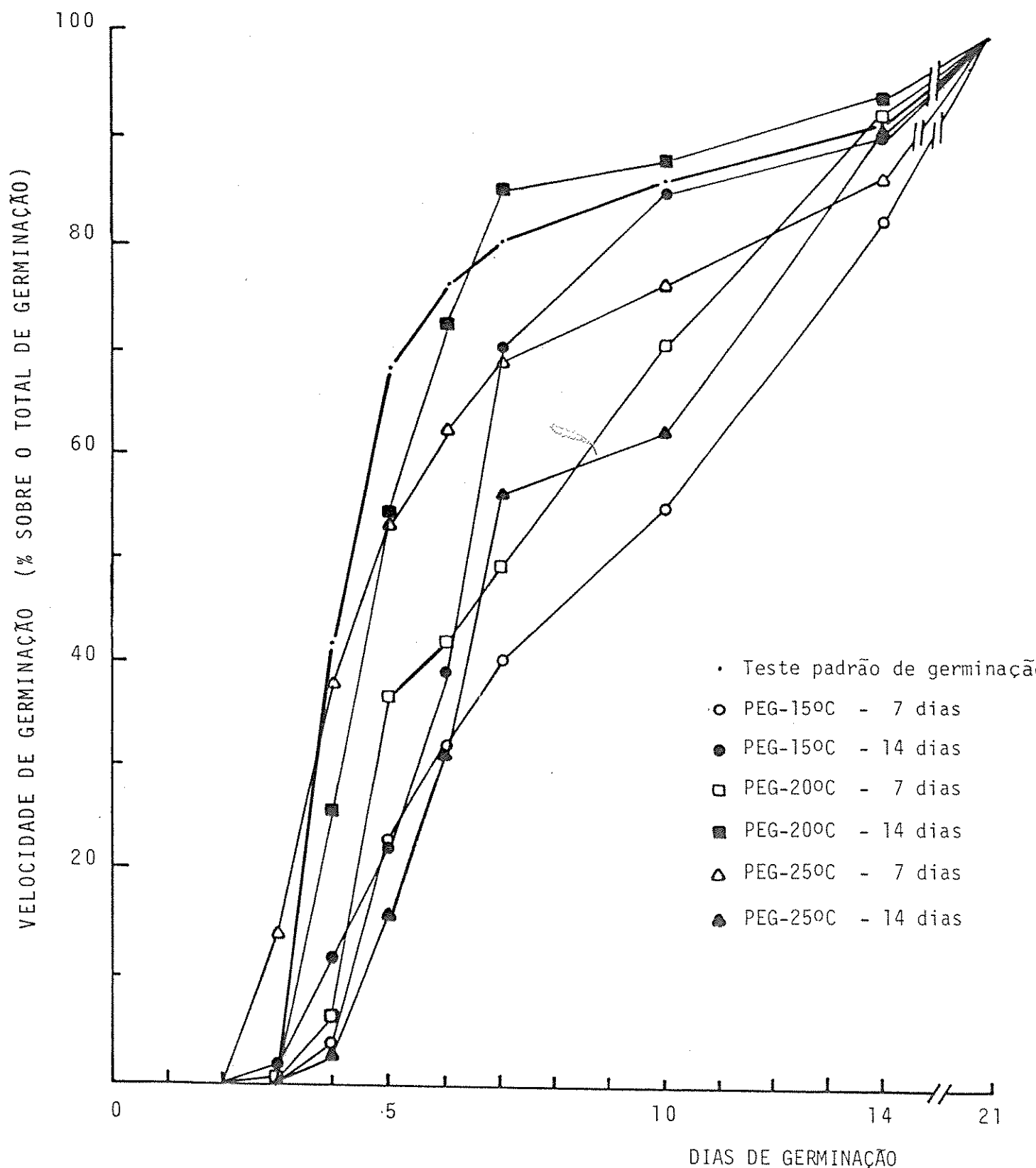


FIGURA 8 - EFEITO DE EMBEBIÇÃO EM SOLUÇÃO OSMÓTICA DE PEG-6000 DURANTE 2 PERÍODOS (7 E 14 DIAS) E 3 TEMPERATURAS (15,20 E 25°C) NA VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES INTACTAS DE 6 AMOSTRAS DE CAPIM-COLONIÃO, ANOS 1980/81.

Análise estatística - Coeficiente de velocidade de germinação

Análise de variância

F para tratamentos	9,7*
F para períodos de tempo	6,9*
F para temperaturas	5,1*
C.V. = 14,5%	

Teste Tukey

a) Para tratamentos:

T.P.G.	15,8 a	
20°C - 14 dias	15,0 a	
25°C - 7 dias	13,8 a b	
15°C - 14 dias	12,7 a b c	D.M.S. = 3,4
20°C - 7 dias	11,0 b c	
25°C - 14 dias	10,4 c	
15°C - 7 dias	9,6 c	

b) Períodos de tempo

T.P.G.	15,8 a	
14 dias	12,7 b	D.M.S. = 2,3
7 dias	11,5 b	

c) Para temperaturas:

T.P.G.	15,8 a	
20°C	13,0 a b	D.M.S. = 2,9
25°C	12,1 b	
15°C	11,1 b	

4.1.2 - Análise dos resultados: sementes escarificadas

Pela análise estatística dos resultados, apresentada a seguir em valores de $\arcsen \sqrt{\% \text{ germinação}}$, nota-se pelo Teste de Tukey que nenhum dos tratamentos foi superior à testemunha, sendo que PEG-25 - 7-14 dias foram estatisticamente inferiores aos demais. Deste modo, para a embebição de sementes escarificadas (H_2SO_4) em solução de PEG deve-se utilizar a temperatura de 15°C durante 7-14 dias ou a de 20°C durante 7 dias para os melhores resultados na inibição de germinação e revigoração de sementes.

Análise estatística - Germinação em $\arcsen\sqrt{\%}$

Análise de variância

F para tratamentos	28,9*
F para amostras	78,2*
F para interação tratamentos x amostras	15,9*
C.V. = 10,8%	

Teste Tukey para tratamentos:

PEG - 20°C - 7 dias	39,01 a
Testemunha	38,78 a
PEG - 15°C - 14 dias	38,36 a
PEG - 15°C - 7 dias	36,61 a b
PEG - 20°C - 14 dias	34,84 b
PEG - 25°C - 14 dias	31,27 c
PEG - 25°C - 7 dias	28,08 c

Pela Figura 9 observa-se que o total de germinação foi obtido aos 14 dias para o tratamento PEG-20°C - 7 dias, enquanto que para os demais foi alcançado aos 21 dias. Pela análise estatística, apresentada a seguir em coeficientes de velocidade, observa-se que as temperaturas de 15°C e 20°C conduziram a velocidades de germinação superiores a 25°C; entretanto os valores referentes aos períodos de tempo testados foram estatisticamente iguais.

Análise estatística - Coeficiente de velocidade de germinação

Análise de variância

F para tratamentos	17,7*
F para períodos de tempo	1,7 n.s.
F para temperaturas	23,3*
C.V. = 8,3%	

Teste Tukey

a) Para tratamentos:

15°C - 14 dias	19,5 a	
20°C - 14 dias	19,4 a	
T.P.G.	19,1 a	
15°C - 7 dias	17,5 a b	D.M.S. = 2,6
20°C - 7 dias	17,1 a b	
25°C - 7 dias	15,9 b c	
25°C - 14 dias	12,6 c	

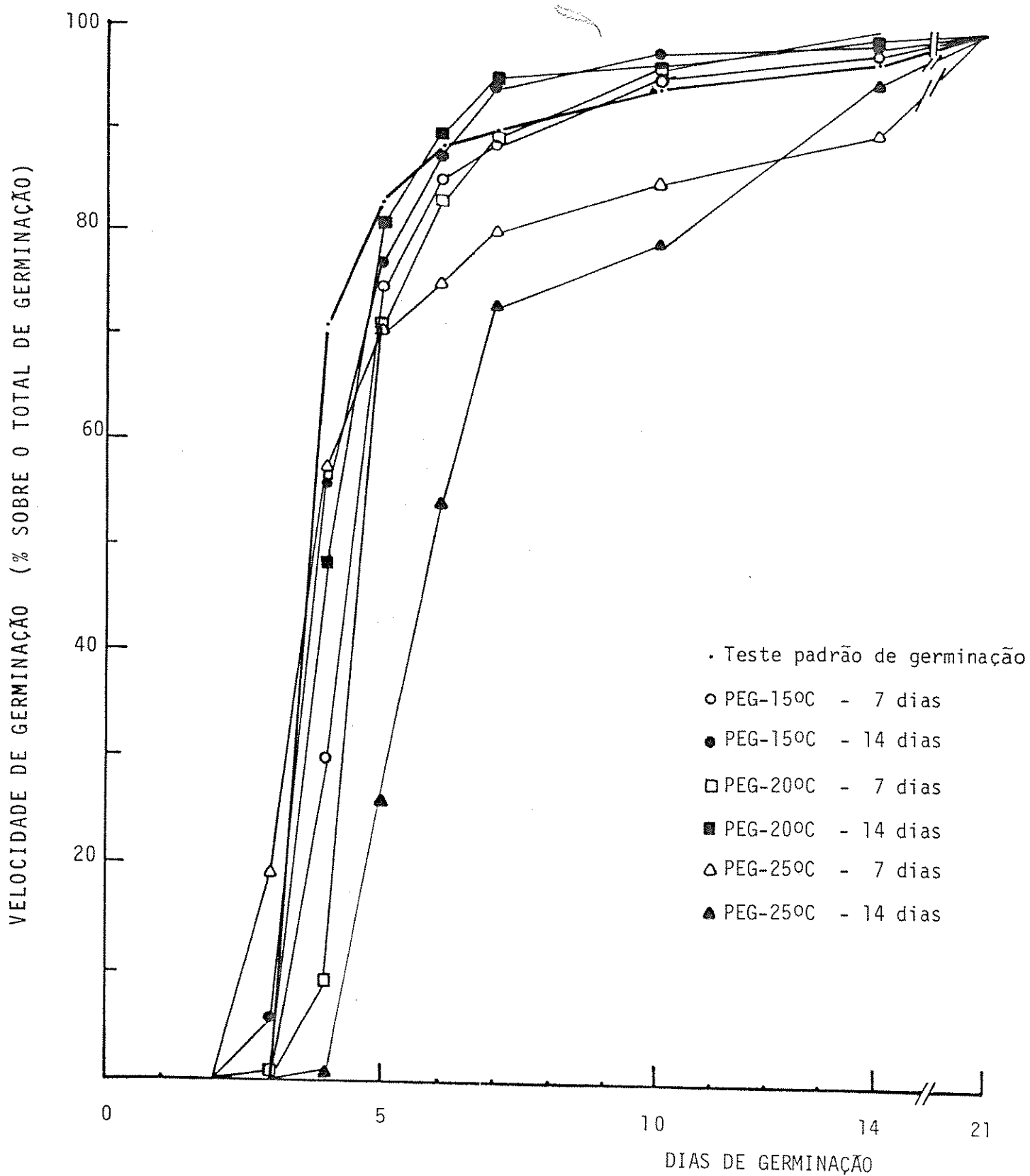


FIGURA 9 - EFEITO DE EMBEBIÇÃO EM SOLUÇÃO OSMÓTICA DE PEG-6000 DURANTE 2 PERÍODOS (7 E 14 DIAS) E 3 TEMPERATURAS (15,20 E 25°C) NA VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES ESCARIFICADAS DE 6 AMOSTRAS DE CAPIM-COLONIAO, ANOS 1980/81.

b) Para temperaturas:

T.P.G.	19,1	a	
150C	18,5	a	D.M.S. = 2,2
200C	18,3	a	
250C	14,3	b	

4.2 - Armazenamento a 100C após a embebição em solução de PEG-6000

4.2.1 - Análise dos resultados: sementes intactas

Pela análise estatística dos resultados, apresentada em valores de $\arcsen\sqrt{\%}$ germinação, verifica-se pelo Teste de Tukey que os tratamentos PEG-200C - 7-14 dias e PEG-250C - 7-14 dias foram superiores à testemunha, enquanto que PEG-150C - 7 dias foi o mais baixo. Assim sendo, para sementes intactas os tratamentos PEG-250C - 7-14 dias e PEG - 200C - 14 dias são os que conduzem a uma melhor conservação do revigoreamento obtido em solução osmótica de PEG; além disso nota-se, após comparação com os resultados apresentados em 4.1.1, que houve uma melhoria geral em todos os tratamentos após 2 meses de armazenamento e também que a posição dos tratamentos pelo Teste de Tukey manteve-se constante.

Análise estatística - Germinação em $\arcsen\sqrt{\%}$

Análise de variância

F para tratamentos	18,42*
F para amostras	328,96*
F para interação tratamentos x amostras	4,09*
C.V. = 14,5%	

Teste Tukey para tratamentos

PEG - 200C - 14 dias	31,29	a	
PEG - 250C - 7 dias	30,42	a b	
PEG - 250C - 14 dias	28,58	a b c	
PEG - 200C - 7 dias	27,55	b c d	D.M.S.(5%) = 3,41
PEG - 150C - 14 dias	25,38	c d	
Testemunha	24,90	d	
PEG - 150C - 7 dias	21,39	e	

Com relação à velocidade de germinação, observa-se pela Figura 10 que o total de germinação para os tratamentos PEG-250C-14 dias e em PEG-200C-14 dias foram obtidos aos 14 dias, enquanto que para os demais tratamentos foi alcançado aos 21 dias. Pela análise estatística dos coeficientes de velocidade de germinação, apresentada a seguir, verifica-se que as temperaturas de 250C e 200C conduziram a velocidades de germinação superiores a 150C; entretanto os valores referentes aos períodos de tempo foram estatisticamente iguais.

Análise estatística - Coeficiente de velocidade de germinação

Análise de variância

F para tratamentos	14,8*
F para períodos de tempo	0,5 n.s.
F para temperaturas	11,6*
C.V. = 21,1%	

Teste Tukey

a) Para tratamentos:

200C - 14 dias	25,3 a	
250C - 14 dias	21,6 a b	
250C - 7 dias	20,5 a b	
T.P.G.	15,8 b c	D.M.S. = 6,6
200C - 7 dias	15,5 b c	
150C - 7 dias	13,7 c d	
150C - 14 dias	8,1 d	

b) Para temperaturas:

250C	21,0 a	
200C	20,4 a	D.M.S. = 5,6
T.P.G.	15,8 a b	
150C	10,9 b	

4.2.2 - Análise dos resultados: sementes escarificadas

Pela análise estatística dos resultados, apresentada em valores de $\arcsen \sqrt{\% \text{ germinação}}$, verifica-se pelo Teste de Tukey que nenhum dos tratamentos foi superior à testemunha, sendo que PEG-250C -

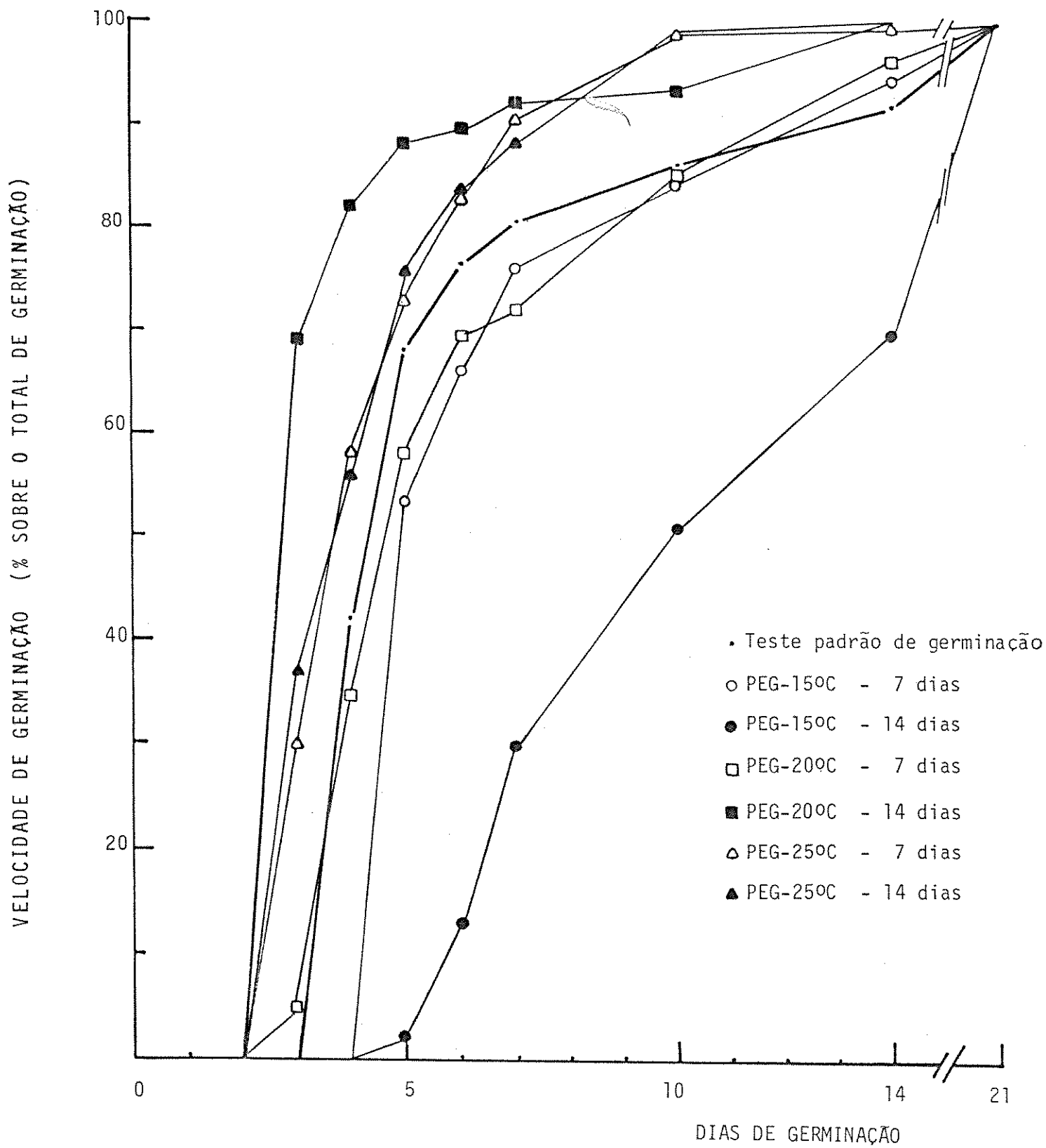


FIGURA 10 - EFEITO DE 2 MESES DE ARMAZENAMENTO A 10°C, APÓS EMBEBIÇÃO EM SOLUÇÃO OSMÓTICA DE PEG-6000 DURANTE 2 PERÍODOS (7 E 14 DIAS) E 3 TEMPERATURAS (15, 20 E 25°C), NA VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES INTACTAS DE 6 AMOSTRAS DE CAPIM-COLONIÃO, ANOS 1980/81.

7-14 dias foram os piores. Estes resultados, comparados com os obtidos em 4.1.2, demonstram que o armazenamento durante 2 meses não teve qualquer efeito na germinação de sementes escarificadas de capim-colonião.

Análise estatística - Germinação em arcosen $\sqrt{\%}$

Análise de variância

F para tratamentos	47,15*
F para amostras	135,53*
F para interação tratamentos x amostras	16,80*
C.V. = 9,1%	

Teste Tukey para tratamentos

PEG - 150C - 7 dias	40,09 a	
PEG - 200C - 7 dias	39,92 a	
PEG - 150C - 14 dias	39,28 a	
Testemunha	38,78 a	D.M.S.(5%) = 2,88
PEG - 200C - 14 dias	37,30 a b	
PEG - 250C - 7 dias	35,59 b	
PEG - 250C - 14 dias	26,87 c	

Pela Figura 11 nota-se que o total de germinação foi obtido aos 10, 14 e 21 dias para PEG-250C - 7 dias, PEG-250C - 14 dias / PEG-200C - 14 dias e para os demais tratamentos, respectivamente. Na análise estatística dos coeficientes de velocidade de germinação, apresentada a seguir, observa-se que as temperaturas de 20 e 250C conduziram a velocidades de germinação superiores a 150C; entretanto os valores referentes aos períodos de tempo foram estatisticamente iguais.

Análise estatística - Coeficiente de velocidade de germinação

Análise de variância

F para tratamentos	80,7*
F para períodos de tempo	0,3 n.s.
F para temperaturas	9,1*
C.V. = 6.3%	

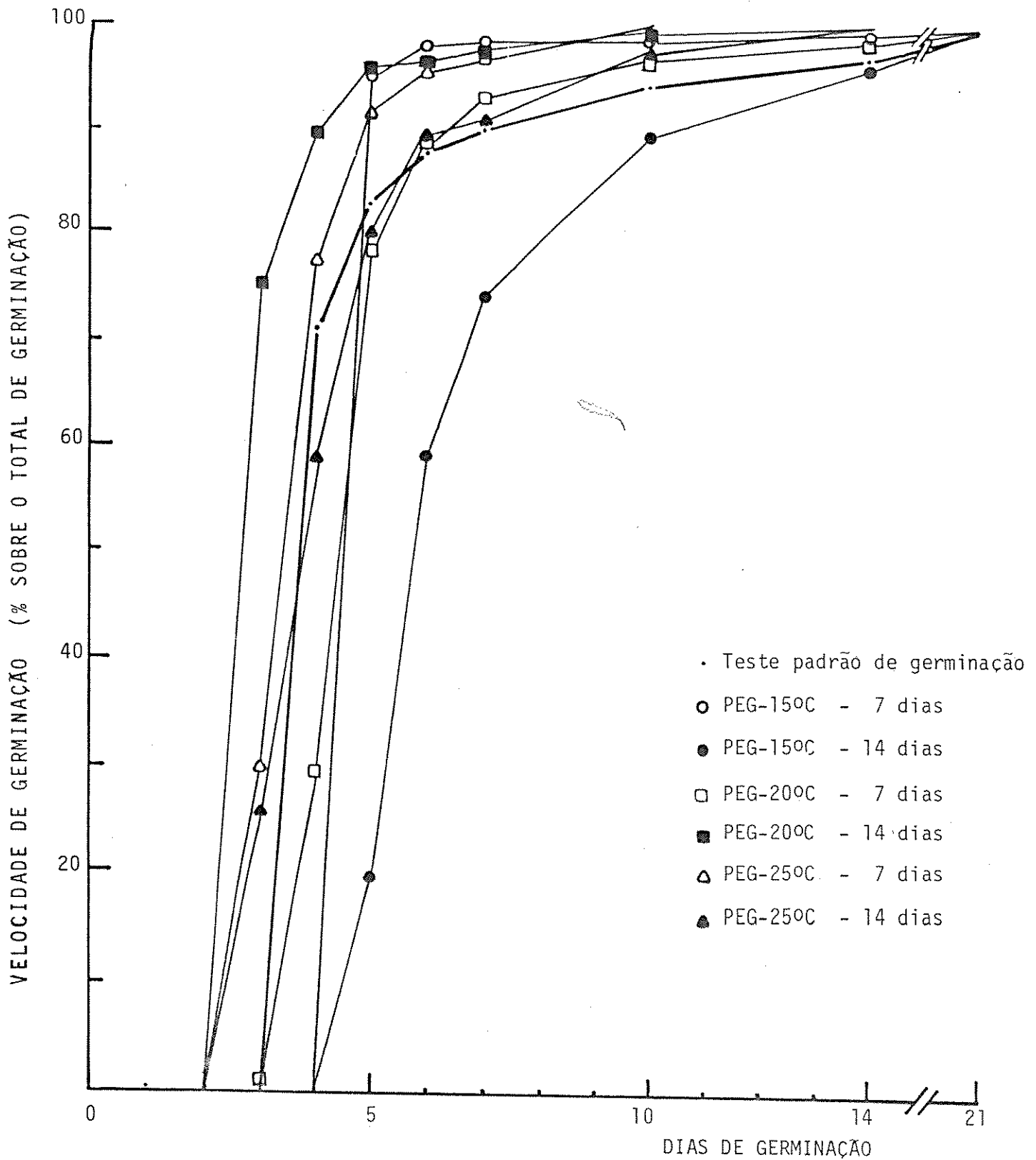


FIGURA 11 - EFEITO DE 2 MESES DE ARMAZENAMENTO A 10°C, APÓS EMBEBIÇÃO EM SOLUÇÃO OSMÔTICA DE PEG-6000 DURANTE 2 PERÍODOS (7 E 14 DIAS) E 3 TEMPERATURAS (15,20 E 25°C), NA VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES ESCARIFICADAS DE 6 AMOSTRAS DE CAPIM-COLONIÃO, ANOS 1980/81.

Teste Tukey

a) Para tratamentos:

200C - 14 dias	28,3 a	
250C - 7 dias	24,1 b	
250C - 14 dias	20,9 c	
150C - 7 dias	19,4 c	D.M.S. = 2,3
T.P.G.	19,1 c	
200C - 7 dias	18,7 c	
150C - 14 dias	13,2 d	

b) Para temperaturas:

200 C	23,5 a	
250C	22,5 a b	D.M.S. = 4,4
T.P.G.	19,1 b c	
150C	16,3 c	

4.3 - Análise comparativa dos resultados - Armazenamento a 100C durante 0 , 2 e 5 meses - Sementes intactas e esscarificadas

Para a análise global deste experimento procedeu-se a uma avaliação conjunta dos totais de germinação obtidos imediatamente após (0 meses) a embebição das sementes em solução osmótica de PEG-6000 e após 2 e 5 meses de armazenamento a 100C.

Pela análise estatística dos resultados para sementes intactas, apresentada a seguir em valores de arco $\text{sen}\sqrt{\% \text{ germinação}}$, verifica-se que não ocorreram diferenças significativas entre os períodos de armazenamento, mostrando ser tecnicamente viável conservar-se sementes até 5 meses após embebição em solução osmótica de PEG sem redução no total de germinação.

Análise estatística - Sementes intactas - Germinação em $\arcsen\sqrt{\%}$

Análise de variância

F para tratamentos	0,81 n.s.
F para amostras	142,03*
F para interação tratamentos x amostras	16,91*
C.V. = 14,6%	

Para sementes escarificadas, a análise estatística apresentada a seguir em valores de $\arcsen\sqrt{\%}$ germinação mostra que o armazenamento durante 5 meses apresentou os piores resultados, mostrando ser tecnicamente inviável a conservação de sementes até 5 meses após a embebição em solução osmótica de PEG.

Análise estatística - Sementes escarificadas - Germinação em $\arcsen\sqrt{\%}$

Análise de variância

F para tratamentos	156,28*
F para amostras	104,42*
F para interação tratamentos x amostras	22,15*
C.V. = 8,3%	

Teste Tukey para tratamentos

2 meses de armazenamento	35,46 a
0 meses de armazenamento	35,10 a D.M.S. (5%) = 1,42
5 meses de armazenamento	26,17 b

5 - Teste final - Inibição osmótica de germinação em sementes de capim-colonião

Os resultados de total e velocidade de germinação obtidos após embebição osmótica em solução de PEG-6000 durante 7 dias, sob temperaturas de 25 e 15°C, são analisados separadamente para sementes intactas e sementes escarificadas de capim-colonião.

5.1 - Sementes intactas

Procedeu-se a série de testes visando a comparação de resultados de germinação de sementes normais (testemunha - tratamento A) com sementes obtidas imediatamente após a embebição em PEG (tratamento B) e também com sementes armazenadas durante 2 meses a 10°C após a embebição em PEG (tratamento C).

5.1.1 - Tratamento A (testemunha) x Tratamento B (imediatamente após PEG)

Pela análise estatística dos resultados observa-se pelo Teste de Tukey que o tratamento B foi superior ao tratamento A, evidenciando que a embebição das sementes em PEG teve efeito benéfico no total de germinação; tem-se também que a amostra 1 foi estatisticamente inferior às demais.

Análise estatística - Germinação em $\arcsen \sqrt{\%}$

Análise de variância

F para tratamentos	32,0*
F para amostras	12,4*
F para interação tratamentos x amostras	3,0 n.s.
C.V. = 17,6%	

Teste Tukey

Tratamentos	Amostras
B = 24,26 a	Amostra 3 = 24,74 a
	Amostra 2 = 24,25 a
	Amostra 4 = 23,41 a
	Amostra 6 = 22,64 a
	Amostra 5 = 19,85 a
A = 18,16 b	Amostra 1 = 12,40 b

D.M.S. = 2,17

D.M.S. = 5,58

5.1.2 - Tratamento A (testemunha) x Tratamento C (2 meses após PEG)

Pela análise estatística dos resultados observa-se pelo Teste de Tukey que o tratamento C foi superior ao tratamento A, mostrando que mesmo após 2 meses de armazenamento a 10°C em seguida à embebição em PEG as sementes foram ainda superiores à testemunha; com relação às amostras nota-se que a Amostra 1 foi estatisticamente inferior às demais.

Análise estatística - Germinação em arcosen $\sqrt{\%}$

Análise de variância

F para tratamentos	22,9*
F para amostras	18,8*
F para interação tratamentos x amostras	2,9 n.s.
C.V. =	16,2%

Teste Tukey

Tratamentos

C = 22,75 a

D.M.S. = 1,93

A = 18,16 b

Amostras

Amostra 2 = 25,01 a

Amostra 3 = 24,35 a

Amostra 4 = 21,42 a

Amostra 6 = 21,03 a

Amostra 5 = 20,11 a

Amostra 1 = 10,85 b

D.M.S. = 4,96

5.1.3 - Tratamento B (imediatamente após PEG) x Tratamento C (2 meses após PEG)

Pela análise de variância verifica-se que não houve diferença estatística entre os tratamentos, mostrando que os efeitos benéficos no total de germinação obtidos após embebição das sementes em solução osmótica de PEG mantiveram-se inalterados após 2 meses de armazenamento a 10°C. Pelo Teste de Tukey tem-se que as amostras 2,6 e 3 foram estatisticamente superiores às amostras 5 e 1.

Análise estatística - Germinação em arcosen $\sqrt{\%}$

Análise de variância

F para tratamentos	2,34 n.s.
F para amostras	17,91*
F para interação tratamentos x amostras	0,87 n.s.
C.V. = 14,5%	

Teste Tukey para amostras

Amostra 2 = 28,40 a	
Amostra 6 = 27,42 a	
Amostra 3 = 26,50 a	D.M.S. = 5,10
Amostra 4 = 23,65 a b	
Amostra 5 = 19,81 b c	
Amostra 1 = 15,26 c	

5.1.4 - Velocidade de germinação

De acordo com a Figura 12 observa-se que o total de germinação foi obtido aos 21 dias para todos os tratamentos. Pela análise estatística dos coeficientes de velocidade de germinação, apresentada a seguir, observa-se que, após embebição em solução osmótica de PEG-6000 (tratamento B) ocorreu um aumento na velocidade de germinação, comparando-se com as sementes sem embebição em PEG-6000 (tratamento A).

Análise estatística - Coeficiente de velocidade de germinação

Análise de variância

F para tratamentos	4,1*
C.V. = 25,2%	

Teste Tukey

Tratamento B	21,4 a	
Tratamento C	17,3 a b	D.M.S. = 6,6
Tratamento A	14,1 b	

5.2 - Sementes escarificadas quimicamente (H₂SO₄ concentrado)

Foram conduzidos testes visando comparar os resultados de

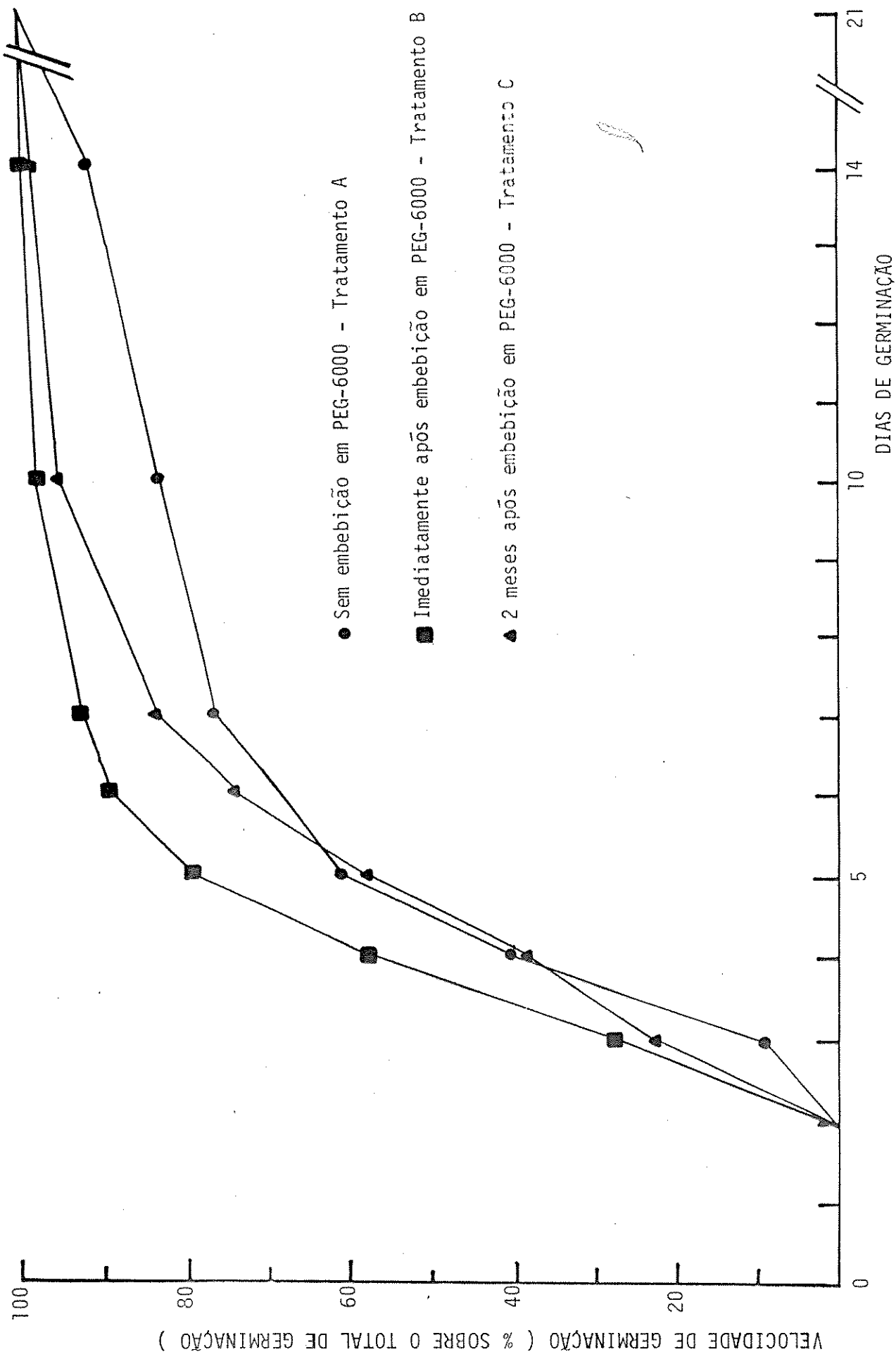


FIGURA 12 - EFEITO DE EMBEBIÇÃO EM SOLUÇÃO OSMÓTICA DE PEG-6000 DURANTE 7 DIAS SOB 25°C NA VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES INTACTAS DE 6 AMOSTRAS DE CAPIM-COLONIAO, ANO 1983.

germinação de sementes normais (testemunha - tratamento A) com sementes obtidas imediatamente após a embebição em PEG (tratamento B) e também com sementes armazenadas durante 2 meses a 100C após a embebição em PEG (tratamento C).

5.2.1 - Tratamento A (testemunha) x Tratamento B (imediatamente após PEG)

Pelo Teste de Tukey o tratamento A foi superior ao tratamento B, demonstrando que a embebição de sementes em solução osmótica de PEG teve efeito negativo na germinação; observa-se também que as amostras 1, 4 e 6 foram superiores às amostras 2 e 5.

Análise estatística - Germinação em $\arcsen \sqrt{\%}$

Análise de variância

F para tratamentos	5,4*
F para amostras	16,7*
F para interação tratamentos x amostras	2,5 n.s.
C.V. = 12,7%	

Teste Tukey

Tratamentos

A = 31,65 a

D.M.S. = 2,25

B = 29,07 b

Amostras

Amostra 1 = 39,11 a

Amostra 4 = 34,00 a

Amostra 6 = 29,49 b

Amostra 3 = 28,64 b c

Amostra 2 = 28,04 c

Amostra 5 = 22,89

D.M.S. = 5,77

5.2.2 - Tratamento A (testemunha) x Tratamento C (2 meses após PEG)

Pela análise de variância conclui-se que os tratamentos não diferiram estatisticamente, mostrando que o armazenamento das sementes durante 2 meses após a embebição em PEG conduziu a valores de germi-

nação iguais aos de sementes normais (testemunha); pelo Teste de Tukey verifica-se que as amostras 1,3 e 4 foram superiores à amostra 5.

Análise estatística - Germinação em arcosen $\sqrt{\%}$

Análise de variância

F para tratamentos	3,7 n.s.
F para amostras	20,5*
F para interação tratamentos x amostras	3,8 n.s.
C.V. = 9,9%	

Teste Tukey para amostras

Amostra 1 = 38,52 a	
Amostra 3 = 32,62 b	
Amostra 4 = 31,30 b c	D.M.S. = 4,58
Amostra 6 = 30,78 b c	
Amostra 2 = 27,74 c d	
Amostra 5 = 23,87 d	

5.2.3 - Tratamento B (imediatamente após PEG) x Tratamento C (2 meses após PEG)

Pelo Teste de Tukey verifica-se que o tratamento C foi superior ao tratamento B, mostrando que o período de 2 meses de armazenamento a 10°C foi benéfico às sementes com relação aos resultados obtidos com amostras coletadas imediatamente após a embebição em PEG; observa-se também que as amostras 1,6, e 4 foram superiores à amostra 5.

Análise estatística - Germinação em arcosen $\sqrt{\%}$

Análise de variância

F para tratamentos	22,0*
F para amostras	20,6*
F para interação tratamentos x amostras	0,1 n.s.
C.V. = 10,6%	

Teste Tukey

Tratamentos

C = 31,62 a

D.M.S. = 1,82

B = 27,41 b

Amostras

Amostra 1 = 36,40 a

Amostra 6 = 32,55 a b

Amostra 4 = 31,34 b c

Amostra 3 = 27,94 b c

Amostra 2 = 26,78 c

Amostra 5 = 22,08 d

D.M.S. = 4,66

Pela Figura 13 observa-se que o total de germinação foi obtido aos 21 dias para todos os tratamentos. Pela análise estatística dos coeficiente de velocidade de germinação, apresentada a seguir, observa-se que após 2 meses de armazenamento a 10°C (tratamento C) ocorreu um aumento na velocidade de germinação, comparando-se com as sementes sem embebição em PEG-6000 (tratamento A).

Análise estatística - Coeficiente de velocidade de germinação

Análise de variância

F para tratamentos

5,0*

C.V. = 14,6%

Teste Tukey

Tratamento C

24,4 a

Tratamento B

23,2 a b

D.M.S. = 4,9

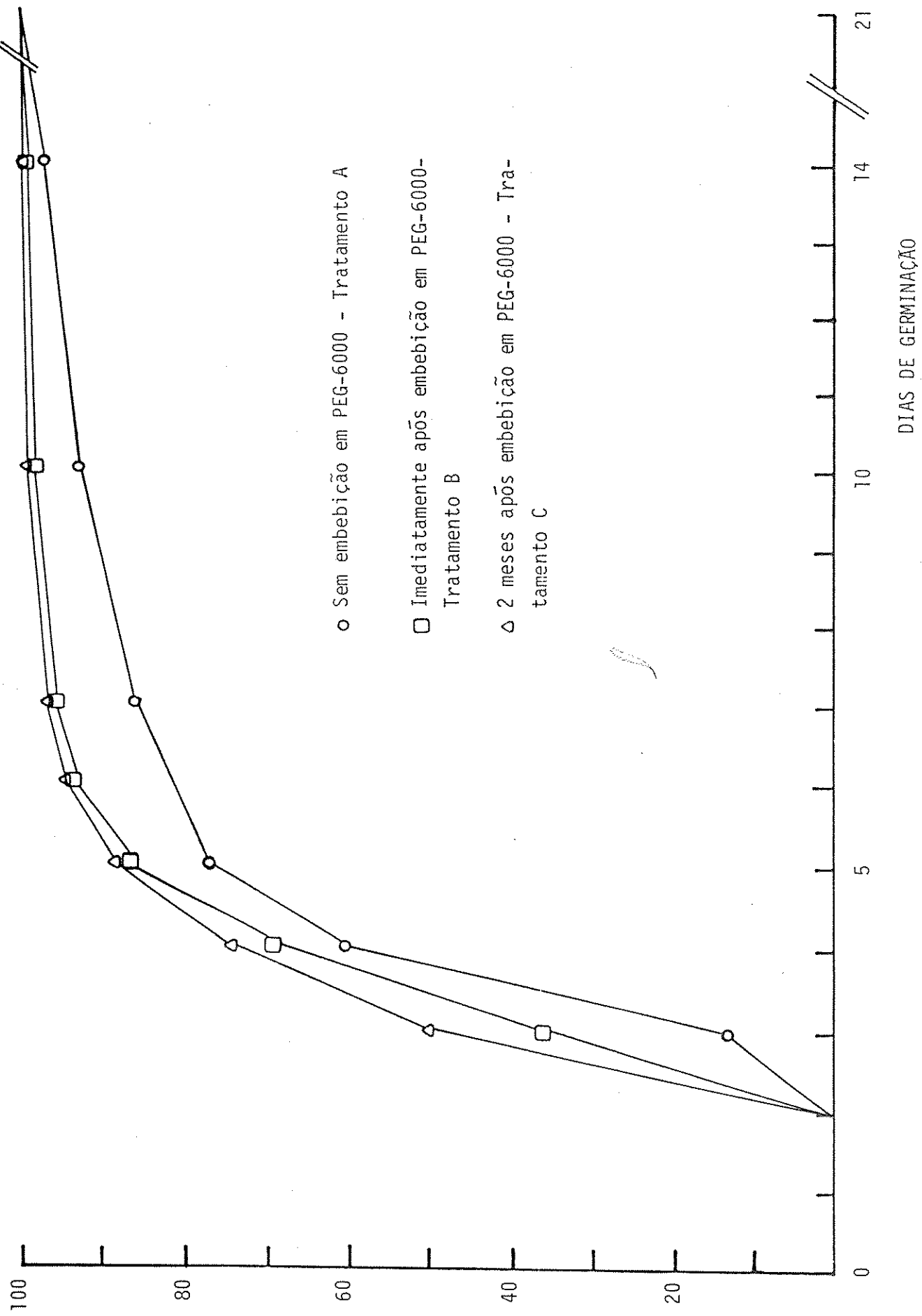
Tratamento A

18,8 b

C - SUBSTÂNCIAS DE CRESCIMENTO ENDÓGENAS

Nesta etapa do trabalho foram analisados os efeitos de aplicação de substâncias reguladoras de crescimento na velocidade e total de germinação de sementes de capim-colonião, bem como os resultados da extração, fracionamento e detecção de substâncias de crescimento nos cromatogramas obtidos a partir de frações ácidas, básicas e neutras provenientes de amostras dessas sementes.

VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO (% SOBRE O TOTAL DE GERMINAÇÃO)



- Sem embebição em PEG-6000 - Tratamento A
- Imediatamente após embebição em PEG-6000 - Tratamento B
- △ 2 meses após embebição em PEG-6000 - Tratamento C

DIAS DE GERMINAÇÃO

FIGURA 13 - EFEITO DE EMBEBIÇÃO EM SOLUÇÃO OSMÓTICA DE PEG-6000 DURANTE 7 DIAS SOB 15°C NA VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES ESCARIFICADAS DE 6 AMOSTRAS DE CAPIM-COLONIAO, ANO 1983.

1 - Efeito da aplicação de GA₃ , 6-BA e ETREL nas sementes

Pela análise estatística dos resultados, apresentada a seguir em valores de arco sen $\sqrt{\%$ germinação, nota-se, pelo Teste de Tukey, que os tratamentos usando GA₃ não diferiram entre si, mas foram estatisticamente superiores aos demais, que se mostraram iguais ao controle em água. Portanto, parece provável que a dormência das sementes seja eliminada pela ação de GA₃ sobre possíveis inibidores de germinação.

Análise estatística - Germinação em arco sen $\sqrt{\%$

Análise de variância

F para tratamentos	9,9*
F para amostras	295,2*
F para interação tratamentos x amostras	3,3*
C.V. = 10,4%	

Teste Tukey para tratamentos

GA 10 ⁻³ M	41,49 a	
GA 10 ⁻⁴ M	39,83 a	
Controle em água	33,76 b	
6 - BA 10 ⁻⁵ M	33,47 b	D.M.S.(5%) = 5,54
Etrel 6 ppm	33,25 b	
6 - BA 10 ⁻⁴ M	31,66 b	
Etrel 60 ppm	31,08 b	

Os resultados de velocidade de germinação são apresentados na Figura 14, onde se observa que o total de germinação foi alcançado aos 20 dias para todos os tratamentos. Pela análise estatística apresentada a seguir em coeficientes de velocidade de germinação nota-se que não ocorreram diferenças significativas entre as velocidades de germinação dos tratamentos.

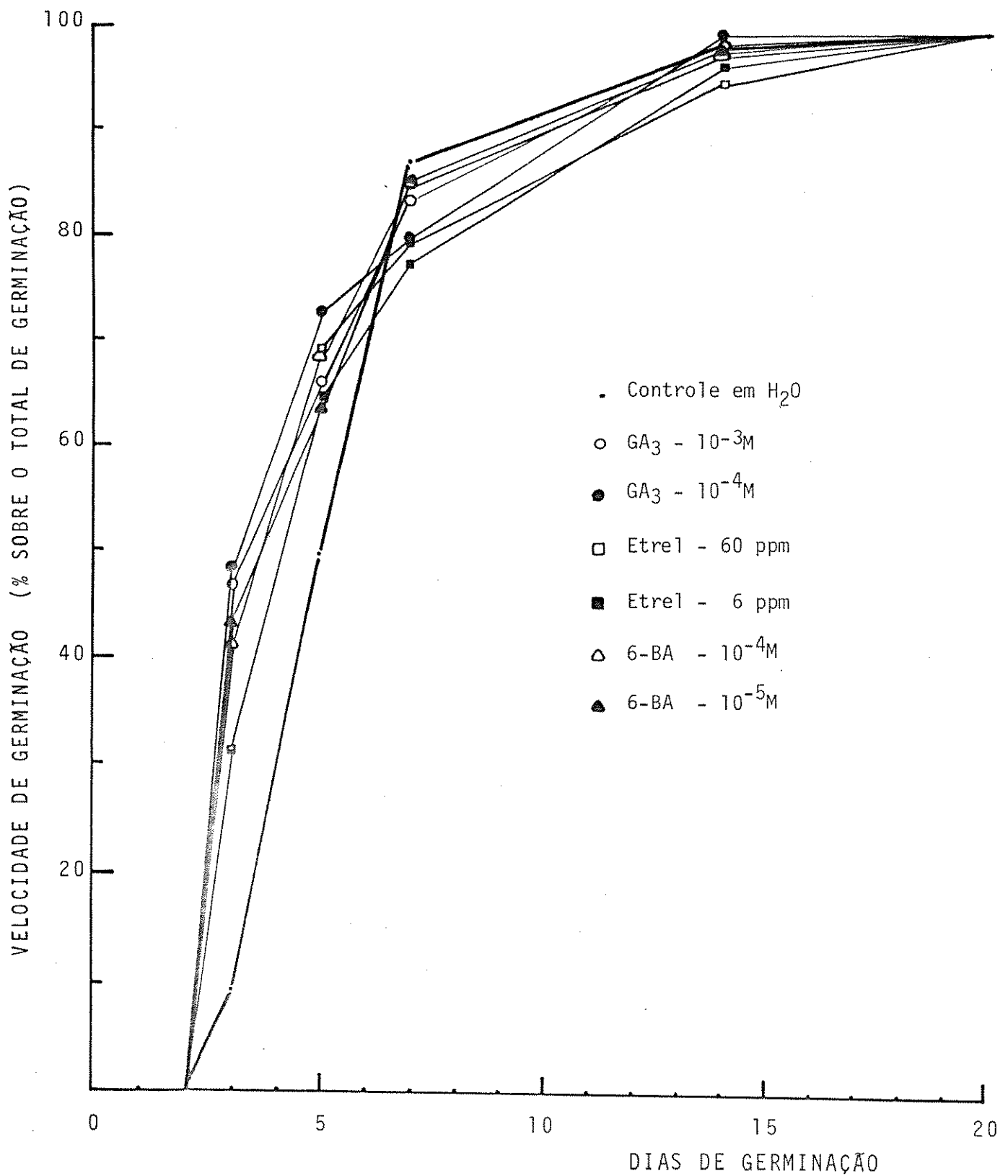


FIGURA 14 - EFEITO DA APLICAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS REGULADORAS DE CRESCIMENTO (GA₃, Etre1 e 6-BA) NA VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES INTACTAS DE 2 AMOSTRAS DE CAPIM-COLONIÃO, ANOS 1980/81.

Análise estatística - Coeficiente de velocidade de germinação

F para tratamentos

1,0 n.s

C.V. = 15,7%

2 - Aplicação de ácido abscísico nas sementes

Pelos resultados obtidos, expressos no Quadro 5, observa-se que todas as soluções de ABA testadas mostraram-se eficientes na inibição de germinação de sementes intactas e escarificadas.

Quadro 5 - Efeito da aplicação de soluções de ácido abscísico (ABA) na germinação de sementes de capim-colonião.

Amostras Tratamentos	Germinação (%)			
	Amostra 1980		Amostra 1981	
	Intacta	Escarificada	Intacta	Escarificada
Água	6	4	28	40
ABA 10 ⁻³ M	0	0	0	0
ABA 10 ⁻⁴ M	0	0	0	0
ABA 10 ⁻⁵ M	1	1	1	1

3 - Inibição de germinação de sementes de alface por frações ácidas

Pelos resultados apresentados no Quadro 6 verifica-se que, pela leitura após 48 horas, as frações ácidas das amostras induziram inibição na germinação; entretanto, na leitura após 120 horas, verifica-se que a inibição ocorreu somente na fração ácida da amostra de 1981, justamente a que apresentava baixa incidência de dormência.

Quadro 6 - Inibição de germinação de sementes de alface por frações ácidas extraídas de amostras de sementes de capim-colonião

Amostras	Germinação	
	48 horas	120 horas
Amostra 1980	14	96
Amostra 1981	19	56
Controle	97	99

4 - Extração de sementes intactas e escarificadas

Pela análise dos resultados de extração apresentados no Quadro 7 verifica-se que os pesos iniciais das amostras de sementes extraídas foram diferentes, pelo fato de que as sementes escarificadas do tratamento A (Testemunha) e as sementes do tratamento B (imediatamente após embebição em PEG) estavam ainda úmidas por ocasião da pesagem e extração, devido à escarificação química com H_2SO_4 concentrado e à embebição em solução osmótica de PEG-6000, respectivamente; este é o motivo pelo qual os resultados de RE (Resíduo de Extração) para estes casos não se mantiveram constantes em torno de 80%.

Quadro 7 - Resultados de extração de amostras de sementes de capim-colonião

Amostras	Tratamentos	Peso inicial (g)			Resíduo extração (g)			RE/PI (%)		
		A	B	C	A	B	C	A	B	C
Amostra 1	Intacta	5,00	6,75	3,40	4,01	2,73	2,65	80,2	40,4	77,9
	Escarificada	5,50	4,51	3,11	3,05	2,51	2,49	55,5	55,7	80,1
Amostra 2	Intacta	5,00	9,99	5,00	4,07	4,69	3,93	81,4	46,9	78,6
	Escarificada	5,50	8,70	5,00	2,99	4,70	4,06	54,4	54,0	81,2
Amostra 3	Intacta	5,00	8,99	5,00	4,06	3,83	3,88	81,2	42,6	77,6
	Escarificada	5,50	8,07	5,00	3,10	4,25	3,94	56,4	52,7	78,8
Amostra 4	Intacta	5,00	8,57	5,00	4,16	3,59	3,80	83,2	41,9	76,0
	Escarificada	6,50	8,13	5,00	3,98	4,27	4,06	61,2	52,5	81,2
Amostra 5	Intacta	5,00	7,06	4,96	4,20	4,05	4,07	84,0	57,4	81,9
	Escarificada	6,50	7,72	5,00	4,45	4,91	4,15	68,5	63,6	83,0
Amostra 6	Intacta	5,00	9,21	5,00	3,96	4,34	4,05	79,2	47,1	81,0
	Escarificada	5,50	7,19	5,00	3,26	4,46	4,10	59,3	62,0	82,0

Deste modo, para contornar esse problema, deverão ser utilizados os valores de resíduo de extração para comparação dos resultados obtidos após a detecção de substâncias reguladoras de crescimento presentes nas frações ácidas, básicas e neutras.

5 - Detecção de substâncias promotoras nos cromatogramas

São apresentados a seguir os resultados obtidos em atividade promotora tipo gibberelínica ou citocinínica, detectados através dos biotestes de alongamento no hipocótilo de alface e de aumento do peso fresco de cotilédones de rabanete, respectivamente, em regiões dos cromatogramas previamente definidas em experimentos preliminares. São analisados isoladamente os resultados para frações ácidas, neutras e básicas provenientes de seis amostras de sementes intactas e escarificadas de capim-colonião, ano 1983, normais e após embebição em PEG-6000.

5.1 - Frações ácidas

5.1.1 - Testes preliminares

Pelos resultados dos testes de inibição de germinação de sementes de alface, observa-se pela Figura 15 que a maior incidência de inibição acha-se nos Rfs 0,4 - 1,0, sendo os maiores picos para sementes escarificadas nos Rfs 0,4 - 0,6 e para sementes intactas nos Rfs 0,7 - 0,9.

Pelos resultados do bioteste de alongamento do hipocótilo de alface, observa-se na Figura 16 regiões de atividade promotora nos Rfs 0,0 - 0,6 e regiões de atividade inibidora nos Rfs 0,6 - 1,0. Considerando-se que sob este sistema de solvente as substâncias com atividade gibberelínica situam-se na região dos Rfs 0,4 - 0,5 e também que substâncias inibidoras tipo ABA situam-se nos Rfs 0,7 - 0,9 decidiu -

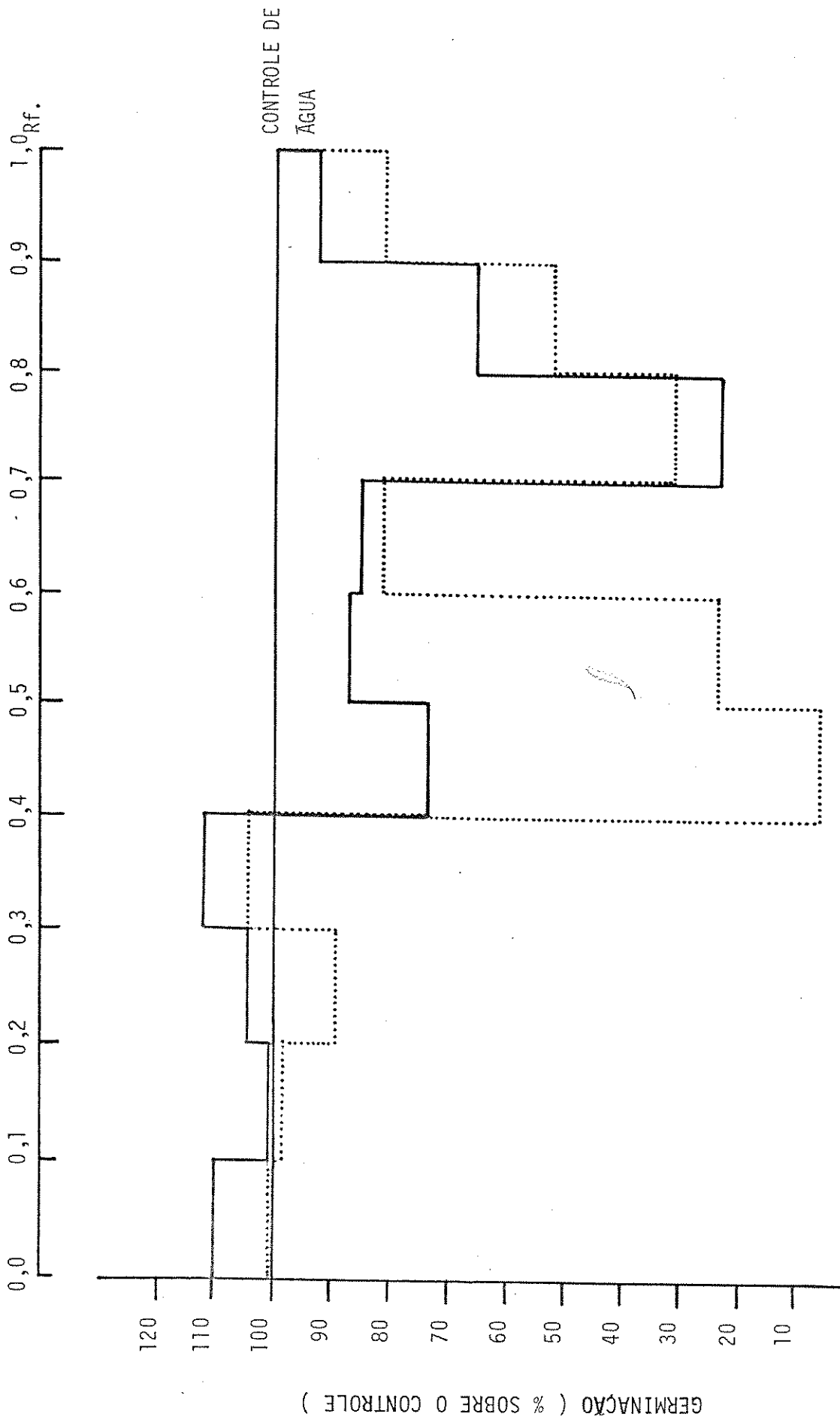


FIGURA 15 - FRAÇÃO ÁCIDA DE EXTRATOS DE SEMENTES INTACTAS (—) E ESCARIFICADAS (.....) DE CAPIM-COLONIÃO, AMOSTRA 1 - 1983, SEM EMBEBIÇÃO EM SOLUÇÃO OSMÓTICA DE PEG-6000. INIBIÇÃO DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE ALFACE, EM PORCENTAGEM DO CONTROLE DE ÁGUA (100%).

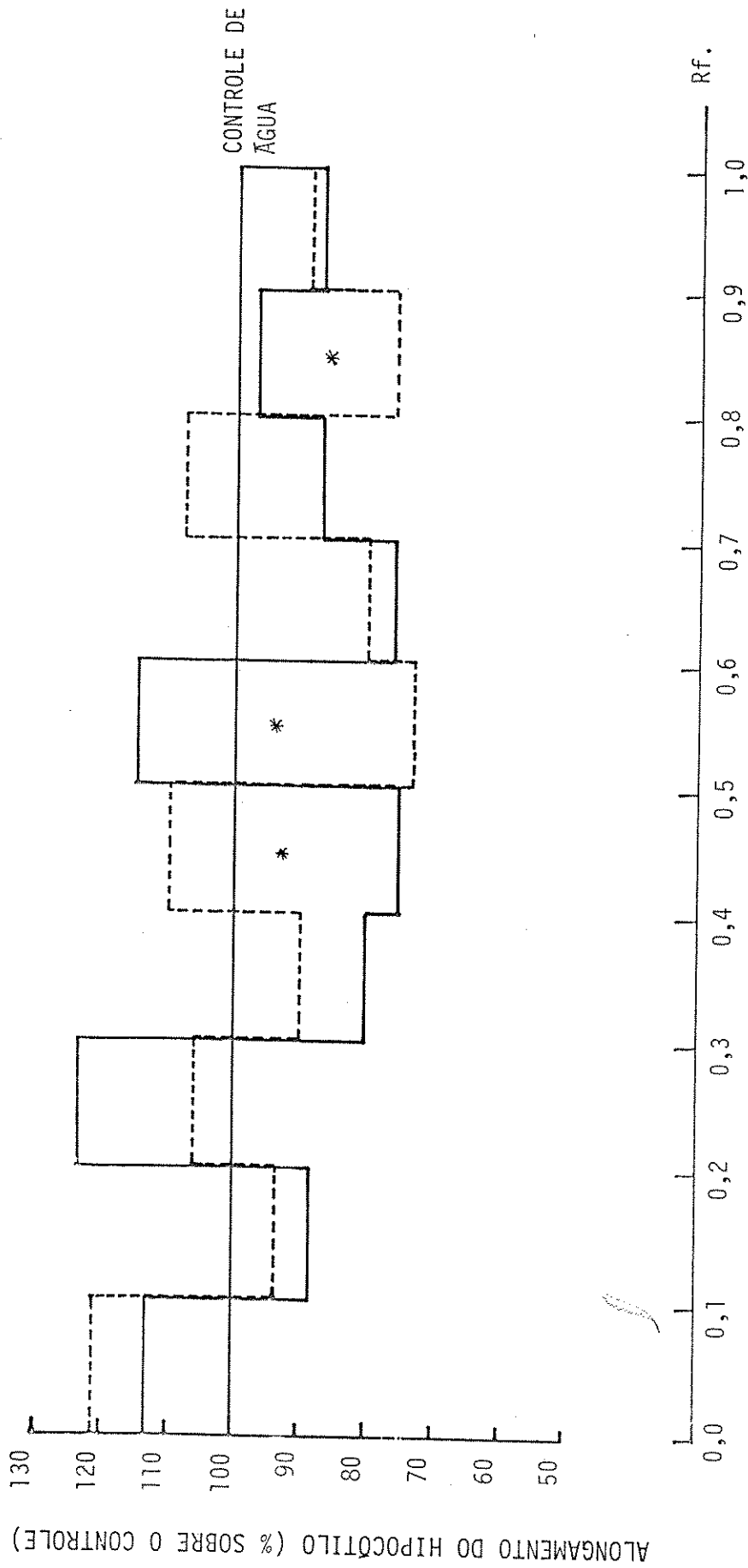


FIGURA 16 - FRAÇÃO ÁCIDA DE EXTRATOS DE SEMENTES NORMAIS INTACTAS (—) E ESCARIFICADAS (---) DE CAPIM-COLONIÃO, AMOSTRA 1 - 1983. BIOTESTE DE ALONGAMENTO DO HIPOCÓTILO DE ALFACE. O SI -
 NAL * MOSTRA TESTE F SIGNIFICATIVO A 5% ENTRE AS FAIXAS DE RF CORRESPONDENTES AOS TRATAMEN -
 TOS.

se com base nos resultados apresentados nas Figuras 15 e 16, que os cromatogramas desenvolvidos a partir de frações ácidas das amostras de sementes seriam biotestados para substâncias tipo giberelinas somente na região dos Rfs 0,0 - 0,6.

5.1.2 - Amostras de sementes com alta dormência

Na Figura 17 são apresentados os resultados para as frações ácidas provenientes de sementes intactas e escarificadas com alta dormência (Amostras 1 e 6).

Os resultados para sementes normais (sem embebição em PEG-6000) estão na Figura 17.a, onde se observa uma diferença em atividade giberelínica na região dos Rfs 0,3 - 0,4, sendo maior para sementes intactas; nota-se também alta atividade giberelínica nos Rfs 0,4 - 0,6, para os dois tratamentos. Na Figura 17.b nota-se, para sementes imediatamente após embebição em PEG-6000, uma região de diferente atividade giberelínica nos Rfs 0,5 - 0,6, sendo maior para sementes escarificadas. Na Figura 17.c observa-se a ocorrência, para sementes após 2 meses de embebição em PEG-6000, de regiões com diferentes atividades giberelínicas nos Rfs 0,1 - 0,2 e nos Rfs 0,5 - 0,6, sendo maiores para sementes escarificadas; nota-se também alta atividade giberelínica nos Rfs 0,0 - 0,1 e nos Rfs 0,3 - 0,4 para os dois tratamentos.

5.1.3 - Amostras de sementes com baixa dormência

Na Figura 18 são apresentados os resultados para as frações ácidas oriundas de sementes intactas e escarificadas com baixa dormência (Amostras 2,3,4 e 5). Verifica-se, através das Figuras 18.a, 18.b e 18.c que não foram detectadas regiões com diferença em atividade giberelínica entre os tratamentos, para as sementes normais e após embebição em PEG-6000.

ALONGAMENTO DO HIPOCÓTILO (% SOBRE O CONTROLE)

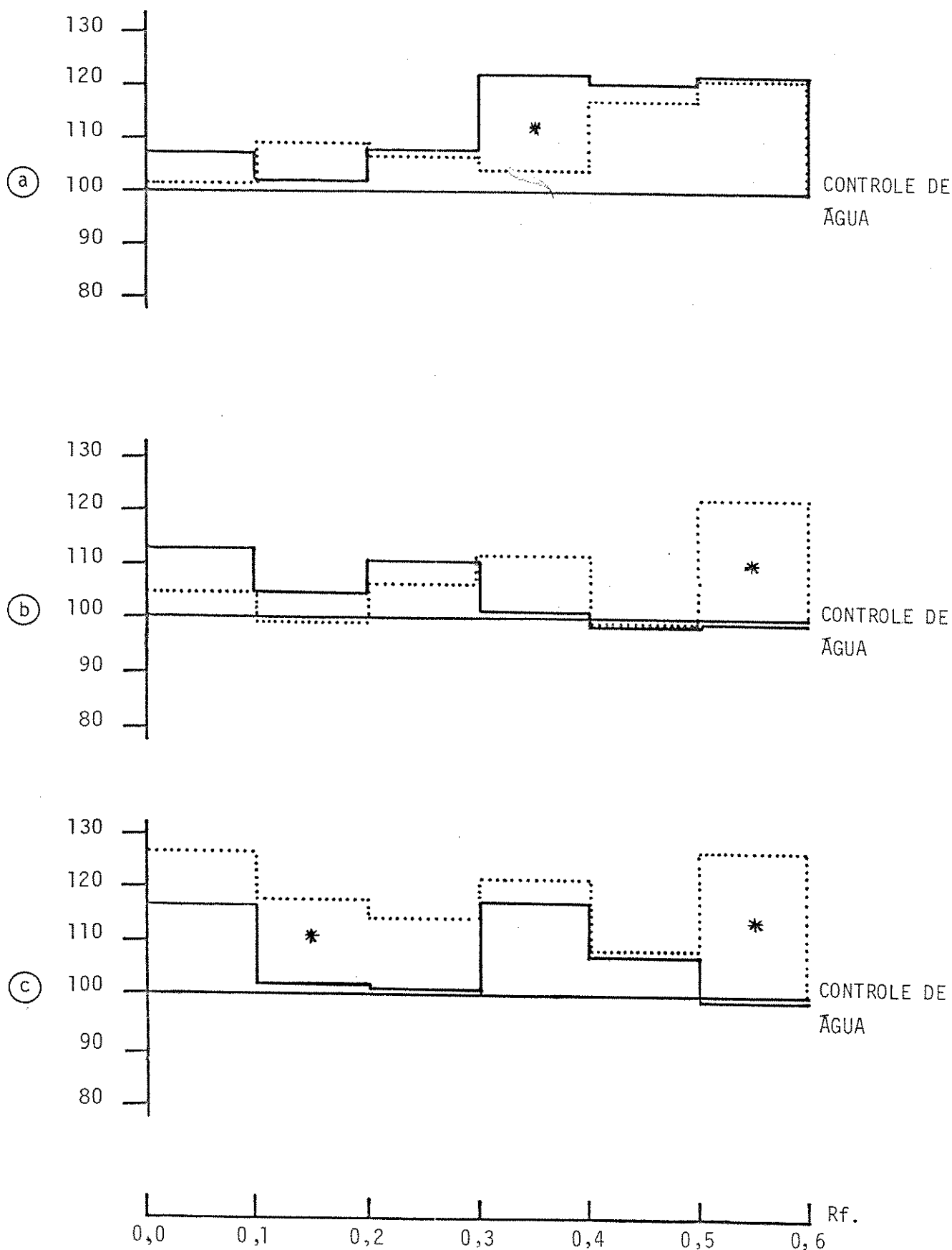


FIGURA 17 - FRAÇÃO ÁCIDA DE EXTRATOS DE SEMENTES DE CAPIM-COLONIÃO INTACTAS (—) E ESCARIFICADAS (.....) COM ALTA DORMÊNCIA. BIO-TESTE DE ALONGAMENTO DO HIPOCÓTILO DE ALFACE. O SINAL * MOSTRA TESTE F SIGNIFICATIVO A 5% ENTRE AS FAIXAS DE Rf CORRESPONDENTES AOS TRATAMENTOS. FIGURA 17.a - SEMENTES NORMAIS; FIGURA 17.b - IMEDIATAMENTE APÓS EMBEBIÇÃO EM PEG-6000; FIGURA 17.c - 2 MESES APÓS EMBEBIÇÃO EM PEG-6000.

ALONGAMENTO DO HIPOCÓTILO (% SOBRE O CONTROLE)

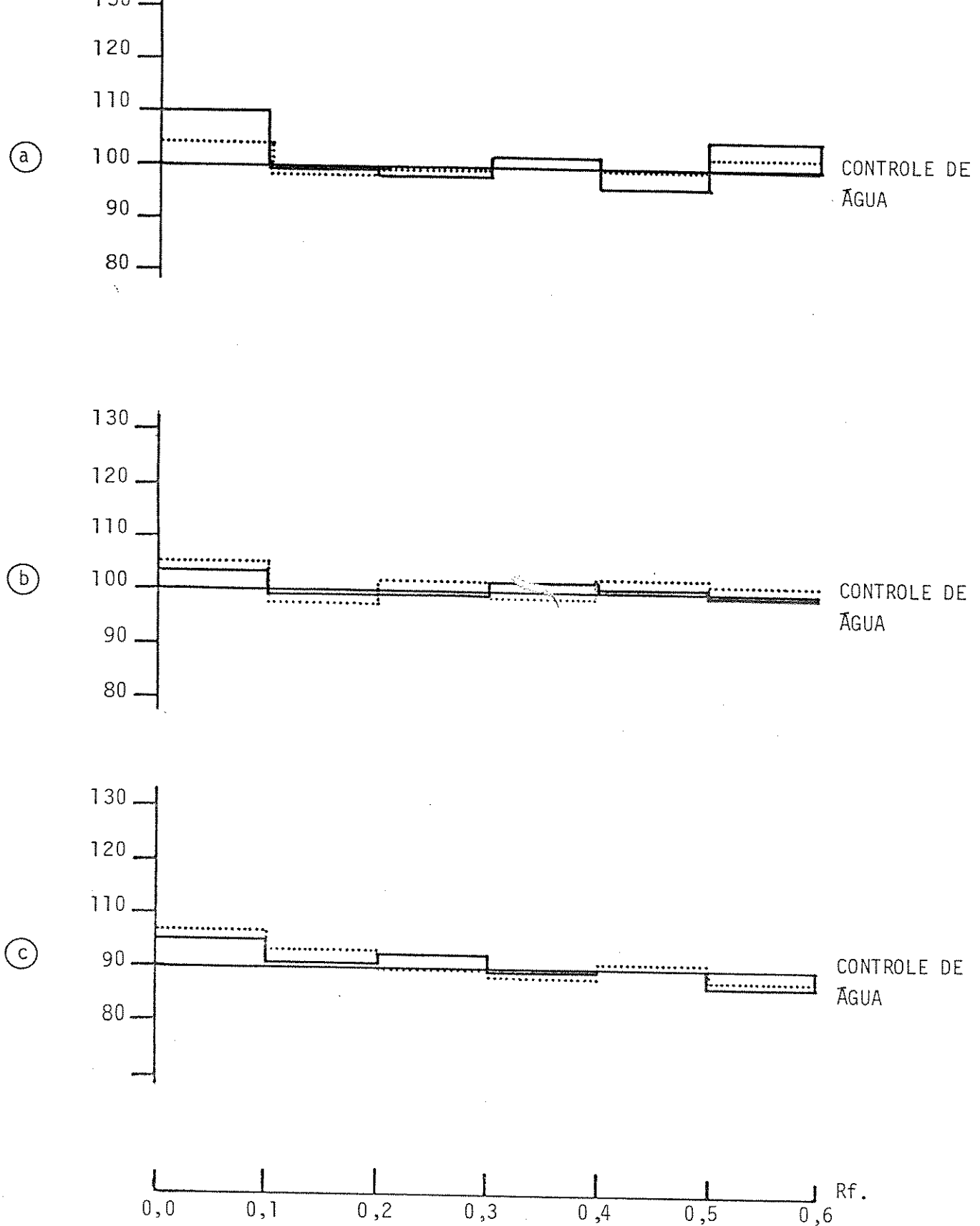


FIGURA 18 - FRAÇÃO ÁCIDA DE EXTRATOS DE SEMENTES DE CAPIM-COLONIAO INTACTAS (—) E ESCARIFICADAS (.....) COM BAIXA DORMÊNCIA. BIOTESTE DE ALONGAMENTO DO HIPOCÓTILO DE ALFACE. O SINAL * MOSTRA TESTE F SIGNIFICATIVO A 5% ENTRE AS FAIXAS DE Rf. CORRESPONDENTES AOS TRATAMENTOS. FIGURA 18.a - SEMENTES NORMAIS; FIGURA 18.b - IMEDIATAMENTE APÓS EMBEBIÇÃO EM PEG-6000; FIGURA 18.c - 2 MESES APÓS EMBEBIÇÃO EM PEG-6000.

5.1.4 - Comparação entre amostras com alta e baixa dormência

Os valores médios totais obtidos para frações ácidas oriundas de sementes intactas e escarificadas com alta e baixa dormência são apresentados na Figura 19. Pela Figura 19.a verifica-se uma região de diferente atividade giberelínica nos Rfs 0,3 - 0,4, sendo maior para sementes intactas com alta dormência. Na Figura 19.b detectaram-se duas regiões de diferentes atividades giberelínicas nos Rfs 0,3 - 0,4 e nos Rfs 0,5 - 0,6, sendo maior para sementes escarificadas com alta dormência.

5.2 - Frações neutras

5.2.1 - Teste preliminar

Pela análise dos resultados de alongamento do hipocótilo de alface apresentados na Figura 20 nota-se a ocorrência de atividade tipo giberelínica na região dos Rfs 0,0 - 0,5 bem como atividade inibidora na região dos Rfs 0,5 - 1,0. Deste modo, adotando-se o mesmo critério usado para as frações ácidas, decidiu-se que os cromatogramas desenvolvidos a partir de frações neutras das amostras de sementes seriam biotestados para substâncias tipo giberelínicas somente na região dos Rfs 0,0 - 0,6.

5.2.2 - Amostras de sementes com alta dormência

Na Figura 21 são apresentados os resultados para as frações neutras provenientes de sementes intactas e escarificadas com alta dormência (Amostras 1 e 6).

Os resultados para sementes normais (sem embebição em PEG-6000) estão na Figura 21.a, onde se observa uma diferença em ativida

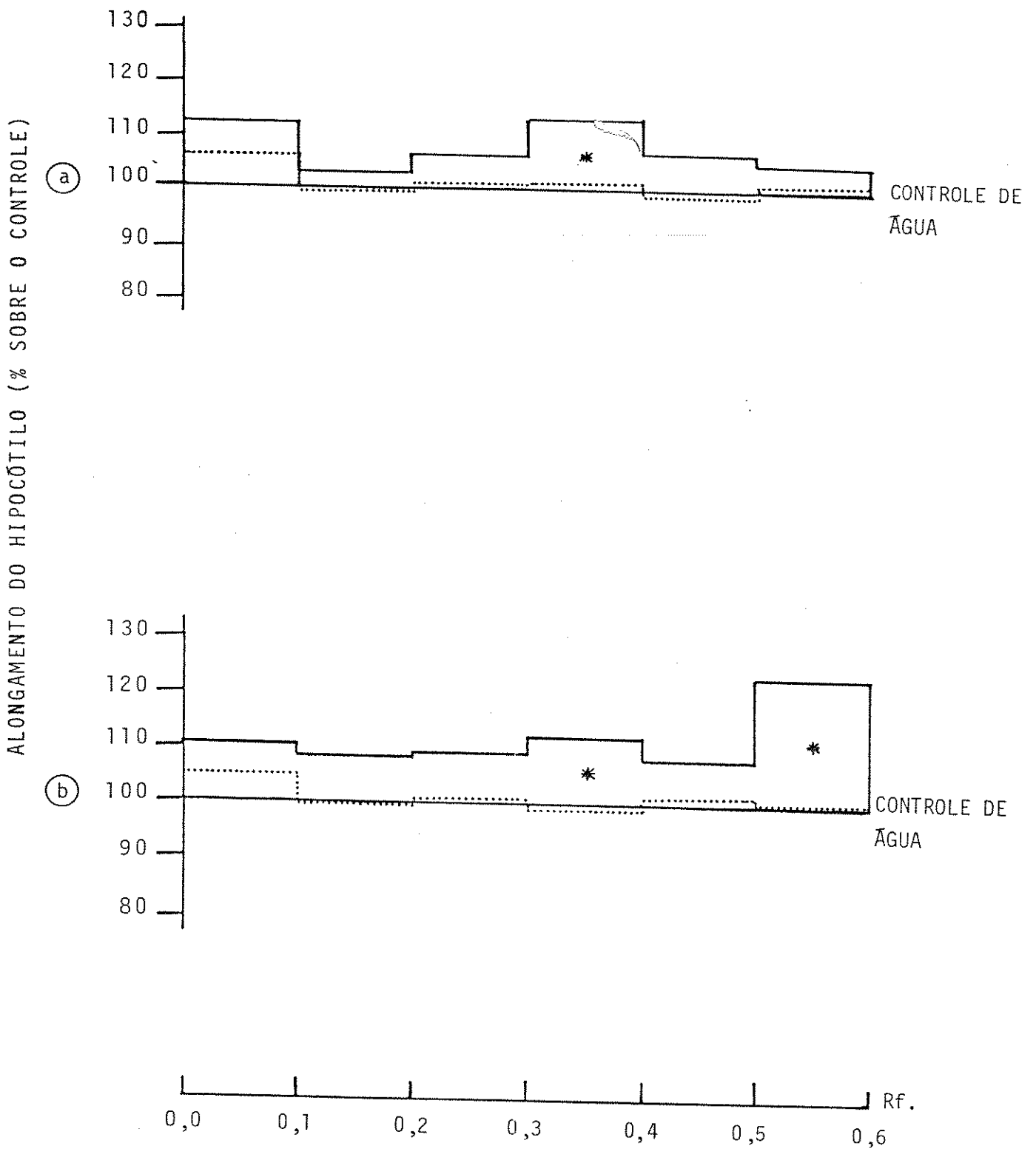


FIGURA 19 - FRAÇÃO ÁCIDA DE EXTRATOS DE SEMENTES INTACTAS E ESCARIFICADAS DE CAPIM-COLONIÃO COM ALTA DORMÊNCIA (——) E BAIXA DORMÊNCIA (.....). BIOTESTE DE ALONGAMENTO DO HIPOCÓTILO DE ALFACE. O SINAL * MOSTRA TESTE F SIGNIFICATIVO A 5% ENTRE AS FAIXAS DE Rf CORRESPONDENTES AOS TRATAMENTOS. FIGURA 19.a - SEMENTES INTACTAS; FIGURA 19.b - SEMENTES ESCARIFICADAS.

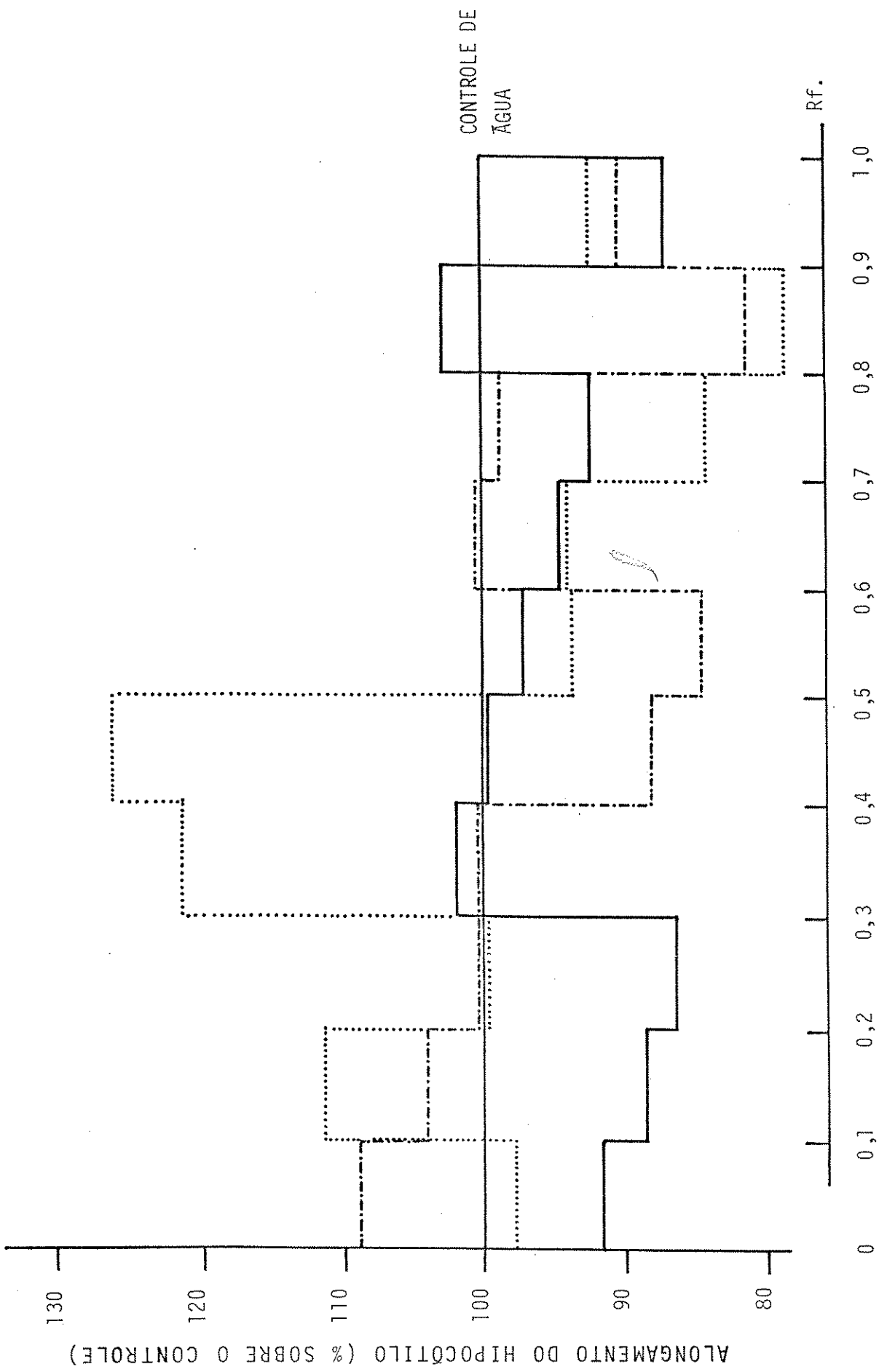


FIGURA 20- FRAÇÃO NEUTRA DE EXTRATOS DE SEMENTES INTACTAS DE CAPIM-COLONIAÇÃO, AMOSTRA 1 - 1983, NORMAIS (—), IMEDIATAMENTE APÓS (---) E 2 MESES DEPOIS DE EMBEBIÇÃO EM SOLUÇÃO OSMÓTICA DE PEG-6000 (-·-·-·-). BIOTESTE DE ALONGAMENTO DO HIPOCÓTILO DE ALFACE.

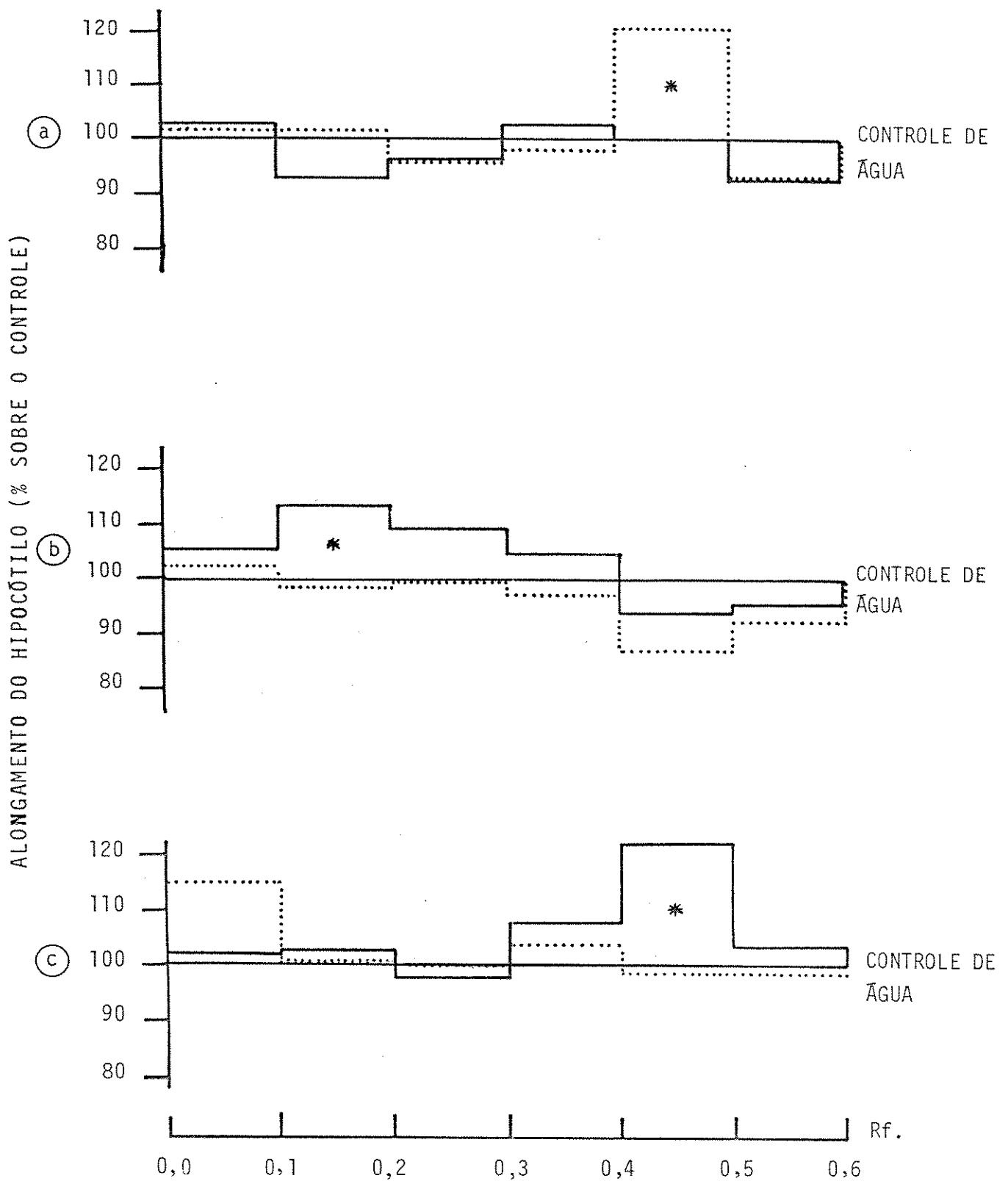


FIGURA 21 - FRAÇÃO NEUTRA DE EXTRATOS DE SEMENTES INTACTAS (—) E ESCARIFICADAS (.....) DE CAPIM-COLONIAO COM ALTA DORMENCIA. BIO-TESTE DE ALONGAMENTO DO HIPOCÓTILO DE ALFACE. O SINAL * MOSTRA TESTE F SIGNIFICATIVO A 5% ENTRE AS FAIXAS DE Rf CORRESPONDENTES AOS TRATAMENTOS. FIGURA 21.a - SEMENTES NORMAIS; FIGURA 21.b- Imediatamente após embebição em PEG-6000; FIGURA 21.c- 2 MESES APÓS embebição em PEG-6000.

de promotora nos Rfs 0,4 - 0,5, sendo maior para sementes esscarificadas; na Figura 21.b verifica-se que, imediatamente após embebição das sementes em PEG-6000, ocorreu uma região de diferente atividade promotora nos Rfs 0,1 - 0,2, sendo maior para sementes intactas. Pela Figura 21.c nota-se que, após 2 meses da embebição das sementes em PEG-6000, detectou-se uma região com diferente atividade promotora nos Rfs 0,4 - 0,5, sendo maior para sementes intactas.

5.2.3 - Amostras de sementes com baixa dormência

Na Figura 22 são apresentados os resultados para as frações neutras provenientes de sementes intactas e esscarificadas com baixa dormência (Amostras 2,3,4 e 5). Nota-se pelas Figuras 22.a, 22.b e 22.c que não ocorreram regiões com diferenças em atividade promotora entre os tratamentos, para as sementes normais e após embebição em PEG-6000.

5.2.4 - Comparação entre amostras com alta e baixa dormência

Os valores médios totais obtidos para frações neutras provenientes de sementes intactas e esscarificadas com alta e baixa dormência são apresentados na Figura 23. Pela Figura 23.a verifica-se uma região de diferente atividade promotora nos Rfs 0,3 - 0,4, sendo maior para sementes com alta dormência; entretanto essa diferença provém mais da atividade inibitória das sementes com baixa dormência do que uma atividade promotora propriamente dita. Pela Figura 23.b nota-se que não foram detectadas diferenças em atividade promotora em sementes esscarificadas.

5.3 - Frações básicas

ALONGAMENTO DO HIPOCÓTILO (% SOBRE O CONTROLE)

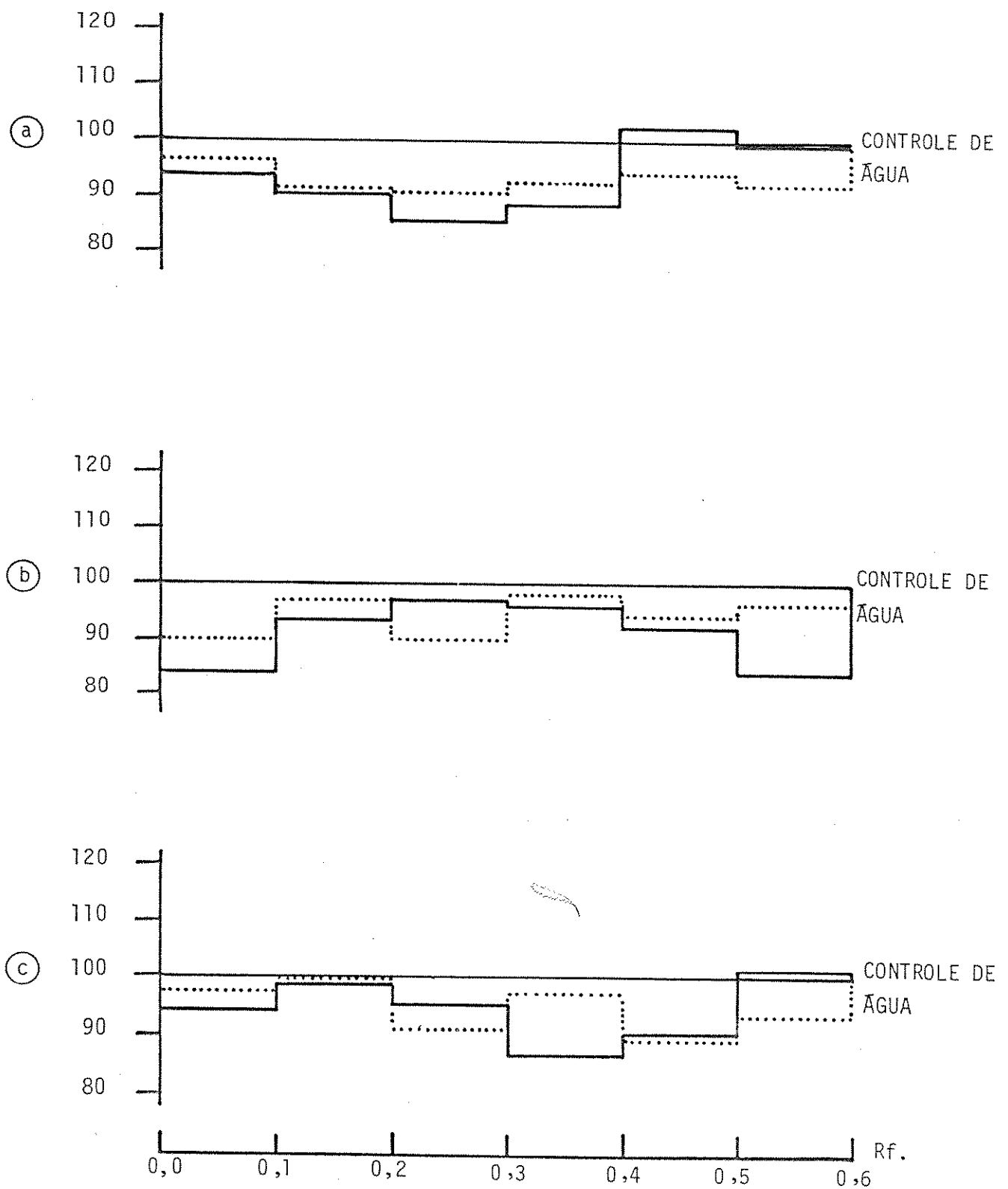


FIGURA 22 - FRAÇÃO NEUTRA DE EXTRATOS DE SEMENTES INTACTAS (—) E ESCARIFICADAS (.....) DE CAPIM-COLONIAO COM BAIXA DORMÊNCIA. BIO-TESTE DE ALONGAMENTO DO HIPOCÓTILO DE ALFACE. O SINAL * MOSTRA TESTE F SIGNIFICATIVO A 5% ENTRE AS FAIXAS DE Rf CORRESPONDENTES AOS TRATAMENTOS. FIGURA 22.a - SEMENTES NORMAIS; FIGURA 22.b - IMEDIATAMENTE APÓS EMBEBIÇÃO EM PEG-6000; FIGURA 22.c - 2 MESES APÓS EMBEBIÇÃO EM PEG-6000.

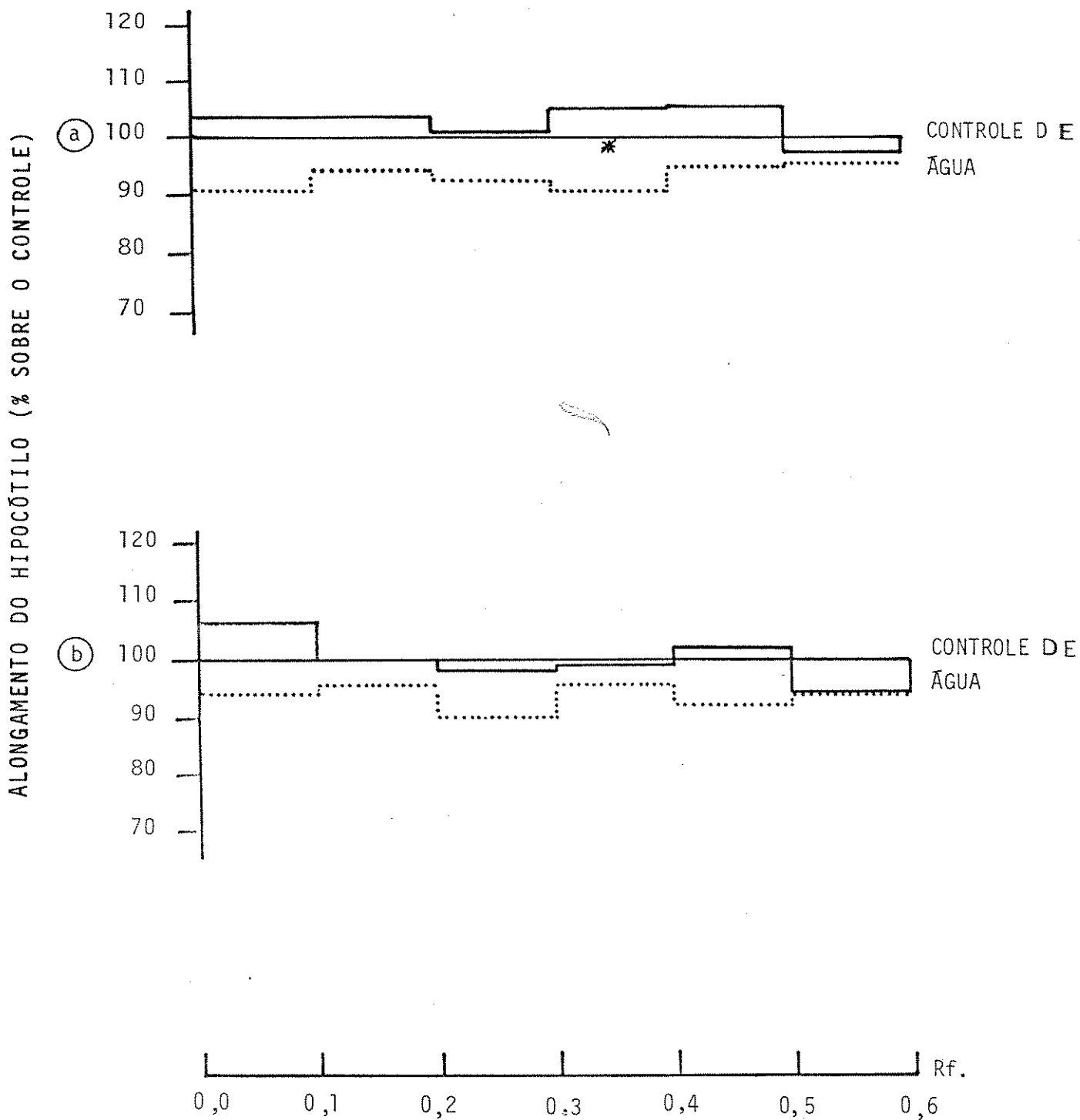


FIGURA 23 - FRAÇÃO NEUTRA DE EXTRATOS DE SEMENTES INTACTAS E ESCARIFICADAS DE CAPIM-COLONIÃO COM ALTA DORMÊNCIA (————) E BAIXA DORMÊNCIA (······). BIOTESTE DE ALONGAMENTO DE HIPOCÓTILO DE ALFA-CE. O SINAL * MOSTRA TESTE F SIGNIFICATIVO A 5% ENTRE AS FAIXAS DE Rf CORRESPONDENTES AOS TRATAMENTOS. FIGURA 23.a - SEMENTES INTACTAS; FIGURA 23.b - SEMENTES ESCARIFICADAS.

5.3.1 - Teste preliminar

Pela análise dos resultados de aumento de peso fresco de cotilédones de rabanete apresentados na Figura 24, verifica-se que houve atividade promotora para citocininas na região dos Rfs 0,1 - 0,5 , comprovando assim os resultados obtidos com o reagente de Wood. Deste modo, adotando-se o mesmo critério usado para as frações ácidas e neutras, decidiu-se que os cromatogramas desenvolvidos a partir de frações básicas de amostras de sementes seriam biotestados para substâncias tipo citocininas somente na região dos Rfs 0,1 - 0,5.

5.3.2 - Amostras de sementes com alta dormência

Os resultados para as frações básicas provenientes de sementes intactas e escarificadas com alta dormência (Amostras 1 e 6) são apresentados na Figura 25. Observa-se pelas Figuras 25.a, 25.b e 25.c que não foram detectadas regiões com diferenças em atividade citocinínica entre os tratamentos, para as sementes normais e após embebição em PEG-6000.

5.3.3 - Amostras de sementes com baixa dormência

Os resultados para as frações básicas provenientes de sementes intactas e escarificadas com baixa dormência (Amostras 2 , 3 , 4 e 5) são apresentados na Figura 26 . Pela Figura 26.a observa-se que, para sementes normais, sem embebição em PEG-6000, não foram detectadas diferenças em atividade citocinínica entre os tratamentos . Pelas Figura 26.b e 26.c observa-se que, após embebição em PEG- 6000 , ocorreram diferenças estatísticas nas regiões dos Rfs 0,1 - 0,2 e dos Rfs 0,2 - 0,3 , respectivamente, sendo maior para sementes intactas, entretanto, isso não foi devido a diferença em ati

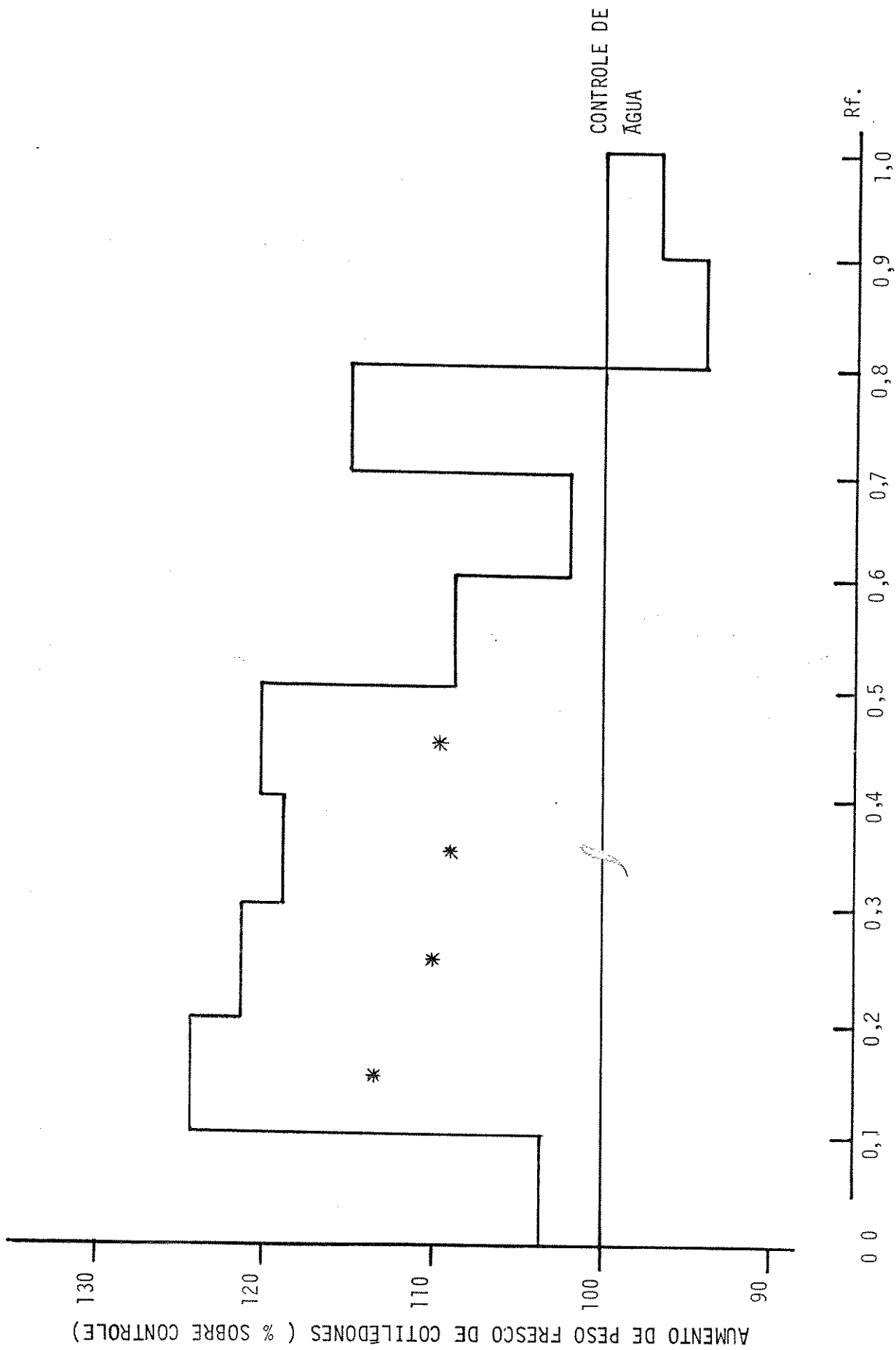


FIGURA 24- FRAÇÃO BÁSICA DE EXTRATO DE SEMENTES INTACTAS NORMAIS DE CAPIM-COLONIAÇÃO, AMOSTRA 1 - 1983. BIOTESTE DE AUMENTO DO PESO FRESCO DE COTILEDONES DE RABANETE. O SINAL * MOSTRA TESTE F SIGNIFICATIVO A 5% ENTRE AS FAIXAS DE RF E O CONTROLE DE ÁGUA.

AUMENTO DE PESO FRESCO DE COTILÉDONES (% SOBRE O CONTROLE)

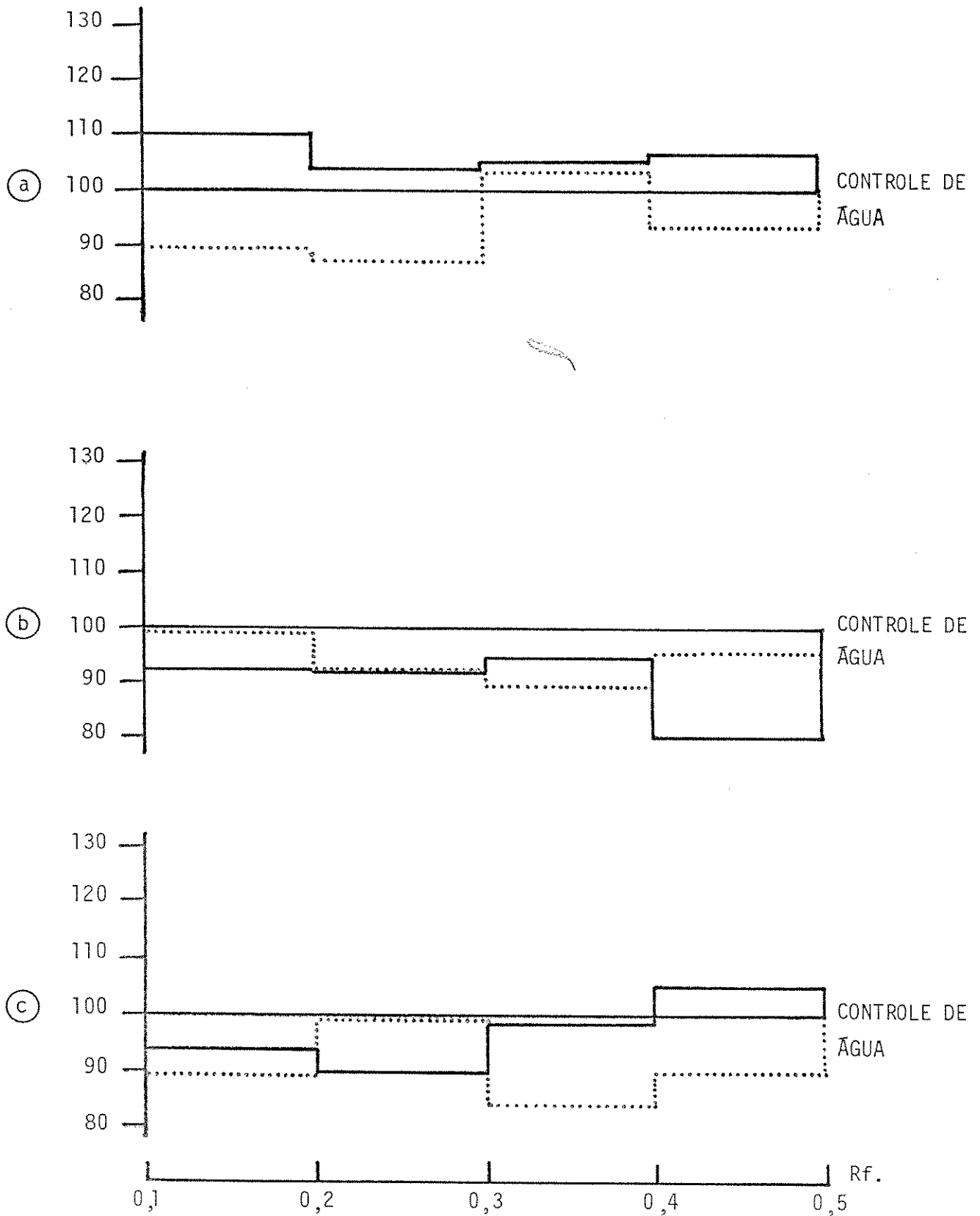


FIGURA 25 - FRAÇÃO BÁSICA DE EXTRATOS DE SEMENTES INTACTAS (—) E ESCARIFICADAS (·····) DE CAPIM-COLONIÃO COM ALTA DORMÊNCIA. BIOTESTE DE AUMENTO DO PESO FRESCO DE COTILÉDONES DE RABANETE. O SINAL * MOSTRA TESTE F SIGNIFICATIVO A 5% ENTRE AS FAIXAS DE Rf CORRESPONDENTES AOS TRATAMENTOS. FIGURA 25.a - SEMENTES NORMAIS; FIGURA 25.b IMEDIAT. APÓS EMBEBIÇÃO EM PEG-6000; FIGURA 25.c - 2 MESES APÓS EMBEBIÇÃO EM PEG-6000.

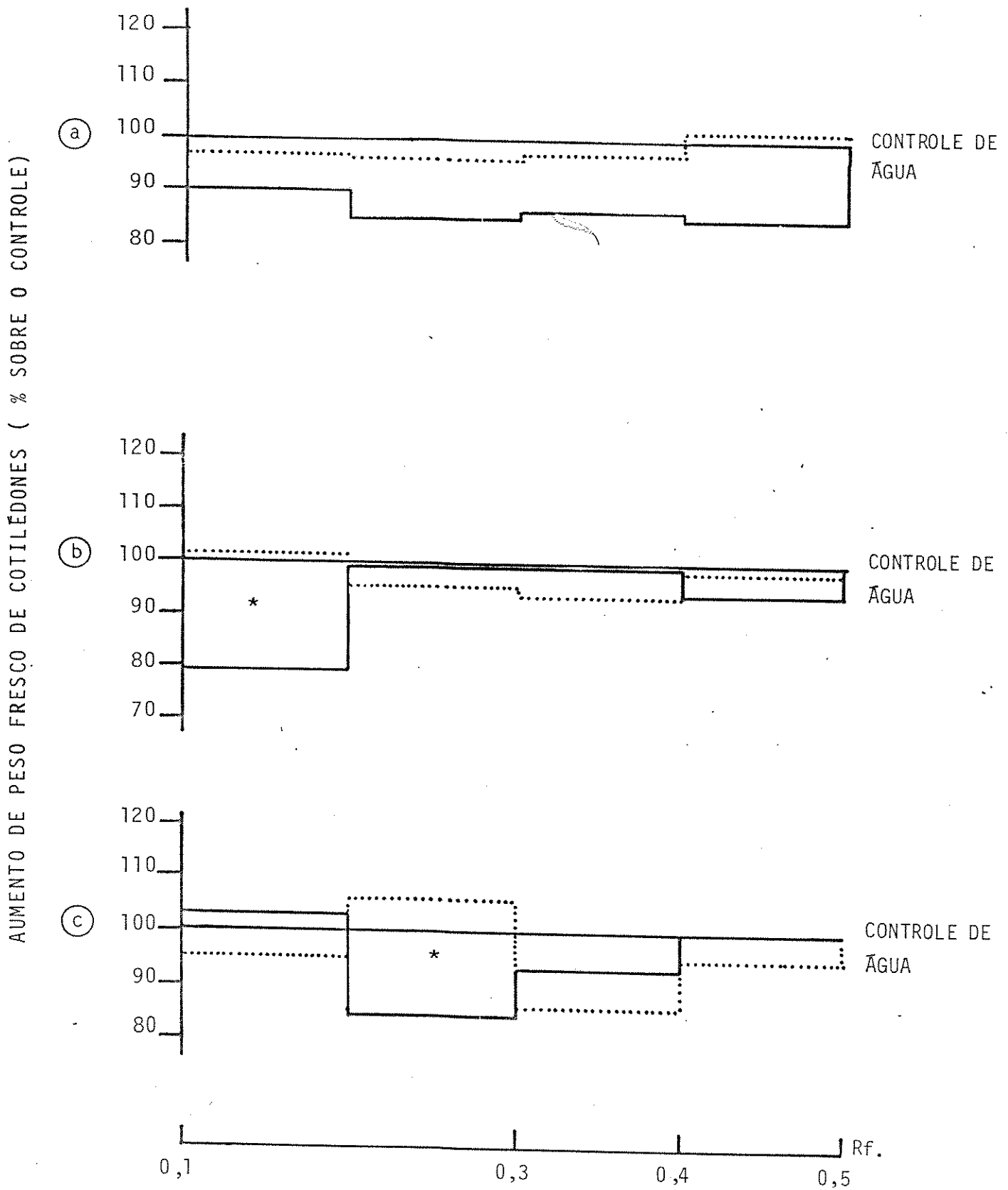


FIGURA 26 - FRAÇÃO BÁSICA DE EXTRATOS DE SEMENTES INTACTAS (—) E ESCARIFICADAS (.....) DE CAPIM-COLONIÃO COM BAIXA DORMÊNCIA. BIOTESTE DE AUMENTO DO PESO FRESCO DE COTILÉDONES DE RABANETE. O SINAL * MOSTRA TESTE F SIGNIFICATIVO A 5% ENTRE AS FAIXAS DE Rf CORRESPONDENTES AOS TRATAMENTOS. FIGURA 26.a - SEMENTES NORMAIS ; FIGURA 26.b - IMEDIATAMENTE APÓS EMBEBIÇÃO EM PEG-6000; FIGURA 26.c - 2 MESES APÓS EMBEBIÇÃO EM PEG-6000.

vidade citocinínica propriamente dita.

5.3.4 - Comparação entre amostras com alta e baixa dormência

Os valores médios totais obtidos para frações básicas provenientes de sementes intactas e escarificadas com alta e baixa dormência são apresentados na Figura 27. Pela análise das Figuras 27.a e 27.b nota-se que não foram detectadas regiões com diferenças em atividade citocinínica em sementes intactas e escarificadas, respectivamente.

6 - Determinação de ABA por espectroscopia

Para essa determinação detectou-se inicialmente, em espectrofotômetro VARIAN a 230nm, as absorbâncias de eluatos de frações ácidas provenientes das seis amostras de sementes, ano 1983. A seguir com essas absorbâncias foi feita uma curva padrão de ABA (Figura 28) e então calculado o equivalente de ABA por grama de sementes da amostra. Esses resultados podem ser observados no Quadro 8, onde se observa uma tendência de redução de valores médios de ABA a partir do tratamento A para os tratamentos B e C (após embebição em PEG-6000).

Pela análise estatística dos resultados, apresentada a seguir agrupando-se as sementes com alta dormência (Amostras 1 e 6) e baixa dormência (Amostras 2, 3, 4 e 5) observa-se que:

- a) as quantidades equivalentes de ABA/g de sementes não diferiram estatisticamente para sementes intactas e escarificadas, bem como para os tratamentos A, B e C (sementes normais, imediatamente após e 2 meses após embebição em PEG-6000, respectivamente);
- b) as sementes com alta dormência apresentaram quantidade equivalente de ABA/g de semente estatisticamente superior à obtida para

AUMENTO DE PESO FRESCO DE COTILÉDONES (% SOBRE O CONTROLE)

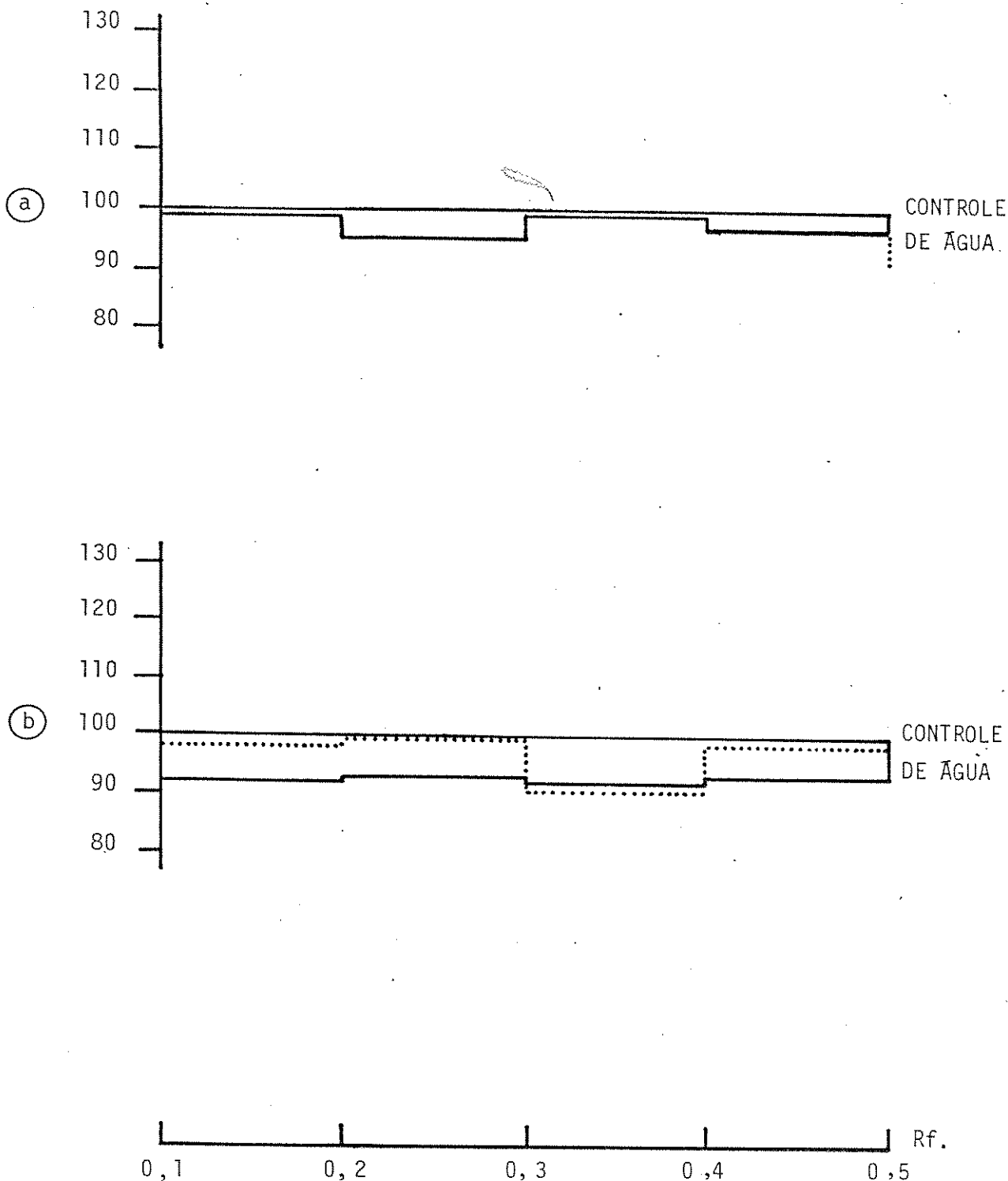


FIGURA 27 - FRAÇÃO NEUTRA DE EXTRATOS DE SEMENTES INTACTAS E ESCARIFICADAS DE CAPIM-COLONIÃO COM ALTA DORMÊNCIA (—) E BAIXA DORMÊNCIA (·····). BIOTESTE DE AUMENTO DO PESO FRESCO DE COTILÉDONES DE RABANETE. O SINAL * MOSTRA TESTE F SIGNIFICATIVO A 5% ENTRE AS FAIXAS DE Rf CORRESPONDENTES AOS TRATAMENTOS. FIGURA 27.a - SEMENTES INTACTAS; FIGURA 27.b - SEMENTES ESCARIFICADAS.

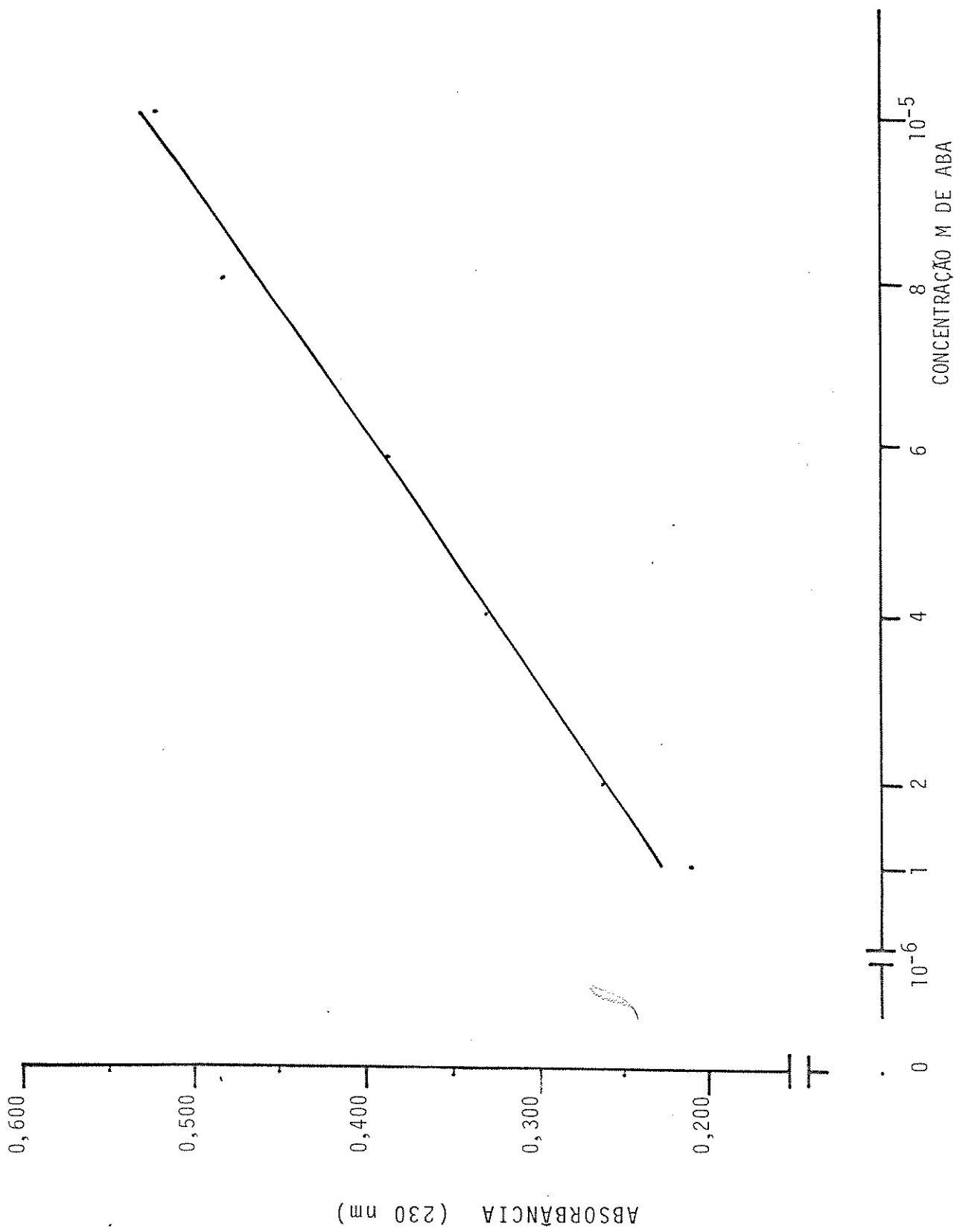


FIGURA 28 - CURVA PADRÃO DE ABA OBTIDA ATRAVÉS DE ABSORBÂNCIA A 230 nm EM ESPECTROFOTÔMETRO VARIAN.

Quadro 8 - Resultados em equivalentes de ABA por grama de sementes detectado por espectroscopia a 230 nm em amostras de sementes de capim-colonião. Amostras 1 e 6 - Alta dormência
 Amostras 2, 3, 4 e 5 - Baixa dormência

Amostras	Equivalente de ABA por grama de sementes		
	Tratamento A (sem embebição em PEG)	Tratamento B (1 imediatamente após embebição em PEG)	Tratamento C (2 meses após embebição com PEG)
1 Intacta	2,69 . 10 ⁻⁵ M	4,37 . 10 ⁻⁵ M	2,63 . 10 ⁻⁵ M
1 Escarificada	5,79 . 10 ⁻⁵ M	5,91 . 10 ⁻⁵ M	6,02 . 10 ⁻⁶ M
2 Intacta	1,24 . 10 ⁻⁵ M	2,16 . 10 ⁻⁶ M	3,80 . 10 ⁻⁶ M
2 Escarificada	4,33 . 10 ⁻⁵ M	3,03 . 10 ⁻⁵ M	3,60 . 10 ⁻⁶ M
3 Intacta	1,13 . 10 ⁻⁵ M	8,02 . 10 ⁻⁶ M	9,67 . 10 ⁻⁶ M
3 Escarificada	1,12 . 10 ⁻⁵ M	1,88 . 10 ⁻⁶ M	9,54 . 10 ⁻⁶ M
4 Intacta	6,74 . 10 ⁻⁶ M	5,57 . 10 ⁻⁶ M	5,84 . 10 ⁻⁶ M
4 Escarificada	1,63 . 10 ⁻⁶ M	6,27 . 10 ⁻⁶ M	6,97 . 10 ⁻⁶ M
5 Intacta	3,73 . 10 ⁻⁶ M	5,74 . 10 ⁻⁶ M	4,36 . 10 ⁻⁶ M
5 Escarificada	3,42 . 10 ⁻⁶ M	3,19 . 10 ⁻⁶ M	9,36 . 10 ⁻⁶ M
6 Intacta	4,37 . 10 ⁻⁶ M	5,35 . 10 ⁻⁶ M	8,04 . 10 ⁻⁶ M
6 Escarificada	4,98 . 10 ⁻⁵ M	6,37 . 10 ⁻⁶ M	5,11 . 10 ⁻⁶ M
Valores Médios	1,939 . 10 ⁻⁵ M (0,51 ng/100 mg)	1,480 . 10 ⁻⁵ M (0,39 ng/100 mg)	8,217 . 10 ⁻⁶ M (0,21 ng/100 mg)

sementes com baixa dormência .

Análise estatística

Análise de variância

F para tratamentos (intacta x escarificada)	2,09 n.s.
F para épocas (tratamentos A, B e C)	1,96 n.s.
F para amostras (alta e baixa dormência)	10,77 *

Teste Tukey para amostras

Alta dormência	: 2,49 . $10^{-5}M$ a	
	(0,66 ng/100 mg)	D.M.S. = 9,55 . $10^{-6}M$
Baixa dormência	: 0,87 . $10^{-5}M$ b	
	(0,23 ng/100 mg)	

IV - DISCUSSÃO

O desenvolvimento de uma técnica adequada para acelerar e uniformizar a germinação de sementes de capim-colonião, através de osmocondicionamento em solução de PEG-6000, foi o objetivo principal deste trabalho. Na fase inicial efetuaram-se testes visando-se obter a máxima germinação dessas sementes; em seguida foram determinadas as melhores condições para a inibição osmótica de germinação; e, finalmente, procedeu-se a extração e detecção de substâncias de crescimento endógenas. Todos os experimentos foram conduzidos de modo sequencial, sempre se baseando nos resultados anteriores. Foi adotado como parâmetro do máximo de germinação a viabilidade detectada pelo teste de tetrazólio, que já tem uma metodologia específica e confiável para essa espécie vegetal.

Na análise do efeito de luz e de escuro na germinação, o tratamento usando-se luz branca e 25°C-constante conduziu aos melhores resultados, igualando-se aos do teste de tetrazólio (Figura 1); entretanto, esses dados estão em desacordo aos obtidos por SHIMIZU (1979) em espécies de Panicum, que mostram a inibição de germinação pela luz sob temperaturas constantes e alternadas. A eficiência do tratamento de 25°C- luz branca foi confirmada no teste sobre os efeitos de temperaturas constantes, mas nesse caso os valores obtidos foram inferiores aos do teste de tetrazólio.

As alternâncias de temperaturas não apresentaram um efeito diferenciador na germinação e também não foram eficientes para atingir os valores do teste de tetrazólio. Esses resultados, entretanto, não confirmam aqueles obtidos por JOHNSTON e TATTERSFIELD (1971) e HARTY e BUTLER (1975) em sementes de Panicum maximum Jacq., quando ocorreram efeitos benéficos na germinação com a alternância de temperaturas. Segundo TOTTERDELL e ROBERTS (1981), a alternância de temperaturas é um fator complexo englobando no mínimo nove parâmetros: temperaturas superior, in

ferior e sua amplitude de variação, tempo de duração dessas temperaturas, velocidades de aquecimento e resfriamento, número de ciclos e tempo após a embebição, quando os ciclos começam; no entanto ainda não está bem esclarecido se as alternâncias de temperaturas causam o término da dormência ou se outros aspectos da fisiologia da germinação e crescimento estão envolvidos.

Pelos resultados de germinação sob temperaturas constantes e alternadas verificou-se que o teste padrão prescrito pelas Regras para Análise de Sementes estava incorreto, pois sempre conduziu aos valores mais baixos; além disso todos os demais tratamentos foram ineficientes para se igualar aos valores do teste de tetrazólio, surgindo assim a hipótese da ocorrência de uma possível dormência, que já foi abordada em cultivares de Panicum maximum Jacq. por SMITH (1979) e HARTY et al (1983) e especificamente em capim-colonião por BACCHI (1967) e USBERTI (1982).

A escarificação das sementes de capim-colonião com H₂SO₄ concentrado comprovou a existência de um tipo indeterminado de dormência, pois resultou em aumentos significativos na velocidade e total de germinação, em concordância com os resultados obtidos em sementes de Panicum maximum Jacq. por HANSSSEN e NICHOLS (1965) e SMITH (1971). No entanto, o modo de ação do ácido permanece indefinido, existindo várias hipóteses: eliminação de glumas, lemas e páleas (barreira mecânica); oxidação, decomposição ou remoção mecânica de inibidores ou então modificação na lema e pálea (TISCHLER e YOUNG, 1983); fragmentação dos tegumentos por rápida dessecação, permitindo a passagem de oxigênio ao embrião (DURÁN e TORDOSA, 1985).

A escarificação manual conduziu a resultados de velocidade de germinação superior aos de escarificação química devido a não danificar tanto as sementes e também porque, segundo SMITH (1971), deve haver um estágio crítico no qual o efeito positivo da remoção de glumas e páleas pelo ácido é contrabalançado por seu efeito prejudicial em erodir o florote fértil, danificando o meristema no cariopse.

O tratamento das sementes de capim-colonião com o fungicida PCNB aumentou o total de germinação em relação ao teste padrão, mas deve-se ressaltar que este é conduzido sem o defensivo e também que nessas sementes é muito usada a "colheita no chão", que acarreta diferentes intensidades de infestação de fungos nas mesmas.

Em todos os testes verificou-se que o total de germinação foi alcançado no prazo máximo de 21 dias, demonstrando assim que o período de 28 dias prescrito para o teste padrão é excessivo. Resultados semelhantes foram obtidos por HARTY et al (1983), mostrando que a maioria das amostras de Panicum maximum Jacq. alcançam 80% do total de germinação aos 7 dias, 90% aos 14 dias e 100% aos 21 dias.

Na segunda fase do trabalho foram determinadas as melhores condições para a inibição osmótica de germinação das sementes em solução de PEG-6000. Inicialmente, através de teste de germinação e de embebição em água destilada, estabeleceu-se que o início da germinação visível ocorreu a partir de 48 horas, com o teor de umidade das sementes em torno de 80% (Tabela 1), parâmetros esses usados como referência nos testes seguintes envolvendo temperaturas e períodos de tempo.

Os teores de umidade de equilíbrio das sementes intactas, após embebição durante 48 horas em solução de PEG-6000 sob 15°C, 20°C e 25°C, variaram de acordo com essas temperaturas (53,7%, 55,9% e 68,5%, respectivamente), devido à alteração no potencial osmótico da solução, que pode ser comprovada pela fórmula de MICHAEL e KAUFMANN (1973); entretanto, esses valores estão abaixo do índice de 80% necessário para a germinação visível, dando assim uma boa margem de segurança ao osmocondicionamento.

Com base nos resultados de total e velocidade de germinação determinou-se que a melhor temperatura para embebição de sementes intactas em solução de PEG foi 25°C (-9,5 bars) e esta foi a pior para sementes escarificadas (a melhor foi 15°C = -11,0 bars) e vice-versa. Uma possível explicação pode ser encontrada em WAGGONER e PARLANGE (1976), que

mostraram que o padrão inicial de absorção de água pelas sementes apresenta três características: a) uma frente nítida separando partes úmidas e secas na semente; b) entumescimento contínuo assim que a água alcança novas regiões; c) aumento no conteúdo de água nas regiões umedecidas. Assim sendo, considerando-se que a determinação do teor de umidade engloba toda a semente, sem especificar as partes umedecidas e também que a escarificação química torna os tegumentos mais permeáveis, conclui-se que as sementes escarificadas tem uma maior velocidade na absorção de água e umedecimento interno, o que faz com que o teor de equilíbrio de 53,7% com a solução de PEG seja suficiente para embeber áreas vitais para o osmocondicionamento, enquanto que para sementes intactas torna-se necessário um teor de 68,5%.

Os parâmetros definidos para inibição osmótica de sementes de capim-colonião em solução de PEG foram: período de 7 dias, armazenamento durante 2 meses após o condicionamento e temperaturas de embebição de 25°C e 15°C para sementes intactas e escarificadas, respectivamente. O armazenamento durante 5 meses foi descartado pelos resultados conflitantes que apresentou para sementes intactas (foi indiferente) e sementes escarificadas (foi prejudicial), talvez explicado pela quebra natural de dormência das sementes intactas durante o armazenamento, dormência esta que não mais existe em sementes escarificadas.

Em sementes intactas o osmocondicionamento acarretou aumentos na velocidade e total de germinação. Muitos trabalhos indicaram melhorias na velocidade e uniformidade de germinação após osmocondicionamento em PEG, como já se observou em sementes de Cyclamen persicum L. (HEYDECKER e WAINWRIGHT, 1976), aveia e trigo (AKALEHIYWOT e BEWLEY, 1977), cherivia (GRAY e STECKEL, 1977), tomate (RUMPEL e SZUDYGA, 1978), soja (KNYPL e KHAN, 1981), salsa (ELY e HEYDECKER, 1981), gramíneas forrageiras (ADEGBUYI et al, 1981) e aipo (SINGH et al, 1985); entretanto poucos trabalhos citam aumentos no total de germinação ou emergência de radículas, como já ocorreu em sementes de cenoura (SZAFIROWSKA et al, 1981) e

Pinus eliottii (HARIDI, 1985). Deste modo, acredita-se que o aumento no total de germinação de sementes intactas de capim-colonião foi devido à quebra de dormência durante o osmocondicionamento e também durante o armazenamento seco.

Em sementes escarificadas o osmocondicionamento conduziu a aumentos na velocidade e uniformidade de germinação mas acarretou uma redução no total de germinação que, no entanto, retornou ao valor anterior após secagem e armazenamento durante 2 meses. Estes resultados são semelhantes aos obtidos em sementes de aipo por SINGH et al (1985), que apresentaram redução no total de germinação após osmocondicionamento seguido de secagem e armazenamento durante 2 dias, retornando ao normal daí em diante.

Muitas hipóteses tem sido levantadas para explicar o mecanismo fisiológico do osmocondicionamento, dentre as quais tem-se: ativação de esterases e fosfatases ácidas que participam na mobilização de reservas; aumento na capacidade de síntese de RNA e proteínas necessárias para rápida diferenciação e crescimento celular; restauração na estrutura de membranas celulares perdida durante a secagem da semente madura; aumento na permeabilidade de metabólitos a serem usados nos processos de germinação e crescimento (KHAN et al, 1978; COOLBEAR et al, 1980; KNYPL e KHAN, 1981; SZAFIROWSKA et al, 1981).

A aplicação de substâncias reguladoras de crescimento nas sementes intactas não acarretou aumento na velocidade de germinação; entretanto, as soluções de GA₃ tiveram um efeito estimulante nítido no total de germinação, o que já é um fato bastante comum na literatura para sementes dormentes ou não (JONES e STODDART, 1977). As soluções exógenas de ABA mostraram-se eficientes na inibição de germinação de sementes intactas e escarificadas, sendo que a solução de ABA 10⁻⁵M parece ser a concentração limite a partir da qual diminui a inibição de germinação. O modo de ação de ABA exógeno é a inibição de aumento de atividade de várias enzimas envolvidas na germinação e também a inibição de tradução

a partir do mRNA (WALTON, 1980/81). Entretanto, o ABA é um forte inibidor de alongamento celular, sendo difícil separar seus efeitos diretos na alongação da radícula dos seus efeitos em processos específicos de germinação. (BEWLEY e BLACK, 1982).

As atividades promotoras tipo gibberelínica ou citocinínica foram detectadas somente em regiões dos cromatogramas definidas em biotes preliminares. Para frações ácidas verificou-se que em amostras com alta dormência, as sementes intactas normais tem maior atividade gibberelínica do que as escarificadas, mas estas invertem a situação após osmocondicionamento em PEG; isto poderia ser explicado pelo aumento na permeabilidade dos tegumentos pela ação do H_2SO_4 e conseqüentemente maior ativação nos processos bioquímicos ligados à produção endógena de gibberelinas. Numa análise geral, as amostras com alta dormência apresentam maior atividade gibberelínica do que as de baixa dormência, tanto para sementes intactas como para escarificadas.

Nas frações neutras e básicas das amostras de sementes não foram detectadas diferenças em atividade de promotores neutros ou do tipo de citocininas, respectivamente, demonstrando assim que essas substâncias não estão envolvidas nos processos de dormência e osmocondicionamento em sementes de capim-colonião. Deste modo fica evidenciado que nessas sementes o controle de dormência ou germinação não é exercido por uma interação hormonal segundo modelo proposto por KHAN (1975), no qual as gibberelinas, ácido abscísico e citocininas tem papéis principal, preventivo e permissivo, respectivamente.

Na detecção de ácido abscísico as leituras no espectrofotômetro tiveram que ser enquadradas, por concentração ou diluição das soluções, na faixa de absorbância entre 0,212 e 0,520, para posterior quantificação através de curva padrão em equivalentes de ABA por grama de sementes (Figura 28 e Quadro 8). Os valores médios de ABA detectados foram $1,939 \cdot 10^{-5}M$ (0,51 ng/100 mg), $1,48 \cdot 10^{-5}M$ (0,39 ng/100 mg) e $1,822 \cdot 10^{-6}M$ (0,05 ng/100 mg), para sementes normais, imediatamente

após e 2 meses depois de osmocondicionamento em PEG, respectivamente. Estes resultados estão de acordo com os obtidos após aplicação exógena de ABA às sementes, que mostrou que a solução de ABA $10^{-5}M$ é o limite mínimo para inibição de germinação, mas são inferiores aos referentes às sementes dormentes de alface (12 ng/100 mg: BRAUN e KHAN, 1975), Fraxinus americana (45 ng/100 mg: SONDHEIMER et al, 1968) e Acer saccharum (82,6 ng/100 mg: WEBB et al, 1973).

A localização de ABA na semente é importante para o esclarecimento da dormência; em sementes de avelã a maior parte dele encontra-se no pericarpo e testa, cuja remoção permite a ocorrência da germinação (ROSS, 1984). Em sementes de capim-colonião a escarificação química não reduziu o nível endógeno de ABA e, deste modo, pode-se levantar duas hipóteses: a) o modo de ação do H_2SO_4 na liberação da dormência parece ser devido ao seu rápido poder dessecante, que fragmenta os tegumentos permitindo a passagem de oxigênio ao embrião, de acordo com DURÁN e TORTOSA (1985); b) a maior parte do ABA endógeno deve se encontrar no cariopse.

As amostras de sementes de capim-colonião com alta dormência apresentaram níveis endógenos de promotores ácidos tipo giberelina e de ABA superiores aos de amostras com baixa dormência e, deste modo, o controle de dormência ou germinabilidade parece ser função dessas substâncias reguladoras de crescimento, sendo que a liberação da dormência não dependeria de uma redução no nível de ABA mas, conforme BLACK (1980/81), ocorreria por um aumento no nível de promotores, sendo uma evidência para isso o estímulo de germinação ocorrido após aplicação exógena de solução de GA₃. Por outro lado, o efeito positivo do osmocondicionamento também poderia ser explicado, para as amostras com alta dormência, por um aumento no nível endógeno de promotores ácidos após a embebição em solução de PEG, como ocorreu para as sementes escarificadas.

Estudaram-se os efeitos de embebição em solução osmótica de PEG-6000 na velocidade e total de germinação de sementes de capim-colônião (Panicum maximum Jacq.). Foram analisados os efeitos de luz, temperatura, esscarificações manual e química (H_2SO_4) e tratamento com fungicida na germinação das sementes, bem como as possíveis alterações nos níveis hormonais endógenos em amostras de sementes com alta e baixa dormência, antes e após osmocondicionamento.

O tratamento usando 25°C-luz branca conduziu às maiores porcentagens de germinação nos testes de temperaturas constantes e de luz e escuro, igualando-se aos valores obtidos no teste de tetrazólio. As alternâncias de temperaturas não mostraram efeito positivo na germinação e nem atingiram os índices de viabilidade alcançados no teste de tetrazólio. A aplicação de fungicida PCNB aumentou a porcentagem de germinação, mas reduziu a sua velocidade.

As esscarificações manual e química aumentaram a velocidade e o total de germinação das sementes, sendo que para a esscarificação química a melhor metodologia foi a permanência das sementes em H_2SO_4 durante 5 minutos, seguida da germinação das mesmas sob alternância de 15-35°C e 25°C-constante, para sementes frescas e após um ano de armazenamento aberto, respectivamente.

Em todos os experimentos o total de germinação foi obtido no prazo máximo de 21 dias, enquanto que o teste padrão, que prescreve um período de 28 dias, sempre revelou valores mais baixos do que os observados nos demais tratamentos.

Durante a embebição das sementes em solução osmótica de PEG a temperatura teve efeito direto nos teores de umidade de equilíbrio, os quais alcançaram 53,7%, 55,9% e 68,5% sob 15°C, 20°C e 25°C, respectivamente. As melhores condições para o osmocondicionamento foram: solução

osmótica com 288g PEG-6000/litro de água e 7 dias de embebição a temperaturas de 25°C e 15°C para sementes intactas e escarificadas, respectivamente. O osmocondicionamento acelerou e uniformizou a germinação, sendo que os totais de germinação aumentaram para as sementes intactas e diminuíram para as sementes escarificadas. O armazenamento durante 2 meses a 10°C conservou os benefícios obtidos durante o osmocondicionamento.

As soluções de GA₃ aumentaram a porcentagem de germinação, mas não alteraram a sua velocidade. O ácido abscísico inibiu a germinação, sendo que a solução de ABA 10⁻⁵M parece ser a concentração limite para a inibição.

Em amostras com alta dormência ocorreu maior atividade giberelínica em sementes intactas normais do que em escarificadas, mas após o osmocondicionamento a situação se inverteu. As amostras com alta dormência revelaram maior atividade giberelínica do que as amostras com baixa dormência. Não foram detectadas diferenças em atividade de promotores neutros e de citocininas.

Os valores médios de ABA detectados por espectroscopia foram 0,51, 0,39 e 0,05 ng/100 mg para sementes normais, imediatamente após e 2 meses depois do osmocondicionamento. O nível endógeno de ABA foi maior em amostras com alta dormência (0,66 ng/100 mg) do que com baixa dormência (0,23 ng/100 mg), mas esses valores não foram alterados pela escarificação química. Propõe-se uma possível interação entre giberelinas e ácido abscísico como responsável pelo controle de dormência, germinação e osmocondicionamento em sementes de capim-colonião.

VI - SUMMARY

Osmotic imbibition (PEG-6000) effects on germination rates and percentages have been studied on guinea grass (Panicum maximum Jacq.) seeds as well as the results of light-dark, temperature, mechanical and chemical scarification (H_2SO_4) and fungicide treatments. Additionally hormonal endogenous levels have been determined on high and low-dormancy seed samples, before and after osmoconditioning.

The best germination results have occurred at 25°C under light, similar to those obtained on tetrazolium tests, however temperature alternation experiments have not reached these values.

On the other hand, fungicide treatments has increased seed germination percentage but decreased seed germination rate.

Both mechanical and chemical seed scarification treatments gave rise to higher seed germination rates and totals as compared to those of intact seeds. The best results have been attained by exposing fresh and one-year stored seeds to H_2SO_4 for 5 minutes, under alternating (15-35°C) and constant temperature (25°), respectively.

During all experiments, maximum seed germination occurred up to the 21st day though the standard germination test suggests a 28 - day time interval for overall seed germination.

There has been a clear temperature effect on seed moisture content under osmoconditioning, which reached 53,7%, 55,9% and 68,5% at 15°C, 20°C and 25°C, respectively.

The optimum conditions for osmoconditioning has been recorded using a osmotic solution of PEG-6000 (288g/1000 ml of water) and a 7-day imbibition period at 25°C and 15°C for intact and scarified seeds, respectively. Osmoconditioning has accelerated seed germination but has had different results on intact and scarified seeds. Two-month seed storage at 10°C maintained osmoconditioning beneficial effects on seed

germination.

Gibberellin and abscisic acid treatments have increased and inhibition seed germination, respectively. High-dormancy seed samples have presented higher gibberellin activity than low-dormancy ones. In the high-dormancy seed samples, intact seeds have revealed higher gibberellin activity than that of scarified seeds. After osmoconditioning opposite results have been recorded. No significant activity of neutral promoters and cytokinins have been detected.

Abscisic acid average values have been recorded for untreated, osmoconditioned at zero and 2 month-storage seeds: 0,51, 0,39 and 0,05 ng/100 mg, respectively. Chemical scarification has not altered neither ABA endogenous levels in high-dormancy seed samples (0,66 ng/100 mg) nor those of low-dormancy seed sample (0,23 ng/100 mg), the first one being significantly higher than the latter. Finally, the results clearly demonstrate that a gibberellin-ABA interaction as the main factor accounting for dormancy, germination and osmoconditioning control in guinea grass seeds.

VII - REFERÊNCIAS

- ADEGBUYI, E., COOPER, S.R. e DON, R., 1981. Osmotic priming of some herbage grass seed using polyethylene glycol (PEG). *Seed Sci. & Technol.*, 9: 867-878.
- AKALEHIYWOT, T. e BEWLEY, J.D., 1977. Promotion and synchronization of cereal grain germination by osmotic pretreatment with polyethylene glycol. *J. Agric. Sci.* 89: 503-506.
- ATHERTON, J.G. e FAROOQUE, A.M., 1983. High temperature and germination in spinach. II. Effects of osmotic priming. *Scientia Hort.* 19: 221-227.
- BACCHI, O., 1967. Germinação e dormência em sementes de Panicum maximum L.: resultados preliminares. In: Seminário Brasileiro de Sementes, 1: Viçosa, Anais: 169-174.
- BERLYN, G.P., 1978. Seed germination and morphogenesis. In *Seed Biology* Vol. I (ed. T.T. KOZLOWSKI): 223-312. Academic Press. New York.
- BEWLEY, J.D. e BLACK, M., 1978. Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination. Vol. 1: Development, germination and growth. Springer-Verlag. New York. 306 p.
- BEWLEY, J.D. e BLACK, M., 1982. Physiology and biochemistry of seeds . Vol. 2: Viability, dormancy and environmental control. Springer - Verlag. New York. 375 p.
- BLACK, M., 1980/81. The role of endogenous hormones in germination and dormancy. *Isr. J. Bot.* 29: 181-192.

- BODSWORTH, S. e BEWLEY, J.D., 1981. Osmotic priming of seeds of crop species with polyethylene glycol as a means of enhancing early and synchronous germination at cool temperatures. *Can. J. Bot.* 59: 672 - 676.
- BRASIL, Ministério da Agricultura. Departamento Nacional de Produção Vegetal. Regras para Análise de Sementes. Brasília, 1976. 188p.
- BRAUN, J.W. e KHAN, A.A., 1975. Endogenous abscisic acid levels in germinating and nongerminating lettuce seed. *Plant Physiol.* 56: 731 - 733.
- COOLBEAR, P., GRIERSON, D. e HEYDECKER, W., 1980. Osmotic pre-sowing treatments and nucleic acid accumulation in tomato seeds (*Lycopersicon lycopersicum*). *Seed Sci. & Technol.*, 8: 289-303.
- DELOUCHE, J.C., 1968. Physiology of seed storage. Mississippi State University, State College. Mississippi. 8pg.
- DELOUCHE, J.C., STILL, T.W., RASPET, M. e LIENHARD, M., 1962. The tetrazolium test for seed viability. *Miss. Agric. Exp. Stn. Tech. Bull.* 51: 1-63.
- DURÁN, J.M. e TORTOSA, M.E., 1985. The effect of mechanical and chemical scarification on germination of charlock (*Sinapsis arvensis* L.) seeds. *Seed Sci. & Technol.* 13: 155-163.
- ELY, P.R. e HEYDECKER, W., 1981. Fast germination of parsley seeds. *Scientia Hort.* 15: 127-136.
- FRANKLAND, B. e WAREING, P.F., 1960. Effect of gibberellic acid on

- hypocotyl growth of lettuce seedlings. *Nature, Lond.* 185: 255-256.
- GHERARDI, E., 1974. Promotores e inibidores de crescimento em sementes de Carica papaya L.. Dissertação de Mestrado. Escola Paulista de Medicina.
- GRAY, D. e STECKEL, J.R.A., 1977. Effects of pre-sowing treatments of seeds on the germination and establishment of parsnips. *J. Hort. Sci.* 52: 525-534.
- HANSSEN, K.B. e NICHOLLS, E.B., 1965. Investigations into techniques for the germination of Panicum maximum Jacq. *Proc. Int. Seed Test. Ass.* 30(3): 715-722.
- HARIDI, M.B., 1985. Effect of osmotic priming with polyethylene glycol on germination of Pinus elliotti seeds. *Seed Sci. & Technol.*, 13: 669-674.
- HARRINGTON, J.F., 1972. Seed storage and longevity. *In Seed Biology Vol. 3* (ed. T.T. KOZLOWSKI): 145-245. Academic Press.
- HARTY, R.L. e BUTLER, J.E., 1975. Temperature requirements for germination of green panic, Panicum maximum var. trichoglume during the after-ripening period. *Seed Sci. & Technol.* 3: 529-536.
- HARTY, R.L., HOPKINSON, J.M., ENGLISH, B.H. e ALDER, J., 1983. Germination, dormancy and longevity in stored seed of Panicum maximum. *Seed Sci. & Technol.*, 11: 341-351.
- HEYDECKER, W., 1972/1974. Germination of an idea: The priming of seeds. Part III. University of Nottingham School of Agr. Rep.: 50-67.

- HEYDECKER, W., HIGGINS, J. e GULLIVER, R.L., 1973. Accelerated germination by osmotic seed treatment. *Nature* 246, nº 5427: 42-44.
- HEYDECKER, W., HIGGINS, J. e TURNER, Y.J., 1975. Invigoration of seeds? *Seed Sci. & Technol*, 3: 881-888.
- HEYDECKER, W. e WAINWRIGHT, H., 1976. More rapid and uniform germination of Cyclamen persicum L. *Sci. Hort.* 5: 183-189.
- HEYDECKER, W. e COOLBEAR, P., 1977. Seed treatments for improved performance-survey and attempted prognosis. *Seed Sci. & Technol.* 5 : 353-425.
- JAN, R.C. e AMEN, R.D., 1977. What is germination? In The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination (ed. A.A. KHAN) : 7-28. North-Holland Publishing Company.
- JOHNSTON, M.E.H. e TATTERSFIELD, J.G., 1971. A preliminary report on germination techniques for Panicum maximum Jacq. *Proc. Int. Seed Test. Assoc.*, 35 (1): 115-120.
- JONES, R.L. e STODDART, J.L., 1977. Gibberellins and seed germination. In The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination. (ed. A.A. KHAN): 77-110. North-Holland Publishing Company.
- KEFELI, V.I., 1978. Natural Plant Growth Inhibitors and Phytohormones. Dr. W.JUNK PUBLISHERS. Boston. 277 p.
- KHAN, A.A., 1975. Primary, preventive and permissive roles of hormones in plant systems. *Bot. Rev.* 41: 391-420.

- KHAN, A.A., 1980/81. Hormonal regulation of primary and secondary seed dormancy. *Isr. J. Bot.* 29: 207-224.
- KHAN, A.A., TAO, K.L., KNYPL, J.S., BORKOWSKA, B. e POWELL, L.E., 1978 . Osmotic conditioning of seeds: physiological and biochemical changes . *Acta Hort.* 82: 267-278.
- KHAN, A.A., PECK, N.H. e SAMIMY, C., 1980/81. Seed osmoconditioning : physiological and biochemical changes. *Isr. J. Bot.* 29: 133-144.
- KING, M.W. e ROBERTS, E.H., 1982. The imbibed storage of cocoa (Theobroma cacao) seeds. *Seed Sci. & Technol.* 10: 535-540.
- KNYPL. J.S. e KHAN, A.A., 1981. Osmoconditioning of soybean seeds to improve performance at suboptimal temperatures. *Agron. J.* 73: 112 - 116.
- KOTOWSKI, F., 1926. Temperature relations of germination of vegetable seeds. *Proc. Amer. Soc. Hortic. Sci.* 23: 176-184.
- LETHAM, D.S., SHANNON, J.S. e McDONALD, I.R., 1964. The structure of zeatin, a factor inducing cell division. *Proc.chem. Soc.* 230-231.
- MAYER, A.M. e POLJAKOFF-MAYBER, A., 1975. The germination of seeds . Pergamon Press. New York. 192p.
- MICHEL, B.E. e KAUFMANN, M.R., 1973. The osmotic potential os polyethylene glycol 6000. *Plant Physiol.* 51: 914-916.
- MOORE, R.P., 1973. Tetrazolium staining for assessing seed quality. In

Seed Ecology (ed. W. HEYDECKER): 347-366. The Pennsylvania State University Press.

NIKOLAEVA, M.G., 1977. Factors controlling the seed dormancy pattern. In The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination (ed. A.A. KHAN): 51-76. North-Holland Publishing Company.

RENNICK, G.A. e TIERNAN, P.I., 1978. Some effects of osmopriming on germination, growth and yield of celery (Apium graveolens). Seed Sci. & Technol: 6: 695-700.

ROBERTS, E.H., 1973. Predicting the storage life of seeds. Seed Sci. & Technol. 1: 499-514.

ROSS, J.D., 1984. Metabolic aspects of dormancy. In Seed Physiology Vol. 2: Germination and reserve mobilization (ed. DAVID R. MURRAY): 45 - 75. Academic Press.

RUMPEL, J. e SZUDYGA, I., 1978. The influence of pre-sowing seed treatments on germination and emergence of tomato "New Yorker" at low temperatures. Sci. Hortic. 9: 119-125.

SHIMIZU, N., 1979. Studies on dormancy and germination of seeds in grasses of Panicum species. 1-Light-temperature response in germination and the dormancy breaking effect of metabolic inhibitors. Bulletin of the National Grassland Research Institute Nishinasuno : 14: 94-101.

SIMON, E.W., 1984. Early events in germination. In Seed Physiology Vol. 2: Germination and reserve mobilization (ed. DAVID R. MURRAY) : 77-115. Academic Press.

- SINGH, M., MORSS, S. e ORTON, T.J., 1985. Effects of osmotic pretreatment and storage on germination of celery seed. *Seed Sci. & Technol.*, 13 : 551-558.
- SMITH, C.J., 1971. Seed dormancy in Sabi Panicum. *Proc. Int. Seed Test. Assoc.* 36(1): 81-97.
- SMITH, R.L., 1979. Seed dormancy in Panicum maximum Jacq. *Trop. Agric. (Trinidad)* 56 (3): 233-239.
- SOKAL, R.R. e ROHLF, F.J., 1969. *Biometry*. San Francisco USA, Freeman and Company, 776p.
- SONDHEIMER, R., TZOU, D.S. e GALSON, E.D., 1968. Abscisic acid levels and seed germination. *Plant Physiol.* 43: 1443-1447.
- SZAFIROWSKA, A., KHAN, A.A. e PECK, N.H., 1981. Osmoconditioning of carrot seeds to improve seedling establishment and yield in cold soil. *Agron. J.* 73: 845-848.
- THOMAS, T.H., 1977. Cytokinins, cytokinin-active compounds and seed germination. In *The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination*. (ed. A.A. KHAN): 111-144. North-Holland Publishing Company.
- TISCHLER, C.R. e YOUNG, B.A., 1983. Effects of chemical and physical treatments on germination of freshly-harvested kleingrass seed. *Crop Sci.* 23: 789-792.
- TOTTERDELL, S. e ROBERTS, E.H., 1981. Ontogenetic variation in response to temperature change in the control of seed dormancy of Rumex

- obtusifolius L. and Rumex crispus L. *Plant Cell Environ.* 4: 75-80.
- TRAN, V.N. e CAVANAGH, A.K., 1984. Structural aspects of dormancy. In Seed Physiology. Vol. 2: Germination and reserve mobilization (ed. DAVID R. MURRAY): 1-44. Academic Press.
- USBERTI, R., 1982. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de capim-colonião. *Rev. Bras. Sem. (Brasília)*, 4 (1): 23-30.
- USBERTI, R. e ORTOLANI, D.B., 1975. Aplicação do teste de tetrazólio em sementes de capim-colonião (Panicum maximum Jacq.). Científica, Jaboticabal, S.P., 3(2): 355-356.
- VÁLIO, I.F.M., 1969. Promotion and inhibition of growth in Lunularia cruciata (L.) DUM. Ph. D. Thesis. University of London.
- VILLIERS, T.A. e EDGCUMBE, D.J., 1975. On the cause of seed deterioration in dry storage. *Seed Sci. & Technol.* 3: 761-774.
- WALTON, D.C., 1977. Abscisic acid and seed germination. In The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination (ed. A.A. KHAN): 145-156. North-Holland Publishing Company.
- WALTON, D.C., 1980/81. Does ABA play a role in seed germination? *Isr. J. Bot.* 29: 168-180.
- WAGGONER, P.E. e PARLANGE, J.Y., 1976. Water uptake and water diffusivity of seeds. *Plant Physiol.* 57: 153-156.
- WEBB, D.P., VAN STADEN, J. e WAREING, P.F., 1973. Seed dormancy in Acer: changes in endogenous cytokinins, gibberellins and germination

inhibitors during the breaking of dormancy in Acer saccharum March.
J. Exp. Bot. 24: 105-106.

WOOD, T., 1955. A reagent for the detection of chloride and certain
purines and pyrimidines on paper chromatograms. Nature, Lond. 176 :
175.