

VILMA PALAZETTI DE ALMEIDA

GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE DUAS ESPÉCIES INVASORAS DE
CROTON (EUPHORBIACEAE)

Tese apresentada ao Instituto
de Biologia da Universidade
Estadual de Campinas para a
obtenção do título de Mestre
em Ciências Biológicas na
área de Biologia Vegetal.

Orientadora: MARIA DE FÁTIMA D. ALEIXO PEREIRA

CAMPINAS

1988

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

AL64g

9218/BC

VILMA PALAZETTI DE ALMEIDA

este exemplar corresponde à redação
final da tese defendida pela candi-
data Sr. Vilma Palazetti de Almeida
e aprovada pela comissão julgadora

26/2/88

Prof. Fátima Merino

Germinação de sementes de duas espécies invasoras de

Croton (Euphorbiaceae)

CAMPINAS

1988

AGRADECIMENTOS

À Dra. Maria de Fátima D. A. Pereira pela orientação dada a este trabalho.

Ao Prof. Dr. Ivany F. M. Válio pelas sugestões da das no decorrer deste trabalho e pela revisão cuidado sa.

Aos Profs. Dr. Gil M. Felipe e Dra. Ana Maria B. Monteiro pela revisão cuidadosa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa (Fapesp) e à Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal do nível superior (CAPES) pelo auxílio financeiro.

À SCPG do curso de Biologia Vegetal e à CPG do Instituto de Biologia pelo apoio e auxílio.

Aos funcionários do Departamento de Fisiologia Vegetal que colaboraram para a realização deste traba lho.

Aos meus colegas do Curso de Pós-Graduação, pela compreensão, colaboração e amizade.

E a meus pais por tudo que me ofereceram.

ÍNDICE

I. INTRODUÇÃO	1
II. MATERIAL E MÉTODOS	17
1. Material Vegetal	17
2. Estudo morfológico da semente	17
3. Determinação da viabilidade das sementes	19
4. Elaboração da curva de embebição	19
5. Determinação do volume de semente	20
6. Método geral de germinação	21
7. Remoção da mucilagem de sementes de <i>C.</i> <i>glandulosus</i>	22
8. Diferentes níveis de hidratação do subs- trato	22
9. Retirada da carúncula	23
10. Temperatura	23
11. Armazenamento	24
12. Escarificação	24
12.1 Mecânica	24
12.2 Química	24
13. Impermeabilização	24
14. Aumento do teor de oxigênio no meio	25
15. Lavagem em água corrente	26
15.1 Lavagem contínua	26

15.2 Lavagem intermitente	26
16. Aplicação de substâncias reguladoras de crescimento	26
17. Análise de substâncias reguladoras de cres- cimento	27
17.1 Extração e fracionamento	27
17.2 Cromatografia em camada Delgada	27
17.3 Testes para identificação das subs- tâncias de crescimento	29
17.3.1 Químicos	29
17.3.2 Biológicos	30
18. Análise estatística	31
<hr/>	
III. RESULTADOS	31
A. <i>Croton lundianus</i>	32
1. Morfologia da semente	32
2. Nível de hidratação do meio de germi- nação	35
3. Efeito da luz na germinação	35
3.1 Efeito da carúncula	35
3.2 Efeito do tegumento	37
4. Efeito da temperatura na germinação	37
5. Efeito do armazenamento de sementes	43
5.1 Na germinação	43
5.2 Na morfologia da semente	46
6. Tegumento	46
6.1 Embebição	47
6.2 Efeito da escarificação na germinação	50

6.3 Efeito da escarificação com posterior impermeabilização na germinação	50
7. Efeito do aumento do teor de oxigênio na germinação	50
8. Determinação do volume das sementes	54
9. Efeito da lavagem na germinação	57
10. Efeito do exsudato de tegumento de sementes de <i>C. lundianus</i>	57
11. Efeito do extrato bruto de sementes nuas sobre a germinação de alface	58
12. Efeito da fração neutra de extrato de sementes de <i>C. lundianus</i> sobre a germinação de sementes nuas da própria espécie	60
13. Efeito da aplicação de ácido giberélico.	60
14. Efeito da aplicação conjunta de ácido giberélico e 6-benzil adenina na germinação de sementes intactas e escarificadas de <i>C. lundianus</i>	60
 B. <i>Croton glandulosus</i>	 64
1. Morfologia da semente	64
2. Nível de hidratação do meio de germinação.	68
3. Efeito da luz na germinação	68
3.1 Efeito da carúncula	68
3.2 Efeito do tegumento	70
4. Efeito da temperatura na germinação	70
5. Efeito do armazenamento de sementes	
5.1 Na germinação	77

5.2 Na morfologia da semente	77
6. Tegumento	80
6.1 Embebição	81
6.2 Efeito da escarificação na germinação	81
6.3 Efeito da escarificação com posterior impermeabilização na germinação	85
7. Efeito do aumento do teor de oxigênio na germinação	85
8. Efeito da retirada da mucilagem na germinação	85
9. Determinação do volume das sementes	88
10. Efeito da lavagem na germinação	88
11. Efeito do extrato bruto de sementes nuas e extrato bruto de tegumento de sementes de <i>C. glandulosus</i> , sobre a germinação de alface	89
12. Efeito da fração neutra de extrato de sementes de <i>C. glandulosus</i> sobre a germinação de sementes nuas da própria espécie	92
13. Efeito da aplicação de ácido giberélico na germinação	92
14. Efeito da aplicação conjunta de 6-benzil adenina e ácido giberélico na germinação de sementes intactas e escarificadas	92

15. Variações nos níveis de giberelinas e citocinas endógenas, durante estágios de germinação de <i>C. glandulosus</i> . . .	100
IV. DISCUSSÃO	102
V. RESUMO	116
VI. LITERATURA CITADA	118

ÍNDICE DE FIGURAS

FIG. 1	Aspectos morfológicos do fruto e da semente de <i>C. lundianus</i>	33
FIG. 2	Germinação de sementes de <i>C. lundianus</i> a 25°C e luz contínua, mantidas em três diferentes níveis de hidratação	36
FIG. 3	Germinação de sementes de <i>C. lundianus</i> a 25°C, na luz (símbolos claros) e no escuro (símbolos escuros)	38
FIG. 4	Efeito de choque de temperatura na germinação de sementes de <i>C. lundianus</i> na luz contínua	40
FIG. 5	Efeito de temperaturas alternadas a cada 12 horas na germinação de <i>C. lundianus</i> na luz contínua	41
FIG. 6	Efeito de diferentes regimes de temperatura na germinação de <i>C. lundianus</i> , na luz contínua	42
FIG. 7	Efeito do armazenamento na germinação de sementes de <i>C. lundianus</i> a 25°C e luz contínua (controle de diferentes experimentos)	44

FIG. 8	Efeito do armazenamento na germinação de sementes com carúncula e sem carúncula de <i>C. lundianus</i> , a 25°C e luz contínua	45
FIG. 9	Curva de embebição a 25°C, de sementes nuas e intactas de <i>C. lundianus</i>	48
FIG. 10	Curva de embebição a 25°C, de sementes de <i>C. lundianus</i> , escarificadas de sementes com o hilo impermeabilizado	49
FIG. 11	Efeito da escarificação e retirada do tegumento na germinação de sementes de <i>C. lundianus</i> , a 25°C e luz contínua	51
FIG. 12	Efeito de diferentes escarificações na germinação de sementes de <i>C. lundianus</i> , a 25°C e luz contínua	52
FIG. 13	Efeito da escarificação do tegumento com posterior impermeabilização na germinação de sementes de <i>C. lundianus</i> a 25°C e luz contínua .	53
FIG. 14	Efeito do aumento do teor de oxigênio, (□) em relação a composição normal do ar atmosférico (■) na germinação de <i>C. lundianus</i> a 25°C e luz contínua	55
FIG. 15	Efeito do aumento do teor de oxigênio no meio de germinação das sementes de <i>C. lundianus</i> a 25°C e luz contínua, através da aplicação de água oxigenada	56

FIG. 16	Efeito da lavagem contínua em água corrente, na germinação de sementes de <i>C. lundianus</i> a 25°C e luz contínua	59
FIG. 17	Efeito da fração neutra de extrato de sementes de <i>C. lundianus</i> na germinação de sementes nuas da própria espécie, a 25°C e luz contínua	61
FIG. 18	Efeito da aplicação de GA ₃ na germinação de <i>C. lundianus</i> a 25°C e luz contínua . . .	62
FIG. 19	Efeito da aplicação de reguladores de crescimento na germinação de sementes intactas de <i>C. lundianus</i> a 25°C e luz contínua . .	63
FIG. 20	Efeito da aplicação de reguladores de crescimento na germinação de sementes escarificadas de <i>C. lundianus</i> a 25°C e luz contínua	65
FIG. 21	Aspectos morfológicos do fruto e da semente de <i>C. glandulosus</i>	66
FIG. 22	Germinação de sementes de <i>C. glandulosus</i> a 25°C e luz contínua, mantidas em três diferentes níveis de hidratação	69
FIG. 23	Germinação de sementes de <i>C. glandulosus</i> a 25°C, na luz (símbolos claros) e no escuro (símbolos escuros)	71

FIG. 24	Efeito de choque de temperatura na germinação de sementes de <i>C. glandulosus</i> na luz contínua	73
FIG. 25	Efeito de temperaturas alternadas a cada 12 horas, na germinação de <i>C. glandulosus</i> na luz contínua	75
FIG. 26	Efeito de temperaturas alternadas a cada 12 horas na germinação de <i>C. glandulosus</i> na luz (símbolos claros) e no escuro (símbolos escuros).	76
FIG. 27	Efeito do armazenamento na germinação de sementes de <i>C. glandulosus</i> a 25°C e luz contínua (controle de diferentes experimentos) .	78
FIG. 28	Efeito do armazenamento na germinação de sementes com carúncula e sem carúncula de <i>C. glandulosus</i> , a 25°C e luz contínua	79
FIG. 29	Curva de embebição a 25°C de sementes intactas e escarificadas de <i>C. glandulosus</i> . .	82
FIG. 30	Curva de embebição a 25°C de sementes de <i>C. glandulosus</i> escarificadas e sementes com o hilo impermeabilizado	83
FIG. 31	Efeito de diferentes escarificações na germinação de sementes de <i>C. glandulosus</i> , a 25°C e luz contínua	84

FIG. 32	Efeito da escarificação do tegumento com posterior impermeabilização na germinação de sementes de <i>C. glandulosus</i> a 25°C e luz contínua	86
FIG. 33	Efeito do aumento da teor de oxigênio no meio de germinação das sementes de <i>C. glandulosus</i> a 25°C e luz contínua	87
FIG. 34	Efeito da lavagem contínua em água corrente na germinação de sementes de <i>C. glandulosus</i> a 25°C e luz contínua	90
FIG. 35	Efeito da lavagem contínua (A) e intermitente (B) na germinação de sementes escarificadas em região da carúncula de <i>C. glandulosus</i> a 25°C e luz contínua	91
FIG. 36	Efeito da fração neutra de extrato de sementes de <i>C. glandulosus</i> na germinação de sementes nuas da própria espécie, a 25°C e luz contínua	93
FIG. 37	Efeito da aplicação de GA ₃ na germinação de sementes intactas de <i>C. glandulosus</i> a 25°C e luz contínua	94
FIG. 38	Efeito da aplicação de GA ₃ na germinação de sementes intactas e nuas de <i>C. glandulosus</i> a 25°C e no escuro contínuo	95

- FIG. 39 Efeito da aplicação de reguladores de crescimento na germinação de sementes intactas de *C. glandulosus*, a 25°C e luz contínua 97
- FIG. 40 Efeito da aplicação de reguladores de crescimento na germinação de sementes escarificadas de *C. glandulosus*, a 25°C e luz contínua . 98
- FIG. 41 Efeito da aplicação de reguladores de crescimento na germinação de sementes intactas (■) e escarificadas (□) de *C. glandulosus*. após 15 dias de germinação, a 25°C e luz contínua 99

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1 -	Medidas da semente e do embrião de <i>C. lundianus</i> .	34
TABELA 2 -	Efeito da carúncula na germinação de sementes de <i>C. lundianus</i> , a 25°C na luz e no escuro, após 11 dias de germinação.	37
TABELA 3 -	Efeito de temperatura alta na germinação de sementes de <i>C. lundianus</i> na luz contínua, após 15 dias de observação	39
TABELA 4 -	Medidas das sementes de <i>C. lundianus</i> recém-colhidas e após 2 e 4 meses de armazenamento.	46
TABELA 5 -	Volume de 100 sementes de <i>C. lundianus</i> recém-colhidas e de sementes embebidas por 5 horas.	57
TABELA 6 -	Efeito do exsudato do tegumento de <i>C. lundianus</i> na germinação de sementes de alface, a 25°C e luz contínua.	58

TABELA 7 - Efeito do extrato aquoso bruto de sementes nuas de <i>C. lundianus</i> , na germinação de sementes de alface, a 25°C e luz contínua.	58
TABELA 8 - Medidas da semente e do embrião de <i>C. glandulosus</i> .	68
TABELA 9 - Efeito da carúncula na germinação de sementes de <i>C. glandulosus</i> , a 25°C na luz ou no escuro, após 11 dias de observação.	70
TABELA 10 - Efeito de temperatura alta na germinação de sementes de <i>C. glandulosus</i> na luz contínua, após 15 dias de observação.	72
TABELA 11 - Efeito de choque de temperatura na germinação de sementes com e sem carúncula de <i>C. glandulosus</i> na luz contínua.	74
TABELA 12 - Medidas das sementes de <i>C. glandulosus</i> recém-colhidas e após 2 e 4 meses de armazenamento.	80
TABELA 13 - Efeito da mucilagem na germinação de sementes de <i>C. glandulosus</i> , a 25°C após 12 dias de observação.	88
TABELA 14 - Efeito ao extrato aquoso bruto de sementes nuas e de tegumento de sementes de <i>C. glandulosus</i> na germinação de sementes de alface, a 25°C e luz contínua.	89

I. INTRODUÇÃO

No momento que a semente se separa da planta-mãe, o seu conteúdo de água é pequeno, o metabolismo está em baixos níveis e aparentemente nenhuma atividade de crescimento ocorre. Neste estado muitas sementes podem permanecer no solo por longos períodos até que sua germinação ocorra.

Germinação é o processo de reativação do mecanismo metabólico da semente e emergência da radícula e plúmula, conduzindo ao desenvolvimento da plântula. Fisiologicamente, a germinação começa com os estádios iniciais da reativação bioquímica e termina com a emergência da radícula. Morfologicamente, e para testes de qualidade de semente e propagação de plantas, a definição deve incluir a produção de uma plântula normal (HARTMANN & KESTER, 1983).

Para a germinação ter início, três condições são necessárias. Primeiro, a semente deve ser viável, isto é, o embrião deve estar vivo e capaz de germinar. Segundo, a semente deve ser quiescente, isto é, ao ser exposta a condições ambientais apropriadas ela irá germinar. Portanto, suprimento de água, oxigênio e temperatura apropriados são o terceiro requisito para a germinação.

Muitas sementes quando colocadas em placas de Petri com água destilada sob condições ótimas de germinação, mostram um modelo trifásico de absorção de água. A absorção inicial de água na fase I, também denominada embebição, é uma consequência das forças matriciais das paredes celulares e do conteúdo celular da semente. A fase 2, é o período de latência de absorção de água, onde o potencial matricial aumenta tanto quanto o potencial osmótico, estabelecendo-se um equilíbrio. Nesta fase ocorre a maior parte dos processos metabólicos, preparando o embrião para a germinação. Na fase 3 ocorre a protrusão da radícula. O aumento da entrada de água está inicialmente associado com a diminuição do potencial hídrico, da semente, provavelmente devido a mudanças ainda desconhecidas relacionadas com a germinação, e posteriormente com a diminuição do potencial osmótico, devido à hidrólise das reservas, após a germinação (BEWLEY & BLACK, 1982).

A extensão da embebição depende da composição da semente, da permeabilidade do tegumento ou fruto à água, e da disponibilidade de água do ambiente no estado líquido ou gasoso.

A embebição é um processo físico que está relacionado com propriedades dos colóides. Ela independe da viabilidade da semente ocorrendo igualmente em sementes vivas ou mortas. Durante a embebição as moléculas de água causam a solvatação das partículas do colóide, além de ocupar os espaços capilares livres e os espaços intermicelares do colóide. A hidratação do colóide resulta

numa pressão considerável, podendo causar a ruptura do tegumento, e permitir o crescimento do embrião (MAYER & POLJAKOFF-MAYBER, 1982).

As condições sob as quais a embebição ocorre, parecem ser críticas no comportamento posterior da germinação. Embebição a baixas temperaturas induzem danos no desenvolvimento da plântula e prejudicam a germinação (POLLOCK & TOOLE, 1966), enquanto que a embebição sob vapor de água reduz esta sensibilidade a baixas temperaturas (POLLOCK, 1969). Segundo TULLY et al., (1981), a injúria causada pela embebição em baixas temperaturas é uma consequência da taxa de absorção e pode ser controlada pelo tegumento.

Durante o processo de embebição, a hidratação da semente pode desencadear a atividade de substâncias endógenas que iniciam o processo de germinação, como por exemplo, ativa enzimas específicas que hidrolisam o material de reserva e sintetizam novas substâncias necessárias para o crescimento e desenvolvimento. Estas reações são controladas por várias enzimas que podem ser moduladas pelas condições ambientais. A disponibilidade de água e oxigênio, e a qualidade de luz influenciam a taxa e direção das reações. Energia para estas reações é suprida através da respiração. O caminho metabólico normal resulta no crescimento do embrião e numa plântula vigorosa capaz de se estabelecer (MAGUIRE, 1973).

Sementes viáveis que não germinam, quando colocadas sob condições consideradas favoráveis à germina-

ção, são denominadas sementes dormentes. Estas sementes podem ser induzidas à germinação através de vários tratamentos especiais (MAYER & POLJAKOFF-MAYBER, 1982).

Uma característica da semente dormente é que ela tem sua germinação promovida por uma descontinuidade de condições. Uma condição é necessária para preparar a semente ou potencializar a germinação, isto é quebrar a dormência, e a outra deve ser adequada à germinação. Por exemplo, muitas sementes não germinam quando embebidas, a menos que passem por um período de baixa temperatura, na qual estas sementes normalmente não germinam, mas elas germinam prontamente quando transferidas para temperaturas mais altas (BEWLEY & BLACK, 1982).

De acordo com BEWLEY & BLACK (1982), diferentes categorias de dormência podem ser reconhecidas de acordo com sua origem. Dormência primária é o estado em que se encontra a semente ao deixar a planta-mãe; dormência secundária é o estado de dormência induzido na semente madura e embebida devido a certas condições ambientais desfavoráveis à germinação; e dormência relativa que é inerente à semente no final do seu desenvolvimento na planta-mãe porém só se manifesta sob certas condições ambientais.

Quando da dispersão das sementes, estas são espalhadas em vários ambientes heterogêneos dos quais nem todos são favoráveis à germinação. Sementes dormentes portanto, apresentam um mecanismo que inibe a germinação sob condições desfavoráveis ao estabelecimento da planta. Assim pelo tempo que a semente permanecer viável existirá a possibilidade de encontrar condições mais

favoráveis à germinação (FENNER, 1935).

Portanto dormência pode ser considerada como um dispositivo de otimização da distribuição da germinação no tempo e no espaço. A distribuição no tempo acontece porque sementes de muitas espécies mostram variabilidade na profundidade da dormência; a população conseqüentemente exibe esporádicas perdas de dormência, logo uma germinação irregular. Sementes de *Papaver rhoeas* possuem baixa porcentagem de germinação logo após serem liberadas da planta-mãe, sendo que as sementes restantes sã germinam após alguns anos (CHANCELLOR, 1982).

A dormência pode assumir também um importante papel evitando a viviparidade isto é, a germinação enquanto as sementes estão presas à planta-mãe (EVENARI, 1957).

Vários tipos de dormência resultam de diferentes mecanismos de controle da germinação das sementes. Com o intuito de explicar os mecanismos biológicos envolvidos na quebra da dormência, foram desenvolvidos alguns sistemas de classificação. CROCKER (1916) desenvolveu um sistema de classificação que considera as causas da dormência descrevendo as seguintes categorias de dormência: dormência devido a exigências especiais de temperatura e luz; devido a impermeabilidade do tegumento a água ou gases; devido a barreiras mecânicas impedindo o desenvolvimento do embrião; devido a imaturidade do embrião; e a presença de inibidores de germinação; além da combinação entre as diferentes causas e a dormência secundária. Já BEWLEY & BLACK (1982), agrupa estas diferentes categorias em dois tipos básicos de dormência (1) dormência do embrião, e (2) dormência imposta pelo tegumento; sendo que em algumas espécies ambos os tipos po-

dem existir simultânea ou consecutivamente.

A quebra de dormência pode ocorrer através de fatores ambientais, como luz, temperatura e disponibilidade hídrica. A interação destes fatores, pode ajustar a germinação de acordo com as mudanças sazonais do ambiente.

Diferentes sementes têm diferentes faixas de temperatura nas quais elas germinam, sendo que em temperaturas muito baixas ou muito altas normalmente a germinação não ocorre. Na faixa de temperaturas em que uma semente germina, há geralmente uma temperatura ótima que é onde ocorre a maior porcentagem de germinação em menos tempo, acima ou abaixo da qual a germinação é retardada (BEWLEY & BLACK, 1982).

Alterações diárias de temperatura são benéficas para o crescimento da planta e podem promover a germinação de sementes, as quais permanecem dormentes quando em temperaturas constantes. Por exemplo, sementes de *Cucumis anguria* quando expostas a luz contínua permanecem dormentes em temperaturas constantes, porém germinam prontamente em temperaturas alternadas (FELIPPE, 1980). *Rumex crispus* e *Rumex obtusifolius* são sensíveis à luz, ao frio e particularmente a temperaturas alternadas. De fato, devido à sua sensibilidade a mudanças de temperatura, as sementes de *Rumex* tornaram-se o material clássico para a investigação deste fenômeno (TOTTERDELL & ROBERTS, 1980).

Segundo KOLLER (1972), o efeito da alternância poderia ser através da promoção do crescimento do embrião, produzindo a ruptura do tegumento. Outros autores atribuíram este efeito a um aumento da permeabilidade do tegu-

mento a gases (BROWN, 1940).

Em *Rumex crispus* e *Rumex obtusifolius* a quebra de dormência ocorre em qualquer temperatura entre 0º e 15ºC , sendo todas as temperaturas intermediárias igualmente efetivas. A passagem para temperaturas mais altas é essencial para que o efeito estimulatório potencial se expresse (TOTTERDELL & ROBERTS, 1979), tratamento este denominado estratificação.

Durante a estratificação podem ocorrer mudanças metabólicas e morfológicas no interior das sementes. POLLOCK & OLNEY (1959) descreveram crescimento do embrião de sementes de cereja durante a estratificação. MAYER & POLJAKOFF-MAYBER (1982), citam algumas mudanças metabólicas observadas durante a estratificação, porém, os autores salientam não estar estabelecida a relação entre estas mudanças e o final da dormência. Já em *Acer platanoides*, durante a estratificação ocorrem mudanças no balanço entre substâncias promotoras e inibidoras de crescimento que levam à quebra de dormência (ENU-KWESI & DUMBROFF, 1980).

O efeito da temperatura em sementes dormentes é normalmente diferente em sementes secas ou úmidas (ROBERTS & SMITH, 1977). O termo semente seca, é aplicado para sementes que contenham uma umidade em equilíbrio com o ar. O armazenamento a seco pode afetar ou não a germinação da semente. Em algumas espécies durante a estocagem as sementes atingem conteúdos baixos de umidade que acarretam prejuízos, levando à perda de viabilidade (ELLIS & ROBERTS, 1980). Em outras espécies o armazenamen

to a seco promove a quebra da dormência. Estas sementes formam um grupo especial que necessita de um período de pós-maturação em condições secas para germinar.

Muitas sementes apresentam dormência em relação à luz. Esta sensibilidade da semente é denominada fotoblastismo e tem o envolvimento do pigmento fitocromo. As sementes cuja germinação é promovida pela luz são denominadas fotoblásticas positivas, e as que são inibidas pela luz são as fotoblásticas negativas. Sementes facultativas ou indiferentes são aquelas cuja germinação parece não ser afetada pela luz.

Sementes fotoblásticas positivas germinam quando se estabelece no embrião um balanço entre a forma ativa do fitocromo (Fve) e a forma inativa (Fv) através da ação combinada dos componentes vermelho e vermelho extremo da luz branca (BEWLEY & BLACK, 1982). Segundo KENDRICK (1976) estas sementes quando secas, apresentam a maior parte do seu fitocromo na forma Fv, e quando embebidas a fotoconversão do Fv em Fve ocorre, desencadeando a germinação.

Sementes de *Cucumis anguria* têm sua germinação inibida pela luz branca, azul e vermelho-extremo e promovida no escuro e pelo vermelho (NORONHA et al., 1978). De acordo com KENDRICK (1976), sementes fotoblásticas negativas, provavelmente apresentam, ainda quando secas, uma quantidade de fitocromo na forma Fve acima do valor limiar para estimular a germinação, ou numa forma intermediária que rapidamente pode ser convertida em Fve durante a embebição.

Para atingir o embrião, a luz deve atravessar os envoltórios que podem agir como um filtro alterando as proporções vermelho e vermelho extremo. Em *Chenopodium album* a pigmentação e espessura do tegumento modificam a luz recebida pelo embrião, sendo que sementes com tegumento escuro e grosso respondem menos à luz do que sementes com tegumento claro e fino (KARSSSEN, 1970).

FELIPPE & POLLO (1983) estudando o efeito da luz na germinação de invasores observaram que, em algumas espécies, a escarificação do tegumento de sementes fotoblásticas positivas, tornava-as indiferentes à luz. Em *Ricinus communis*, uma espécie normalmente fotoblástica negativa, as sementes germinam indiferentemente na luz ou no escuro quando o tegumento é removido (LAGÔA & PEREIRA, 1987a).

A fotossensibilidade das sementes para a germinação também pode ser modificada pela temperatura. Assim sementes de *Cucumis anguria*, podem germinar na luz em presença de temperaturas alternadas o que não ocorre em temperaturas constantes (FELIPPE, 1980).

A disponibilidade de água no solo é um pré-requisito para o início da germinação da semente. O conteúdo de água numa semente embebida deve ater-se a um certo nível, para que a semente possa germinar. A principal estrutura responsável pela restrição à entrada de água na semente é o tegumento. O embrião de sementes impermeáveis à água pode estar quiescente, contudo o tegumento mantém a semente com um baixo conteúdo de água insuficiente para a germinação.

Tegumentos rígidos são encontrados em um grande

número de espécies de Leguminosae, porém esta característica também é encontrada em muitas outras famílias (WERKER, 1980/81). Segundo a autora, a estrutura do tegumento é específica para cada família, porém há ligeiras modificações numa mesma família que resultam em algumas espécies com sementes impermeáveis.

Além da natureza genética da espécie ou cultivar, a existência do tegumento rígido depende das condições ambientais presentes durante a maturação da semente ou estocagem. O armazenamento a seco em altas temperaturas aumenta esta característica (HARTMANN & KESTER, 1983).

ARGEL & HUMPHREYS (1983) estudando sementes de *Stylosanthes hamata*, durante a formação da semente, observaram a influência da temperatura, no conteúdo de umidade que determina o estabelecimento da dormência. Os autores observaram que sementes formadas sob altas temperaturas tinham mais lignina e hemicelulose, do que celulose, e as células paliçádicas eram mais curtas do que nas sementes formadas em temperaturas mais baixas, conseqüentemente os tegumentos das sementes formadas em temperaturas mais altas eram mais rígidos.

O tegumento de sementes impermeáveis possui uma ou mais camadas de células paliçádicas prismáticas, radialmente alongadas arranjadas compactamente, sem estômatos entre elas, com paredes espessadas impregnadas com substâncias hidrófobas, como a cutina e a suberina. Além disso a micropila, o hilo e a chalaza devem estar bloqueados, caso contrário serão caminho para a entrada de água (WERKER, 1980/81).

Em espécies de *Pisum* foi encontrada uma correlação entre permeabilidade da testa, níveis de atividade de catecol oxidase, e concentração de fenóis nos tecidos. Os fenóis presentes nas células, quando oxidados em suas quinonas são depositados na parede celular conferindo-lhes impermeabilidade à água (MARBACK & MAYER, 1974). Isto foi confirmado para o mesmo gênero através de estudos anatômicos da testa, onde se observou a presença de quinonas entre as células paliçádicas e os osteosclerídeos (WERKER et al., 1979).

Em algumas sementes a entrada de água é controlada por pequena abertura no tegumento, o estrofiolo que é uma elevação do tegumento ao lado de uma depressão longitudinal na rafe, entre o hilo e a chalaza, típico de Papilionoideae. Vigorosa vibração nestas sementes torna-as permeáveis à água sendo este tratamento denominado impactação. Sementes de *Trifolium subterraneum* tornam-se permeáveis à água após período de impactação, sendo que sua impermeabilidade pode ser restaurada cobrindo-se o estrofiolo com vaselina ou cola (HAGON & BALLARD, 1970).

Na natureza o tegumento pode se tornar permeável através de vários agentes ambientais, incluindo abrasão mecânica; ataque de microorganismos do solo, como bactérias e fungos; pela passagem através do trato digestivo dos animais; ou exposição à alternância de temperaturas, as quais provocam expansão a contração do tegumento ocasionando sua ruptura (MAYER & POJAKOFF-MAIBER, 1982).

HARTMANN & KESTER (1983) descreveram métodos artificiais que modificam a permeabilidade do tegumento,

como esscarificação mecânica através de abrasivos, ou tratamento químico através da decomposição do tegumento por ácidos. A esscarificação química pode também ser feita por determinados solventes como o álcool, que retira as camadas de substâncias lipídicas do tegumento. Contudo, tratamentos deste tipo podem induzir outras mudanças nas sementes, como alterar a permeabilidade a água, e a gases, alterar a sensibilidade à luz ou temperatura, e mesmo provocar a destruição ou remoção de substâncias inibidoras (KHAN, 1977).

Frequentemente os tegumentos são impermeáveis a gases, embora as sementes sejam permeáveis à água. A impermeabilidade pode ser ao gás carbônico, ao oxigênio ou ambos. Esta permeabilidade diferencial existe embora sejam pequenas as diferenças do diâmetro molecular dos gases envolvidos (MAYER & POLJAKOFF-MAYBER, 1982).

A própria água pode agir como uma barreira, quando o oxigênio tem de se difundir através de uma longa distância. Assim, muitas sementes não germinam quando estão completamente imersas em água. Sementes de *Phaseolus vulgaris*, quando imersas por períodos longos, têm sua germinação prejudicada devido ao baixo suprimento de oxigênio (ORPHANUS & HEYDECKER, 1968). O excesso de água além de estabelecer um caminho mais longo para a difusão de gases pode promover o desenvolvimento de diferentes microorganismos em torno do tegumento, que competem com o embrião pelo oxigênio disponível (HEYDECKER & CHETRAM, 1971).

Sementes que formam camada de mucilagem espessa e contínua quando embebidas, possuem uma barreira ao oxigênio maior do que a água pura. A sensibilidade ao excesso de água, tem sido atribuída à lentidão da difusão do oxigênio pelas camadas do tegumento embebido, sendo esta agravada pela presença de camada mucilagínosa em torno do tegumento, como ocorre em sementes de *Hirschfeldia incana* (NEGBI et al., 1966) e *Blepharis persica* (WITZTUM et al., 1966).

Em *Xanthium pensilvanicum* as duas sementes presentes no fruto apresentam capacidade diferente para germinar e necessidade diferente de oxigênio. WAREING & FODA (1957), sugeriram que a maior necessidade de oxigênio de uma destas sementes se deve à presença de inibidores presentes no embrião que são destruídos através de oxidação. Em beterraba o glomérulo contribui significativamente no consumo de oxigênio da semente, restando teores de oxigênio muito baixos para o embrião (HEYDECKER & CHETRAM, 1971). Segundo HEYDECKER et al. (1971) a lavagem dos glomérulos de beterraba favorece a germinação devido à remoção de inibidores endógenos.

Inibidores endógenos podem exercer controle durante a embriogênese e maturação da semente evitando particularmente a germinação precoce (BLACK, 1980/81). O ácido abscísico (ABA) está entre esses inibidores, tendo sido encontrado em embriões e seus envoltórios como testa e pericarpo (MILBORROW, 1974). Em *Pinus*, o ABA e outros inibidores existentes no tegumento impedem a germinação da espécie (HONDUVILLA-MARTÍNEZ & RUIZ-SANTOS, 1978).

A presença de inibidores endógenos de germinação no tegumento é bastante comum. BEWLEY & BLACK (1982) citam vinte e uma espécies onde foram encontrados inibidores no tegumento e pericarpo, com a possível natureza do inibidor, sendo que destes em pelo menos seis o ácido abscísico foi identificado.

O controle da germinação pelo ABA foi estudado em *Brassica napus* através da aplicação exógena do inibidor (SCOPFER & PLACHY, 1984). O ABA limita a absorção de água e oxigênio pelo embrião, inibindo assim o metabolismo energético e síntese de proteínas. Os autores sugerem que ABA e o estresse osmótico, interagem em pontos comuns controlando a absorção de água.

Em muitos casos o efeito inibidor do tegumento na germinação pode estar relacionado com o impedimento da saída de inibidores do embrião. Em sementes de *Distichlis spicata*, AMEM et al (1970), sugerem que a dormência é controlada através de inibidores endógenos que bloqueiam a atividade da redutase de nitrato do endosperma, porém este efeito pode ser superado através de estratificação ou abrasão que favorece a saída do inibidor.

O tegumento também pode oferecer uma barreira mecânica à expansão do embrião e protrusão da radícula. *Chenopodium amaranticolor*, *Fraxinus excelsior* e certas espécies de *Eucalyptus*, são exemplos deste tipo de restrição da germinação (WERKER, 1980/81). O mesmo mecanismo de dormência foi sugerido para sementes de *Coffea arabica* (VÁLIO, 1980).

A restrição mecânica exercida pelo tegumento só te

rã significado como um mecanismo de dormência, se a força que o embrião terá de gerar para atravessá-lo, for maior do que a resistência que o tegumento exerce contra esse crescimento. ESASHI & LEOPOLD (1968), investigaram estes dois aspectos comparando sementes dimórficas existentes no fruto de *Xanthium pennsylvanicum*. Os resultados mostram que apesar do tegumento das sementes dormentes ser menos resistente do que o tegumento de sementes não dormentes, o embrião do primeiro tipo de sementes não consegue com a embebição gerar forças suficientes para romper o tegumento. Embriões isolados, de sementes dormentes de alface, têm sua germinação evitada quando em soluções de potencial osmótico reduzido (NABORS & LANG, apud BEWLEY & BLACK, 1982). Os autores acreditam que esta situação experimental, seja análoga à da semente intacta, onde uma força externa ao embrião pode superar o potencial de crescimento.

Muitas espécies de Euphorbiaceae apresentam sementes providas de carúncula, que é um apêndice do tegumento sobre a micropila. Estudos com *Ricinus communis* (Euphorbiaceae), mostraram que a remoção da carúncula promove a germinação da espécie, sendo que a análise de extratos de carúnculas indicaram a existência de inibidores de natureza fenólica que foram associados com o atraso da germinação (LAGÔA & PEREIRA, 1987 b).

Croton glandulosus e *Croton lundianus* são duas espécies de Euphorbiaceae invasoras, cujas sementes apresentam dormência.

Uma planta é considerada invasora quando um grande

aumento de sua população ocorre em alguma área geográfica específica, predominantemente em áreas profundamente alteradas pelo homem. Plantas "agrestes" são invasoras de áreas cultivadas, e plantas "ruderais" são as que ocorrem em áreas abandonadas (BAKER, 1965); portanto pode-se considerar mais especificamente as duas espécies estudadas como plantas ruderais, já que são encontradas em terrenos baldios e beira de estradas.

A exemplo de muitas outras espécies invasoras principalmente as anuais, estas duas espécies de *Croton* se caracterizam por florescer e produzir sementes ainda muito jovens, com uma produção contínua de sementes até se tornarem adultas. Nesta fase, são altamente predadas por insetos que se alimentam de suas sementes, e frequentemente atacadas por doenças fúngicas que levam à morte prematura da planta.

A descrição das características gerais de *C. glandulosus* e *C. lundianus*, sinonímias, distribuição geográfica e importância das duas espécies, está documentada em LORENZI (1982), como também a descrição da morfologia externa destas sementes (BACHI *et al.*, 1984).

O objetivo deste trabalho foi a elucidação do(s) mecanismo(s) de dormência nestas duas espécies de *Croton*, através do estudo da influência de fatores ambientais, tais como luz e temperatura. O envolvimento do tegumento na dormência destas sementes também foi estudado.

II. MATERIAL E MÉTODOS

1. *Material Vegetal*

Sementes de *C. glandulosus* (L.) Muell. foram coletadas nos terrenos baldios do Distrito Barão Geraldo de Campinas (SP), enquanto que as sementes de *C. lundianus* (F. Diedr.) Muell. em terrenos baldios da cidade de Valinhos (SP).

O material foi selecionado eliminando-se sementes ocas, danificadas e aquelas cuja coloração era diferente do padrão das sementes encontradas em frutos maduros. Neste caso a coloração é brilhante acinzentada, mesclada de manchas pretas em *C. glandulosus*, e marrom clara opaca nas sementes de *C. lundianus*. As sementes assim selecionadas foram armazenadas em sacos de papel no escuro, à temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.

Quando da montagem dos experimentos, as sementes eram colocadas em bequer com água destilada contendo Nistatina (67 U/ml); aquelas que após ligeira agitação boiavam eram eliminadas, pois constatou-se através de teste de tetrazólio que estas sementes eram inviáveis.

2. *Estudo morfológico da semente*

A descrição das sementes das duas espécies foi

feita através de observações em microscópio estereoscópico. Os frutos e as sementes foram desenhados com o uso de câmara clara. Na semente, foram observadas a face dorsal, ventral, e cortes longitudinal e transversal mediano (feitos com bisturi).

Com o intuito de se estudar a morfologia do embrião e caracterizá-lo de acordo com a chave de classificação elaborada por MARTIN (1946), fizeram-se medidas do comprimento da semente nua, do embrião, do cotilédone, do eixo radícula-hipocótilo, e da largura do cotilédone, em 25 sementes de cada espécie de *Croton* estudada. Sementes frescas foram dissecadas com bisturi, e as medidas feitas sob microscópio estereoscópico com retículo micrométrico.

O efeito do armazenamento a seco sobre a morfologia das sementes das duas espécies de *Croton* foi estudado em sementes recém-colhidas e armazenadas por 2 e 4 meses em sacos de papel a 25°C. Após o período de armazenamento retirou-se o tegumento e fez-se fixação com FAA 70 por 24 horas (JOHANSEN, 1940). O material foi desidratado em série etílica de concentração crescente com posterior diafanização em álcool: xilol a (2:1), (1:2) e xilol puro. Após diafanização foi feita a inclusão em parafina.

Cortes seriados com 12 micrometros de espessura, obtidos em micrótomo rotativo foram distendidos e montados nas lâminas. Estes cortes foram então desparafinados e hidratados para coloração com Safranina 4%/"Fast-Green" 1% ou Safranina 4%/"Alcian Blue" 1%. Vários tempos de permanência das lâminas nos corantes foram testados, tendo-se obtido os

melhores resultados com Safranina 4% / "Alcian Blue" 1% por 5 minutos e 3 minutos respectivamente. Após a coloração, o material foi montado em resina sintética (bálsamo do Canadá).

3. *Determinação da viabilidade das sementes*

A cada novo lote de sementes coletadas e selecionadas, a viabilidade foi determinada em três repetições de vinte sementes pelo teste de tetrazólio (DELOUCHE *et al.*, 1962). Para que fosse assegurada a penetração da solução, o tegumento foi parcialmente retirado na região oposta à carúncula. As sementes foram mantidas em placas de Petri com água por 24 horas a 25°C na luz. Após este período foram transferidos para solução de cloreto de 2,3, 5 - trifenil tetrazólio 0,1% a 30°C por 24 horas no escuro, quando as sementes foram cortadas com bisturi no sentido longitudinal mediano para observação do embrião sob microscópio estereoscópico. Pelo teste de tetrazólio, os embriões corados de vermelho intenso foram considerados viáveis.

O teste também foi aplicado para se determinar a viabilidade das sementes que não germinaram após vários dias nos testes de germinação; neste caso foi eliminada a etapa de embebição com água.

4. *Elaboração da curva de embebição*

A embebição das sementes das duas espécies de *Croton* foi realizada com quatro repetições de vinte semen-

tes. A retirada da carúncula foi obrigatória já que esta se desfaz com a manipulação da semente embebida, introduzindo erros nas medidas. Os tratamentos efetuados foram: a retirada total do tegumento (semente nua), a escarificação na região oposta à carúncula e a impermeabilização do hilo com tinta esmalte.

As sementes foram colocadas para embeber em frascos com 10 ml de água destilada em temperatura constante de 25°C. A cada medida de embebição a água era decantada e as sementes eram secas rapidamente com papel absorvente. A seguir pesava-se em balança analítica, retornando-as para embeberem no frasco com água. As pesagens foram feitas a cada hora até 6 horas de embebição. No caso de *C. glandulosus* durante a secagem, as sementes eram friccionadas com papel absorvente para a retirada da mucilagem formada.

Os cálculos de porcentagem de embebição foram efetuados através da fórmula $((Pf - Pi) / Pi) \times 100$, onde (Pi) é o peso inicial e (Pf) é o peso obtido após cada período de embebição.

5. Determinação do volume da semente

Em 3 repetições de 100 sementes sem carúncula foi determinado o volume de sementes frescas antes e após 5 horas de embebição.

As sementes foram colocadas em tubo de ensaio graduado com um volume de água destilada. O volume

das sementes foi determinado pela diferença de volume medido antes e após. Após 5 horas de embebição o volume das sementes foi novamente medido.

6. Método geral de germinação

Nos experimentos de germinação foram utilizadas 4 repetições de 25 sementes por tratamento, colocadas em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, sobre duas folhas de papel de filtro umedecido com 4 ml de água destilada contendo 67 U/ml de Nistatina, que previne a proliferação de fungos. O papel de filtro e a placa de Petri foram esterilizados em autoclave por 20 minutos antes do uso.

Para os tratamentos de escuro contínuo, as placas de Petri foram colocadas dentro de um invólucro formado por 3 sacos de plástico preto. Nos experimentos com luz branca constante foram utilizadas 2 lâmpadas fluorescentes de 15W, com intensidade total de $334 \mu W/cm^2$. Todos os ensaios de germinação foram conduzidos em câmara de crescimento "Forma Scientific" - modelo 24, que possui controle automático de luz e temperatura.

A não ser que seja especificado separadamente, todos os ensaios foram realizados na luz a 25°C e tiveram duração de até 15 dias.

A protrusão da radícula foi o parâmetro utilizado para avaliar a germinação. Nos tratamentos de escuro, as contagens de germinação foram feitas sob luz verde de segurança.

7. *Remoção da mucilagem de sementes de C. glandulosus*

Sementes intactas foram embebidas em água destilada sob agitação constante. Após meia hora, as sementes foram retiradas e a mucilagem foi removida com papel absorvente. As sementes foram novamente colocadas em bequer com água destilada repetindo-se o processo de extração da mucilagem por mais duas vezes. Como controle, no teste de germinação, foi usado um lote de sementes que permaneceu embebendo sob agitação contínua durante o mesmo período de tempo.

8. *Diferentes níveis de hidratação do substrato*

Sementes esterilizadas com água sanitária a 0,2% por 5 minutos e lavadas exaustivamente em água destilada, foram mantidas nas condições gerais de germinação, em três níveis diferentes de água: I - 2 ml; II - 3 ml e III - 5 ml. No primeiro caso, o papel de filtro ficava ligeiramente umedecido, no segundo formava-se um filme fino de água e no terceiro um filme de água que praticamente cobria as sementes.

As placas de Petri prontas para serem levadas à câmara de germinação sob luz constante, foram primeiramente pesadas de modo a se controlar a perda de água por evaporação, sendo esta acrescentada quando necessário. As placas foram mantidas em câmara úmida, formada por bandeja com papel umedecido, tampadas com um filme de plástico transparente.

9. Retirada da carúncula

Sementes das duas espécies de *Croton* possuem arilo micropilar ou carúncula que é facilmente removido através de leve compressão com os dedos. A retirada da carúncula se fez necessária em alguns experimentos, como por exemplo embebição, e alguns testes de germinação.

10. Temperatura

Foi estudado o efeito de temperatura constante de 35°C, 25°C e 15°C na germinação.

Os tratamentos curtos de temperatura foram: 35°C por 24 horas, 5°C por 6 horas e 18 horas. Nas sementes de *C. glandulosus* também foram utilizados os seguintes tratamentos: 35°C por 4 e 7 dias e 15°C por 24 horas 3 e 6 dias. Após estes tratamentos as placas foram transferidas para 25°C constante.

O efeito de temperaturas alternadas foi estudado em *C. glandulosus* utilizando-se os seguintes pares de temperatura 25°/5°C, 25°/10°C e 25°/15°C que se alternavam a cada 12 horas.

Em *C. lundianus* os pares de temperatura estudados e os períodos de alternância foram: 25°/5°C, 25°/10°C e 25°/15°C alternados a cada 12 horas e 25°/15°C em regime de alternância de 8h/16 horas.

11. *Armazenamento*

As sementes foram armazenadas em sacos de papel no escuro a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pelos períodos de 0 a 5 meses. Após ca da mês de armazenamento foi feito teste de germinação em sementes intactas e sem carúncula, como também o estudo morfológico do embrião.

12. *Escarificação*

12.1 Mecânica

Dois tipos de escarificação mecânica foram efetuados. No primeiro, o tegumento foi total (semente nua) ou parcialmente removido com o auxílio de um bisturi. A remoção parcial procedeu-se na região da carúncula e na região oposta à carúncula. No segundo tipo as sementes foram escarificadas friccionando-as entre duas lixas.

12.2 Química

As sementes ficaram submersas em ácido sulfúrico concentrado por 2, 5 e 10 minutos. Em seguida, foram lavadas em água corrente por duas horas.

13. *Impermeabilização*

Sementes escarificadas na região da carúncula, fo

ram impermeabilizadas colocando-se nesta região parafina à temperatura aproximada de 45°C. As sementes tratadas e um lote controle de sementes intactas foram postas para germinar de acordo com o método geral de germinação.

13. Aumento do teor de oxigênio no meio

Quatro repetições de 20 sementes foram colocadas em placas de Petri de 5cm de diâmetro sem tampa sobre 2 folhas de papel de filtro umedecidas com 2 ml de água destilada. As placas foram colocadas em dessecador, formando uma câmara úmida. O dessecador foi tampado e feito vácuo sendo que logo após foi injetada uma mistura de gasogênio contendo 95% de oxigênio e 5% de gás carbônico, até o equilíbrio do sistema. Como controle um dessecador nas mesmas condições foi equilibrado com o ar ambiente. Este sistema fechado, foi mantido em câmara de germinação com luz e temperatura de 25°C constantes por 7 dias, quando foram contadas as sementes germinadas. As condições iniciais foram restabelecidas mantendo-se o ambiente enriquecido em oxigênio e o controle, por mais sete dias.

Um outro método para aumentar o teor de oxigênio no sistema de germinação foi colocar no interior das placas de Petri com as sementes de *Croton*, placas de Petri de 5cm de diâmetro sem tampa com água oxigenada 100 vol. O sistema montado, foi vedado com 2 fitas crepe, sendo a água oxigenada trocada a cada 3 dias, quando era verificada a germinação da espécie.

15. *Lavagem em água corrente*

15.1 Lavagem contínua

Lavagem contínua por 3, 6 e 24 horas foi feita colocando-se sementes num bequer coberto com duas camadas de gaze, presas por elástico, deixado sob água corrente.

15.2 Lavagem intermitente

A lavagem intermitente a cada 3 minutos, foi feita utilizando-se para isso um extrator Soxhlet que controlava o fluxo de água sobre as sementes num funil de Büchner. O período de lavagem foi o mesmo daquele utilizado para a lavagem contínua.

16. *Aplicação de substâncias reguladoras de crescimento*

O efeito da aplicação do ácido giberélico e da 6-benzil adenina sobre a germinação foi estudado nas duas espécies de *Croton*.

Após um período de 2 horas de embebição em placa

de Petri com água destilada, as sementes foram transferidas para as placas de germinação contendo solução de ácido giberélico (GA_3) a 10^{-3} , 5×10^{-4} e $10^{-4}M$ e 6-benzil adenina (6BA) a $10^{-4}M$ e solução contendo os dois reguladores nas concentrações 10^{-3} e $10^{-4}M$ respectivamente.

17. *Análise de substâncias reguladoras de crescimento*

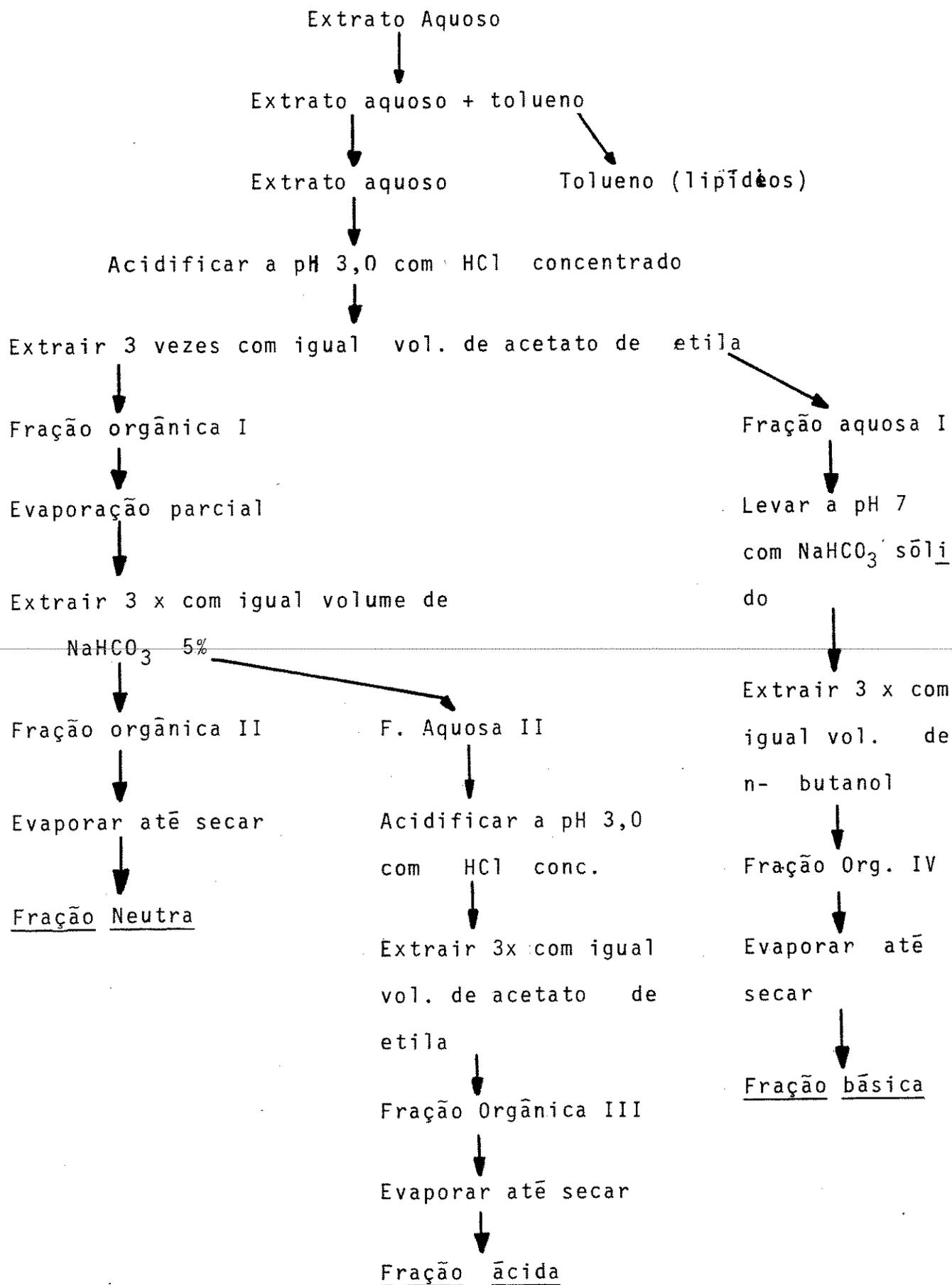
17.1 Extração e fracionamento

Para extração e fracionamento utilizou-se o método descrito por USBERTI, (1979) modificado.

Sementes foram trituradas em almofariz e homogeneizadas em Polytron modelo PT-35, com metanol 80% na proporção de 1g de sementes para cada 10 ml de metanol 80%. O extrato obtido foi mantido a 50°C por 24 horas. Em seguida foi filtrado sob pressão reduzida e o resíduo re-extraído em igual volume de metanol 80% por 24 horas. Após este período, o resíduo foi novamente filtrado, e o filtrado juntado ao obtido anteriormente. Após a remoção do metanol em evaporador rotatório sob pressão reduzida e temperatura de 350 a 380°C, o extrato aquoso foi submetido a processo de fracionamento, obtendo-se as frações ácida, básica e neutra (ESQUEMA I).

17.2 Cromatografia em Camada Delgada

Cromatografia em camada delgada foi feita aplican-



ESQUEMA 1 - Diagrama esquemático de extração de substâncias de crescimento.

do-se os extratos fracionados em placas de vidro (20x20cm) com uma camada de 0,5mm de espessura de sílica gel " Typ 60 " (Merck).

O sistema de solventes utilizado foi isopropanol:amônia:água (10:1:1 V/V) ou hexano: acetato de etila: metanol (60: 40:5 V/V). Após o desenvolvimento dos cromatogramas e completa evaporação dos solventes estes foram submetidos a diferentes testes.

17.3 Testes para identificação das substâncias de crescimento

17.3.1 Químicos

Cromatogramas da fração básica foram revelados com Reagente de Wood (WOOD, 1955). Este reagente desenvolve uma forte cor azul na presença de substâncias purínicas. Foi utilizado como padrão um cromatograma onde foram aplicados 100 μ l da solução de 6BA 10^{-4} M.

Os cromatogramas da fração ácida, foram revelados pulverizando-se solução de etanol 5% em ácido sulfúrico 95%. Após secagem por 15 minutos no ar, as placas foram levadas a estufa por 10 minutos a 110°C para a máxima visualização de manchas de coloração acinzentada em luz branca e que fluoresce no U.V. revelando a presença de substâncias gibberelínicas (JONES et al., 1963). O padrão aqui utilizado, foi um cromatograma onde foram aplicados 100 μ l de solução de GA₃ 10^{-3} M. Os cromatogramas da fração neutra foram observados no U.V. curto e longo para a localização de substâncias fluorescentes de natureza fenólica (HARBONE, 1973).

17.3.2 Biológicos

A inibição da germinação de alface cultivar "Grand Rapids" foi utilizada para se detectar a presença de inibidores em extrato da fração neutra, em extrato bruto e em exsudato de sementes. O extrato da fração neutra foi obtido a partir de 1 grama de sementes intactas das duas espécies de *Croton*. O extrato aquoso bruto de sementes nuas das duas espécies de *Croton*, foi obtido homogeneizando 150 sementes em 5ml de água destilada em graal. O extrato bruto de tegumento de *C. glandulosus* foi obtido a partir do tegumento de 200 sementes, homogeneizadas em graal com 5ml de água destilada.

Cada extrato foi subdividido em 5 placas de Petri de 5cm de diâmetro com 2 folhas de papel de filtro, onde foram colocadas 50 sementes de alface.

A germinação de alface também foi testada com o exsudato de sementes de *C. lundianus*. Três repetições de cinquenta sementes desta espécie de *Croton* foram colocadas para embeber em placa de Petri com 5cm de diâmetro, sobre papel de filtro umedecido com 2ml de água destilada, por um período de 24 horas a 25°C e luz contínua. Após este período as sementes foram removidas e sobre as manchas do exsudato deixadas no papel, foram colocadas 50 sementes de alface.

Em todos estes experimentos as placas foram mantidas em câmara de crescimento a 25°C e luz constante por 24 horas. Como controle o mesmo número de sementes foi posto para germinar nas mesmas condições de luz e tem-

peratura, em placas de Petri com papel de filtro umedecido com água destilada.

18. *Análise Estatística*

As taxas de germinação foram transformadas em valor angular ($\text{ângulo} = \arcsen \sqrt{p}$), onde "p" corresponde à proporção de sementes germinadas, sendo esses valores utilizados para análise estatística. O teste t foi aplicado para comparação de dois valores médios, ao nível de 5%. Em experimentos com mais de dois tratamentos, usou-se análise de variância simples ou fatorial, determinando-se nestes casos a diferença mínima significativa (DMS) pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade (SNEDECOR & COCHRAN, 1967), que foi representado nos gráficos por uma barra vertical, para o dia do experimento em que a análise foi feita.

RESULTADOS

A. *Croton lundianus* (F.Diedr.) Muell.

1. Morfologia da semente

A descrição da estrutura da semente foi feita com base em observações com auxílio de microscópio estereoscópico.

C. lundianus possui frutos do tipo esquizocarpáceo sub-tipo cápsula tricoca glabra, com 6 sépalas remanescentes. Com deiscência explosiva do tipo xerocárpico, cada fruto possui 3 sementes elipsóides ou ovóides, com seção transversal elíptica (Fig. 1.C). O ápice é semimucronado, provido de arilo micropilar (carúncula), e a base é rotunda (Fig. 1.B). A semente possui de 3,1 a 3,5mm de comprimento por 2,4 a 2,5mm de largura. A face dorsal é convexa (Fig. 1.A) e a ventral tem dois planos ligeiramente convexos que se encontram numa linha central mais clara que se estende da base ao ápice (Fig. 1.B). O tegumento de superfície ondulada é marrom claro ou acinzentado com reflexo esbranquiçado que após certo período de armazenamento vai escurecendo. O tegumento é quebradiço e possui tegma membranáceo aderido a ele. Nas sementes armazenadas, podem se formar espaços vazios entre endosperma e tegumento pela perda de umidade do embrião e endosperma.

Algumas sementes, quando embebem, formam uma camada

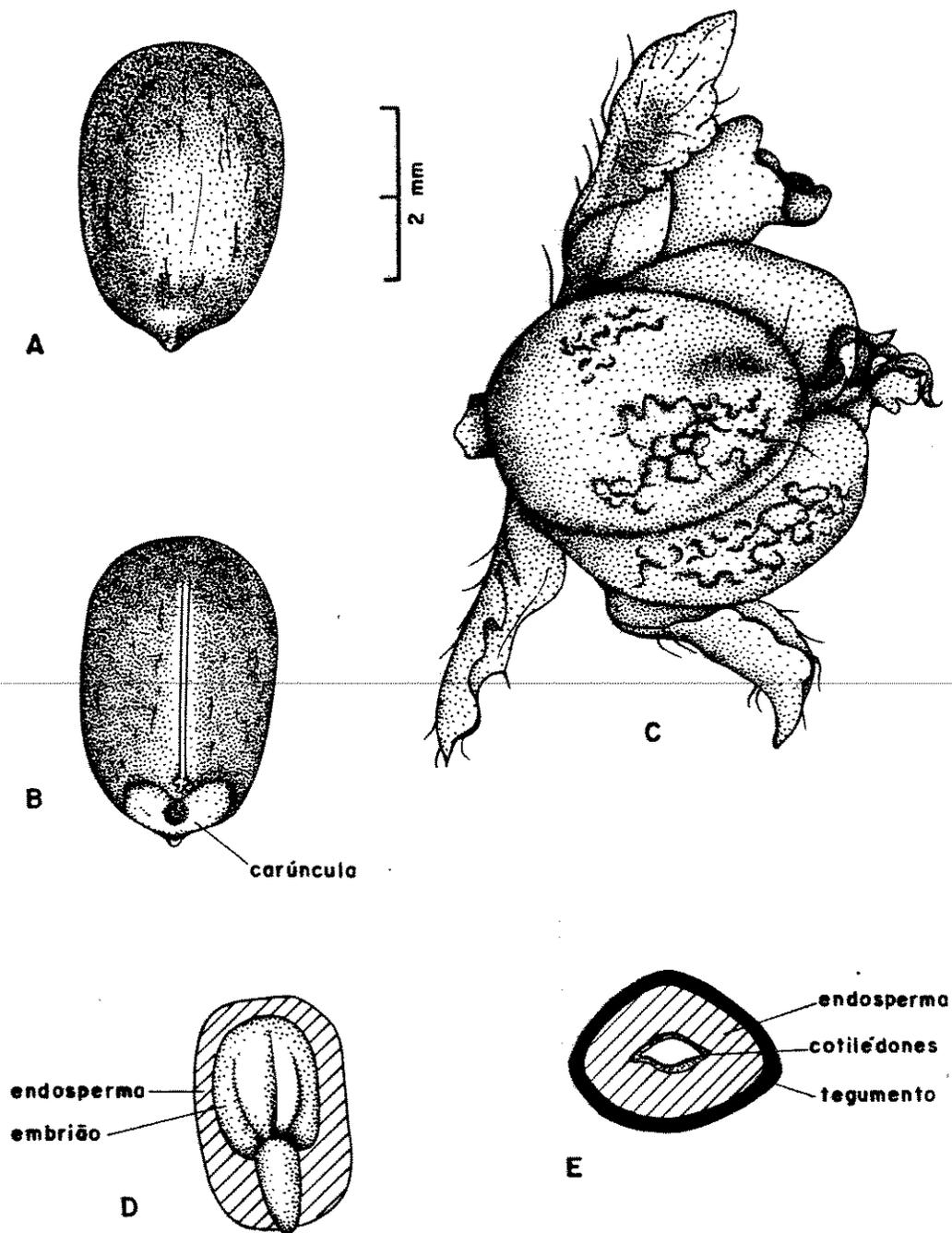


FIG. 1 Aspectos morfológicos do fruto e da semente de *C. lundianus*.

A - face dorsal da semente

B - face ventral da semente

C - fruto

D - corte longitudinal mediano, após a remoção do tegumento da semente.

E - corte transversal mediano

muito fina de mucilagem conferindo apenas uma ligeira viscosidade.

Foram feitas medidas em 25 sementes da espécie, obtendo os resultados apresentados na Tabela I.

TABELA 1. Medidas da semente e do embrião de *C. lundianus*

	Valores médios (mm)
comprimento da semente nua	$2,8 \pm 0,1^{(1)}$
comprimento do embrião	$2,4 \pm 0,1$
comprimento do cotilédone	$1,3 \pm 0,1$
comprimento do eixo radícula- - hipocôtilo	$1,1 \pm 0,1$
largura do cotilédone	$1,1 \pm 0,1$

(1) os valores na tabela são seguidos pelo intervalo de confiança.

O embrião de *C. lundianus* é formado por eixo radícula-hipocôtilo e cotilédones bem desenvolvidos e diferenciados, ocupando o plano central da semente em praticamente todo o comprimento e largura. O embrião é envolvido por endosperma oleaginoso, sendo que apenas a ponta da radícula permanece desobstruída (Fig. 1D-E). O em-

brião de *C. lundianus* é do tipo axial foliáceo, e é considerado morfologicamente maduro.

2. Nível de hidratação do meio de germinação

Sementes intactas de *C. lundianus* tiveram um aumento significativo na taxa de germinação no terceiro dia de embebição, em condições mais secas, isto é, nas placas de Petri com 9cm de diâmetro umedecidas com 2ml de água. Não houve diferença significativa entre os diferentes níveis de hidratação nos dias subsequentes (Fig. 2).

Adotou-se então nos experimentos o volume de 3,5 ml de água ou solução de Nistatina para as placas deste tamanho, pois não ressecam num período de 24 horas. Níveis maiores de hidratação do substrato, foram evitados pois facilitavam a proliferação de fungos.

3. Efeito da luz na germinação

3.1. Interação com a carúncula

Sementes de *C. lundianus* mantidas em temperatura constante de 25°C praticamente não germinaram na luz ou no escuro (TABELA 2). A retirada da carúncula não favoreceu a germinação da espécie, indicando não estar envolvida nos processos de dormência.

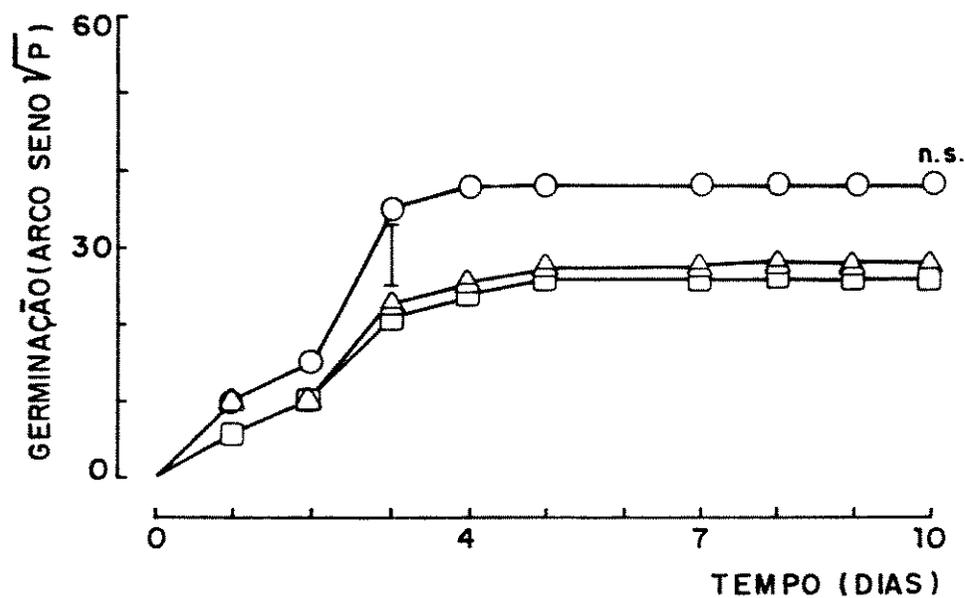


FIG. 2 Germinação de sementes de *C. lundianus* a 25°C e luz contínua, mantidas em três diferentes níveis de hidratação:

○ 2 ml

△ 3 ml

□ 5 ml

n.s. nenhuma diferença significativa pelo teste F 5%

TABELA 2. Efeito da carúncula na germinação de sementes de *C. lundianus*, na luz e no escuro, após 11 dias de observação a 25°C.

C/C - com carúncula

S/C - sem carúncula

	TAXA DE GERMINAÇÃO (%)	
	LUZ	ESCURO
C/C	3	0
S/C	2	1

3.2 Interação com o tegumento

A Figura 3 evidencia um forte efeito da presença do tegumento na germinação de sementes de *C. lundianus*. Sementes nuas atingiram 48% de germinação a partir do terceiro dia, taxa esta que se manteve constante nos dias subsequentes. Nas sementes intactas a porcentagem máxima atingida foi inferior a 10%. Este padrão não foi alterado pela ausência ou presença de luz.

4. Efeito da temperatura na germinação

Quando mantidas em temperaturas de 25°C ou de 35°C constantes não ocorreu a germinação de sementes intactas de

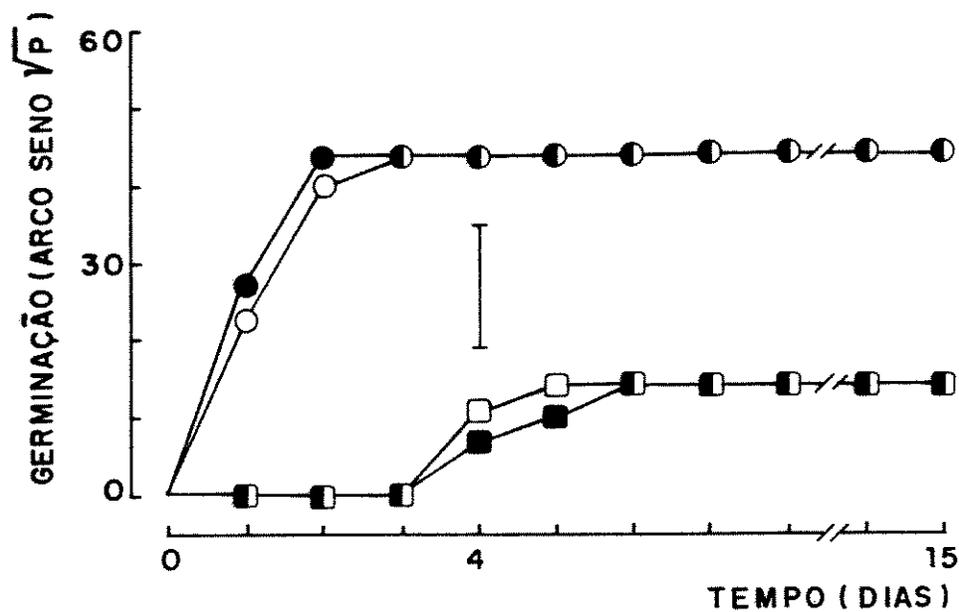


FIG. 3 Germinação de sementes de *C. lundianus* a 25°C, na luz (símbolos claros) e no escuro (símbolos escuros):

□ sementes intactas

○ sementes nuas

C. lundianus, após 15 dias de observação (TABELA 3).

TABELA 3. Efeito de temperatura alta na germinação de sementes intactas de *C. lundianus* em luz contínua após 15 dias de embebição.

TRATAMENTO	TAXA DE GERMINAÇÃO (%)
25°C constante	0
35°C constante	0

Choque de temperatura baixa de 5°C durante 6 ou 18 horas seguido de 25°C também não foi efetivo na germinação em relação ao controle de 25°C constante (Fig. 4). Porém, o regime de alternância de temperaturas a cada 12 horas entre 25°C e 10°C foi efetivo na estimulação da germinação atingindo 36% no sétimo dia de embebição, enquanto as sementes mantidas em 25°C constante não germinaram. A promoção causada pela alternância 25°C/5°C não foi significativa em relação ao controle de 25°C constante (Fig. 5).

No regime de temperaturas 25°C/15°C alternado a cada 12 horas, a germinação foi antecipada e promovida em relação a outros tratamentos, sendo que neste regime de temperatura a germinação iniciou-se no 3º dia, enquanto que nos outros tratamentos iniciou-se a partir do 5º dia (Fig. 6). Já o mesmo par de temperaturas alternadas a cada 8/16 ho-

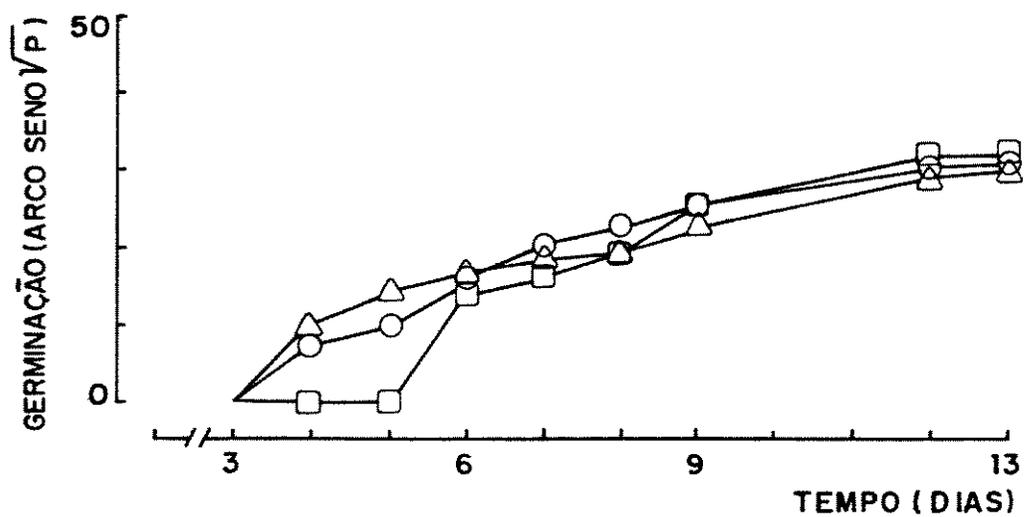


FIG. 4 Efeito de choque de temperatura na germinação de sementes de *C. lundianus*, na luz contínua:

- △ 5°C durante 6 horas
- 5°C durante 18 horas
- 25°C constante (controle)

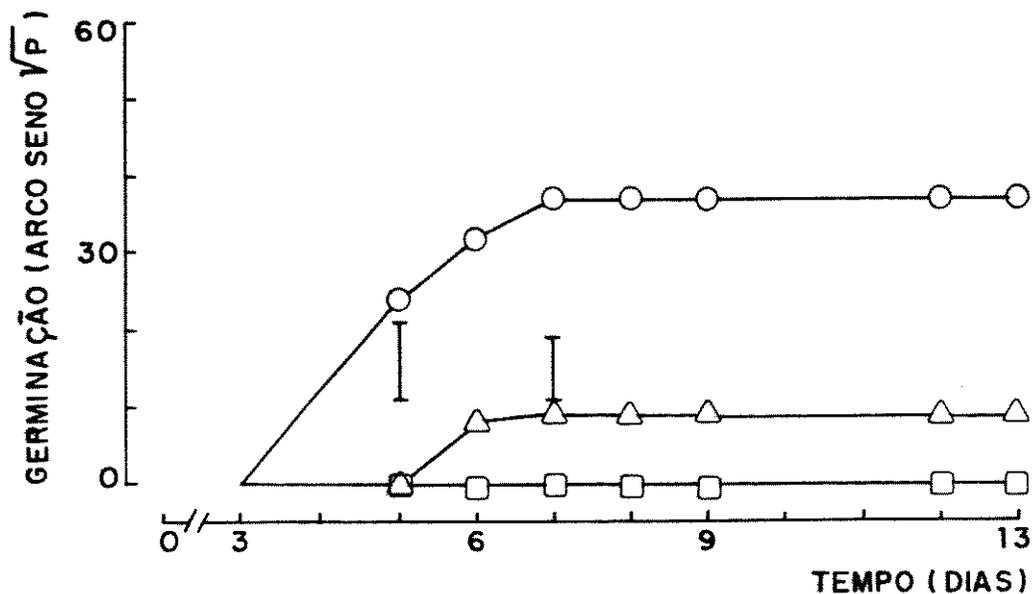


FIG. 5 Efeito de temperaturas alternadas a cada 12 horas, na germinação de sementes de *C. lundianus*, na luz contínua:

Δ 25°C/5°C

O 25°C/10°C

□ 25°C constante (controle)

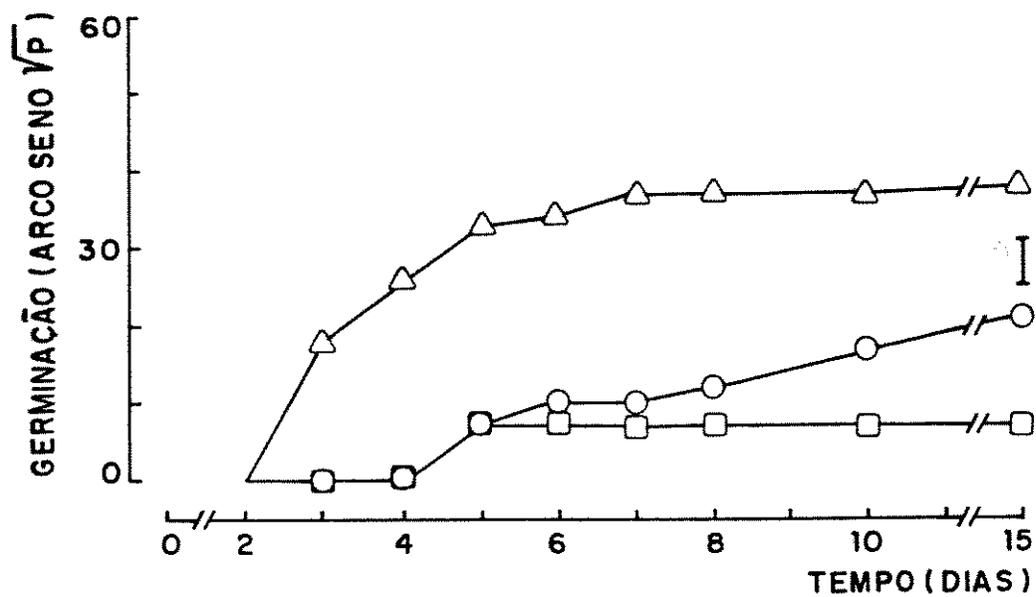


FIG. 6 Efeito de diferentes regimes de temperatura na germinação de sementes de *C. lundianus*, na luz contínua;

△ 25°C/15°C (12h/12h)

○ 25°C/15°C (8h/16h)

□ 25°C constante (controle)

ras promoveu significativamente a germinação, após 15 dias de observação em relação ao controle, não atingindo no entanto os níveis obtidos com a alternância a cada 12 horas.

5. Efeito do armazenamento de sementes

5.1 Na germinação

As curvas de germinação mostradas na figura 7 foram construídas utilizando-se os controles de alguns experimentos realizados. Apesar de todos os experimentos terem sido realizados nas mesmas condições de luz e temperatura, observou-se uma grande diferença nas porcentagens de germinação atingidas (Fig. 7). A diferença primordial entre essas sementes é a data de coleta e o período em que foram armazenadas após a coleta, até serem utilizadas. As condições de armazenamento foram iguais para todos os lotes, isto é em sacos de papel, no escuro a $25^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$. Segundo estes dados as sementes armazenadas por períodos mais longos têm sua germinação promovida e antecipada (Fig. 7).

Em sementes de um mesmo lote armazenadas nestas mesmas condições por período de até 5 meses, estudou-se a taxa de germinação em sementes com e sem carúncula a cada mês. A partir dos resultados apresentados na figura 8, verifica-se que não houve promoção da germinação na espécie ao longo deste período. A retirada da carúncula não afetou a germinação nos diferentes períodos de armazenamento.

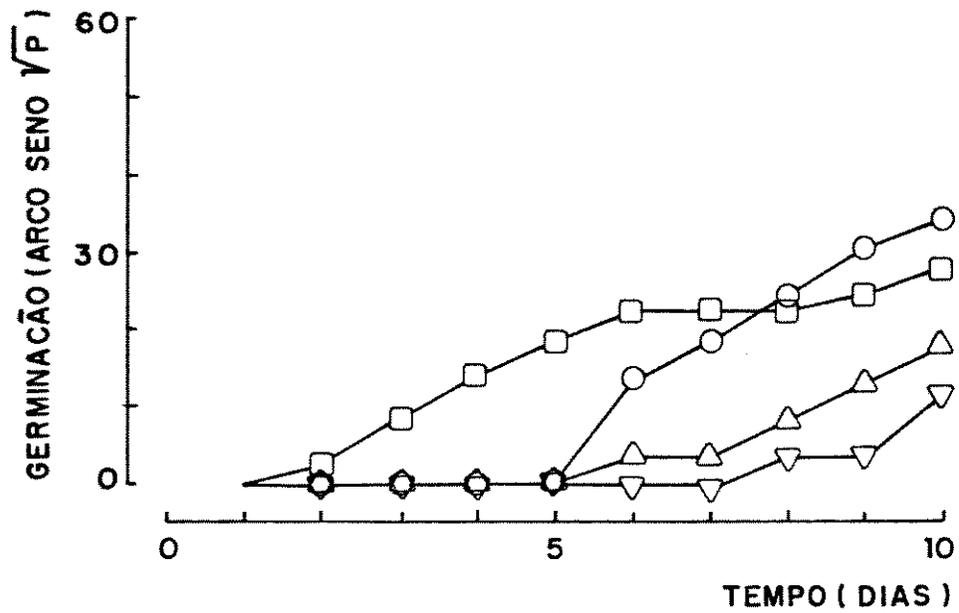


FIG. 7 Efeito do armazenamento na germinação de sementes de *C. lundianus* a 25°C e luz contínua (controle de diferentes experimentos)

▽ recém-colhidas

△ 2 meses de armazenamento

○ 4 meses de armazenamento

□ 5 meses de armazenamento

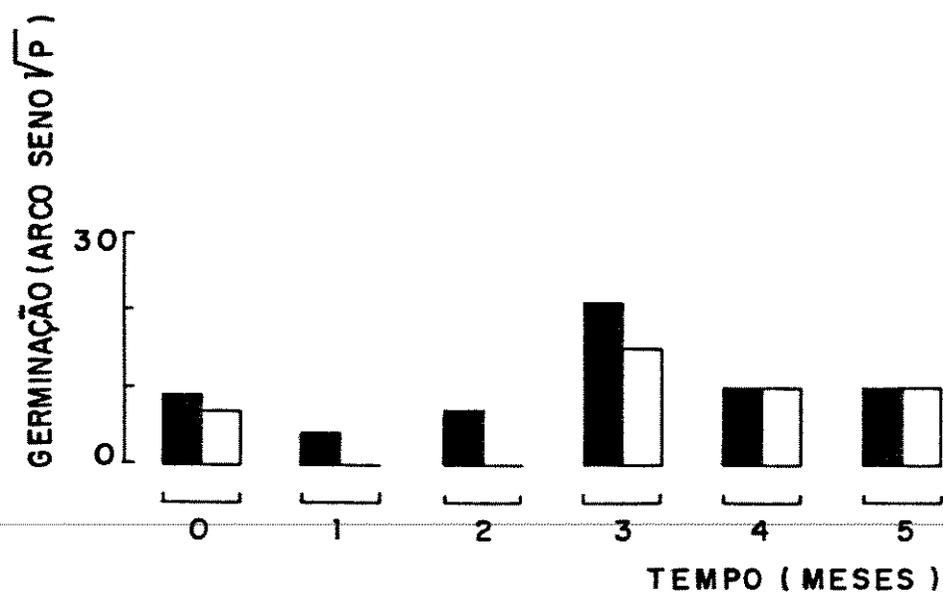


FIG. 8 Efeito do armazenamento na germinação de sementes com carúncula e sem carúncula de *C. lundianus*, a 25°C e luz contínua

■ com carúncula

□ sem carúncula

5.2 Na morfologia da semente

A plúmula tanto das sementes recém-colhidas como daquelas armazenadas por 2 e 4 meses não é desenvolvida apresentando um domo apical diminuto, tanto que cortes de 12 micrometros de espessura dificultaram sua visualização por serem espessos demais.

A tabela 4 apresenta as médias das medidas do comprimento do endosperma, embrião, cotilédones e eixo radícula-hipocótilo no corte mediano de 5 sementes. As sementes mostram que não houve variação entre as médias, nos diferentes tempos de armazenamento.

TABELA 4. Medidas das sementes de *C. lundianus*, recém-colhidas e após 2 e 4 meses, de armazenamento.

Armazenamento (meses)	Comprimento (mm)			
	endosperma	embrião	cotilédones	eixo rad.- -hipoc.
0	3,0 \pm 0,1 ⁽¹⁾	2,6 \pm 0,2	1,4 \pm 0,2	1,1 \pm 0,5
2	3,2 \pm 0,2	2,9 \pm 0,2	1,5 \pm 0,2	1,3 \pm 0,2
4	3,0 \pm 0,5	2,5 \pm 1,2	1,5 \pm 0,5	1,1 \pm 0,3

(1) Os valores na tabela são seguidos pelo intervalo de confiança.

6. Tegumento

Como foi mostrado que a remoção total do tegumento promove a germinação de sementes de *C. lundianus* (item 3.2),

tentou-se verificar que tipos de impedimentos o tegumento poderia estar exercendo. Sabendo-se que a protrusão da radícula ocorre na região da carúncula, verificou-se qual o efeito da remoção de partes do tegumento em diferentes regiões em relação ao embrião, na embebição e germinação de sementes.

6.1 Embebição

O conhecimento do padrão de embebição dessa semente teve por objetivo auxiliar o estudo da fisiologia da germinação, como também verificar a existência de uma possível resistência à entrada de água, exercida pelo tegumento.

Sementes intactas de *C. lundianus* atingem o máximo de absorção de água na primeira hora de embebição, visto que os intervalos de confiança se sobrepõem a partir de então (Figura 9). As sementes nuas atingem os mesmos níveis de absorção que as sementes intactas.

A Figura 10 mostra que a escarificação na região da carúncula também favoreceu a embebição apenas no período inicial. A impermeabilização do hilo de sementes intactas não impediu e nem retardou a absorção de água, em relação ao controle (Figura 10).

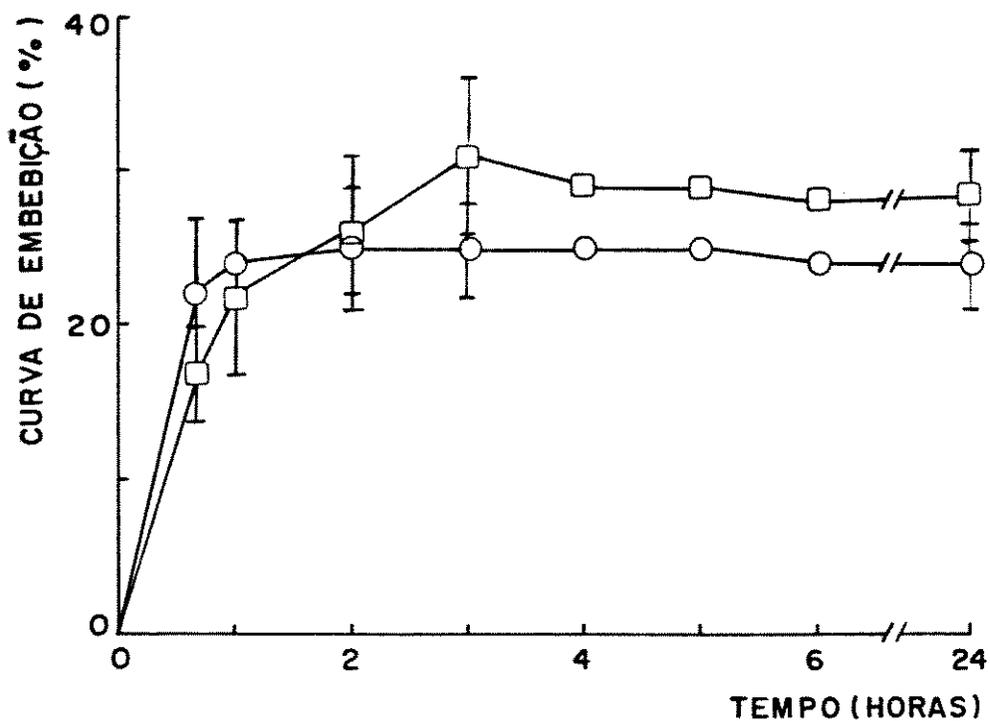


FIG. 9 Curva de embebição a 25°C de sementes nuas e intactas de *C. lundianus*

- nuas
- intactas

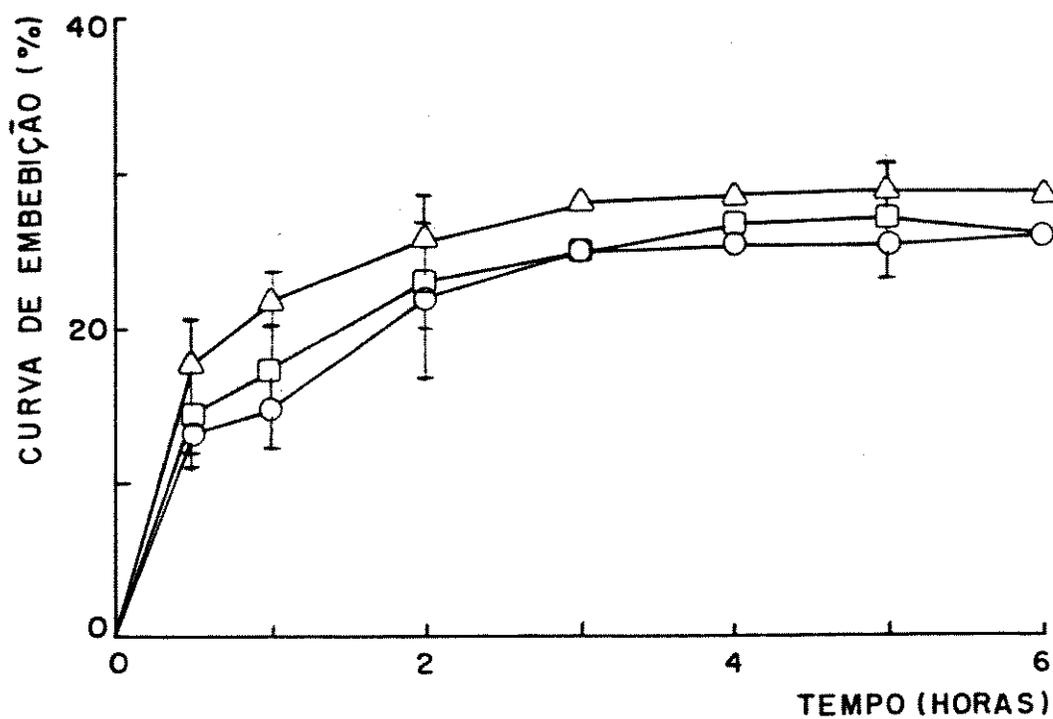


FIG.10 Curva de embebição a 25°C, de sementes de *C. lundianus*, escarificadas e de sementes com o hilo impermeabilizado

- △ escarificadas na região da carúncula
- região do hilo impermeabilizado
- intactas

6.2 Efeito da escarificação na germinação

Sementes de *C. lundianus* quando escarificadas na região da carúncula, germinaram igualmente às sementes onde o tegumento foi totalmente removido. Embora em ambos os casos, tivessem sido atingidos níveis baixos de germinação. As sementes intactas não germinaram nas condições do experimento (Fig. 11).

A importância da retirada do tegumento na região da carúncula para a germinação da espécie foi confirmada (Fig. 12). Sementes escarificadas na região oposta à carúncula germinaram nos mesmos níveis que as sementes lixadas e intactas, porém nestes tratamentos o atraso da germinação foi em vários dias.

6.3 Efeito de escarificação com posterior impermeabilização na germinação

Sementes de *C. lundianus* escarificadas na região da carúncula têm sua germinação promovida significativamente em relação ao controle. As sementes escarificadas e impermeabilizadas com parafina, germinaram nos mesmos níveis que as sementes apenas escarificadas (Fig. 13). Nestas sementes a escarificação na região da carúncula mostrou-se um tratamento eficaz na quebra de dormência.

7. Efeito do aumento do teor de oxigênio na germinação

Com o intuito de testar se o tegumento exerce uma

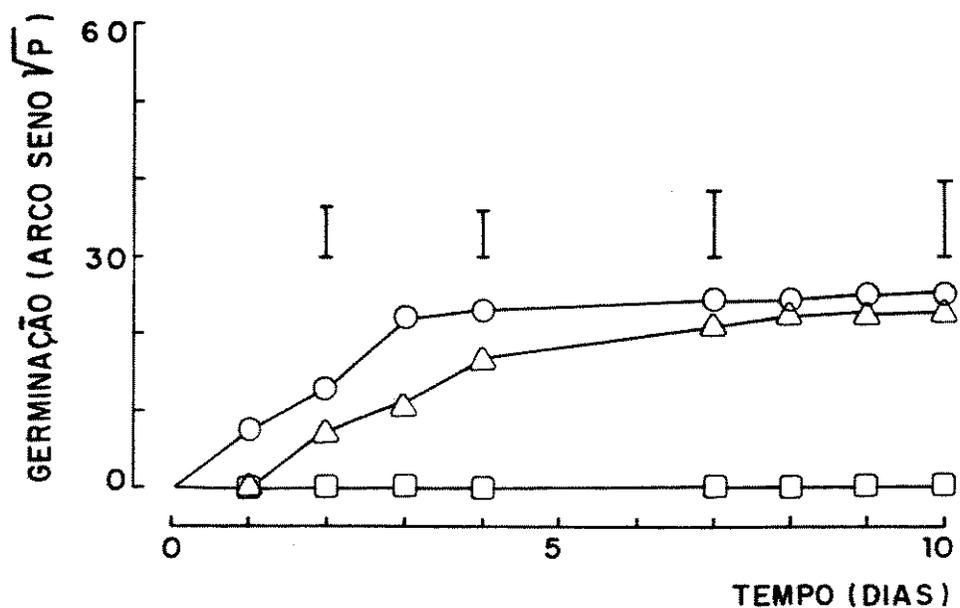


FIG. 11 Efeito da escarificação e retirada do tegumento na germinação de sementes de *C. lundianus* a 25°C e luz contínua:

- △ escarificada na região da carúncula
- nuas
- intactas

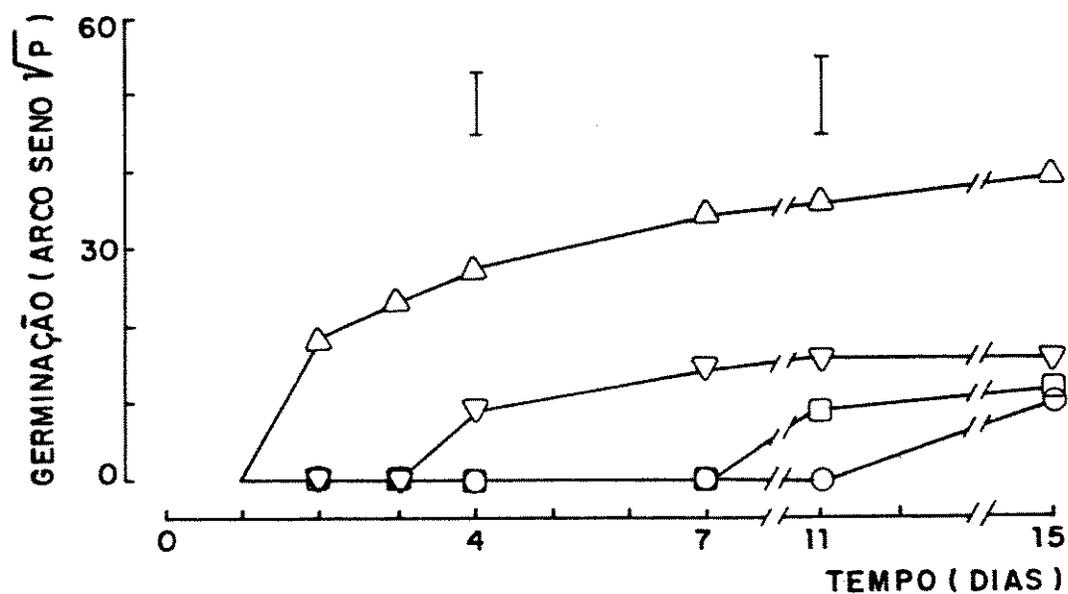


FIG. 12 Efeito de diferentes escarificações na germinação de sementes de *C. lundianus*, a 25°C e luz contínua:

- △ escarificadas na região da carúncula
- ▽ escarificadas na região oposta à carúncula
- lixadas
- intactas

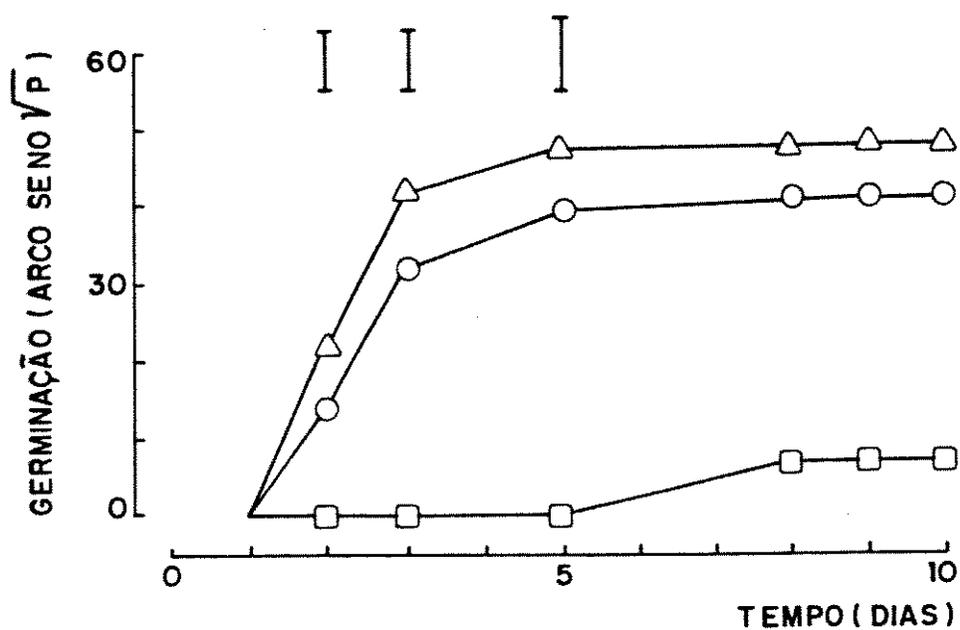


FIG. 13 Efeito da escarificação do tegumento com posterior impermeabilização, na germinação de sementes de *C. lundianus*, a 25°C e luz contínua:

- △ escarificadas na região da carúncula
- escarificadas na região da carúncula com posterior impermeabilização
- intactas

barreira às trocas gasosas mantendo o embrião em anoxia, tes
tou-se a germinação de sementes intactas, sem carúncula e
escarificadas na região da carúncula em dessecadores com
o ambiente enriquecido de oxigênio.

As sementes sem carúncula e as sementes intactas,
tiveram um comportamento semelhante nos dias observa-
dos (Fig. 14). Os dois tratamentos pouco promoveram a ger-
minação, mesmo nas condições onde o ar foi enriquecido
com oxigênio. Já as sementes escarificadas na região da
carúncula, germinaram em 100% no 7º dia observado, em ar
atmosférico normal, e 93,3% em ar enriquecido de oxigê-
nio. As taxas de germinação deste experimento foram ra-
tificadas, eliminando-se as sementes inviáveis dos cál-
culos, (cerca de 25%) devido à grande contaminação por
fungos ocorrida neste experimento.

Num outro experimento sementes intactas da espê-
cie sob ambiente enriquecido de oxigênio com água oxí-
genada, não tiveram sua germinação promovida, confirman-
do os resultados do experimento anterior (Fig. 15).

8. Determinação do volume das sementes.

O volume de 100 sementes de *C. lundianus* frescas é
em média de $0,93\text{cm}^3$. Após 5 horas de embebição, período
já demonstrado ser suficiente para total embebição, o
volume passou para $1,066\text{cm}^3$. Aplicando-se teste t con-

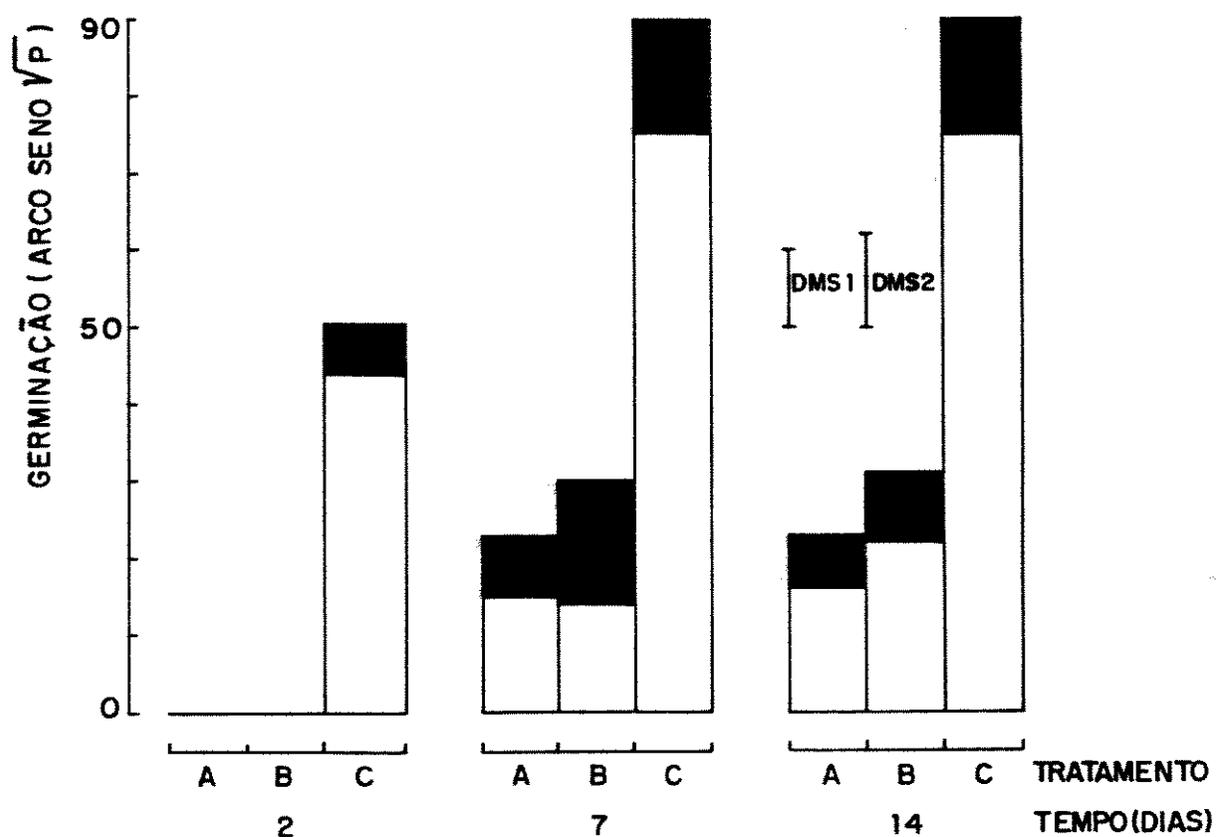


FIG. 14 Efeito do aumento do teor de oxigênio (■) em relação à composição normal do ar atmosférico (□) na germinação de *C. lundianus* a 25°C e luz contínua:

A - sementes intactas

B - sementes sem carúncula

C - sementes escarificadas na região da carúncula

DMS 1 - comparação entre (■) e (□) no 14º dia de germinação

DMS 2 - comparação entre (A), (B) e (C) no 14º dia de germinação

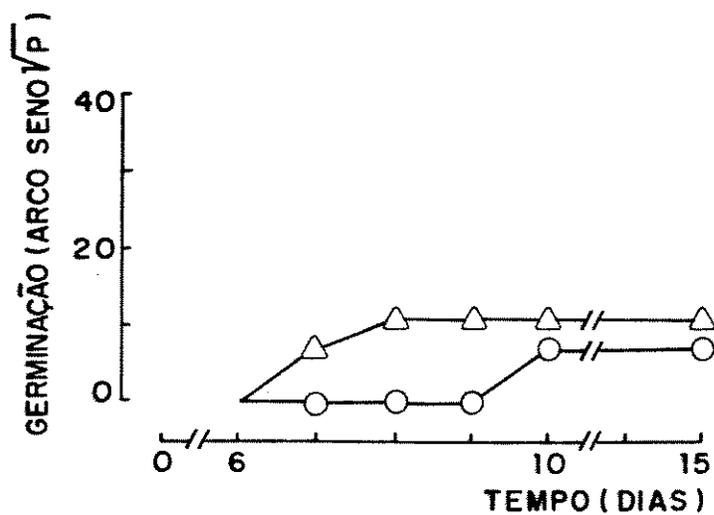


FIG. 15 Efeito do aumento do teor de oxigênio no meio de germinação das sementes de *C. lundianus* a 25°C e luz contínua, através da aplicação de água oxigenada

Δ com água oxigenada
O controle

cluiu-se que esta diferença não é significativa (Tabela 5).

TABELA 5 - Volume de 100 sementes de *C. lundianus* (cm³) recém-colhidas e sementes embebidas por 5 horas.

	Média do volume de 100 sementes (cm ³)
semente fresca	0,93
semente embebida	1,066

9. Efeito da lavagem na germinação

A lavagem contínua em água corrente causou uma redução na taxa de germinação das sementes de *C. lundianus* (Fig. 16).

10. Efeito do exsudato de tegumento de sementes de *C. lundianus* na germinação

O exsudato de sementes de *C. lundianus* não inibiu a germinação de sementes de alface, obtendo-se os

mesmos nı́veis de germinaçaõ que o controle, apõs 24 hrs. de observaçaõ (Tabela 6)

TABELA 6 - Efeito do exsudato de tegumento de *C. lundianus* na germinaçaõ de sementes de alface, a 25°C e luz contı́nua.

GERMINAÇÃO DE ALFACE (%)	
sobre exudato	97,00
controle	97,33

11. Efeito do extrato bruto de sementes nuas sobre a germinaçaõ de alface.

Sementes de alface germinaram tanto sobre o extrato bruto de sementes nuas, quanto no controle, apõs 24 hrs. de observaçaõ (Tabela 7).

TABELA 7 - Efeito do extrato aquoso bruto de sementes nuas de *C. lundianus*, na germinaçaõ de sementes de alface a 25°C e luz contı́nua.

GERMINAÇÃO DE ALFACE (%)	
extrato bruto	93,0
controle	97,6

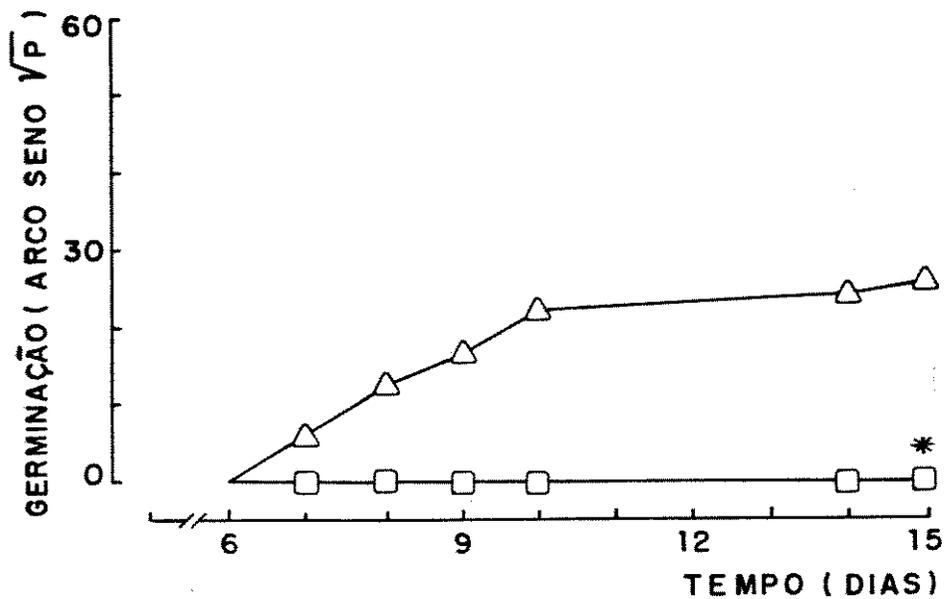


FIG. 16 Efeito da lavagem contínua em água corrente na germinação de sementes *C. lundianus* a 25°C e luz contínua:

Δ controle

\square lavadas

* estatisticamente significativo a nível de 5%

12. Efeito da fração neutra de extrato de sementes de *C. lundianus* sobre a germinação de sementes nuas da própria espécie.

A presença de inibidores no extrato neutro de *C. lundianus* foi testada na germinação de sementes nuas da própria espécie. Não houve diferença significativa na germinação entre o controle e o extrato neutro (Fig.17).

Os baixos níveis de germinação podem ser explicados pela porcentagem alta de sementes inviáveis no final do experimento, que foi por volta de 70%.

13. Efeito da aplicação de GA_3 na germinação

A aplicação de GA_3 $10^{-3}M$ promoveu a germinação de sementes intactas de *C. lundianus* (Fig. 18). Concentrações mais baixas do hormônio (5×10^{-4} e $10^{-4}M$) foram inefetivas na estimulação.

14. Efeito da aplicação conjunta de 6BA e GA_3 na germinação de sementes intactas e escarificadas de *C. lundianus*.

Em sementes intactas a aplicação exógena de substâncias de crescimento não teve um efeito promotor significativo. A germinação nos diferentes tratamentos iniciou-se apenas no 8º dia de embebição e manteve-se baixa ao longo de 20 dias de observação (Fig. 19). Apenas a aplicação de GA_3 $10^{-3}M$ é que apresentou uma leve promoção no

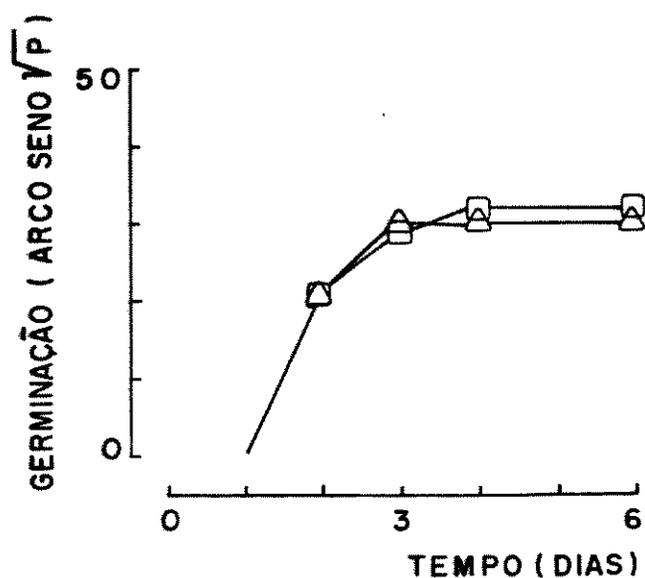


FIG. 17 Efeito da fração neutra de extrato de semente de *C. lundianus* na germinação de sementes nuas da própria espécie, a 25°C e luz contínua:

- △ extrato
- controle

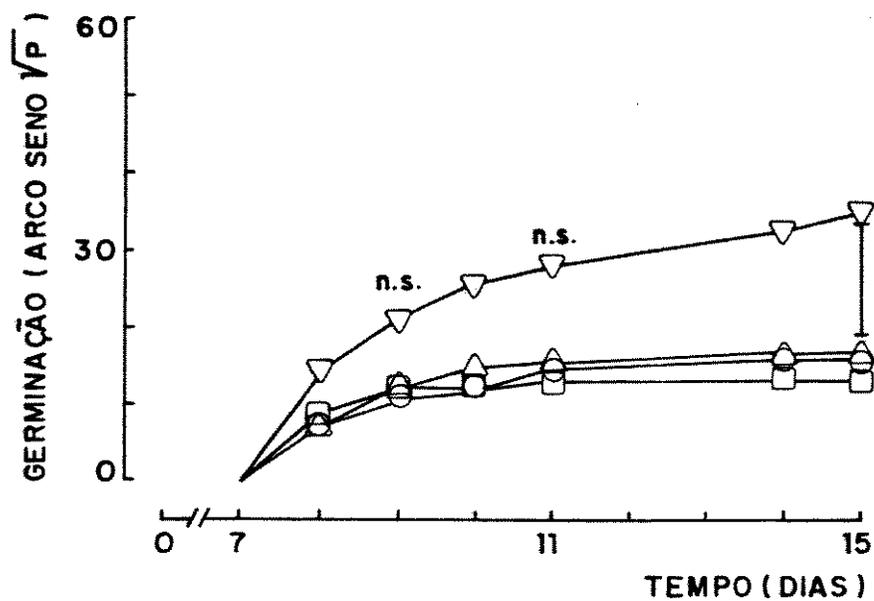


FIG. 18 Efeito da aplicação de GA₃ na germinação de *C. lun-dianus* a 25°C e luz contínua:

- controle
- ▽ GA₃ 10⁻³M
- △ GA₃ 10⁻⁴M
- GA₃ 5x10⁻⁴M

n.s. nenhuma diferença significativa

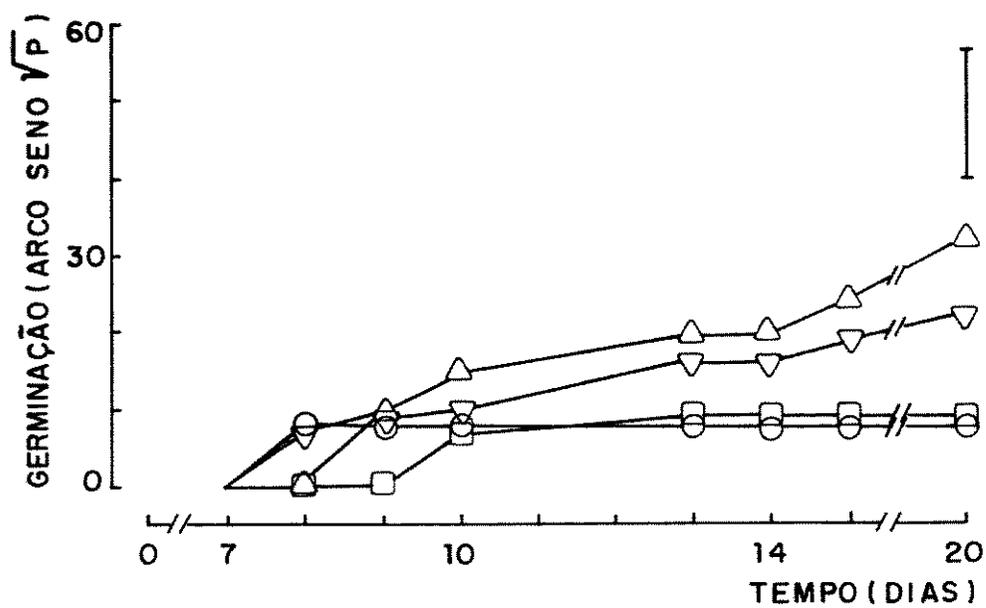


FIG. 19 Efeito da aplicação de reguladores de crescimento na germinação de sementes intactas de *C. lun-dianus* a 25°C e luz contínua:

△ GA₃ 10⁻³M

○ 6BA 10⁻⁴M

▽ GA₃ 10⁻³M e 6BA 10⁻⁴M

□ controle

final do experimento atingido uma taxa de 30% de germinação.

Sementes escarificadas na região da carúncula e tratadas com 6BA têm sua germinação promovida significativamente ao longo do experimento. O tratamento com GA₃ também foi efetivo a partir do 2º dia de germinação atingindo no final do experimento níveis semelhantes aos alcançados pelas sementes tratadas com 6BA mais GA₃ (Fig. 20).

A escarificação na região da carúncula promoveu significativamente a germinação a partir do primeiro dia de embebição. Assim sementes de *C. lundianus* escarificadas e embebidas em água germinaram 67%, enquanto que as sementes intactas germinaram apenas 3%, confirmando resultados anteriores (Fig. 19 e 20).

B. *Croton glandulosus* (L.) Muell.

1. Morfologia da semente

A descrição das estruturas da semente foi feita com base em observações sob microscópio estereoscópico.

C. glandulosus possui frutos do tipo esquizocarpáceo, sub-tipo cápsula-tricoca recoberta por pelos, e com 5 sépalas remanescentes (Fig. 21C). Com deiscência explosiva do tipo xerocárpico, cada fruto possui no máximo 3 sementes elipsóides ligeiramente oblongas, com seção transversal elíptica (Fig. 21E). O ápice é mucronado, provido de arilo micropilar (carúncula), e a base é rotunda (Fig. 21B). A semente possui de 3,4 a 4,0mm de comprimento por 2,4 a 2,5mm de largura; com face dorsal convexa (Fig. 21A), fa-

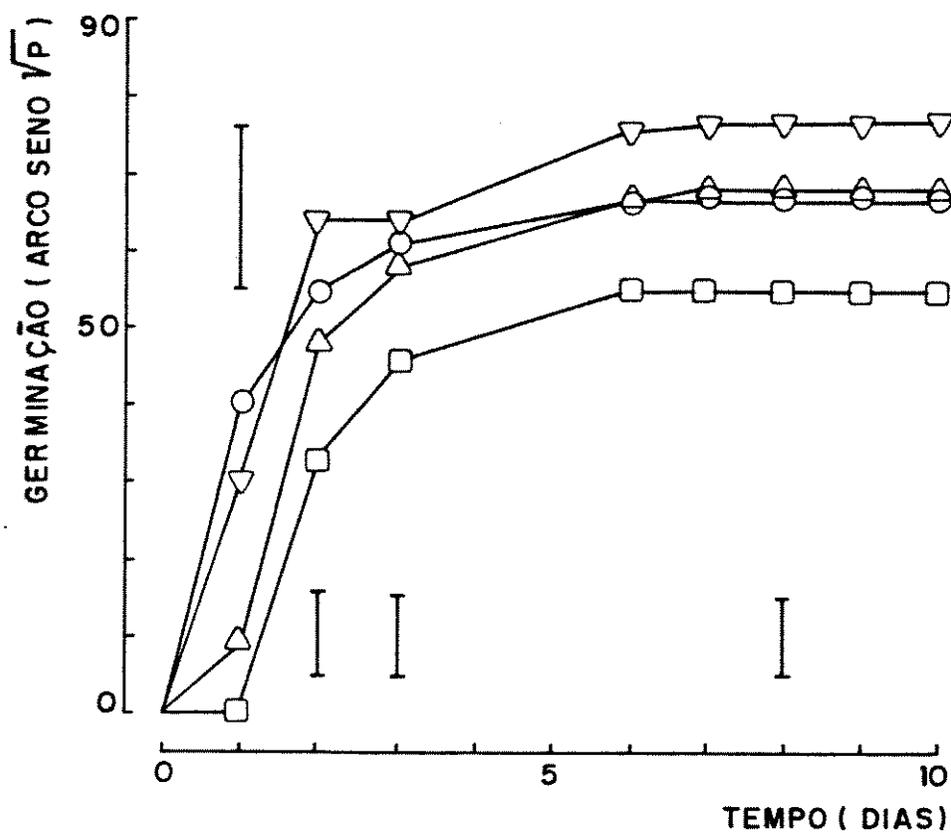


FIG. 20 Efeito da aplicação de reguladores de crescimento na germinação de sementes escarificadas de *C. lundianus* a 25°C e luz contínua:

- △ GA₃ 10⁻³ M
- 6BA 10⁻⁴ M
- ▽ GA₃ 10⁻³ M e 6BA 10⁻⁴ M
- controle

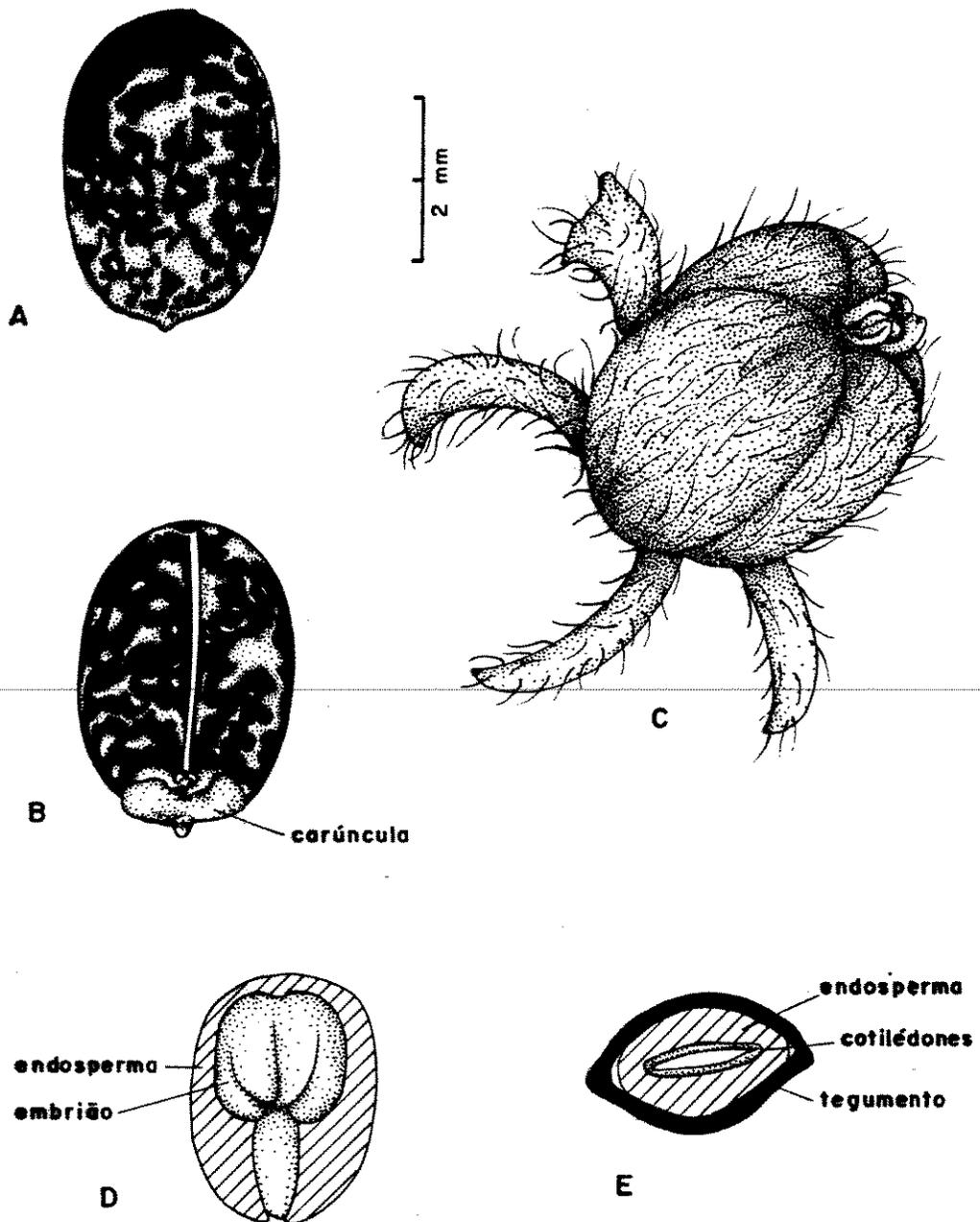


FIG. 21 Aspectos morfológicos do fruto e da semente de *C. glandulosus*

A - face dorsal da semente

B - face ventral da semente

C - fruto

D - corte longitudinal mediano, após a remoção do tegumento da semente

E - corte transversal mediano

ce ventral formada por dois planos ligeiramente convexos que se encontram numa linha central mais clara que se estende da base ao ápice (Fig. 21B). O tegumento é cinza claro com manchas cinza escuro, de superfície lisa e brilhante. No hilo o tegumento tem aspecto esponjoso. O tegumento é quebradiço e possui tegma membranáceo aderido a ele. Entre endosperma e tegumento podem ocorrer espaços vazios.

Quando a semente embebe forma-se uma camada espessa e contínua de mucilagem. Em corte longitudinal mediano, paralelo ao plano de expansão dos cotilédones, observa-se que o embrião ocupa grande parte da semente (Fig. 21D). Os cotilédones são eretos e ligeiramente invaginados e têm largura igual ao eixo radícula-hipocótilo. O embrião é envolvido por endosperma oleaginoso, sendo que apenas a ponta da radícula permanece desobstruída (Fig. 21D).

Foram feitas medidas em 25 sementes da espécie, obtendo-se os resultados apresentados na Tabela 8. O embrião de *C. glandulosus* pode ser classificado como axial foliáceo espatulado e é considerado morfologicamente maduro.

TABELA 8. Medidas da semente e do embrião de *C. glandulosus*

	Valores médios (mm)
Comprimento da semente nua	2,7 ± 0,1 ⁽¹⁾
Comprimento do embrião	2,5 ± 0,1
Comprimento do cotilédone	1,2 ± 0,1
Comprimento do eixo radícula-hipocótilo	1,2 ± 0,1
Largura do cotilédone	1,2 ± 0,1

(1) Os valores na tabela são seguidos pelo intervalo de confiança.

2. Nível de hidratação do meio de germinação

Sementes intactas de *C. glandulosus* mantidas a 25°C e luz constante, germinaram igualmente nos 3 níveis de água testados (Fig. 22). Adotou-se para todos os experimentos onde foram usadas placas de 9cm. de diâmetro o volume de 3,5ml de água destilada ou solução de nistatina (68U/ml).

3. Efeito da luz na germinação

3.1 Interação com a carúncula

Sementes de *C. glandulosus* mantidas em tempe

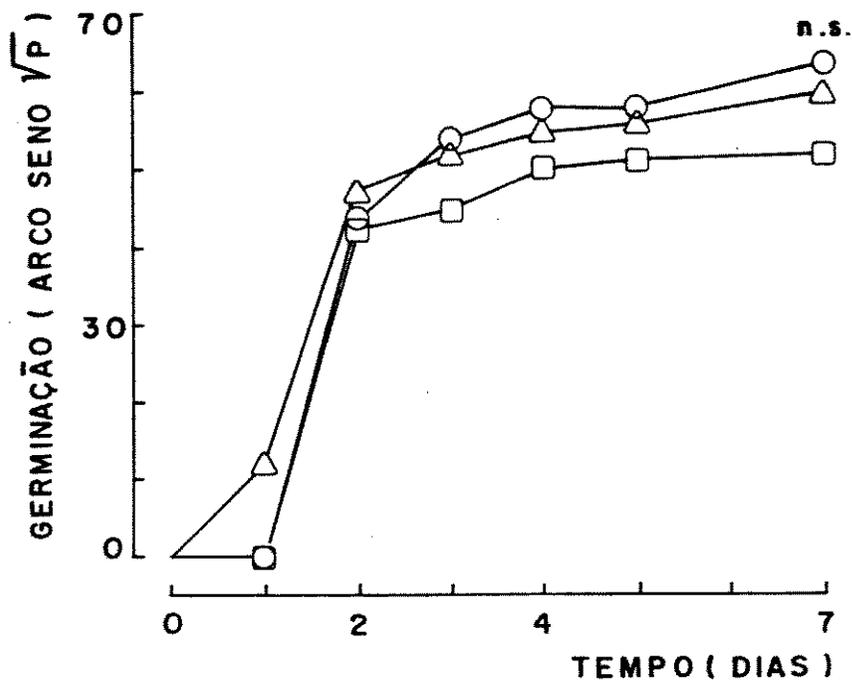


FIG. 22 Germinação de sementes de *C. glandulosus* a 25°C e luz contínua, mantidas em três diferentes níveis de hidratação:

○ 2 ml

△ 3 ml

□ 5 ml

n.s. - nenhuma diferença significativa

ratura constante de 25°C praticamente não germinaram na luz ou no escuro (Tabela 9). A retirada da carúncula não favoreceu a germinação da espécie.

TABELA 9 - Efeito da carúncula na germinação de sementes de *C. glandulosus*, a 25°C na luz ou no escuro, após 11 dias de observação.

C/C - com carúncula

S/C - sem carúncula

	TAXA DE GERMINAÇÃO (%)	
	LUZ	ESCURO
C/C	3	0
S/C	2	1

3.2 Efeito do tegumento na germinação

A Figura 23 evidencia um forte efeito da presença do tegumento na germinação de sementes de *C. glandulosus*. Sementes nuas mantidas na luz atingiram 87% de germinação e sementes nuas mantidas no escuro 62%, sendo que esta diferença não é significativa.

Já as sementes intactas no escuro não germinaram, e a presença de luz não modificou este padrão significativamente.

4. Efeito da temperatura na germinação

Quando mantidas na luz em temperatura de 25°C ou de

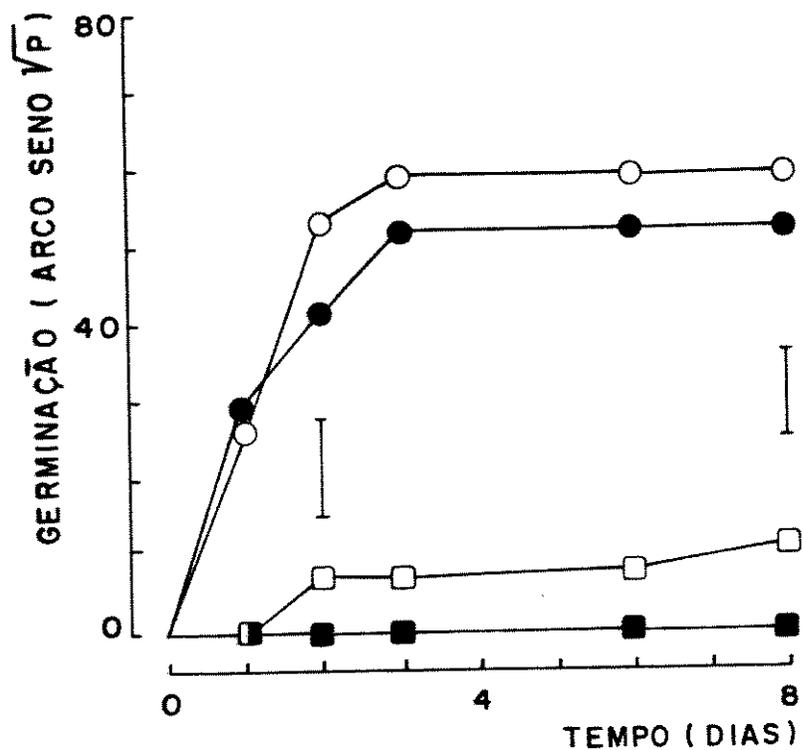


FIG. 23 Germinação de sementes de *C. glandulosus* a 25°C, na luz (símbolos claros) e no escuro (símbolos escuros):

- sementes intactas
- sementes nuas

35°C constantes as sementes de *C. glandulosus*, após 15 dias de observação, praticamente não germinaram. O mesmo ocorreu para choques de 35°C por 24 horas, 4 e 7 dias seguidos de 25°C constante (Tabela 10).

TABELA 10 -- Efeito de temperatura alta na germinação de sementes de *C. glandulosus*, após 15 dias de observação na luz contínua.

TRATAMENTO	TAXA DE GERMINAÇÃO (%)
25°C constante	6
35°C constante	0
Choque de 35°C / 24 horas	2
Choque de 35°C / 4 dias	1
Choque de 35°C / 7 dias	1

Choques de temperatura de 5°C durante 6 e 18 horas, seguidos de 25°C constante foram efetivos promovendo a germinação de sementes intactas de *C. glandulosus* a níveis significativos, embora as porcentagens finais tenham sido baixas (Fig. 24).

Choques de temperatura de 15°C durante 24 horas, 3 e 7 dias, seguidos de 25°C constante não foram efetivos em relação a 25°C ou 15°C constantes (Tabela 11). Temperaturas alternadas a cada 12 horas, no entanto, promoverem a germinação da espécie. No regime de alternân-

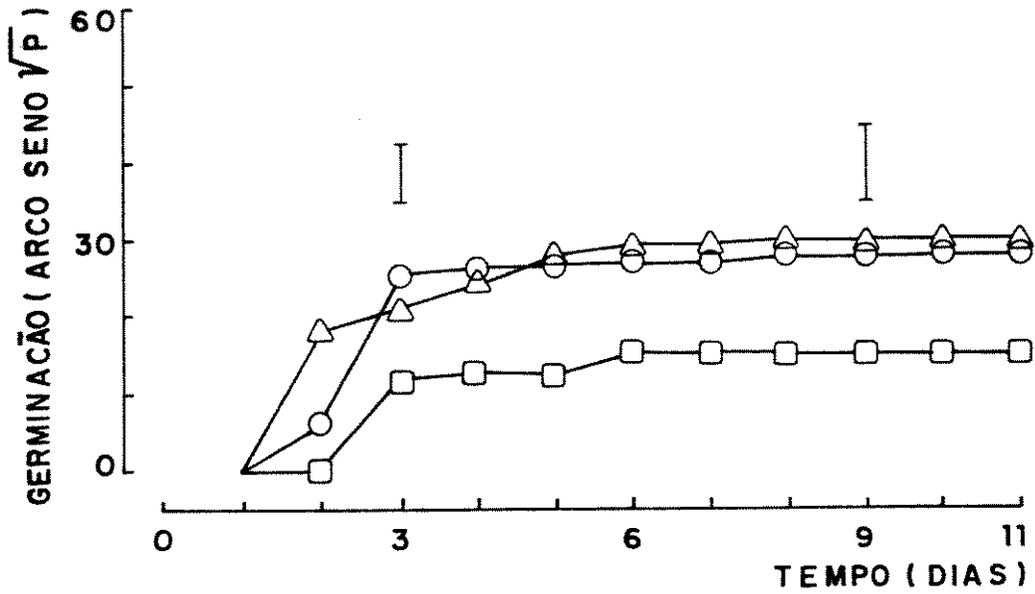


FIG. 24 Efeito de choque de temperatura na germinação de sementes de *C. glandulosus* na luz contínua:

- △ 5°C durante 6 horas
- 5°C durante 18 horas
- 25°C constante (controle)

cia 25º/5ºC a germinação atingiu 33% após 14 dias de observação e no regime de alternância 25º/10ºC a germinação atingiu 88%, sendo que o controle (25ºC constante) no mesmo período, germinou em apenas 10% (Fig. 25).

TABELA 11 - Efeito de choque de temperatura na germinação de sementes com e sem carúncula de *C. glandulosus* na luz contínua.

Tratamento de Temperatura/Tempo	Germinação (%)	
	COM CARÚNCULA	SEM CARÚNCULA
25º /constante	4,0	5,5
15º /constante	1,5	1,5
15º /24 horas	3,0	3,0
15º / 3 dias	3,0	2,2
15º / 7 dias	0	2,2

Explorando melhor o efeito de temperaturas alternadas, na germinação da espécie testaram-se temperaturas 25º/10ºC e 25º/15ºC, alternadas a cada 12 horas na presença e ausência de luz. Ambos os regimes de alternância promoveram significativamente a germinação da espécie em relação ao controle, sendo que a luz foi requisito para esta promoção (Fig. 26).

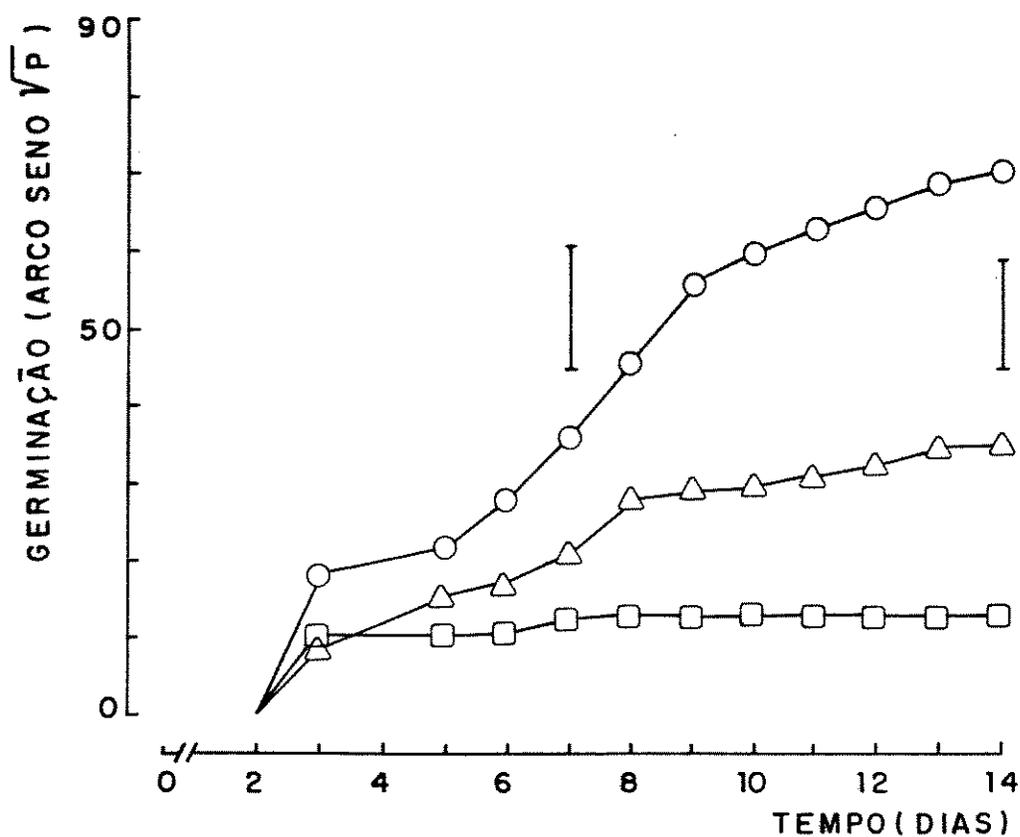


FIG. 25 Efeito de temperaturas alternadas a cada 12 horas, na germinação de sementes de *C. glandulosus* na luz contínua:

△ 25°C/5°C

○ 25°C/10°C

□ 25°C constante (controle)

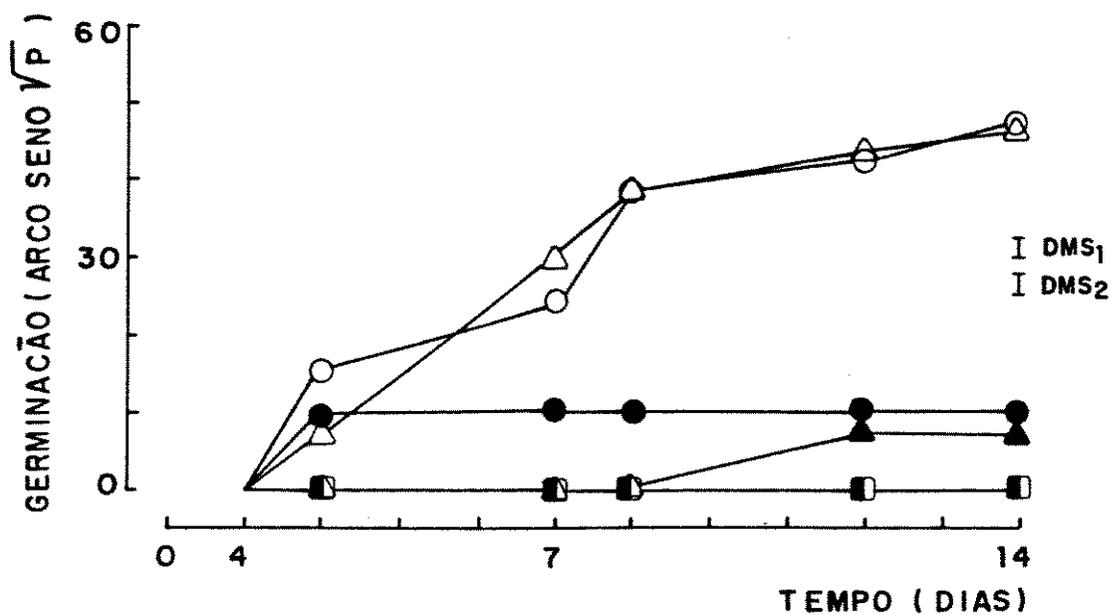


FIG. 26 Efeito de diferentes regimes de temperatura alternados a cada 12 horas, na germinação de *C. glandulosus* na luz (símbolos claros) e no escuro (símbolos escuros):

△ 25°C/10°C

○ 25°C/15°C

□ 25°C constante (controle)

DMS₁ = comparação entre luz e escuro nas diferentes temperaturas

DMS₂ = comparação entre os diferentes tratamentos de temperatura

5. Efeito do armazenamento de sementes

5.1 Na germinação

A mesma observação feita para a espécie *C. lundianus*, quanto ao período de armazenamento das sementes após a coleta, foi feita para *C. glandulosus*. Assim a Figura 27, foi construída utilizando-se os controles de alguns experimentos realizados. As especificações para *C. glandulosus* foram as mesmas apresentadas no ítem A.5.1, podem ser transplantadas para *C. lundianus*. Os resultados indicam que sementes que foram armazenadas por 4 e 5 meses, tiveram sua germinação favorecida em relação a sementes recém-colhidas e armazenadas por 3 meses.

Em sementes de um mesmo lote armazenadas em condições similares por período de até 5 meses, estudou-se a taxa de germinação de sementes com e sem carúncula a cada mês. As sementes de *C. glandulosus* sã germinaram após 2 meses de armazenamento, porém não se observou variação significativa com o aumento do período de armazenamento e retirada da carúncula (Fig. 28). Em todos os casos a porcentagem de germinação foi muito baixa.

5.2 Na morfologia da semente

Médias das medidas do comprimento do endosperma, embrião, cotilédone e eixo radícula-hipocótilo, no corte mediano de 5 sementes, indicam que não houve variação no tamanho dos embriões nos diferentes períodos de armazenamento (Tabela 12).

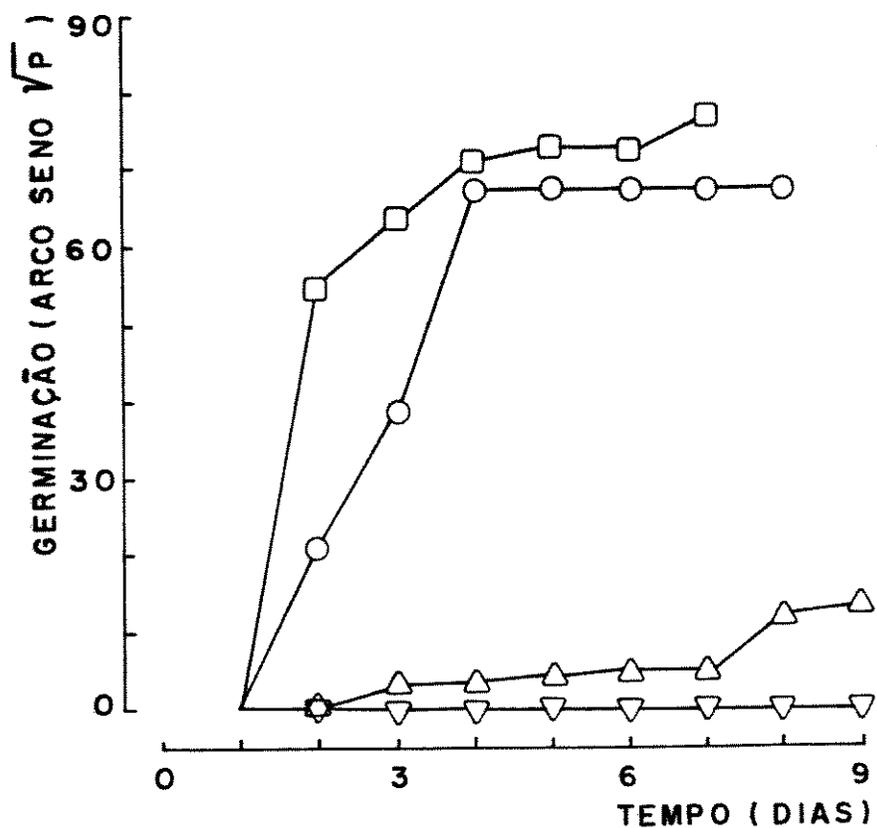


FIG. 27 Efeito do armazenamento na germinação de sementes de *C. glandulosus* a 25°C e luz contínua (controle de diferentes experimentos)

- ▽ recém-colhidas
- △ 2 meses de armazenamento
- 4 meses de armazenamento
- 5 meses de armazenamento

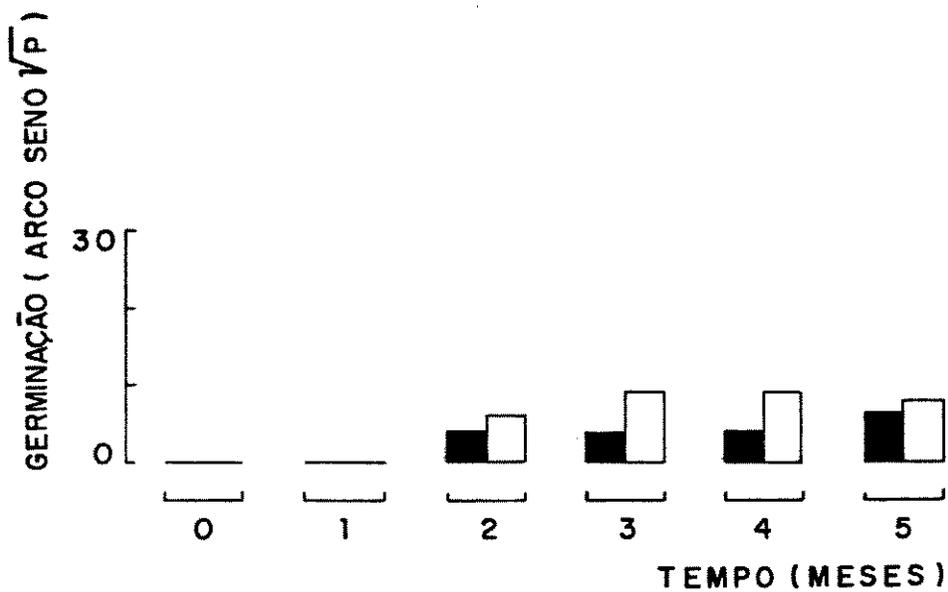


FIG. 28 Efeito do armazenamento na germinação de sementes com carúncula e sem carúncula de *C.glandulosus*, a 25°C e luz contínua

- com carúncula
- sem carúncula

Os cortes da região mediana do embrião, fixados e corados, ao serem observados em microscópio óptico mostraram uma plúmula não desenvolvida com um domo apical diminuto formado por células meristemáticas arredondadas, tanto para as sementes recém-colhidas como daquelas armazenadas por 2 e 4 meses.

TABELA 12 - Medidas das sementes de *C. glandulosus*, recém-colhidas e após 2 e 4 meses de armazenamento.

Armazenamento (meses)	Comprimento(mm)			
	endosperma	$\bar{X} \pm l.c.$		eixo rad.- hipocótilo
		embrião	cotilédones	
0	3,0 \pm 0,3 ⁽¹⁾	2,7 \pm 0,2	1,4 \pm 0,2	1,3 \pm 0,1
2	3,1 \pm 0,4	2,8 \pm 0,5	1,4 \pm 0,2	1,4 \pm 0,2
4	3,0 \pm 0,4	2,4 \pm 0,7	1,3 \pm 0,2	1,1 \pm 0,5

(1) os valores na tabela são seguidos pelo intervalo de confiança.

6. Tegumento

Sementes nuas de *C. glandulosus* tiveram sua germi

nação promovida quando em temperatura constante de 25°C (Figura 23). Com o intuito de verificar qual o possível controle que o tegumento estaria exercendo sobre a germinação, efetuaram-se experimentos de embebição e germinação em sementes onde partes do tegumento foram removidas.

6.1 Embebição

Sementes de *C. glandulosus* atingem o máximo de embebição num período de 1 hora. Os níveis de absorção de água não foram alterados com a remoção total do tegumento ou porções do tegumento (Fig. 29). Estes resultados foram confirmados em outro experimento onde sementes intactas, escarificadas na região da carúncula e sementes intactas com o hilo impermeabilizado tiveram o mesmo padrão de curva de embebição (Fig.30). Em sementes de *C. glandulosus* o tegumento não exerce barreira à entrada de água, e o hilo não é uma região preferencial à entrada de água.

6.2 Efeito da escarificação na germinação

Sementes de *C. glandulosus* quando escarificadas na região da carúncula germinaram logo no primeiro dia de embebição atingindo no 14º dia de observação 95% de germinação. Já sementes escarificadas na região oposta a carúncula tiveram um atraso na germinação tendo esta atingido 28% no 12º dia de observação. As sementes lixadas praticamente não germinaram (Fig. 31).

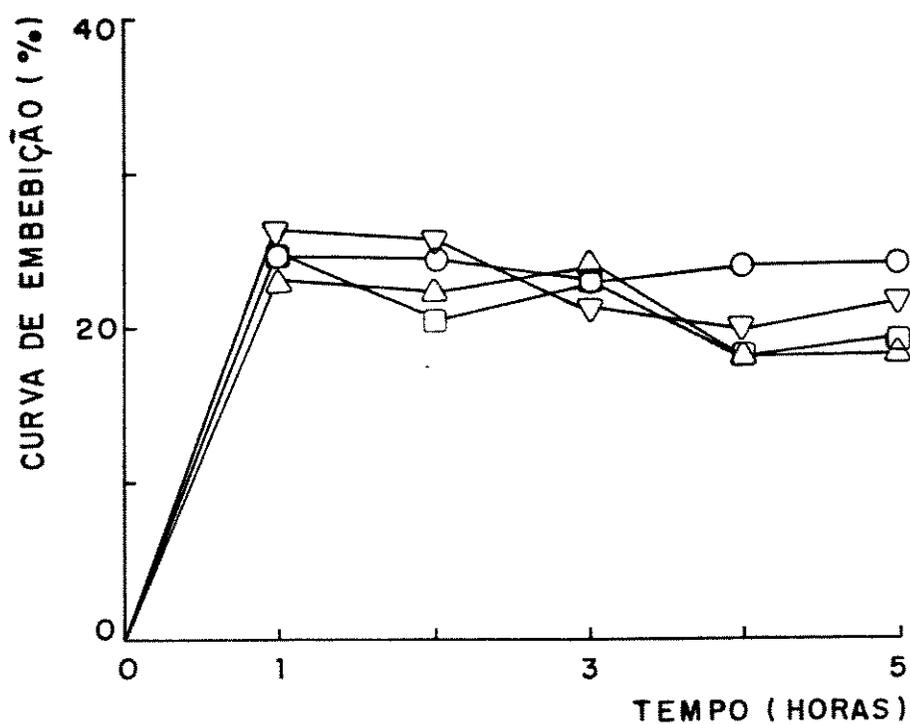


FIG. 29 Curva de embebição a 25°C de sementes intactas e escarificadas de *C. glandulosus*.

- △ escarificadas na região da carúncula
- ▽ escarificadas na região oposta a carúncula
- nuas
- intactas

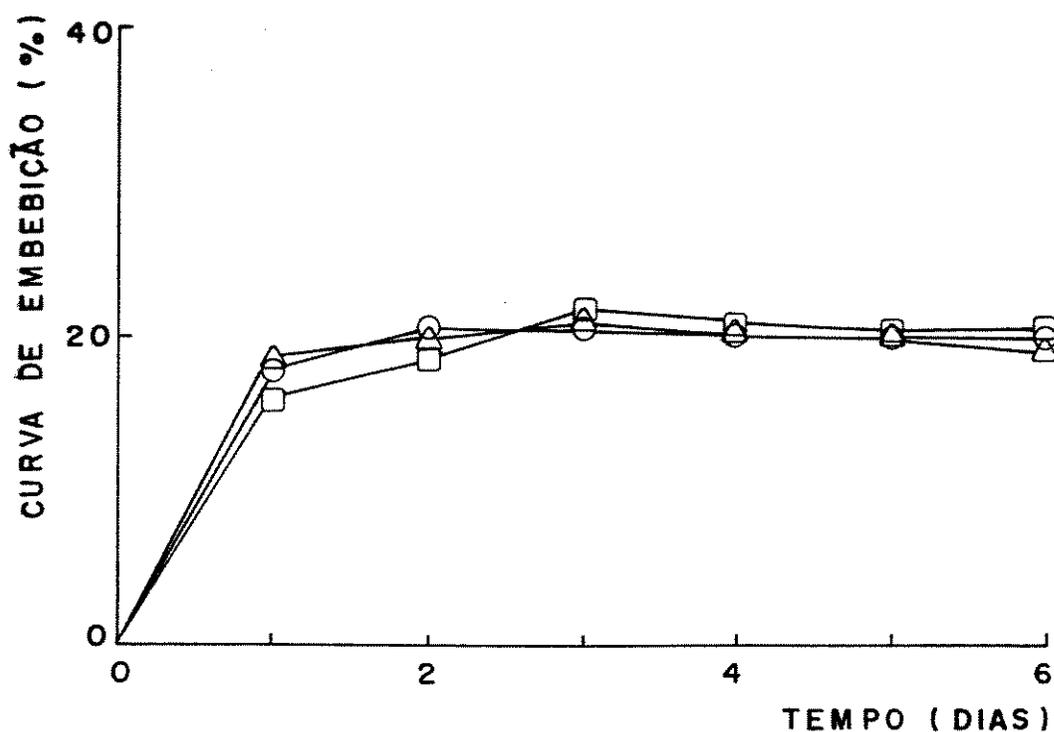


FIG. 30 Curva de embebição a 25°C, de sementes de *C. glandulosus* escarificadas e sementes com o hilo impermeabilizado.

△ escarificadas na região da carúncula

○ região do hilo impermeabilizada

□ intactas

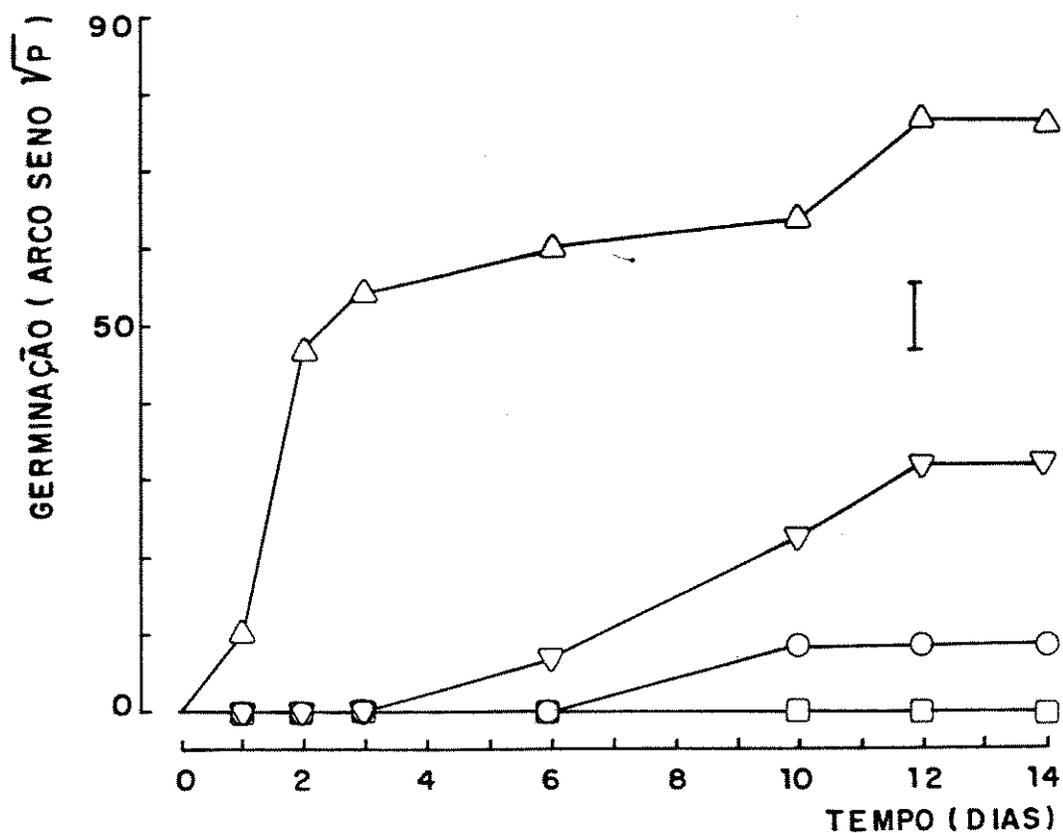


FIG. 31 Efeito de diferentes esscarificações na germinação de sementes de *C. glandulosus*, a 25°C e luz contínua:

△ esscarificada na região da carúncula

▽ esscarificada na região oposta a carúncula

○ lixadas

□ intactas

6.3 Efeito da escarificação com posterior impermeabilização na germinação

Confirmando resultado anterior a escarificação da região da carúncula em sementes de *C. glandulosus* promoveu significativamente a germinação da espécie, em relação a sementes intactas. O mesmo ocorreu para as sementes escarificadas e impermeabilizadas com parafina na região da carúncula. A impermeabilização das sementes escarificadas apenas retardou a germinação nos primeiros dias (Fig. 32).

7. Efeito do aumento do teor de oxigênio na germinação

A germinação de sementes intactas em meio enriquecido com oxigênio foi testada, com o intuito de se observar se o efeito do tegumento seria barreira à difusão deste gás. A Fig. 33, indica que não houve diferença significativa entre a germinação de sementes tratadas e do controle.

8. Efeito da retirada da mucilagem na germinação

Na tentativa de se verificar o efeito da mucilagem formada em sementes embebidas de *C. glandulosus*, no processo de germinação, montou-se um experimento em que esta foi retirada. A retirada da mucilagem não promoveu a germinação da espécie em temperatura constante de 25°C. Também não foram observadas mudanças significativas entre sementes onde a carúncula foi retirada,

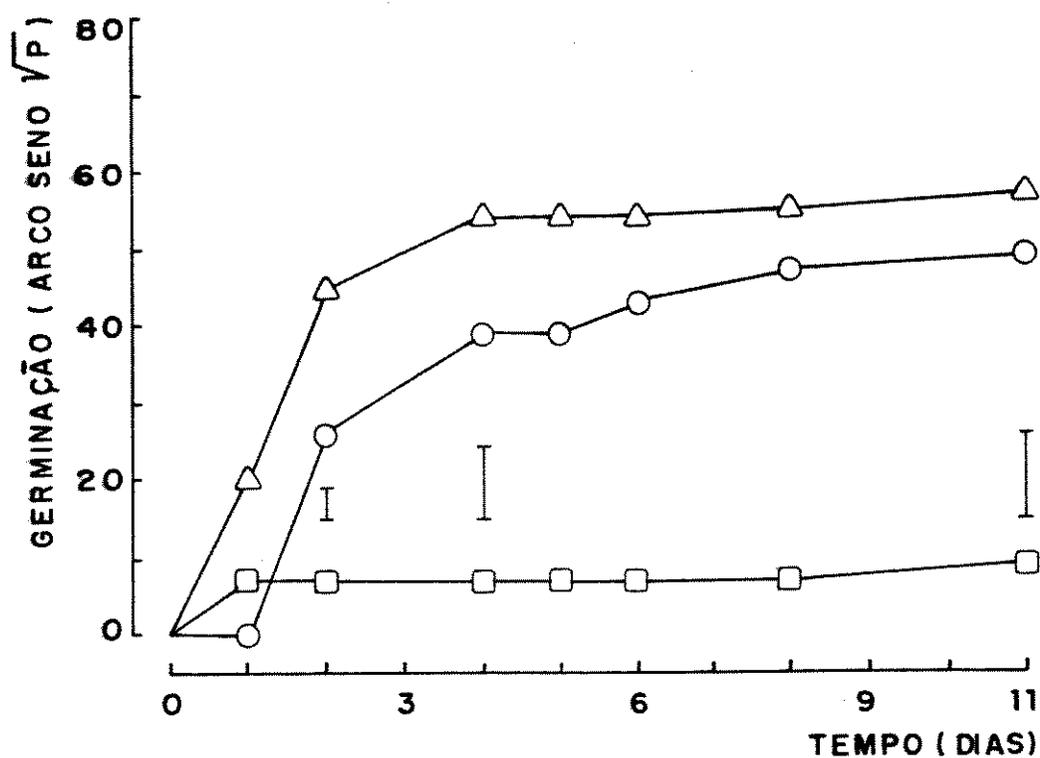


FIG. 32 Efeito da escarificação do tegumento com posterior impermeabilização, na germinação de sementes de *C. glandulosus*, a 25°C e luz contínua:

- Δ escarificada na região da carúncula
- O escarificada na região da carúncula com posterior impermeabilização
- \square intactas

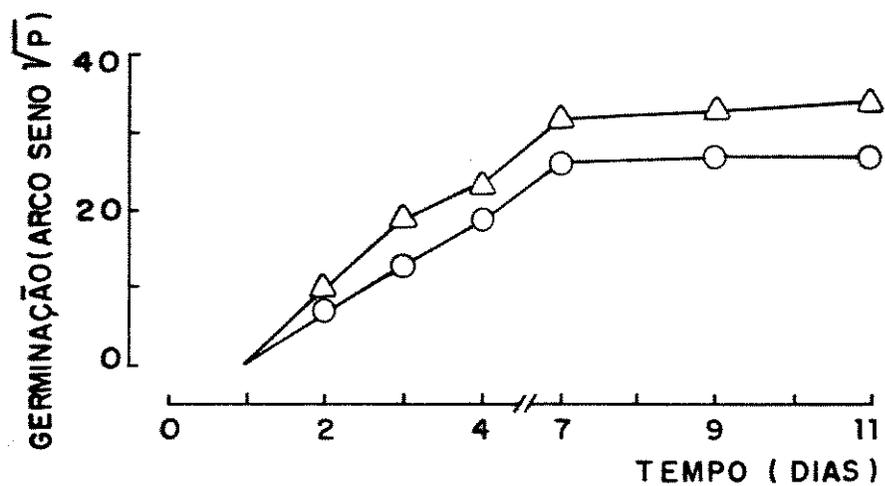


FIG. 33 Efeito do aumento do teor de oxigênio no meio de germinação das sementes de *C. glandulosus* a 25°C e luz contínua:

Δ com água oxigenada

O controle

nem qualquer efeito da presença ou ausência de luz nestes diferentes tratamento (Tabela 13).

TABELA 13 - Efeito da mucilagem na germinação de *C. glandulosus*, a 25°C após 12 dias de observação.

C/C -- Com carúncula

S/C - Sem carúncula

	TAXA DE GERMINAÇÃO (%)			
	LUZ		ESCURO	
	C/C	S/C	C/C	S/C
com mucilagem	2	6	0	2
sem mucilagem	5	4	0	0

9. Determinação do volume das sementes

O volume de 100 sementes de *C. glandulosus* é em média de $0,70\text{cm}^3$. Após 5 horas de embebição, período suficiente para total embebição, o volume das sementes com e sem mucilagem manteve-se em $0,70\text{cm}^3$ indicando não ter havido variação no volume das sementes embebidas.

10. Efeito da lavagem na germinação

A lavagem em água corrente durante 6 horas, causou

uma redução na taxa de germinação de sementes intactas de *C. glandulosus* a 25°C na luz (Fig. 34).

Sementes lavadas de maneira contínua e intermitente e posteriormente escarificadas na carúncula germinaram prontamente. Ao se comparar a germinação obtida após diferentes períodos de lavagem com as sementes que não foram lavadas observou-se que não houve diferenças significativas entre sementes lavadas e não lavadas. (Fig. 35 A e B). Entre os dois tipos de lavagem não houve diferenças significativas na germinação. Entre os diferentes tempos de lavagem intermitente houve uma ligeira promoção entre os períodos de 3 e 24 horas em relação ao controle (Fig. 35B).

11. Efeito do extrato bruto de sementes nuas e extrato bruto de tegumento de sementes de *C. glandulosus* sobre a germinação de alface.

Após 24 horas, na luz em presença de extrato aquoso bruto de sementes nuas de *C. glandulosus* ou água destilada sementes de alface germinaram igualmente nos dois casos (Tabela 14). O extrato aquoso bruto de tegumento de *C. glandulosus* também não teve efeito sobre a germinação na alface.

TABELA 14 - Efeito do extrato aquoso bruto de sementes nuas e de tegumento de sementes de *C. glandulosus* na germinação de sementes de alface, a 25°C e luz contínua.

	GERMINAÇÃO DE ALFACE (%)
extrato bruto de sementes nuas	97,6
extrato bruto de tegumento	97,0
controle	98,0

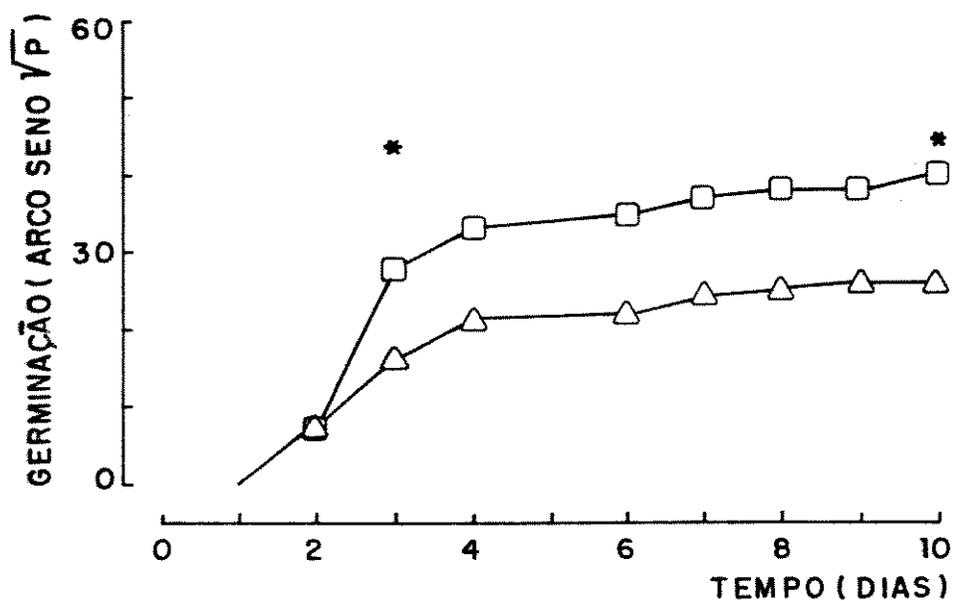


FIG. 34 Efeito da lavagem contínua em água corrente na germinação de sementes de *C. glandulosus* a 25°C e luz contínua:

Δ lavadas

\square controle

* - estatisticamente significativo a nível de 5%

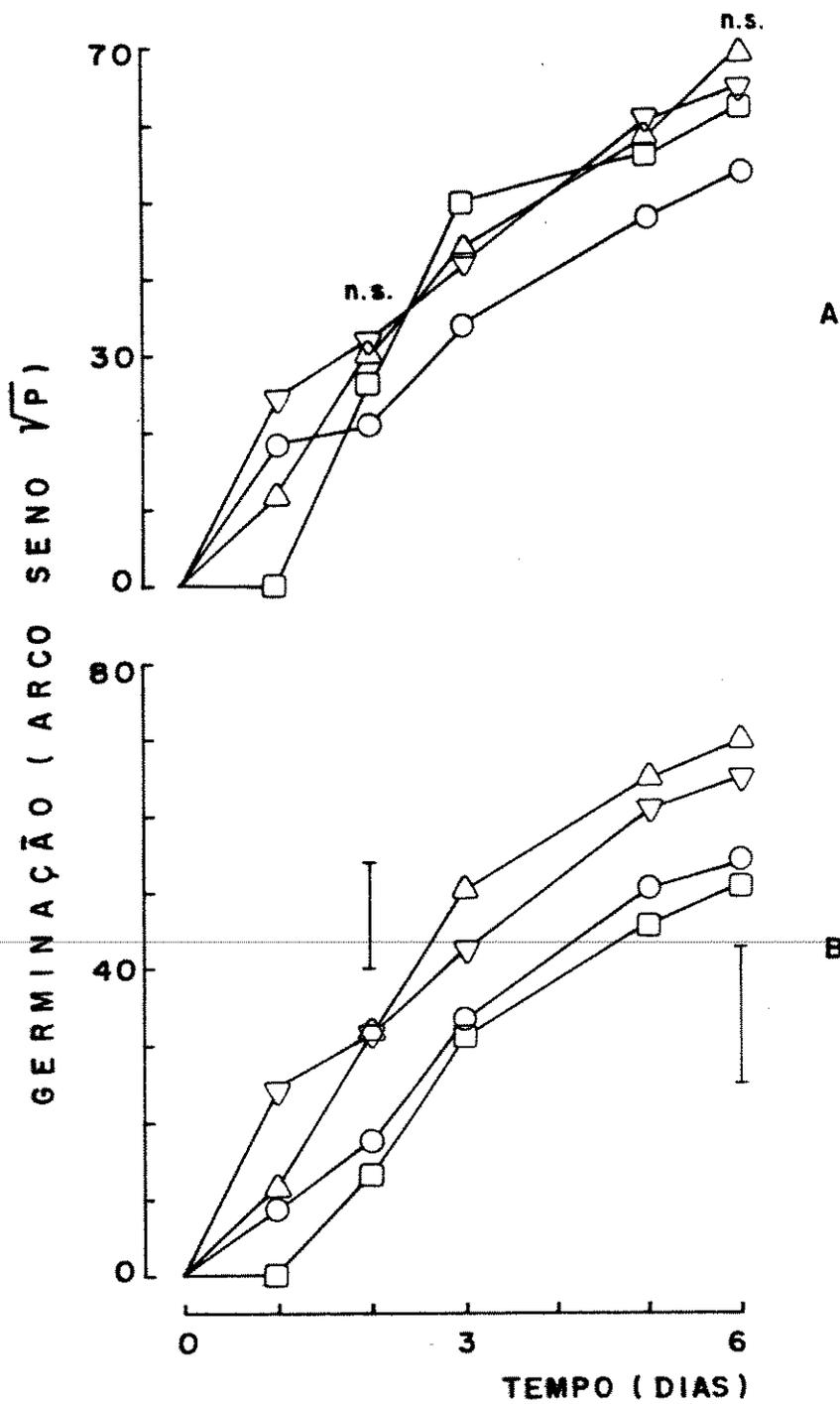


FIG. 35 Efeito da lavagem contínua (A) e intermitente (B) na germina o a 25 C e luz contínua, de sementes de *C. glandulosus* esscarificadas na região da carúncula:

- Δ 3 horas de lavagem
- 6 horas de lavagem
- ▽ 24 horas de lavagem
- controle

n.s. - nenhuma diferença significativa

12. Efeito da fração neutra de extrato de sementes de *C. glandulosus* sobre a germinação de sementes nuas da própria espécie.

A presença de inibidores na fração do extrato neutro de sementes intactas de *C. glandulosus* foi testada na germinação de sementes nuas da própria espécie, na luz a 25°C. Observou-se uma inibição da germinação nas sementes nuas sobre o extrato no primeiro dia de germinação, que não foi significativa nos dias subsequentes (Fig.36).

13. Efeito da aplicação de ácido giberélico na germinação

A aplicação de GA_3 promoveu significativamente a germinação de sementes intactas de *C. glandulosus* (Fig. 37). Embora as diferenças não sejam significativas entre as concentrações usadas há uma evidente tendência de promoção com o aumento da concentração do hormônio. As sementes tratadas com solução de GA_3 10^{-3} e 5×10^{-4} M, iniciaram sua germinação no segundo e terceiro dias respectivamente, enquanto que a germinação das sementes tratadas com GA_3 a 10^{-4} M só iniciou no nono dia.

Sementes intactas de *C. glandulosus* não germinaram no escuro, mesmo com a aplicação exôgena de GA_3 10^{-3} M (Fig. 38). Já as sementes escarificadas germinaram por volta de 21%, mesmo quando tratadas com este regulador de crescimento.

14. Efeito da aplicação conjunta de 6 benzil adenil

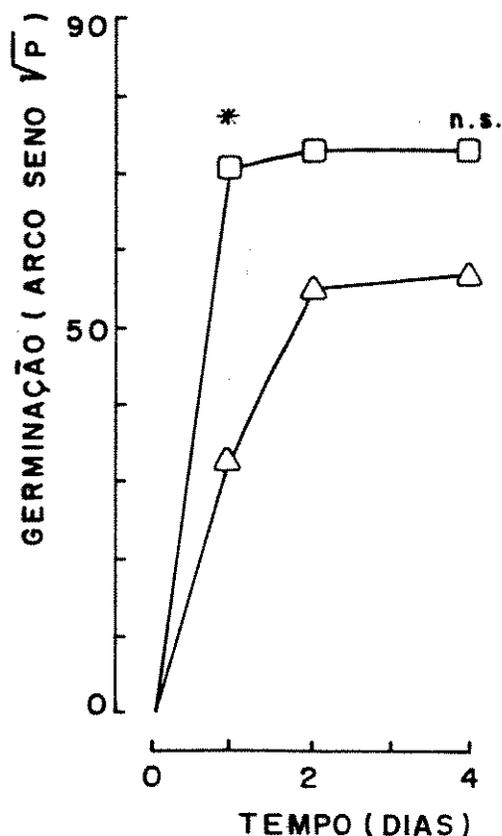


FIG. 36 Efeito da fração neutra de extrato de sementes de *C. glandulosus* na germinação de sementes nuas da própria espécie, a 25°C e luz contínua:

△ extrato
□ controle

n.s. - nenhuma diferença significativa

* - estatisticamente significativo a nível de 5%

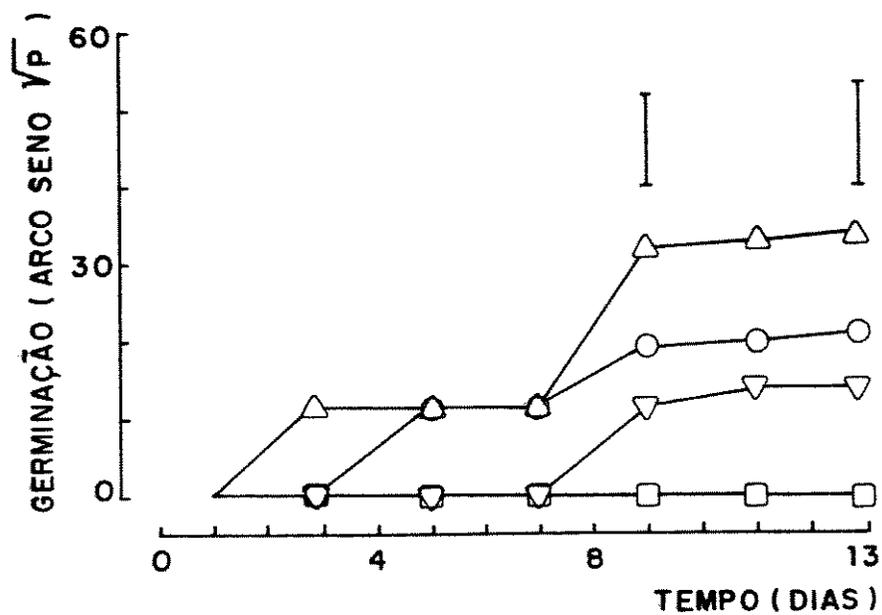


FIG. 37 Efeito da aplicação de GA₃ na germinação de sementes intactas de *C. glandulosus*, a 25°C e luz contínua:

- Δ GA₃ 10⁻³ M
- GA₃ 5x10⁻⁴ M
- ▽ GA₃ 10⁻⁴ M
- controle

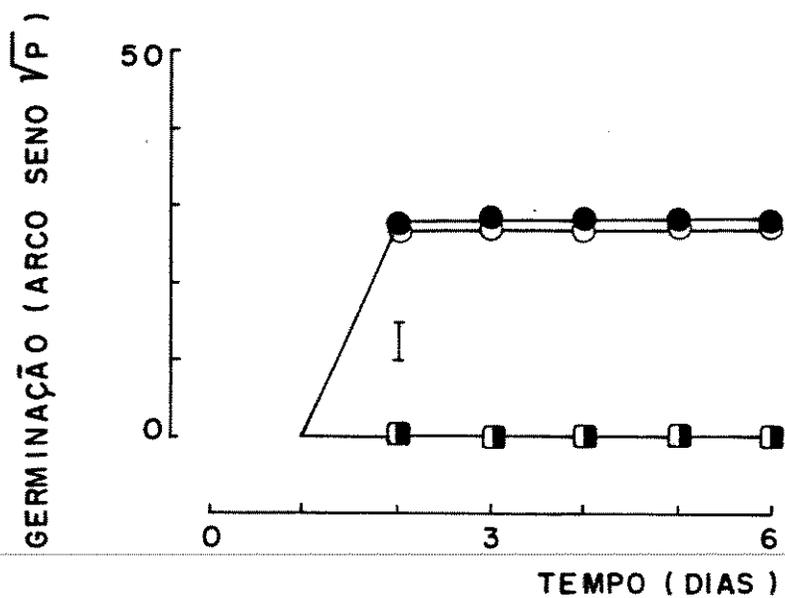


FIG. 38 Efeito da aplicação de GA_3 ($10^{-3}M$) na germinação de sementes intactas e nuas de *C. glandulosus*, a 25°C no escuro contínuo:

- sementes intactas
- sementes nuas
- sem GA_3
- com GA_3

na e ácido giberélico na germinação de sementes intactas e escarificadas.

Em sementes intactas de *C. glandulosus*, a aplicação de GA₃ e de 6BA foi promotora em relação ao controle, porém não houve diferença significativa entre os dois reguladores de crescimento quando aplicados isoladamente (Fig. 39). A aplicação conjunta destes, nas mesmas concentrações, promoveu significativamente a partir do oitavo dia de aplicação, tanto em relação ao controle como em relação aos dois reguladores aplicados isoladamente, atingindo níveis de 69% após 15 dias de germinação (Fig. 39).

Em sementes escarificadas de *C. glandulosus*, a aplicação de GA₃ e de 6BA separadamente, só promoveu significativamente a germinação até o terceiro dia de germinação, mantendo-se a seguir, nos níveis iguais ao do controle. Apenas nas sementes escarificadas em que os dois reguladores foram aplicados, é que houve promoção significativa em relação ao controle ao longo de todo experimento atingindo já no 5º dia 100% de germinação (Fig. 40).

A Fig. 41 realça as diferenças apresentadas entre a germinação das sementes intactas e escarificadas de *C. glandulosus* atingidas no final do experimento, como também indica que o tratamento onde foram aplicados os dois reguladores de crescimento foi eficiente tanto nas sementes intactas, como nas escarificadas.

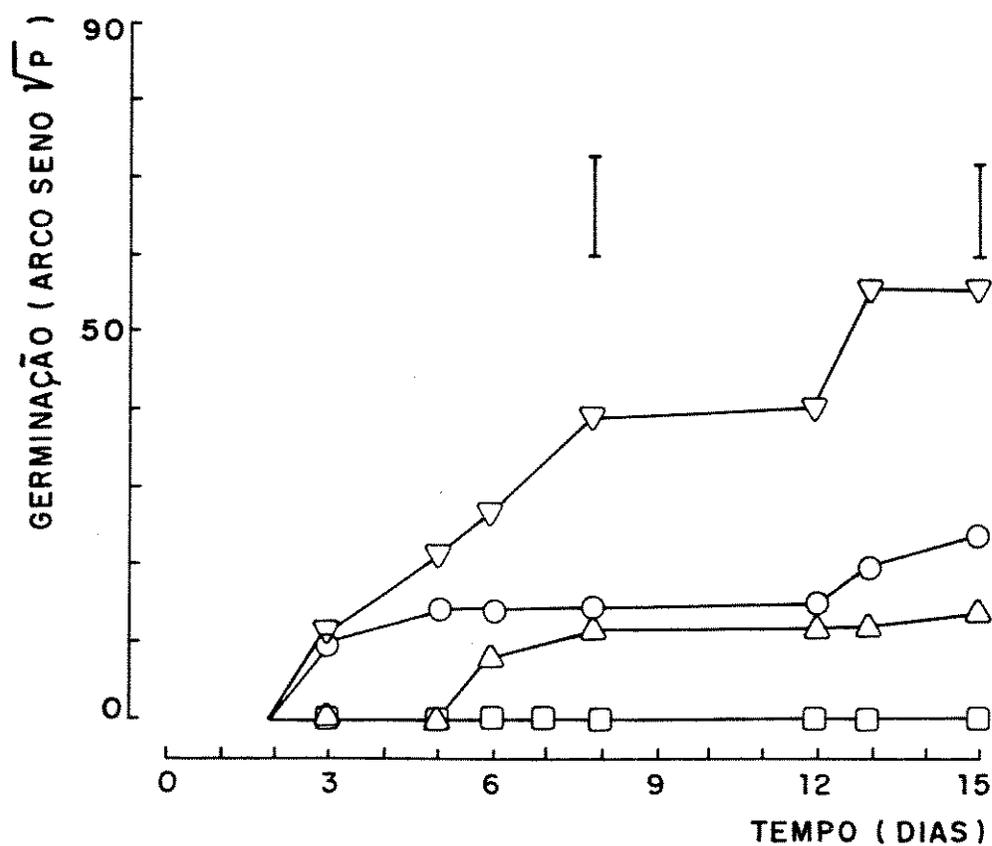


FIG. 39 Efeito da aplicação de reguladores de crescimento na germinação de sementes intactas de *C.glandulosus*, a 25°C e luz contínua:

△ GA₃ 10⁻³M

○ 6BA 10⁻⁴M

▽ GA₃ 10⁻³M e 6BA 10⁻⁴

□ controle

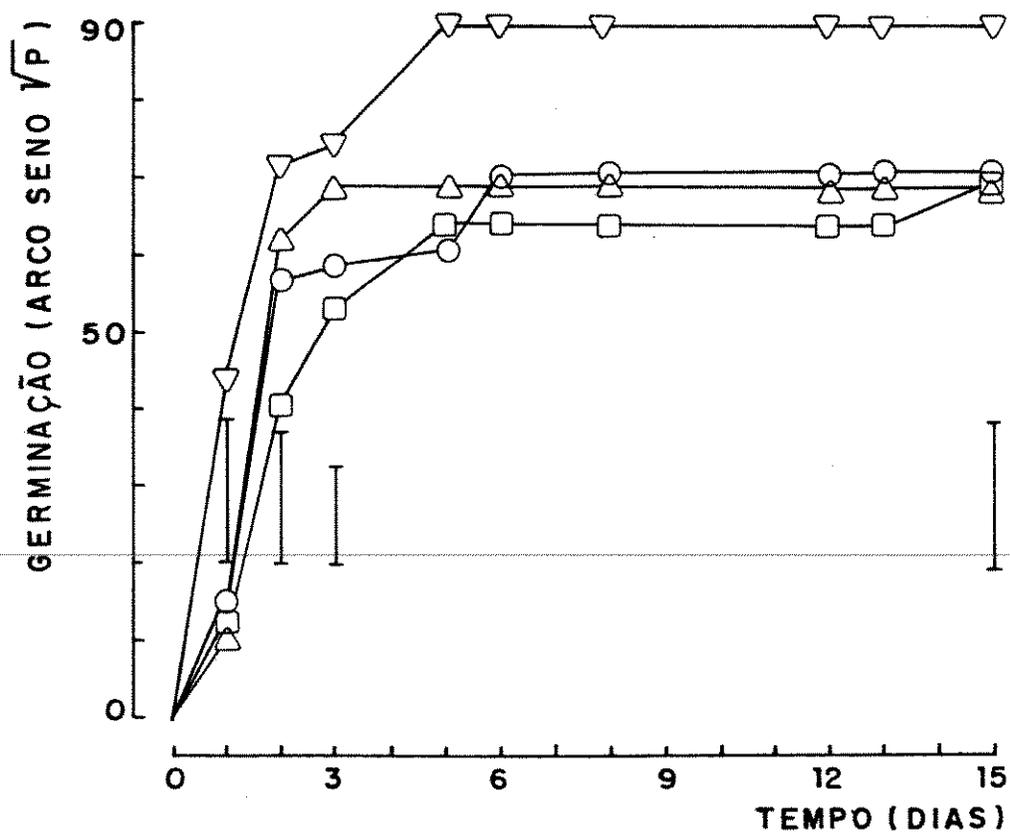


FIG. 40 Efeito da aplicação de reguladores de crescimento na germinação de sementes escarificadas de *C. glandulosus*, a 25°C e luz contínua:

- △ GA₃ 10⁻³M
- 6BA 10⁻⁴M
- ▽ GA₃ 10⁻³M e 6BA 10⁻⁴M
- controle

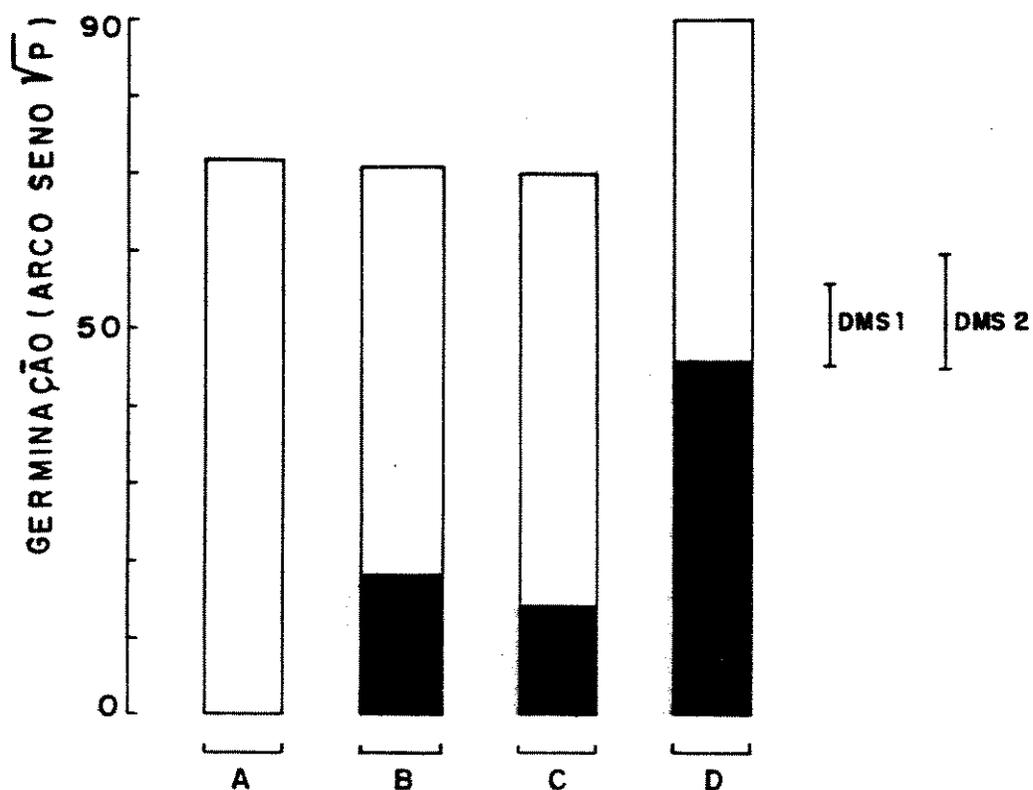


FIG. 41 Efeito da aplicação de reguladores de crescimento na germinação de sementes intactas (■) e escarificadas (□) de *C. glandulosus* após 15 dias de germinação, a 25°C e luz contínua:

A - controle

B - $GA_3 10^{-3} M$

C - $6BA 10^{-4} M$

D - $GA_3 10^{-3} M$ e $6BA 10^{-4} M$

DMS₁ - comparação entre escarificada e intacta

DMS₂ - comparação entre os diferentes tratamentos com reguladores de crescimento

15. Variação nos níveis de giberelinas e citocininas endógenas, durante estádios da germinação de *C. glandulosus*.

Em vista da aplicação exógena de citocininas e giberelinas ter promovido significativamente a germinação de sementes intactas de *C. glandulosus* tentou-se detectar possíveis variações endógenas destes reguladores de crescimento durante diferentes estádios de germinação. Com este intuito fez-se então extratos de sementes intactas e escarificadas na região da carúncula não embebidas, após 3 horas de embebição, e com 2 e 6 dias de germinação na luz a 25°C. Os extratos, feitos a partir de 500 sementes (~3g) assim tratadas, foram fracionados obtendo-se a fração ácida, que contém substâncias com atividade giberelínica, e básica, que contém substâncias com atividade citocinínica. As frações foram cromatografadas em camada delgada, e as substâncias nelas presentes identificadas por reveladores específicos.

As cromatoplasmas onde correram as frações ácidas foram primeiramente reveladas no UV, que indicou uma série de compostos capazes de absorver no mesmo comprimento de onda. O ácido giberélico usado como padrão nas diferentes placas ficou entre os Rf's 0,4 a 0,7. Apenas com a revelação com etanol 5% em ácido sulfúrico concentrado é que se observou nesta mesma faixa de Rf uma mancha no extrato semelhante ao do padrão, em extrato de sementes escarificadas após 6 dias de germina

ção.

Já as cromatoplasmas onde correram as frações básicas assim como seu padrão foram reveladas com o Reagente de Wood. O padrão neste caso foi 6BA que mostrou coloração azul entre os Rfs 0,8 a 1,0. No extrato de sementes escarificadas e intactas com 6 dias de germinação, observou-se nesta mesma faixa de Rf manchas semelhantes às do padrão, porém levemente arroxeadas.

DISCUSSÃO

Diferentes mecanismos de dormência garantem o sucesso de várias espécies anuais invasoras que dependem da capacidade de suas sementes sobreviverem no solo por longos períodos e germinarem somente quando as condições ambientais forem propícias para o estabelecimento das plântulas (HILL, 1977).

Sementes de *C. glandulosus* e *C. lundianus* foram consideradas dormentes pois não germinaram quando supridas de água, temperatura de 25°C e uma composição atmosférica normal, condições estas consideradas favoráveis à germinação da maioria das espécies estudadas.

A temperatura é um dos fatores que afeta a germinação das sementes. Sementes de diferentes espécies germinam em diferentes temperaturas, sendo que temperaturas muito altas ou muito baixas em geral prejudicam a germinação. Algumas sementes, entretanto, necessitam de alguma temperatura específica para germinar. Sementes de *C. glandulosus* e *C. lundianus* não germinaram quando expostas a temperatura constante de 25°C ou 35°C.

Em contraste com as sementes que necessitam de uma temperatura específica para germinar, são conhecidas espécies em que períodos de temperaturas alternadas são

necessários para que a germinação ocorra (MAYER & POLJAKOFF-MAYBER, 1982). *C. glandulosus* e *C. lundianus* podem ser incluídas nesta lista, pois os pares de temperaturas: 25º/5ºC, 25º/10ºC e 25º/15ºC alternados a cada 12 horas promoveram a germinação das duas espécies, o que não ocorre quando em temperatura constante de 25ºC.

O período em que estas temperaturas são alternadas parece ser importante. Assim sementes de *C. lundianus*, quando expostas ao par 25º/15ºC alternado a cada 12 horas, tem sua germinação promovida logo no terceiro dia de observação; no entanto, o mesmo par de temperaturas alternadas a 8 e 16 horas respectivamente promoveu a germinação apenas após 15 dias de tratamento.

COHEN (1958), baseando-se nos trabalhos com sementes de alface, sugeriu que mudanças na estrutura de macro-moléculas da semente, causadas pela alternância de temperaturas, seriam responsáveis pela germinação. Já KOLLER (1972) considera que o efeito da alternância seja através da ruptura do tegumento, promovendo o crescimento do embrião. Segundo TOTTERDELL & ROBERTS (1980), entre todos os fatores ambientais a alternância de temperaturas, é um dos mais difíceis de ser investigado, isto porque ele pode estar cercado de um grande número de variáveis que controlam sua eficácia, como por exemplo, o número de ciclos, a amplitude dos ciclos, o valor da temperatura máxima e mínima, os períodos de duração dos ciclos, entre outros.

Sementes de *C. glandulosus* mostraram-se sensí-

veis a alguns choques de baixa temperatura, o mesmo não ocorrendo para as sementes de *C. lundianus*. Choques de temperatura alta de 35°C não promoveram a germinação nas duas espécies de *Croton*. Já em *R. obtusifolius*, choques de temperatura alta de 15 minutos de duração promoveram a germinação (FELLIPPE, 1978). O autor sugere que o efeito da temperatura seja devido às alterações nos níveis endógenos de substâncias reguladoras de crescimento. TAKAKI et al. (1982) confirmaram esta observação para a espécie, ao mostrar que níveis endógenos de giberelinas e citocininas aumentam quando as sementes são expostas a altas temperaturas.

De acordo com RAY (1972) muitas espécies invasoras apresentam sementes pequenas, sendo que a maioria delas precisa de luz para germinar. Assim, devido a este tipo de dormência estas plantas seriam as primeiras a dominar um território desmatado. Sementes intactas de *C. glandulosus* e *C. lundianus* não germinam na luz ou no escuro, na temperatura constante de 25°C.

Muitas sementes que não germinam quando coletadas, têm o estado original de dormência gradualmente atenuado, após um certo período de armazenamento a seco (KOLLER, 1972).

Experimentos com as duas espécies de *Croton* efetuados com lotes de sementes que haviam permanecido estocados por períodos de tempo diferentes, sugeriam que principalmente as sementes de *C. glandulosus* poderiam necessitar de um certo período de pós-maturação, para que suas sementes germinassem. Porém em experimentos em

que as sementes de um mesmo lote foram armazenadas em condições controladas, esta observação não foi confirmada.

O fato dos controles em diferentes experimentos terem tido níveis de germinação diferentes, poderia ser explicado por não terem sido feitos de um lote único de sementes, mas sim de sementes obtidas em diferentes coletas ao longo do ano. Sabe-se que, apesar da dormência em sementes ser geneticamente controlada, as condições ambientais durante a maturação das sementes na planta-mãe, influenciam a duração desta dormência. Assim, em *Avena fatua*, a temperatura e o estresse hídrico determinam a extensão da expressão da dormência (SAWHNEY & NAYLOR, 1979). CRESWELL & GRIME (1981), observaram que a luz filtrada pela clorofila presente nos tecidos da vagem, durante a maturação de sementes de *Atriplex hastata* e *Myosotis arvensis*, tem influência nos requisitos de luz durante a germinação da semente madura. A variação da germinação de 0,4 para 39,8% de sementes frescas de *Cirsium arvense* coletadas e plantadas todos os anos, provavelmente refletem as diferenças climáticas de ano para ano, durante o período de desenvolvimento da semente (ROBERTS & CHANCELLOR, 1979).

Acredita-se que o efeito do armazenamento a seco, seja resultado de mudanças no tegumento reduzindo sua resistência ou possivelmente sua impermeabilidade a gases ou a água (KOLLER, 1972). O tegumento de *Sida spinosa* torna-se permeável à água, após um ano de armazenamento a seco a 25°C (EGLEY et al, 1986). Outra possibilidade é que a mudança ocorreria em regiões internas

das sementes, assim o próprio embrião sofreria alterações que poderiam aumentar o seu potencial para a germinação.

Embriões morfológicamente imaturos são aqueles que necessitam de algum tratamento específico, que promove o seu desenvolvimento, tornando-os aptos à germinação. Em *Fraxinus excelsior* o embrião está morfológicamente completo na época de maturação da semente, mas requer uma fase final de crescimento antes da germinação, na qual duplica de tamanho (HEMBERG, 1965). Sementes de *C. glandulosus* e *C. lundianus* possuem o embrião morfológicamente maduro de acordo com MARTIN (1946). Medidas do embrião em sementes recém-colhidas e armazenadas por 0,2 e 4 meses, acompanhadas de observação do domo apical, indicaram que a morfologia e o tamanho do embrião permanecem inalterados ao longo do armazenamento nas condições estudadas.

A escarificação do tegumento na região apical (região da carúncula) foi um tratamento efetivo na promoção da germinação, nas duas espécies de *Croton* estudadas. O tegumento das sementes pode exercer profunda influência na capacidade de muitas sementes germinarem, sendo em alguns casos responsável por sua dormência. O tegumento pode regular a germinação interferindo na absorção de água necessária para a embebição, impedindo as trocas gasosas, particularmente na absorção de oxigênio necessário à respiração e outros processos oxidativos ou impedindo a difusão, para o exterior, de inibidores endógenos de germinação localizados no embrião

(MAGUIRE, 1976). Camadas do tegumento também podem agir como filtros de luz (BALLARD, 1973) e podem ainda oferecer resistência mecânica para o crescimento do embrião.

A impermeabilidade à água, exercida pelo tegumento é uma vantagem encontrada em muitas espécies invasoras, pois só germinarão quando sofrerem escarificação natural. VILLIERS (1972), considera o tegumento impermeável como sendo o mais efetivo tipo de dormência para prolongar a germinação de uma população de sementes.

Sementes de *C. glandulosus* e *C. lundianus* em bebem rapidamente, sendo que a escarificação química ou mecânica não facilitou a entrada de água. A impermeabilização do hilo também não dificultou a embebimento nas duas espécies, indicando que todo o tegumento permite a entrada de água.

O tegumento também pode exercer uma barreira física ou química às trocas gasosas, assim em *Aegilops kotschyi* (Gramineae), a cariopse age como uma barreira física à entrada de oxigênio mas também age como uma barreira química, devido a oxidases que competem com o embrião pelo oxigênio (WURZBURGER et al., 1974). Em sementes de *Leucospermum cordifolium* o aumento no teor de oxigênio aumenta significativamente a germinação da semente intacta, acontecendo o mesmo com a remoção do pericarpo (VAN STADEN & BROWN, 1973). O mesmo foi observado em sementes de beterraba açucareira (KLEIN &

PEREIRA, 1987). No entanto este não parece ser o caso nas duas espécies de *Croton* estudadas, pois com o aumento do teor de oxigênio no meio, não houve promoção da germinação de sementes intactas.

Em *Ricinus communis*, LAGÔA & PEREIRA (1987b) detectaram a presença de inibidores na carúncula destas sementes. A presença destes inibidores neste apêndice do tegumento foi relacionada com o atraso na germinação, sugerindo que este efeito retardante poderia ser devido à diminuição do suprimento de oxigênio ao embrião, causado pelas substâncias fenólicas presentes na carúncula. As duas espécies de *Croton* apresentam carúncula, que é um tecido vivo e portanto metabolicamente ativo nas sementes recém-colhidas, porém a retirada da carúncula nas duas espécies de *Croton* não favoreceu a germinação, indicando que este apêndice do tegumento não tem influência sobre este processo. Aparentemente a carúncula tem papel importante na dispersão destas sementes. Segundo FAHN & WERKER (1972), a carúncula é formada por tecido que contém substâncias atrativas às formigas, como ácidos graxos insaturados e ácido ricinólico. Desta forma, a coleta e estocagem da carúncula pelas formigas promove a dispersão destas sementes. Durante as coletas de sementes das duas espécies de *Croton* observou-se com frequência a visita de formigas nestas plantas, como também o transporte de sementes ou apenas de carúnculas para formigueiros sempre muito próximos. Porém, nenhum estudo mais pormenorizado foi feito

para comprovar a mirmecocoria.

Visando ainda o aspecto barreira à difusão de oxigênio, especial atenção foi dada para a presença de mucilagem na espécie de *C. glandulosus*. Numa revisão sobre espécies mixospermáticas (GRUBERT, 1974) a importância ecológica da camada de mucilagem foi discutida, salientando-se que ela não deve ser considerada como um possível reservatório de água, já que a água absorvida para formação da mucilagem é completamente perdida em um curto espaço de tempo, mas sim como um importante mecanismo de fixação da semente no substrato. Porém o autor pouco informa sobre a importância fisiológica de mucilagem na germinação.

A retirada da mucilagem das sementes embebidas de *C. glandulosus* não promoveu a germinação da espécie. Sementes de *Blepharis persica* que formam camada de mucilagem quando embebidas, germinam pouco em excesso de água e este efeito pode ser revertido em atmosfera de oxigênio puro (GUTTERMAN et al., 1967). O papel da mucilagem regulando a germinação desta espécie foi detalhadamente estudado por WITZTUM et al., (1969), onde foi indicado que a mucilagem desta espécie, não contém inibidores, mas é uma barreira ao oxigênio.

As trocas gasosas podem ser impedidas pela impermeabilização do tegumento com parafina como observado em *Beta vulgaris* (SANTOS, 1985). Em sementes de *C. glandulosus* e *C. lundianus* a escarificação na região apical da semente com posterior impermeabilização, não impediu que as sementes das duas espécies germinassem nos mesmos níveis das sementes a-

penas escarificadas, o que confirma resultados anteriores, que sugerem que o tegumento não exerce barreira ao oxigênio.

O excesso de água no meio de germinação muitas vezes induz a dormência ou determina baixas taxas de germinação, por exercer barreira à difusão de oxigênio, ou por promover o desenvolvimento de microorganismos em torno do tegumento, os quais competem com o oxigênio necessário ao embrião (MAYER & POLJAKOFF-MAYBER, 1982). Nas duas espécies de *Croton* não foram observadas diferenças significativas quando suas sementes foram expostas a diferentes níveis de hidratação. Glomérulos de *Beta vulgaris* têm sua germinação inibida com um suprimento de água excessivo, inibição que pode ser eliminada pela lavagem prévia dos glomérulos (HEYDECKER et al., 1971), sugerindo a presença de inibidores que competem pelo oxigênio necessário à germinação. A presença destes inibidores foi mostrada no cv. Kawemegamono de beterraba açucareira por SANTOS (1985).

Quando a lavagem em água corrente promove a germinação de uma espécie, pode ser uma indicação da presença inibidores nos envoltórios da semente. Sementes de *C. glandulosus* e *C. lundianus* lavadas em água corrente não tiveram sua germinação promovida, ao contrário, houve uma inibição em relação ao controle. O mesmo foi encontrado para sementes de *Ricinus communis* (LAGÔA, 1983). Em sementes de uva a lavagem continua por períodos longos induziu a morte das sementes, provavelmente por dificultar a respiração das sementes, já que a lavagem intermitente não provocou redução da viabilidade (MAEDA & PEREIRA, 1987). Porém

em *C. glandulosus* não houve diferença significativa entre a lavagem contínua e a lavagem intermitente na germinação de sementes escarificadas na região apical.

Muitas vezes o efeito inibidor do tegumento na germinação pode estar relacionado com o impedimento da saída destes inibidores do embrião (AMEM et al., 1970). A quebra da dormência de sementes de *Trollius ledebouri* é obtida pela aplicação exógena de giberelinas ou pela remoção do tegumento (HEPHER & ROBERTS, 1985). Os autores sugerem que o tegumento impede a saída de um inibidor de germinação, cuja ação é bloqueada pela aplicação de giberelinas. Uma vez que a retirada do tegumento promove a germinação das duas espécies de *Croton*, este poderia ser o mecanismo de controle da germinação nestas espécies; contudo extrato bruto e fração neutra das duas espécies de *Croton*, testados sobre a germinação de alface ou germinação de sementes nuas de sua respectiva espécie, não indicaram a presença de inibidores.

Sementes podem também permanecer dormentes não somente devido à presença de inibidores, mas em muitos casos na ausência ou presença de promotores como giberelinas e citocininas (KHAN, 1975). As sementes intactas de *C. glandulosus* e *C. lundianus* têm sua germinação promovida por GA₃ e 6BA sendo que esta promoção é intensificada quando são aplicados conjuntamente; porém o efeito desses reguladores em *C. lundianus* é mais tardio do que em *C. glandulosus*. Em sementes das duas espécies de *Croton*, escarificadas na região apical, só houve promo-

ção significativa quando os dois reguladores foram aplicados conjuntamente. Em embriões de pera, sementes da *Acer* e algumas variedades de grãos de cevada a dormência pode ser quebrada tanto por citocininas como por ácido giberélico. Presumivelmente estas sementes são deficientes em citocininas e giberelinas e contêm inibidores em níveis insuficientes para completar a inibição (KHAN & TAO, 1978).

A falta de evidências da presença de inibidores nas duas espécies de *Croton* sugere que as sementes talvez contenham níveis de promotores abaixo do balanço necessário para que a germinação ocorra. Na fração ácida de extratos de sementes de *C. glandulosus* observou-se, através de revelação cromatográfica, a presença de giberelinas apenas nos extratos de sementes escarificadas com 6 dias de germinação. Nos extratos de sementes escarificadas com 3 horas e 3 dias de embebição, e intactas com 3 horas, 3 e 6 dias de embebição não foi observada a presença dessa substância de crescimento, através da metodologia empregada para sua detecção. Já na fração básica de extratos, obtidos nestes diferentes tratamentos, observou-se a presença de substâncias purínicas tanto nas sementes intactas como nas escarificadas, após 6 dias de germinação.

O tegumento das sementes de *Croton glandulosus* e *Croton lundianus* aparentemente tem um papel importante no controle da dormência destas espécies, já que com sua remoção ou escarificação as sementes germinam prontamente. A escarificação do tegumento além de favorecer

a entrada de água, trocas gasosas e saída de inibidores, diminui a tensão que o tegumento exerce sobre o crescimento do embrião. Um experimento simples onde os volumes da semente fresca e da semente embebida foram comparados, reforçou esta última hipótese no caso das sementes das duas espécies de *Croton*. Sementes embebidas de *C. glandulosus* e *C. lundianus* não mudam de volume em relação à semente não embebida. É possível que apesar do embrião estar hidratado ele não germine devido às forças que o tegumento exerce sobre ele. Sementes de *Coffea arabica*, que não germinam em condições estêreis, devido à falta de microflora que decompõe o endocarpo, não têm o volume da semente intacta alterado após 48 horas de embebição (VÁLIO, 1980). O autor sugere que a inibição da germinação não é devido à impermeabilidade a água ou a gases, nem pela presença de inibidores de crescimento, mas causada pela restrição mecânica imposta pelo endocarpo.

A escarificação das sementes das duas espécies de *Croton* só é efetiva quando efetuada na região apical da semente. Este fato, talvez seja devido à própria conformação do endosperma que envolve compactamente o embrião deixando apenas a radícula livre. Desta forma além do tegumento, o endosperma também exerceria restrição ao crescimento do embrião.

Sementes dormentes de *Stachys alpina* podem ter sua germinação induzida pela remoção ou perfuração dos integumentos. A germinação foi mais rápida em sementes onde a remoção do tegumento e pericarpo foram vizinhos

ã radícula e foi de 70% maior do que quando a remoção foi na região distal à radícula (PINFIELD et al., 1972). A remoção de diferentes porções em diferentes locais do tegumento de sementes de pêssego não estratificadas, promoveram diferencialmente a germinação da espécie (MEHANNA & MARTIN, 1985).

O envolvimento do endosperma e pericarpo na regulação da germinação de sementes de alface foi estudado medindo-se as forças necessárias para quebrar estas estruturas (TAO & KHAN, 1979). Segundo os autores, são necessários aproximadamente 0,6 newton para romper o endosperma, o que representa 60% da força necessária para quebrar a semente intacta, sugerindo que esta camada pode restringir a protrusão da radícula.

O fato da alternância de temperaturas, favorecer a germinação nas duas espécies de *Croton* pode corroborar a hipótese de barreira mecânica, pois segundo KOLLER (1972), a alternância de temperaturas pode promover a ruptura do tegumento.

É provável que para as duas espécies de *Croton*, exista outro mecanismo de controle da dormência, além da barreira mecânica exercida pelo tegumento sobre o crescimento do embrião. Possivelmente o nível baixo de promotores endógenos da germinação seja um deles, já que a aplicação exógena de reguladores de crescimento pode atenuar o estado de dormência em que elas se encontram.

Na literatura são comuns os exemplos de espê-

cies que possuem diferentes mecanismos de dormência agindo sequencial ou concomitantemente. Em *Rapanea guianensis* os tegumentos rígidos além de exercer barreira à entrada de água, podem provocar restrição mecânica ao crescimento do embrião (JOLY & FELIPPE, 1979). Em sementes de *Rosa sp* além do mecanismo de resistência imposto ao embrião pelo pericarpo duro, foi demonstrada a presença de inibidores (JACKSON & BLUNDELL, 1965). Em *Aristida contorta*, além da necessidade de luz para a germinação, há dois outros mecanismos independentes controlando a dormência, o primeiro mecanismo pode ser quebrado por vários meses de armazenamento e pelo uso de ácido giberélico ou tiouréia. O segundo mecanismo é regulado pelo tegumento que controla o acesso do oxigênio até o embrião (MOTT, 1974).

Um aspecto que no decorrer do trabalho despertou nossa atenção, embora não tenha sido objeto de estudo, foi a variabilidade observada nos níveis de germinação nas duas espécies de *Croton*, ^{isto} possivelmente é resultado de sementes de diferentes origens. VIEIRA (1987) estudando diferentes populações de *Stylosanthes angustifolia* observou que o componente ambiental influenciou fortemente o grau de dormência apresentado entre sementes originadas de plantas diferentes, em duas das populações estudadas. Talvez nas sementes das duas espécies de *Croton*, possa existir uma correlação entre características do tegumento e origem das sementes, o que poderia provocar diferentes níveis de dormência. Para esclarecer este aspecto, estudos da estrutura e composição do tegumento de sementes ^{de} diferentes origens poderiam fornecer maiores dados que corroborem esta hipótese.

V. RESUMO

Sementes de *C. glandulosus* e *C. lundianus* foram consideradas dormentes pois não germinaram quando supridas de água, temperatura de 25°C e uma composição atmosférica normal, condições estas consideradas favoráveis à germinação da maioria das espécies. Com o armazenamento das duas espécies por até 5 meses não se observaram variações morfológicas no embrião destas sementes e nem houve estimulação da germinação.

Entre os vários regimes de temperatura estudados, as combinações 25°/10°C e 25°/15°C alternados a cada 12 horas se mostraram mais apropriadas para a promoção da germinação das duas espécies.

A escarificação do tegumento na região apical (região da carúncula e emissão da radícula) foi um tratamento efetivo na promoção da germinação nas duas espécies de *Croton* estudadas. A escarificação é um procedimento que pode favorecer a entrada de água, as trocas gasosas, a saída de inibidores do embrião como também diminuir a tensão que o tegumento exerce impedindo o crescimento do embrião. Estas possibilidades foram averiguadas

neste trabalho.

Através da curva de embebição das sementes, observou-se que o tegumento não exerce barreira à entrada de água nas duas espécies estudadas. O aumento do teor de oxigênio no meio não favoreceu a germinação das sementes das duas espécies de *Croton*. A retirada da carúncula nas duas espécies ou da mucilagem em *C. glandulosus*, que poderiam agir como barreiras à difusão do oxigênio até o embrião, também não estimularam a germinação. A lavagem das sementes, e a análise de extratos brutos ou fracionados das sementes, não forneceram indicações da presença de inibidores.

Os resultados são discutidos em termos de que a dormência das sementes de *C. glandulosus* e *C. lundianus* pode se dar através de barreira mecânica imposta pelo tegumento, sobre o crescimento do embrião. A escarificação na região da carúncula, a remoção total do tegumento, como também tratamentos de temperatura alternada poderiam eliminar este impedimento à germinação das sementes das duas espécies estudadas.

VI. LITERATURA CITADA

AMEM, R.D., CARTER, G.E. & KELLY, R.J. 1970. The nature of seed dormancy and germination in the salt marsh grass *Distichlis spicata*. *New Phytol.* 69: 1005- 1013.

ARGEL, P.J. & HUMPHREYS, L.R. 1983. Environmental effects on seed development and hard seededness and *Stylosanthes hamata* c.v. *Verano*. II Moisture supply in Illuminance *Aust. J. Res.* (Melbourne). 34: 211-217.

BACCHI, O., LEITÃO Fº, H.F. & ARANHA, C. 1984. Plantas in vasoras de culturas. Vol. 3 Ed. Unicamp, pp. 720-722.

BAKER, H.G. 1965. Characteristics and modes of origin of weeds In (H.G. Baker & G.L. Stebbins eds) The genetics of colonizing spp. Academic Press, New York, pp.147-172.

BALLARD, L.A.T. 1973. Physical barriers to germination. *Seed Sci. Technol.* 1: 285-303.

BEWLEY, J.D. & BLACK, M. 1982. Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination Ed. 1 Vol. 1 Springer-Verlag, Berlin, 306 pp.

- BLACK, M. 1980/81. The role of endogenous hormones in germination and dormancy. *Isr. J. of Bot.* 29: 181-192.
- BROWN, R. 1940. An experimental study of permeability to gases of the seed coat membranes of *Cucurbita*. *Ann. Bot.* 4: 379-395.
- CHANCELLOR, R. J. 1982. Dormancy in weed seeds. *Outlook Agric.* 11 : 87-93.
- COHEN, D. 1958. The mechanism of germination stimulation by alternating temperatures. *Bull. Res. Council of Isr.* 6D : 111-117.
- CRESSWELL, E. G. & GRIME, J. P. 1981. Induction of a light requirement during seed development and its ecological consequences. *Nature* 291: 583-585.
- CROCKER, W. M. 1916. Mechanisms of dormancy in seeds. *Am. J. Bot.* 3: 99-120.
- DELOUCHE J. C., STILL, T. W., RASPPET, M. & LIENHARD, M. 1962. The tetrazolium test for seed viability. *Miss. Agr. Exp. Sta. Tech. Bull.* 51: 1-63.
- EGLEY, G. H., PAUL, R. N. Jr. & LAX, A. R. 1986. Seed coat imposed dormancy: histochemistry of the region controlling onset of water entry into *Sida spinosa* seeds. *Physiol. Plant.* 67: 320-327.

ELLIS, R. H. & ROBERTS, E. H. 1980. Improved equations for the prediction of seed longevity. *Annals of Botany* 45: 13-30.

ENU-KWESI, L. & DUMBROFF, E.B. 1980. Changes in phenolic inhibitors in seeds of *Acer saccharum* during stratification. *Jour. Exp. Bot.* 31: 425-436.

ESASHI, Y. & LEOPOLD, A.C. 1968. Physical forces in dormancy and germination of *Xanthium* seeds. *Plant Physiol.* 43: 871- 876.

EVENARI, M. 1957. The physiological action and biological importance of germination inhibitors. Symposia of the Society for Exp. Biol. n^o XI: 21- 43.

FAHN, A. & WERKER, E. 1972. Anatomical mechanisms of seed dispersal. In (T.T. Kolzlowisk ed.). Seed biology Ed. 1, Vol. 1 Academic Press, New York, pp. 152-221.

FELIPPE, G.M.1978. Effects of temperature on germination of *Rumex obtusifolius*. *Revta. Mus. Paul.* 25: 167-181.

FELIPPE, G. M. 1980. Germination of lighth sensitive seeds of *Cucumis anguria* and *Rumex obtusifolius*: effects of temperature. *New Phytol.* 84: 439- 448.

- FELIPPE, G. M. & POLLO, M. 1983. Germinação de ervas invasoras efeito da luz e escarificação. *Revta. brasil. Bot. 6*: 55- 60.
- FENNER, M. 1985. Seed ecology. Chapman and Hall, London. 151 pp.
- GARDNER, C. J. 1975. Mechanisms regulating germination in seeds of *Stylosanthes*. *Austr. J. Agric. Res. (Melbourne) 26* :281-294.
- GRUBERT, H. 1974. Studies on the distribution of myxospermy among seeds and fruits of angiospermae and its ecological importance. *Acta Biol. (Venez.) 8* : 315- 551.
- GUTTERMAN, Y., WITZTUM, A. & EVENARI, M. 1967. Seed dispersal and germination in *Blepharis persica* (BURM.) KUNTZE. *Israel J. Bot. 16*: 213- 234.
- HAGON, C. E. & BALLARD, L. A. T. 1971. Reversibility of stromal permeability to water in seeds of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) *Aust. J. Biol. Sci. 23*: 519- 528.
- HARBONE, J. B. 1973. Phytochemical methods. Chapman and Hall (London). 278 pp.

- HARTMANN, H. T. & KESTER, D. E. 1983. Plant propagation principles and practices. Ed. 4 Prentice - Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, pp. 121-161.
- HEMBERG, T. 1965. The significance of inhibitors and other chemical factors of plant origin in the induction and breaking of rest periods. *Encycl. Plant Physiol.*, XV/2: 669-698.
- HEPHER, A & ROBERTS, J. A. 1985. The control of seed germination in *Trollius ledebouri*: the breaking of dormancy. *Planta (Berl.)* 166 : 314-320.
- HEYDECKER, W. & CHETRAM, R.S. 1971. Water relations of beetroot seed germination. I Microbial factors, with special reference to laboratory germination. *Ann. Bot. (Lond.)* 35: 17-29.
- HEYDECKER, W., CHETRAM, R. S. & HEYDECKER, J. C. 1971. Water relations of beetroot seed germination. II Effects of the ovary cap and of the endogenous inhibitors. *Ann. Bot. (Lond.)*. 35: 31-42.
- HILL, T. A. 1977. The biology of weeds. Studies in biology n^o 79 Ed. Edward Arnoud Publ. Ltd. (London), 64 pp.

- HONDUVILLA-MARTÍNEZ, C.J. & RUI-SANTOS, A. 1978
Germination inhibitors in the pini seed coat. *Planta*
(Berl.) 141: 141-144.
- JACKSON, G. A. D. & BLUNDELL, J. B. 1965. Germination
of *Rosa arvensis*. *Nature* (Lond.) 205:518.
- JOHANSEN, D. A. (1940). Plant microtechnique. Mc Grow-Hill
Book Co.Inc., New York.
- JOLY, C. A. & FELIPPE, G. M. 1979. Dormência das sementes
de *Rapanea guianensis* Aubl. *Revta. Bras. Bot.* 2 :
1- 3 .
- JONES, D. F., MACMILLAN, J. & RADLEY, M. 1963. Plant
hormones-III Identification of gibberellic acid in
immature barley and immature grass. *Phytochemistry* 2:
307- 314.
- KARSSSEN, C. M. 1970. The light promoted germination of
the seeds of *Chenopodium album* L. *Acta Bot. Neerl.*
19: 81- 94.
- KENDRICK, R. E. 1976. Photocontrol of seed germination.
Sci. Prog. (Oxf.) 63: 347- 367.
- KHAN, A. A. 1975. Primary, preventive and permissive ro-
les of hormones in plant systems. *Botanical Review*
41: 391- 420.

KHAN, A. A. & TAO, K. L. 1978. Phytohormones seed dormancy and germination. *In* (Lethan et al eds) Phytohormones and Related Compounds Vol. 2 Elsevier/North - Holland Biomedical Press, Amsterdam, 648 pp.

KLEIN, E. S. & PEREIRA, M. F. A. 1987. O papel do pericarpo na germinação de sementes de *Beta vulgaris* cv. Britta. *An. VI Congr. Soc. Bot. S. Paulo*, pp. 51- 58.

KOLLER, D. 1972. Environmental control of seed germination In (T.T. Kolzlowisk, ed). Seed Biology. Vol.2 Academic Press, Inc., New York, pp. 1- 101.

LAGÔA, A. M. M. A. 1983. Fatores que afetam a germinação de *Ricinus communis* L. Tese de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas. 84 pp.

LAGÔA, A. M. M. A. & PEREIRA, M. F. A. 1987 a. Fotoblastismo em sementes de *Ricinus communis* L. *Revta. Bras. Bot.* (no prelo).

LAGÔA, A. M. M. A. & PEREIRA, M. F. A. 1987 b. The role of the caruncle in the germination of seeds of *Ricinus communis*. *Plant Physiol. Biochem.* 25 : 125- 128.

LORENZI, H. 1982. Plantas daninhas do Brasil. Ed. do autor. Av. Brasil, 800 Nova Odessa SP. (13460): 164 e 166.

MAEDA, J. A. & PEREIRA, M. F. A. 1987. Germination of *Vitis vinifera* seeds: role of the seed coat. *Revta. Bras. Bot.* 10: 1-5.

MAGUIRE, J. D. 1973. Physiological disorders in germinating seeds induced by the environment. In (W. Heydecker ed.) *Seed Ecology*. Butterworths, London, pp. 289-310.

MAGUIRE, J. D. 1976. Seed dormancy. In (J. R. Thompson ed) *Advances in research and technology of seeds* Ed 2: 9- 26.

MARBACK, I. & MAYER, A. M. 1974. Permeability of seed coats to water as related to drying conditions and metabolism of phenolics. *Plant Physiol.* 54:817- 820.

MARTIN, A. C. 1946. The comparative internal morphology of seeds. *Amer. Midl. Natur.* 36 : 513- 660.

MARTINS, P. S. 1984. Aspectos da biologia de populações de leguminosas herbáceas brasileiras. In: Aguiar Perecin, M. L. R. de et al (eds.) *Tópicos de citogenética e evolução de plantas*. São Paulo, FEALQ, pp. 173-184.

MAYER, A. M. & POLJAKOFF - MAYBER, A. 1982. The germination of seeds. Ed. 3. Pergamon Press, England, 210 pp.

- MILBORROW, B. V. 1974. The chemistry and physiology of abscisic acid. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 25: 259- 307.
- MOTT, J. J. 1974. Mechanisms controlling dormancy in the Arid Zone grass *Aristida contorta*. I Physiology and Mechanisms of dormancy. *Aust. J. Bot.* 22: 635- 645.
- NEGBI, M., RUSHKIN, E. & KOLLER, D. 1966. Dynamic aspects of water-relations in germination of *Hirschfeldia incana* seeds. *Plant & Cell Physiol.* 7: 363- 376.
- NORONHA, A., VICENTE, M. & FELIPPE, G. M. 1978. Photocontrol of germination of *Cucumis anguria* L. *Biol. Plant.* 20 : 281- 286.
- OHMURA, T. & HOWELL, R. W. 1962. Respiration of developing and germinating soybean seeds. *Physiol. Plant.* 15: 341-350.
- ORPHANUS, P. I. & HEYDECKER, W. 1968. On the nature of the soaking injury of *Phaseolus vulgaris* seeds. *J. Exp. Bot.* 9 : 770- 784.
- POLLOCK, B. M. 1969. Imbibition temperature sensitivity of Lima bean seeds controlled by initial seed moisture. *Plant Physiol.* 44 : 907- 911.

- POLLOCK, B. M. & OLNEY, H. O. 1959. Studies of the rest period. I growth, translocation, and respiratory changes in the embryonic organs of the after-ripening cherry seed. *Plant Physiol.* 34 : 131- 142.
- POLLOCK, B. M. & TOOLE, V. K. 1966. Imbibition period as the critical temperature sensitive stage in germination of Lima Bean seeds. *Plant Physiol.* 41: 221- 229.
- RAY, P. M. 1972 The living plant. Holt, Rinehart e Winston (eds) Inc. London.
- ROBERTS, E. H. & SMITH, R. D. 1977. Dormancy and the pentose phosphate pathway. In (A. A. Khan ed.) The physiology and Biochemistry of Seed Dormancy and germination North-Holland, Amsterdam, pp. 385- 411.
- ROBERTS, H. A. & CHANCELLOR, R. J. 1979. Periodicity of seedling emergence and achene survival in some species of *Carduus*, *Cirsium* and *Onopordum* *J. Appl. Ecology* 16: 641- 647.
- SANTOS, D. S. B. 1985. Germinação de sementes de *Beta vul*
garis L. cv. Kawemegamono. Tese de Doutorado Universi
dade Estadual de Campinas. 166 pp.
- SAWHNEY, R. & NAYLOR, J. M. 1979. Dormancy studies in seed of *Avena fatua*. 9. Demonstration of genetic variability affecting the response to temperature during seed development. *Can J. Bot.* 57 :59-63.

- USBERTI, R. 1979. Estudo da germinação de sementes de limão cravo (*Citrus reticulata* var. *austera* Hib.-swingle): condições de umidade e armazenamento e relações hormonais. Tese de Mestrado Universidade Estadual de Campinas. 70 pp.
- VAN STADEN, J. & BROWN, N. A. C. 1973. The role of the covering structures in the germination of seed of *Leucospermum cordifolium* (Proteaceae). *Aust. J. Bot.* 21: 189- 192.
- VÁLIO, I. F. M. 1980. Inhibition of germination of coffee seeds (*Coffea arabica* L. cv. Mundo Novo) by the endocarp. *J. Seed Technol.* 5: 32- 39.
- VIEIRA, I. C. G. 1987. Distribuição fracionária de energia e biologia da semente de *Stylosanthes angustifolia* Vog. (Leguminosae-Papilionoideae). Tese de Mestrado Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Piracicaba (SP).
- VILLIERS, T. A. 1972. Seed dormancy. In T. T. Kolzlowisk (ed.) *Seed Biology*, Vol. 2 Academic Press Inc. New York pp. 220- 281.
- WAREING, P. F. & FODA, H. A. 1957. Growth inhibitors and dormancy in *Xanthium* seed. *Physiol. Plant.* 10 : 266- 280.
- WERKER, E. 1980/81. Seed dormancy as explained by the anatomy of embryo envelopes (Review). *Isr. J. of Bot.* 29: 22- 44.

SCHOPFER, P. & PLACHY, C. 1984. Control of seed germination by ABA. II Effect on embryo water uptake in *Brassica napus* L. *Plant Physiol.* 76: 155- 160.

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

TAKAKI, M., DIETRICH, S. M. C., FELIPPE, G. M. & CARDOSO, V. M. 1982. Cytokinin and ethylene during germination of *Rumex obtusifolius*. *Revta brasil. Bot.* 5: 29- 32.

TAO, K. L. & KHAN, A. A. 1979. Changes in the strength of lettuce endosperm during germination. *Plant Physiol.* 63: 126-128.

TOTTERDELL, S. & ROBERTS, E. H. 1979. Effects of low temperature on the loss of innate dormancy and the development of induced dormancy in seeds of *Rumex obtusifolius* and *Rumex crispus* L. *Plant, Cell of Env.* 2: 131- 138.

TOTTERDELL, S. & ROBERTS, E. H. 1980. Characteristics of alternating temperatures which stimulate loss of dormancy in seeds of *Rumex obtusifolius* L. and *Rumex crispus* L. *Plant, Cell and Envir.* 3: 3- 12.

TULLY, R. E., MUSGRAVE, M. E. & LEOPOLD, A. C. 1981. The seed coat as a control of imbibitional chilling injury. *Crop Science* 21: 312- 317.

WITZTUM, A., GUTTERMAN, Y. & EVENARI, M. 1969.

Integumentary mucilage as an oxygen barrier during germination of *Blepharis persica* (BURM.) KUNTZE. *Bot. Gaz.* 130: 238-241.

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

WURZBURGER, J., LESHEM, Y. & KOLLER, D. 1974. The role of gibberellin and the hulls in the control of germination in *Aegilops Kotschyi* caryopses. *Can. J. Bot.* 52: 1597- 1661.