

JOCELY ANDREUCETTI MAEDA



## ASPECTOS FÍSICOS E FISIOLÓGICOS NA GERMINAÇÃO

### E DORMÊNCIA DE SEMENTES DE GRAMA-BATATAIS

(*Paspalum notatum* Flüggé)

este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida por (o) candidato (a)
<i>Jocely Andreuccetti</i>
<i>Maeda</i>
é aprovada pela Comissão Julgadora.
<i>08</i>
<i>05</i>
<i>95</i>

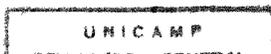
*M. Fátima D. Aleixo*

Tese apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientadora: Profª Drª M. Fátima D. Aleixo Pereira

Campinas - SP

1995





UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	T/UNICAMP
	M 268a
V.	Et
INSCRIÇÃO B3	25745
PROC.	433/95
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	29/09/95
N.º CPD	

CM-00077168-4

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA CENTRAL - UNICAMP

M268a Maeda, Jocely Andreuccetti  
Aspectos físicos e fisiológicos na germinação e dormência  
de sementes de grama-batatais (*Paspalum notatum* Flugge) /  
Jocely Andreuccetti Maeda. - - Campinas, SP : [s.n.], 1995.

Orientador : Maria de Fátima Domingos Aleixo Pereira.  
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas,  
Instituto de Biologia.

1. Germinação. 2. Sementes - Dormência. 3. Grama -  
batatais. 4. *Paspalum notatum*. I. Pereira, Maria de Fátima  
Domingos Aleixo. II. Universidade Estadual de Campinas.  
Instituto de Biologia. III. Título.

---

"A grama rastejante protege o solo contra as grandes tempestades, reveste e amacia o piso, ornamenta e proporciona relaxamento à vista dos que a admiram ..."

A meus pais GUIDO ANDREUCETTI (*in memorian*) e ZILAH LORENCINI ANDREUCETTI, pela dedicação e amor com que me orientaram para o trabalho útil, construtivo e honesto.

---

HOMENAGEM

A meu esposo YASUO MAEDA, pelo apoio e estímulo constante, a meus sogros (*in memorian*), e a meus filhos YULLI e GUSTAVO.

DEDICO

**AGRADECIMENTOS**

à Dra. Maria de Fátima D. Aleixo Pereira, Professora Titular do Departamento de Fisiologia Vegetal do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), pela confiança transmitida, e por orientar de maneira segura e amiga;

~~ao Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), pela oportunidade de trabalho e possibilidade de realização do Curso de Pós-Graduação;~~

aos colegas e funcionários da Seção de Sementes do IAC, pela colaboração e agradável convivência;

a todos os Professores, funcionários e colegas do Curso de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal do Instituto de Biologia da UNICAMP;

e a todos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização desta pesquisa.

**ÍNDICE**

I - INTRODUÇÃO .....	1
II - MATERIAL E MÉTODOS .....	20
1. Material .....	20
1.1 Colheita .....	20
1.2 Beneficiamento .....	20
1.3 Secagem .....	22
1.4 Divisão da amostra .....	22
2. Caracterização da semente .....	23
2.1 Composição do lote de semente .....	23
2.2 Massa de mil sementes .....	24
3. Embalagem e armazenamento .....	24
4. Determinação do grau de umidade .....	26
5. Elaboração da curva de embebição .....	26
6. Elaboração da curva de germinação .....	27
7. Testes de germinação .....	28
7.1 Métodos gerais de germinação .....	28
7.2 Temperatura .....	30
7.3 Água ou $KNO_3$ no substrato .....	30
7.4 Luz .....	30
7.5 Fornecimento de oxigênio .....	31
8. Tratamento de calor .....	31
9. Retirada da lema e da pálea da semente .....	32

10. Lavagem das sementes em água corrente .....	32
11. Escarificação química das sementes .....	32
12. Estratificação das sementes .....	33
13. Envolvimento de substâncias de crescimento ....	33
13.1 Tratamento com ácido giberélico (GA <sub>3</sub> ) ....	34
13.2 Tratamento com ácido abscísico (ABA) .....	34
13.3 Tratamento com 6-Benzil Adenina (6BA) ....	35
13.4 Extração e fracionamento .....	35
13.5 Cromatografia .....	36
13.6 Biotestes .....	36
13.7 Determinação química de citocininas .....	39
13.8 Revelação de substâncias fenólicas .....	40
14. Análise estatística .....	40
III- RESULTADOS .....	41
1. Caracterização da semente .....	41
1.1 Composição do lote de semente .....	41
1.2 Massa de mil sementes .....	43
2. Conservação das sementes .....	44
3. Curva de embebição .....	54
4. Curva de germinação .....	54
5. Temperatura na germinação .....	57
6. KNO <sub>3</sub> no substrato de germinação .....	59
7. Luz na germinação .....	61
8. Oxigênio na germinação .....	63
9. Tratamento de calor .....	63

	vii.
10. Efeito da lema e da pálea na germinação .....	69
11. Lavagem das sementes em água corrente .....	72
12. Escarificação química das sementes .....	72
13. Estratificação das sementes .....	77
14. Envolvimento de substâncias de crescimento ....	80
14.1 Tratamento com ácido giberélico (GA <sub>3</sub> ) ....	80
14.2 Tratamento com ácido abscísico (ABA) ....	80
14.3 Tratamento com 6-Benzil Adenina (6BA) ....	80
14.4 Análise de substâncias endógenas através de cromatografia .....	84
IV - DISCUSSÃO .....	105
V - CONCLUSÕES .....	120
VI - RESUMO .....	125
VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	127

## I - INTRODUÇÃO

*Paspalum notatum* Flüggé, comumente denominada grama-batatais, pertencente à Família Gramineae (Poaceae), Subfamília Panicoideae e Tribo Paniceae (HEYWOOD, 1985), tem os seguintes sinônimos: *Paspalum tetrophyllum* Stend., *P. distachin* Willd., *P. saltense* Arech. e *P. uruguayense* Arech. (KISSMANN, 1991). Quanto ao nome vulgar, é também extensa a lista de sinônimos: capim-batatais, grama-do-rio grande, grama-forquilha, capim-bahia, pasto bahia, "bahiagrass", gramão-de-são sebastião, grama-cuiabana, capim-pensacola, grama-comum e capim-do-pasto (LEITÃO FILHO et al., 1972; ALCÂNTARA & BUFARAH, 1979; KISSMANN, 1991).

As plantas de *Paspalum notatum* são perenes, herbáceas, rizomatosas, com 10-20cm de comprimento. Colmo comprimido, achatado, de forma bastante característica. Folhas com bainha glabra, lígula com um anel de pelos curtos e hialinos, lâmina lanceolada, de ápice acuminado, glabra, de cor verde-viva na face superior e mais pálida na inferior.

No ápice das hastes florais desenvolvem-se dois racemos espiciformes opostos, que formam as clássicas "forquilhas". Esses racemos são densos, tendo 2,5 a 12cm de comprimento. As raques, com cerca de 1mm de espessura, são retas ou ligeiramente onduladas, com marcas negras (de onde o nome "notatum" do latim: marcado). As espiguetas, dispostas em duas fileiras de um mesmo lado da raque, são solitárias e

ovaladas, com 2,5-2,8mm de comprimento. As glumas e glumelas são verdes, 5-nervadas, glabras e lustrosas. Na floração aparecem os estigmas, de coloração negra, sobressaindo das glumas verdes.

As cariopses de *Paspalum notatum* são ovóides com 2,0-3,5mm de comprimento por 1,5-2,5mm de largura, comprimidas nas duas faces, de coloração branco-amarelada e superfície reluzente. Essas unidades são protegidas pela lema e mais internamente pela pálea (envolvida quase completamente pela lema), e externamente pelas glumas (SHIPPINDALL et al., 1955).

KISSMANN (1991) afirmou que a grama-batatais é espécie nativa do Continente Americano; ALCÂNTARA & BUFARAH (1979) especificaram sua origem na América do Sul e América Central, e BOGDAN (1977) citou os países de sua origem: Argentina, Brasil, Bolívia, e algumas ilhas do oeste da Índia.

Nos Estados Unidos, a grama *Paspalum notatum* foi introduzida em 1913 (SCOTT, 1920), sendo conhecida como "bahiagrass", e encontrada principalmente na Flórida (ROCHA, 1958); nesse país, ela está geograficamente limitada pelas temperaturas frias que ocorrem durante o inverno (SCOTT, 1920; BURTON, 1946; HOOVER et al., 1948; TABOR, 1950).

A grama-batatais é de grande utilização no combate à erosão (ALENCAR, 1949; ROCHA, 1958), pois suas raízes se entrelaçam cobrindo o terreno e retendo o solo, até mesmo nas encostas mais íngremes; com essa finalidade é largamente cultivada em terrenos acidentados, taludes e ao longo de canais e rodovias.

Nas pastagens essa grama é considerada excepcional, reunindo todos os requisitos essenciais e desejáveis: são plantas perenes, suportam bem o nosso inverno, se desenvolvem bem mesmo em solos pobres, e, principalmente, oferecem resistência ao pisoteio, permitindo seu aproveitamento em pastos confinados (ALCÂNTARA & BUFARAH, 1979).

Sendo bastante rústica (SOUZA, 1968), e cobrindo facilmente o terreno, essa espécie é bastante procurada para compor parques e campos desportivos (futebol, golfe, etc.). E, pela beleza do tapete que forma, é, no paisagismo, o revestimento de maior procura para fins ornamentais.

Embora a ocorrência dessa espécie seja considerada de grande utilidade na maioria dos casos, em alguns ela constitui uma verdadeira praga de difícil erradicação, pois além de se adaptar bem em solos pobres, é excepcionalmente agressiva (TORRES, 1949), ou seja, ela alastra-se vigorosamente, embora seja de formação lenta. O fogo, como meio de erradicação de invasoras também não é totalmente efetivo no caso de *Paspalum*, uma vez que a semente que estiver a 1cm da superfície do solo sofre apenas um dano parcial; as que estiverem à maior profundidade não sofrem qualquer influência (KELLMAN, 1980). O controle da "bahiagrass" é também dificultado pela ocorrência de dormência nas sementes, acarretando germinação irregular durante toda a estação, exigindo o uso de herbicidas de efeito residual para sua erradicação (SMITH & POWELL, 1980). A agressividade da grama bahia traz, também como desvantagem, a

dificuldade em se estabelecer pastagens consorciadas de diversas forrageiras, principalmente na associação de Gramíneas e Leguminosas (TORRES, 1949). ALCÂNTARA & BUFARAH (1979) afirmaram que o *Paspalum notatum* consorcia-se naturalmente com várias espécies de *Desmodium* e *Arachis* e pode ser associado a *Lotononis*, trevos, estilosantes, *Zornia*, cornichão, etc.

Do ponto de vista da composição química, a grama-batatais situa-se dentro da denominada "média para as gramíneas", com a vantagem de ser pouco menos fibrosa que os capins que entouceiram (ROCHA, 1958).

A grama-batatais pode suportar, segundo ALCÂNTARA & BUFARAH (1979), 1 a 1,5 cabeça de gado/ha durante o ano, apresentando valor nutritivo médio e elevado teor de proteína (DEMMATTE et al., 1987). Segundo ALCÂNTARA & BUFARAH (1979), os teores de proteína bruta e de fibra bruta em 100% de matéria seca revelam os seguintes valores, respectivamente: 10,78% e 31,82%, em estágio de vegetação bastante precoce. Segundo os mesmos autores, a espécie tem sua aceitabilidade diminuída de acordo com o estágio de desenvolvimento vegetativo.

Quanto à formação da semente, existe pólen funcional suficiente para assegurar o estabelecimento da cultura (REUSCH, 1961).

A temperatura e a luz exercem uma influência muito maior sobre o florescimento do que a umidade (HODGSON, 1949b). Assim, alta temperatura noturna (18,3 a 21,0°C) e fotoperíodo de 14 horas, constituem o ambiente mais desejável para a

produção de sementes de *Paspalum dilatatum* (KNIGHT, 1955).

Quanto às condições do solo, quanto maior sua riqueza em nutrientes, maior será a produção de sementes e estas terão melhor qualidade fisiológica (DEMMATTÊ et al., 1983a).

Um dos grandes problemas relacionados à produção de sementes de *Paspalum* se manifesta por ocasião da colheita, uma vez que as sementes granadas desprendem-se facilmente da raque caindo ao solo, enquanto as chochas ficam fortemente aderidas à planta (BURSON et al., 1978). Dessa maneira, do total das sementes produzidas, 2/3 são perdidas (BENNETT & MARCHBANKS, 1969), o que indica a necessidade de mudanças radicais no método de colheita. A ocorrência de grande porcentagem de sementes chochas é um dos motivos que diminui a qualidade das sementes. BURTON (1939) mencionou que 50 a 70% das espiguetas frequentemente não formam cariopses. Assim, o beneficiamento da semente colhida, utilizando-se a massa como base de separação, afeta significativamente a germinação (PESKE, 1976; PESKE & BOYD, 1980; DEMMATTÊ et al., 1987); este fato torna essencial a operação da ventilação no beneficiamento ou na análise de pureza da semente (TOOLE & SIRRINE, 1937; ORTOLANI & USBERTI, 1981). STERMER (1964) reconheceu que a análise de pureza de certas forrageiras, como a "bahiagrass", é uma das tarefas mais difíceis exigidas de um analista de sementes. A eliminação das sementes chochas pode também ser realizada de maneira manual, por pressão com pinça e análise através de luz refletida (MORGAN, 1965), porém, só é justificada quando se trabalha com

uma quantidade muito pequena de sementes, devido ao tempo dispendido nessa tarefa.

Ao classificar sementes de gramíneas forrageiras (KNEEBONE & CREMER, 1955) ou ainda de capim-pensacola (PESKE & BOYD, 1980) por tamanho, os autores não detectaram diferenças na germinação.

NEVES et al. (1981), classificando sementes de *Paspalum guenoarum* pela cor, concluíram que as verdes eram viáveis, enquanto as marrons estavam mortas. Resultados opostos foram encontrados por DEMMATTÊ et al. (1983b) quando afirmaram que os melhores resultados de germinação foram encontrados para sementes de cor marrom-clara de *Paspalum notatum*, obtidas numa fase mais avançada da colheita.

Um maior aproveitamento dessa gramínea tem sido limitado pelo baixo valor germinativo de suas sementes, exigindo, muitas vezes propagação vegetativa, na forma de placas ou tapetes, o que, segundo GAMBOA & GUERRERO (1969), onera excessivamente qualquer projeto que inclua um gramado de *Paspalum notatum*. Também a sua utilização por meio de hidrosemeadura teve seu sucesso comprometido em taludes e rodovias, em virtude de sua baixa germinação.

A operação do beneficiamento da semente de *Paspalum notatum* elimina sementes chochas e mal formadas, causando um aumento no valor cultural do lote, que normalmente ainda apresenta baixo valor germinativo, devido à alta incidência de sementes dormentes.

Entenda-se dormência como um estado no qual uma semente viável não germina quando colocada em condições normalmente consideradas adequadas para a germinação em termos de temperatura, umidade e oxigênio (ROBERTS, 1972).

McALLISTER (1943) associa a dormência com o estágio de maturação da semente na época da colheita, afirmando que as sementes maduras superam a dormência mais facilmente do que aquelas colhidas num estágio anterior à maturação. HOPKINSON et al. (1988), no entanto, afirmaram que sementes de *Paspalum* continuam o seu processo de maturação mesmo após separadas da planta mãe.

O processo de secagem de sementes tem sido, por alguns autores, relacionado não só com a viabilidade, mas também com o nível de dormência das sementes. Assim, BENNETT & MARCHBANKS (1969) utilizando temperaturas de secagem de 38 a 60°C em sementes de *Paspalum dilatatum*, comprovaram que a viabilidade das sementes não foi comprometida em nenhum caso, e que houve inclusive alguma melhora da germinação após secagem a 60°C. Este resultado sugere a interferência da alta temperatura de secagem no nível de dormência das sementes. HODGSON (1949a) também indicou o tratamento de calor (50 a 60°C) por 2 a 4 dias para sementes de "bahiagrass", pois provocou um aumento significativo na germinação. HOPKINSON et al. (1988), no entanto, relataram que a dormência da semente de *Paspalum plicatulum* parece não ser afetada pelo padrão de secagem da semente.

CROCKER (1919) afirmou que a maioria das gramíneas que apresenta sementes dormentes (quando o embrião não é a causa da dormência) respondem bem à conservação em condições secas. RAY & STEWART (1937), trabalhando com espécies de *Paspalum*, sugeriram a utilização de sementes novas no plantio, uma vez que o armazenamento causa sua deterioração, diminuindo a chance do desenvolvimento das sementes em plântulas normais. Outros autores, trabalhando mais recentemente com sementes de *Paspalum notatum*, indicaram a sua conservação em câmara seca como meio de melhorar a germinação (TOLEDO et al., 1981), uma vez que, as sementes dessa espécie são dormentes por vários meses após a maturação (FULBRIGHT & FLENNIKEN, 1988). Segundo WEST & MAROUSKY (1989), o simples envelhecimento das sementes, até mesmo artificial, aumenta a germinação, pela diminuição do índice de dormência.

Quanto ao pré-esfriamento das sementes secas de espécies de *Paspalum* antes da semeadura, as opiniões dos autores têm diversificado diante dos resultados. TABOR (1950) considerou este um ótimo meio para melhorar a germinação, enquanto SILVA et al. (1983) e HSU (1986) afirmaram que esse procedimento não afetou a germinação.

Os métodos de germinação têm sido amplamente avaliados para essa espécie, no que se refere ao período máximo para encerrar o teste de germinação, ao uso de  $KNO_3$  e ao efeito de luz.

Em apenas um trabalho (EVERS, 1976) a contagem foi encerrada aos 15 dias, e em outro aos 21 dias (TOLEDO et al., 1981); a maioria estendeu o teste de germinação por 4 semanas (HODGSON, 1949a; ANDERSEN, 1953; ANDRADE & VAUGHAN, 1980). Segundo TOOLE & SIRRINE (1937), sementes recém-colhidas de *Paspalum* podem exigir um período maior do que 21 dias para germinar. No entanto, SILVA et al. (1983) não encontraram diferenças quando a contagem foi feita aos 21 ou 28 dias após a instalação das sementes no substrato.

---

Um procedimento bastante comum para contornar a dormência em sementes de gramíneas é a utilização do nitrato de potássio ( $KNO_3$ ), amplamente recomendado pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992) pois, nessas sementes, a dormência seria ocasionada essencialmente pela presença de substâncias fixadoras de oxigênio no complexo película-pericarpo (CARVALHO & NAKAGAWA, 1988). Para explicar a ação do nitrato de potássio, ROBERTS (1972) propôs uma hipótese na qual tal substância oxidante, ao estimular a via pentose fosfato, diminuía ou eliminava o estado de dormência das sementes.

Quando avaliaram o efeito de  $KNO_3$  no substrato de germinação de sementes de *Paspalum*, alguns autores não verificaram qualquer benefício pelo seu uso (WILLIAMS & WEBB, 1958; SILVA et al., 1983) enquanto outros detectaram o aumento da germinação (TOOLE & SIRRINE, 1937; ANDERSEN, 1962; DEMMATÊ, et al., 1983b). ANDERSEN (1962) observou ainda efeito

fungicida do  $KNO_3$ . DEMMATTE et al. (1983b) observaram efeito antagônico, ou seja, aparecimento de fungo pelo uso de  $KNO_3$ .

Outro fator frequentemente importante para a germinação é a presença de luz. As sementes da maioria das plantas cultivadas germinam tanto no escuro como na luz. A necessidade de luz para a germinação de determinadas espécies pode ser considerada um tipo de dormência (POPINIGIS, 1977; CARVALHO & NAKAGAWA, 1988).

FLENNIKEN & FULBRIGHT (1987) verificaram o efeito benéfico da luz na germinação de *Paspalum*, enquanto WILLIAMS & WEBB (1958), NAKAMURA (1962), EVERS (1976) e HSU (1986) afirmaram que a germinação de *Paspalum* não foi afetada pela presença ou ausência de luz.

Outras condições e substâncias foram também testadas com sementes de *Paspalum*, salientando-se as seguintes conclusões: o uso de diferentes substratos não trouxe qualquer diferença no valor da germinação (SILVA et al., 1983); a espécie é sensível à presença de NaCl para a germinação (HIROTA et al., 1988); thiourea e  $GA_3$  100 ppm não tiveram qualquer efeito sobre a germinação (NAKAMURA, 1962).

TAYLORSON & HENDRICKS (1979) alertaram para o uso de algumas substâncias (éter etílico, clorofórmio, metanol, acetona e etanol), que superaram a dormência em sementes de várias espécies de gramíneas invasoras; porém não foi encontrado qualquer trabalho que tenha avaliado o efeito de tais substâncias em espécies de *Paspalum*.

Quando ocorre grande porcentagem de dormência num lote de sementes, a interpretação final do teste torna-se bastante dificultosa, pois não raramente a distinção entre a semente morta e a semente dormente é extremamente difícil, ou, muitas vezes, impossível. Nesses casos, a determinação da viabilidade da semente através do teste de Tetrazólio é bastante útil. Também WHARTON (1955) ressaltou a utilidade do teste de Tetrazólio para distinguir a semente dormente da semente morta de *Paspalum dilatatum*. Verifica-se, no entanto, que é incomum sua utilização, especialmente em pesquisas com gramíneas forrageiras. Em trabalhos que versam sobre a germinação de *Paspalum*, nota-se o cuidado em padronizar o que é considerado germinado, porém não se discrimina o que é considerado dormente por ocasião da contagem final do teste de germinação.

Na maior parte dos trabalhos que estudaram a germinação de sementes de *Paspalum*, avaliaram-se diferentes temperaturas de germinação ou métodos de escarificação, visando diminuir a alta porcentagem de sementes dormentes, o que deve refletir em acréscimo no valor de germinação.

Quanto ao efeito da temperatura, alguns trabalhos indicaram temperatura constante para a germinação de *Paspalum*, e nesse caso, os melhores resultados estiveram na faixa de 30 a 35°C (RAY & STEWART, 1937; WILLIAMS & WEBB, 1958; OKUMA & CHIKURA, 1984; YOON et al., 1985; MAROUSKY & WEST, 1988). Vale

acrescentar que tais autores não utilizaram temperaturas alternadas para estabelecer comparação com as constantes, o que poderia ter conduzido à indicação da temperatura alternada como melhor opção.

DELOUCHE & BASS (1954) justificaram a eficiência do uso de temperaturas alternadas na quebra da dormência de sementes, pelo aumento na permeabilidade a gases das membranas, ocasionado pelo "stress" da flutuação brusca da temperatura.

---

EULLINAN (1941) afirmou que a alternância de temperaturas (15°C por 8h na luz e 35°C por 16h no escuro) é absolutamente essencial para a germinação de sementes de *Paspalum notatum*. Outros autores também recomendaram temperaturas alternadas para a germinação de *Paspalum* (NAKAMURA, 1962; McELGUM, 1974). Quanto à melhor combinação para a alternância de temperaturas, parece que estas não se afastam muito daquelas consideradas ideais em temperaturas constantes: 30-35°C (ANDERSEN, 1953); 30-20 e 35-25°C (EVERS, 1976); 20-30 e 20-35°C (SILVA et al., 1983); 20-30, 25-35 e 30-40°C (FLENNIKEN & FULBRIGHT, 1987).

Quando avaliada a velocidade de germinação e o comprimento da parte aérea em temperaturas constantes de 15,5 a 37,5°C, os melhores resultados partiram das temperaturas mais elevadas, na faixa de 32 a 37,5°C (MAROUSKY & WEST, 1988).

O tratamento de estratificação (exposição da semente embebida a um período de baixa temperatura) efetuado antes da colocação das sementes para germinar em uma temperatura mais alta constante, parece, em muitos casos, ter substituído o efeito benéfico da alternância de temperaturas durante a germinação, conforme foi verificado por NAKAMURA (1962) e FULBRIGHT & FLENNIKEN (1988).

A melhor temperatura de estratificação, para a maioria das espécies, está próxima a 5°C; os períodos de exposição variam de alguns dias a vários meses, tempo esse diretamente relacionado à intensidade da dormência (CARVALHO & NAKAGAWA, 1988).

Certas formas de dormência em sementes envolvem algum grau de controle hormonal, e a evidência mais convincente dessa hipótese é fornecida pelo estudo da comparação do nível de substâncias de crescimento em sementes antes e após o tratamento de quebra de dormência, principalmente naquelas sementes que necessitam de tratamento frio para germinar (BEWLEY & BLACK, 1982). Esse tratamento tem sido relacionado com uma diminuição no nível de ácido abscísico (ABA) ou outros inibidores.

A evidência do papel do ABA na dormência de sementes se origina de interações desse ácido com giberelinas e citocininas, que também afetam a germinação (HEMBERG, 1970). Estas interações apoiam a hipótese do balanço promotor-inibidor, onde o nível das substâncias reflete o controle da dormência (KHAN, 1970).

Embora de uma maneira geral o efeito da estratificação só seja notado após algumas semanas a frio, GASSNER (citado por HARRINGTON, 1923) induziu máxima germinação em sementes de *Paspalum dilatatum* quando estas foram submetidas por poucas horas à baixa temperatura, seguida por uma mudança para uma temperatura mais alta; a germinação das sementes não foi conseguida sem a prévia exposição à baixa temperatura.

O período de frio pode também ser substituído pelo uso de ácido giberélico. Assim, PEREIRA & MAEDA (1986) comprovaram que o tratamento exógeno com GA<sub>3</sub> diminuiu o índice de dormência de sementes de uva, e que esse mesmo efeito foi conseguido pela estratificação das sementes, que fez aumentar a disponibilidade de giberelinas endógenas.

A dormência da semente na maioria das espécies é imposta pelas estruturas que envolvem o embrião, identificadas em gramíneas como glumas, pálea e lema (BEWLEY & BLACK, 1982). Nesse caso, o embrião dentro da semente intacta é dormente, mas quando isolado das estruturas, germina prontamente. FRAGA (1982) classificou as sementes de *Paspalum notatum* nessa categoria, em que a impossibilidade de germinar é devido a uma resistência mecânica oferecida pelo tegumento ao crescimento do embrião.

MAROUSKY & WEST (1988) tentaram detectar a presença de inibidores nas estruturas que envolvem a cariopse de *Paspalum notatum*, e verificaram a inexistência de tais substâncias, solúveis em água. De qualquer maneira, atribuíram

a dormência das sementes à restrição física imposta à cariopse pela presença da lema e pálea. O tratamento de escarificação removeu substâncias cuticulares da lema, provavelmente facilitando a entrada de água para posterior emergência da coleorriza.

A ocorrência de queimadas que eliminam a vegetação natural pode, em muitos casos, resultar em emergência de plântulas que raramente seriam encontradas sem a passagem do fogo. Os efeitos do fogo podem ser diretos, causando, por exemplo, rachaduras no tegumento de sementes impermeáveis, facilitando a penetração da água, ou indiretos, pelas mudanças que ocorrem no microclima (KOLLER, 1972).

DELOUCHE & BASS (1954) afirmaram que um dos principais fatores que contribuem para a dormência em sementes de gramíneas é a presença de tegumentos e membranas impermeáveis ou ligeiramente permeáveis, pois sabe-se que o passo inicial na germinação é a embebição de água pelos vários tecidos da semente. O aumento na hidratação do tegumento da semente usualmente causa um pronunciado aumento na sua permeabilidade para o oxigênio e dióxido de carbono, a qual é muito baixa no tegumento da semente seca. Essa embebição causa, em última análise, o rompimento do tegumento e a emergência da radícula (MEYER et al., 1960).

O impedimento da germinação, ocasionado pelos tegumentos e/ou envoltórios da semente, justifica a necessidade de ensaios de escarificações físicas e químicas. Nem sempre é

necessária a remoção completa dessas estruturas para que ocorra a germinação; assim, RAY & STEWART (1937), detectaram acréscimos na germinação de *Paspalum dilatatum* pela simples punção das estruturas; observaram no entanto, germinação máxima quando a lema e a pálea foram totalmente removidas. Outros autores confirmaram o efeito benéfico da remoção da lema e pálea em sementes de *Paspalum* (BURTON, 1939; EULLINAN, 1941; ANDERSEN, 1953; HEIT, 1955; FULBRIGHT & FLENNIKEN, 1988; MAROUSKY & WEST, 1988; WEST & MAROUSKY, 1989). ANDERSEN (1953) sugeriu que além da remoção da lema e da pálea, proceda-se ainda a ligeiras arranhaduras nas cariopses de *Paspalum notatum*.

Alguns autores afirmaram que a escarificação ou remoção dos tegumentos prejudicou (SILVA et al., 1983) ou não teve qualquer efeito (TABOR, 1950; SISTACHS & LEON, 1985) sobre a germinação de espécies de *Paspalum*. Observou-se, no entanto, que nesses casos, a germinação não se desenvolveu na temperatura ideal, ou ainda, que as sementes foram colocadas em condições de solo que, segundo CROCKER (1906), é o meio natural de quebra de dormência da semente, pela desintegração do tegumento por uma exposição às condições do solo. Assim sendo, pode ter ocorrido escarificação nas sementes consideradas "controle", que então não diferiram daquelas escarificadas artificialmente.

BURTON (1946), assim como MATHEWS (1947), compararam os efeitos de diferentes métodos de escarificação em sementes

de *Paspalum*, indicando o ácido sulfúrico como o melhor deles. De fato, é grande o número de trabalhos que confirmam a necessidade da escarificação ácida das sementes dessa espécie para uma pronta germinação. A indicação é normalmente feita para o ácido sulfúrico concentrado (BURTON, 1939; BURTON, 1940; HODGSON, 1949a; WILLIAMS & WEBB, 1958; ANDRADE & VAUGHAN, 1980; DEMMATÊ et al., 1983b), porém alguns autores utilizaram o ácido numa concentração de 50% (MAROUSKY & WEST, 1988), 60% (GAMBOA & GUERRERO, 1969) ou 75-76% (MATHEWS, 1947; ANDERSEN, 1953), com a obtenção de bons resultados.

O tempo de permanência das sementes no ácido também variou bastante nos diferentes trabalhos, sem qualquer relação com a sua concentração. Assim, MATHEWS (1947) concluiu como ideal, a permanência das sementes por 6 minutos no ácido a 76%; ANDRADE & VAUGHAN (1980) no entanto, sugeriram embebição das sementes por 20 minutos em ácido sulfúrico concentrado para se obter bons resultados de germinação.

Segundo BURTON (1939), a resposta das sementes de *Paspalum* ao tratamento com ácido sulfúrico varia com o lote: o tempo de 15 minutos da semente no ácido, que é ótimo para uma safra, pode injuriar profundamente sementes de outra safra. TISCHLER & YOUNG (1983) concluíram que até mesmo dentro de uma única planta, encontram-se diferentes níveis de dormência em sementes de *Panicum coloratum* L.

Em alguns casos, foi notado o efeito benéfico do ácido apenas nos primeiros dias após o tratamento, diminuindo

sensivelmente a diferença entre os resultados de sementes tratadas e não tratadas quando se prolongou o tempo de germinação (ANDRADE & VAUGHAN, 1980). Outros autores observaram em *Paspalum* o aparecimento de injúrias em sementes e anormalidade em plântulas quando as sementes foram escarificadas com ácido sulfúrico (ANDERSEN, 1953; ANDRADE & VAUGHAN, 1980). Ainda outros autores, utilizando o ácido a 50% por 10 minutos para escarificar sementes de "bahiagrass", notaram o aumento na ocorrência de fungos logo após o início da germinação (WILLIAMS & WEBB, 1958). Os mesmos autores verificaram que o aumento na porcentagem e velocidade de germinação das sementes escarificadas pelo ácido sulfúrico não foi devido a uma maior embebição de água, uma vez que as sementes sem escarificação também absorveram água.

Embora se encontre normalmente a indicação do ácido sulfúrico como um dos melhores métodos de quebra de dormência de sementes de *Paspalum notatum*, e o armazenamento das sementes em câmara seca, como o método natural de superar a dormência, alguns autores sugerem ainda a combinação de alguns tratamentos que resultam em valores ainda mais expressivos de germinação. Assim, TOLEDO et al. (1981) recomendam armazenamento seco e tratamento com ácido sulfúrico conjuntamente, para obtenção de melhores resultados na quebra de dormência. NAKAMURA (1962) afirmou que para conseguir a completa germinação de sementes de *Paspalum notatum* que apresentam alta dormência (a qual dura vários meses após a colheita), é necessária a combinação de

quatro tratamentos: estratificação, temperaturas alternadas de germinação, utilização de  $KNO_3$  no substrato, e ácido sulfúrico como método de escarificação das sementes.

Em resumo, após revisão detalhada da literatura, foi verificado que dentre os fatores responsáveis pela dormência de sementes de *Paspalum notatum*, os mais frequentemente mencionados foram: dormência fisiológica do embrião, impermeabilidade das estruturas que envolvem a cariopse e restrição física imposta por essas estruturas ao desenvolvimento do embrião. Como consequência, constatou-se a indicação de vários métodos que resultaram na superação da dormência dessas sementes, métodos estes aplicados isoladamente, ou numa combinação de vários deles.

De qualquer maneira, ficou evidente a necessidade de alguma forma de preparo das sementes de *Paspalum notatum* para a obtenção de algum valor de germinação.

O objetivo geral deste trabalho foi estudar o melhor método de beneficiamento, de conservação e de germinação de sementes de grama-batatais (*Paspalum notatum*), para se obter a melhor qualidade física e fisiológica das sementes. Assim, a partir do material colhido, procurou-se: a) conseguir a maior porcentagem de sementes granadas; b) armazenar na condição que proporcione a menor velocidade de deterioração; e c) obter a máxima germinação, após elucidar os mecanismos que envolvem a dormência das sementes.

## II - MATERIAL E MÉTODOS

### 1 - MATERIAL

Foram utilizadas sementes de *Paspalum notatum* Flügge, mais comumente denominada grama-batatais, pertencentes à família Gramineae (Poaceae).

#### 1.1 Colheita

As inflorescências, contendo as hastes florais e as panículas, foram colhidas manualmente a partir de 02/04/90 por dez dias seguidos, com o máximo cuidado para não perder sementes granadas.

A coleta foi realizada em gramados da Fazenda Santa Eliza - Campinas, SP, Centro Experimental do Instituto Agrônomo de Campinas. Obtiveram-se 11.000g de material colhido.

#### 1.2 Beneficiamento

As panículas, ainda presas às hastes florais, foram atritadas entre si sobre bandejas, recolhendo-se todo material e sementes que se soltavam, pois as que se prendem mais firmemente ao racemo são sementes não granadas.

Com o material assim obtido, foi feita a pré limpeza, utilizando-se peneira de arame trançado, de malha quadrada, 6x6 (número de perfurações por polegada, em cada direção). Em cima dessas malhas ficavam retidas as impurezas maiores tais como folhas, partes de hastes, etc. A seguir, as sementes passaram através da peneira 9x9, onde ficavam retidas as impurezas menores. Posteriormente, utilizou-se peneira de chapa metálica nº 8, com furos redondos (8/64 polegadas de diâmetro); nesta, ficavam retidas as sementes chochas que ainda estavam aderidas ao racemo, assim como pedaços de racemos.

Finalmente utilizou-se a peneira 16x16 de malhas quadradas, por onde passavam apenas o pó e os estigmas negros que se soltavam das glumas verdes. Sobre as malhas dessa peneira, obteve-se a semente limpa correspondente a 6.623g (com uma perda total de 39,8% em massa).

Após a limpeza, as sementes foram ventiladas em ventilador vertical Master-O-Matic na abertura máxima (nº 100) por 3 minutos, sem tubo médio da coluna, em porções individuais de 100ml de sementes. Esta abertura, tipo de coluna e volume de semente, foi preliminarmente escolhida, de modo a separar o maior número possível de sementes chochas e ainda restos de estigmas.

A Operação de ventilação descartou 7,1% em massa do material, sendo que 98% era constituído de sementes não viáveis; a grande maioria se constituia de sementes chochas.

Utilizando-se balança hectolétrica, determinou-se a massa volumétrica das sementes de *Paspalum notatum*. Assim, a massa das sementes granadas foi de 474,48g/l, e a das chochas foi de 146,00g/l; isso significa que o descarte de 470g de sementes chochas por ocasião da ventilação representou uma perda de aproximadamente 3 litros de sementes.

### 1.3 Secagem

Assim beneficiadas, as sementes apresentavam um grau de umidade próximo de 26%. Nessas condições, foram colocadas em secador a 30 °C dotado de ventilação forçada, onde permaneceram por 72 horas.

O teor de água das sementes após beneficiamento e secagem foi de 10,1%.

### 1.4 Divisão da amostra

As sementes limpas e granadas, resultantes de todo esse procedimento de beneficiamento (5.170g), foram perfeitamente homogeneizadas e subdivididas em 13 amostras iguais de 397g, sendo que doze amostras foram distribuídas nas condições previstas de conservação, e a última foi embalada em vidro hermético a 10°C para ensaios de laboratório.

Em abril do ano seguinte, foi novamente executada a

coleta manual das sementes no mesmo local, seguindo todos os mesmos procedimentos do ano anterior. Foram coletadas 6.075g de material com 23,47% de teor de água que, após beneficiamento e secagem resultou em 2.900g de sementes granadas com 10,3% de grau de umidade. Esse material foi dividido em embalagens herméticas e conservado a 10°C para ensaios de laboratório, com exceção de uma porção de 250g que foi embalada em saco de papel e mantida em sala de laboratório para observações sobre o armazenamento em condição não controlada.

## 2 - CARACTERIZAÇÃO DA SEMENTE

O que se chama "semente" de *Paspalum notatum* é, na verdade, espiguetas contendo a cariopse protegida pelas glumelas (lema e pálea), e externamente pelas glumas.

A lema e a pálea podem se manifestar de cor verde ou palha, variação essa verificada até dentro da mesma panícula.

### 2.1 Composição do lote de sementes

Foi determinada a porcentagem em massa de cada cor no lote original tanto das sementes recém-colhidas como das beneficiadas, nas duas safras. Uma vez separadas pela cor, determinou-se também a viabilidade dessas sementes (Metodologia explicada no item 7.1). Após a conservação, efetuou-se

novamente o cálculo da porcentagem de sementes de cada cor nas diferentes condições de armazenamento.

## 2.2 Massa de mil sementes

Para avaliação da massa de mil sementes, utilizaram-se as sementes limpas e ventiladas, contendo 99% de sementes granadas, com um grau de umidade de 10,6%.

Foram contadas e pesadas oito amostras ou repetições de 100 sementes cada, e calculados a variância, o desvio padrão e o coeficiente de variação desses valores. Quando o coeficiente de variação não excedeu 4,0%, o resultado da determinação foi calculado multiplicando-se a massa média de 100 sementes por dez. Se o coeficiente ultrapassou aquele valor, outras 8 repetições foram avaliadas (BRASIL, 1992).

## 3 - EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Doze amostras de 397g de sementes de *Paspalum notatum* da coleta de 1990 foram colocadas individualmente na parte superior de dessecadores herméticos contendo, na parte inferior, solução saturada de um determinado sal, de modo que se obtiveram diferentes umidades relativas (33,0 - 57,5 e 76,0%), cada uma delas associada às temperaturas de 10, 20, 30 e 40°C.

Para se obter 33,0 - 57,5 e 76,0% de umidade relativa, preparou-se, respectivamente, soluções saturadas de  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ ;  $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ ; e  $NaCl$  (WINSTON, 1960).

As condições de conservação foram então, as seguintes:

1. 10°C - 33,0% UR
2. 10°C - 57,5% UR
3. 10°C - 76,0% UR
4. 20°C - 33,0% UR
5. 20°C - 57,5% UR
6. 20°C - 76,0% UR
7. 30°C - 33,0% UR
8. 30°C - 57,5% UR
9. 30°C - 76,0% UR
10. 40°C - 33,0% UR
11. 40°C - 57,5% UR
12. 40°C - 76,0% UR

Mensalmente, as sementes foram submetidas ao teste de germinação, quando foram determinadas as porcentagens de plântulas normais, anormais e infectadas, e de sementes dormentes e mortas.

#### 4. DETERMINAÇÃO DO GRAU DE UMIDADE

Dois amostras de aproximadamente 3,0 gramas de sementes foram pesadas e colocadas em latas abertas, mantidas em estufa com ventilação adequada mas não forçada, à temperatura de  $105^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas. Após esse período, as sementes foram novamente pesadas, e a porcentagem de água foi calculada utilizando-se a fórmula:

$$\% \text{ água} = \frac{M_i - M_f}{M_i} \times 100$$

Mf = massa final

Mi = massa inicial

#### 5. ELABORAÇÃO DA CURVA DE EMBEBIÇÃO

Sementes intactas de *Paspalum notatum* (4 repetições de 1g cada) foram colocadas para embeber em bequer com água destilada em condição de ambiente de laboratório. Durante as primeiras oito horas, a avaliação foi feita a cada 2 horas, e a seguir a cada 24 horas até completar 96 horas de embebição, em tratamentos isolados para cada período. A taxa de embebição foi medida através da determinação do aumento de massa das sementes. Além das sementes intactas de *Paspalum notatum*, foi também elaborada a curva de embebição das sementes sem lemas; das sementes sem lemas e sem páleas (cariopses nuas); das

sementes esscarificadas com ácido sulfúrico concentrado por 20 min; e das estruturas que envolvem a semente (lemas e páleas isoladas).

Os valores foram transformados em porcentagens de ganho de água.

## 6. ELABORAÇÃO DA CURVA DE GERMINAÇÃO

As Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992) recomendam a primeira contagem do teste de germinação dessa espécie aos 7 dias, e a final aos 28 dias. Notou-se no entanto, nos tratamentos que ocasionaram a germinação, que esta se manifestava nos primeiros dias, e que com o prolongamento do teste não mais ocorria a germinação, porém aumentava a porcentagem de sementes mortas. Assim, para comprovação dessa observação, foi efetuada a curva de germinação, colocando-se oito repetições (de 50 sementes cada) a 32°C em luz contínua, sobre substrato papel de filtro, efetuando-se as contagens diariamente, até os 28 dias.

Para efeito da elaboração da curva de germinação, o maior valor obtido foi considerado 100%, e os demais valores transformados em relação a este.

## 7. TESTES DE GERMINAÇÃO

### 7.1 Métodos gerais de germinação

As sementes foram colocadas em caixas gerbox especiais para germinação, sobre substrato papel de filtro umedecido (Whatmann nº 1). Foram utilizadas 4 repetições de 50 sementes cada.

As caixas foram levadas para germinador a 32°C constante (exceto no ensaio de diferentes temperaturas) e luz contínua, obtida por lâmpadas fluorescentes.

A verificação do número de sementes germinadas foi efetuada aos 7 e 14 dias, considerando-se germinadas as sementes com protrusão de radícula, classificadas aos 14 dias como plântulas normais (com todas as estruturas essenciais bem desenvolvidas, completas e sadias), anormais (deformadas) ou infectadas; as sementes não germinadas foram diferenciadas em dormentes ou mortas.

A distinção entre sementes dormentes e mortas só foi possível através do método topográfico do cloreto de 2,3,5 trifenil tetrazólio (DELOUCHE et al., 1962). Por ocasião da contagem final (14 dias), cada semente de cada repetição foi bisseccionada longitudinalmente, colocou-se uma das metades em solução a 0,5% de sal de tetrazólio, mantendo-a a 30°C, durante 3 horas, em bequer revestido com papel alumínio. Passado esse tempo, a solução foi drenada completamente, as sementes lavadas

em água corrente, e mantidas em bequer com água durante a avaliação, executada em lupa binocular, possibilitando um aumento de dezoito vezes para a interpretação da intensidade e local da coloração no embrião, segundo critério de DELOUCHE et al. (1962) .

Na análise de substâncias promotoras ou inibidoras da germinação de sementes de *Paspalum notatum*, foi considerada germinada a semente com protrusão de radícula, avaliada após 7 dias, no caso de sementes intactas, ou após um determinado número de horas, ou no máximo até 4 dias, no caso de cariopses nuas, pois estas germinavam mais rapidamente, e estavam mais susceptíveis à contaminação por fungos; o fungicida só foi utilizado quando necessário, de modo a evitar interferências com as substâncias de crescimento envolvidas no estudo.

Quando se intencionou avaliar, além do valor total de germinação, as diferenças na velocidade de germinação, as contagens foram efetuadas diariamente, e o índice calculado através da fórmula proposta por MAGUIRE (1962):

$$ING = G1/N1 + G2/N2 + \dots + Gn/Nn ; \quad \text{onde}$$

ING = índice de velocidade de germinação.

G1, G2, ... Gn = número de sementes germinadas computadas no primeiro, no segundo, até o último dia de contagem.

N1, N2, ... Nn = número de dias a partir da semente até a primeira, a segunda, a última contagem.

## 7.2 Temperatura

Foi estudado o efeito de temperaturas constantes de 15, 20, 25, 30, 32, 35 e 40°C na germinação, obtidas em câmaras próprias para germinação, dotadas de iluminação contínua. Também foram avaliadas as temperaturas alternadas de 20-30, 30-20, 15-35 e 35-15°C. Em cada alternância (por exemplo 20-30°C), sempre a primeira temperatura mencionada (20°C) foi utilizada por 16 horas, e a seguinte (30°C) por 8 horas; a maior temperatura foi acompanhada de presença de luz.

## 7.3 Água ou KNO<sub>3</sub> no substrato

O substrato foi mantido suficientemente umedecido com água destilada, durante todo o teste de germinação, de maneira a proporcionar às sementes a quantidade de água necessária para sua germinação.

Quando se avaliou o efeito do KNO<sub>3</sub> na germinação das sementes, o substrato foi umedecido apenas com solução a 0,2% de Nitrato de Potássio.

## 7.4 Luz

Para se avaliar o efeito da luz/escuro na germinação de *Paspalum notatum*, as sementes foram colocadas sobre papel de filtro umedecido em caixas gerbox, e estas foram envolvidas em

saco plástico transparente (efeito de luz) ou saco plástico preto (efeito de escuro) durante todo o período do teste de germinação. A instalação e as contagens no tratamento do escuro foram realizadas em câmara escura, sob luz verde.

### 7.5 Fornecimento de oxigênio

Para aumentar a disponibilidade de oxigênio, as sementes foram colocadas para germinar sobre substrato úmido em gerbox hermeticamente fechado, contendo no centro uma placa de Petri de 4cm de diâmetro, aberta, com 10ml de  $H_2O_2$  30%.

## 8 - TRATAMENTO DE CALOR

Submeteram-se as sementes ao tratamento de calor de 40 ou 60°C em condições herméticas para avaliar apenas o efeito do calor sem perda de água, e em condições não herméticas, para que esse tratamento possibilitasse a secagem da semente.

O efeito do fogo também foi avaliado, tanto em relação à ação do calor, quanto à destruição que ele causa nos tegumentos; as sementes ficaram sobre peneiras de arame trançado e foram colocadas diretamente na chama em bico de bunsen, pelo tempo determinado no tratamento.

## 9 - RETIRADA DA LEMA E DA PÁLEA DA SEMENTE

A retirada da lema, e em seguida da pálea, foi feita em cada semente, manualmente, com auxílio de pinça e estilete, sob lupa.

## 10 - LAVAGEM DAS SEMENTES EM ÁGUA CORRENTE

A lavagem das sementes em água corrente foi feita de modo intermitente; as sementes foram colocadas em funil de Büchner onde eram lavadas por 1 minuto, a cada intervalo de 3 minutos, utilizando-se para isso um extrator soxhlet. O período de lavagem variou de 8 a 96 horas.

## 11 - ESCARIFICAÇÃO QUÍMICA DAS SEMENTES

Neste ensaio de escarificação, foi utilizado o ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) concentrado ou diluído, conforme o tratamento, e por períodos de exposição que variaram de zero a 100 minutos. Após o tratamento com ácido sulfúrico, as sementes foram lavadas em água corrente por 10 minutos, e passadas rapidamente por uma solução de NaOH a 1% a fim de neutralizar qualquer resíduo ácido para serem, posteriormente, submetidas ao teste de germinação.

O próprio hidróxido de sódio foi utilizado em solução a 20% para verificação de seu efeito corrosivo nos tegumentos, por períodos que variaram de zero a 60 minutos.

## 12 - ESTRATIFICAÇÃO DAS SEMENTES

As sementes foram colocadas sobre substrato úmido, cobertas por algodão umedecido dentro de gerbox fechado, e mantidas à temperatura de 10°C por períodos que variaram de zero a seis meses. Passado o período do tratamento, foram submetidas ao teste de germinação.

## 13 - ENVOLVIMENTO DE SUBSTÂNCIAS DE CRESCIMENTO

As substâncias de crescimento foram utilizadas diretamente para umedecer o substrato papel de filtro. As sementes foram colocadas intactas, quando se avaliou promotores de germinação, ou desprovidas de lemas e páleas ao se avaliar inibidores. No caso de cariopses nuas, estas foram procedentes das sementes conservadas em vidro hermético a 10°C, portanto com alta viabilidade, e total dormência, sem germinação em condições normais para a espécie. Quando as sementes foram utilizadas intactas, estas foram retiradas do ensaio de conservação, na condição que manifestava alguma germinação,

porém com pelo menos 40% de dormência, uma vez que com as sementes totalmente dormentes não se obteve qualquer resultado em ensaios preliminares.

### 13.1 Tratamento com ácido giberélico ( $GA_3$ )

O ácido giberélico foi preparado nas concentrações 0; 50; 100; 250; 500; 1.000 e 2.000  $\mu\text{g/ml}$ .

As sementes foram utilizadas intactas, provenientes da conservação por 36 meses a 20°C contendo em vidro hermético 33,0% UR. Nessa condição, as sementes apresentavam, pelo teste de germinação, 32% de plântulas normais, 40% de dormência e 28% de sementes mortas. A avaliação foi feita até os 7 dias do início do tratamento.

### 13.2 Tratamento com ácido abscísico (ABA)

O ácido abscísico foi preparado nas concentrações de 26,43; 79,29 e 158,58  $\mu\text{g/ml}$ . As sementes foram procedentes de vidro hermético a 10°C, conservadas por 18 meses, apresentando cerca de 80% de viabilidade, sem qualquer germinação quando colocadas intactas sobre o substrato.

Para testar o efeito inibidor do ácido abscísico, as sementes foram individualmente desprovidas da lema e da pálea para então serem submetidas ao tratamento. As avaliações foram feitas diariamente, quando se observou a velocidade de

germinação em cada caso. A avaliação final foi feita aos 4 dias, na intenção de diminuir a possível contaminação por fungos.

### 13.3 Tratamento com 6-Benzil Adenina (6BA)

A solução de 6-Benzil Adenina foi preparada na concentração de 100 µg/ml para ser comparada com a testemunha (apenas água destilada).

Como se buscou a promoção da germinação da espécie pela citocinina, as sementes foram utilizadas intactas, nas mesmas condições que do ensaio de GA<sub>3</sub>.

### 13.4 Extração e fracionamento

Para extração e fracionamento, utilizou-se o método descrito por VALIO (1969) e modificado por USBERTI (1979). Cinco gramas do material (sementes intactas, glumelas ou cariopses nuas) foram moídos e homogeneizados com 50ml de metanol 80%. O extrato assim obtido foi mantido em refrigerador por 24 horas. Em seguida foi filtrado a vácuo, e ao resíduo foram acrescentados 50ml de metanol 80% que voltou ao refrigerador por 24 horas.

Após esse período, o resíduo foi novamente filtrado e este juntado ao filtrado anterior. Após a remoção do metanol em evaporador rotatório sob pressão reduzida e temperatura de

35-40°C, procedeu-se ao fracionamento do extrato aquoso para a obtenção das frações ácida, básica e neutra, em esquema apresentado na página seguinte.

### 13.5 Cromatografia

Foi utilizado o papel Whatmann nº 3 de cromatografia, cortado em tiras de 20x20cm onde se aplicou a fração ácida, básica ou neutra correspondente a 5 gramas de sementes.

O solvente utilizado foi isopropanol:amônia:água, na proporção de 10:1:1. Na avaliação da fração ácida, foi também utilizado butanol:ácido acético:água, na proporção de 6:1:2 e ainda benzeno:ácido propiônico:água (2:2:1); ou 2 propanol:amônia:água (8:1:1). O percurso do cromatograma foi ascendente, percorrendo uma distância de 16cm do papel.

### 13.6 Biotestes

Para a execução do bioteste, o cromatograma foi dividido longitudinalmente em 4 repetições, e transversalmente em 10 porções correspondentes às 10 faixas de Rf (no texto, as faixas foram referidas como Rf 0,1; 0,2; etc.) que foram recortadas e colocadas ao acaso em cubetas de polietileno com 2ml de água destilada, onde foram biotestadas. Foi também realizado o bioteste para o controle, com 8 repetições.



### 13.6.1 Alongamento de hipocótilo de alfaca

Este bioteste foi realizado de acordo com FRANKLAND & WAREING (1960) para detecção de substâncias giberelínicas. Sementes de alfaca do cultivar "Grand Rapids" foram colocadas para germinar em placas de Petri a 25°C por 24 horas, sob luz contínua. Em seguida foram selecionadas e colocadas 4 plântulas por cubeta de polietileno, sobre o papel cromatografado, umedecido com 2ml de água destilada, e transferidas para câmara de crescimento a 25°C, com iluminação contínua. Após 72 horas foram medidos os hipocótilos, e as medidas transformadas em porcentagens em relação ao controle.

Como padrão, foram utilizadas soluções de GA<sub>3</sub> nas concentrações de 0,1; 1,0 e 10,0 µg/ml.

### 13.6.2 Germinação de sementes de alfaca

A detecção de ácido abscísico foi feita pelo bioteste da inibição da germinação de sementes de alfaca (WEBB & WAREING, 1972).

Sementes da alfaca "Grand Rapids" foram colocadas para germinar, com quatro repetições de 25 sementes, em placas de Petri contendo como substrato, o papel cromatografado da fração ácida. As placas de Petri foram colocadas em câmara de germinação a 25°C e luz contínua, com a avaliação realizada após 24 horas.

### 13.6.3 Germinação da semente de *Paspalum notatum*

Utilizou-se a própria semente de *Paspalum notatum* para detectar a presença de promotores ou inibidores no extrato da semente. No ensaio de promotores, utilizou-se a semente dormente, com glumas e glumelas, enquanto que no ensaio de inibidores utilizou-se a cariopse nua, livre daquelas estruturas. Quatro repetições de 25 sementes intactas (ou cariopses) foram lavadas em solução 0,2% de hipoclorito de sódio e colocadas em placas de Petri sobre o papel cromatografado umedecido com água destilada. A seguir, as placas foram levadas para as condições de germinação.

Evitou-se o tratamento fungicida; no entanto, quando ainda havia contaminação durante o teste de germinação, este foi repetido, utilizando-se também o antifúngico Micostatin (Nistatina - 100 unidades/ml), preparado a partir de drágeas, umedecendo-se o substrato de germinação com essa solução.

### 13.7 Determinação química de citocininas

As citocininas da fração básica foram detectadas também por método químico, nebulizando-se uma das repetições do papel cromatografado com reagente de Wood (WOOD, 1955): 0,4g de Bromofenol azul em 100ml de acetona + 2g de nitrato de prata em 100ml de água. O reagente de Wood desenvolve forte coloração azul na presença de substâncias purínicas. Somente as faixas de Rf que desenvolveram aquela coloração foram biotestadas.

### 13.8 Revelação de substâncias fenólicas

Utilizou-se vários reveladores de substâncias fenólicas, segundo metodologia de HARBORNE (1989): luz ultravioleta, vapor de amônia, NaOH-2%, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-5%, FeCl<sub>3</sub>-1% e AlCl<sub>3</sub>-1%.

## 14. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento estatístico utilizado em todos os experimentos foi o completamente casualizado (SNEDECOR, 1962). Os dados em porcentagens, foram transformados em arco seno  $\sqrt{x}/100$  para fins de normalizar a sua distribuição.

Para o estudo da conservação, foi utilizado um fatorial 3x3 para temperatura e umidade relativa, em ensaios inteiramente casualizados. Quando o Teste F deu significativo, foi feita a comparação entre médias pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de significância (GOMES, 1985).

### III - RESULTADOS

#### 1 - CARACTERIZAÇÃO DA SEMENTE

O material colhido apresentou, em cada 100 sementes, aproximadamente 77 sementes chochas e 23 granadas, na média das duas colheitas. Após toda a operação de beneficiamento, a colheita de 1990 apresentou, em cada 100 sementes, uma média de 96 granadas e 4 chochas; a colheita de 1991 mostrou, após beneficiamento, 99,25 granadas e 0,75 chochas.

##### 1.1 Composição do lote de sementes

Avaliado o fator cor das glumelas na composição do lote, verificou-se que a semente colhida em 1990 apresentou após beneficiamento, a seguinte composição, em massa:

78,00% - semente inteiramente de cor verde

7,05% - semente inteiramente de cor palha

14,95% - fase intermediária, apresentando uma face verde e outra face palha

Quanto à viabilidade, a semente de cor verde apresentou 84,5%; a de cor palha 75,0% , e intermediária 75,6%. A viabilidade do lote original, sem classificação por cor foi de 82,5%.

Quando se avaliou a composição do lote no final do

armazenamento, verificou-se que nas condições em que houve total manutenção da viabilidade, houve também a manutenção da cor da semente, nas mesmas proporções iniciais. Nas demais condições, havendo perda de viabilidade, houve diminuição significativa da semente de cor verde, até seu desaparecimento, por ocasião da perda total de viabilidade. Com a diminuição da viabilidade, houve maior ocorrência de semente na cor intermediária, e nas condições onde já não havia viabilidade, a porcentagem de sementes de cor palha era de 100%.

As sementes colhidas em 1991 mostraram proporções diferentes de cada cor. Antes da ventilação, observou-se que das sementes granadas, 19,3% eram de cor verde; 61,3% eram palha, e 19,3% intermediária. Das sementes chochas, 34,9% eram de cor verde; 46,4% palha e 18,64% intermediária. Após o beneficiamento, ficou assim composto o lote de sementes:

- 25,00% - semente inteiramente de cor verde
- 53,25% - semente inteiramente de cor palha
- 21,75% - na fase intermediária

O lote original, após beneficiamento e secagem, apresentando 10,3% de teor de água, foi embalado em vidro hermético sem classificação por cor e mantido a 10°C para utilização em ensaios de laboratório. Após 24 meses nessas condições, determinou-se novamente a composição do lote, com seus respectivos valores de viabilidade:

17,75% semente verde - 65% de viabilidade  
51,50% semente palha - 90% de viabilidade  
30,75% intermediária - 79% de viabilidade

Pelos resultados da conservação, verificou-se que a coloração das glumelas mudou de verde para a fase intermediária, e desta para a cor palha, nos tratamentos em que houve perda total da viabilidade. Quanto ao nível de maturação no momento da coleta, verificou-se que quando as panículas estavam com a maioria das sementes na cor verde, estas é que detinham a maior viabilidade do lote (primeira coleta). Quando, porém, a maioria das sementes estava no campo, na cor palha (segunda coleta), a maior viabilidade do lote era pertencente à semente cor palha.

## 1.2 Massa de mil sementes

Após beneficiamento e secagem, as sementes, com um teor de água ao redor de 10,1%, apresentaram 3,33g de massa de mil sementes quando colhidas em 1990, e 3,40g quando colhidas em 1991.

## 2 - CONSERVAÇÃO DAS SEMENTES

O teor de água das sementes, antes de iniciada a conservação, era de 10,6%. Após atingido o equilíbrio higroscópico nas diferentes condições de temperatura e umidade relativa, as sementes mantiveram o teor de água praticamente inalterado, durante todo o tempo de conservação. Esses valores constam da TABELA 1.

Pelos valores apresentados, notou-se que na mesma umidade relativa foram pequenas as diferenças quanto ao teor de água das sementes, mesmo nas diferentes temperaturas de conservação. Durante o tempo de conservação, também houve variação muito pequena no grau de umidade das sementes.

A curva de deterioração no entanto, variou muito conforme as condições de temperatura e umidade relativa (FIGURA 1). As diferenças começaram a ser manifestadas a partir dos 2 meses de conservação. A análise fatorial apresentou alta significância em todas as épocas, pelo teste F. Quanto ao coeficiente de variação, este não ultrapassou 12% em nenhum momento. Na TABELA 2, estão apresentados alguns pontos importantes da análise dos fatoriais temperatura e umidade relativa durante a conservação: analisando o ponto de 4 meses de armazenamento, dentro de cada uma das umidades relativas, apenas a temperatura de 40°C diferiu das demais, a 57,5 e 75,0% UR. As demais temperaturas não acusaram diferenças na viabilidade da semente.

TABELA 1 - Teor de água das sementes de *Paspalum notatum* durante a conservação nas diferentes condições de temperatura e umidade relativa.

Tratamento	tempo, em meses			
	12	24	36	48
	(%)	(%)	(%)	(%)
1. 10°C - 33,0% UR	10,8	10,7	10,9	10,7
2. 10°C - 57,5% UR	12,7	11,8	12,0	11,8
3. 10°C - 75,0% UR	14,5	14,7	14,8	14,5
4. 20°C - 33,0% UR	11,2	11,1	11,3	11,4
5. 20°C - 57,5% UR	12,1	12,0	12,0	11,8
6. 20°C - 75,0% UR	14,0	14,2	- <sup>1</sup>	-
7. 30°C - 33,0% UR	10,8	10,5	9,8	-
8. 30°C - 57,5% UR	11,7	11,4	-	-
9. 30°C - 75,0% UR	13,7	13,2	-	-
10. 40°C - 33,0% UR	10,6	-	-	-
11. 40°C - 57,5% UR	11,2	-	-	-
12. 40°C - 75,0% UR	13,9	-	-	-

<sup>1</sup> Não houve avaliação porque a semente já não apresentava viabilidade.

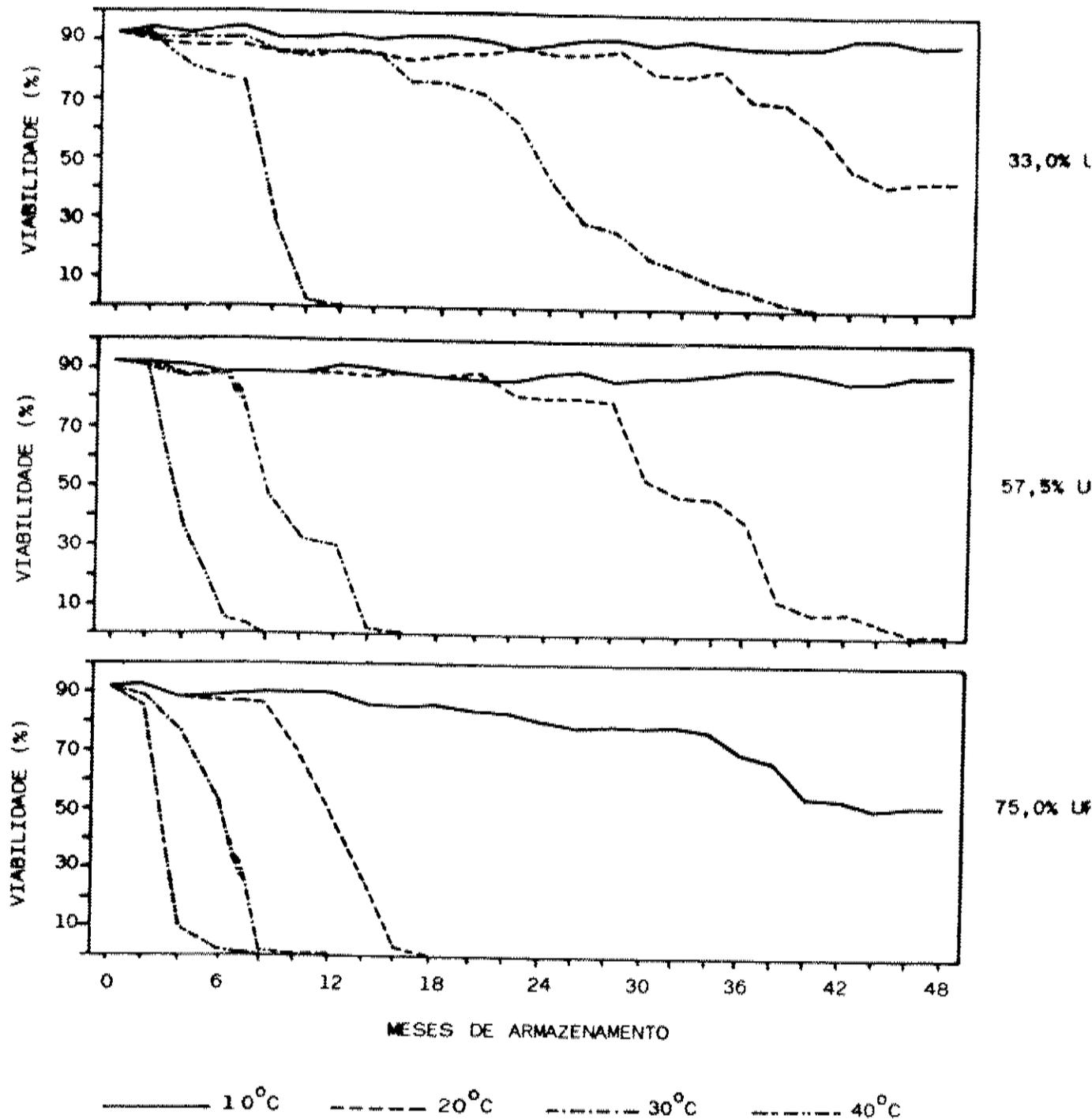


FIGURA 1 - Viabilidade de sementes de *Paspalum notatum* conservadas por 48 meses em diferentes temperaturas (10, 20, 30 e 40°C) e em diferentes condições de umidade relativa (33,0; 57,5 e 75,0%).

TABELA 2 - Análise dos fatoriais temperatura x umidade relativa na viabilidade das sementes de *Paspalum notatum* em algumas fases da conservação.

Análise Estatística	Dentro de 33,0% UR				Dentro de 57,5% UR				Dentro de 75,5% UR				
	meses temperatura	4	8	12	32	4	8	12	32	4	8	12	32
10°C	a <sup>1</sup>	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
20°C	a	a	a	b	a	a	a	b	a	a	b	b	
30°C	a	a	a	c	a	b	b	c	a	b	c	b	
40°C	a	b	b	d	b	c	c	c	b	b	c	b	

Análise Estatística	Dentro de 10°C				Dentro de 20°C				Dentro de 30°C				Dentro de 40°C				
	meses umidade relativa	4	8	12	32	4	8	12	32	4	8	12	32	4	8	12	32
33,0%	a <sup>1</sup>	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
57,5%	a	a	a	a	a	a	a	b	a	b	b	b	b	b	b	a	a
75,0%	a	a	a	b	a	a	b	c	a	c	c	b	c	b	a	a	

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

Também dentro das diferentes temperaturas, não houve diferenças entre as umidades, aos quatro meses. A única exceção aconteceu dentro da temperatura de 40°C, quando a viabilidade foi mantida melhor a 33,0% UR, seguida de 57,5% UR, e em último lugar, a de 75,0% UR, considerada portanto, a pior condição de conservação.

Um outro ponto importante nos resultados, aconteceu aos 8 meses de conservação. Nesse caso, dentro de cada uma das umidades relativas houve mais diferenças do que aos 4 meses; mesmo a 33,0% UR, a temperatura de 40°C afetou negativamente a conservação da semente. Esse efeito negativo da temperatura mais alta foi também observado a 30°C, quando as sementes se encontravam a 57,5 ou 75,0% UR. Avaliando dentro de cada temperatura, tanto de 10 como de 20°C, os resultados em qualquer umidade não diferiram entre si, com os melhores valores de viabilidade (ao redor de 90%). Dentro de 30°C, no entanto, aumentando-se o valor da umidade relativa, diminuiu a viabilidade das sementes. O mesmo aconteceu dentro de 40°C, com a diferença de que nesse caso os efeitos de 57,5 e 75,0% UR foram iguais entre si, uma vez que em ambos a viabilidade das sementes foi nula.

Consta também da Tabela 2, a análise aos 12 meses de armazenamento, pois nesse ponto os efeitos de temperatura e umidade relativa tornaram-se bastante definidos. Dentro de 33,0% UR, ficou bastante evidenciado o efeito prejudicial da temperatura de 40°C, enquanto as demais temperaturas mantiveram praticamente inalterada a viabilidade das sementes. Dentro de

57,5% UR, a temperatura de 30°C provocou uma queda bastante acentuada na viabilidade das sementes, enquanto os efeitos de 10 e 20°C permaneceram inalterados na viabilidade da semente; a temperatura de 40°C já havia provocado a deterioração total das sementes. Dentro de 75,0% UR, a diferença em relação a 8 meses ocorreu somente na temperatura de 20°C, quando prosseguiu a curva descendente da viabilidade. Ainda aos 12 meses, analisando dentro de temperaturas, a 10°C todas as umidades continuaram a manter ao redor de 90% de viabilidade. Também a 20°C, as diferentes umidades tiveram o mesmo efeito, com exceção da umidade relativa de 75,0%, que reduziu a viabilidade para próximo de 50%. Dentro da temperatura de 30°C, a diferença foi expressiva, conforme a umidade relativa: cerca de 90% de viabilidade a 33,0% UR, de 30% a 57,5% UR, e nula a 75,0% UR. Dentro de 40°C, a viabilidade foi nula em todas as umidades relativas.

Quando se observou uma fase mais avançada do período de conservação, aos 32 meses, dentro de 33,0% UR as quatro temperaturas refletiram 4 diferentes níveis de viabilidade, onde a 10°C a viabilidade continuava inalterada, e a 40°C era nula. Dentro de 57,5% UR, na temperatura de 10°C a viabilidade estava ainda ao redor de 90%, a 20°C estava próximo de 50%, e tanto a 30°C como a 40°C era nula. Dentro de 75,0% UR, apenas na temperatura de 10°C havia ainda resposta de viabilidade, num alto valor (próximo de 80%).

Nesse mesmo período, quando se variou o fator umidade

relativa dentro de cada uma das temperaturas, a 10°C somente a 75,0% UR houve declínio da viabilidade, porém ainda indicando um valor próximo de 80%. Dentro de 20°C, na umidade relativa de 33,0%, a viabilidade das sementes era próxima de 80%, em 57,5% UR era próxima de 50%, e a 75,0% UR era nula. Dentro de 30°C, só havia 10% de viabilidade a 33,0% UR; nas demais temperaturas, a viabilidade era nula. Dentro de 40°C, não existia mais viabilidade das sementes, em nenhuma temperatura.

Foram apresentados até o momento, apenas os dados de viabilidade das sementes de *Paspalum notatum*, uma vez que a conservação por até 48 meses, possibilitou pouca diminuição nos valores de sementes dormentes. Na FIGURA 2, estão expostas as poucas condições controladas de conservação que se refletiram em aumento do valor de germinação. Nessa figura, verifica-se que a temperatura de conservação de 20°C foi a que melhor possibilitou a diminuição da dormência e conseqüente aumento de germinação; quando utilizada em combinação com baixa umidade relativa, conseguiu-se até 29% de germinação após 36 meses de conservação, sem a utilização de qualquer tratamento para superação da dormência da semente. Após esse período, ocorreu uma nítida diminuição da viabilidade das sementes (Figura 1), que refletiu na diminuição da germinação. Quando a semente foi conservada a 33,0% UR, a diminuição da dormência não diferiu substancialmente entre 20 e 30°C, até os 24 meses de conservação; a partir desse ponto, notou-se início da

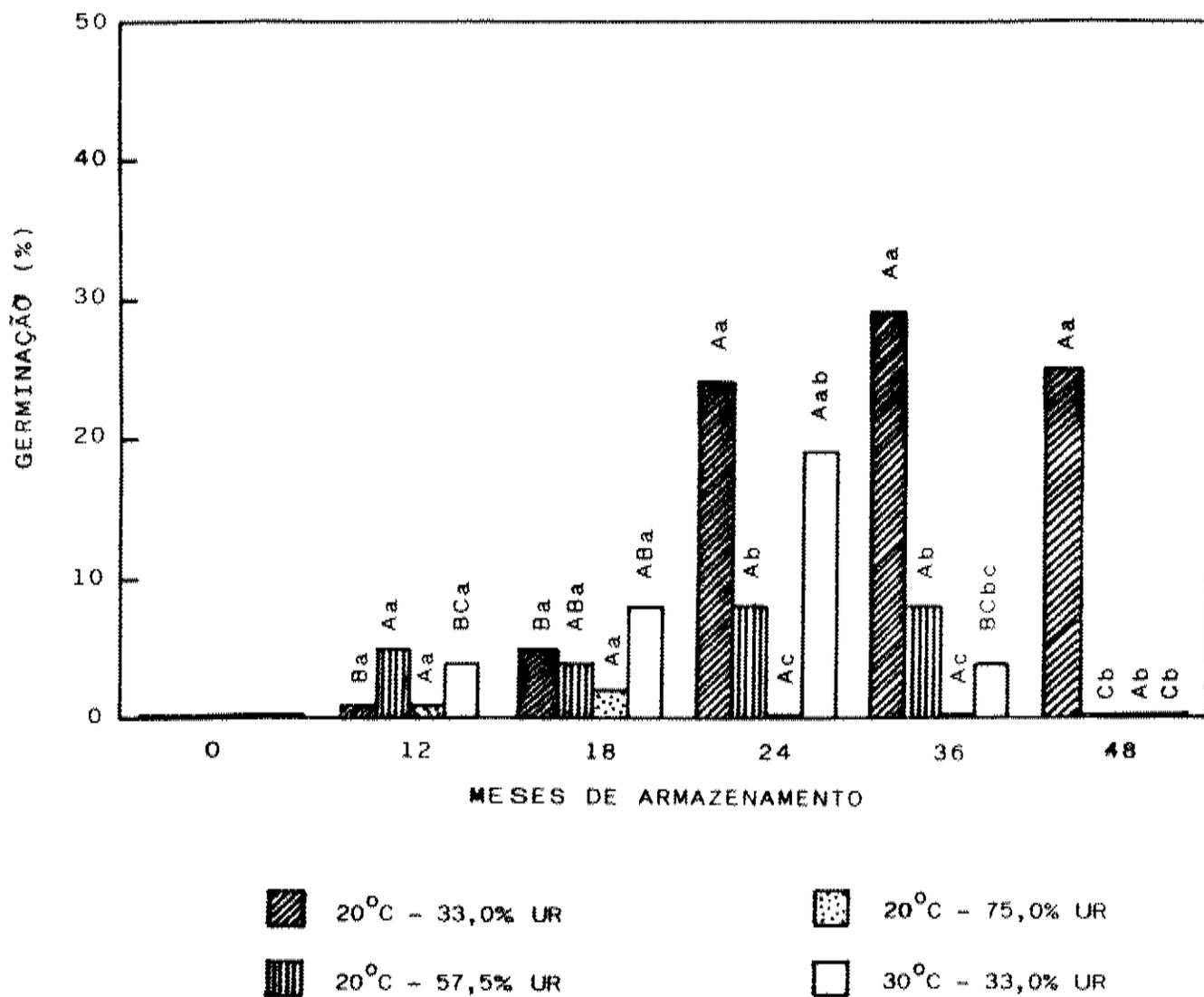


FIGURA 2 - Porcentagem de germinação de *Paspalum notatum* após conservação das sementes em condições controladas de temperatura e umidade relativa.

Letras maiúsculas: comparação de médias entre os meses de armazenamento. Letras minúsculas: comparação de médias dentro de cada época.

deterioração das sementes, principalmente daquelas conservadas na temperatura mais alta.

Quando as sementes foram conservadas em sacos de papel, em condição ambiente, as avaliações de germinação, dormência e umidade foram feitas mensalmente, porém, devido à uniformidade dos resultados, aqui foram apresentadas apenas a cada quatro meses (TABELA 3). Pela análise da tabela, verificou-se que foi possível um valor de germinação bem maior quando as sementes foram mantidas em saco de papel, sujeitas às flutuações de temperatura e umidade ambientes, do que quando as sementes foram mantidas em vidro hermético em temperatura constante. Assim, enquanto se conseguiu um máximo de 5% de germinação aos 12 meses, na melhor condição controlada (ainda na Figura 2), nesse mesmo intervalo de tempo foram obtidos 42% de germinação quando as sementes estiveram sujeitas a variações de temperatura e teor de água. Nessas condições, a germinação das sementes foi máxima (57%) aos 20 meses, como reflexo direto da diminuição da dormência (que caiu para 30,0%), sem alteração na viabilidade das sementes. Após 20 meses em condição ambiente, no entanto, iniciou-se uma fase acelerada de deterioração, culminando com 87,0% de sementes mortas aos 36 meses de conservação.

TABELA 3 - Determinação do teor de água e avaliação de plântulas normais, sementes dormentes e sementes mortas no teste de germinação de sementes de *Paspalum notatum* durante conservação em condição ambiente.

Tempo de conservação (meses)	Teor de água (%)	Teste de Germinação		
		Plântulas Normais (%)	Sementes Dormentes (%)	Sementes Mortas (%)
0	10,6b	0 e <sup>1</sup>	87,5a	12,5e
4	8,5d	0,25de	88,75a	11,0e
8	10,6b	15,0bc	73,0a	12,0e
12	11,0ab	42,0a	44,5b	13,5de
16	10,9ab	52,0a	36,0bc	12,0e
20	11,3a	57,0a	30,0bcd	13,0e
24	9,8c	53,0a	15,0cde	32,0cd
28	8,8d	51,5a	13,5de	35,0c
32	11,0ab	34,5ab	1,0f	64,5b
36	11,0ab	10,0cd	3,0ef	87,0a
CV (%)	0,85	22,75	17,07	17,76

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

### 3 - CURVA DE EMBEBIÇÃO

Quando se observa as curvas de embebição das sementes (FIGURA 3), nota-se que todas seguem praticamente paralelas, principalmente até 8 horas de embebição, em que a semente sem lema ocupa a curva mais inferior; esta foi seguida pela curva da semente sem lema e sem pálea, e, numa velocidade maior de embebição, a semente intacta (provida de lema e pálea). A semente es carificada com ácido sulfúrico ficou num plano intermediário entre a semente intacta, e aquela sem suas estruturas de proteção. Quando se executou a curva de embebição apenas de lemas e páleas, estas atingiram uma porcentagem muito superior de embebição.

### 4 - CURVA DE GERMINAÇÃO

Pela curva de germinação (FIGURA 4), verificou-se que após 14 dias da instalação do teste, não ocorreu mais a germinação, o que justificou não prosseguir com o teste até os 28 dias, que seria o último dia de contagem conforme recomendação das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992). O prosseguimento do teste de germinação por mais 14 dias aumentou muito a infecção por fungos e morte de sementes. Esse fato foi observado já nos primeiros ensaios, em que a permanência da semente por 28 dias no germinador, aumentava a

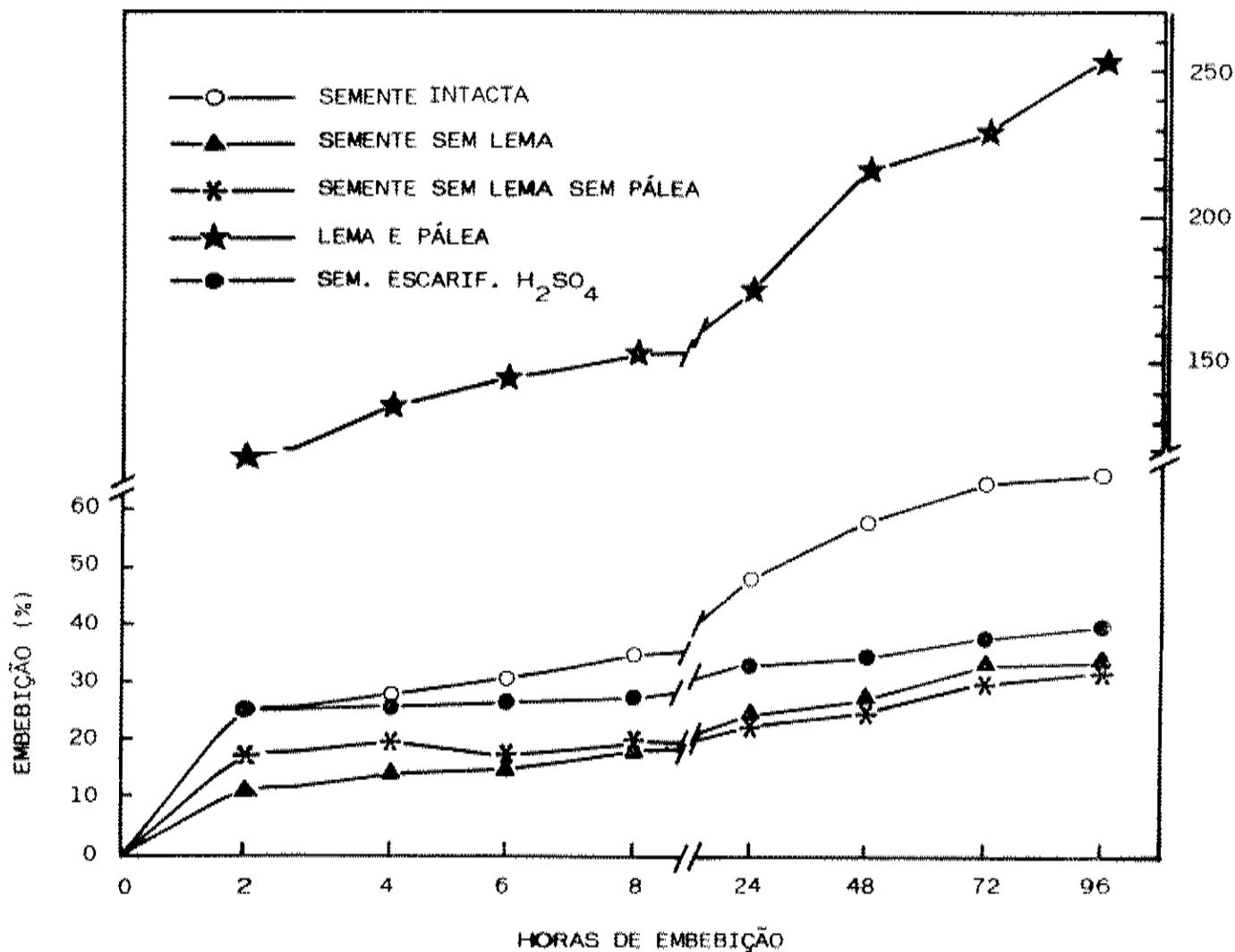


FIGURA 3 - Imbibição de sementes de Paspalum notatum, e de suas estruturas de revestimento, realizada em condições não controladas de temperatura

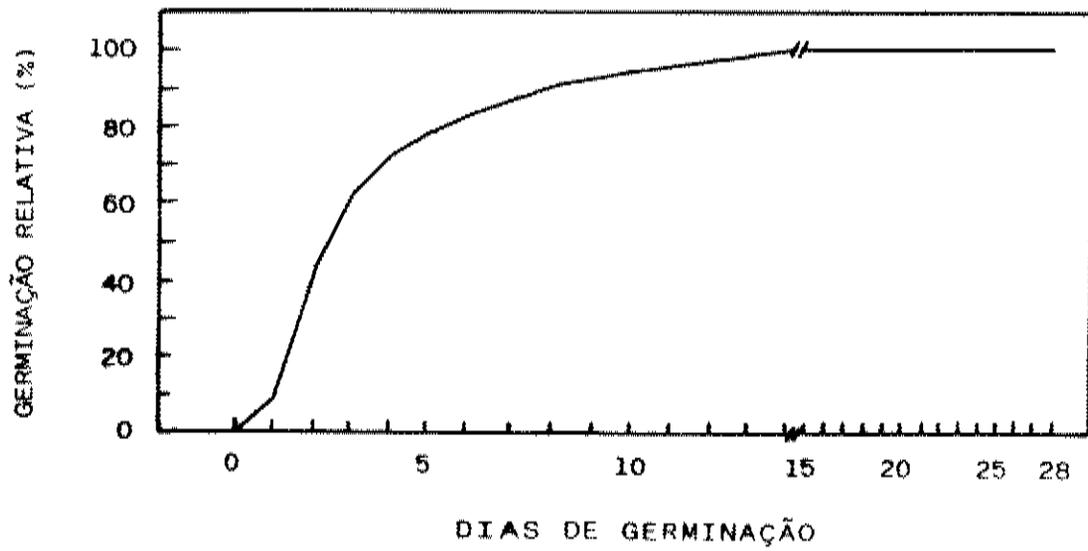


FIGURA 4 - Germinação de sementes de Paspalum notatum a 32°C, sob luz contínua.

porcentagem de sementes mortas. Por esse motivo, os testes de germinação foram encerrados aos 14 dias, ocasião em que se determinou o número de plântulas normais, anormais e infectadas, e de sementes dormentes e mortas.

## 5 - TEMPERATURA NA GERMINAÇÃO

Quando se avaliou o efeito de temperatura constante, a de 15°C foi a que proporcionou o menor valor de plântulas normais, e o maior de dormência (TABELA 4). Dentre as demais constantes, todas forneceram o mesmo nível de dormência, sendo que as temperaturas na faixa de 25 a 35°C resultaram em aumento significativo de plântulas normais, enquanto produziram os menores valores de sementes mortas. Ao se avaliar o índice de velocidade de germinação, a faixa ótima se estreitou para 30 a 35°C, uma vez que a 25°C a velocidade de germinação foi significativamente inferior às outras. A temperatura de 40°C, por outro lado, diminuiu a germinação e a dormência, porém provocou a maior porcentagem de sementes mortas, e a menor velocidade de germinação.

Dentre os tratamentos com temperaturas alternadas, aqueles que proporcionaram maior período de exposição à temperatura mais alta (30-20°C ou 35-15°C) forneceram os maiores valores de plântulas normais e as menores porcentagens de sementes mortas. Estes resultados foram comparáveis às

TABELA 4 - Avaliação de plântulas normais, sementes dormentes, sementes mortas e velocidade de germinação de sementes de *Paspalum notatum* quando submetidas a diferentes temperaturas constantes ou alternadas durante o teste de germinação.

Temperatura	Teste de Germinação			Velocidade de germinação (índice)
	Plantulas Normais (%)	Sementes Dormentes (%)	Sementes Mortas (%)	
15°C	15,0 <sup>d</sup>	35,0a	50,0abcd	0,39f
20°C	31,5cd	19,5b	49,0bcd	1,06ef
25°C	50,5abc	10,0bc	39,5cde	3,27cd
30°C	73,0a	5,5bc	21,5e	5,98a
32°C	68,5a	9,0bc	22,5e	4,98abc
35°C	65,0a	6,5bc	28,5de	5,79ab
40°C	21,5d	7,5bc	71,0a	1,97def
20-30°C	35,5bcd	2,0c	62,5ab	2,22de
30-20°C	65,0a	7,0bc	28,0de	4,15bc
15-35°C	29,5cd	16,0b	54,5abc	1,18ef
35-15°C	58,0ab	12,0bc	30,0de	3,56cd
CV (%)	14,32	29,00	13,57	23,62

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

melhores temperaturas constantes quanto ao teste de germinação. No entanto, ao se avaliar o índice de velocidade de germinação, as temperaturas alternadas foram menos eficientes do que temperaturas constantes; 30-20°C equiparou-se a 32 e 35°C, porém foi inferior a 30°C constante, verificando-se, então, uma melhor resposta da semente à temperatura constante de germinação.

Diante do exposto, considerando-se o teste de germinação e o de vigor (velocidade de germinação), as temperaturas mais indicadas para a germinação dessa espécie foram as constantes, na faixa de 30 a 35°C. Neste trabalho optou-se pela temperatura constante de 32°C.

## 6 - KNO<sub>3</sub> NO SUBSTRATO DE GERMINAÇÃO

Sementes de sete lotes com diferentes níveis de germinação (de 28,5 a 91,0%) foram colocadas para germinar sobre substrato umedecido com água destilada ou com solução de KNO<sub>3</sub> (TABELA 5). A análise estatística foi executada comparando-se os dois tipos de umedecimento, tanto para plântulas normais como para sementes dormentes e mortas. Em todos os lotes, a utilização de KNO<sub>3</sub> diminuiu a porcentagem de plântulas normais. A única exceção foi do lote de menor germinação; nesse caso a porcentagem de sementes mortas foi tão alta, que o tratamento não interferiu no valor de plântulas normais. Quanto à

TABELA 5 - Avaliação de plântulas normais, sementes dormentes e sementes mortas no teste de germinação de sete lotes de sementes de *Paspalum notatum* quando o substrato foi umedecido com água destilada ou com solução de  $KNO_3$ .

Lotes	Plântulas Normais (%)		Sementes Dormentes (%)		Sementes Mortas (%)	
	Com $H_2O$	Com $KNO_3$	Com $H_2O$	Com $KNO_3$	Com $H_2O$	Com $KNO_3$
1	28,5da <sup>1</sup>	16,0cA	3,0aB	16,5aA	68,5aA	67,5aA
2	34,0cA	16,0cB	1,0aB	13,0abA	65,0aA	71,0aA
3	58,0cA	41,5bB	4,5aA	9,0abA	37,5bB	49,5abA
4	72,0bcA	57,0abB	3,0aA	5,0abA	25,0bcB	35,0bcA
5	82,0abA	63,5abB	3,0aA	3,5abA	15,0cdB	33,0cA
6	83,0abA	63,0abB	3,5aA	1,0bA	13,5cdB	36,0bcA
7	91,0aA	75,0aB	4,0aA	6,0abA	5,0dB	19,0cA

<sup>1</sup> Letras minúsculas - comparação entre médias na coluna.

Letras maiúsculas - comparação entre médias na linha.

dormência, na maioria dos lotes não houve mudanças no seu nível, a não ser nos lotes 1 e 2, nos quais a dormência foi maior na presença de  $KNO_3$ .

Também as sementes mortas tiveram na média, sua porcentagem aumentada quando se umedeceu o substrato com  $KNO_3$ .

Por esses resultados, verificou-se que, de maneira geral, a utilização de  $KNO_3$  no substrato não ocasionou qualquer benefício em termos de plântulas normais. Pelo contrário, aumentou a porcentagem de sementes mortas.

## 7 - LUZ NA GERMINAÇÃO

O efeito de luz foi avaliado na germinação de sementes recém-colhidas, em ensaio conjunto com temperaturas; em cada temperatura (constante ou alternada) foi observada a germinação na luz e no escuro. A germinação foi nula em todas as condições estudadas.

Avaliou-se novamente o efeito de luz, desta vez na germinação de sementes não dormentes, após conservação por 9 meses a  $40^\circ C$  em condições não herméticas. A germinação foi determinada a  $32^\circ C$  em temperatura constante.

Pela análise dos resultados (TABELA 6), verificou-se que a luz favoreceu significativamente a germinação. Dessa maneira, as sementes de *Paspalum notatum* poderiam ser consideradas como fotoblásticas positivas. O escuro, no entanto, não impossibilitou a germinação da espécie.

TABELA 6 - Avaliação de plântulas normais, sementes dormentes e sementes mortas no teste de germinação de sementes de *Paspalum notatum*, quando o teste se realizou em presença ou ausência de luz.

Tratamento	Teste de Germinação		
	Plântulas Normais (%)	Sementes Dormentes (%)	Sementes Mortas (%)
claro	78,0a <sup>1</sup>	7,0b	15,0b
escuro	59,5b	16,0a	24,5a
CV (%)	6,20	21,78	11,46

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

## 8 - OXIGÊNIO NA GERMINAÇÃO

As sementes aos 4 meses após a colheita, conservadas em condição ambiente, foram colocadas para germinar em concentração normal, ou com maior disponibilidade de oxigênio. Pelos resultados da TABELA 7, verificou-se que após o tratamento, não houve ocorrência de plântulas normais, e que as diferenças observadas com relação a sementes dormentes ou mortas não foram estatisticamente significativas.

## 9 - TRATAMENTO DE CALOR

Quando se submeteram as sementes recém-colhidas e secas a tratamento de calor (40°C) em vidro hermético (TABELA 8), observou-se que até 4 dias não houve qualquer germinação, nem tampouco morte de sementes. Desta maneira, decidiu-se realizar essa avaliação a cada 30 dias por até 210 dias; não se conseguiu a germinação das sementes, porém tão somente acelerar sua deterioração. Tal observação foi possível quando se comparou os resultados deste tratamento com os de diferentes temperaturas de conservação, na Figura 1. No entanto, foi possível verificar alguma germinação pelo tratamento de calor. Assim, avaliou-se o efeito do mesmo tratamento de 40°C, porém desta vez em condições não herméticas, colocando-se as sementes em bequeres abertos, dentro de estufa a 40°C com circulação de ar. Tem-se os dados na TABELA 9.

TABELA 7 - Avaliação de plântulas normais, sementes dormentes e sementes mortas no teste de germinação de sementes de *Paspalum notatum*, quando o teste se realizou em concentração normal, ou com maior disponibilidade de oxigênio.

Concentração de oxigênio	Teste de Germinação		
	Plântulas Normais (%)	Sementes Dormentes (%)	Sementes Mortas (%)
normal	0	85,0a <sup>1</sup>	15,0a
enriquecido	0	79,0a	21,0a
CV (%)	-	12,30	22,76

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

TABELA 8 - Determinação do teor de água e avaliação de plântulas normais, sementes dormentes e sementes mortas no teste de germinação de sementes de *Paspalum notatum* após tratamento de calor (40°C) em condições herméticas.

Tempo de calor 40°C (dias)	Teor de água da semente (%)	Teste de Germinação		
		Plântulas Normais (%)	Sementes Dormentes (%)	Sementes Mortas (%)
0	10,0	0,0a <sup>1</sup>	89,0a	11,0c
1	9,8	0,0a	85,0a	15,0c
2	9,6	1,5a	86,5a	12,0c
3	9,7	0,0a	89,0a	11,0c
4	9,6	0,0a	86,5a	13,5c
30	9,0	6,5a	80,0ab	13,5c
60	9,4	6,0a	70,0abc	23,0bc
90	9,4	0,0a	68,5abc	31,5abc
120	9,5	5,5a	50,5cd	44,0ab
150	9,4	3,0a	56,0bcd	41,0ab
180	9,4	5,5a	46,0cd	48,5ab
210	9,0	2,0a	41,0d	57,0a
CV (%)	-	98,38	11,02	23,06

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

TABELA 9 — Determinação do teor de água e avaliação de plântulas normais, sementes dormentes e sementes mortas no teste de germinação de sementes de *Paspalum notatum* após tratamento de calor (40°C) em condições permeáveis.

Tempo de calor 40°C (meses)	Teor de água da semente (%)	Teste de Germinação		
		Plântulas Normais (%)	Sementes Dormentes (%)	Sementes Mortas (%)
0	10,4a <sup>1</sup>	0,0h	87,0a	13,0defg
1	6,4b	15,0fg	71,5ab	13,5defg
2	5,3cdefgh	26,0ef	61,5b	12,5defg
3	5,7bcdef	51,0de	43,0bc	6,0efg
4	4,9fgh	70,5abcd	27,0cd	2,5g
5	4,9fgh	80,5abcd	12,5def	7,0efg
6	5,8bcdef	78,0abcd	15,5de	6,5efg
8	5,8bcdef	74,0abcd	17,0de	9,0defg
10	5,9bcde	74,0abcd	13,0def	13,0defg
12	5,9bcde	83,0abc	12,0defg	5,0efg
14	5,5bcdefg	81,0abcd	14,0def	5,0efg
16	5,4bcdefgh	89,5ab	4,0efgh	6,5efg
18	5,0efgh	87,5ab	3,0efgh	9,5efg
20	5,6bcdefg	94,5a	1,0fgh	4,5efg
22	6,1bc	79,0abcd	9,5defg	11,5defg
24	5,1defgh	82,5abcd	2,5efgh	15,0defg
26	4,5h	61,5bcd	15,0de	23,5def
28	4,7gh	61,0bcd	0,5gh	38,5cd
30	5,5bcdefg	63,5bcd	0,0h	36,5cd
32	5,9bcde	28,0ef	0,5gh	71,5bc
34	6,0bcd	7,0fgh	0,0h	93,0ab
36	5,8bcdef	3,0gh	0,0h	97,0a
CV (%)	2,18	14,82	28,20	29,75

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

As avaliações da Tabela 9 foram realizadas a cada 15 dias, por ~~em~~, pela uniformidade dos resultados, optou-se por apresentá-la a cada 30 dias até 6 meses, e daí em diante, a cada 2 ~~meses~~ es.

O tratamento de calor em condições não herméticas realmente possibilitou a superação da dormência da semente de *Paspalum notatum*. Em cinco meses, conseguiu-se 80,5% de germinação, que se manteve praticamente nesse nível dos 5 aos 24 meses, o que justificaria não prosseguir tanto tempo com o tratamento. A deterioração da semente nessa condição foi lenta, de maneira mais acentuada a partir dos 32 meses, com perda quase total da viabilidade aos 36 meses.

Uma vez que através da diminuição do teor de água das sementes foi possível superar sua dormência, testou-se uma temperatura ainda mais alta que 40°C que possibilitasse uma diminuição mais acelerada do grau de umidade da semente. Dessa maneira, colocaram-se as sementes em estufa de secagem a 60°C com circulação de ar, a fim de avaliar o comportamento das sementes quanto à dormência, e à sua resistência à alta temperatura.

Pelos dados da TABELA 10, conseguiu-se uma rápida diminuição do teor de água das sementes, que no entanto, não foi acompanhada pela diminuição da dormência ou aumento de plântulas normais.

Na intenção de pesquisar se as sementes sem dormência (após tratamento de calor a 40°C) poderiam ser conservadas numa

TABELA 10 - Determinação do teor de água e avaliação de plântulas normais, sementes dormentes e sementes mortas no teste de germinação de sementes de *Paspalum notatum* após tratamento de calor (60°C) em estufa de secagem.

Tempo de calor 60°C (horas)	Teor de água da semente (%)	Teste de Germinação		
		Plântulas Normais (%)	Sementes Dormentes (%)	Sementes Mortas (%)
0	10,20a <sup>1</sup>	0,0a	89,0a	11,0a
1	6,70b	0,0a	90,0a	10,0a
2	5,70bc	0,0a	95,0a	5,0a
3	4,65c	1,0a	83,5a	15,5a
5	4,55cd	1,0a	88,0a	11,0a
8	3,70d	0,0a	85,5a	14,5a
16	4,50d	1,0a	92,0a	7,0a
24	3,80d	0,0a	96,0a	4,0a
(dias)				
3	3,03d	1,0a	94,0a	5,0a
5	3,40d	1,0a	90,0a	9,0a
7	3,30d	2,0a	89,5a	8,5a
CV (%)	10,67	12,30	10,03	26,30

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

condição que melhor mantivesse sua viabilidade, porém sem retornar ao estado dormente, colocaram-se essas sementes após tratamento de calor, com baixa umidade e não dormentes (24 meses a 40°C), em vidro hermético, mantido a 10°C para avaliações periódicas de germinação. Por essas avaliações (TABELA 11), verificou-se que as sementes devem sair da alta temperatura após superação da dormência e serem mantidas em condições que preservem a viabilidade, uma vez que elas não retornaram ao estado dormente quando foram transferidas para 10°C.

Ainda como tratamento de calor, submeteram-se as sementes à chama em bico de bunsen, o que poderia possibilitar, além do calor rápido, a destruição dos envoltórios das sementes. Os resultados do tratamento efetuado por períodos que variaram de 1 a 7 segundos não diferiram entre si, sendo que todos eles causaram a morte de 100% das sementes, que antes do tratamento acusavam 85% de viabilidade.

## 10 - EFEITO DA LEMA E DA PÁLEA NA GERMINAÇÃO

Quando se estudou o efeito da lema e da pálea na germinação das sementes dessa espécie, foi possível verificar que a retirada manual apenas da lema, não causou nenhuma diferença em relação à semente intacta (TABELA 12). No entanto, quando se retiraram a lema e a pálea, houve um aumento de germinação, superior a 80 pontos percentuais em relação à semente intacta ou à semente sem lema.

TABELA 11 - Avaliação de plântulas normais, sementes dormentes e sementes mortas no teste de germinação de sementes de *Paspalum notatum* após superação da dormência (24 meses a 40°C), e mantidas conservadas em vidro hermético a 10°C.

Conservação a 10°C (meses)	Teste de Germinação		
	Plântulas Normais (%)	Sementes Dormentes (%)	Sementes Mortas (%)
0	79,5a <sup>1</sup>	0,5a	20,0a
1	80,0a	0,5a	19,5a
2	79,5a	0,5a	20,0a
3	80,0a	2,0a	18,0a
4	78,0a	1,5a	20,5a
5	79,0a	0,5a	20,5a
6	70,5a	2,5a	27,0a
7	75,0a	0,5a	24,5a
8	72,5a	0,5a	27,0a
CV (%)	10,82	82,49	24,81

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

TABELA 12 — Avaliação de plântulas normais, sementes dormentes e sementes mortas no teste de germinação de sementes de *Paspalum notatum* quando se utilizou a semente intacta, ou a semente sem as estruturas de revestimento.

Tratamento	Teste de Germinação		
	Plântulas Normais (%)	Sementes Dormentes (%)	Sementes Mortas (%)
semente intacta	3,0b <sup>1</sup>	89,0a	8,0a
semente sem lema	2,5b	88,0a	9,5a
semente sem lema e sem pálea (cariopse nua)	85,0a	0,0b	15,0a
CV (%)	27,40	20,25	26,25

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

## 11 - LAVAGEM DAS SEMENTES EM ÁGUA CORRENTE

Quando as sementes intactas foram submetidas à lavagem em água corrente (TABELA 13), este tratamento não promoveu o aparecimento de plântulas normais, não houve qualquer diminuição da porcentagem de dormência, e também não houve modificação no índice de sementes mortas. Quando as sementes livres da lema e da pálea foram submetidas à lavagem (TABELA 14), também não houve qualquer efeito desse tratamento. No entanto, ficou novamente evidenciado que a lema e a pálea constituem impedimento à germinação da semente, uma vez que a sua retirada resultou numa germinação de pelo menos 65%.

## 12 - ESCARIFICAÇÃO QUÍMICA DAS SEMENTES

O ácido sulfúrico foi inicialmente utilizado na concentração de 75% para testar a escarificação química dos envoltórios das sementes por períodos que variaram de 15 a 60 minutos (TABELA 15). Não houve, em nenhum caso, efeito de promoção de germinação ou perda de viabilidade devido ao tratamento ácido. Diante desses resultados, experimentou-se o ácido sulfúrico concentrado (TABELA 16) por até 100 minutos de imersão. Houve aumento de plântulas normais a partir de 20 minutos, com os melhores resultados entre 30 e 50 minutos; a partir dessa faixa, diminuiu a porcentagem de plântulas normais,

TABELA 13 — Avaliação de plântulas normais, sementes dormentes e sementes mortas no teste de germinação de sementes de *Paspalum notatum* após lavagem da semente intacta em água corrente .

Tratamento	Teste de Germinação		
	Plântulas Normais (%)	Sementes Dormentes (%)	Sementes Mortas (%)
sem lavagem	0,0	90,0a <sup>1</sup>	10,0a
lavagem 8 horas	0,0	84,5a	15,5a
lavagem 16 horas	0,0	86,0a	14,0a
lavagem 24 horas	0,0	89,0a	11,0a
lavagem 48 horas	0,0	85,5a	14,5a
lavagem 72 horas	0,0	86,0a	14,0a
lavagem 96 horas	0,0	86,0a	14,0a
CV (%)	—	8,19	29,32

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

TABELA 14 - Avaliação de plântulas normais, sementes dormentes e sementes mortas no teste de germinação de sementes de *Paspalum notatum* após lavagem da semente desprovida de lema e de pálea (cariopse nua) em água corrente.

Tratamento	Teste de Germinação		
	Plântulas Normais (%)	Sementes Dormentes (%)	Sementes Mortas (%)
sem lavagem	65,0a <sup>1</sup>	5,0a	30,0a
lavagem 8 horas	72,5a	4,5	23,0a
lavagem 16 horas	70,0a	4,0a	26,0a
lavagem 24 horas	73,0a	3,0a	24,0a
lavagem 48 horas	69,0a	4,0a	27,0a
lavagem 72 horas	67,5a	8,0a	24,5a
lavagem 96 horas	67,0a	7,5a	25,5a
CV (%)	10,22	49,00	17,00

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo Teste de Tukey, ao nível de 5%.

TABELA 15 - Avaliação de plântulas normais, sementes dormentes e sementes mortas no teste de germinação de sementes de *Paspalum notatum* após escarificação química da semente com  $H_2SO_4$  75%.

Tratamento	Teste de Germinação		
	Plântulas Normais (%)	Sementes Dormentes (%)	Sementes Mortas (%)
testemunha	0	86,5a <sup>1</sup>	13,5a
$H_2SO_4$ - 75% - 15 min.	0	89,0a	11,0a
" " 30 "	0	88,5a	11,5a
" " 40 "	0	92,0a	8,0a
" " 45 "	0	91,0a	9,0a
" " 50 "	0	95,0a	5,0a
" " 55 "	0	91,0a	9,0a
" " 60 "	0	77,0a	23,0a
CV (%)	-	11,16	40,35

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

TABELA 16 — Avaliação de plântulas normais, sementes dormentes e sementes mortas no teste de germinação de sementes de *Paspalum notatum* após escarificação química da semente com  $H_2SO_4$  concentrado.

Tratamento	Teste de Germinação		
	Plântulas Normais (%)	Sementes Dormentes (%)	Sementes Mortas (%)
controle	8,0fg <sup>1</sup>	82,0a	10,0e
$H_2SO_4$ conc. - 5 min.	19,0efg	64,0b	17,0e
" " 10 "	25,0ef	65,0b	10,0e
" " 20 "	59,0bc	23,0c	18,0e
" " 30 "	66,5abc	13,0d	20,5de
" " 40 "	80,5ab	0,0e	19,5de
" " 50 "	83,5a	0,0e	16,5e
" " 60 "	58,0bcd	0,0e	42,0cd
" " 70 "	51,0cd	0,0e	49,0c
" " 80 "	33,5de	0,0e	66,5bc
" " 90 "	24,0ef	0,0e	76,0ab
" " 100 "	6,0g	0,0e	94,0a
CV (%)	14,52	16,39	16,67

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo Teste de Tukey, ao nível de 5%.

devido ao aumento significativo de sementes mortas. Quanto à dormência, houve uma queda já aos 5 minutos do tratamento, outra queda significativa dos 10 aos 20 minutos, e mais outra redução aos 30 minutos, até completa extinção da dormência aos 40 minutos.

Ainda na intenção de escarificar o tegumento, experimentou-se hidróxido de sódio a 20% por até 60 minutos (TABELA 17). A concentração da solução foi, provavelmente muito baixa, uma vez que não promoveu a germinação das sementes, tampouco diminuiu o índice de sementes dormentes ou aumentou o de mortas.

### 13 - ESTRATIFICAÇÃO DAS SEMENTES

O tratamento de estratificação não resultou em melhoria da germinação das sementes (TABELA 18). Houve diminuição na porcentagem de sementes dormentes, porém como reflexo da perda de viabilidade que se estabeleceu principalmente em três fases; ou seja, uma perda de aproximadamente 15 pontos percentuais (p.p.) até 3 meses, uma perda de mais 28 p.p. dos 3 aos 5 meses, e de mais 21 p.p. até os 6 meses.

TABELA 17 — Avaliação de plântulas normais, sementes dormentes e sementes mortas no teste de germinação de sementes de *Paspalum notatum* após tratamento de corrosão do tegumento com hidróxido de sódio (NaOH - 20%).

Tratamento	Teste de Germinação		
	Plântulas Normais (%)	Sementes Dormentes (%)	Sementes Mortas (%)
testemunha	0	82,0a <sup>1</sup>	18,0a
NaOH - 20% - 10 min.	0	86,0a	14,0a
" " 20 "	0	87,0a	13,0a
" " 30 "	0	87,0a	13,0a
" " 40 "	0	82,0a	18,0a
" " 50 "	0	84,0a	16,0a
" " 60 "	0	84,0a	16,0a
CV (%)	-	8,37	8,37

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

TABELA 18 — Avaliação de plântulas normais, sementes dormentes e sementes mortas no teste de germinação de sementes de *Paspalum notatum* após tratamento de estratificação da semente.

Período de estratificação (meses)	Teste de Germinação		
	Plântulas Normais (%)	Sementes Dormentes (%)	Sementes Mortas (%)
0 (controle)	3,0a <sup>1</sup>	89,0a	8,0d
1	17,0a	65,0b	18,0c
2	14,0a	61,0b	25,0c
3	8,0a	69,0b	23,0c
4	5,0a	50,0b	45,0b
5	4,0a	45,0bc	51,0b
6	5,0a	23,0c	72,0a
CV (%)	37,01	13,28	14,41

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

## 14 - ENVOLVIMENTO DE SUBSTÂNCIAS DE CRESCIMENTO

### 14.1 Tratamento com ácido giberélico ( $GA_3$ )

Pela análise da TABELA 19, verifica-se que o ácido giberélico não apresentou qualquer atividade na germinação ou dormência de sementes intactas de *Paspalum notatum*.

### 14.2 Tratamento com ácido abscísico (ABA)

Cariopses nuas de *Paspalum notatum* tiveram a germinação diminuída pela presença de ácido abscísico no substrato (TABELA 20). Além de diminuir o valor total de germinação, o ácido abscísico também diminuiu significativamente a velocidade de germinação da semente.

### 14.3 Tratamento com 6-Benzil Adenina (6BA)

O efeito de 6-Benzil Adenina (6BA) foi testado a 100 µg/ml. Pelos resultados da TABELA 21, ficou comprovado seu efeito promotor na germinação de *Paspalum notatum*.

TABELA 19 — Germinação de sementes intactas de *Paspalum notatum* após 7 dias sobre substrato umedecido com solução de ácido giberélico (GA3).

Concentrações de GA3 (µg/ml)	Germinação (%)
0 (controle)	27,0a <sup>1</sup>
50	20,0a
100	18,0a
250	37,0a
500	24,0a
1.000	31,0a
2.000	25,0a
CV (%)	32,21

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

TABELA 20 — Germinação e velocidade de germinação de cariopses nuas de *Paspalum notatum* após 4 dias sobre substrato umedecido com solução de ácido abscísico (ABA).

Concentração de ABA (µg/ml)	Germinação (%)	Velocidade de Germinação (índice)
0 (controle)	80,0a <sup>1</sup>	67,71a
26,4	65,0ab	47,92b
79,3	50,0b	35,42c
158,6	51,0b	30,62c
CV (%)	12,52	8,05

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

TABELA 21 - Germinação de sementes intactas de *Paspalum notatum* após 7 dias sobre substrato umedecido com solução de 6-Benzil Adenina (6BA).

Tratamento	Germinação (%)
controle	27,5b <sup>1</sup>
6BA (100 µg/ml)	44,0a
CV (%)	23,30

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

#### 14.4 Análise de substâncias endógenas através de cromatografia

A fração ácida do extrato da semente intacta de *Paspalum notatum* foi biotestada pelo teste de alongamento do hipocótilo de alface, tanto a partir da semente dormente quanto da não dormente e, pelos seus resultados (FIGURA 5), não foi detectado qualquer efeito promotor ou inibidor nessa fração.

Avaliou-se, através do bioteste de germinação de sementes de alface a presença de inibidores na fração ácida ou neutra do extrato da semente dormente intacta de *Paspalum notatum* (TABELA 22). Pelos resultados, constatou-se a presença de inibidor na fração ácida, ativo na germinação de alface. Para verificar se esse inibidor é ativo na germinação da própria semente, efetuou-se um bioensaio com a cariopse nua da semente, usando-se como substrato as frações ácida e neutra da semente intacta dormente (TABELA 23). Por esses resultados, confirmou-se a ausência de inibidores na fração neutra; a fração ácida porém, contém inibidores ativos na germinação da semente da própria espécie.

Para detecção do local da semente que apresenta o inibidor, foram feitas extrações em separado da cariopse nua e das glumelas, tanto da semente dormente quanto da não dormente.

Pelos resultados da TABELA 24, não se conseguiu detectar inibição em qualquer parte da semente, quando se germinou a semente intacta apresentando 85% de viabilidade, com 60% de dormência.

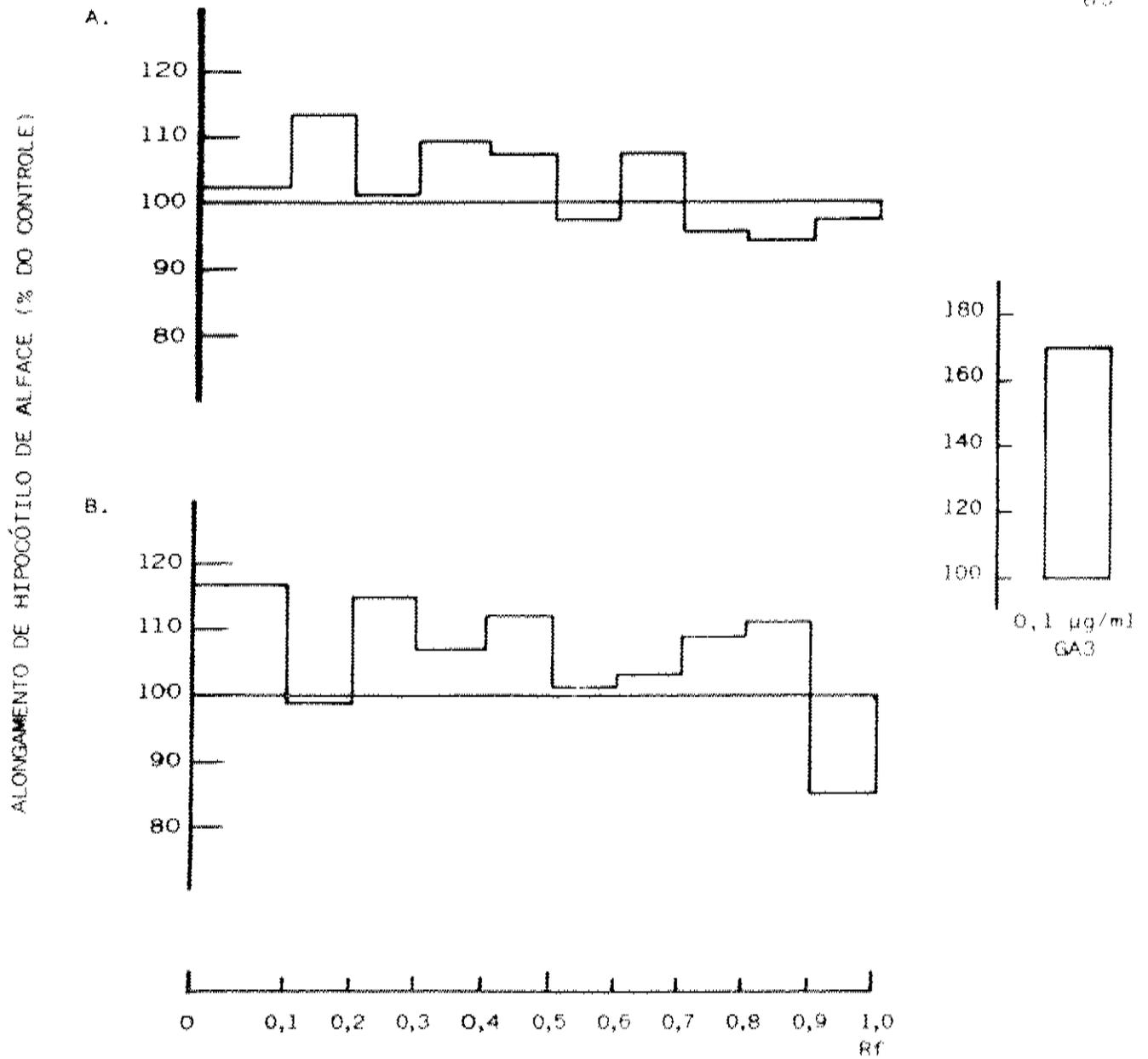


FIGURA 5 - Promotores e inibidores na fração ácida de sementes intactas de Paspalum notatum.

A - Extrato de semente dormente

B - Extrato de semente não dormente

TABELA 22 - Germinação de sementes de alface após 24 horas sobre Fração Ácida ou Fração Neutra de extrato de sementes dormentes de *Paspalum notatum*.

Tratamento	Germinação (%)
Fração Ácida	4,0b <sup>1</sup>
Fração Neutra	96,0a
Controle	95,5a
CV (%)	4,16

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

TABELA 23 — Germinação de *Paspalum notatum* (cariopses nuas) colocadas sobre Fração Ácida ou Fração Neutra de extrato de sementes dormentes de *Paspalum notatum*.

Tratamento	Germinação aos 4 dias (%)	Germinação aos 7 dias (%)
Fração Ácida	67,0b <sup>1</sup>	82,0a
Fração Neutra	93,0a	96,0a
Controle	86,0a	90,0a
CV (%)	8,10	11,16

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

TABELA 24 - Germinação de sementes intactas de *Paspalum notatum* colocadas sobre Fração Ácida ou Neutra de cariopses ou glumelas de semente dormente/não dormente de *Paspalum notatum*.

Tratamento		Germinação aos 7 dias (%)	Germinação aos 14 dias (%)
Fração Ácida	Cariopses	Dormente	14,0a <sup>1</sup>
		Não Dormente	19,0a
	Glumelas	Dormente	20,0a
		Não Dormente	15,0a
Fração Neutra	Cariopses	Dormente	19,0a
		Não Dormente	12,0a
	Glumelas	Dormente	14,0a
		Não Dormente	10,0a
Controle		24,0a	28,0a
CV (%)		27,65	28,17

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

Ao se observar novamente os dados da Tabela 23, foi possível constatar que a inibição que se manifestou aos 4 dias de germinação, foi superada aos 7 dias, igualando os resultados. Diante desse fato, efetuou-se novamente a extração e fracionamento, para obtenção da fração ácida e neutra de cariopses ou glumelas da semente dormente e não dormente, porém desta vez germinando cariopses nuas sobre o substrato, pois estas apresentam maior velocidade de germinação. A avaliação foi feita após 24 horas da instalação do ensaio (TABELA 25). O único tratamento que diferiu da testemunha foi aquele em que se utilizou a fração ácida do extrato de glumelas de sementes dormentes no substrato de germinação. Os extratos foram utilizados na concentração de 1 grama por placa. Este ensaio foi novamente repetido, apenas com a fração ácida, a fim de se efetuar avaliação antes das 24 horas, utilizando-se desta vez 0,5 grama de extrato por placa (TABELA 26). As informações obtidas na Tabela 25 foram confirmadas na Tabela 26, ou seja, a fração ácida das glumelas da semente dormente apresentou inibidor de germinação da espécie. Foi possível sua detecção no substrato de germinação após 16 horas, porém não houve diferença em relação à testemunha após 24 horas do início do teste.

Na possibilidade da existência de compostos fenólicos nas glumelas da semente de *Paspalum notatum*, elegeu-se o ácido cafeico como padrão a ser testado, uma vez que a inibição ocorreu a partir da fração ácida do extrato.

TABELA 25 - Germinação de *Paspalum notatum* (cariopses nuas) colocadas sobre Fração Ácida ou Neutra de extrato de cariopses ou glumelas de semente dormente/não dormente de *Paspalum notatum*.

Tratamento		Germinação 24 horas (%)
Fração Ácida	Cariopses	Dormente 32,0a <sup>1</sup> Não Dormente 36,0a
	Glumelas	Dormente 15,0b Não Dormente 27,0a
Fração Neutra	Cariopses	Dormente 30,0a Não Dormente 45,0a
	Glumelas	Dormente 42,0a Não Dormente 40,0a
Controle		54,0a
CV (%)		15,65

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

TABELA 26 - Germinação de *Paspalum notatum* (cariopses nuas) colocadas sobre Fração Ácida de extrato de cariopses ou glumelas de semente dormente/não dormente de *Paspalum notatum*.

Tratamento		Germinação 16 horas (%)	Germinação 24 horas (%)
Fração Ácida	Cariopses	Dormente	19,0a <sup>1</sup>
		Não Dormente	19,5a
	Glumelas	Dormente	8,5b
		Não Dormente	17,5a
Controle		17,0a	43,0ab
CV (%)		14,34	5,68

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

Inicialmente, testou-se a extração do próprio ácido cafeico, Para verificar se este é isolado na fração ácida; observou-se e também o efeito de cada uma das frações, assim como do ácido cafeico puro, a 180,2 µg/ml na germinação de cariopses nuas de *Paspalum notatum* (TABELA 27). Por esses resultados verificou-se que o ácido cafeico inibiu a germinação de *Paspalum notatum*, e que ele é, realmente, isolado na fração ácida, uma vez que sua fração neutra não apresentou qualquer efeito inibitório em relação ao controle. Esse mesmo resultado foi confirmado após 24 e 48 horas de germinação. Isso significa que este fenol ácido pode ser detectado na extração da semente, isolando-se a fração ácida para posterior cromatografia e identificação.

Para confirmar se o inibidor da fração ácida de *Paspalum notatum* era um fenol, fez-se a revelação do cromatograma da fração ácida do extrato das glumelas da semente dormente e não dormente desenvolvido em isopropanol:amônia:água (10:1:1).

As respostas de cor aos reveladores específicos para fenóis (TABELA 28) indicaram a presença de compostos fenólicos tanto em glumelas de sementes dormentes como de não dormentes. E, pelas mesmas reações com o ácido cafeico, concluiu-se que tais estruturas não mostraram respostas semelhantes às do ácido testado; apenas com  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -5% houve coincidência de reação, porém só em um Rf. Nos outros reveladores, as respostas foram distintas: em observação no vapor de amônia, em NaOH-2% e  $\text{FeCl}_3$ -1%,

TABELA 27 - Germinação de *Paspalum notatum* (cariopses nuas) colocadas sobre ácido cafeico ou sobre a fração ácida/neutra da extração do ácido cafeico.

Tratamento	Germinação 16 horas (%)	Germinação 24 horas (%)	Germinação 48 horas (%)
Fração Ácida - ácido cafeico	3,5b <sup>1</sup>	26,5b	47,0b
Fração Neutra - ácido cafeico	11,5a	43,0a	65,5a
Ácido cafeico	1,0b	23,0b	48,5b
Controle	10,5a	41,0a	60,5a
CV (%)	22,89	6,10	8,66

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

TABELA 28 - Revelação do cromatograma da Fração Ácida do extrato das glumelas da semente dormente e não dormente, desenvolvido em isopropanol:amônia:água (10:1:1) com reveladores para fenóis.

Tratamento	Glumelas da Semente Dormente		Glumelas da Semente Não Dormente		Ácido Cafeico	
	Rf	Cor	Rf	Cor	Rf	Cor
	0 a 0,1	amarelo	0 a 0,1	amarelo	0 a 0,1	azul intenso
Ultra-violeta	0,4 a 0,5	roxo	0,4 a 0,5	roxo		
	0,6	amarelo	0,6	amarelo		
	0,9 a 1,0	azul forte	0,9 a 1,0	azul forte		
Vapor de NH <sub>4</sub>	0,1 a 0,2	amarelo	0,1 a 0,2	amarelo	- <sup>1</sup>	-
NaOH - 2%	0,1 a 0,2	amarelo	0,1 a 0,2	amarelo	-	-
	1,0	amarelo fraco	1,0	amarelo fraco		
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> - 5%	0,1	amarelo	0,1	amarelo	0,1	amarelo
	0,2	amarelo	0,2	amarelo		
	1,0	amarelo	1,0	amarelo		
FeCl <sub>3</sub> - 1%	0,1	cinza	0,1	cinza	-	-
AlCl <sub>3</sub> - 1%	0,1	amarelo	0,1	amarelo	0,1	azul intenso no U.V.

<sup>1</sup> Não houve desenvolvimento de cor.

não houve desenvolvimento de cor quanto ao ácido cafeico, e quanto à reação no ultra-violeta e ao  $AlCl_3$ , houve reação no mesmo Rf, porém com desenvolvimento de outra cor. Isso significou que o inibidor da germinação de *Paspalum notatum* não devia ser o ácido cafeico; contudo, pelo desenvolvimento de cores nesses reveladores, parecia tratar-se de composto fenólico.

Ainda segundo HARBORNE (1989), existem outros sistemas de solventes para cromatografia de papel adequados para uma boa separação de fenóis. Dessa maneira, para melhor caracterizar o extrato, experimentou-se ainda os solventes butanol:ácido acético:água (6:1:2) e benzeno:ácido propiônico:água (2:2:1).

Quando o extrato das glumelas da semente dormente e não dormente foram cromatografados no solvente butanol:ácido acético:água (TABELA 29), houve novamente desenvolvimento de cor, dando indicações de que se tratava de composto fenólico. Quanto ao ácido cafeico, a mesma cor se desenvolveu em menor extensão que nos cromatogramas das glumelas quanto à reação ao ultra-violeta, e em outro Rf, e de outra cor quando em vapor de amônia. Uma vez que no cromatograma do extrato da semente não dormente houve desenvolvimento de cor no Rf 1,0, repetiu-se a cromatografia para biotestar esse Rf, assim como os demais, na verificação da germinação de sementes de alface (TABELA 30).

Houve inibição da germinação no Rf 1,0, tanto da semente dormente como da não dormente.

Para melhor distribuição e maior segurança dos resultados, experimentou-se também o solvente benzeno:ácido propiônico:água (TABELA 31).

TABELA 29 - Revelação do cromatograma da Fração Ácida do extrato das glumelas da semente dormente e não dormente, desenvolvido em butanol:ácido acético:água (6:1:2) com reveladores para fenóis.

Tratamento	Glumelas da Semente Dormente		Glumelas da Semente Não Dormente		Ácido Cafeico	
	Rf	Cor	Rf	Cor	Rf	Cor
Ultra-violeta	0,7 a 0,95	azul	0,7 a 0,91	azul	0,7 a 0,88	azul
			0,91 a 1,0	azul intenso		
Vapor de NH <sub>4</sub>	0,4 a 0,5	amarelo	0,3 a 0,5	amarelo	0,7 a 0,88	azul pálido
			0,91 a 1,0	azul		

TABELA 30 - Germinação de sementes de alface colocadas após 24 horas sobre Fração Ácida das glumelas da semente dormente/não dormente de *Paspalum notatum*, quando o cromatograma foi desenvolvido em butanol:ácido acético:água (6:1:2).

Substrato RF	Fração ácida do extrato das glumelas da semente dormente (%)	Fração Ácida do extrato das glumelas da semente não dormente (%)
0,1	94,0a <sup>1</sup>	93,0a
0,2	94,0a	90,0a
0,3	92,0a	92,0a
0,4	92,0a	98,0a
0,5	93,0a	88,0a
0,6	89,0a	92,0a
0,7	92,0a	96,0a
0,8	92,0a	93,0a
0,9	83,0a	89,0a
1,0	55,0b	52,0b
Controle	94,0a	94,0a
CV (%)	8,83	9,91

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

TABELA 31 - Revelação do cromatograma da Fração Ácida do extrato das glumelas da semente dormente e não dormente, desenvolvido em benzeno:ácido propiônico:água (2:2:1) com reveladores para fenóis.

Tratamento	Glumelas da Semente Dormente		Glumelas da Semente Não Dormente		Ácido Cafeico	
	Rf	Cor	Rf	Cor	Rf	Cor
Ultra-violeta	0 a 0,1	azul intenso	0 a 0,1	azul intenso	0,3 a 0,5	azul intenso
	0,9 a 1,0	azul intenso	0,9 a 1,0	azul intenso		
Vapor de NH <sub>4</sub>	0,1 a 0,2	amarelo	0,1 a 0,2	amarelo	- <sup>1</sup>	-
NaOH - 2%	0,1	amarelo	0,1	amarelo	-	-
	1,0	amarelo	1,0	amarelo		
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> - 5%	0,1	amarelo	0,1	amarelo	0,4	amarelo
	1,0	amarelo	1,0	amarelo		
FeCl <sub>3</sub> - 1%	0,1	cinza	0,1	cinza	-	-
AlCl <sub>3</sub> - 1%	0,1	amarelo	0,1	amarelo	0,3 a 0,5	azul no U.V.
	1,0	amarelo	1,0	amarelo		

<sup>1</sup> Não houve desenvolvimento de cor.

Nesse caso, foi característica a reação do ácido cafeico, em Rfs distintos daqueles dos extratos de *Paspalum notatum*, sendo novamente comprovado que não se trata de ácido cafeico, mas de um composto fenólico que nesse solvente se manifestou nos Rfs 0,1 e 1,0. Biotestou-se esses Rfs, mas desta vez, com cariopse nua da própria *Paspalum notatum*, a fim de se verificar a ocorrência de inibidores nesses Rfs, ativos na germinação desta semente (TABELA 32). A primeira avaliação foi feita após 16 horas, quando se manifestou inibição da germinação de cariopses nuas apenas sobre o extrato do Rf 0,1 das glumelas da semente dormente. Após 24 horas já não havia diferença entre os resultados. Diante desses resultados, extraiu-se o papel cromatografado em etanol P.A. para leitura no espectrofotômetro B 390 da Micronal, utilizando-se etanol puro como branco. Foi feita a leitura do RF 0,1 tanto das glumelas da semente dormente como da não dormente, em comprimentos de onda de 190 a 260nm.

Pela análise da FIGURA 6, verifica-se que o pico de absorção da semente dormente se deu a 210nm, enquanto que o da semente não dormente ocorreu a 205nm. Foi possível também detectar que a quantidade de substância fenólica em sementes dormentes foi significativamente maior do que em sementes não dormentes.

A presença de citocininas na fração básica do extrato da cariopse, foi testada por método químico, com reagente de

TABELA 32 - Germinação de *Paspalum notatum* (cariopses nuas) colocadas sobre Fração Ácida do extrato das glumelas de semente dormente/não dormente de *Paspalum notatum*, quando o cromatograma foi desenvolvido em benzeno:ácido propiônico:água (2:1:1).

Tratamento		16 horas (%)	24 horas (%)
Fração Ácida	Glumelas Semente Dormente Rf 0,1	15,0b <sup>1</sup>	52,5a
	Glumelas Semente Não Dormente RF 0,1	38,0a	60,0a
	Glumelas Semente Dormente Rf 1,0	30,0a	49,0a
	Glumelas Semente Não Dormente Rf 1,0	27,0a	49,0a
Controle		26,0a	56,0a
CV (%)		12,09	8,36

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

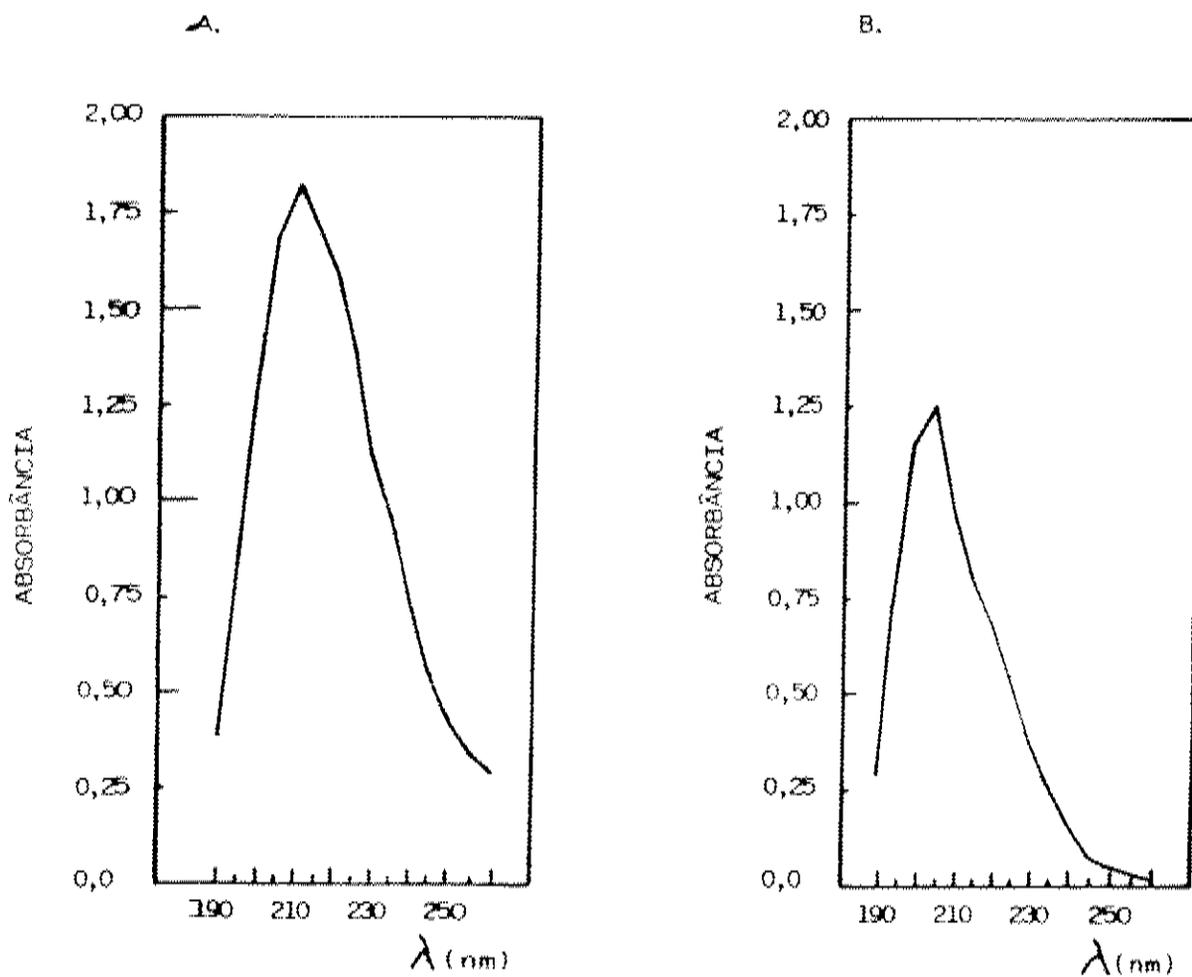


FIGURA 5 - Valores de absorção da fração ácida do extrato cromatografado de glumelas de *Paspalum notatum*.

A. Extrato de glumelas de sementes dormentes

B. Extrato de glumelas de sementes não dormentes

Wood no papel cromatografado, obtendo-se reação positiva nos Rfs 0,1 da semente dormente, e 0,1 e 0,2 da semente não dormente. Esses Rfs foram biotestados utilizando-se o teste de germinação de cariopses nuas ou sementes intactas de *Paspalum notatum* que apresentavam 60% de dormência (TABELA 33). Não se conseguiu detectar diferença em relação à testemunha quando as sementes estavam intactas, porém notou-se uma promoção em cariopses nuas quando germinadas sobre extrato da cariopse da semente não dormente. Realizou-se também o teste de velocidade de germinação nas mesmas sementes e cariopses, para melhor detectar as diferenças observadas pelo teste de germinação (TABELA 34). Quanto às cariopses nuas, as diferenças encontradas foram confirmadas. Com sementes intactas, no entanto, foi possível detectar uma maior velocidade de germinação quando esta ocorreu sobre extrato de cariopse de semente não dormente, acusando, em ambos casos, a presença de substâncias citocinínicas em cariopses de sementes sem dormência.

TABELA 33 - Germinação de *Paspalum notatum* (sementes intactas ou cariopses nuas) sobre Fração Básica do extrato de cariopse de semente dormente/não dormente de *Paspalum notatum*.

Tratamento		Sementes intactas dormentes (14 dias) (%)	Cariopses nuas (4 dias) (%)
Fração	Dormente	40,0a <sup>1</sup>	76,0ab
Básica	Cariopse Não Dormente	46,0a	87,5a
Controle		30,0a	60,0b
CV (%)		23,28	11,05

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

TABELA 34 - Velocidade de germinação de *Paspalum notatum* (sementes intactas ou Cariopses nuas) sobre Fração Básica do extrato de cariopse de semente dormente/não dormente de *Paspalum notatum*.

Tratamento		Sementes intactas dormente (até 14 dias) (índices)	Cariopses nuas (até 4 dias) (índices)
Fração	Dormente	7,00b <sup>1</sup>	11,42ab
Básica	Cariopse Não Dormente	12,24a	13,29a
Controle		4,41b	9,17b
CV (%)		27,02	15,85

<sup>1</sup> Letras comuns na coluna indicam diferenças não significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5%.

#### IV - DISCUSSÃO

A operação de colheita da semente de *Paspalum notatum* apresentou uma série de dificuldades, pois constatou-se que até dentro da mesma panícula o grau de maturação da semente varia grandemente; desde sementes imaturas até completamente maduras. Essa falta de uniformidade de maturação é ainda agravada pelo fato também observado por BURSON et al. (1978) de que as sementes maduras desprendem-se facilmente da planta, enquanto as imaturas e as chochas ficam fortemente aderidas, o que conduz à colheita quase que exclusiva de sementes chochas e imaturas. Essas observações coincidiram também com as de BENNETT & MARCHBANKS (1969) que afirmaram que 2/3 das sementes produzidas foram perdidas. Nesse trabalho, o material colhido apresentou 77,52% de sementes chochas, um índice que encontra respaldo na observação de BURTON (1939) de que 50 a 70% das espiguetas não formam sementes.

Dessa maneira, a limpeza das sementes colhidas utilizando-se a massa como base de separação, constitui uma etapa essencial do beneficiamento das sementes dessa espécie, pois essa operação afeta significativamente o valor de germinação do lote. Muitos autores já detectaram esse forte impedimento da produção de sementes de gramíneas forrageiras (PESKE, 1976; PESKE & BOYD, 1980; DEMMATTÉ et al., 1987; TOOLE & SIRRINE, 1937; ORTOLANI & USBERTI, 1981), porém pouco tem

sido feito em termos de melhoramento da cultura para sanar os problemas de irregularidade de maturação, de desprendimento da semente madura dos racemos, e de alta ocorrência de sementes chochas e dormentes.

Dessa forma, a colheita e principalmente a análise de pureza da semente de *Paspalum notatum* constituem tarefas das mais difíceis na sua produção (STERMER, 1964), o que tem levado muitos autores a indicar a propagação vegetativa da espécie, embora reconhecendo o aumento de despesas com essa prática (GAMBOA & GUERRERO, 1969).

Quando as sementes de *Paspalum notatum* foram classificadas segundo a cor, foi possível relacionar a coloração das glumelas com o seu estágio de maturação. DEMMATTE et al. (1983b) afirmaram que as sementes de coloração marrom clara estavam num estágio mais avançado de maturação quando comparadas às sementes verdes. Os mesmos autores concluíram que as marrom claras apresentavam maiores porcentagens de germinação.

Na coleta de 1990, a maioria das sementes era de cor verde, e na coleta de 1991 a maioria era de cor palha (ou marrom clara). Notou-se que na última coleta ocorreu maior intensidade de degrana no campo, evidenciando o estágio mais avançado de maturação. No entanto, os valores de viabilidade e de germinação foram semelhantes nas duas coletas, deferindo da conclusão de DEMMATTE et al. (1983b), assim como da de NEVES et al. (1981) que consideraram somente as sementes verdes como viáveis.

HOPKINSON et al. (1988) afirmaram que a semente é capaz de continuar a maturação após a sua separação da planta. Os resultados obtidos na presente pesquisa corroboram essa afirmação; a porcentagem de sementes de cor verde diminuiu durante a conservação da semente.

Outra comprovação de que a cor da semente não está relacionada à viabilidade, é que as sementes chochas também ocorrem na cor verde e na cor palha. No entanto, quando se examinou as sementes durante a conservação, todas as deterioradas apresentavam-se de cor palha. Essa observação concorda com a de NEVES et al. (1981).

A condição física e o estado fisiológico das sementes influenciam significativamente seu tempo de vida durante o armazenamento. Além das condições da própria semente, a umidade relativa e a temperatura de armazenamento são os principais fatores externos que influenciam sua longevidade, fatores esses altamente interdependentes. De acordo com HARRINGTON (1960), a soma da porcentagem de umidade relativa com a temperatura em graus Fahrenheit não deveria exceder 100 para um armazenamento seguro. Ou não deveria exceder 55,5 quando a temperatura for medida em graus centígrados (TOLEDO & MARCOS FILHO, 1977). Assim, por exemplo, 30% UR e 25°C é uma ótima condição para armazenamento, assim como 25% UR e 30°C. De fato, a viabilidade das sementes de *Paspalum notatum* conservadas por 48 meses a 33,0% UR e 10°C foi ótima, comparável apenas a 57,5% UR e 10°C, permanecendo praticamente inalterada por todo esse período de

conservação . Na sequência, a melhor condição foi a de 33,0% UR e 20°C, seguida de 57,5% UR e 20°C; as piores condições aconteceram nos maiores valores de umidade relativa, principalmente quando acompanhados pelos maiores valores de temperatura .

De qualquer maneira, foi verificada a boa longevidade das sementes de *Paspalum notatum*, principalmente sob condições secas, confirmando as observações de CROCKER (1919) quanto à conservação de sementes dormentes de gramíneas forrageiras.

A dormência é superada, em alguns casos, pelo simples armazenamento das sementes secas por um certo tempo geralmente não muito longo (de semanas a alguns meses). Essa é, segundo POPINIGIS (1977), o tipo de dormência denominada de pós-colheita. Quando as sementes de *Paspalum notatum* foram conservadas em condições controladas de temperatura e umidade relativa, a perda de dormência foi muito pouco significativa. Em condição ambiente, no entanto, foi bastante expressiva a diminuição do índice de dormência, refletindo-se diretamente no aumento de plântulas normais; isso porém só foi observado a partir dos 12 meses. LE PAGE-DEGIVRY (1990) afirmou que o ácido abscísico, acumulado durante a maturação, parece ser o único agente responsável pela dormência das sementes, e que ele pode ser eliminado durante o armazenamento em condições secas.

De qualquer maneira, a simples conservação constituiu um método simples e barato na superação da dormência de *Paspalum notatum*. WEST & MAROUSKY (1989) também chegaram a essa

constataçãO, porém esses autores indicaram indiscriminadamente o armazenamento natural ou artificial na superação da dormência; neste trabalho, os resultados deram indicações muito melhores para o armazenamento em condições não controladas de temperatura e umidade relativa do que sob condições artificiais.

WEST (1992) conseguiu reduzir a dormência, e consequentemente aumentar a germinação de sementes de *Paspalum notatum* pela técnica de envelhecimento acelerado. O autor também verificou a boa resistência das sementes, pois estas mantiveram a viabilidade inalterada mesmo após terem sido submetidas a essa técnica (exposição da semente à alta temperatura e alta umidade relativa), normalmente utilizada para avaliações de vigor de lotes de sementes.

Outro fator que contribui para a manifestação da dormência em sementes de gramíneas é a ocorrência de tegumento impermeável à água e a gases (DELOUCHE & BASS, 1954). Também RAY & STEWART (1937) afirmaram que a lema e a pálea podem representar impedimento para a entrada de água em sementes de *Paspalum dilatatum*. MATHEWS (1947) afirmou que a escarificação de sementes de *Paspalum notatum* provocou o enfraquecimento mecânico dos envoltórios das sementes, permitindo uma entrada fácil de água para a semente, melhorando sua germinação. ANDERSEN (1953) também justificou a melhoria da germinação de *Paspalum notatum* pela possibilidade da entrada de água quando

se retirou manualmente a lema. Todos esses autores concluíram que a retirada dos envoltórios resultou em melhoria da germinação, sugerindo a impermeabilidade dessas estruturas; porém questionou-se esses resultados efetuando-se a curva de embebição das sementes na presença e na ausência das glumelas, donde se concluiu que a lema e a pálea não são impermeáveis à água nesta espécie e, pelo contrário, estas estruturas contribuíram significativamente para a embebição das sementes. Também WILLIAMS & WEBB (1958) verificaram que as sementes de *Paspalum* sp absorveram água mesmo sem tratamento de escarificação.

O tempo necessário para se obter a máxima germinação da semente de *Paspalum notatum* é de 28 dias, segundo as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992). Também TOOLE & SIRRINE (1937) afirmaram que sementes de *Paspalum* podem exigir um período superior a 21 dias para germinar. Já TOLEDO et al. (1981) encerraram o teste de germinação aos 21 dias, enquanto a maioria dos trabalhos utilizou 4 semanas até a contagem final (HODGSON, 1949a; ANDERSEN, 1953; ANDRADE & VAUGHAN, 1980). SILVA et al. (1983) indicaram os períodos de 21 ou 28 dias como similares nos resultados de germinação. No entanto, quando se efetuou a curva de germinação da semente, verificou-se que após 14 dias não ocorreu mais a germinação e, pelo contrário, com o prosseguimento do período de germinação, aumentou a porcentagem de sementes mortas. Essa perda de viabilidade foi causada pelo

tempo maior de exposição da semente às condições favoráveis à proliferação de fungos, com conseqüente morte das sementes.

Diante desses resultados, sugeriu-se 14 dias como o período necessário e suficiente à germinação de *Paspalum notatum*, desaconselhando-se a prolongação do teste por mais alguns dias.

Vários autores recomendaram a utilização de temperaturas alternadas para a germinação de *Paspalum* sp (EULLINAN, 1941; ANDERSEN, 1953; NAKAMURA, 1962; McELGUM, 1974; EVERS, 1976; SILVA et al., 1983; FLENNIKEN & FULBRIGHT, 1987). No entanto, quando se compararam diferentes temperaturas constantes e alternadas, concluiu-se que as constantes mostraram-se mais eficientes do que as alternadas tanto no valor total como na velocidade de germinação de sementes de *Paspalum notatum*. Assim, a faixa mais apropriada de temperatura situou-se entre 30 e 35°C, coincidindo com resultados de RAY & STEWART, 1937; WILLIAMS & WEBB, 1958; OKUMA & CHIKURA, 1984; YOON et al., 1985; MAROUSKY & WEST, 1988, em espécies de *Paspalum*.

Quando o substrato de germinação foi umedecido com solução de  $KNO_3$  houve, de maneira geral, reflexos negativos na germinação, com diminuição da porcentagem de plântulas normais. A única situação que não mostrou diferenças em relação a plântulas normais ou em relação a sementes mortas foi quando a

viabilidade inicial do lote se apresentava inferior a 35%. Nesse caso, a porcentagem de sementes viáveis era muito baixa para manifestar qualquer efeito. WILLIAMS & WEBB (1958) e SILVA et al. (1983) também não verificaram qualquer benefício pelo uso de  $KNO_3$  em *Paspalum*. Os reflexos negativos verificados talvez possam ser justificados pela observação de DEMMATTE et al. (1983b) de que com a utilização de  $KNO_3$ , houve aumento na ocorrência de fungos durante a germinação de sementes de *Paspalum notatum*.

WILLIAMS & WEBB (1958), NAKAMURA (1962), EVERS (1976) e HSU (1986) consideraram a germinação de sementes de *Paspalum* indiferentes à luz. Notou-se de fato, que as sementes de *Paspalum notatum* germinaram tanto na luz quanto no escuro. Porém, houve um incremento significativo de germinação na presença de luz, conforme foi também verificado por FLENNIKEN & FULBRIGHT (1987) nessa mesma espécie.

Embora HOPKINSON et al. (1988) tivessem afirmado que a dormência das sementes de *Paspalum plicatulum* não foram afetadas pelo padrão de secagem, constatou-se em *Paspalum notatum* o efeito benéfico do calor na superação da dormência das sementes. Também HODGSON (1949a) e BENNETT & MARCHBANKS (1969) observaram melhoria da germinação após a secagem de sementes de *Paspalum*.

Na maioria das espécies vegetais, a temperatura de

secagem de 60°C ocasiona perdas irreparáveis na viabilidade das sementes. Porém, as sementes de *Paspalum notatum* não sofreram qualquer dano fisiológico, manifestando-se bastante resistentes. Embora essa alta temperatura não tenha prejudicado as sementes, também não acarretou a diminuição da dormência. Por outro lado, ficou comprovado que para superar a dormência das sementes de *Paspalum notatum* é necessário diminuir o teor de umidade, porém de maneira gradual, submetendo-se as sementes a uma temperatura de secagem de 40°C. Verificou-se também que mesmo após atingido o nível mais baixo de umidade, houve necessidade da manutenção das sementes nessa temperatura por, no mínimo, mais três meses para haver expressiva superação da dormência. Após esse período, é interessante transferir estas sementes para uma temperatura baixa (10°C), a fim de preservar a viabilidade e mantê-las livres da dormência.

BEWLEY & BLACK (1982) consideraram as glumas, a lema e a pálea como as estruturas responsáveis pela imposição da dormência nas sementes de gramíneas. MAROUSKY & WEST (1988) atribuíram a dormência de sementes de *Paspalum* à restrição física imposta à semente pela presença da lema e da pálea. Outros autores também confirmaram o efeito benéfico da remoção da lema e pálea em sementes de *Paspalum* (BURTON, 1939; EULLINAN, 1941; ANDERSEN, 1953; HEIT, 1955; FULBRIGHT & FLENNIKEN, 1988; WEST & MAROUSKY, 1989). ANDERSEN (1953) ainda recomendou arranhaduras nas cariopses das sementes, além da

remoção da lema e da pálea.

Avaliando o efeito da lema e da pálea em sementes de *Paspalum notatum*, verificou-se que a lema, isoladamente, não apresentou qualquer interferência na germinação, enquanto que a retirada da pálea resultou em um acréscimo de 80 pontos percentuais na germinação.

A manipulação da semente foi bastante grande por ocasião da retirada manual de seus envoltórios, o que pode ter causado ferimentos e contaminações do embrião. Notou-se a ocorrência de fungos nas cariopses nuas; no entanto, o aumento da porcentagem de sementes mortas não chegou a ser significativo.

Ficou comprovado que o impedimento da germinação de *Paspalum notatum* foi devido à pálea; porém, na procura de substâncias presentes nessa estrutura, não se detectaram inibidores solúveis em água, ou seja, a lavagem da semente não conseguiu melhorar sua germinação. No entanto, a escarificação química da semente utilizando-se o ácido sulfúrico concentrado extinguiu completamente a dormência, com a obtenção da germinação total. Este fato pode ser explicado por uma ou mais das seguintes hipóteses: a) eliminação física ou química das estruturas que envolvem a cariopse; b) destruição de inibidor(es) de germinação; c) um efeito indireto, permitindo a difusão do(s) inibidor(es) para fora das sementes. É grande o número de trabalhos que indicam a escarificação química para

aumentar a germinação de sementes de *Paspalum*, principalmente utilizando-se o ácido sulfúrico concentrado (BURTON, 1939; BURTON, 1940; HODGSON, 1949a; WILLIAMS & WEBB, 1958; ANDRADE & VAUGHAN, 1980; DEMMATÊ et al., 1983b). MATHEWS (1947) e ANDERSEN (1953) conseguiram bons resultados com  $H_2SO_4$  a 75-76%; no entanto sementes de *Paspalum notatum* não apresentaram qualquer melhoria na germinação quando se utilizou  $H_2SO_4$  a 75%.

Embora o ácido sulfúrico concentrado tenha proporcionado um aumento significativo da germinação, o período de exposição das sementes ao ácido é de grande importância, uma vez que um acréscimo de 10 minutos além do melhor tempo observado, que foi de no máximo 50 minutos, provocou um aumento significativo na porcentagem de sementes mortas. ANDERSEN (1953) e ANDRADE & VAUGHAN (1980) também observaram injúrias em sementes de *Paspalum* quando as sementes foram escarificadas com ácido sulfúrico.

FULBRIGHT & FLENNIKEN (1988) concluíram que a estratificação de sementes de *Paspalum plicatulum* a 7°C conduziu a um aumento de 200% na germinação. Já NAKAMURA (1962) trabalhando com *Paspalum notatum* conseguiu 47% de melhoria na germinação quando utilizou 5°C. Quando as sementes de *Paspalum notatum* foram submetidas a 10°C não se obteve promoção significativa na germinação; a temperatura de estratificação pode ter sido muito alta. Notou-se também que no trabalho de NAKAMURA (1962) a semente controle já apresentava mais de 50%

de germinação, o que indicava que a superação natural da dormência já estava se processando, facilitando a resposta ao tratamento. Neste trabalho, no entanto, dificilmente se conseguiria uma promoção da germinação, pois a semente estava altamente dormente, com um nível acima de 85% de dormência. SIRIWAN (1977) avaliando a dormência de *Panicum ramosum*, também sugeriu que as respostas das sementes aos tratamentos de superação da dormência variaram conforme o nível de dormência das sementes. O próprio NAKAMURA (1962), quando comparou os resultados dos tratamentos de superação da dormência, recomendou a combinação de vários deles para solucionar a germinação no período de dormência profunda.

PILLAY & EDGERTON (1965) afirmaram que as sementes que respondem ao tratamento de estratificação podem ter essa promoção parcialmente substituída pela aplicação do ácido giberélico. PEREIRA & MAEDA (1986) conseguiram substituir a necessidade de estratificação de sementes de uva com o tratamento exógeno de  $GA_3$ . Não se conseguiu, na presente pesquisa, promover a germinação de sementes de *Paspalum notatum* com a estratificação, nem tampouco se obteve qualquer resposta com a aplicação do ácido giberélico. Se existe interferência de alguma giberelina no processo germinativo da espécie, esta não é o ácido giberélico. Na extração e cromatografia, quando foi feito o bioensaio da fração ácida do extrato da semente de *Paspalum notatum* pelo teste de alongamento de hipocótilo de

alface, não houve significância pelo teste F em nenhum Rf em relação ao controle, tanto da semente dormente quanto da semente não dormente, o que confirma que provavelmente não existe envolvimento de atividade giberelínica na promoção da germinação de sementes de *Paspalum notatum*.

A aplicação de ácido abscísico no substrato de germinação de sementes de *Paspalum notatum* inibiu significativamente a germinação, desde a menor concentração testada, sugerindo seu envolvimento na dormência da semente. Segundo BEWLEY & BLACK (1982), o ácido abscísico talvez seja o mais comum, e o mais importante inibidor da semente. Níveis relativamente altos de ABA têm sido encontrados em sementes maduras de algumas espécies, e a sua ocorrência tem sido relacionada com dormência e inibição de germinação (WEBB & WAREING, 1972; QUEBEDEAUX et al., 1976). Contudo, muitos estudos têm indicado que ele não é o único fator ou o único inibidor determinante da dormência da semente. Por ocasião da extração e cromatografia, quando a fração ácida do extrato da semente de *Paspalum notatum* foi biotestada, eliminou-se a possibilidade da inibição ser causada pelo ácido abscísico: isto porque no bioteste de alongamento de hipocótilo de alface, não ocorreu inibição significativa nos Rfs 0,7 a 0,8, característicos de ácido abscísico no solvente isopropanol:amônia:água na proporção de 10:1:1 (KEFELI, 1978).

Quando se utilizou exogenamente a 6-Benzil Adenina, a semente de *Paspalum notatum* teve sua germinação promovida. Substâncias citocinínicas foram detectadas na fração básica do extrato da Cariopse tanto da semente dormente quanto da não dormente, pelo reagente de Wood. Pelo bioensaio, confirmou-se seu efeito Promotor, principalmente detectado pela velocidade de germinação, porém somente manifestada quando o extrato era proveniente de sementes não dormentes.

Segundo BEWLEY & BLACK (1982), os hormônios promotores, particularmente as giberelinas e citocininas interagem com os efeitos dos inibidores para se ter o resultado da germinação. Anteriormente, KHAN (1970) havia proposto a existência de um balanço promotor-inibidor, onde o nível das substâncias é que determinam o controle da dormência.

A ocorrência de compostos fenólicos é bastante comum em espécies vegetais, e tem sido sugerido que tais substâncias podem agir como inibidores naturais da germinação das sementes. Com os avanços nas técnicas de extração, purificação e análise, ampliou-se o número de substâncias fenólicas envolvidas na inibição da germinação de sementes.

A fração neutra, que isola inibidores não ácidos como a cumarina, não apresentou atividade no bioensaio de germinação de sementes de alface, tampouco no de sementes de *Paspalum notatum*. Isto significou que o inibidor de germinação

não está na fração neutra do extrato da semente. A única indicação de inibição que se obteve foi a proveniente da fração ácida do extrato das glumelas da semente dormente.

A revelação do cromatograma da fração ácida foi feita com reveladores específicos para fenóis, segundo HARBORNE (1989), que comprovou a presença de compostos fenólicos tanto nas sementes dormentes quanto nas não dormentes. Ainda segundo HARBORNE (1973), no solvente butanol:ácido acético:água, os fenóis tendem a se juntar, próximos à frente do cromatograma. Esse foi mais um indício de que se estava trabalhando com fenóis. Pela leitura no espectrofotômetro, a quantidade de substâncias fenólicas em sementes dormentes foi significativamente maior do que em sementes não dormentes, comprovando a interferência dessas substâncias na inibição do processo germinativo.

Pelo espectro de absorção da fração ácida do extrato cromatografado das glumelas da semente dormente, com pico a 210nm, o composto encontrado parece pertencer ao grupo de fenilpropanóides, que são compostos fenólicos de ocorrência natural em plantas (HARBORNE, 1973).

## V - CONCLUSÕES

- 1) A colheita manual de *Paspalum notatum* foi composta de no mínimo 77,0 % de sementes chochas.
- 2) O beneficiamento, e mais especificamente a ventilação, constituiu uma etapa fundamental para o melhoramento da qualidade física das sementes.
- 3) O lote de *Paspalum notatum* foi composto por sementes de cor verde, cor palha e intermediária, que não estiveram relacionadas com a sua viabilidade. No entanto, após um tempo longo de conservação, as sementes deterioradas passaram totalmente para a cor palha.
- 4) A massa média de mil sementes granadas de *Paspalum notatum* foi de 3,36g.
- 5) As sementes de *Paspalum notatum* apresentaram excelente conservação, principalmente favorecida pelas baixas temperaturas e umidades relativas.
- 6) A conservação das sementes por até 20 meses em condição não

controlada , revelou-se uma ótima maneira de superar naturalmente a dormência.

7) As glumelas das sementes não representaram impedimento à embebição. Pelo contrário, favoreceram essa fase inicial da germinação .

8) O teste de germinação em laboratório deve ser encerrado aos 14 dias. O prolongamento desse período fez aumentar a contaminação por fungos, contribuindo com a perda de viabilidade das sementes.

9) As temperaturas mais indicadas para a germinação da espécie foram as constantes, na faixa de 30 a 35°C.

10) A utilização de  $KNO_3$  no substrato não trouxe qualquer benefício para a germinação da semente de *Paspalum notatum*.

11) A germinação das sementes de *Paspalum notatum* foi favorecida pela presença de luz.

12) O enriquecimento do ambiente de germinação com oxigênio não surtiu qualquer efeito sobre a germinação.

13) O tratamento de calor a 40°C, em embalagem não hermética, constituiu um excelente método para a superação da dormência

das sementes. Após esse tratamento, as sementes devem ser conservadas em condições herméticas à baixa temperatura, de modo a preservar a viabilidade.

14) A dormência das sementes de *Paspalum notatum* foi imposta pela presença da pálea; quando se retirou essa estrutura, além da lema, houve um aumento superior a 80 pontos percentuais na germinação.

15) As sementes de *Paspalum notatum* não apresentaram na cariopse ou nos envoltórios qualquer efeito de inibidor solúvel em água.

16) A escarificação química das sementes com  $H_2SO_4$  concentrado possibilitou a superação total da dormência, quando utilizado por 40 a 50 minutos.

17) A estratificação, quando efetuada a  $10^\circ C$ , não possibilitou a melhoria da germinação das sementes. Pelo contrário, a partir do primeiro mês, causou uma redução significativa da viabilidade das sementes.

18) O ácido giberélico, nas concentrações usadas, não apresentou atividade na germinação das sementes da espécie.

19) Não se observou atividade giberelínica em extrato de

sementes não dormentes de *Paspalum notatum*, quando biotestado em sementes de alface, ou na própria espécie.

20) O ácido abscísico inibiu a germinação de cariopses nuas de *Paspalum notatum*.

21) Não se detectou envolvimento do ácido abscísico em sementes dormentes de *Paspalum notatum*, quando biotestado em sementes de alface, ou na própria espécie.

22) Verificou-se um efeito promotor da 6-Benzil Adenina (6BA) na germinação de sementes intactas da espécie.

23) Detectou-se substâncias citocinínicas em extratos de sementes dormentes e não dormentes de *Paspalum notatum*, porém com efeito promotor na germinação da própria espécie somente quando o extrato era proveniente de cariopse de semente não dormente.

24) Detectou-se atividade de inibição a partir da fração ácida do extrato da semente, inibidores esses ativos na germinação da própria espécie. A fração neutra não apresentou atividade de inibição.

25) O local da semente que contém atividade inibitória foi detectado a partir das glumelas.

26) Tanto as glumelas das sementes dormentes quanto das não dormentes apresentaram reação positiva aos reveladores para fenóis.

27) A concentração de substâncias fenólicas em glumelas de sementes dormentes foi muito maior do que em glumelas das não dormentes.

28) A superação da dormência das sementes de *Paspalum notatum* pode ser explicada por uma neutralização ou redução de compostos fenólicos, e pela produção ou ativação de citocininas.

## VI - RESUMO

A grama-batatais é muito apreciada para revestimento de terrenos acidentados, taludes e ao longo de canais e rodovias, pois suas raízes se entrelaçam retendo o solo no combate à erosão. É também utilizada em pastagens, pois são plantas perenes, rústicas, sobrevivem ao nosso inverno e resistem ao pisoteio. Por essas mesmas vantagens é a mais utilizada para compor campos desportivos e parques, sendo ainda uma das gramas mais procuradas para fins ornamentais.

A produção de sementes de *Paspalum notatum* apresenta, no entanto, uma série de dificuldades que vão desde a falta de uniformidade de maturação, o método de colheita, beneficiamento e secagem, até o estabelecimento da cultura, dificultado principalmente pela ocorrência de alto índice de dormência.

O objetivo geral desse trabalho foi estudar métodos de beneficiamento, de conservação e de germinação, a fim de se obter a melhor qualidade física e fisiológica, além de elucidar os mecanismos que envolvem a dormência da semente.

A grande incidência de sementes chochas tornou essencial a operação de beneficiamento para a melhoria da qualidade física das sementes.

As sementes de *Paspalum notatum* apresentaram excelente conservação, principalmente favorecida pelas flutuações de temperatura e umidade relativa imposta pela

condição normal do ambiente; tal condição contribuiu para a superação natural da dormência das sementes.

O processo germinativo foi favorecido pela presença de luz, numa faixa ideal de temperatura de 30 a 35°C.

As glumelas das sementes de *Paspalum notatum* não prejudicaram a embebição das sementes, porém representaram um impedimento à germinação; sua neutralização física ou química promoveu a pronta germinação das sementes. Nessas estruturas, foram identificadas substâncias fenólicas que uma vez isoladas, causaram inibição da germinação das sementes da própria espécie.

O tratamento de calor possibilitou a melhoria da germinação das sementes de *Paspalum notatum*, sugerindo efeito de neutralização ou diminuição da concentração de substâncias fenólicas nas glumelas, e de produção ou ativação de citocininas detectadas na fração básica de cariopses de sementes tratadas.

**VII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- ALCANTARA, P.B. & BUFARAH, G. Plantas forrageiras: gramíneas e leguminosas. São Paulo. NOBEL, 1979. 150p.
- ALENCAR, F.M.A. de. Plantas úteis para o revestimento do solo. *Bragantia*, 9:113-146, 1949.
- ANDERSEN, A.M. The effect of the glumes of *Paspalum notatum* (Flügge) on germination. *Proceedings of the Association of Official Seed Analysts*, 43:93-100, 1953.
- ANDERSEN, A.M. Effect of gibberellic acid, kinetin like substances, ceresan, and phenacridane chloride on the germination of *Panicum ramosum* seeds. *Proceedings of the International Seed Testing Association*, 27:730-741, 1962.
- ANDRADE, R.V. & VAUGHAN, C.E. Avaliação de sementes firmes em Pensacola Bahia e Milheto. *Revista Brasileira de Sementes*, 2(2):57-66, 1980.
- BENNETT, H.W. & MARCHBANKS, W.N. Seed drying and viability in dallisgrass. *Agronomy Journal*, 61:175-177, 1969.

- BEWLEY, J.D. & BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination: viability, dormancy and environmental control.** Berlin, Springer-Verlag, 1982. v.2, 375p.
- BOGDAN, A.V. **Tropical pastures and fodder plants: grasses and legumes.** London, LONGMAN, 1977. 475p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Divisão de Sementes e Mudás. **Regras para Análise de Sementes,** Brasília, 1992. 365p.
- BURSON, B.L.; CORREA, J. & POTTS, H.C. Anatomical study of seed shattering in Bahiagrass and Dallisgrass. **Crop Science**, 18(1):122-125, 1978.
- BURTON, G.W. Scarification studies on southern grass seed. **Journal of the American Society of Agronomy**, 31:179-187, 1939.
- BURTON, G.W. The establishment of bahiagrass (*Paspalum notatum* Flüggé). **Journal of the American Society of Agronomy**, 32:545-549, 1940.
- BURTON, G.W. Bahiagrass types. **Agronomy Journal**, 38:273-281, 1946.

- CARVALHO, N. M. & NAKAGAWA, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 3.ed. Campinas, Fundação Cargill, 1988. 424p. (Cargill, 144)
- CROCKER, W. Role of seed coats in delayed germination. *Botanical Gazette*, 42:265-291, 1906.
- CROCKER, W. Optimum temperatures for the after-ripening of seeds. *Proceedings of the Association of Official Seed Analysts*, 11:46-48, 1919.
- DELOUCHE, J. C. & BASS, L. N. Effect of light and darkness upon the germination of seeds of western wheat grass. *Proceedings of the Association of Official Seed Analysts*, 44:104-112, 1954.
- DELOUCHE, J. C.; STILL, T. W.; RASPET, M. & LIENHARD, M. The tetrazolium test for seed viability. *Mississippi Agricultural Experiment Station, Mississippi, Technical Bulletin*, 51. 1962. 63p.
- DEMMATTE, M. E. S. P.; MALHEIROS, E. B.; VITTI, G. C. & HAAG, H. P. Correlações entre características de produção de folhas, inflorescências e sementes de grama-batatais (*Paspalum notatum* Flüggé). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 3., Campinas, 1983a. p.101.

DEMMATTE, M.E.S.P.; SADER, R. & MENDONÇA, J.R. Testes de quebra de dormência em sementes de grama-batatais (*Paspalum notatum* Flüggé). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 3., Campinas, 1983b. p.20.

DEMMATTE, M.E.S.P.; HAAG, H.P.; PERECIN, D. & VASQUES, L.H. Nitrogênio, fósforo, potássio, adubo orgânico e calcário dolomítico na produção de sementes de grama-batatais (*Paspalum notatum* Flüggé) em latossol vermelho escuro. In: E.S.A. "LUIZ DE QUEIROZ", Anais, Piracicaba, 44:571-614, 1987.

EULLINAN, B. Germinating seeds of southern grasses. Proceedings of the Association of Official Seed Analysts, 33:74-76, 1941.

EVERS, G.W. Effect of temperature and daylength on germination of dallisgrass, bahiagrass and kleingrass. Agronomy Abstract Annual Meeting, 1976. p.94.

FLENNIKEN, K.S. & FULBRIGHT, T.E. Effect of temperature, light and scarification on germination of brownseed paspalum seeds. Journal of Range Management, 40(2):175-179, 1987.

FRAGA, A.C. Dormência de sementes. Informe Agropecuário, 8(91):62-64, 1982.

- FRANKLAND, B. & WAREING, P.F. Effect of gibberellic acid on hypocotyl growth of lettuce seedlings. *Nature*, 185:255-256, 1960.
- FULBRIGHT, T.E. & FLENNIKEN, K.S. Causes of dormancy in *Paspalum plicatulum* (Poaceae) seeds. *Southwestern Naturalist*, 33(1):35-39, 1988.
- GAMBOA, G.J. & GUERRERO, S.D.N. Scarification of Bahia grass (*Paspalum notatum* Flüge) to hasten its germination. *Agricultura Técnica, Mexico*, 2(10):445-449, 1969.
- GOMES, F.P. Curso de estatística experimental, 11ª ed., Piracicaba, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 1985. 466p.
- HARBORNE, J. B. Phenolic Compounds. In: PHYTOCHEMICAL METHODS. ed. Chapman and Hall, New York, 1973. p.33-88.
- HARBORNE, J. B. General procedures and measurement of total phenolics. In: METHODS IN PLANT BIOCHEMISTRY. v.1. Plant Phenolics. ed. P.M. Dey & J.B. Harborne, London, Academic Press. 1989. p.2-28.
- HARRINGTON, G.T. Use of alternating temperatures in germination of seeds. *Journal of Agricultural Research*, 23:295-332, 1923.

- HARRINGTON, J.F. Drying, storing, and packaging seed to maintain germination, vigor. *Seedsmen's Digest*, 11(1):16,56-57,64,66, 68, 1960.
- HEIT, C.E. The excised embryo method for testing germination quality of dormant seed. *Proceedings of the Association of Official Seed Analysts*, 45:108-117, 1955.
- HEMBERG, T. The action of some cytokinins on the rest period and the content of acid growth-inhibiting substances in potato. *Physiologia Plantarum*, 23:850-858, 1970.
- HEYWOOD, V. H. Flowering plants of the world. Heywood ed., New York, 1985. 335p.
- HIROTA, H.; FURUYAMA, M. & NAITO, K. Specific salt effects on the germination of forage crops. *Bulletin of the Faculty of Agriculture*, Nigata University, 40:77-82, 1988.
- HODGSON, H. J. Effect of heat and acid scarification on the germination of seed of Bahiagrass, *Paspalum notatum*. *Agronomy Journal*, 41(11):531-533, 1949a.
- HODGSON, H. J. Flowering habits and pollen dispersal in Pensacola (Bahiagrass *Paspalum notatum*, Flügge). *Agronomy Journal*, 41(8):337-343, 1949b.

- HOOVER, M.M.; HEIN, M.A.; DAYTON, W.A. & ERLANSON, C.O. The main grasses for farm and home. In: GRASS: the yearbook of Agriculture. United States Department of Agriculture, Stefferud, A. ed. Washington, 1948. p.639-700.
- HOPKINSON, J.M.; ENGLISH, B.H. & HARTY, R.L. Effects of different drying patterns on quality of seed of some tropical pasture grasses. Seed Science and Technology, 16(2):361-369, 1988.
- HSU, F.H. Germination of forage and native grass species in Taiwan. Taiwan Livestock Research, 19(2):87-97, 1986.
- KEFELI, V.I. Natural Plant Growth Inhibitors and Phytohormones. Boston, Dr. W. Junk b.v. Publishers, 1978. 277p.
- KELLMAN, M. Longevity and susceptibility to fire of *Paspalum virgatum* L. seed. Tropical Agriculture, 57(4):301-304, 1980.
- KHAN, A.A. ABA and kinetin induced changes in cell homogenates, chromatin - bound RNA polymerase and RNA composition. In: CARR, D.J. ed. Plant growth substances. New York, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1970. p.207-215.
- KISSMANN, K.G. Plantas infestantes e nocivas. Tomo I. BASF Brasileira S.A., São Paulo, 1991. 608p.

- KNEEBONE, W. R. & CREMER, C. L. The relationship of seed size to seedling vigor in some native grass species. *Agronomy Journal*, 47(10):472-477, 1955.
- KNIGHT, W. E. The influence of photoperiod and temperature on growth, flowering and seed production of Dallisgrass, *Paspalum dilatatum* Poir. *Agronomy Journal*, 47:555-559, 1955.
- KOLLER, D. Environmental control of seed germination. In: KOZLOWSKI, T. T., ed. - *Seed Biology 2*. New York, Academic Press, 1972. p.1-101.
- LEITÃO FILHO, H. F.; ARANHA, C. & BACCHI, O. Plantas invasoras de culturas no Estado de São Paulo. Tomo I. São Paulo, HUCITEC, 1972. 201p.
- LE PAGE-DEGIVRY, M. T. Rôle des gibbérellines et de l'acide abscissique dans la germination et la dormance des semences: Pour une approche dynamique. *Seed Science and Technology*, 18(2):345-356, 1990.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination - aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, 2(1):176-177, 1962.

- MAROUSKY, F.J. & WEST, S.H. Germination of bahiagrass in response to temperature and scarification. *Journal of the American Society of Horticultural Science*, 113(6):845-849, 1988.
- MATHEWS, A.C. Observations on methods of increasing the germination of *Panicum anceps* Michx. and *Paspalum notatum* Flügge. *Journal of the American Society of Agronomy*, 39:439-442, 1947.
- McALLISTER, D.F. The effect of maturity on the viability and longevity of the seeds of western range and pasture grasses. *Journal of the American Society of Agronomy*, 35:442-453, 1943.
- McELGUM, J.D. Germination response of forage grasses to constant and alternating temperatures. *Canadian Journal of Plant Science*, 54:265-270, 1974.
- MEYER, B.S. ; ANDERSON, D.B. & BOHNING, R.H. *Introduction to plant physiology*. D. Van Nostrand Company, INC., ed. New York, 1960. 541p.
- MORGAN, P.W. A uniform blowing method for Pensacola bahiagrass (*Paspalum notatum* var. Saurae) and a comparison of the uniform and hand methods. *Proceedings of the Association of Official Seed Analysts*, 55:59-63, 1965.

- NAKAMURA, S. Germination of grass seeds. *Proceedings of the International Seed Testing Association*, 27(3):710-729, 1962.
- NEVES, M. P.H.; VIANA, N.G. & FIGUEIREDO, F.J.C. Cor determinando a maturação das sementes de *Paspalum guenoarum*. *Revista Brasileira de Sementes*, 3(1):204-205, 1981.
- OKUMA, M. & CHIKURA, S. Ecology and control of subspecies of *Paspalum distichum* L. Chikugo suzumehie, growing in creeks in the paddy area on the lower reaches of the Chikugo River in Kyushu. 4. Possibility of reproduction by seeds. *Weed Research*, 29(1):45-50, 1984.
- ORTOLANI, D.B. & USBERTI, R. Problemas de análise em sementes de gramíneas forrageiras. *Revista Brasileira de Sementes*, 3(2):79-92, 1981.
- PEREIRA, M. F.D.A. & MAEDA, J.A. Environmental and endogenous control of germination of germination of *Vitis vinifera* seeds. *Seed Science and Technology*, 14:227-235, 1986.
- PESKE, S.T. Processing Pensacola bahiagrass (*Paspalum notatum* Flügge) seeds. Mississippi State University, State College, Mississippi, 1976. 67p. Dissertation (M.S.)

- PESKE, S.T. & BOYD, A.H. Beneficiamento de sementes de capim Pensacol. *Revista Brasileira de Sementes*, 2(2):39-56, 1980.
- PILLAY, D. T.N. & EDGERTON, L.J. Relationship of growth substances, to rest period and germination in mazzard cherry seeds. *Proceedings of the American Society of Horticultural Science*, 86:108-114, 1965.
- POPINIGIS, F. *Fisiologia da semente*. Brasília, AGIPLAN, 1977. 289p.
- QUEBEDEAUX, B.; SWETSER, P.B. & ROWELL, J.C. Abscisic acid levels in soybean reproductive structures during development. *Plant Physiology*, 58:363-366, 1976.
- RAY, C.B. & STEWART, R.T. Germination of seeds from certain species of *Paspalum*. *Journal of the American Society of Agronomy*, 29:548-554, 1937.
- REUSCH, J.D.H. The relationship between reproductive factors and seed set in *Paspalum dilatatum*. *South African Journal of Agricultural Science*, 4:513-530. 1960.
- ROBERTS, E. H., ed. Dormancy: a factor affecting seed survival in the soil. In: VIABILITY OF SEEDS. Chapman and Hall Ltda., London, 1972. 448p.

- ROCHA, G.L. - da. A grama de batatais. *Revista dos Criadores*, 29:26-27, 1958.
- SCOTT, J.M. - Bahiagrass. *Journal of the American Society of Agronomy*, 12:112-113, 1920.
- SHIPPINDALE, L.K.A.; SCOTT, J.D. THIRON, J.J. & MEREDITH, D. *The grasses and pastures of South Africa*. Meredith, ed., New York, 1955. 771p.
- SILVA, S.L.; MAIA, M.S.; MELLO, V.D.C. & ZONTA, E.P. Determinação de fatores que afetam a germinação e dormência de *Paspalum guenoarum* Arech. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 3., Campinas, 1983. p.7.
- SIRIWAN, P. An assay of methods to overcome dormancy in seed of Brown top Millet (*Panicum ramosum*). Mississippi State University. Mississippi, 1977. 47p. Dissertation (M.S.)
- SISTACHS, M. & LEON, J.J. The effect of the removal of seed coat and sowing depth on the germination of weeds. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 19(2):209-215, 1985.
- SMITH, A.E. & POWELL, J.D. Bahiagrass control in Coastal Bermudagrass hayfields. *Research Report*, Georgia Agricultural Experiment Stations, 356:18, 1980.

- SNEDECOR, G. W. Statistical methods. The Iowa State University Press, United States, 1962. 422p.
- SOUZA, H.M. de. Formação e conservação de gramados. *O Agrônomo*, 20(3):17-33, 1968.
- STERMER, R. A. Purity analyses of certain grass seeds by flotation techniques. *Proceedings of the Association of Official Seed Analysts*, 54:73-81, 1964.
- TABOR, P. Some observations of Bahiagrass for soil conservation in the southeastern United States. *Agronomy Journal*, 42(7):362-364, 1950.
- TAYLORSON, R.B. & HENDRICKS, S.B. Overcoming dormancy in seeds with ethanol and other anesthetics. *Planta*, 145:507-510, 1979.
- TISCHLER, C. R. & YOUNG, B.A. Effects of chemical and physical treatments on germination of freshly-harvested Kleingrass seed. *Crop Science*, 23:789-792, 1983.
- TOLEDO, F.F. de & MARCOS FILHO, J. *Manual das Sementes. Tecnologia da Produção*. Piracicaba, Ed. Agron. Ceres, 1977. 224p.
- TOLEDO, F.F. de; MARCOS FILHO, J.; SILVAROLLA, M.B. & BATISTA NETO, J.F. Maturação e dormência de sementes de grama batatais. *Revista de Agricultura*, 56:83-91, 1981.

- TOOLE, V.K. & SIRRINE, E.F. Testing seed of *Paspalum dilatatum*. Proceedings of the Association of Official Seed Analysts , 29:148, 1937.
- TORRES, P.A. Agressividade de algumas gramíneas forrageiras da região de Piracicaba. In: E.S.A. "LUIZ DE QUEIROZ", Anais, Piracicaba, 11:93-114, 1949.
- USBERTI, R - Estudo da germinação de sementes de limão cravo (*Citrus reticulata* var. *austera* Hib.-Swingle): condições de umidade e armazenamento e relações hormonais. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1979. 70p. (Tese de Mestrado)
- VALIO, I.F. - M. Promotion and inhibition of growth in *Lunularia cruciata* (L.) DUM. London, 1969. 184p. (Thesis Ph.D.)
- WEBB, D.P. & WAREING, P.F. Seed dormancy in *Acer*: endogenous germinating inhibitors and dormancy in *Acer pseudoplatanus* L. *Planta*, 104:115-125, 1972.
- WEST, S.H. Reducing dormancy in Pensacola Bahiagrass. *Journal of Seed Technology*, 16(1,2):1-8, 1992.
- WEST, S.H. & MAROUSKY, F. Mechanism of dormancy in Pensacola Bahiagrass. *Crop Science*, 29(3):787-791, 1989.
- WHARTON, M. J. The use of the Tetrazolium Test for determining the viability of grass seeds. Proceedings of the International Seed Testing Association, 20(1):71-80, 1955.

- WILLIAMS, R.C. & WEBB, B.C. Seed moisture relationships and germination behavior of acid scarified bahiagrass seed. *Agronomy Journal*, 50:235-237, 1958.
- WINSTON, P.W. Saturated solutions for the control of humidity in biological research. *Ecology*, 41(1):232-237, 1960.
- WOOD, T. A reagent for the detection of chloride and certain purines and pyrimidines on paper chromatograms. *Nature*, 176:175, 1955.
- YOON, S. Y.; MURAYAMA, S. & KOSAKA, S. Studies on temperature responses of grasses. 2. Comparison of germination of temperate and tropical grasses in various temperature conditions. *Journal of the Yamagata Agriculture and Forestry Society*, 42:21-25, 1985.