

MARIA LUIZA DOMINGUES VILLAR

GERMINAÇÃO DE DATURA STRAMONIUM L.

TESE APRESENTADA AO INSTITUTO DE
BIOLOGIA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL
DE CAMPINAS PARA A OBTENÇÃO DO TÍ-
TULO DE MESTRE EM BIOLOGIA VEGE-
TAL.

ORIENTADORA: DRA. ROSELY SHARIF

CAMPINAS

1982

V622g

4800/BC



COORDENAÇÃO DOS CURSOS DE PÓS-GRADUAÇÃO

UNICAMP

AUTORIZAÇÃO PARA QUE A UNICAMP POSSA FORNECER, A PREÇO DE CUSTO, CÓPIAS DA TESE A INTERESSADOS

Nome do Aluno: Maria Luiza Domingues Villar

Nº de Identificação: 805240

Endereço para Correspondência: R. Manoel Elias Ruiz 13, Santos S. Paulo.

Curso: Biologia Vegetal

Nome do Orientador: Prof. Dr. Rosely Rocha Sharif.

Título da Dissertação ou Tese: Germinação de Datura stramonium L.

Data proposta para a Defesa:

(O Aluno deverá assinar um dos 3 itens abaixo)

1) Autorizo a Universidade Estadual de Campinas a partir desta data, a fornecer, a preço de custo, cópias de minha Dissertação ou Tese a interessados.

 / /
Data

assinatura do aluno

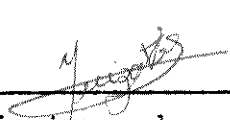
2) Autorizo a Universidade Estadual de Campinas, a fornecer, a partir de dois anos após esta data, a preço de custo, cópias de minha Dissertação ou Tese a interessados.

 / /
Data

assinatura do aluno

3) Solicito que a Universidade Estadual de Campinas me consulte, dois anos após esta data, quanto à minha autorização para o fornecimento de cópias de minha Dissertação ou Tese, a preço de custo, a interessados.

04 / 12 / 82
Data


assinatura do aluno

De acordo


Orientador

AGRADECIMENTOS

À Dra. Rosely Sharif, pela sua orientação, amizade e dedicação durante todo o transcorrer deste trabalho.

Aos professores Drs. Gil Martins Felipe, Ivany F.M. Válio, Maria de Fátima A. Pereira e William Henry Stubblebine, pelas sugestões dadas no transcorrer deste trabalho.

À minha irmã, Maria Angélica Domingues Villar, pela confecção dos gráficos originais.

À Sra. Sebastiana R. Vieira dos Santos, pelos auxílios prestados e aos demais funcionários do Departamento de Fisiologia Vegetal.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior (CAPES) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro, sem o qual não seria possível a realização deste trabalho.

A todos os amigos, pelo apoio e incentivo dedicados.

ÍNDICE

	<u>Página</u>
1. Introdução	1
2. Material e métodos	10
2.1. Material biológico	10
2.2. Método geral de germinação	10
2.3. Escarificação de sementes	10
2.4. Lixiviação de sementes	12
2.5. Condições de luz	13
2.6. Condições de temperatura	13
2.7. Aplicação de reguladores de crescimento	14
2.8. Extrações e níveis endógenos de substâncias de crescimento	14
2.9. Teste de viabilidade	20
2.10. Análise estatística	20
3. Estudo dos fatores que afetam a germinação	22
3.1. Luz branca	22
3.2. Escarificação	22
3.3. Luz monocromática	24
3.4. Temperaturas constantes	28
3.5. Temperaturas alternadas	31
3.6. Tempo de armazenamento	33
3.7. Posição do fruto na planta	37
4. Estudo da influência dos tegumentos na germinação	45
4.1. Permeabilidade dos tegumentos à absorção de água	45
4.2. Presença de promotores ou inibidores de ger- minação nos tegumentos	46
5. Efeito de reguladores de crescimento na germina- ção	56
6. Níveis endógenos de substâncias de crescimento em sementes embebidas	62
7. Discussão e conclusões	73

Página

8. Resumen
9. Bibliografía citada

87

90

1. INTRODUÇÃO

A semente representa para as angiospermas multiplicação e dispersão, tendo grande importância na perpetuação das espécies.

A semente é tipicamente uma estrutura resistente em que o embrião está protegido de condições adversas do meio por seus envoltórios (Torrey, 1967). As atividades metabólicas desta planta embrionária estão em níveis extremamente baixos, não sendo re-estimuladas até que se tenha passado algum tempo considerável, ou que seja experimentado algum estímulo ambiental, podendo o novo indivíduo ser disperso tanto no tempo como no espaço.

A semente está portanto equipada de características morfológicas e fisiológicas para que desempenhe seu papel de unidade de dispersão, fenômeno vantajoso na adaptação dos ciclos de crescimento da planta às variações ambientais. Além da manutenção das espécies as sementes são também importantes como alimento para o homem. Gramíneas e leguminosas constituem a maioria das sementes comestíveis como por exemplo arroz, trigo, milho, cevada, soja, feijão e ervilha.

Geralmente grandes quantidades de sementes são produzidas e dispersas a distâncias consideráveis e muitas vezes somente pequena proporção dessas sementes produzem plantas adultas. Logo, tem sido dada muita atenção ao processo inicial de germinação que é uma das fases mais importantes no desenvolvimento da planta (Kozlowski e Gunn, 1972).

Germinação pode ser definida como uma sequência de

eventos morfogenéticos e fisiológicos que resulta na transformação do embrião em plântula (Berlyn, 1972).

Um adequado suprimento de água, composição de gases na atmosfera e condições apropriadas de luz e temperatura, são requisitos necessários para a germinação de sementes da maioria das espécies (Mayer e Poljakoff-Mayber, 1975). As sementes dormentes são aquelas que necessitam de outras condições mais específicas além das citadas acima, para a germinação.

Fisiologicamente, a germinação é um processo que se inicia com a embebição da semente quiescente, frequentemente com baixo conteúdo de água, a qual mostra um aumento geral na atividade metabólica que havia sido, diminuída durante sua maturação. O crescimento do embrião é então retomado, e o processo termina com a protrusão de alguma parte do mesmo através do tegumento. Em muitas sementes observa-se inicialmente a protrusão da radícula.

O processo da embebição é influenciado pela natureza da casca, composição química das reservas e disponibilidade de água. Devido às suas características físicas e químicas o tegumento pode regular a germinação interferindo no processo de absorção de água, no controle de absorção do oxigênio utilizado na respiração e processos oxidativos, na permeabilidade a inibidores endógenos e resistência ao crescimento do embrião (Mayer e Shain, 1974).

As estruturas do tegumento podem ser duras e resistentes à absorção de água como é comum em muitas espécies de Fabaceae, Convolvulaceae e Solanaceae (Roston, 1978). Ferreira e Handro (1979), observaram que os tegumentos das sementes

de Araucaria angustifolia impedem a entrada de água diminuindo a velocidade de germinação. Este efeito inibidor da testa desta semente pode ser diminuído através da escarificação.

A remoção ou quebra dos tegumentos por escarificação química ou mecânica além de aumentar a permeabilidade à água, induz a ocorrência de outras mudanças tais como sensibilidade aumentada para luz e temperatura, permeabilidade para gases, remoção de promotores ou inibidores, todos os quais influem significativamente no metabolismo da semente e consequentemente na dormência (Khan, 1977).

Luz, além de controlar vários aspectos do desenvolvimento de plantas, entre eles o crescimento de plântulas e a floração, exerce um controle marcante na germinação de sementes.

Já no final do século XIX e início do século XX, haviam evidências de que a luz afetava a germinação de dois modos: estimulando a germinação de certas sementes e inibindo a de outras (Mayer e Poljakoff-Mayber, 1975). Borthwick et al. (1952), demonstraram que luz está realmente envolvida na germinação de muitas sementes. O controle da germinação de sementes pela luz branca foi chamado de fotoblastismo por Evnari (1965). Smith (1975) define claramente sementes fotoblásticas positivas como as que têm sua germinação estimulada por luz branca e fotoblásticas negativas cuja germinação é promovida pelo escuro; em ambos os casos a germinação pode ocorrer em menores porcentagens nas condições mais adversas, isto é, escuro e luz branca respectivamente. Existem ainda espécies cujas sementes germinam igualmente bem em condições de

luz branca e escuro. São exemplos de sementes fotoblásticas positivas Rumex obtusifolius (Isikawa e Fujii, 1961; Felipe, 1978), Bidens pilosa (Válio, et al., 1972), certas variedades de Lactuca sativa (Borthwick et al., 1952) e Datura ferox (Soriano et al., 1964); de sementes fotoblásticas negativas Cucumis anguria (Noronha et al., 1971), Ricinus communis e Leonotis nepetaefolia (Polo e Felipe, 1983), e de não fotoblásticas Crotalaria mucronata, Ipomea acuminata (Polo e Felipe, 1983) e Datura stramonium (Kinzel 1926 in Mayer e Poljakoff-Mayber, 1975). Noronha, et al., (1976) mostraram que o fotoblastismo da semente pode depender não só da espécie, mas também das condições de armazenamento.

O fato da luz branca afetar a germinação de sementes levou os pesquisadores à realização de diversos experimentos, usando luz de diferentes comprimentos de onda, através dos quais foi verificado que diferentes zonas do espectro afetam diferentemente a germinação. Em sementes de alface que germinam em luz, Borthwick et al. (1952), demonstraram que um minuto de luz vermelha (660 nm) era suficiente para que sementes mantidas no escuro germinassem. Quando após o choque de vermelho, era dado um choque de vermelho-extremo a germinação era totalmente inibida. Se após o choque de vermelho-extremo, fosse dado um lampejo de vermelho as sementes germinavam. Havia portanto uma reversibilidade de efeitos de luz, sendo que o último comprimento de onda iria determinar a germinação ou não das sementes, independentemente do número de aplicações. Esses autores explicam o efeito através da existência de um pigmento fotoconversível apresentado em duas formas: uma forma que absorve luz vermelha (FV) e outra que absorve vermelho-

extremo (FVE). Vários autores têm demonstrado respostas desse tipo em sementes de outras espécies como Rumex obtusifolius (Isikawa e Fujii, 1961), Cucumis anguria (Noronha et al., 1978) e Stevia rebaudiana (Randi e Felipe, 1981).

Esse pigmento, o fitocromo, foi isolado pela primeira vez a partir de plântulas estioladas de milho por Butler e colaboradores em 1959 (Leopold e Kriedemann, 1975). O modo pelo qual o estímulo captado pelo fitocromo é convertido em resposta fisiológica ainda não está totalmente esclarecido e de acordo com Mohr (1972), este agiria como controlador de atividade gênica, ativando ou reprimindo genes, regulando dessa forma a síntese proteica.

A sensibilidade das sementes à luz é afetada pela temperatura. Taylorson e Hendricks (1977) mostram a interação de temperatura e luz em Rumex crispus.

O efeito de temperatura na germinação é muito discutido. Tratamentos com temperaturas altas, baixas ou alternadas podem alterar a germinação de muitas espécies.

Qualquer processo fisiológico onde um passo mediado por enzimas está envolvido, só pode ocorrer dentro de certos limites de temperatura (Koller, 1972). Diferentes espécies têm diferentes faixas de temperatura em que suas sementes germinam. Nesta faixa ocorre uma temperatura ótima a qual pode ser definida como a que causa a mais alta porcentagem de germinação no menor tempo. Em sementes de Cucumis anguria, Felipe (1980), observou que choques de 0°C e pares alternantes de temperatura de 25-10°C e 25-5°C, promoveram a germinação em luz branca; choques de 0°C também promoveram a germinação de Bidens pilosa (Válio et al., 1972).

Muitas sementes não germinam sob temperaturas constantes, entretanto temperaturas alternadas promovem sua germinação como é o caso de Vitis vinifera (Maeda, 1982) e Cucumis anguria (Felippe, 1980). Cohen, citado por Leopold e Kriedemann (1975), acredita que alternância de temperaturas aumente a germinação de certas sementes pelo fato de provocar nestas, mudanças estruturais ou físico-químicas.

O efeito de temperatura talvez seja devido a alterações nos níveis endógenos de substâncias de crescimento. Felippe et al. (1970) mostraram que o nível de giberelinas é aumentado quando sementes de Rumex obtusifolius são expostas a alta temperatura, tratamento este que aumenta a germinação. Tratamentos com temperaturas baixas também são conhecidos por aumentar os níveis endógenos de giberelinas e a germinação, como ocorre em uva (Maeda, 1982).

Um grande número de evidências demonstra a influência de fatores provenientes do embrião no desenvolvimento da atividade enzimática em cotilédones e endosperma durante a germinação. Muitos autores acreditam que esta atividade está sob controle hormonal (Mayer e Shain, 1974).

Khan e colaboradores em 1956, citados por Mayer e Poljakoff-Mayber (1975), foram os primeiros a mostrar que o ácido giberélico estimula a germinação de Lactuca scariola e Lactuca sativa no escuro. Em sementes de Rumex obtusifolius o ácido giberélico substitui a luz na germinação (Felippe et al., 1970). Foi verificada também a interação entre os efeitos do ácido giberélico e da luz vermelha em sementes de alface (Ikuma e Thimann, 1960) e sementes de Kalanchoe, Salsola volkensii e Arabidopsis (Mayer e Poljakoff-Mayber, 1975). Entretan

to não há evidências que indiquem que a presença da forma FVE do fitocromo resulte na síntese de ácido giberélico nas sementes em que a luz é responsável pela germinação (Krishnamoorthy, 1981). Em sementes fotoblásticas negativas como Nemophila insignis e Phacelia tanaecetifolia, o GA_3 substitui o escuro na germinação (Krishnamoorthy, 1981). Porém a função exata das giberelinas na regulação da germinação das sementes ainda está para ser elucidada (Mayer e Shain, 1974).

As citocininas, estão envolvidas em vários fenômenos fisiológicos, entre eles dormência e germinação de sementes (Taylorson e Hendricks, 1977). As citocininas promovem a germinação no escuro de muitas espécies de sementes fotoblásticas positivas (Miller, 1958). Válio (1976) observou que cinetina aumenta a germinação, aparentemente por estimulação no crescimento da radícula, de sementes de café. A aplicação de um período de luz vermelha, provoca um rápido aumento no conteúdo de citocininas endógenas em sementes de Rumex obtusifolius (Van Staden e Wareing, 1972).

Muita atenção tem sido dada aos efeitos de inibidores ácidos, particularmente ao ácido abscísico na germinação. ABA é um componente endógeno de muitas sementes, quer essas sementes estejam dormentes ou não. É ainda um inibidor efetivo quando aplicado exogenamente (Wareing e Saunders, 1971). Em Fraxinus americana e sementes de outras espécies a dormência está relacionada com a quantidade de ácido abscísico no embrião (Sodheimer et al., 1968 e Milborrow, 1974). Tem-se sugerido também interações entre o ácido abscísico e o ácido giberélico no controle e quebra de dormência (Taylorson e Hendricks, 1977). Entretanto seu efeito após a liberação da dor

mência e antes da protrusão da radícula é incerto (Mayer e Shain, 1974).

Portanto, giberelinas, citocininas e inibidores são substâncias de crescimento importantes para o processo de germinação e a presença, ou ausência de um destes, em concentrações fisiologicamente ativas, podem determinar a germinação ou dormência das sementes.

Conklin (1976) mostrou que sementes de espécies herbáceas de Datura frequentemente mostram uma baixa porcentagem de germinação em condições normais de campo ou em casa de vegetação.

Soriano et al. (1964), observaram em sementes de Datura ferox, que a germinação só pode ser obtida se a casca for totalmente removida. Esses autores verificaram que tanto sementes intactas como escarificadas totalmente alcançaram o mesmo nível de embebição em 32 horas, sugerindo que o bloqueio de germinação não está relacionado ao processo de absorção de água. Eles propõem a existência de um inibidor endógeno o qual seria difundido, ou destruído por oxidação, com a remoção da casca. Esta hipótese foi reforçada pelo fato de extrato de sementes intactas de Datura ferox inibir a germinação de Lactuca sativa var. "Grand Rapids" (Burkat e Sanchez, 1969). Contudo, Miguel em 1980 detectou inibidores endógenos de germinação nas frações ácidas e básicas de extratos de sementes com a casca removida e também nos de tegumentos, e sugere que este inibidor presente na fração ácida, possa ser o ácido abscísico.

Datura stramonium é uma planta invasora de grande in

teresse, já que possui alcalóides utilizados para a fabricação de medicamentos (Conklin, 1976). Estes alcalóides como cocaína, morfina, papaverina e principalmente atropina e escopolamina estão presentes em vários órgãos da planta (Kondrat et al., 1978).

Pouco é conhecido a respeito dos fatores que afetam a germinação da semente de Datura stramonium. Gill em 1938 citado por Conklin (1976), mostrou que sementes recém colhidas, plantadas em condições ambientais, alcançaram 100% de germinação e que estas sementes não germinaram quando plantadas vários meses mais tarde, e Toole e Brown (1946) mostraram que Datura stramonium mantem sua viabilidade por 39 anos.

A germinação de Datura stramonium em condições de laboratório foi significativamente maior em luz do que no escuro (Conklin, 1976). Entretanto Kinzel classificou-a como não fotoblástica (Mayer e Poljakoff-Mayber, 1975).

G.M. Felipe (comunicação pessoal), observou que a germinação dessa semente estava condicionada à lavagem.

O objetivo deste trabalho foi verificar alguns fatores que afetam a germinação de Datura stramonium, tais como luz, temperatura, a influência dos tegumentos, verificar o efeito de reguladores de crescimento como giberelina (GA_3) e citocininas (cinetina e 6-BA) tentando correlacionar esses efeitos com os níveis endógenos de substâncias de crescimento.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material Biológico

Foram utilizadas sementes de Datura stramonium L. de flores brancas coletadas no campo em Barão Geraldo e de plantas cultivadas em canteiros no Departamento de Fisiologia Vegetal da Universidade Estadual de Campinas (Tabela 2.1). Após a coleta as sementes foram estocadas em frascos de vidro à temperatura ambiente.

2.2. Método Geral de Germinação

As sementes foram colocadas para germinar em placas de Petri, de vidro ou plástico de 9 cm de diâmetro, com duas folhas de papel de filtro umedecido com 6 ml de água destilada. Foram colocadas 20 sementes de Datura stramonium L. por placa de Petri e geralmente foram feitas cinco repetições por tratamento; em alguns casos foram utilizadas apenas três repetições.

Os experimentos de germinação foram mantidos em câmaras de crescimento "Forma Scientific" modelo 24, em condições controladas de luz e temperatura. A germinação foi verificada a cada dois ou três dias, e as sementes eram consideradas germinadas logo após a protrusão da radícula.

2.3. Escarificação de Sementes

A escarificação mecânica das sementes de D. stramonium foi feita removendo-se parcialmente os envoltórios do lado oposto ao hilo, utilizando-se um bisturi, tomando-se sempre o

TABELA 2.1. Relação dos lotes de sementes de D. stramonium utilizadas nos experimentos apresentados neste trabalho.

Lote	Época de coleta	Local
I	10/78	Barão Geraldo
II	23/10/79	Unicamp
III	30/10/79	"
IV	30/11/79	"
V	14/08/80	"
VI	24/04/81	"
VII	04/11/80	"
VIII	04/11/80	"
IX	04/11/80	"
X	04/11/80	"
XI	18/11/80	"
XII	18/11/80	"
XIII	18/11/80	"
XIV	18/11/80	"

cuidado de não danificar o embrião. Em alguns experimentos a casca das sementes foi totalmente removida.

2.4. Lixiviação de Sementes

Sementes a serem lixiviadas foram imersas em água destilada em geral numa proporção de 1 ml para cada 2 sementes. Durante a lixiviação as sementes foram mantidas no escuro a 25°C por diferentes períodos; imediatamente após esse tratamento, foram secas rapidamente em papel de filtro e colocadas para germinar nas condições usuais.

Sementes foram também lixiviadas em água corrente. Estas sementes ficaram amarradas num saquinho de gaze dentro de um funil de Büchner, em água corrente durante 24 horas.

Foi feita também a lixiviação intermitente de sementes no Soxhlet durante 24 horas; foi calculado um período de mais ou menos 1 minuto durante o qual as sementes que estavam sendo lixiviadas não ficavam imersas na água.

Nos tratamentos em que as sementes sofreram remoção parcial dos tegumentos, esta escarificação foi sempre feita antes da lixiviação.

Foram feitos testes para se verificar o efeito da água da lixívia de sementes de D. stramonium na germinação das próprias sementes lixiviadas ou não, assim como na de outras espécies tais como Lactuca sativa (alface) var. "Grand Rapids" e Cucumis anguria (maxixe). Nestes experimentos as sementes foram colocadas para germinar como descrito no item 2.2, mas a água da lixívia foi utilizada em lugar da água destilada para umedecer o papel de filtro.

2.5. Condições de Luz

A maior parte dos experimentos de germinação foi realizada mantendo-se as placas de Petri sob luz branca ou escuro contínuos.

A luz branca foi proveniente de lâmpadas Phyllips fluorescentes de 15 W, colocadas a ± 20 cm da prateleira onde as placas eram dispostas. Os tratamentos de escuro foram obtidos colocando-se as placas de Petri dentro de um invólucro formado por dois sacos de plástico negro que vedavam totalmente a entrada de luz.

Certos experimentos de germinação foram realizados continuamente sob luz monocromática vermelha ou vermelho-extremo. Luz vermelha foi obtida de uma lâmpada Westinghouse vermelha de 15 W e vermelho-extremo foi obtido de uma lâmpada incandescente de 6 W, filtrada através de três folhas de papel celofane azul e duas folhas de papel celofane vermelho.

Os choques de luz de comprimentos de onda do vermelho e vermelho-extremo foram dados após as sementes terem sido embebidas sob condições de escuro por 24 horas. Os choques foram de uma hora após os quais as placas retornaram para o escuro até o final do experimento.

A contagem da germinação nas placas mantidas no escuro ou em luz monocromática, foi sempre feita sob luz verde de segurança.

2.6. Condições de Temperatura

A maior parte dos experimentos de germinação foi rea-

lizada à temperatura constante de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Em alguns experimentos foram utilizadas temperaturas constantes de 15, 20, 30, 35 e $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, ou alternadas de 25 - 10; 25 - 20; $25 - 30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ com alternância de 12 horas.

2.7. Aplicação de Reguladores de Crescimento

Foi verificado o efeito do ácido giberélico (GA_3) e cinetina nas concentrações 0,1; 1,0; 10,0 e 100,0 $\mu\text{g/ml}$ na germinação de D. stramonium. As substâncias reguladoras de crescimento nas concentrações a serem testadas foram utilizadas para umedecer o papel filtro em lugar de água destilada (item 2.2).

2.8. Extração e Níveis Endógenos de Substâncias de Crescimento

Para verificação da presença de substâncias reguladoras de crescimento foram feitas quatro extrações: sementes embebidas por 24 horas em luz branca e no escuro e sementes embebidas por 48 horas também em luz branca e no escuro. A embebição das sementes foi realizada sobre papel de filtro umedecido com água destilada, a $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

As extrações de sementes embebidas por 24 horas foram realizadas segundo o método utilizado por Usberti (1979). Foram colocadas para embeber 10 g de sementes de D. stramonium estocadas por 11 meses, as quais, logo após o período de embebição de 24 horas, foram homogeneizadas com 50 ml de metanol 80%, sendo o volume completado para 100 ml. Os macerados foram extraídos no escuro, a 5°C , por 24 horas. Em seguida os

macerados foram filtrados a vácuo, e os resíduos re-extraídos em metanol 80% durante 24 horas. Foi feita nova filtração e o filtrado obtido foi adicionado ao da primeira filtração. Obteve-se assim o extrato metanólico bruto; a seguir procedeu-se à eliminação do metanol por meio de um evaporador rotatório, sob pressão reduzida, à temperatura de 35°C. A etapa seguinte foi fracionamento do extrato aquoso, cujos passos estão na Figura 2.1.

Esta metodologia de extração empregada para sementes embebidas durante 24 horas (Figura 2.1) ofereceu problemas quanto à obtenção da fração básica para separação da fração orgânica IV e fração aquosa IV, tendo sido necessária a adição de mais água. Na fração orgânica IV onde o solvente era n-butanol saturado o processo de evaporação foi excessivamente longo. Então para a extração seguinte (sementes embebidas por 48 horas) foi utilizada outra metodologia.

Para a extração de sementes embebidas por 48 horas foram utilizadas 15 g de sementes de D. stramonium estocadas por 15 meses; imediatamente após o período de embebição, as sementes foram colocadas em 48 ml de metanol 100% e levadas à temperatura de -10°C no escuro por 24 horas. Em seguida as sementes foram homogeneizadas durante 40 minutos. Os macerados com volume completado para 100 ml com metanol 80% após a maceração, foram extraídos no escuro à temperatura de -10°C por 24 horas.

Posteriormente os extratos foram filtrados a vácuo e o resíduo re-extraído em metanol 80% durante 24 horas, quando então foi feita nova filtração a vácuo e o filtrado obtido a-

dicionado ao da primeira filtragem. Procedeu-se então à remoção do metanol, no evaporador rotatório, sob pressão reduzida e temperatura de 35°C. As etapas do fracionamento do extrato aquoso realizadas de acordo com Gherardi (1974) modificado estão na Figura 2.2.

As frações ácidas, básicas e neutras obtidas pelos métodos de fracionamento foram cromatografadas em papel Whatman nº 3. O desenvolvimento foi descendente num percurso de 30 cm, realizado em cubas cromatográficas previamente saturadas com o sistema de solvente. Para as frações ácidas e neutras o sistema de solventes era constituído de isopropanol: amônia: água na proporção de 10:1:1 v/v/v; e para as frações básicas o sistema de solventes era constituído de acetato de etila: n.propanol: água, na proporção 4:1:2 v/v/v.

Os cromatogramas depois de desenvolvidos de forma descendente por 30 cm (8 horas aproximadamente) sob temperatura ambiente, foram secos sob corrente de ar.

A seguir as frações cromatografadas foram biotestadas. As frações ácidas e neutras foram biotestadas para substâncias com atividade giberelínica e as básicas para atividade citocinínica. O papel de cromatografia foi dividido em 10 faixas transversais entre o ponto de aplicação e a frente do cromatograma, e cada faixa foi dividida em 4 partes iguais. Cada uma destas 4 repetições foi colocada ao acaso em cubetas de plástico de 3,5 x 2,0 cm e umedecidas com 1,5 ml de água destilada. O controle foi feito usando-se quatro repetições de papel de filtro umedecido com 1,5 ml de água destilada.

Nos testes para substâncias giberelínicas, o bioteste

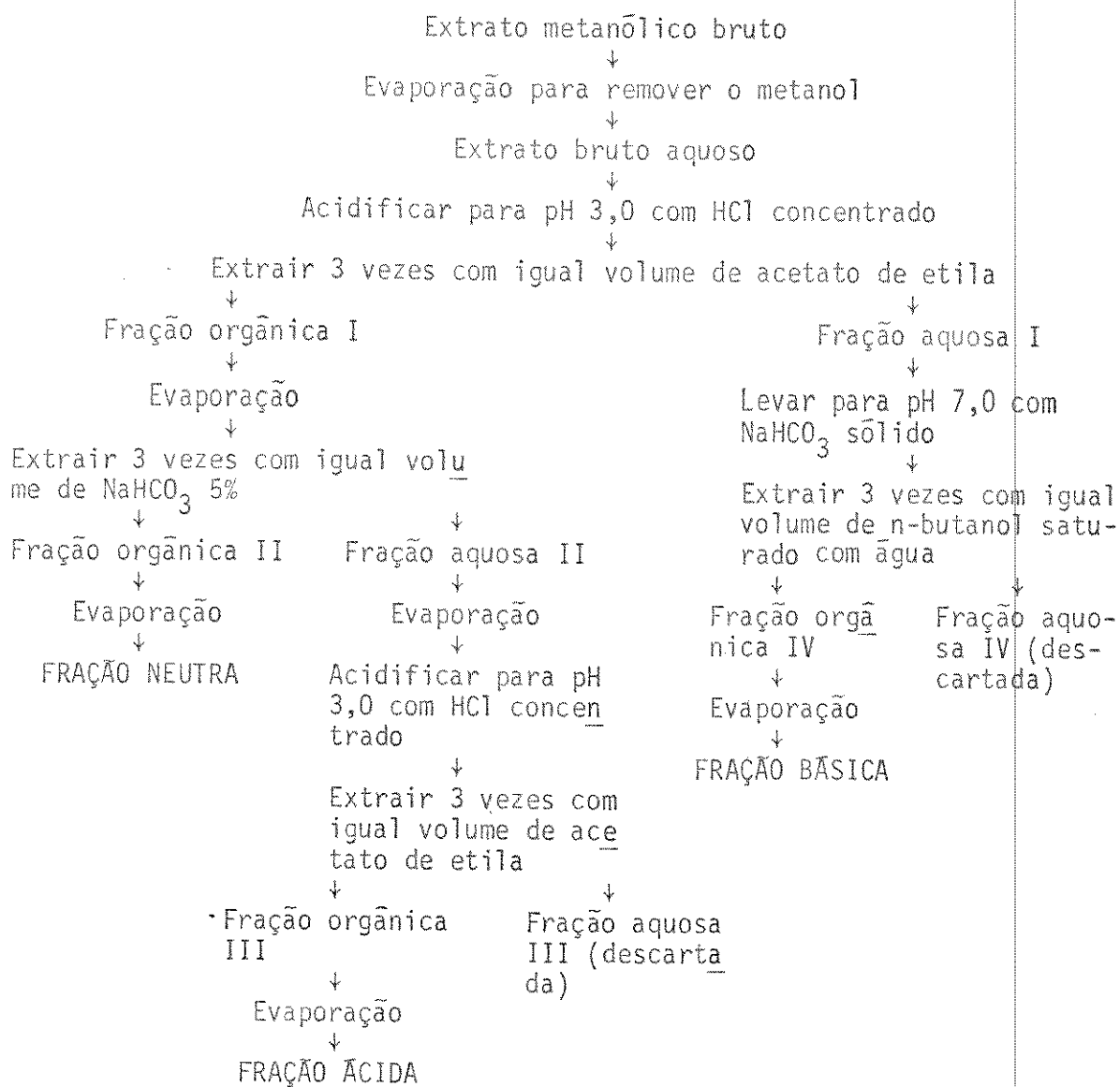


FIGURA 2.1. Esquema do processo de fracionamento para obtenção das frações ácida, básica e neutra. Sementes embebidas durante 24 horas em luz ou escuro.

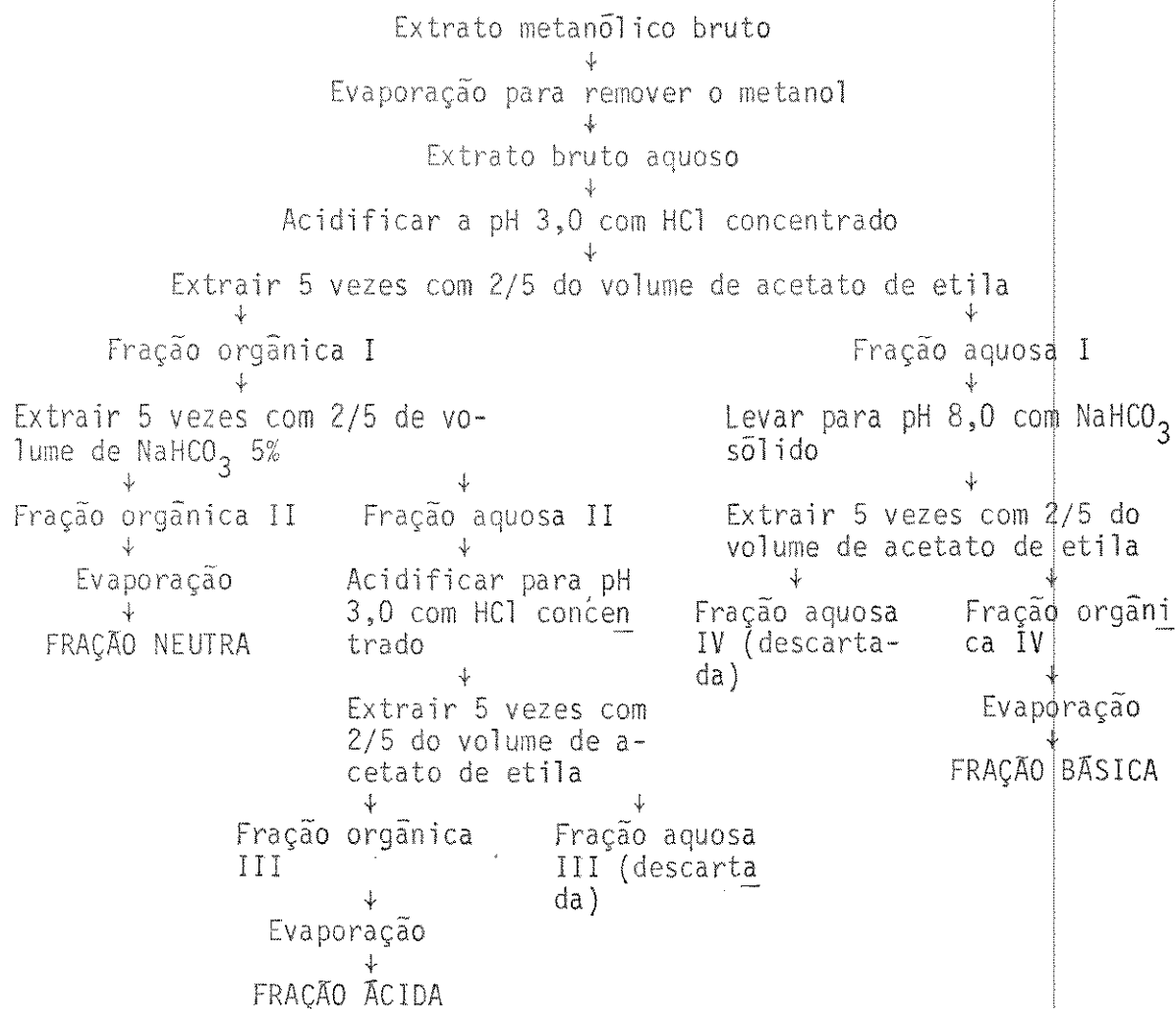


FIGURA 2.2. Esquema do processo de fracionamento para obtenção das frações ácida, básica e neutra. Sementes embebidas durante 48 horas em luz ou escuro.

utilizado foi o do hipocótilo de alface, segundo Frankland e Wareing (1960), onde substâncias com atividade giberelínica promovem o alongamento celular. Foram utilizadas sementes de alface var. "Grand Rapids", que foram colocadas para germinar em placas de Petri por 24 horas a 25°C, sob luz branca contínua. Após esse período foram selecionadas plântulas de tamanho uniforme e transferidas para as cubetas de plástico, sendo colocadas 4 plântulas por cubeta; em seguida foram transferidas para câmara de crescimento a 25°C sob luz branca proveniente de lâmpadas fluorescentes e incandescentes, onde permaneceram durante três dias. Após esse período foram medidos os hipocótilos das plântulas de alface.

Para se determinar a atividade citocinínica, o bioteste utilizado foi o dos cotilédones de rabanete (Letham, 1968). Substâncias com atividade citocinínica promovem o aumento em peso fresco de cotilédones de rabanete, devido principalmente à absorção de água. Sementes de rabanete var. "Vermelho Redondo" foram colocadas para germinar em placas de Petri no escuro a 25°C durante 24 horas. Após este período os cotilédones externos foram excisados, lavados em água destilada, selecionados e colocados em cubetas de plástico de 3,5 x 2,0 cm em contato com o papel de cromatografia umedecido com água destilada. A seguir as cubetas foram transferidas para câmaras de crescimento a 25°C, sob luz branca proveniente de lâmpadas fluorescentes onde permaneceram por seis dias. Decorrido este período, procedeu-se a pesagem dos grupos de quatro cotilédones de cada cubeta.

A eficiência de cada bioteste foi verificada utilizando-se 1,5 ml de ácido giberélico nas concentrações de 0,06;

0,25; 0,50; 1,00 µg/ml ou benzilaminopurina nas concentrações de 0,01; 0,10 e 1,00 µg/ml.

Os dados apresentados para as frações ácidas, básicas e neutras foram transformados em porcentagens em relação ao controle de água.

2.9. Determinação Química da Viabilidade

A viabilidade de sementes de D. stramonium foi verificada pelo teste do tetrazólio (Delouche et al., 1962) modificado. Sementes previamente embebidas de acordo com o item 2.2 por um período de no mínimo 24 horas foram imersas em uma solução de cloreto de 2, 3, 5-trifenil-tetrazolium na concentração de 1%. A incubação foi feita com sementes cortadas transversalmente e colocadas em frasco escuro a 25°C. Após um período de incubação de 24 horas as mesmas sementes foram observadas e consideradas viáveis as que apresentaram coloração rosa.

2.10. Análise Estatística

Os dados, geralmente finais, dos experimentos de germinação foram transformados em arco seno da raiz quadrada da proporção ($\text{arc sen } \sqrt{p}$, onde $p = \frac{x}{n}$, sendo x o número de sementes germinadas e n o número total de sementes), anteriormente à análise de variância, (Snedecor e Cochran, 1967). Nos casos em que o teste F deu significativo a 5%, determinou-se a Diferença Mínima Significativa (DMS) ao nível de 5%. Os resultados de germinação são apresentados em porcentagens, onde são indicados com letras diferentes os valores estatisticamente di

ferentes. Nos casos em que para um mesmo gráfico ou tabela foram feitas duas análises de variâncias separadas são usadas letras maiúsculas para uma e minúsculas para outra análise.

Os resultados dos biotestes foram analisados também através da análise de variância e calculado o DMS ao nível de 5%. Tais resultados foram representados na forma de histogramas onde as áreas hachuradas representam valores diferentes do controle.

3. ESTUDO DE FATORES QUE AFETAM A GERMINAÇÃO

3.1. Luz Branca

A germinação de sementes pode ser influenciada em diferentes intensidades pelo fator luz.

Pela Figura 3.1 pode ser observado que a germinação de sementes de Datura stramonium L. ocorreu no escuro a porcentagens muito reduzidas (1,0%) e foi promovida pela presença de luz branca contínua. A germinação das sementes é iniciada ao redor do 4º dia e se processa até cerca de 12 dias após o início da embebição.

O efeito promotor da luz branca na germinação de sementes de D. stramonium foi confirmado por vários experimentos. O resultado final de alguns desses experimentos é mostrado na Tabela 3.1. Sementes de D. stramonium podem, portanto, ser consideradas fotoblásticas positivas. Embora a luz tenha sempre um efeito promotor, a germinação de D. stramonium não atingiu nestes experimentos níveis superiores a 50%.

A Tabela 3.1 mostra ainda uma grande variação nas porcentagens finais de germinação, no dia 14, de experimento para experimento. Esta variação será discutida futuramente (item 3.6 e 3.7).

3.2. Escarificação

Sementes de Datura stramonium são fotoblásticas positivas, entretanto mesmo em presença de luz sua germinação é baixa. Assim sendo, foram realizados experimentos com o objetivo de verificar, se a baixa germinação de D. stramonium está relacionada a alguma influência da casca.

Como pode ser observado pela Figura 3.2, a escarifica

FIGURA 3.1. Efeito de luz branca na germinação de D. stramonium. Sementes com 12 meses de estocagem (lote I).

O - luz

● - escuro

.....

FIGURA 3.1

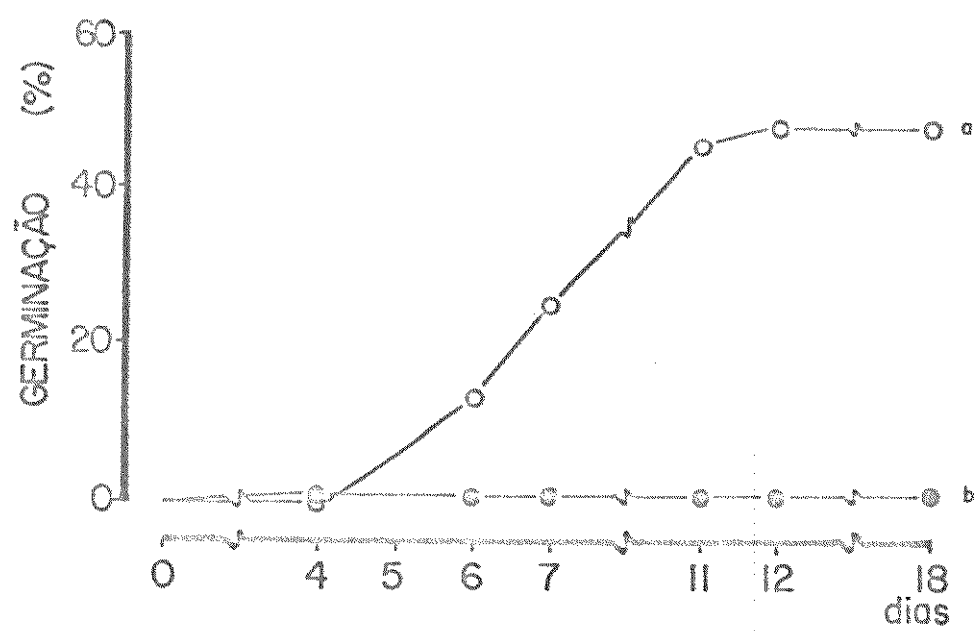


TABELA 3.1. Efeito de luz branca na germinação de *D. stramonium*, 14 dias após o início da embebição.

Lote	Estocagem (meses)	Germinação %	
		Luz	Escuro
I	06	33,0	0,0
I	13	41,6	5,0
I	14	25,0	1,6
I	15	25,0	0,0
I	18	51,6	3,3

ção assim como a remoção total da casca, aceleraram o processo e produziram um aumento significativo nas porcentagens finais de germinação de sementes em luz. A diferença apresentada entre os dois tratamentos promotores, no final do experimento não foi estatisticamente significativa. Na ausência de luz o efeito promotor foi mostrado apenas quando a casca foi totalmente removida.

A Tabela 3.2 mostra resultados finais de outros experimentos que confirmam o efeito da escarificação parcial promovendo a germinação em relação às sementes intactas de Datura, na presença de luz branca. Nestes experimentos a escarificação parcial foi promotora de germinação também no escuro.

Os envoltórios da semente de D. stramonium podem portanto ser considerados como uma barreira para o processo de germinação, determinando os baixos resultados encontrados em testes com sementes intactas. A natureza dessa barreira será discutida no Capítulo 4.

Embora a escarificação promova a germinação tanto em presença quanto na ausência de luz branca, no escuro a porcentagem final de germinação foi sempre inferior à porcentagem encontrada em luz. Pode-se concluir que a casca de sementes de D. stramonium representa uma barreira para o processo de germinação mas, uma vez que essa barreira seja retirada (artificialmente pela escarificação), a luz passa a ser o fator limitante do processo, pelo menos para certas sementes da amostra.

3.3. Luz Monocromática

Sementes de D. stramonium podem germinar tanto em pre

FIGURA 3.2. Efeitos de esscarificação parcial e remoção total da casca na germinação de sementes de D. stramonium em luz e escuro. Sementes com 4 meses de es_
tocagem (lote I).

○ ● - intacta	símbolos vazios-luz
△ ▲ - esscarificada	símbolos cheios-escuro
□ ■ - nua	

FIGURA 3.2

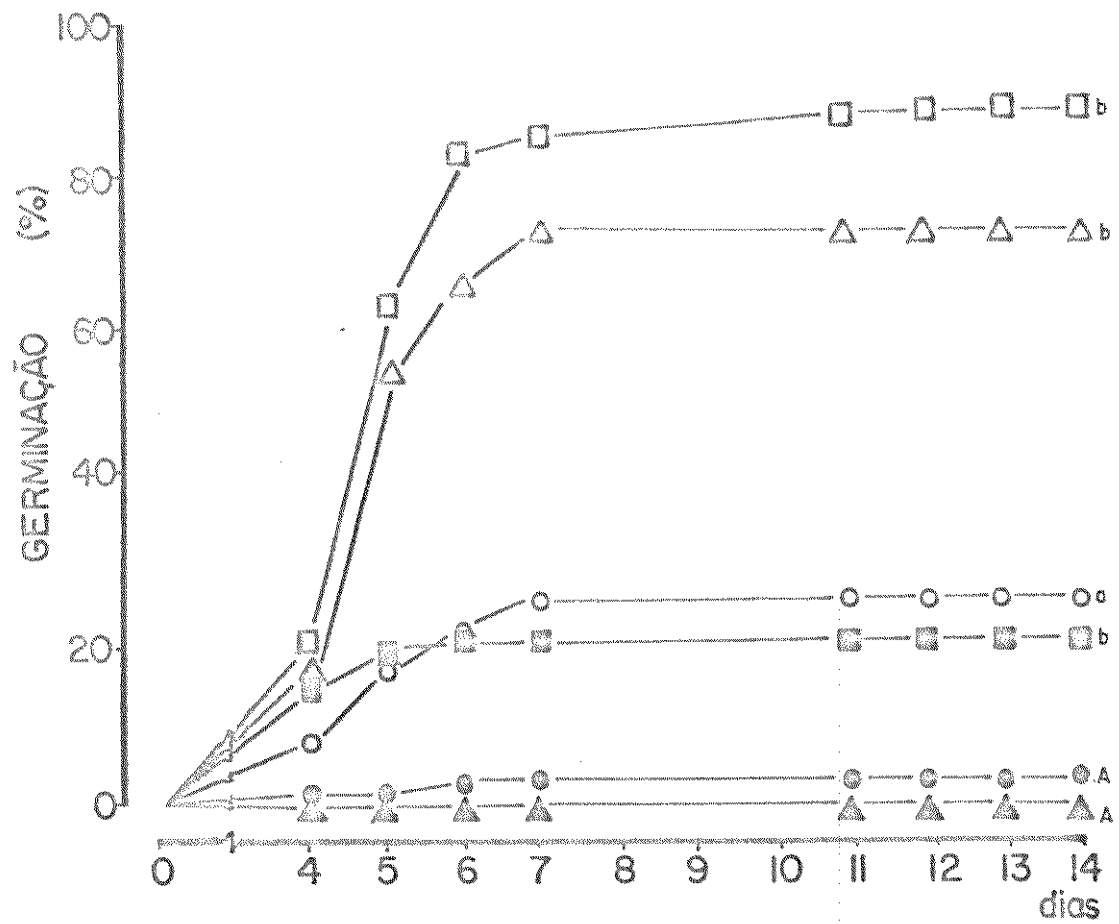


TABELA 3.2. Efeito da escarificação parcial da casca na germinação de sementes de *D. stramonium* em luz e escuro, 14 dias após o início da embebição.

Lote	Estocagem (meses)	Tratamento	Germinação %	
			Luz	Escuro
III	9	intacta	57	14
III	9	escarificada	90	20
II	11	intacta	65	8
II	11	escarificada	94	59

sença como em ausência de luz branca, sendo entretanto fotoblásticas positivas (3.1). Nesta seção foi verificado o comportamento germinativo das sementes em luz monocromática do comprimento de onda V e VE.

Os resultados dos dois experimentos mostrados na Figura 3.3 confirmam o efeito promotor da luz branca (embora no primeiro este efeito não tenha sido significativo) e escarificação na germinação de D. stramonium; em ambos os experimentos a maior porcentagem de germinação foi encontrada quando os dois tratamentos foram aplicados simultaneamente. Luz vermelha contínua promoveu significativamente a germinação de sementes intactas ou escarificadas em relação à germinação obtida no escuro. O efeito de vermelho-extremo contínuo, foi inibidor da germinação em relação à germinação observada no escuro, tanto para sementes intactas como para escarificadas.

A Figura 3.4 mostra que choques de 1 hora de luz branca ou vermelha já são suficientes para promover significativamente a germinação de sementes escarificadas de D. stramonium. O choque de 1 hora de vermelho-extremo dado após 1 hora de vermelho reverte o efeito deste e o choque de vermelho extremo é revertido por vermelho.

Resumindo, a germinação dessas sementes ocorre no escuro em porcentagens baixas, é promovida por luz vermelha e inibida por vermelho-extremo. O efeito promotor da luz branca nem sempre resulta em porcentagens tão elevadas de germinação quanto as encontradas em luz vermelha, talvez devido ao efeito combinado do vermelho e vermelho-extremo presentes na luz branca. Exposições à luz tão breves quanto uma hora já são su

FIGURA 3.3. Efeito de luz contínua branca (LB), vermelha (V), vermelho-extremo (VE) e escuro (ES) na germinação de sementes intactas e escarificadas de D. stramonium. 13 dias após o início da embebição. Resultados de dois experimentos.

- Experimento I - sementes com 8 meses de estocagem (lote IV).
- Experimento II - sementes com 9 meses de estocagem (lote III).

□ - intacta

▣ - escarificada

FIGURA 3.4. Efeito de choques de 1 hora de luz branca (LB), vermelha (V), vermelho-extremo (VE), e de escuro (ES), na germinação de sementes escarificadas de D. stramonium. 13 dias após o início da embebição. Sementes com 6 meses de estocagem (lote V).

FIGURA 3.3

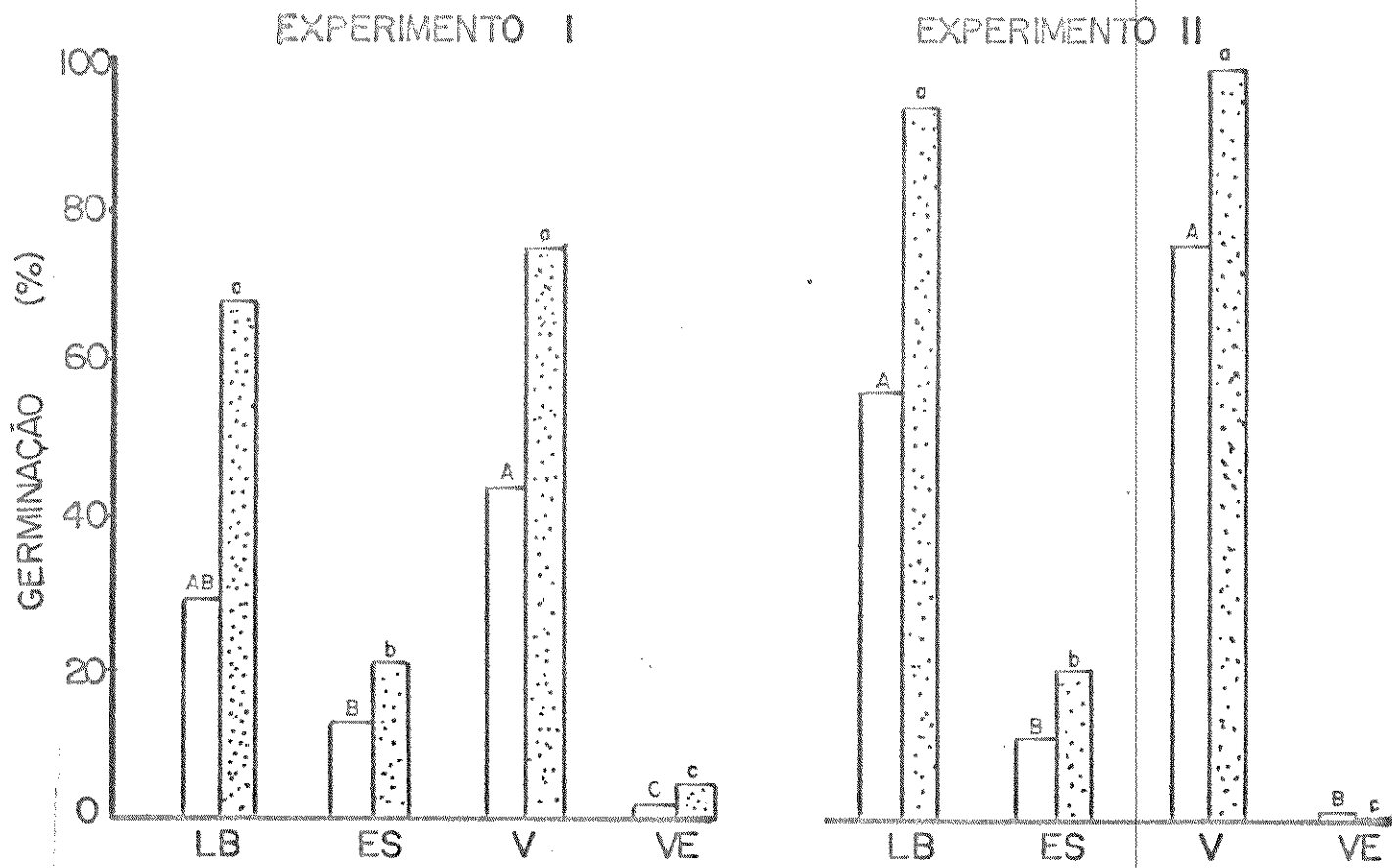
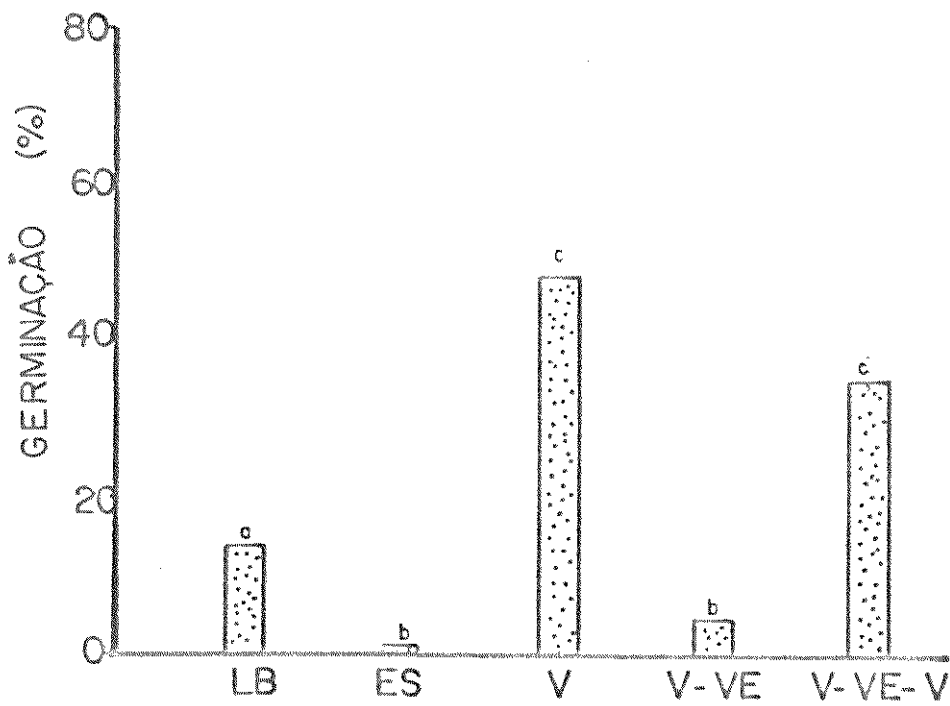


FIGURA 3.4



ficientes para elevar as porcentagens finais de germinação; entretanto, as porcentagens mais elevadas são obtidas com exposições contínuas à luz. O padrão final de germinação parece ser determinado pela natureza do último choque de luz monocromática aplicado, pelo menos quando até 3 choques sucessivos são aplicados.

3.4. Temperaturas Constantes

Em geral temperaturas muito altas ou baixas inibem a germinação. A temperatura ótima para a germinação varia com a espécie estudada, com as condições de luz, o tempo de estocagem e outros fatores que afetam o processo.

Analizando-se a Figura 3.5.A, pode-se verificar que as menores porcentagens de germinação final de sementes intactas foram encontradas a 20°C e 25°C e as maiores porcentagens foram observadas nas de 30°C e 35°C. Não houve diferenças significativas no dia 11, nem entre as germinações a 20°C e 25°C nem entre 30°C e 35°C.

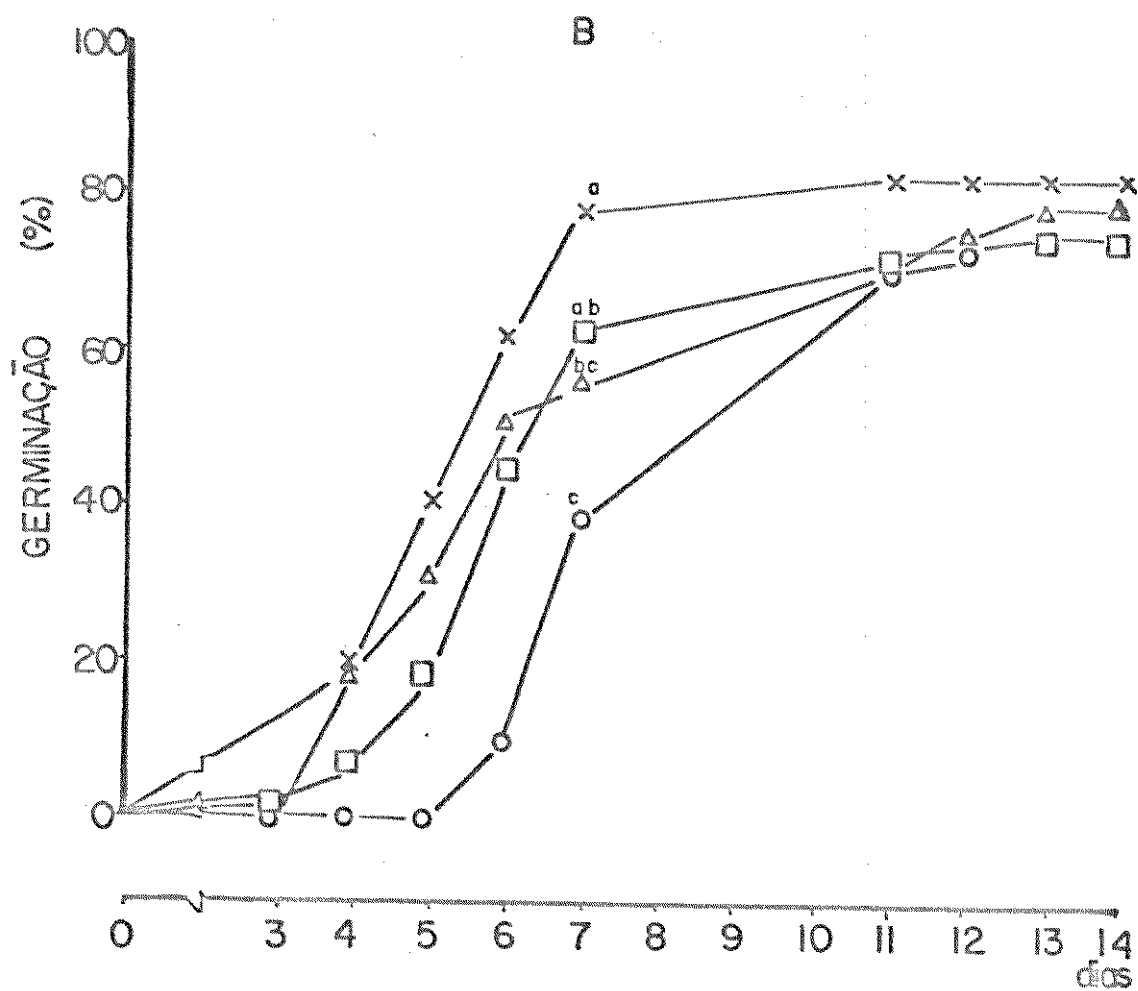
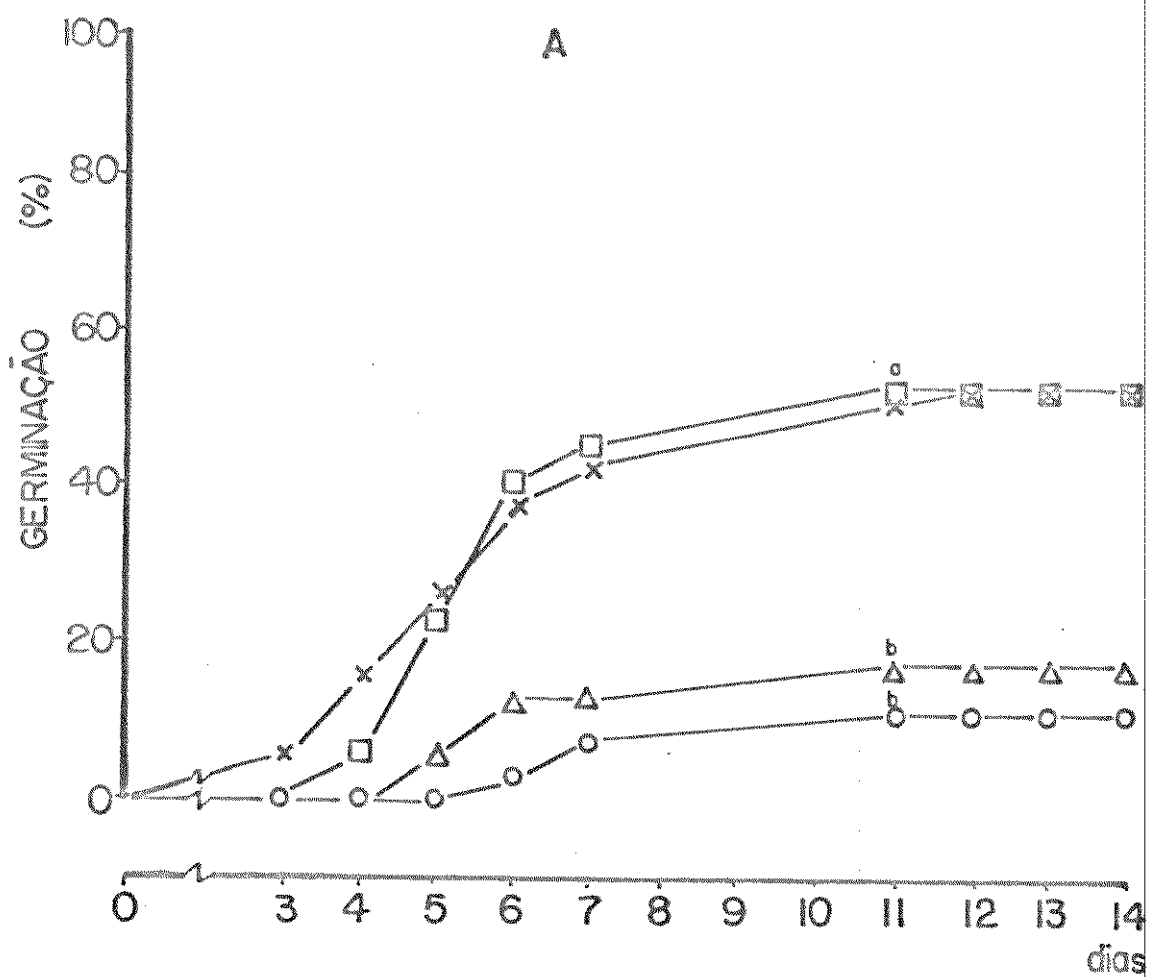
Nenhum efeito significativo de temperatura foi mostrado para as sementes escarificadas, no dia 11 (Figura 3.5.B), entretanto estas sementes mostraram diferenças significativas nas porcentagens de germinação 7 dias após o início da embebição. Parece portanto que existe uma tendência a um desaparecimento do efeito após um período maior de germinação. As porcentagens finais de germinação são muito mais elevadas quando as sementes são escarificadas (Figuras 3.5.A e B), como já mostramos anteriormente.

Nas temperaturas mais extremas de 15°C e 45°C não o-

FIGURA 3.5. Efeito de temperaturas constantes na germinação de sementes intactas e escarificadas de D. stramonium em luz. Sementes com 7 meses de estocagem (lote I).

○ - 20°C	A - sementes intactas
△ - 25°C	B - sementes escarificadas
□ - 30°C	
× - 35°C	

FIGURA 3.5



correu germinação de sementes intactas ou escarificadas, tanto em luz (Figura 3.6.A) como no escuro (Figura 3.6.B) contínuos. Após o término dos experimentos estas sementes foram testadas pelo método do tetrazólio e verificou-se que continuavam viáveis.

Como pode ser observado na Figura 3.6.A, ocorreu germinação de sementes intactas mantidas em luz nas temperaturas de 25°C e 35°C sendo a maior porcentagem de germinação encontrada a 35°C, o que confirma os resultados mostrados na Figura 3.5.A. A escarificação aumentou a germinação em ambas as temperaturas.

No escuro (Figura 3.6.B), não houve germinação significativa na temperatura de 25°C quer para sementes intactas quer para escarificadas (o que confirma resultados já apresentados), mas ocorreu germinação sob a temperatura de 35°C a qual foi promovida pela escarificação.

Conclue-se que quando as sementes de D. stramonium germinam em luz, existe influência de temperaturas constantes em sementes intactas mas não em escarificadas.

No escuro, sementes de D. stramonium são mais exigentes quanto à faixa de temperatura para a germinação, tendo germinado apenas a 35°C tanto para sementes intactas quanto para escarificadas.

Nas temperaturas estudadas, onde ocorreu germinação em luz, a escarificação foi promotora, sem o ser nas temperaturas nas quais não há germinação de sementes intactas.

3.5. Temperaturas Alternadas

O objetivo principal desses experimentos foi verificar se a baixa germinação em luz e escuro de sementes intactas de Datura stramonium poderia ser melhorada sob condições de alternância de temperaturas e verificar também como tal alternância afeta a germinação de sementes escarificadas.

Na Figura 3.7, é mostrado o efeito de alternância de temperaturas na germinação de D. stramonium comparadas à temperatura constante de 25°C . Os resultados confirmam a fotoblasticidade positiva de D. stramonium a 25°C , assim como o efeito promotor da escarificação em luz a 25°C (Figura 3.7.A), já mostrados anteriormente (Figuras 3.5 e 3.6). Em luz (Figura 3.7.A) o efeito promotor da alternância de temperaturas não foi significativo tanto para a germinação de sementes intactas como escarificadas quando comparadas à germinação à temperatura constante de 25°C .

No escuro (Figura 3.7.B), todas as alternâncias de temperatura promoveram acentuadamente a germinação das sementes. No caso de sementes intactas todos os tratamentos de alternância promoveram igualmente a germinação, mas no caso das escarificadas diferenças significativas foram encontradas.

A Figura 3.8 mostra a velocidade de germinação das sementes no mesmo experimento cujos resultados finais foram mostrados na Figura 3.7.A. Embora a germinação final (dia 14) dessas sementes não tenha sido alterada significativamente pelas alternâncias de temperaturas, no dia 7 após o início da embebição havia um efeito de alternância. O par de temperaturas $25-10^{\circ}\text{C}$ era no dia 7 fortemente inibidor quer as sementes

FIGURA 3.6. Efeito de temperaturas constantes na germinação de sementes intactas e escarificadas de D. stramonium. 10 dias após o início da embebição. Sementes com 15 meses de estocagem (lote I).

- | | |
|--|------------|
| ☐ - intacta em luz | A - luz |
| ☒ - intacta no escuro | B - escuro |
| ☒ - escarificada em luz | |
| ☒ - escarificada no escuro | |

FIGURA 3.7. Efeito de alternância de temperaturas na germinação de sementes intactas e escarificadas de D. stramonium. 14 dias após o início da embebição. Sementes com 8 meses de estocagem (lote VII).

- | | |
|--|------------|
| ☐ - intacta em luz | A - luz |
| ☒ - intacta no escuro | B - escuro |
| ☒ - escarificada em luz | |
| ☒ - escarificada no escuro | |

FIGURA 3.6

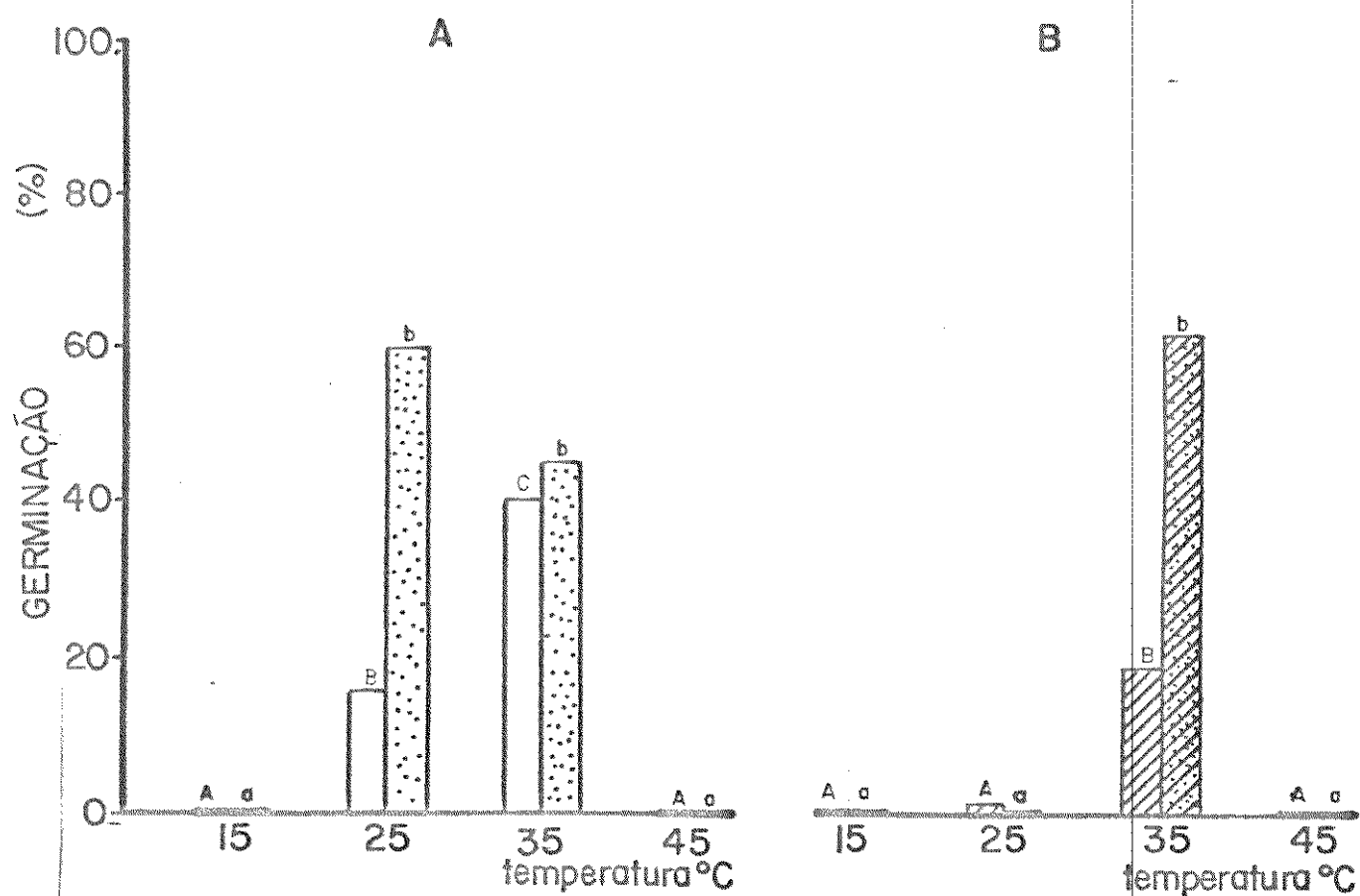
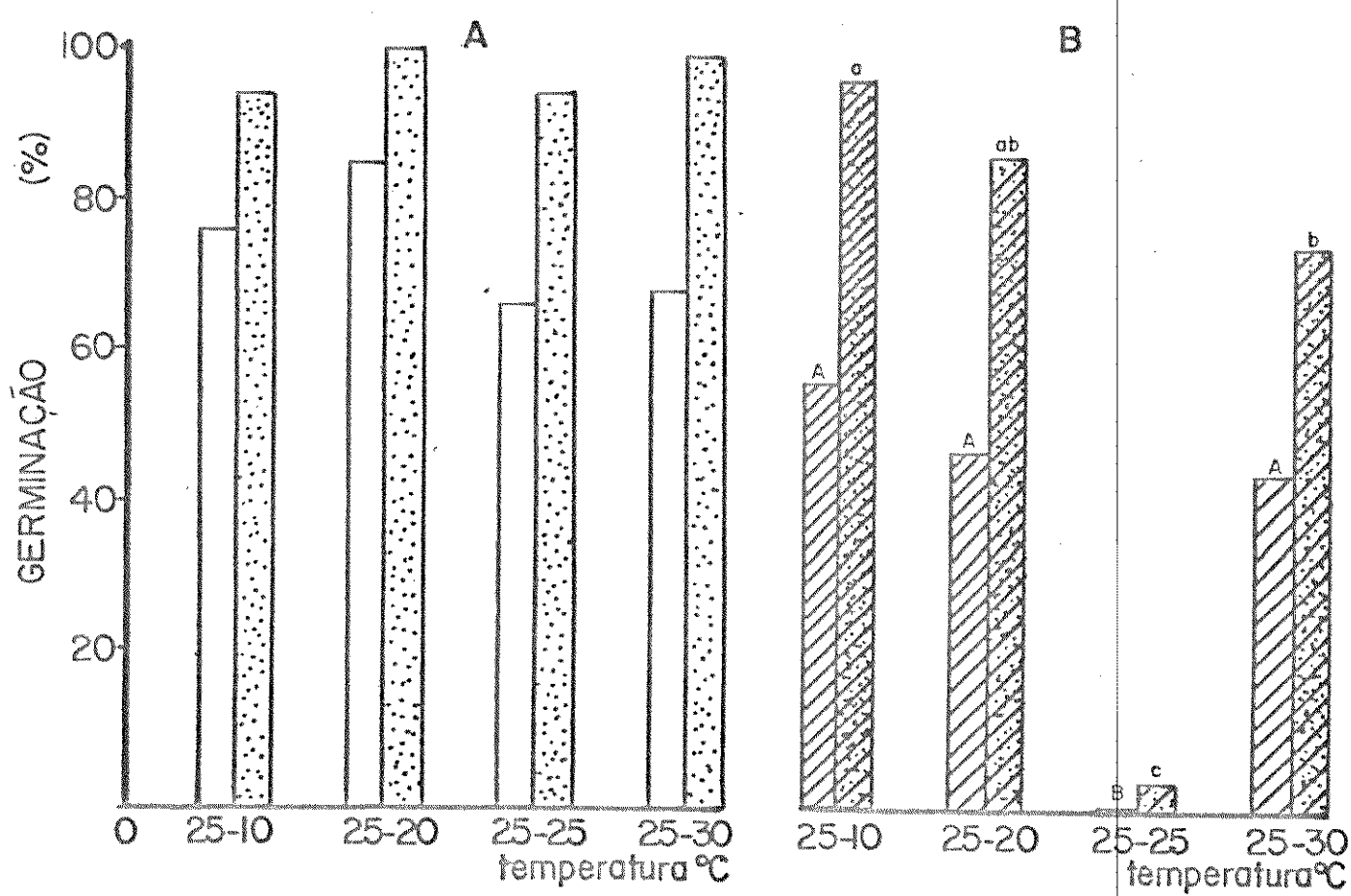


FIGURA 3.7



fossem ou não escarificadas, enquanto as alternâncias 25-20°C e 25-30°C já não mostravam diferenças significativas em relação à constante de 25°C (Figuras 3.8.A e B). Parece portanto haver uma tendência a um desaparecimento do efeito da alternância de 25-10°C, após um período maior de germinação.

A germinação de D. stramonium em luz é portanto afetada apenas temporariamente por temperaturas alternadas, quando comparadas a 25°C constante. Já no escuro o efeito de alternância é muito acentuado, promovendo marcadamente a porcentagem final de germinação quer de sementes intactas quer de escarificadas.

3.6. Tempo de Armazenamento

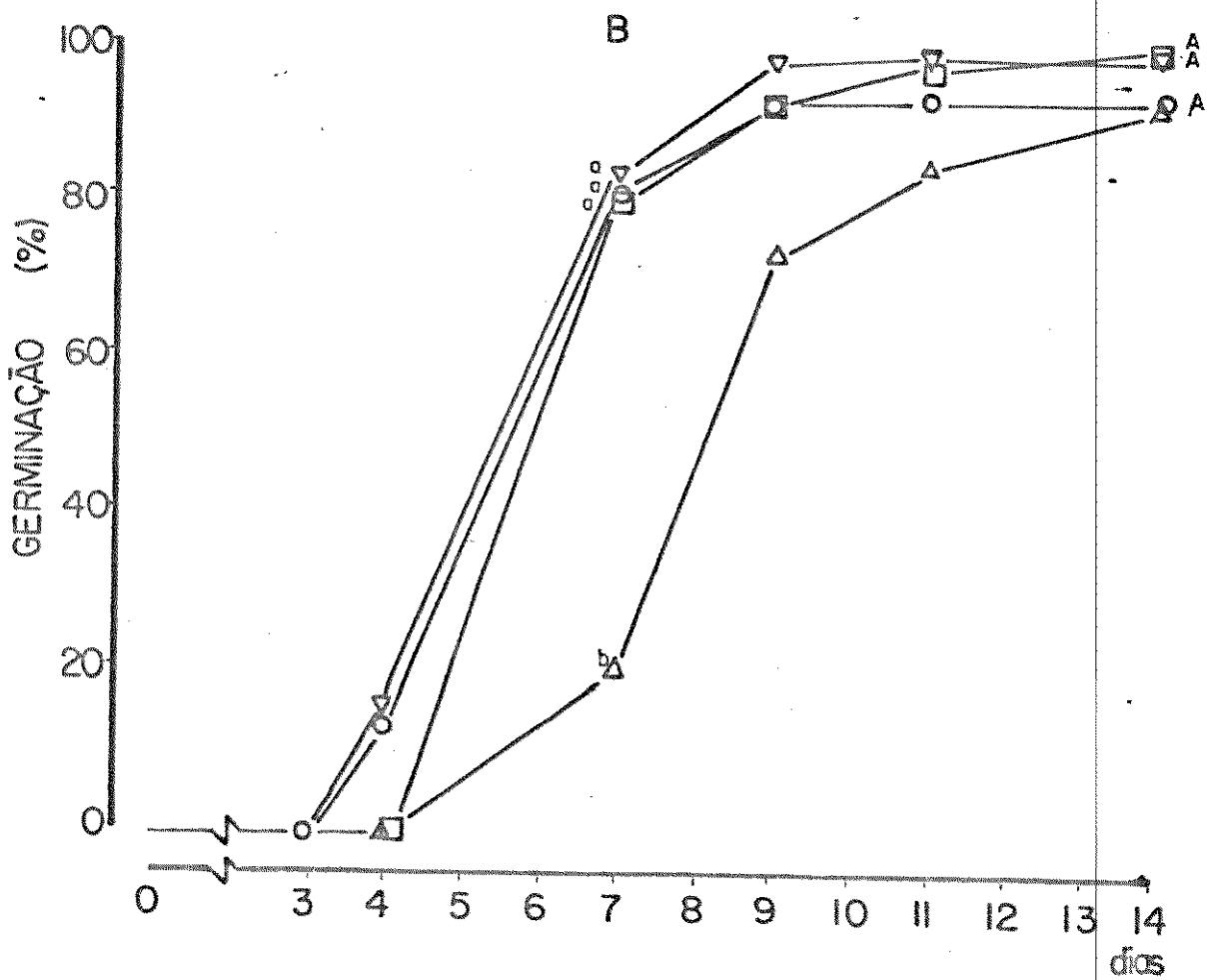
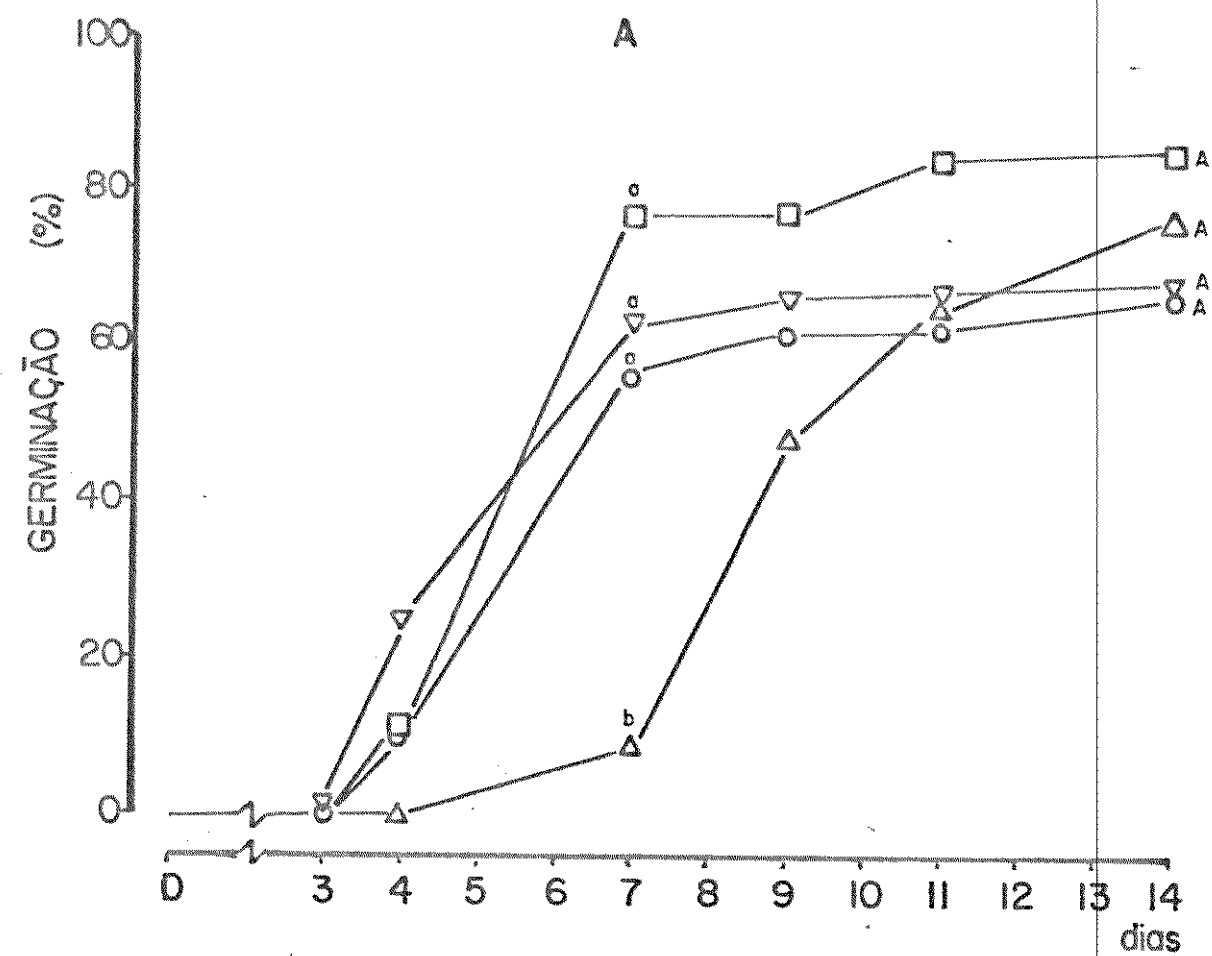
Sementes de várias espécies têm sua capacidade de germinar alterada durante o seu armazenamento. Algumas não germinam logo após a coleta passando a apresentar essa capacidade após algum tempo, enquanto outras germinam bem quando frescas entrando em dormência durante o armazenamento. Outras espécies ainda, podem mostrar uma perda de viabilidade com a estocagem. As causas para essa alteração no comportamento germinativo de sementes são várias e dependentes da técnica de armazenamento utilizada.

A comparação de resultados de experimentos diferentes, apresentados até aqui, neste trabalho, mostra que certos tratamentos (como por exemplo, luz branca e temperatura de 25°C na germinação de sementes intactas e escarificadas) foram repetidos várias vezes, mas não há uniformidade na resposta das sementes através da germinação. Uma vez que vários desses ex

FIGURA 3.8. Efeito de alternância de temperaturas na germinação de sementes intactas e escarificadas de D. stramonium germinadas em luz. Sementes com 8 meses de estocagem (lote VII).

- | | |
|-------------|----------------------------|
| ○ - 25-25°C | A - sementes intactas |
| △ - 25-10°C | B - sementes escarificadas |
| □ - 25-20°C | |
| ▽ - 25-30°C | |

FIGURA 3.8



perimentos foram realizados utilizando-se sementes do mesmo lote, fica descartada a hipótese de que variações poderiam ser devidas a diferenças no comportamento de diferentes lotes de sementes. Em vista das considerações acima, existe a possibilidade de que tenham ocorrido alterações na capacidade de germinação das sementes com o armazenamento, uma vez que os vários experimentos não foram realizados simultaneamente. Tal possibilidade justifica a realização dos experimentos de armazenamento cujos resultados são mostrados a seguir.

A Figura 3.9 mostra resultados de um experimento em que sementes coletadas em novembro de 1979 foram colocadas para germinar intactas após vários períodos de estocagem entre 1 e 11 meses. Com qualquer período de armazenamento a promoção de germinação pela luz branca foi sempre confirmada. As porcentagens de germinação em presença de luz variaram de 3 a 62% e na ausência de luz de 0 a 29%. Observa-se pelos resultados uma oscilação entre porcentagens mais altas e mais baixas de germinação no decorrer do experimento e não uma tendência a um aumento ou a uma diminuição de germinação das sementes com o tempo de estocagem.

Verificam-se na Figura 3.10 resultados de outro experimento em que sementes coletadas em outubro de 1978 foram colocadas para germinar após períodos de 13 a 24 meses de estocagem. Mesmo com outro lote de sementes e com um período maior de estocagem, a germinação na luz foi sempre maior e variou desde 13% até 51%. Na ausência de luz as porcentagens de germinação variaram desde 0% até 15%. Esses dados confirmam os resultados do experimento anterior (Figura 3.9) também pelo fato de mostrar grande variação nas porcentagens finais de

FIGURA 3.9. Efeito do período de armazenamento na germinação de sementes intactas de D. stramonium. 14 dias a pós o início da embebição. Sementes coletadas em novembro de 1979 (lote IV).

- ☐ - luz
- ☒ - escuro

FIGURA 3.10. Efeito do período de armazenamento na germinação de sementes intactas de D. stramonium. 14 dias a pós o início da embebição. Sementes coletadas em outubro de 1978 (lote I).

- ☐ - luz
- ☒ - escuro

FIGURA 3.9

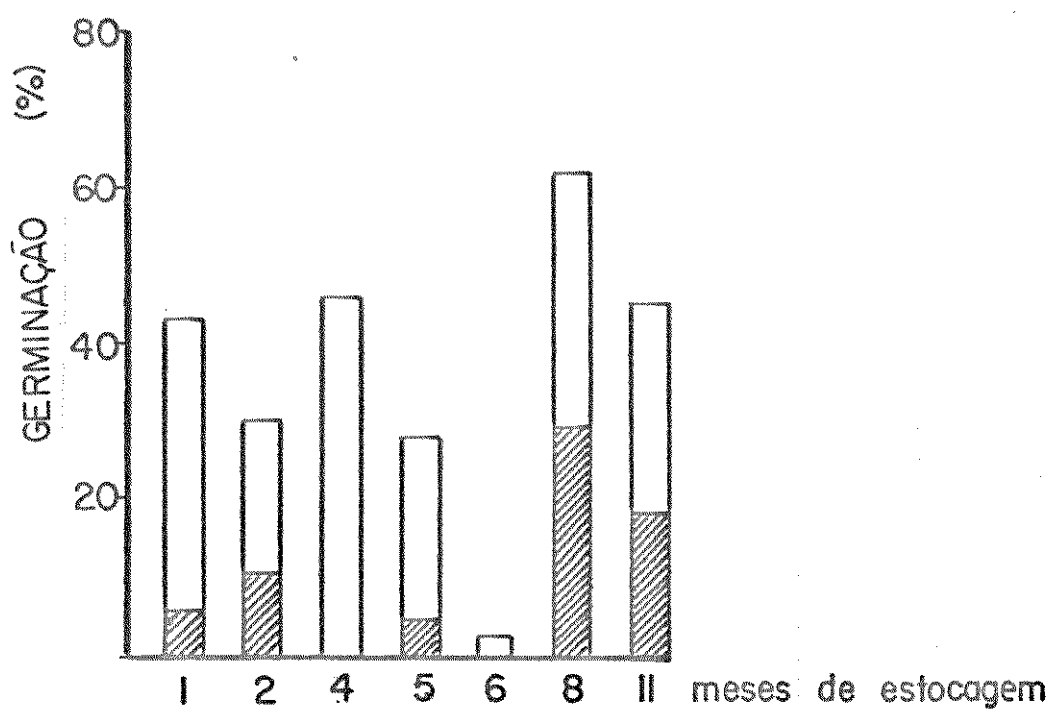
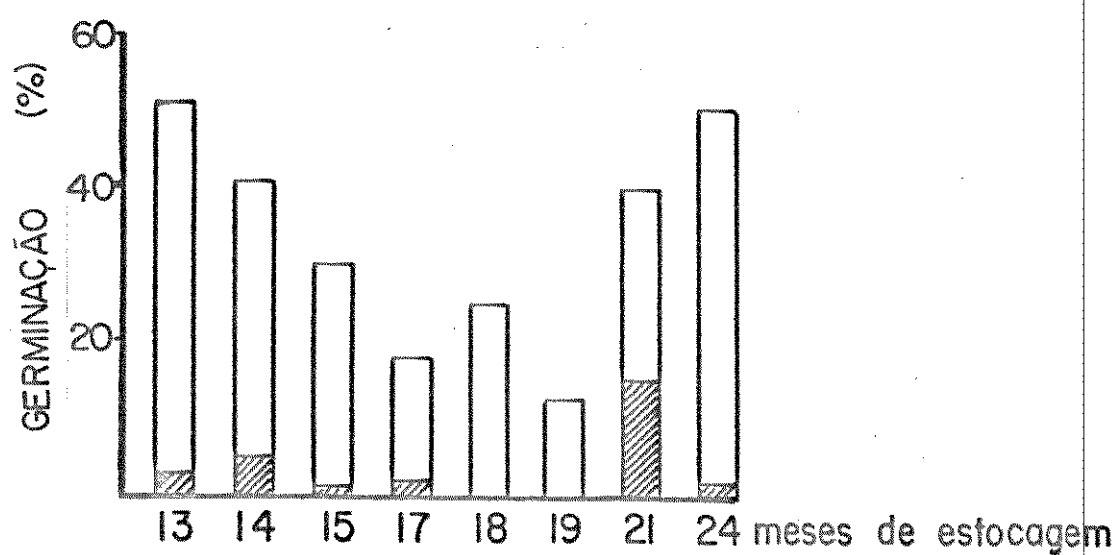


FIGURA 3.10



germinação.

Sementes coletadas em novembro de 1980 e 1981, foram colocadas para germinar intactas, em luz após vários períodos de estocagem (Tabela 3.3). A germinação foi, para os dois lotes de sementes, muito baixa logo após a coleta e até com 60 dias de estocagem, nunca atingindo 10% de germinação final. Os dois lotes tiveram sua germinação promovida após períodos mais longos (90 e 150 dias) de estocagem.

Embora os resultados apresentados na Tabela 3.3 pareçam indicar a existência de um mecanismo de dormência que estaria atuando até cerca de 60 dias após a coleta, os apresentados na Figura 3.9 mostram que tal mecanismo inexistente em outro lote, embora este outro lote também tenha sido coletado no mesmo mês, mas de anos diferentes. Portanto parece muito difícil afirmar que a variação encontrada na germinação final de D. stramonium, possa ser devida exclusivamente à duração do período de estocagem.

3.7. Posição do Fruto na Planta

D. stramonium é uma planta herbácea com desenvolvimento simpodial, com flôres solitárias e axilares. Na maioria dos casos a formação do primeiro fruto se dá na axila da ramificação dicotômida do eixo primário, o segundo e terceiro frutos na axila das ramificações dos eixos secundários e assim sucessivamente (Figura 3.11).

A formação de cada fruto se dá em épocas diferentes do desenvolvimento da planta. Assim, os fatores endógenos da planta como nutrientes e substâncias de crescimento na época

TABELA 3.3. Efeito do período de armazenamento na germinação em luz de sementes intactas de D. stramonium provenientes do fruto II,* 13 dias após o início da embebição.

Tempo de estocagem (dias)	% de germinação	
	Data de coleta	
	Novembro de 1980	Novembro de 1981
0	-	0
5	-	0
6	0	-
10	-	4
15	3	1
30	7	-
60	4	2
90	46	-
150	45	34

* A nomenclatura adotada para os frutos está mostrada na Figura 3.11.

do desenvolvimento do primeiro fruto podem ser diferentes em relação ao segundo, ao terceiro e assim por diante.

O padrão de germinação das sementes poderia estar relacionado com as condições da planta mãe na época do seu desenvolvimento.

Cada lote de sementes de D. stramonium utilizado nos experimentos mostrados até aqui foi coletado de várias plantas em um único dia ou em alguns dias próximos. Existe então a possibilidade de que as sementes de um lote sejam predominantemente provenientes de um único tipo de fruto.

As variações encontradas nas porcentagens finais de germinação de sementes que receberam o mesmo tratamento (por exemplo, sementes colocadas para germinar intactas a 25°C em luz) não parecem ser devidas exclusivamente ao tempo de armazenamento (item 3.6). Pode-se supor aqui, que tal variação possa ser devida à posição, na planta, do fruto onde as sementes se desenvolveram.

A seguir foram realizados experimentos testando a germinação de sementes provenientes de frutos de diferentes posições na planta. Foram utilizadas sementes dos frutos I, II, III e IV denominados de acordo com o esquema da Figura 3.11.

A Figura 3.12 mostra resultados finais de germinação em luz de sementes intactas e escarificadas. Nota-se que sementes recém-colhidas de qualquer tipo de fruto (Figura 3.12.A) não germinaram mesmo quando escarificadas, no entanto todas as sementes eram viáveis de acordo com o teste do tetrazólio. Com 5 dias de armazenamento ocorreu certa germinação mas somente de sementes escarificadas sendo a menor porcentagem encontra-

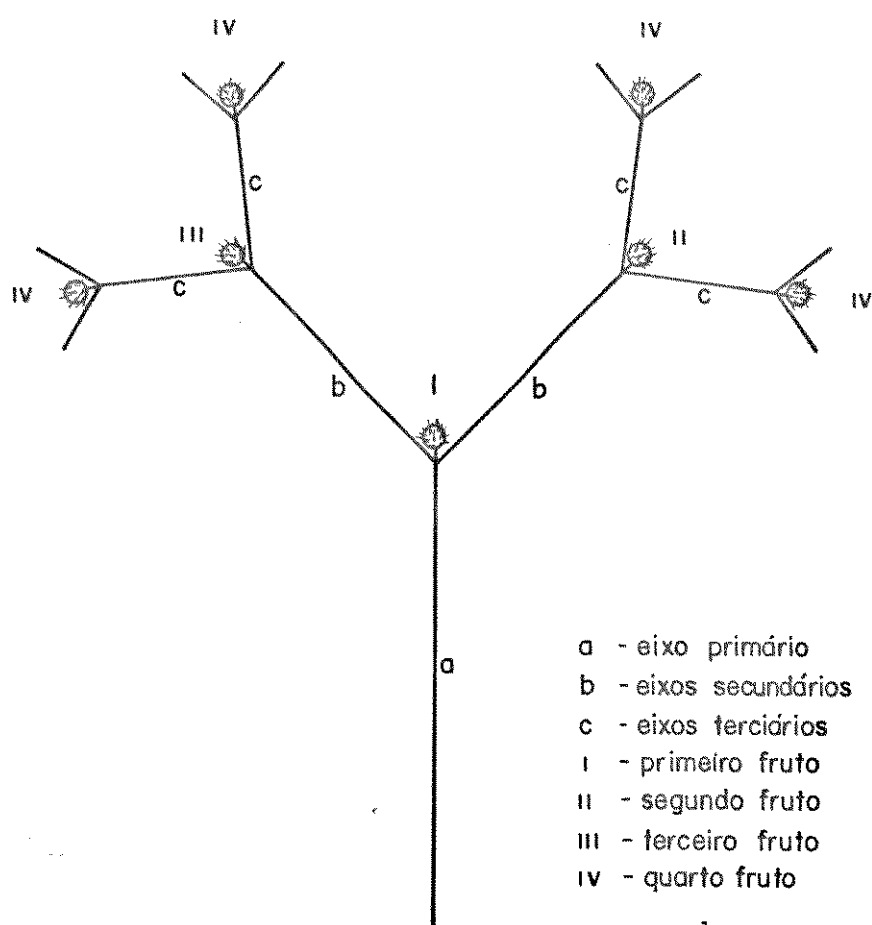


FIGURA 3.11. Esquema de uma planta de *Datura stramonium* indicando a posição dos frutos que foram utilizados para os experimentos.

da nas sementes do fruto I (Figura 3.12.B). Sementes intactas germinaram após tempos de armazenamento maiores do que 5 dias sendo as porcentagens finais muito baixas (inferiores a 10%) com tempos de armazenamento de 10 a 60 dias (Figura 3.12.C a E) e maiores com 150 dias, entretanto nunca chegando a 40% de germinação (Figura 3.12.F). Com nenhum dos tempos de estocagem foi verificado efeito significativo do tipo do fruto na germinação de sementes intactas. A escarificação sempre promoveu a germinação de sementes provenientes de todos os tipos de fruto e com qualquer tempo de armazenamento. As menores porcentagens de germinação foram encontradas após 5 dias de estocagem (Figura 3.12.B) e foram aumentando com o aumento no período de estocagem (Figuras 3.12.C, D e E) tendo atingido um máximo com 150 dias de estocagem (Figura 3.12.F). Não houve efeito significativo da posição do fruto na germinação das sementes escarificadas recém colhidas ou com 15 e 150 dias de armazenamento, mas houve um efeito variável com os demais tempos.

A Tabela 3.4 mostra resultados finais de germinação de um outro lote de sementes de D. stramonium.

Sementes com 5 dias de armazenamento não germinaram e com 6 dias germinaram apenas quando escarificadas. As porcentagens finais de germinação de sementes intactas ou escarificadas foram crescentes com o aumento no tempo de armazenamento até 90 dias e daí até 150 dias pouco variaram. Geralmente não ocorreram diferenças significativas de germinação entre sementes provenientes de diferentes frutos. Quando estas ocorreram, não houve concordância entre os diferentes tempos de estocagem; assim, pode-se supor que estas variações não sejam de

FIGURA 3.12. Efeito da posição do fruto de origem na germinação de sementes intactas e escarificadas de D. stramonium em luz a 25°C. Vários tempos de estocagem. Sementes coletadas em 18 de novembro de 1981, 13 dias após o início da embebição.

Posição do fruto (de acordo com a Figura 3. (1)):

- I (lote XI)
- II (lote XII)
- III (lote XIII)
- IV (lote XIV)

Tempo de estocagem:

- A - 0 dias
- B - 5 dias
- C - 10 dias
- D - 15 dias
- E - 60 dias
- F - 150 dias

- ☐ - intacta
- ☒ - escarificada

FIGURA 3.12

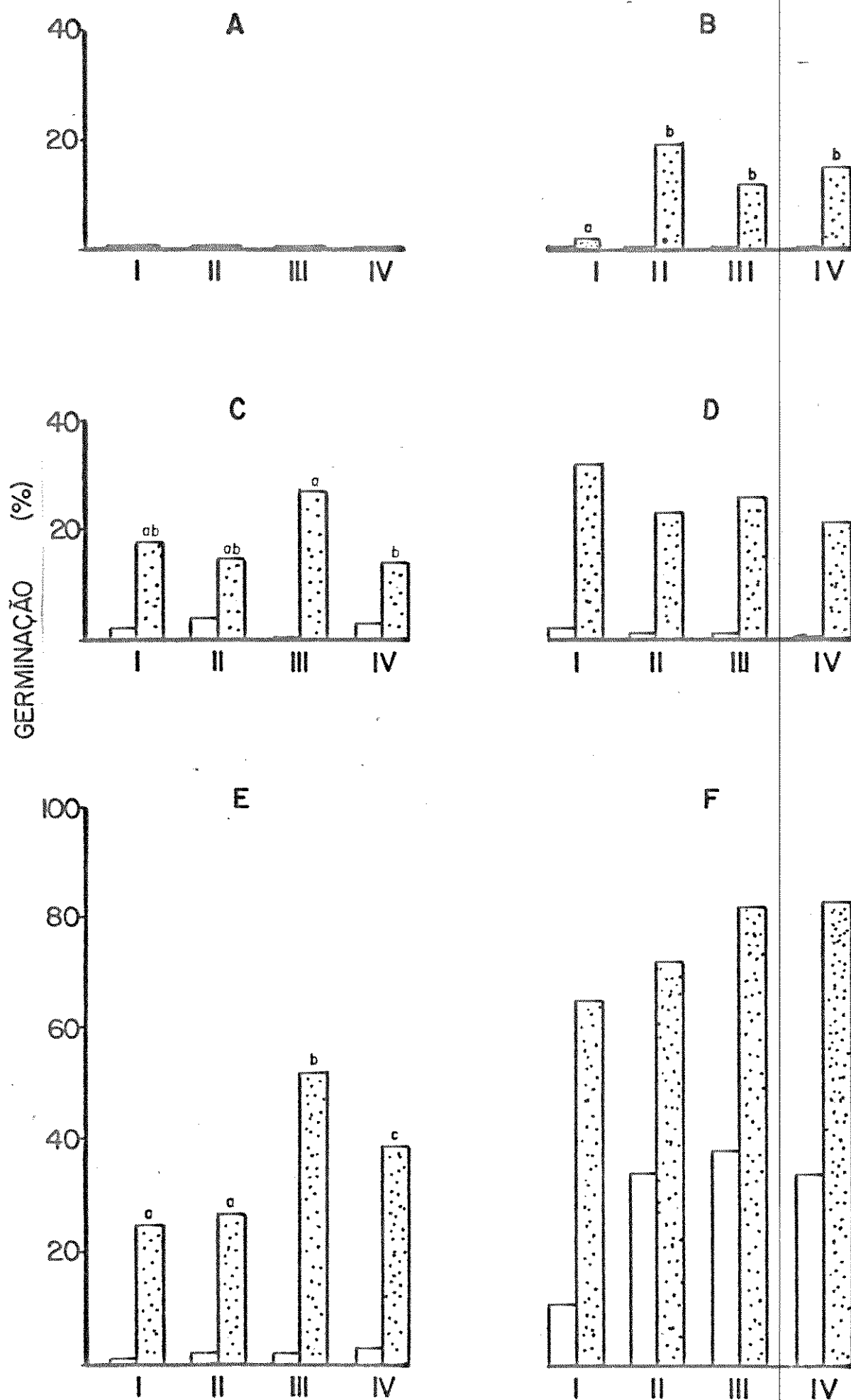


TABELA 3.4. Efeito do período de armazenamento na germinação em luz, de sementes de D. stramonium coletadas de frutos de diferentes posições da planta mãe, 14 dias após o início da embebição. Sementes coletadas em novembro de 1980 (lote VII, VIII, IX e X).

Estocagem (dias)	Tratamento	Germinação %			
		Posição dos frutos na planta mãe			
		I	II	III	IV
5	intacta	0,0	-	-	-
	escarificada	0,0	-	-	-
6	intacta	-	0,0	-	-
	escarificada	-	10,0	-	-
15	intacta	0,0	3,0	-	-
	escarificada	10,0	15,0	-	-
30	intacta	2,0	7,0	3,0	4,0
	escarificada	30,0 ^a	31,0 ^a	9,0 ^b	36,0 ^a
60	intacta	4,0	4,0	19,0	8,0
	escarificada	33,0 ^a	57,0 ^{ab}	46,0 ^a	65,4 ^b
90	intacta	27,0 ^a	46,0 ^{ab}	57,0 ^b	48,0 ^b
	escarificada	80,0	91,0	85,0	87,0
150	intacta	36,0	45,0	54,0	50,0
	escarificada	86,0	89,0	96,0	91,0

Nota: As comparações estatísticas são feitas apenas na horizontal.

vidas à posição do fruto.

Pelos resultados apresentados, as diferenças de germinação que ocorrem em D. stramonium, também parecem não ser devidas à posição do fruto de origem na planta, pelo menos nos frutos que foram analisados.

4. ESTUDO DA INFLUÊNCIA DOS TEGUMENTOS NA GERMINAÇÃO

Pelos resultados apresentados anteriormente (item 3.2), foi mostrado que a escarificação mecânica promove a germinação de Datura stramonium a porcentagens mais elevadas quando comparadas com sementes intactas. Portanto, o tegumento deve estar interferindo em algum dos processos iniciais da germinação.

4.1. Permeabilidade dos Tegumentos à Absorção de Água

Foi verificado o efeito da escarificação parcial e remoção total da casca na embebição de sementes de D. stramonium. Durante o processo de embebição, as sementes foram colocadas em placas de Petri de acordo com o item 2.2 em luz a 25°C. A absorção da água dada em relação ao peso fresco inicial das sementes é mostrado na Figura 4.1.

Nas primeiras 4 horas de embebição ocorreu um rápido aumento no conteúdo de água das sementes dos três tratamentos; após esse período a embebição continuou a se processar mais lentamente até 48 horas. Sementes que sofreram escarificação parcial ou remoção total da casca comparadas às sementes intactas de D. stramonium, não mostraram diferenças nas suas porcentagens de embebição.

Assim sendo, a escarificação mecânica, não acelera o processo de embebição no caso de D. stramonium, devendo então o tegumento estar interferindo em algum outro passo do processo de germinação.

4.2. Presença de Promotores ou Inibidores de Germinação nos Tegumentos

Datura stramonium apresenta de um modo geral germinação baixa e pelos resultados até aqui apresentados, nota-se a influência negativa dos tegumentos na germinação desta semente. Nesta série de experimentos tentou-se remover alguma substância inibidora de germinação, talvez presente nos envoltórios das sementes. Foi verificado o efeito da lixiviação e o efeito da água da lixívia na germinação de D. stramonium.

Nos experimentos cujos resultados são apresentados na Figura 4.2, sementes de D. stramonium foram lixiviadas por imersão em água destilada durante 24 horas de acordo com o item 2.4. Neste experimento a germinação em luz até o 18º dia após o início da embebição não alcançou a 60% e verifica-se que a lixiviação dessas sementes reduziu significativamente a porcentagem de germinação para 16%. No escuro apenas 1% das sementes que não foram lixiviadas germinaram e a lixiviação não alterou esse resultado.

A Figura 4.3 apresenta resultados de outro experimento em que foi testado o efeito da água da lixívia na germinação de sementes intactas e escarificadas em luz. A lixiviação foi feita colocando-se as sementes em água destilada como descrito no item 2.4. Nota-se (Figura 4.3.A) que a germinação de sementes intactas não lixiviadas no 14º dia foi de 29% e que a lixiviação inibiu a germinação, porém a inibição não foi significativa neste experimento. A água da lixívia não teve efeito nas sementes lixiviadas.

A porcentagem de germinação de sementes escarificadas

FIGURA 4.1. Efeito da esscarificação parcial e remoção total da casca no processo de embebição de D. stramonium. Sementes com 7 meses de estocagem (lote II).

- - intacta
- △ - esscarificada
- - nua

FIGURA 4.2. Efeito da lixiviação por 24 horas em D. stramonium. Sementes germinadas em luz e escuro, com 12 meses de estocagem (lote I).

- | | |
|----------------|------------------------|
| ○ ● - controle | Símbolos vazios-luz |
| △ ▲ - lavada | Símbolos cheios-escuro |

FIGURA 4.1

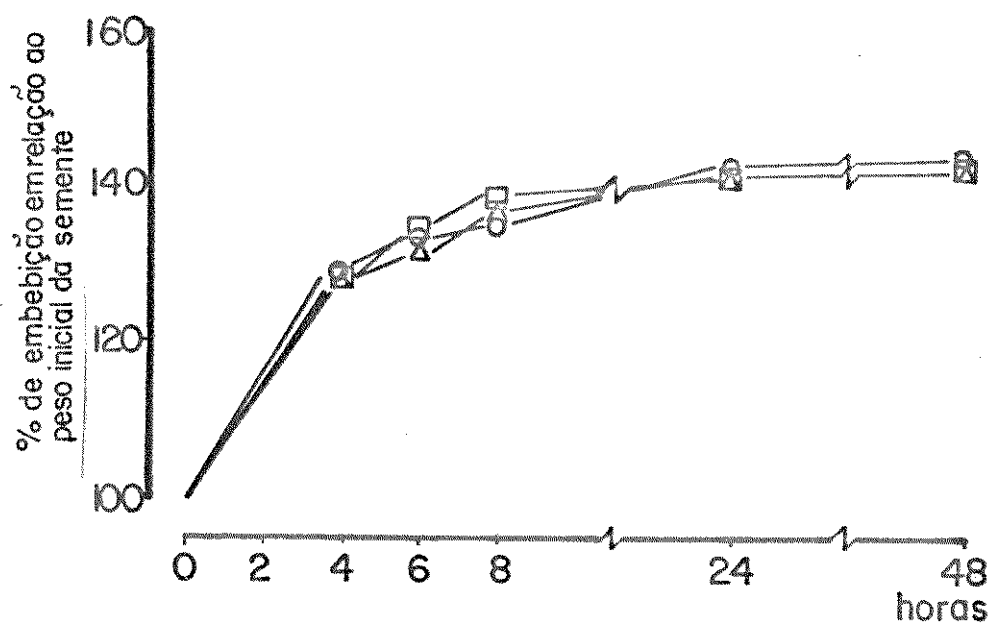
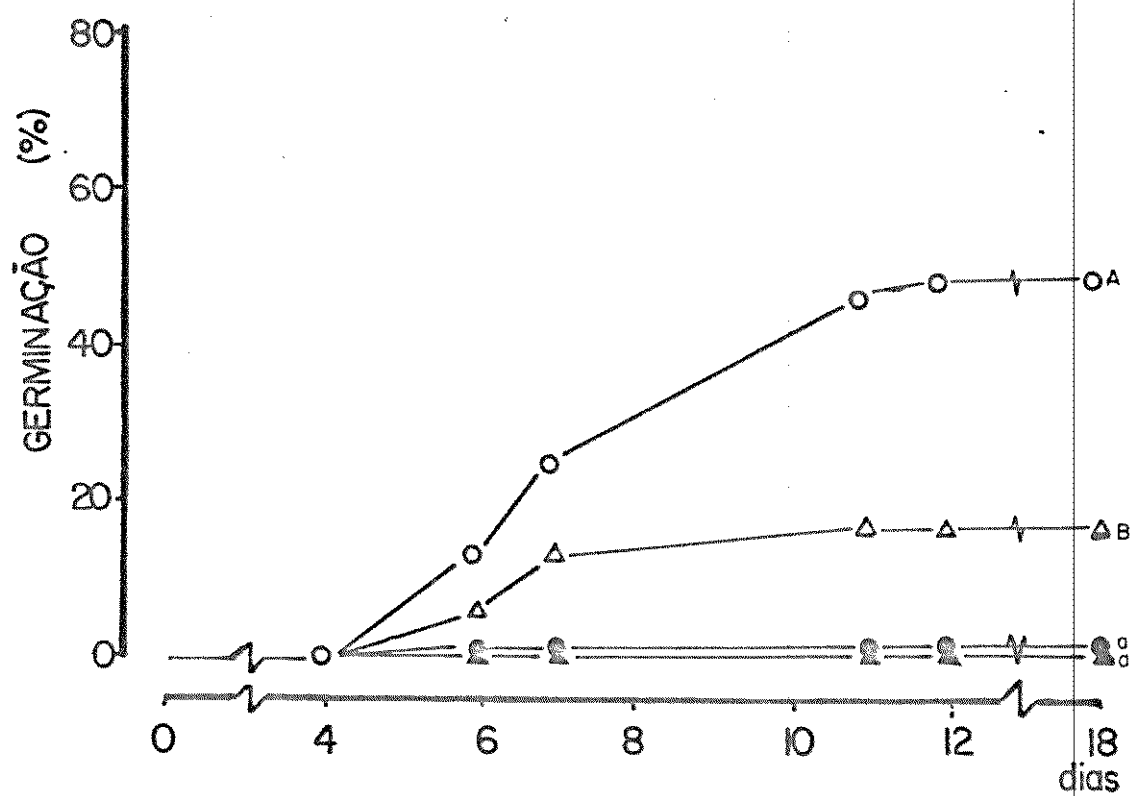


FIGURA 4.2



não lixiviadas foi ao redor de 68% (Figura 4.3.B), bem mais e levada do que a germinação de sementes intactas (Figura 4.3.A). A lixiviação inibiu significativamente a germinação de sementes escarificadas (Figura 4.3.B). Observa-se na Figura 4.3.B que a água da lixívia não promoveu significativamente a germinação de sementes lixiviadas no dia 14, sendo estatisticamente diferente somente no dia 6 após o início da embebição, portanto neste caso o efeito inibidor temporário da lixiviação foi revertido quando tais sementes foram colocadas para germinar na sua água da lixívia. Verifica-se que após 6 dias de embebição, a água da lixívia promoveu levemente a germinação de sementes que não foram lixiviadas, no entanto, essas diferenças não foram significativas.

Quando sementes de D. stramonium foram colocadas para germinar no escuro (Figura 4.4), observa-se o mesmo efeito inibidor significativo da lixiviação encontrado em sementes escarificadas, germinadas em luz. Entretanto, a água da lavagem reverteu significativamente o efeito inibidor da lixiviação somente no caso das sementes intactas, e não teve efeito nas sementes que não foram lixiviadas intactas e escarificadas.

A seguir foram testados períodos de lixiviação menores do que 24 horas. Sementes a serem lixiviadas foram imersas numa proporção de 3 sementes para cada ml de água destilada. As sementes foram germinadas em luz. Na Figura 4.5, pode ser observado o efeito da lixiviação por 1, 3, 5, 10 e 24 horas em sementes de D. stramonium. A lixiviação das sementes por 1 hora (Figura 4.5.A) já foi suficiente para inibir significativamente a germinação.

A água da lixívia não promoveu significativamente a

FIGURA 4.3. Efeito da água de lavagem na germinação de sementes de D. stramonium lixiviadas por 24 horas ou não. Sementes germinadas em luz, com 9 meses de estocagem (lote IV).

- - não lixiviada germinada em água destilada
- △ - não lixiviada germinada em água da lixívia
- - lixiviada germinada em água destilada
- ▽ - lixiviada germinada em água da lixívia

A - intacta

B - escarificada

FIGURA 4.3

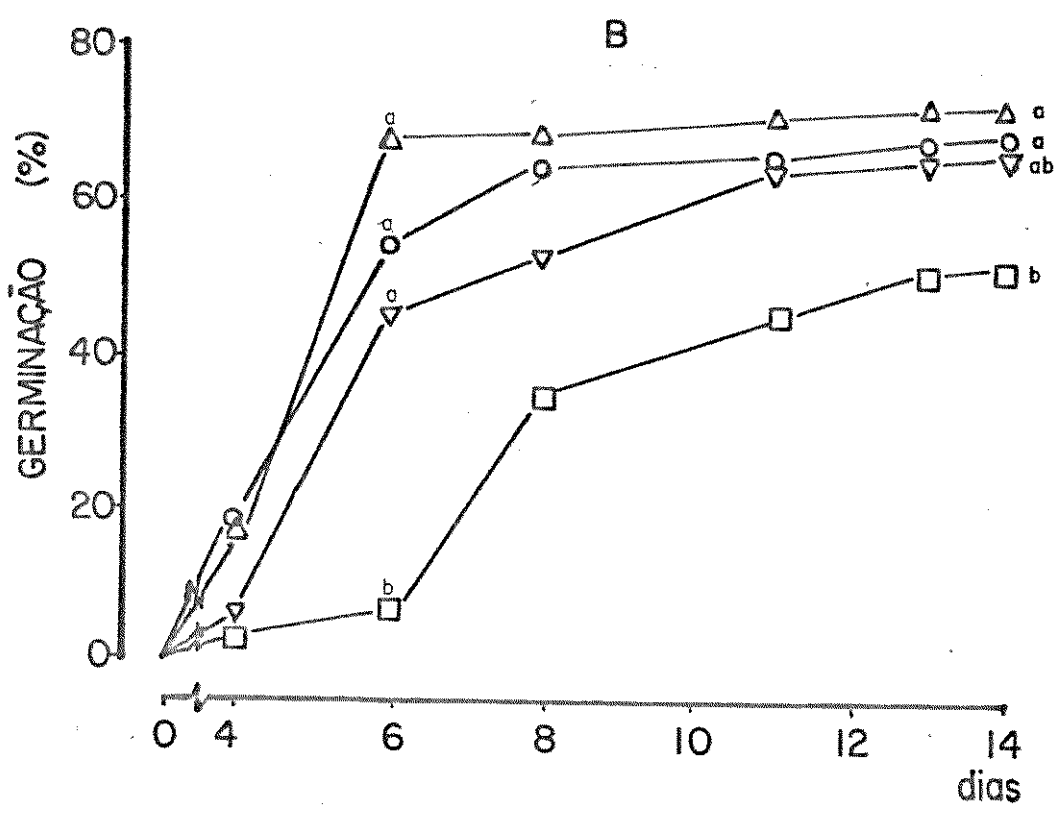
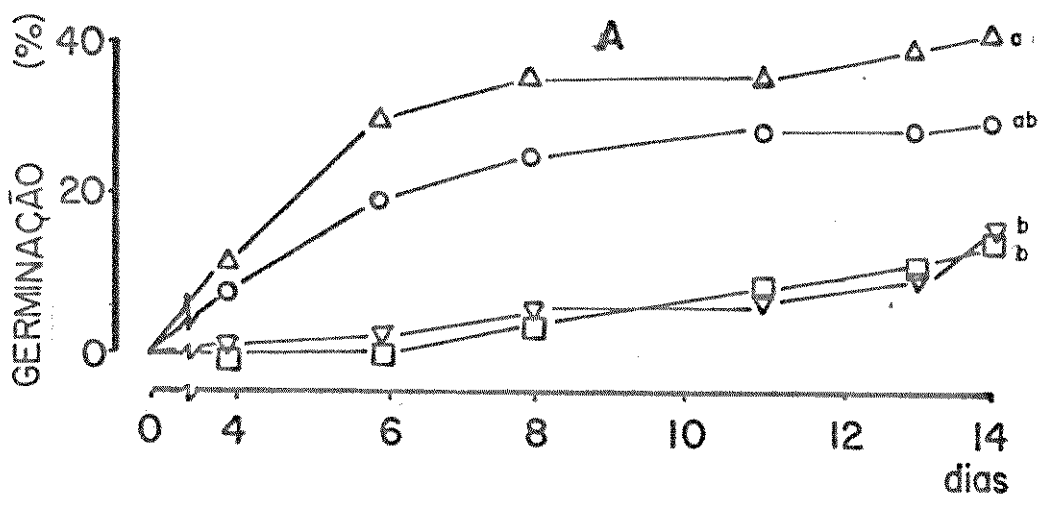
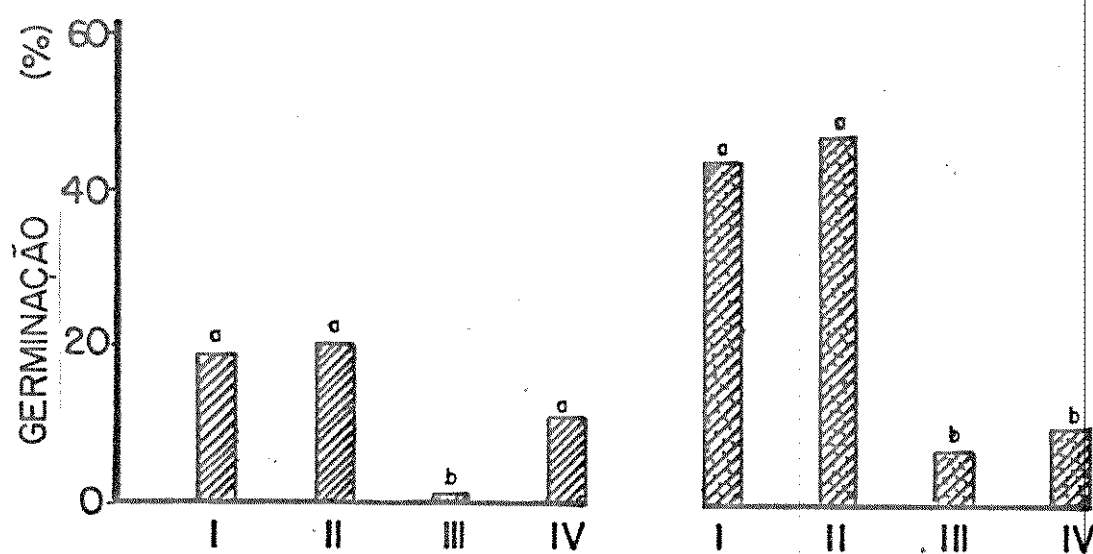


FIGURA 4.4. Efeito da água de lavagem na germinação de sementes de D. stramonium lixiviadas por 24 horas ou não. Sementes germinadas no escuro e com 9 meses de estocagem (lote IV), 14 dias após o início da embebição.

- ☒ - intacta no escuro
- ☒ - escarificada no escuro

- I - não lixiviada germinada em água destilada
- II - não lixiviada germinada em água da lixívia
- III - lixiviada germinada em água destilada
- IV - lixiviada germinada em água da lixívia

FIGURA 4.4



germinação de sementes lixiviadas por nenhum tempo de lixiviação.

A água da lixívia de sementes lixiviadas por 1 hora (Figura 4.5.A) promoveu significativamente a germinação de sementes não lixiviadas. Nas sementes não lixiviadas por 3, 5, 10 e 24 horas (Figuras 4.5.B, C, D e E), o efeito da água da lixívia não foi significativo.

Foram empregados outros métodos de lixiviação das sementes de D. stramonium, tendo por fim verificar se este efeito inibidor encontrado não poderia ser devido ao método utilizado.

Foi feita a lixiviação intermitente de D. stramonium por 24 h no Soxhlet e em água corrente no funil de Büchner, como descrito no item 2.4. A Tabela 4.1 mostra que a lixiviação inibiu a germinação em luz nos dois tratamentos empregados e observa-se que mesmo utilizando outros métodos para lavagem das sementes, não houve diferenças no efeito.

A forte inibição na germinação causada pela lixiviação poderia ter sido interpretada como morte das sementes pelo tratamento; por esta razão após o término dos experimentos em que este efeito foi verificado, as sementes lixiviadas foram testadas pelo método do tetrazólio e verificou-se que continuavam viáveis.

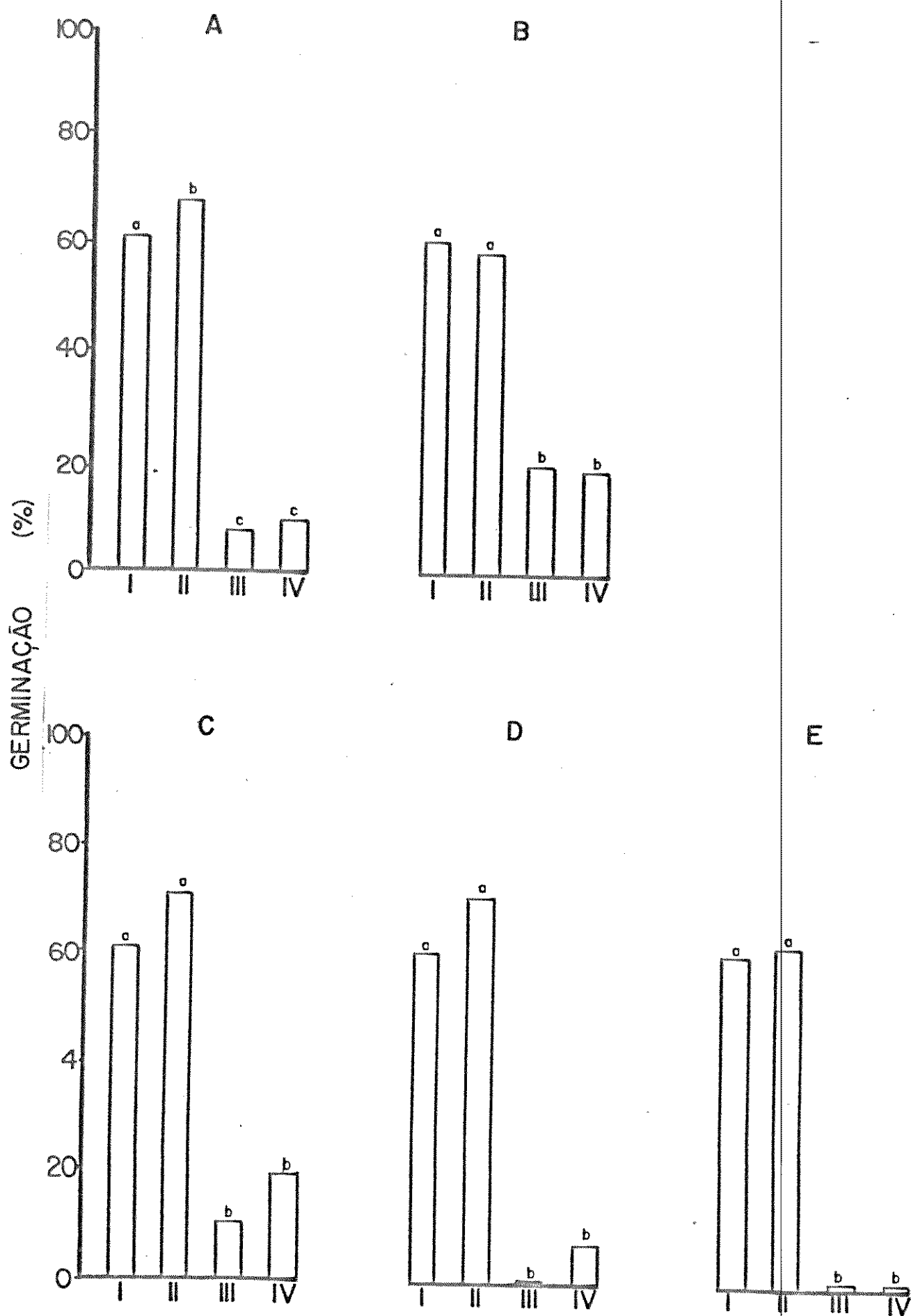
O efeito da lixiviação foi, em todos os experimentos, inibidor da germinação. Nos casos, em que houve algum efeito da água da lixívia em sementes não lavadas, ele foi promotor. A água da lixívia aplicada em sementes lixiviadas, quando efetiva, reverteu a inibição exercida pela lixiviação.

FIGURA 4.5. Efeito da água de lavagem na germinação de sementes de D. stramonium lixiviadas ou não por 1, 3, 5, 10 e 24 horas. Sementes intactas germinadas em luz e com 11 meses de estocagem (lote I), 14 dias após o início da embebição.

- I - não lixiviada germinada em água destilada
- II - não lixiviada germinada em água da lixívia
- III - lixiviada germinada em água destilada
- IV - lixiviada germinada em água da lixívia

- A - lixiviação por 1 hora
- B - lixiviação por 3 horas
- C - lixiviação por 5 horas
- D - lixiviação por 10 horas
- E - lixiviação por 24 horas

FIGURA 4.5



Pelos resultados mostrados, a lixiviação parece não remover um inibidor de germinação como suposto inicialmente, mas sim um promotor. Foi então testado o efeito da água da lixívia de D. stramonium na germinação de alface e maxixe. Os resultados desses experimentos são apresentados nas Tabelas 4.2 e 4.3.

A água da lixívia de D. stramonium não afetou significativamente a germinação de alface, tanto em luz quanto no escuro (Tabela 4.2). No entanto, promoveu a germinação de sementes de maxixe mantidas em luz (Tabela 4.3).

A água da lixívia de D. stramonium, parece portanto ter alguma substância promotora que é efetiva na germinação de maxixe.

TABELA 4.1. Lixiviação nas sementes de Datura stramonium por um período de 24 horas. Sementes germinadas em luz, 14 dias após o início da embebição.

Lote	Estocagem (meses)	Germinação %		
		Controle	Lixiviada	
			Soxlet	Água corrente
VII	8	38,0	0,0	-
V	6	23,0	-	0,0

TABELA 4.2. Efeito da água da lixívia de Datura stramonium na germinação de alface, 24 horas após o início da embebição.

Experimentos	Germinação %			
	Luz		Escuro	
	Controle	Água da lixívia	Controle	Água da lixívia
I	100,0	100,0	17,0	6,0
II	100,0	100,0	1,0	2,0
III	100,0	100,0	5,0	3,0
IV	100,0	100,0	5,0	1,0

TABELA 4.3. Efeito da água da lixívia de Datura stramonium na germinação de maxixe, 13 dias após o início da embebição.

Experimentos	Germinação %			
	Luz		Escuro	
	Controle	Água da lixívia	Controle	Água da lixívia
I	14,0 ^a	48,0 ^b	94,0	100,0
II	3,0 ^a	16,0 ^a	96,0	97,0
III	29,0 ^a	40,0 ^a	70,0	72,0
IV	29,0 ^a	62,0 ^b	100,0	99,0

Nota: As comparações estatísticas devem ser feitas na horizontal.

5. EFEITO DE REGULADORES DE CRESCIMENTO NA GERMINAÇÃO

O objetivo desses experimentos foi verificar o efeito de substâncias reguladoras de crescimento como GA_3 e cinetina na germinação de Datura stramonium. Além disso verificar o efeito desses reguladores na germinação de sementes lixiviadas, testando se estas poderiam ser as substâncias promotoras que foram removidas durante a lixiviação de D. stramonium.

A Figura 5.1 mostra resultados de experimento em que foi verificado o efeito do GA_3 na germinação em luz e escuro contínuos, de sementes intactas e escarificadas de Datura stramonium. O GA_3 em qualquer das concentrações utilizadas não alterou significativamente a germinação de sementes intactas em luz, e as porcentagens finais foram muito reduzidas. Esses resultados ainda mostram que não houve germinação das sementes que foram mantidas no escuro com qualquer concentração de GA_3 .

O GA_3 não alterou significativamente a germinação de sementes escarificadas na luz a qual já era bastante alta no controle (Figura 5.1.B). Entretanto, no escuro, o ácido giberélico nas concentrações 1,0 e 10,0 $\mu\text{g/ml}$ promoveu significativamente a germinação dessas sementes.

Observa-se pela Figura 5.2.A que aplicando-se cinetina nas concentrações 0,1; 1,0 e 10,0 $\mu\text{g/ml}$ não ocorrem diferenças significativas na germinação em luz ou escuro de sementes intactas. Verifica-se também neste experimento que as porcentagens finais de germinação de sementes intactas foram muito reduzidas em luz e nulas no escuro. Nenhum efeito significativo foi observado também na germinação de sementes escari-

FIGURA 5.1. Efeito do ácido giberélico (0,1; 1,0 e 10,0 $\mu\text{g/ml}$) na germinação de sementes intactas e escarificadas de D. stramonium, 14 dias após o início da embebição. Sementes com 11 meses de estocagem, lote VI.

- ☐ - intacta em luz
- ☒ - intacta no escuro
- ☒ - escarificada em luz
- ☒ - escarificada no escuro

A - sementes intactas
B - sementes escarificadas

FIGURA 5.2. Efeito de cinetina (0,1; 1,0 e 10,0 $\mu\text{g/ml}$) na germinação de sementes intactas e escarificadas de D. stramonium, 14 dias após o início da embebição. Sementes com 12 meses de estocagem, lote VI.

- ☐ - intacta em luz
- ☒ - intacta no escuro
- ☒ - escarificada em luz
- ☒ - escarificada no escuro

A - sementes intactas
B - sementes escarificadas

FIGURA 5.1

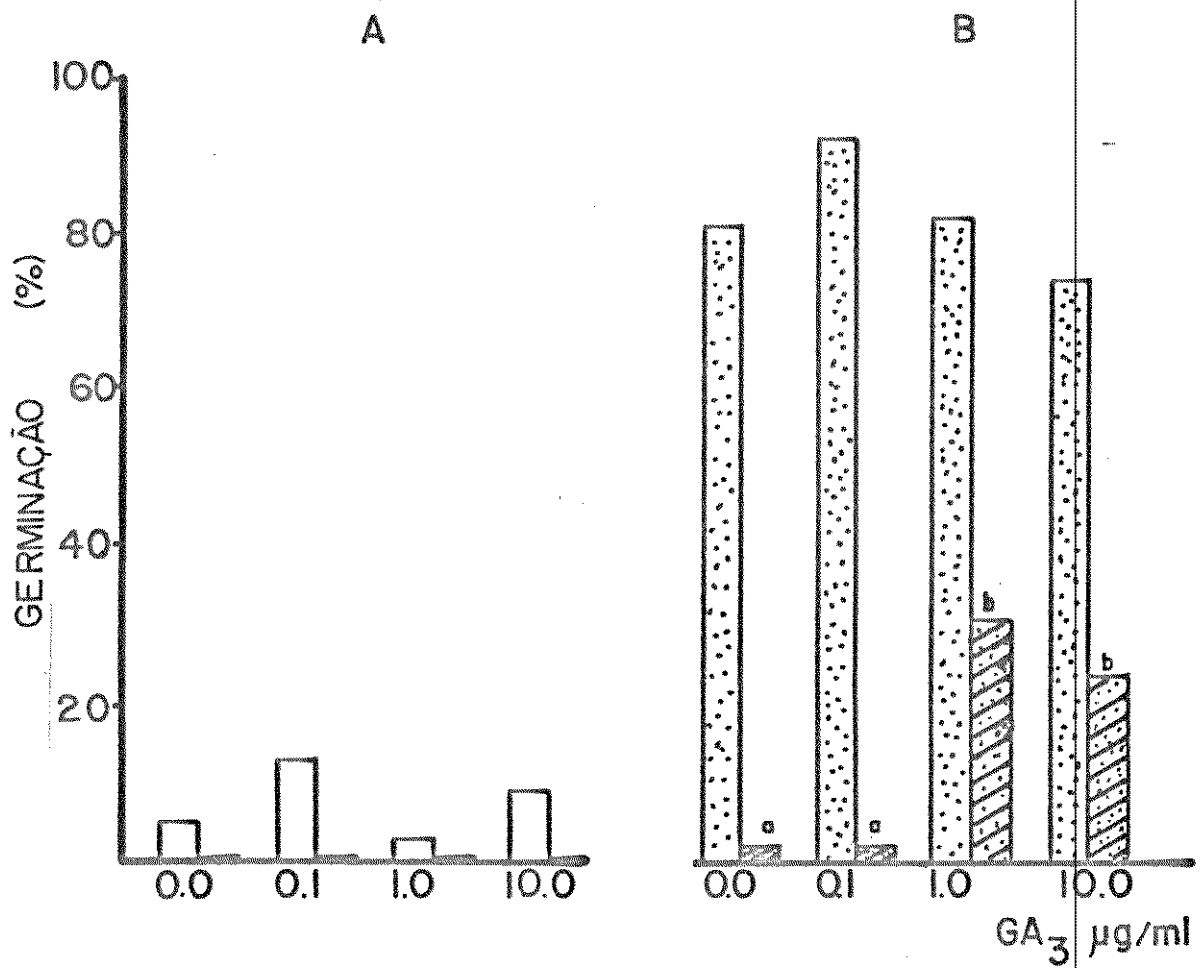
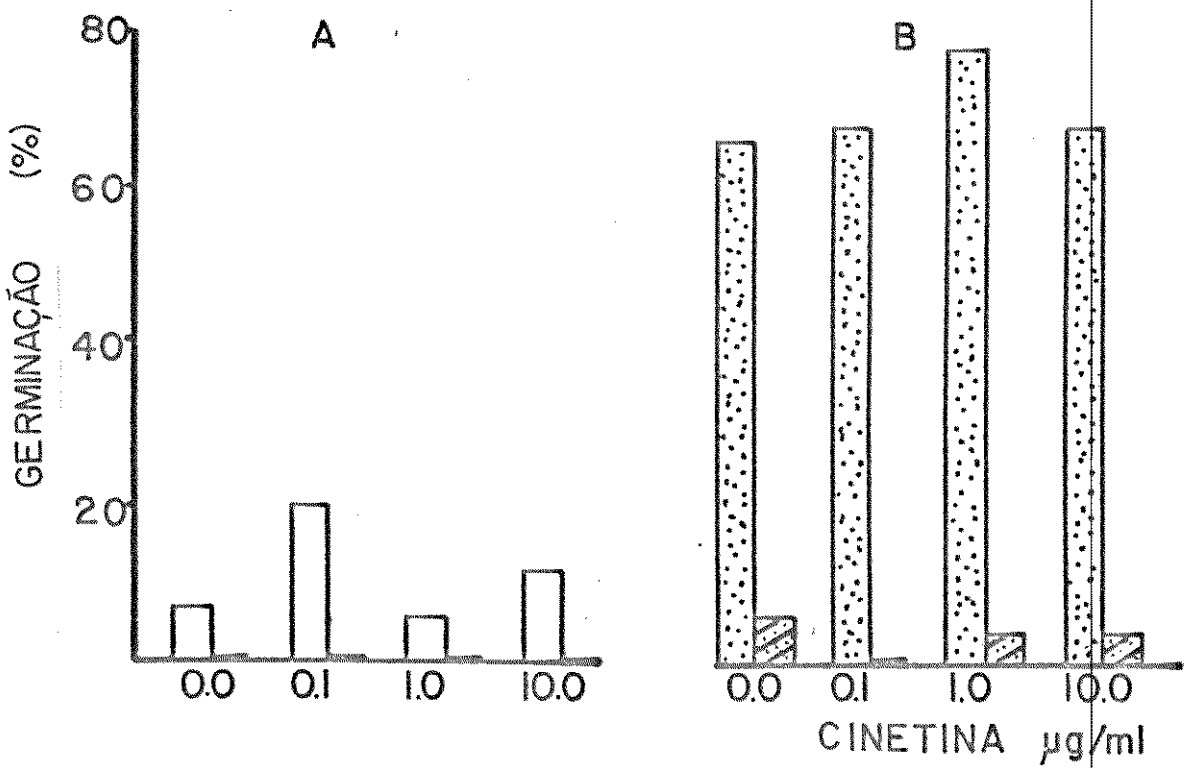


FIGURA 5.2



ficadas tanto em luz como no escuro, quando aplicada cinetina nas concentrações de 0,1; 1,0 e 10,0 $\mu\text{g/ml}$ (Figura 5.2.B).

Foi testado também o efeito do ácido giberêlico nas concentrações de 1,0; 10,0 e 100,0 $\mu\text{g/ml}$, na germinação de sementes lixiviadas ou não. Os resultados desse experimento (Figura 5.3.A) demonstram que nenhuma das concentrações de GA_3 testadas promoveu significativamente a germinação de sementes não lixiviadas mantidas em luz.

A lixiviação inibiu significativamente a germinação (Figuras 5.3.A e B) entretanto o ácido giberêlico não reverteu o efeito inibidor da lixiviação pelo menos nas concentrações utilizadas (Figura 5.3.B).

Observam-se na Tabela 5.1 resultados de outro experimento em que não houveram diferenças significativas entre tratamentos em que foi aplicado GA_3 nas concentrações de 0,1; 1,0; 10,0 e 100,0 $\mu\text{g/ml}$ quando comparados com seus respectivos controles, tanto em luz quanto no escuro para sementes lixiviadas ou não. Os resultados desses experimentos demonstram mais uma vez que a lixiviação inibiu significativamente a germinação em luz.

A Tabela 5.2 mostra resultados de experimento em que foi verificado o efeito de cinetina nas concentrações de 0,1; 1,0; 10,0 e 100,0 $\mu\text{g/ml}$ na germinação em luz e escuro de sementes lixiviadas ou não. Observa-se pelos resultados que não houve efeito significativo de nenhuma das concentrações utilizadas de cinetina. A lixiviação nesse experimento (Tabela 5.2) também inibiu significativamente a germinação em luz.

Concluindo-se, a germinação de sementes intactas em

FIGURA 5.3. Efeito do ácido giberêlico na germinação de sementes intactas de D. stramonium lixiviadas ou não. Sementes germinadas em luz e com 8 meses de estocagem (lote I).

- | | |
|-----------------|-----------------------------|
| ○ - controle | A - sementes não lixiviadas |
| △ - 1,0 µg/ml | B - sementes lixiviadas |
| □ - 10,0 µg/ml | |
| ▽ - 100,0 µg/ml | |

Nota: A diferença entre os controles de sementes lixiviadas (B) e não lixiviadas é estatisticamente significativo ao nível de 5%.

FIGURA 5.3

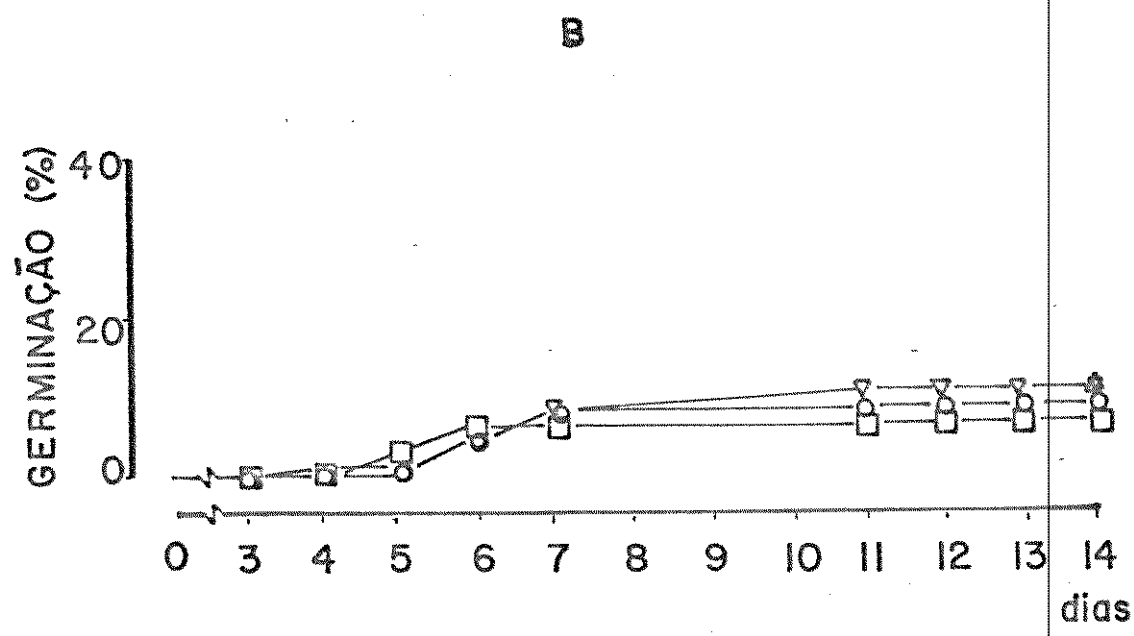
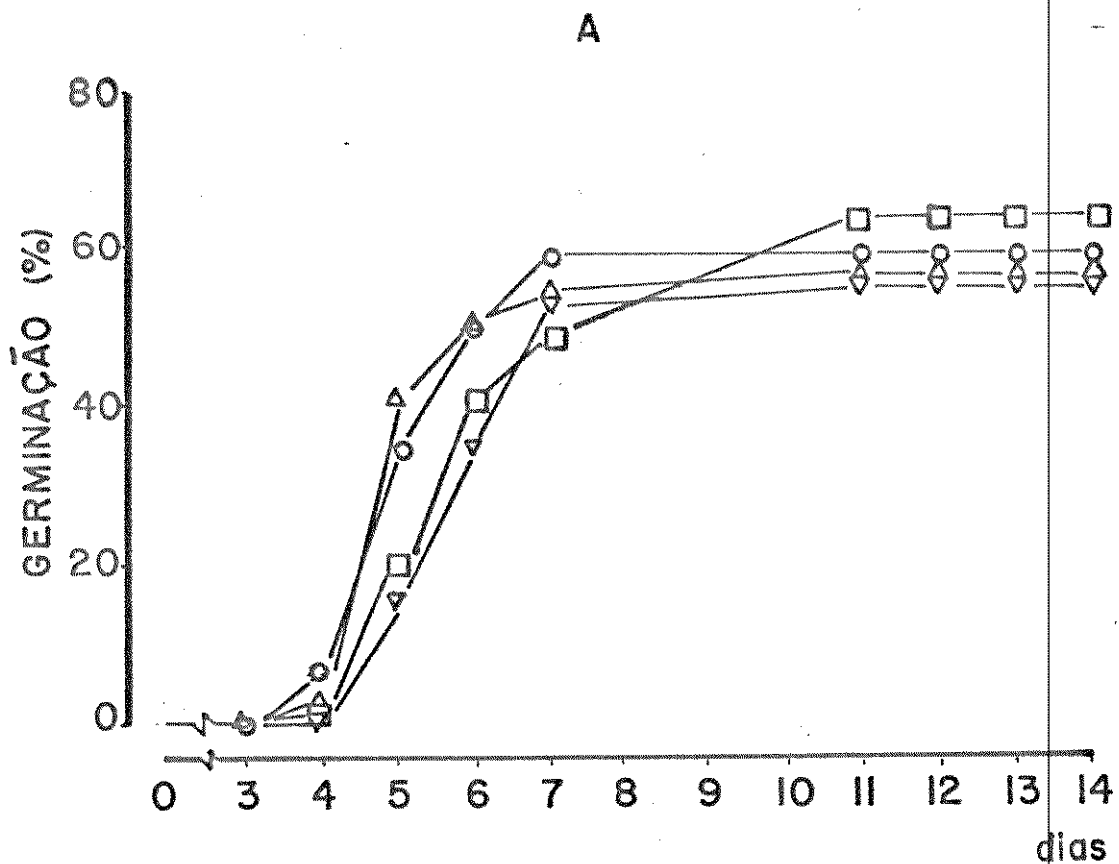


TABELA 5.1. Efeito do GA_3 na germinação de sementes de Datura stramonium lixiviadas ou não em luz e escuro. Sementes com 5 meses de estocagem (lote IV), 14 dias após o início da embebição.

GA_3 $\mu g/ml$	% de germinação			
	Luz		Escuro	
	Não lixiviada	Lixiviada	Não lixiviada	Lixiviada
0,0	50,0	3,3	16,3	13,4
0,1	41,6	0,0	1,6	6,6
1,0	38,3	0,0	8,3	6,6
10,0	30,0	0,0	11,6	8,3
100,0	36,6	0,0	18,3	3,3

TABELA 5.2. Efeito de cinetina na germinação de sementes de Datura stramonium lixiviadas ou não em luz ou escuro. Sementes com 5 meses de estocagem (lote IV), 14 dias após o início da embebição.

Cinetina $\mu g/ml$	% de germinação			
	Luz		Escuro	
	Não lixiviada	Lixiviada	Não lixiviada	Lixiviada
0,0	31,6	6,6	13,4	0,0
0,1	16,6	3,3	6,6	1,6
1,0	38,3	3,3	6,6	0,0
10,0	33,3	1,6	8,3	0,0
100,0	20,0	3,6	3,3	0,0

luz ou escuro não é alterada por ácido giberélico ou cinetina nas concentrações de 0,1; 1,0; 10,0 e 100,0 µg/ml. Entretanto, em sementes escarificadas, o ácido giberélico nas concentrações de 1,0 e 10,0 µg/ml foi promotor de germinação no escuro. O fato da lixiviação reduzir a germinação de D. stramonium levou à suposição de que tal tratamento fosse responsável pela remoção de alguma substância promotora (Capítulo 4), porém nem GA₃ nem cinetina reverterem o efeito inibidor da lixiviação e parece que essa substância, se existir, não será nem o ácido giberélico nem cinetina.

6. NÍVEIS ENDÓGENOS DE SUBSTÂNCIAS DE CRESCIMENTO EM SEMENTES EMBEBIDAS.

Sementes de Datura stramonium quando colocadas para germinar completam a embebição, considerada como a primeira fase do processo de germinação, em cerca de 8 horas (Capítulo 4). Durante o período compreendido entre a embebição e a protrusão da radícula, que ocorre em presença de luz cerca de 4 dias após o início da embebição (Capítulo 3), pequena é a alteração macroscópica sofrida pelo embrião, mas provavelmente ocorrem modificações no metabolismo da semente, incluindo alterações nos níveis endógenos dos reguladores de crescimento que determinam se as sementes germinarão ou não.

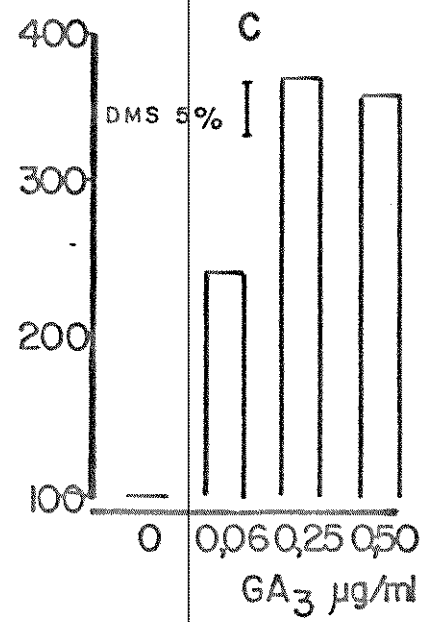
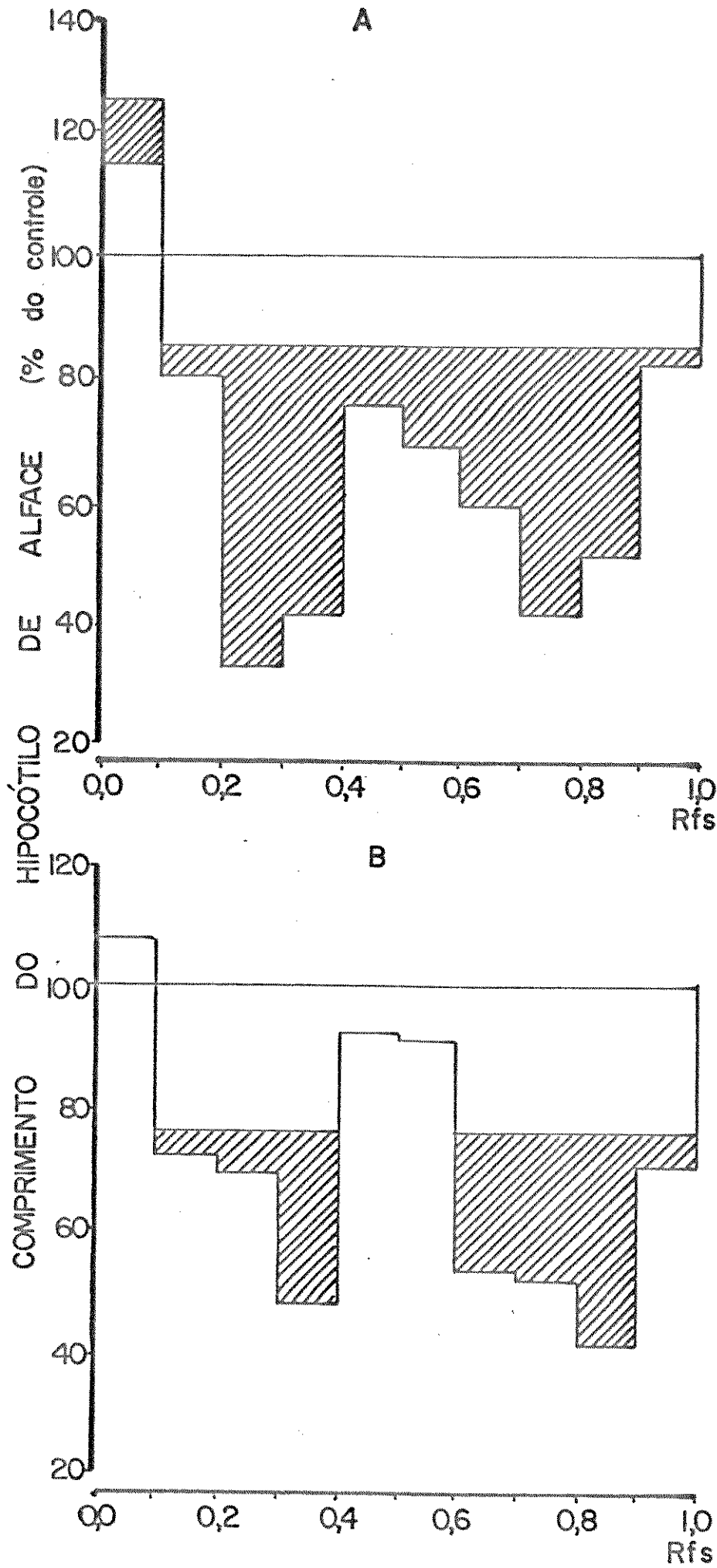
Como sementes de D. stramonium de flor branca possuem fotoblasticidade, sendo sua germinação promovida por luz branca, é de interesse conhecer qual é o efeito da luz nos níveis de reguladores endógenos que podem se relacionar com a germinação.

O objetivo destes experimentos foi tentar determinar a presença de substâncias promotoras ou inibidoras de crescimento em sementes de D. stramonium embebidas em luz e no escuro.

A Figura 6.1 mostra resultados do bioteste do hipocótilo de alface da fração ácida de extratos de sementes embebidas por 48 horas em luz e escuro contínuos. A quantidade do extrato usada para o cromatograma correspondeu a 7,5 g de sementes secas de D. stramonium. Verifica-se em extratos de sementes embebidas em luz (Figura 6.1.A), uma região onde foi encontrada significativamente uma substância com atividade gibe

FIGURA 6.1. Bioteste do hipocótilo de alface de frações ácidas dos extratos de sementes de Datura stramonium embebidas por 48 horas em luz (A) e no escuro (B). Teste com concentrações conhecidas de ácido giberélico (C). Sementes com 15 meses de estocagem (lote VIII).

FIGURA 6.1



relínica entre a origem e o Rf 0,1. Há também uma larga zona de inibição estatisticamente significativa entre os Rfs 0,1 e 1,0, com picos entre os Rfs 0,2 e 0,3 e entre os Rfs 0,7 e 0,8.

Sementes que permaneceram no escuro durante as 48 horas de embebição (Figura 6.1.B), apresentam regiões de inibição significativa entre os Rfs 0,1 e 0,4 e entre os Rfs 0,6 e 1,0. Nestas regiões de inibição os picos estão entre os Rfs 0,3 e 0,4 e entre os Rfs 0,8 e 0,9.

Na Figura 6.2, observam-se resultados do bioteste do hipocótilo de alface da fração ácida de sementes de D. stramonium embebidas por 24 horas. A quantidade do extrato aplicado correspondeu a 3,3 g de sementes.

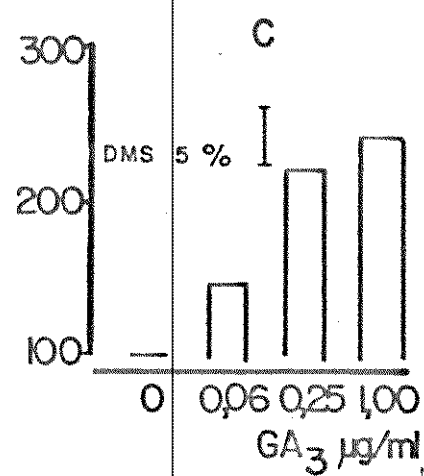
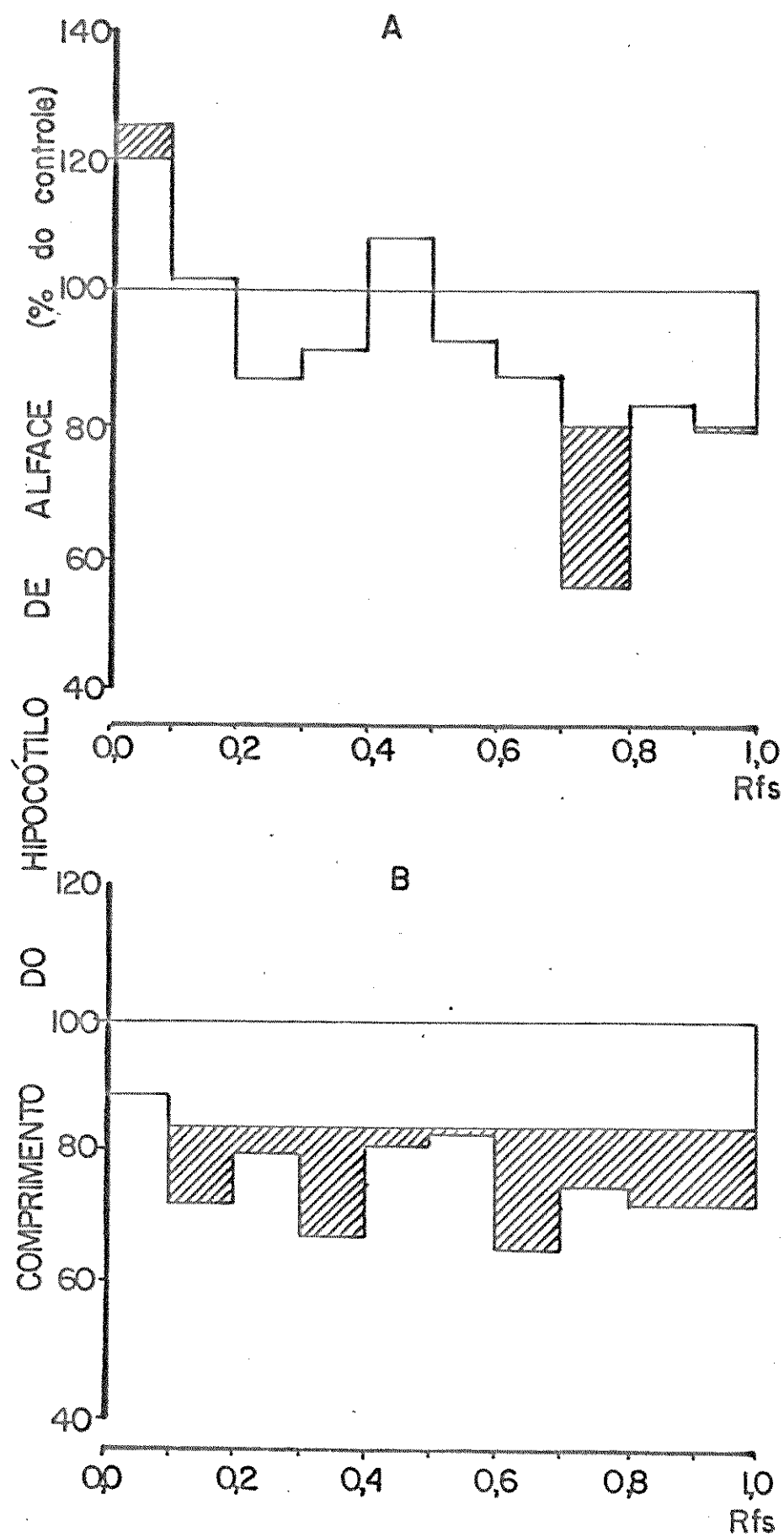
Pelos resultados da Figura 6.2.A (luz) ocorre uma zona com atividade giberelínica significativa entre a origem e o Rf. 0,1. Portanto a região que apresenta uma atividade giberelínica nos extratos de sementes embebidas por 24 horas sob luz coincide com a dos extratos de sementes embebidas durante 48 horas sob luz. A Figura 6.2.A mostra ainda duas regiões de inibição estatisticamente significativas entre os Rfs 0,7 e 0,8 e dos Rfs 0,9 e 1,0. Este pico entre os Rfs 0,7 e 0,8 coincide também com um dos picos de inibição encontrado no extrato de sementes embebidas em luz por 48 horas.

Extratos de 3,3 g de sementes embebidas no escuro por 24 horas mostram inibições significativas entre os Rfs 0,1 e 1,0 (Figura 6.2.B).

Portanto os extratos de sementes embebidas em luz por 24 ou 48 horas apresentam pelo menos uma substância com atividade giberelínica com pouca mobilidade no sistema de solven-

FIGURA 6.2. Bioteste do hipocótilo de alface de frações ácidas dos extratos de sementes de Datura stramonium embebidas por 24 horas em luz (A) e no escuro (B). Teste com concentrações conhecidas de ácido giberélico (C). Sementes com 11 meses de estocagem (lote VIII).

FIGURA 6.2



tes utilizado e inibidores ácidos, talvez em maior número após 48 horas de embebição. Como pode ser observado, relacionando a Figura 6.1.A. e C e Figuras 6.2.A e C a quantidade de substância com atividade giberelínica encontrada nos extratos de 7,5 g ou 3,3 g de sementes parece ter uma concentração menor do que a concentração equivalente a 0,06 µg/ml de ácido giberélico.

Extratos de sementes embebidas no escuro não apresentaram atividade giberelínica após 24 ou 48 horas, mas apresentaram substâncias inibidoras.

Os resultados do bioteste do hipocótilo de alfaca da fração neutra de sementes embebidas por 48 horas, estão na Figura 6.3, a quantidade de extrato aplicado correspondeu a 7,5 g de sementes de D. stramonium.

Analizando-se a Figura 6.3.A (sementes embebidas em luz), observa-se que há inibição significativa entre os Rfs 0,5 e 0,9, sendo o pico observado entre os Rfs 0,7 e 0,8.

Em sementes embebidas por 48 horas no escuro, Figura 6.3.B, observa-se uma região promotora entre a origem e o Rf 0,1. Há inibição entre os Rfs 0,7 e 1,0.

Nas sementes embebidas por 24 horas em luz e no escuro (Figuras 6.4.A e 6.4.B respectivamente), são observadas no cromatograma da fração neutra somente zonas de inibição. Neste caso o extrato aplicado correspondeu a 3,3 g de sementes D. stramonium. Na Figura 6.4.A a inibição significativa ocorre entre os Rfs 0,3 e 0,4, 0,5 e 0,6 e 0,8 e 1,0. Já em sementes mantidas no escuro (Figura 6.4.B), os resultados mostram zonas de inibição significativa entre os Rfs 0,1 e 1,0, sendo

FIGURA 6.3. Bioteste do hipocôtilo de alface de frações neutras dos extratos de sementes de Datura stramonium embebidas por 48 horas em luz (A) e no escuro (B). Teste com concentrações conhecidas de ácido giberêlico (C). Sementes com 15 meses de estocagem (lote VIII).

FIGURA 6.3

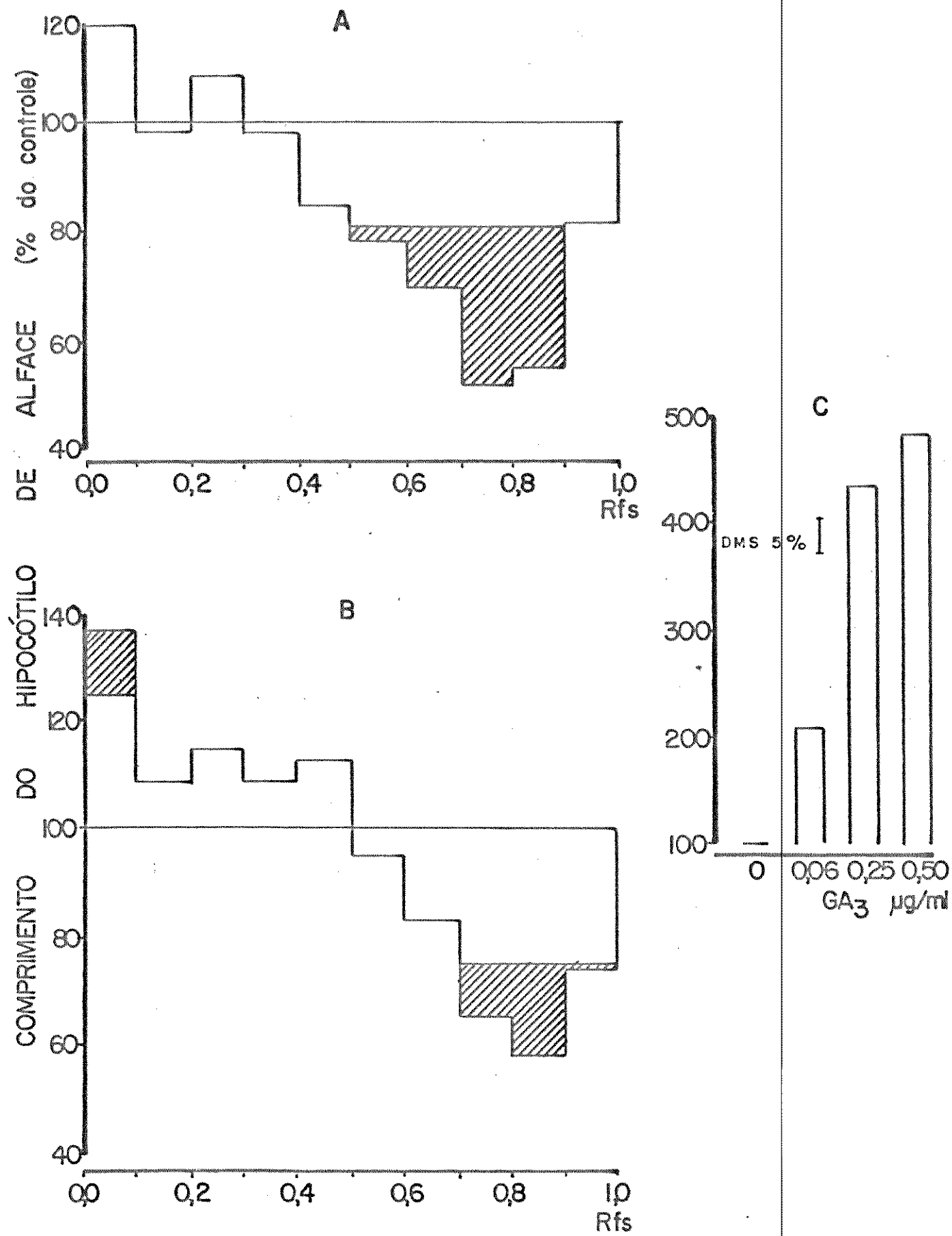
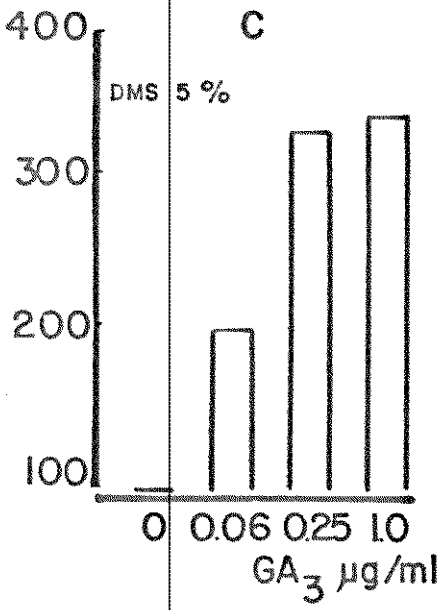
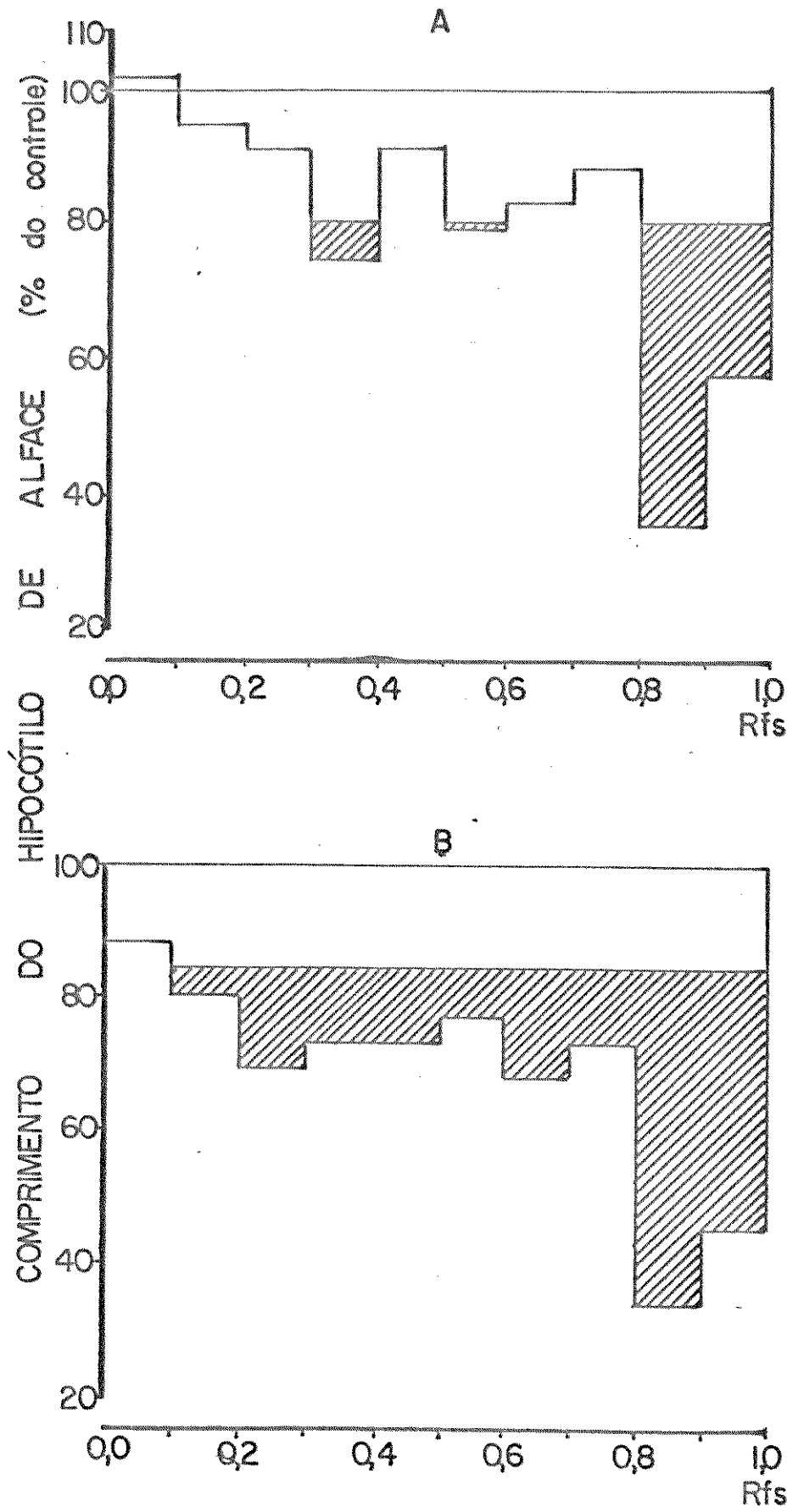


FIGURA 6.4. Bioteste do hipocótilo de alface de frações neutras dos extratos de sementes de Datura stramonium embebidas por 24 horas em luz (A) e no escuro (B). Teste com concentrações conhecidas de ácido giberélico (C). Sementes com 11 meses de estocagem (lote VIII).

FIGURA 6.4



o pico observado entre os Rfs 0,8 e 0,9.

Pelos resultados pode-se concluir que a fração neutra de sementes de D. stramonium embebidas por 24 ou 48 horas em luz ou no escuro possui um inibidor de grande mobilidade no sistema de solventes utilizado; aparentemente ocorrem ainda um ou mais inibidores de menor mobilidade em sementes embebidas por 24 horas que desaparecem após 48 horas. A fração neutra de sementes embebidas por 48 horas no escuro possui ainda um promotor de pequena mobilidade. Comparando-se a Figura 6.3.B e 6.3.C, verifica-se que a quantidade de substâncias com atividade giberelínica no extrato de 7,5 g é menor que a concentração equivalente a 0,06 µg/ml de ácido giberélico.

As Figuras 6.5 e 6.6 mostram resultados do bioteste do cotilédone de rabanete aplicado às frações básicas de sementes embebidas por 48 e 24 horas respectivamente, em luz e escuro contínuos. O extrato das sementes embebidas por 24 horas nos dois tratamentos (luz e escuro) correspondeu a 2,2 g de sementes, e as 48 horas a 7,5 g de sementes de D. stramonium.

Observa-se na Figura 6.5.A (sementes embebidas em luz) uma região com atividade citocinínica significativa entre os Rfs 0,1 e 0,2. Na Figura 6.5.B (sementes embebidas no escuro), não houve promoção significativa em nenhuma faixa do cromatograma.

Nas Figuras 6.6.A e 6.6.B (sementes embebidas em luz e escuro respectivamente), não ocorreram zonas de promoção ou de inibição significativas.

De acordo com os resultados obtidos nos biotestes pa-

FIGURA 6.5. Bioteste do cotilêdone de rabanete de frações básicas dos extratos de sementes de Datura stramonium embebidas por 48 horas em luz (A) e no escuro (B). Teste com concentrações conhecidas de benzilaminopurina (C). Sementes com 15 meses de estocagem (lote VIII).

FIGURA 6.5

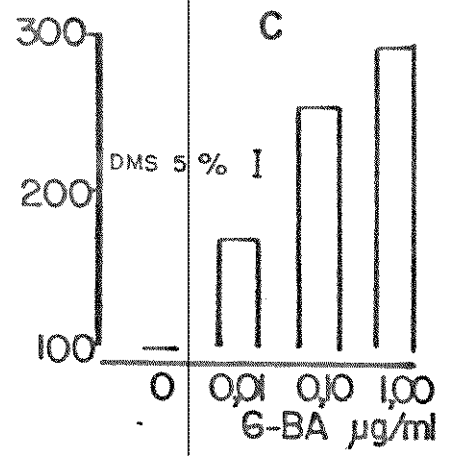
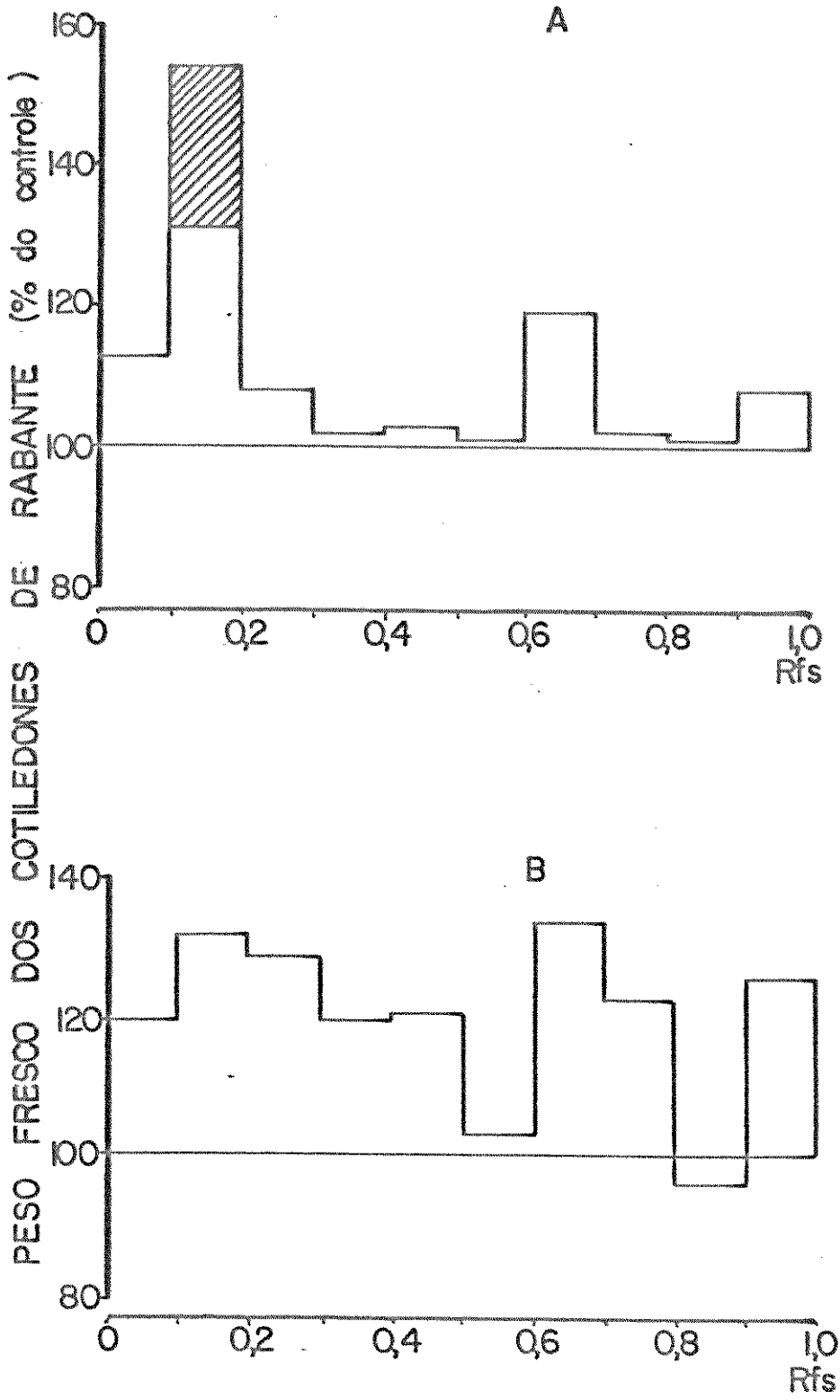
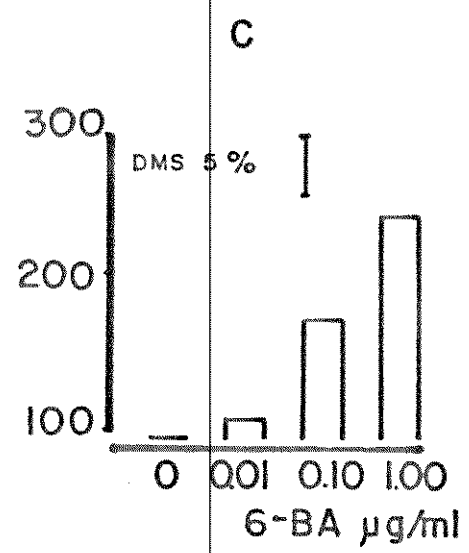
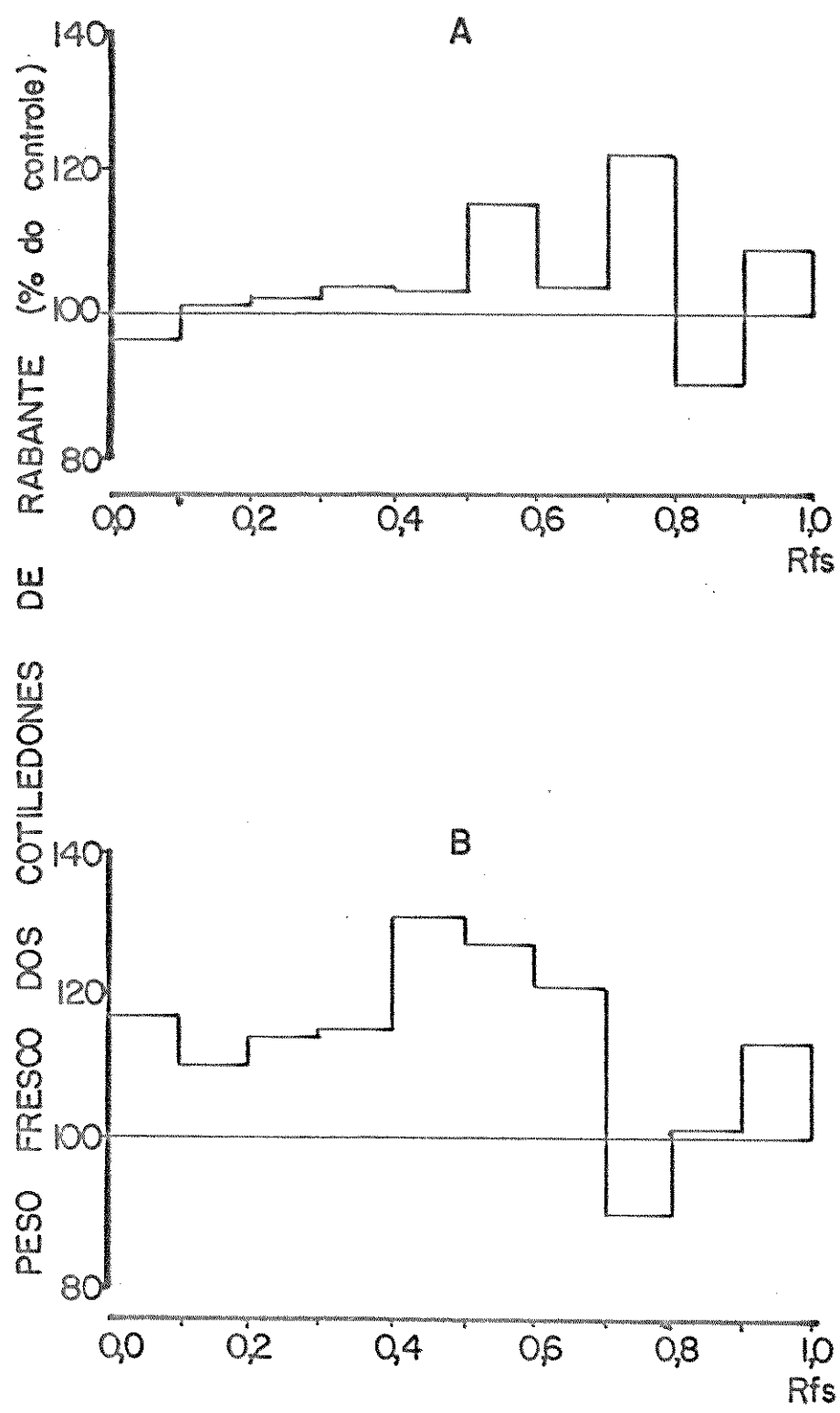


FIGURA 6.6. Bioteste do cotilêdone de rabanete de frações bá-
sicas dos extratos de sementes de Datura stramo-
nium embebidas por 24 horas em luz (A) e no escu-
ro (B). Teste com concentrações conhecidas de
benzilaminopurina (C). Sementes com 11 meses de
estocagem (lote VIII).

FIGURA 6.6



ra fração básica, somente o extrato de sementes mantidas por 48 horas em luz (Figura 6.5.A) apresenta uma substância com a atividade citocinínica com pouca mobilidade no sistema de solventes utilizado. A concentração da substância com atividade citocinínica no extrato de 7,5 g de sementes deve estar ao re dor de 0,01 µg/ml equivalentes de benzilaminopurina (Figuras 6.5.A e 6.5.C).

Resumindo, os extratos de sementes de D. stramonium em bebidas em luz apresentam substâncias com atividade giberelínica e citocinínica com pouca mobilidade nos sistemas de solventes utilizados as quais não ocorrem quando as sementes são embebidas no escuro, e um promotor neutro somente nas sementes embebidas por 48 horas no escuro. Inibidores ácidos ocor rem em luz ou escuro tanto após 24 como após 48 horas de embe bição. Inibidores neutros também ocorrem tanto em luz como no escuro; no escuro parece haver uma diminuição no conteúdo des ses inibidores com o tempo de embebição.

7. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Um dos problemas relevantes encontrados com a germinação de Datura stramonium de flores brancas foi a variação nas porcentagens finais de germinação de experimento para experimento. A análise comparada dos resultados de experimentos diversos, mas que possuem tratamentos que se repetem (como 25°C, luz ou escuro, com sementes intactas ou escarificadas) e dos experimentos de armazenamento, mostra que as variações nas porcentagens de germinação após 14 dias de embebição não são devidas unicamente à variação genética ou fatores ambientais aos quais as plantas mãe estavam sujeitas, pois tais variações ocorrem dentro do mesmo lote. Maguire (1977) mostrou que fatores ambientais aos quais a planta mãe está sujeita durante o processo de desenvolvimento das sementes podem causar variações na germinação. Sementes de Datura stramonium poderiam ter padrões diferentes de germinação caso ocorressem nelas diferentes níveis endógenos de reguladores; essas variações poderiam ser devidas a uma mistura de sementes formadas em diferentes estádios de desenvolvimento da planta mãe, entretanto não ocorrem constantemente padrões diferentes em sementes provenientes de frutos das várias posições na planta mãe. Assim, as variações encontradas de experimento para experimento também não podem ser devidas unicamente a essas variações.

Parte da variabilidade encontrada na germinação de D. stramonium, pode ser devida ao tempo de estocagem das sementes uma vez que certos lotes apresentam dormência até pelo menos 60 dias após a coleta. Entretanto essa dormência não ocorre para todos os lotes, mesmo que tenham sido coletados na

mesma época do ano. Pode-se sugerir que essa dormência inicial seja devida a uma necessidade de um período de amadurecimento após a coleta para certos lotes de sementes, uma vez que a coleta dos frutos pode não ter sido sempre realizada na mesma idade fisiológica. De qualquer modo, após o período de dormência inicial, sementes de qualquer lote apresentam aumentos e diminuições na sua capacidade de germinar, de tal forma desordenados que não parecem ser devidos, pelo menos unicamente, ao seu tempo de armazenamento.

Fica portanto em aberto para pesquisas futuras a explicação da variabilidade da germinação de D. stramonium de flor branca.

A germinação de sementes de Datura stramonium L. provenientes de plantas com flores brancas ocorre no escuro a 25 °C a porcentagens muito reduzidas e é promovida por luz branca. Portanto as sementes de D. stramonium podem ser consideradas fotoblásticas positivas a 25 °C. Kinzel (1926) citado por Mayer e Poljakoff-Mayber (1975) classificou sementes desta espécie como sendo não fotoblásticas, entretanto Conklin (1976) também mostrou que a germinação de D. stramonium foi maior em luz do que no escuro. Em várias outras espécies de ervas invasoras a luz é necessária para a germinação como Sinapis arvensis, Chenopodium album, Rumex obtusifolius e Plantago major (Kendrick e Frankland, 1981), Bidens pilosa (Válio et al., 1972), Emilia sonchifolia, Eupatorium pauciflorum (Polo, 1982), Datura ferox (Soriano et al., 1964).

Na maioria das espécies de ervas invasoras, a semente é pequena e fotoblástica positiva; seria desvantajoso para tais sementes germinarem no escuro, devido ao seu tamanho, por

tanto estas sementes podem ficar enterradas e armazenadas no solo por longos períodos e somente quando o solo é revolvido as sementes que vem à superfície germinam.

A influência da temperatura foi também observada na germinação de Datura stramonium. Dentro da faixa das temperaturas estudadas sementes intactas ou escarificadas não germinam a 15°C e 45°C tanto em luz como no escuro. Observou-se aqui que 30°C e 35°C são as temperaturas ótimas para sementes intactas colocadas para germinar em luz. Sementes escarificadas germinam igualmente bem, em luz, em temperaturas de 20°C a 35°C. Entretanto no escuro sementes intactas e escarificadas de D. stramonium são mais exigentes quanto a faixa de temperatura tendo germinado apenas a 35°C (a escarificação sendo promotora). A escarificação elevou as porcentagens de germinação em luz em qualquer das temperaturas estudadas (20, 25, 30 e 35°C) assim como no escuro a 35°C. Assim ela provocou aumento da germinação nas temperaturas onde esta já ocorria, sem promovê-la nas temperaturas nas quais não havia germinação de sementes intactas.

No escuro o efeito de alternâncias de temperaturas em D. stramonium é muito acentuado, promovendo marcadamente a porcentagem final de germinação de sementes intactas e escarificadas. Temperaturas que quando constantes não possibilitam a germinação de D. stramonium no escuro, promovem tal germinação quando alternadas por períodos de 12 horas com a temperatura de 25°C. Em luz, as alternâncias de temperaturas tiveram efeito apenas temporário, promovendo também a germinação.

Os resultados dos diversos experimentos de germinação de D. stramonium de flores brancas em que o efeito de luz bran

ca, escarificação e temperatura são verificados e observados como um todo, proporcionam material para um melhor esclarecimento quanto ao fotoblastismo de sementes dessa espécie. Assim, como afirmado no início deste Capítulo, tais sementes são fotoblásticas positivas (quer intactas, quer escarificadas) à temperatura de 25°C. Já a 35°C contínuos a fotoblasticidade positiva ocorre apenas com sementes intactas, mas não com as escarificadas. Em temperaturas alternadas, sementes escarificadas também germinam em altas porcentagens no escuro não havendo fotoblasticidade nessas condições.

Assim sendo, não se pode dizer que haja discordância entre os resultados de Kinzel (Mayer e Poljakoff-Mayber, 1975) que classifica D. stramonium como não fotoblástica e os de Conklin (1976) que mostra que esta espécie é fotoblástica positiva quanto à germinação, uma vez que os autores não especificam as condições de temperatura em que foram feitos seus experimentos. O que se pode afirmar é que a fotoblasticidade de sementes é dependente de outras condições às quais as sementes são submetidas e que tais condições devem ser cuidadosamente analisadas antes de se afirmar que uma semente é ou não fotoblástica. Deve-se ainda considerar que aqueles autores não mencionam se trabalharam com D. stramonium de flores brancas ou roxas; esta última não é fotoblástica a 25°C (Magnani et al., 1981).

O efeito de temperatura na germinação de sementes fotossensíveis tem sido mostrado por outros pesquisadores, na ausência ou na presença de luz. Wareing e Phillips (1973), mostraram que certas variedades de alface necessitam de luz para germinar a 25°C, mas quando submetidas a temperaturas baixas

germinam no escuro. A semente fotoblástica negativa de Cucumis anguria tem sua germinação promovida por temperaturas alternadas quando expostas a luz contínua, e a fotoblástica positiva Rumex obtusifolius pode germinar no escuro constante sob temperaturas alternadas (Felippe, 1980). Para Rumex obtusifolius, Felippe (1980) concluiu que essa espécie pode vir a germinar mesmo quando as sementes estiverem enterradas no solo a uma determinada profundidade onde as alternâncias diárias de temperatura ainda se fazem presentes, fenômeno esse que é de grande importância para a sobrevivência da espécie.

O mesmo raciocínio pode ser aplicado a germinação de sementes de D. stramonium no solo.

Várias são as hipóteses para explicar o efeito de temperatura na germinação de sementes. Cohen citado por Leopold e Kriedemann (1977), acredita que alternância de temperaturas aumenta a germinação de certas sementes pelo fato de provocar nestas, mudanças estruturais ou físico-químicas. Felippe et al. (1970) mostraram que o nível de giberelinas é aumentado quando sementes de Rumex obtusifolius são expostas a altas temperaturas, tratamento este que aumenta a germinação; assim o efeito de temperatura talvez seja devido a alterações nos níveis endógenos das substâncias de crescimento.

A germinação de D. stramonium que ocorre em porcentagens reduzidas no escuro, é promovida por luz vermelha contínua e inibida por vermelho-extremo tanto no caso de sementes intactas como no de escarificadas. Exposições à luz monocromática por 1 hora já são suficientes e mostram a reversão vermelho - vermelho-extremo. Quando até três choques sucessivos são aplicados, observa-se que a germinação é determinada

pela natureza do último choque. Borthwick et al. em 1952 observaram que a germinação de alface é promovida pelo vermelho e inibida pelo vermelho-extremo e ainda que o efeito desses comprimentos de onda é reversível. Para se afirmar que o processo de germinação está sob ação do fitocromo, é preciso mostrar a reversão vermelho - vermelho-extremo (Noronha, et al., 1978); como tal reversão foi mostrada em D. stramonium pode-se afirmar que o fitocromo está envolvido no processo de germinação das sementes desta espécie. Vários autores mostraram o envolvimento do fitocromo na germinação de espécies como Datura ferox (Burkart e Sanchez, 1969), Rumex obtusifolius (Isikawa e Fujii, 1961) e Cucumis anguria (Noronha, et al., 1978). Exposições curtas a vermelho-extremo também inibem a germinação de certas variedades de tomate (Kendrick e Frankland, 1981). Em aquênios de Stevia rebaudiana, Randi e Felipe em 1981 verificaram que períodos de 60 minutos de vermelho promoviam a germinação, e em sementes de Rumex obtusifolius, um período de 15 minutos já foi suficiente para promover a germinação dessas sementes em relação ao controle no escuro (Takaki, et al., 1981).

As sementes sensíveis à luz somente respondem a esse estímulo quando embebidas em água e as respostas além de serem influenciadas pela temperatura o são pelo tegumento (Wareing e Phillips, 1973). Vários trabalhos da literatura demonstram que as estruturas da semente podem regular a germinação. Pelos resultados apresentados, a germinação de sementes intactas de D. stramonium a 25°C nunca ultrapassou a 65%, no entanto ela foi promovida para até 95% quando as sementes foram escarificadas. Portanto, os envoltórios poderiam estar in

terferindo em algum dos passos iniciais da germinação como absorção de água, penetração de gases, saída de inibidores endógenos ou oferecendo resistência mecânica à expansão do embrião.

A presença de envoltórios impermeáveis em sementes de ervas invasoras representa a vantagem de poderem permanecer dormentes por longos períodos (Toole e Brown, 1946). Sabe-se que em algumas sementes a testa é um fator limitante à entrada de água, como é o caso de Podocarpus henkelii, Crotolaria sericea (Noel e Van Staden, 1975; Saha e Takahashi, 1981), Erythrina e Delonix (Metivier, 1979). Ferreira e Handro (1979), observaram que os tegumentos de sementes de Araucaria angustifolia inibem a entrada de água diminuindo a velocidade de germinação. Este efeito inibidor da testa da semente diminui parcialmente após 2 meses de estocagem, ou através da escarificação.

Sementes de D. stramonium escarificadas parcialmente ou com a testa totalmente removida, não mostraram diferenças quanto à entrada de água, quando comparadas com as sementes intactas. Resultados semelhantes foram obtidos também com sementes de Datura ferox (Soriano et al., 1964); nesta planta, foi sugerido que o efeito promotor da escarificação seria devido à facilidade de remoção de um inibidor por oxidação ou por liberação para fora da semente.

Escarificação parcial e remoção total da casca, promovem a germinação de sementes de D. stramonium; entretanto como esses tratamentos não aceleram a absorção de água, o efeito inibidor da casca não é exercido através de impermeabilidade à água. Poderia então ser realizado através da impermeabilidade à saída de inibidores endógenos, ou por conter ele pró

prio inibidores de germinação.

A lixiviação das sementes de D. stramonium reduziu ainda mais sua germinação tanto em luz como no escuro. Logo, a lixiviação de sementes de D. stramonium não removeu um inibidor, pelo contrário, pode ter removido algum promotor de germinação, ou poderia tê-las matado. Entretanto, essa inibição da germinação não foi causada pela morte das sementes, pois verificou-se pelo teste do tetrazólio que sementes lixiviadas continuavam viáveis. Já que a lixiviação poderia ter retirado um promotor de germinação das sementes, experimentos foram feitos para verificar se a água da lixívia contendo um promotor de germinação, poderia reverter o efeito inibidor da lixiviação assim como promover a germinação de sementes de outras espécies como alface e maxixe.

A água da lixívia promoveu a germinação de sementes lixiviadas, porém essa reversão foi muito leve. O fato de tal reversão ser pequena, poderia ser devido talvez, à baixa concentração da substância promotora, ou à perda de sua atividade após sua liberação pela semente. Os resultados mostram ainda que em sementes não lixiviadas a água da lixívia também teve um fraco efeito promotor de germinação.

A água da lixívia de D. stramonium promoveu a germinação de sementes de maxixe mantidas em luz contínua e não afetou a germinação de alface tanto em luz quanto no escuro. Portanto essa água da lixívia, parece ter uma substância promotora que é efetiva na germinação de maxixe.

Vários experimentos de lixiviação são descritos na literatura, em alguns, como é o caso de Cynodon dactylon (Kay

et al., 1977), a lixiviação reduziu a germinação de sementes como em Datura stramonium e em outros ela teve um efeito promotor como em Carthamus oxycantha (Kheradnam e Bassiri, 1980).

Orphanos e Heydecker (1968), mencionam vários trabalhos com Phaseolus vulgaris, onde foram determinadas algumas substâncias lavadas durante a lixiviação como sacarose, rafinose e ácido indol-3-acético, e ainda a detecção de quantidades de giberelinas e betaína. Segundo Orphanos e Heydecker (1968) a grande quantidade de água durante a lixiviação, talvez possa ainda diminuir o suprimento de oxigênio disponível para o embrião, diminuindo assim a germinação de Phaseolus vulgaris. Já em sementes dormentes de Avena fatua por exemplo, a lixiviação de um inibidor aumentou a germinação e diminuiu a exigência de oxigênio necessário para este processo (Wareing e Foda, 1957, citado por Khan, 1977).

O efeito de reguladores de crescimento como GA_3 , cinetina e 6-BA sobre a germinação de sementes de várias espécies tem sido muito estudado (Wareing et al., 1972; Wareing e Saunders, 1971).

GA_3 estimula a germinação de alface no escuro enquanto que o efeito promotor de cinetina é muito fraco (Khan, 1956) in Mayer e Poljakoff-Mayber, 1975). Randi e Felipe (1981) mostraram que o GA_3 promove a germinação de Stevia rebaudiana mantidas em luz ou escuro, porém 6-BA é inefetivo. Em aquênios de Bidens pilosa, 6-BA promove a germinação no escuro (Válio et al., 1972). GA_3 , 6-BA e etrel promoveram a germinação em luz branca de Cucumis anguria, embora o efeito de 6-BA na germinação desta espécie tenha sido menor do que aquele ob

servado para as sementes mantidas em GA_3 e etrel (Felippe e Litjens, 1979; 1980; Cardoso, 1982). Em sementes de mamão Gherardi (1974), observou que GA_3 a 10,0 e 100,0 $\mu g/ml$ aumentou ligeiramente a germinação dessas sementes. GA_3 a 50 ppm promoveu a germinação de D. stramonium (Sciuchetti, 1960; citado por Conklin, 1976).

O fato da germinação de D. stramonium ocorrer sempre em porcentagens relativamente baixas, mesmo quando escarificadas e em presença de luz, sugere que tais sementes possam possuir níveis sub-ótimos de substâncias promotoras de germinação como giberelinas e citocininas. Porém, tanto GA_3 quanto cinetina não tiveram efeito na germinação de sementes intactas mantidas em luz ou escuro. Entretanto, em sementes escarificadas, o GA_3 a 1,0 e 10,0 $\mu g/ml$ foi promotor de germinação no escuro, porém outros experimentos teriam que ser feitos para confirmar esses resultados. Os experimentos de lixiviação sugeriram a remoção de um promotor pela água da lavagem que seria ativo não só em D. stramonium mas também em maxixe. Como GA_3 e cinetina não reverteram o efeito inibidor da lixiviação, logo a redução de germinação de D. stramonium, não ocorre por remoção de uma substância promotora como giberelina (GA_3) ou citocinina (cinetina).

O fato do efeito do GA_3 ser efetivo apenas na germinação de sementes escarificadas pode ser devido à impermeabilidade da casca da semente de D. stramonium a essa substância. Isto tem sido mostrado em alguns trabalhos como, por exemplo, em sementes de Barbarea vulgaris as quais quando escarificadas mostram um aumento na resposta ao GA_3 (Taylorson, 1976). A testa das sementes de Avena fatua também dificulta

a entrada do GA_3 (Hsiao, 1979). Conklin (1976), comenta que em Datura ferox a testa da semente pode bloquear passos metabólicos que ocorrem antes que o GA_3 possa induzir a germinação e a possibilidade da testa da semente afetar mudanças fisiológicas que poderiam modificar a absorção do GA_3 não está confirmada.

Para se verificar se o GA_3 e cinetina penetraram nas sementes de D. stramonium, haveria necessidade de se detectar essas substâncias nos extratos dessas sementes durante as primeiras horas de embebição com esses reguladores (Cardoso, 1982). Portanto não está muito claro se a baixa germinação de sementes de D. stramonium se deve ou não a baixos níveis de GA_3 e citocinina.

Miguel (1980) detectou inibidores endógenos de germinação nas frações ácidas e básicas dos extratos dos tegumentos e na semente sem a casca de Datura ferox. O nível de inibidores diminui durante a estocagem das sementes que foi feita em atmosfera úmida e a autora sugere que esse inibidor pode ser o ácido abscísico na fração ácida.

Em sementes de Rumex obtusifolius tanto o choque de luz como o de alta temperatura causaram o aparecimento de giberelina (Felippe et al., 1970). Substâncias giberelínicas foram determinadas somente em aquênios férteis de Stevia rebaudiana e de acordo com Randi e Felippe (1980), parece que giberelinas estão envolvidas na germinação dessa espécie. Entretanto em outras sementes como nas de limão cravo, as giberelinas não estão envolvidas na germinação, visto que os níveis de terminados, durante o período de armazenamento não apresenta-

ram variações conclusivas entre as sementes que germinavam e as que não mais germinavam (Usberti e Felipe, 1979). Os níveis endógenos de giberelinas e citocininas aumentaram durante os primeiros estádios de germinação de Phaseolus vulgaris (Paulilo, 1980). Promotores de natureza giberelínica e citocinínica foram detectados em arilos de sementes de mamão (Gherardi, 1974). Nos extratos e bioensaios foi determinada a presença também de inibidores de crescimento em arilos de sementes de mamão. Esses inibidores de natureza ácida e neutra parecem ter estrutura fenólica e inibem a germinação de sementes de mamão (Gherardi, 1974).

As frações ácidas dos extratos de sementes de D. stramonium mantidas em luz durante 24 e 48 horas de embebição, apresentam substância com atividade giberelínica com pouca mobilidade e inibidores ácidos que aparecem em maior número nos extratos de sementes embebidas por 48 horas. Pelos biotestes das frações ácidas dos extratos de sementes mantidas em luz e no escuro, um dos maiores picos de inibição está entre os Rfs 0,7 e 0,8, os quais coincidem com os Rfs encontrados no mesmo sistema de solventes para o ácido abscísico (Runick e Antoszewski in Kefeli, 1978). Assim, pode-se sugerir que o ácido abscísico esteja presente em sementes de D. stramonium embebidas.

A presença de inibidores neutros foi mostrado em sementes de D. stramonium em ambas as condições de luz durante a embebição, mas foi mais marcante no escuro após 24 horas, de crescendo após 48 horas de embebição.

O promotor neutro encontrado em sementes embebidas no

escuro por 48 horas, talvez possa ser a mesma substância encontrada nos bioensaios de fração ácida, isto por haver uma coincidência nos Rfs dos promotores encontrados nas frações ácidas e neutras. Esta substância pode não ter sido separada durante o processo de fracionamento empregado.

Uma substância com atividade citocinínica foi encontrada no extrato de sementes de D. stramonium mantidas por 48 horas em luz.

A presença ou ausência de alguns reguladores de crescimento como giberelinas, citocininas e inibidores em concentrações fisiologicamente ativas pode regular a germinação ou dormência da semente (Khan, 1971). Este autor propôs um modelo em que giberelinas tem um papel principal na germinação, enquanto que citocininas e inibidores são permissivos e preventivos. A dormência pode ser ocasionada pela ausência de giberelina estando ou não presentes a citocinina ou o inibidor. A germinação ocorre na presença de giberelina e ausência do inibidor, e no caso da presença do inibidor na semente é preciso que haja citocinina suficiente para sobrepor seus efeitos inibitórios. É muito difícil separar causa e efeito dentre as mudanças metabólicas que ocorrem na semente não sendo sempre possível a aplicação desta teoria tanto na dormência quanto na germinação de sementes (Taylorson e Hendricks, 1977).

No caso de D. stramonium, pode-se sugerir que a germinação esteja relacionada com os níveis endógenos de giberelina, citocinina e inibidores, mostrando a interação citocinina/inibidor, pois quando se detecta grande quantidade de inibidores em luz, se determina também a presença de substância

com atividade citocinínica. Portanto pode-se sugerir que a germinação dessas sementes ocorra em presença de luz como resultado do aumento no nível endógeno de promotores com atividade giberelínica e citocinínica nessa condição.

8. RESUMO

A germinação da semente de uma planta superior pode ser considerada como uma sequência de eventos, que faz com que uma semente quiescente, com baixo conteúdo de água, apresente um aumento na sua atividade geral e inicie a formação de uma plântula.

Pouco é conhecido a respeito dos fatores que afetam a germinação da semente de Datura stramonium L.

O objetivo deste trabalho foi verificar como a germinação desta semente é afetada pelas condições ambientais às quais ela é submetida, tais como luz e temperatura, e ainda como ela é regulada endogenamente pelos tegumentos e reguladores de crescimento.

Os experimentos de germinação foram realizados em placas de Petri mantidas em câmaras de crescimento em condições controladas de luz e temperatura. Para a verificação de níveis endógenos de reguladores as sementes foram submetidas à extração após terem sido embebidas por 24 ou 48 horas em luz e escuro contínuos à temperatura de 25°C. As frações ácidas, básicas e neutras foram cromatografadas em papel e biotestadas.

Sementes de D. stramonium são fotoblásticas positivas a 25°C. Escarificação parcial e remoção total da casca promovem a germinação dessas sementes, entretanto o efeito inibidor da casca não é exercido através da impermeabilidade à água.

Os resultados dos experimentos com luz monocromática mostram que a germinação de D. stramonium está sob controle do

fitocromo.

Dentro da faixa de temperaturas contínuas estudadas, a germinação de sementes intactas foi favorecida por 35°C em luz e no escuro, sendo que nas outras temperaturas a germinação foi quase nula no escuro. A escarificação foi sempre promotora, mas somente nas condições de temperatura nas quais já ocorria alguma germinação. As alternâncias de temperatura e levaram muito a germinação de sementes mantidas no escuro.

A lixiviação das sementes de D. stramonium reduz a germinação quer em luz, quer em escuro contínuos. Sugere-se que haja a remoção de alguma substância promotora que é ativa não só em D. stramonium mas também em maxixe. Entretanto, a redução da germinação pela lixiviação, não ocorre por remoção de uma substância promotora como giberelina (GA₃) ou citocinina (cinetina).

É mostrada a presença de uma substância com atividade giberelínica nos extratos de sementes mantidas em luz após 24 e 48 horas de embebição. Somente nos extratos de sementes mantidas em luz após 48 horas, observa-se uma substância com atividade citocinínica. Detectaram-se também inibidores ácidos que aparecem em maior quantidade nas sementes embebidas por 48 horas e os resultados sugerem que um desses inibidores pode ser o ácido abscísico. Logo, pode-se sugerir que a germinação de D. stramonium ocorra em presença de luz devido a um aumento de substâncias promotoras com atividade giberelínica e citocinínica. Entretanto a aplicação exógena de GA₃ ou cinetina não promove a germinação de D. stramonium intacta em luz ou escuro.

Sementes de D. stramonium apresentam um período de dormência até 60 dias após a coleta, entretanto essa dormência não ocorre para todos os lotes. A variação de germinação encontrada em D. stramonium mesmo nas sementes provenientes do mesmo lote, parece não ser devida unicamente ao tempo de armazenamento.

9. BIBLIOGRAFIA

- BERLYN, G.P. 1972. Seed Germination and Morphogenesis. In: T.T. Kozlowski (ed.) Seed Biology. Vol. 1. Academic Press. New York. pp 223-304.
- BORTHWICK, H., HENDRICKS, S.B., PARKER, M., TOOLE, E.H. e TOOLE, V.K. 1952. A reversible photoreaction controlling seed germination. Proc. Natn. Acad. Sci. USA 38: 662-666.
- BURKART, S. e SANCHEZ, R.A. 1969. Interaction between an inhibitor present in the seeds of Datura ferox L. and light in the control of germination. Bot. Gaz. 130: 42-47.
- CARDOSO, V.J.M. 1982. Luz e substâncias de crescimento na germinação de Cucumis anguria L. Tese de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas.
- CONKLIN, M.E. 1976. Genetic and Biochemical Aspects of the Development of Datura. London. pp. 35-48.
- DELOUCHE, J.C., STILL, T.W., RASPET, M. e LIENHARD, M. 1962. The tetrazolium Test for seed viability. Bull. Agric. Sen; Mississipi, 51: 1.
- EVENARI, M. 1965. Light and dormancy. In: Encyclopedia of Plant Physiology, vol. 15/2. Ed. W. Ruhland, Springer-Verlag, Berlin e Heidelberg. pp. 804-847.
- FRANKLAND, B. e WAREING, P.F., 1960. Effect of Gibberellic acid on hypocotyl growth of lettuce seedlings. Nature (London) 185: 255-256.
- FELIPPE, G.M. 1978. Effects of temperature on germination of Rumex obtusifolius. Rev. do Museu Paulista, 25: 173-181.
- FELIPPE, G.M. 1980. Germination of light-sensitive seeds of Cucumis anguria and Rumex obtusifolius: effects of temperature. New Phytol. 84: 439-448.
- FELIPPE, G.M., GHERARDI, E., PENTEADO, L.B.K., ANNES, V.C.S. e SENE, C.M. 1970. Detecção de giberelinas durante a germinação de Rumex obtusifolius L. Arq. Inst. Biol. S. Paulo, 37: 177-187.

- FELIPPE, G.M. e LITJENS, M.H.M. 1979. Effect of growth regulators on overcoming the light inhibition on germination of Cucumis anguria L., Biol. Plant., 21: 407-411.
- FELIPPE, G.M. e LITJENS, M.H.M. 1980. Effect of growth regulators on germination of Cucumis anguria L., Ciênc. e Cult. (São Paulo) 32: 875-877.
- FERREIRA, A.G. e HANDRO, W., 1979. Aspects of seed germination in Araucaria angustifolia. Rev. Bras. Bot. 2: 7-13.
- GHERARDI, E. 1974. Promotores e inibidores de crescimento em sementes de Carica papaya L. Dissertação de Mestrado, Escola Paulista de Medicina.
- HSIAO, A.I., 1979. The effect of sodium hypochlorite and gibberellic acid on seed dormancy and germination of wild oats (Avena fatua). Can. J. Bot. 57: 1729-1734.
- IKUMA, H. e THIMANN, K.V., 1960. Action of gibberellic acid on lettuce seed germination. Plant Physiol. 35: 557-566.
- ISIKAWA, S. e FUJII, T. 1961. Photocontrol and temperature dependence of germination of Rumex seeds. Plant Cell. Physiol. 2: 51-62.
- KAY, B.L., EVANS, R.A. e YOUNG, J.A. 1977. Soaking Procedures and Hydrosseder damage to common Bermerdograss - seeds. Agron. J. 59: 555-557.
- KEFELI, V.I., 1978. Natural Plant Growth Inhibitors and Phytohormones. The Hague-Boston. pp. 9-39.
- KENDRICK, R.E. e FRANKLAND, B., 1981. Fitocromo e Crescimento. Trad. G.M. Felipe, EDU-EDUSP, São Paulo.
- KHAN, A.A., 1971. Cytokinins: permissive role in seed germination. Science. 171. 853-859.
- KHAN, A.A., 1977. The Physiology and Biochemistry of seed dormancy and germination. North-Holland, Publ. Co. Oxford. pp. 29-45.
- KHERADNAM, M. e BASSIRI, A. 1980. Seed germination and seedling growth inhibition caused by safflower seed

- extrats. Agron. J. 72: 31-35.
- KOLLER, D., 1972. Enviromental control of seed germination. In: T.T. Kozlowski (ed.). Seed Biology. vol. 2. Academic Press. New York pp. 2-93.
- KONDRAT, R.W., COOKS, R.G. e MCLAUGHLIN, J.L., 1978. Alkaloids in whole plant material: direct analysis by kinetic energy spectrometry. Science. 199: 978-980.
- KOZLOWSKI, T.T. e GUNN C.R., 1972. Importance and Characteristics of Seeds. In: T.T. Kozlowski (ed.). Seed Biology. vol. 1. Academic Press, New York, pp. 1-18.
- KRISHNAMOORTHY, H.N., 1981. Plant Growth Substances. McGraw-Hill Publis. Company Limit. New Delhi. pp. 49-87.
- LEOPOLD, A.C. e KRIEDEMANN, P.E. 1975. Plant Growth and Development. Mc Graw-Hill Book Company, 2a. ed., pp. 223-247.
- LETHAM, D.S., 1968. A new cytokinin bioassay and the naturally occuring cytokinin complex. In: Biochemistry and Physiology of Plant Growth Substances. F. Wightman e G. Setterfield. The Runge Press. Ltd, Ottawa.
- MAEDA, J.A., 1982. Germinação e dormência de sementes de Vitis vinifera. Tese de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas.
- MAGNANI, M.A., VILLAR, M.L.D. e SHARIF, R., 1981. Germinação de Datura stramonium L.: comparação entre sementes de plantas de flores brancas e roxas. Resumo do 1º Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo (SBSP), Campinas.
- MAGUIRE, J.O., 1977. Seed quality and germination. In: A.A. Khan. The Physiology and Biochemistry of seed dormancy and germination. North-Holland. Publ. Co. Oxford. pp. 219-233.
- MAYER, A.M. e POLJAKOFF-MAYBER, A., 1975. The Germination of Seeds. Pergamon Press. Ltd., Oxford. pp. 46-148.
- MAYER, A.M. e SHAIN, Y., 1974. Control of seed germination. Annu. Rev. Plant Physiol., 25: 167-193.

- METIVIER, J.R., 1979. Dormência e Germinação. In: Fisiologia Vegetal 2, Coord. M.G. Ferri, EPU-EDUSP, São Paulo. pp. 343-372.
- MIGUEL, L.C., 1980. Changes in levels of endogenous inhibitors during dormancy breakage in Datura ferox L. seeds. Z. Pflanzenphysiol. 96: 415-421.
- MILBORROW, B.V., 1974. The chemistry and physiology of abscisic acid. Annu. Rev. Plant. Physiol. 25: 259-307.
- MILLER, C.O., 1958. The relationship of the kinetin and red light promotions of lettuce seed germination. Plant Physiol. 33: 115-117.
- MOHR, H., 1972. Lectures on Photomorphogenesis. Springer-Verlag, Berlin. pp. 235.
- NOEL, A.R. e VAN STADEN, J., 1975. Seed coat structure and germination in Podocarpus henkellii. Z. Pflanzenphysiol. 77: 174-186.
- NORONHA, A., VICENTE, M. e SILBERSCHMIDT, K., 1971. Observações sobre a germinação de sementes de Cucumis anguria L. Ciênc. e Cul. 23: 321-322.
- NORONHA, A., VICENTE, M. e FELIPPE, G.M., 1976. Effect of storage and growth conditions on photoblasticity of seeds of Cucumis anguria L. Hoehnea, 6: 7-10.
- NORONHA, A., VICENTE, M. e FELIPPE, G.M., 1978. Photocontrol of germination of Cucumis anguria L. Biol. Plant. 20: 281-286.
- ORPHANOS, P.I. e HEYDECKER, W., 1968. On the nature of the soaking injury of Phaseolus vulgaris seeds. J. Exp. Bot. 61: 770-784.
- PAULILO, M.T.S., 1980. Efeito do ácido giberélico e 6-benziladenina na utilização das reservas da semente de Phaseolus vulgaris L. cv. Carioca. Tese de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas.
- POLO, M., 1982. Ervas invasoras de uma cultura de milho, no município de Campinas, Estado de São Paulo. Tese de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas.

- POLO, M. e FELIPPE, G.M. (no prelo), 1983. Germinação de ervas invasoras: efeito de luz e escarificação. Rev. Bras. Bot. 6.
- RANDI, A.M. e FELIPPE, G.M., 1980. Detecção de esteviosídeo e substâncias giberelínicas nos aquênios de Stevia rebaudiana; efeito de esteviosídeo em germinação. Rev. Bras. Bot. 3: 55-58.
- RANDI, A.M. e FELIPPE, G.M., 1981. Efeito de temperaturas, luz e reguladores de crescimento na germinação de Stevia rebaudiana. Bert., Ciênc. e Cult. 33: 404-411.
- ROSTON, M.F., 1978. Water impermeable seed dormancy. Bot. Rev. 44: 365-396.
- SAHA, P.K. e TAKAHASHI, N., 1981. Seed dormancy and water uptake in Crotolaria sericea. Retz. Ann. Bot. (London) 47: 423-425.
- SMITH, H., 1975. Phytochrome and Photomorfogenesis. McGraw-Hill, London, pp. 233.
- SNEDECOR, G.W. e COCHRAN, W.G., 1967. Statistical Methods. The Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- SONDHEIMER, E. IZOU, D.S. e GASTON, E.C., 1968. Abscissic acid levels and seed dormancy. Plant. Physiol. 43: 1443-1447.
- SORIANO, A., SANCHEZ, R.A. e EILBERG, B.A., 1964. Factors and processes in the germination of Datura ferox L. Can. J. Bot. 42: 1189-1203.
- TAKAKI, M., KENDRICK, R.E. e DIETRICH, S.M.C., 1981. Interaction of light and temperature on the germination of Rumex obtusifolius L., Planta (Berl.), 152: 209-214.
- TAYLORSON, R.B., 1976. Uptake of gibberellic acid in intact and scarified seeds of Barbarea vulgaris. Physiol. Plant. 38: 201-207.
- TAYLORSON, R.B. e HENDRICKS, S.B., 1977. Dormancy in seeds. Annu. Rev. Plant Physiol. 28: 331-354.
- TOOLE, E.H. e BROWN, E., 1946. Final results of the Duvel buried seed experiment. J. Agr. Rev. 72: 201-210.

- TORREY, J.G., 1967. Development in Flowering Plants. The Macmillan Company, New York, pp. 68-77.
- USBERTI, R., 1979. Estudo da germinação de sementes de limão cravo (Citrus reticulata var. austera Hib-Sevingle): condições de umidade e armazenamento e relações hormonais. Tese de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas.
- USBERTI, R. e FELIPPE, G.M., 1979. Storage conditions and endogenous levels of gibberellins, cytokinins and inhibitors in seeds of Citrus limonia Osb. Revta. bras. Bot. 2: 107-111.
- VÁLIO, I.F.M., 1976. Germination of coffee seeds (Coffea arabica L. cv. Mundo Novo). J. Exp. Bot. 27: 983-991.
- VÁLIO, I.F.M., KIRSZENZAF, S.L. e ROCHA, R.F. 1972. Germination of achenes of Bidens pilosa L. New Phytol. 71: 677-682.
- VAN STADEN, J. e WAREING, P.F., 1972. The effect of light on endogenous cytokinins levels in seeds of Rumex obtusifolius. Planta (Berl.) 104: 126-133.
- WAREING, P.F. e PHILLIPS, I.D.J., 1973. Dormancy. In: The Control of Growth and Differentiation in Plants. Pergamon Press, Oxford. p. 223-254.
- WAREING, P.F., SAUNDERS, P.F., 1971. Hormones and dormancy. Annu. Rev. Plant Physiol. 22: 261-285.
- WAREING, P.F., STADEN, J. VAN e WEBB, D.P., 1972. Endogenous hormones in the control of seed dormancy. In: W. Heydecker (ed.) Seed Ecology. London. Butterworths, pp. 145-156.