E D N A  S C O L A  K L E I N

# C O N T R O L E  D A  G E R M I N A Ç Ã O
# E M
# *Beta vulgaris* L. cv. Britta

CAMPINAS
1987

EDNA SCOLA KLEIN

Este exemplar corresponde à redação final da Tese defendida pela candidata Edna Scola Klein e aprovada pela Comissão Julgadora.
14/12/87
M. Fátima D. Pereira

# CONTROLE DA GERMINAÇÃO EM *Beta vulgaris* L. cv. Britta

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

Orientador: Dra. MARIA DE FÁTIMA D. ALEIXO PEREIRA

CAMPINAS
1987

# - A G R A D E C I M E N T O S -

À Dra. MARIA DE FÁTIMA D. A. PEREIRA pela orientação dada a este trabalho.

Ao Prof. Dr. IVANY F. M. VÁLIO pelo incentivo, revisão e idéias propostas.

Aos Profs. Dr. GIL M. FELIPPE e Dra. ROSELY R. SHARIF pela revisão cuidadosa e sugestões dadas.

Ao Prof. Dr. L. SODEK pelo auxílio na análise estatística.

Ao CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO (CNPq) e à COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DO NÍVEL SUPERIOR (CAPES) pelo auxílio financeiro.

À INDUSEN (Sertaneja-PR) pela concessão do material vegetal.

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

À MARIA CRISTINA S. BARRETO pela paciência e cuidado na datilografia.

E a todos os amigos que encontrei no curso, e que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho.

# - ÍNDICE -

Páginas


I - INTRODUÇÃO . . . . . 1

II - MATERIAL E MÉTODOS . . . . . 10

1. Material Vegetal. . . . . 10

2. Método Geral de Germinação. . . . . 10

3. Posição da Semente no Substrato . . . . . 12

4. Lavagem . . . . . 13

5. Embebição . . . . . 13

6. Alternância de Volume de Água na Germinação . 14

7. Atmosfera Enriquecida com Oxigênio. . . . . 15

8. Extração de Substâncias Inibidoras. . . . . 15

9. Extração de Substâncias Fenólicas . . . . . 16

10. Germinação de Sementes de *Beta vulgaris* em Presença de Extratos Obtidos das Próprias Sementes . . . . . 19

11. Determinação Quantitativa dos Fenóis. . . . . 20

12. Efeito de Ácido Salicílico e Cumarina na Germinação de Sementes de *Beta vulgaris*. . . . . 21

13. Determinação da Pressão Osmótica. . . . . 21

14. Análise Estatística . . . . . 22

III - RESULTADOS . . . . . 23

1. Efeito do Volume de Água e Luz na Germinação 23

Páginas

2. Efeito da Posição da Semente Sobre o Substrato . . . . . 26
3. Efeito do Volume de Água no Início do Processo de Germinação . . . . . 26
4. Embebição. . . . . 29
5. Efeito do Aumento do Teor de Oxigênio na Germinação de Sementes de *Beta vulgaris* . . . . 34
5.1 - Volume de Água no Substrato. . . . . 34
5.2 - Concentração de Oxigênio no Meio . . . 37
5.3 - Posição da Semente Sobre o Papel de Filtro. . . . . 37
6. Efeito da Lavagem. . . . . 40
7. Análise de Substâncias Fenólicas . . . . . 40
7.1 - Determinação Quantitativa de Fenóis. . 40
7.2 - Efeito de Substâncias Fenólicas no Teste de Germinação de Sementes de *Beta vulgaris* cv. Britta. . . . . 45
7.2-a) Fração Ácida e Neutra de Extrato em Metanol 80% . . . . . 45
7.2-b) Extrato Bruto em Etanol 70% . . 46
7.2-c) Extrato Fracionado em Etanol 70%. 49
7.2-d) Fração de Etanol 70%-A e Fração Aquosa-A em Concentrações Distintas . . . . . 49
8. Determinação do Potencial Osmótico do Extrato das Sementes do Cultivar Britta . . . . . 53
9. Efeito de Manitol na Germinação de Sementes de Beterraba Açucareira. . . . . 56

Páginas

10. Efeito de Ácido Salicílico e Cumarina na Germinação de Sementes de *Beta vulgaris* cv.Britta . . . . . 56

10.1 - Ácido Salicílico. . . . . 56

10.2 - Cumarina. . . . . 59

IV - DISCUSSÃO . . . . . 61

V - RESUMO. . . . . 72

VI - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS. . . . . 74

# I - INTRODUÇÃO

A semente é a unidade de dispersão das Angiospermas . É formada basicamente pelo embrião envolto por tegumentos (testa ou casca) e por material de reserva. Os tegumentos originam-se da planta-mãe, desenvolvendo-se normalmente dos tegumentos do óvulo. Além dos tegumentos da semente a unidade de dispersão pode incluir o pericarpo, partes florais estéreis e ainda órgãos vegetativos (WERKER, 1980/81), este é o caso de *Beta vulgaris*, onde a unidade de dispersão é um glomérulo. A reserva alimentar, raramente ausente, mantém a planta jovem até ela tornar-se auto-suficiente. As sementes podem ter o seu material de reserva armazenado no endosperma, nos cotilédones ou, em algumas plantas, como *Beta vulgaris*, no perisperma. Este origina-se do nucelo, e não do saco embrionário como o endosperma (BEWLEY & BLACK,1978; MAYER & POLJAKOFF-MAYBER, 1982).

A germinação de uma semente quiescente é resultado de um número consecutivo de etapas que leva a um aumento geral de sua atividade metabólica, resultando na protusão de um órgão (normalmente a radícula), através da casca da semente. A atividade metabólica nas sementes secas é extremamente baixa, como resultado direto do nível baixíssimo de hidratação, que pode ser da ordem de 5-10% do peso da semente (BEWLEY &

BLACK, 1978; MAYER & POLJAKOFF-MAYBER, 1982).O primeiro processo na germinação é a absorção de água, denominada embebição. Esta é controlada pela permeabilidade da casca da semente ou do fruto, pela disponibilidade de água (líquida ou vapor) e pela composição química das reservas da semente . Tanto sementes viáveis como não viáveis embebem normalmente e este processo está relacionado às propriedades dos colóides (MAYER & POLJAKOFF-MAYBER, 1982).

Muitas sementes colocadas sobre papel de filtro, na placa de Petri, com água destilada, mostram um padrão trifásico de absorção de água. Fase I - Absorção inicial de água (embebição), como conseqüência da força matricial da parede celular e conteúdo da semente, independente da viabilidade ou estado de dormência da semente. Fase II - Ocorre um período de latência, com um retardamento da absorção da água, devido ao equilíbrio alcançado entre o potencial matricial e osmótico, que atingem valores altos (menos negativo). Tanto sementes mortas como dormentes atingem esse nível de hidratação típico. Há espécies que não apresentam esta fase de latência. Fase III - Marcada pelo alongamento da radícula, devido à entrada de água nas células e consequentemente aumento de pressão de turgor das paredes celulares resultando na expansão celular (BEWLEY & BLACK, 1978).

A presença de mucilagem na semente, encontrada em algumas espécies, pode ter um papel de retenção de água durante a fase de embebição, devido à formação de um gel (FAHN & WERKER, 1972). Isso foi observado em *Magonia pubescens*, uma planta do cerrado, onde ocorrem grandes períodos de seca(JOLY *et al.*, 1980).

A germinação é um processo relacionado com células vi

vas, e necessita de energia. Normalmente esta energia é obtida por oxidação, que pode ocorrer em presença ou ausência de oxigênio, na respiração ou fermentação, respectivamente. Isso envolve trocas gasosas com produção de gás carbônico, em ambos os casos, e absorção de oxigênio, na respiração. Desse modo a composição da atmosfera afeta a germinação. Normalmente as sementes germinam em atmosfera normal. No entanto muitos autores mostraram que certas sementes embebidas, respondem com um aumento de germinação, quando a tensão de oxigênio é aumentada, como foi visto, por exemplo em *Xanthium spp* (SHULL, 1914; PORTER & WAREING, 1974), *Avena fatua* (BLACK, 1959; BLACK & WAREING, 1959; HAY, 1962), *Triticum vulgare* (DURHAM & WELLINGTON, 1961) e *Beta vulgaris* (CHETRAM & HEYDECKER, 1967; HEYDECKER *et al.*, 1971; PERRY & HARRISON, 1974).

Há, ainda, exemplos de sementes que germinam normalmente com baixo teor de oxigênio no ambiente. Isto ocorre com *Typha latifolia, Cynodon dactylon* (MORINAGA, 1926), *Pyrus malus* (CÔME *et al.*, 1985), alface, tangerina e algumas outras espécies de interesse econômico (SIEGEL & ROSEN, 1962). Há também o caso extremo de um cultivar de *Oryza sativa*, que, em certos períodos após a colheita, tem a sua germinação favorecida em condições anaeróbicas (TAKAHASHI, 1985).

A casca da semente pode exercer um impedimento para a germinação que pode ser eliminado ou diminuído quando esta é removida totalmente ou quando se fazem tratamentos onde a casca sofre escarificações mecânicas ou químicas. Esses tratamentos podem facilitar a absorção de água, permitir a saída de inibidores do embrião ou permitir maior exposição ao oxigênio (VILLIERS, 1972; BEWLEY & BLACK, 1982; MAYER & POLJAKOFF-MAYBER, 1982). Em sementes de *Beta vulgaris* a ger

minação ocorre prontamente quando o pericarpo é retirado (TOLMAN & STOUT, 1940; COUMANS *et al.*, 1976, 1979; AKESON *et al.*, 1980; MORRIS *et al.*, 1985). Em sementes de *Leucospermum cordifolium* (VAN STADEN & BROWN, 1973), *Aristida contorta* (MOTT, 1974) e pêssego (MEHANNA & MARTIN, 1985) a germinação é promovida tanto pela remoção total dos envoltórios, como pela retirada de alguma região específica do pericarpo ou do tegumento que recobre o embrião. Em *Beta vulgaris* esse efeito foi observado quando o opérculo (parte do pericarpo que recobre o lóculo onde se situa a semente) foi retirado (HEYDECKER *et al.*, 1971; PERRY & HARRISON, 1974 ; COUMANS *et al.*, 1976, 1979; MORRIS *et al.*, 1985). Escarificação química com ácido sulfúrico (GARNER & SANDERS, 1932 ; HEIDE *et al.*, 1976) ou ácido clorídrico (AKESON *et al.*,1980 ) de glomérulos de *Beta vulgaris*, promoveu a germinação das sementes.

Outro fator que pode influenciar a germinação das sementes é o teor de umidade do meio. O excesso de água frequentemente leva à dormência ou à baixa taxa de germinação (MAYER & POLJAKOFF-MAYBER, 1982). Isso pode ser devido à pouca solubilidade do oxigênio no meio líquido em relação ao ar, e em excesso de umidade pode ocorrer a formação de um filme de água ao redor da semente, que deve ser atravessado pelo oxigênio até o embrião (CÔME & TISSAOUI, 1973). Em *Oryzopsis holciformis* foi observado que a taxa de germinação final é baixa quando o solo encontra-se em condições de excesso de umidade (DASBERG & MENDEL, 1971). Em *Beta vulgaris* esse efeito de excesso de umidade já é conhecido desde o trabalho de GOFF (1897) e confirmado por CHETRAM & HEYDECKER (1967); HEYDECKER & CHETRAM (1971); HEYDECKER *et al.*(1971);

PERRY & HARRISON (1974); COUMANS *et al.*(1976, 1979, 1980) , não sendo esta condição letal para a semente. SANTOS (1985), porém, verificou que houve uma redução significativa no número de sementes que permaneceram viáveis, em níveis altos de água, quando a temperatura foi elevada de 25°C para 35°C .

O excesso de água pode também estimular o desenvolvimento de populações mistas de microorganismos em volta do tegumento da semente, que competiriam pelo oxigênio disponível (MAYER & POLJAKOFF-MAYBER, 1982). Em *Beta vulgaris*, HEYDECKER & CHETRAM (1971) observaram a presença de colônias de bactérias em sementes mantidas em excesso de água e sugeriram a existência de competição pelo oxigênio, pois neste caso a taxa de germinação foi baixa. No entanto, PERRY & HARRISON (1974) mostraram a presença de bactérias em sementes de beterraba mantidas tanto em excesso como em pouca umidade e a germinação só foi inibida em condição de muita água.

Sementes de numerosas espécies, quando embebidas, possuem mucilagem no seu envoltório, o que pode provocar uma redução na germinação, devido à menor difusão do oxigênio através dessa mucilagem (FAHN & WERKER, 1972). Isso foi observado em sementes de *Spinacea oleracea* (HEYDECKER & ORPHANOS, 1968) e *Blepharis persica* (GUTTERMAN *et al.*, 1967).

Outro mecanismo que pode estar envolvido na germinação é a presença de substâncias inibidoras em sementes e frutos. Estes compostos podem ser detectados nos embriões e nos tecidos que os recobrem. Foram encontradas substâncias inibidoras, por exemplo, nos tegumentos de *Avena fatua* (BLACK, 1959), *Betula spp* (BLACK & WAREING, 1959), *Corylus avellana* (BRADBEER, 1968) e em arilo de sementes de *Carica papaya* (GHERARDI & VALIO, 1976), que seriam responsáveis pela dormên-

cia das sementes.

Entre os compostos encontrados como inibidores de germinação o ácido abscísico é um dos mais importantes por sua ampla ocorrência entre os vegetais superiores (ADDICOTT & LYON, 1969). A presença desta substância foi detectada nas sementes de beterraba açucareira (BATTLE & WHITTINGTON, 1969). COUMANS *et al.* (1977) ao quantificarem o ácido abscísico, sugeriram que a quantidade deste inibidor no pericarpo das sementes de beterraba seria muito pequena para agir como inibidor da germinação da própria semente, atribuindo este efeito a outros possíveis compostos.

Substâncias inibidoras de natureza fenólica também são muito difundidas em plantas, sendo encontradas em frutos e sementes, e em algumas espécies agem como inibidoras da germinação. Cumarina é uma substância de origem fenólica, que tem sido amplamente usado como inibidor de germinação em testes de laboratório, pois é encontrado normalmente na natureza, assim como seus derivados. A ocorrência de cumarina foi vista em unidades de dispersão de *Trigonella arabica* (LERNER *et al.*, 1959) e tem ação inibidora da germinação da própria semente. Em *Coumarouna odorata*, VALIO (1973), observou a presença de cumarina nas sementes, porém esta substância não inibiu a germinação da própria espécie, impedindo, no entanto, a germinação de outras sementes.

Há vários exemplos na literatura que mostram que a lavagem de sementes ou embriões com água corrente pode retirar os inibidores, e a germinação ocorre prontamente após o tratamento. Em *Beta vulgaris* vários autores observaram o efeito promotor da lavagem dos glomérulos na germinação (TOLMAN & STOUT, 1940; BARTHODEISZKY *et al.*, 1965; CHETRAM

& HEYDECKER, 1967; BATTLE & WHITTINGTON, 1969; HEYDECKER *et al.*, 1971; LONGDEN, 1976; JUNTTILA, 1976; KHAN *et al.*,1983; NELSON *et al.*, 1984; SANTOS, 1985). Outros autores, no entanto, obtiveram resultados diferentes,onde a lavagem não teve efeito na germinação (HIBBERT & WOODWARK, 1965; MORRIS *et al.*, 1984) ou ainda, onde esse tratamento inibe a germinação das sementes (RHEM, 1953; HEYDECKER & CHETRAM, 1971).

A baixa porcentagem de germinação de beterraba tem sido atribuída à presença de inibidores em seu tegumento ou pericarpo. FROESCHEL (1939, *apud* EVENARI, 1949) cita a ação inibidora de substâncias presentes na casca de *Beta vulgaris* na germinação de sementes de 28 espécies distintas, não citando, no entanto, o efeito na própria beterraba. KOCK *et al.* (1953) mostraram que a água de lavagem dos glomérulos de beterraba inibiu a germinação de várias espécies e também da própria semente.

CÔME (1967 *apud* CÔME & TISSAOUI, 1973) identificou vários fenóis na testa de sementes de *Pyrus malus*, e sugeriu que a oxidação desses fenóis diminuiria a concentração de oxigênio disponível para o embrião.Ocorreria, neste caso um mecanismo competitivo. Vários compostos fenólicos foram identificados em glomérulus de *Beta vulgaris* (MITCHELL & TOLBERT, 1968; BATTLE & WHITTINGTON, 1969; CHIJI *et al.*, 1980, 1984), porém os testes de germinação com estes extratos foram feitos com sementes de outras espécies (alface, agrião), não sendo utilizadas sementes de beterraba. KHAN *et al.*, (1983) observaram que o composto inibidor, identificado por MITCHELL & TOLBERT (1968) não inibiu a germinação de beterraba vermelha, agindo no entanto na germinação de sementes de alface. SANTOS (1985), porém, encontrou inibidores na fração

neutra dos extratos de sementes do cultivar Kawemegamono, de beterraba açucareira, que inibiu a germinação da própria semente.

Há outras substâncias que podem, em certas concentrações, inibir a germinação das sementes, devido à toxicidade ou à alta pressão osmótica que provocam no meio. Dependendo da concentração dos compostos tóxicos, as sementes podem ser mortas, porém, no caso de soluções de alta pressão osmótica, quando as sementes são retiradas desse ambiente e colocadas em água destilada, elas podem germinar. As substâncias responsáveis pela alta pressão osmótica podem ser açúcares e sais inorgânicos. A sensibilidade à pressão osmótica na qual a germinação é inibida difere entre as diferentes espécies. Há exemplos de sementes de plantas de ambientes salinos que têm a sua germinação inibida devido às concentrações de compostos do solo. Açúcares encontrados em frutos carnosos podem estar relacionados com a inibição da germinação de sementes, devido a alta pressão osmótica exercida por estes (MAYER & POLJAKOFF-MAYBER, 1982).

Em laboratório é usado manitol como um composto para obtenção de inibição osmótica. Esta substância é preferencialmente usada devido à toxicidade de alguns sais como cloreto de sódio que também são utilizados para os testes de inibição osmótica (MAYER & POLJAKOFF-MAYBER, 1982).

STOUT & TOLMAN (1941), trabalhando com beterraba açucareira, atribuíram à amônia, liberada por degradação enzimática de compostos nitrogenados, a inibição da germinação desta espécie. RHEM (1953) atribui, também, à amônia o efeito inibidor da germinação de beterraba, porém mostrou que este composto foi produzido por bactérias presentes nos glo

mérulos. JUNTTILA (1976), observou, no entanto, que a quantidade de amônia no extrato aquoso de beterraba vermelha é pequena, não agindo como substância tóxica. Este autor e MORRIS *et al.* (1984) trabalhando com beterraba açucareira (glomérulos raspados) atribuem a baixa porcentagem de germinação a propriedades osmóticas, devido à presença de sais na casca dos glomérulos, pois, quando estes são lixiviados, há uma alta concentração de íons inorgânicos na água de lixiviação, em relação à baixa concentração de inibidores.

O objetivo deste trabalho foi o de verificar a sensibilidade de sementes de *Beta vulgaris* cv. Britta (beterraba açucareira) ao nível de hidratação do substrato. Através de diferentes enfoques, tentou-se elucidar o mecanismo da inibição de germinação causada por altos níveis de hidratação do substrato.

# II - MATERIAL E MÉTODOS

## 1. MATERIAL VEGETAL

A unidade de dispersão ou glomérulo(que neste trabalho será denominado de semente) de *Beta vulgaris* L.cv.Britta, é do tipo monogérmica, constituindo-se por apenas uma semente. O glomérulo é formado por um tecido morto, restos dos envelopes florais (pericarpo), e apresenta duas regiões distintas e opostas, onde se encontram:

a) poro basal - traço do funículo;

b) opérculo - proveniente do endurecimento da parede do ovário e que recobre o lóculo onde se situa a semente,envolta em seus dois tegumentos (COUMANS, 1978; AMARAL, 1978).

A Figura 1 mostra a morfologia externa do glomérulo do cultivar Kawemegamono, que também é monogérmica, como o cultivar Britta utilizado neste trabalho.

Sementes armazenadas em vidros escuros, hermeticamente fechados, em geladeira a $4^{o}C$, foram utilizadas no decorrer deste trabalho.

## 2. MÉTODO GERAL DE GERMINAÇÃO

As sementes foram colocadas em caixas plásticas "ger box" de 12 X 12cm, com uma folha de papel de filtro marca

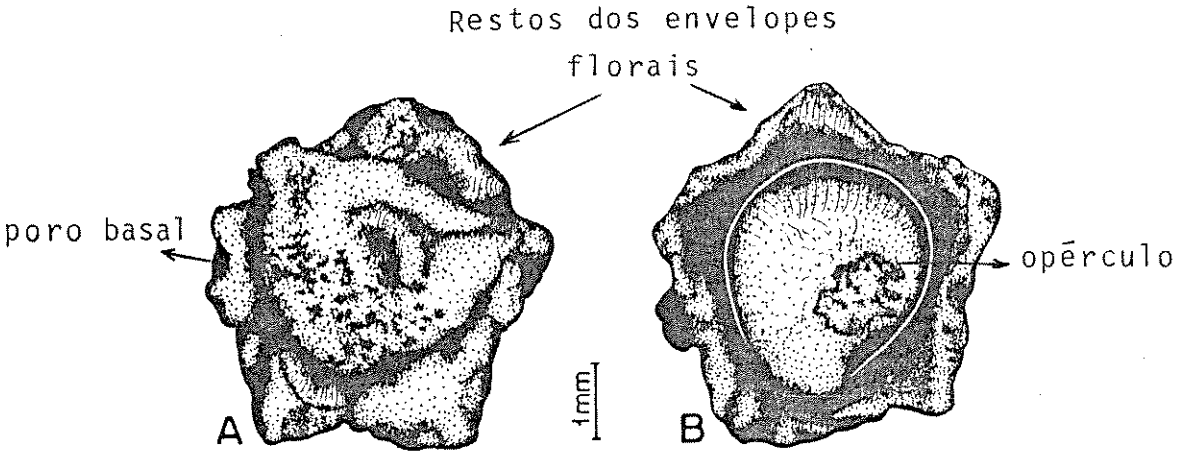



FIGURA 1*- Glomérulo de *Beta vulgaris* L. cv. Kawemegamono.

A - Vista da região do Poro Basal;

B - Vista da região do Opérculo.

*Segundo SANTOS (1985).

Germitest-Tipo CEL 065. Foram utilizadas caixas "gerbox" transparentes para os testes em luz e pintadas externamente com tinta plástica preta para os experimentos no escuro.

Em alguns experimentos iniciais foi utilizada solução de nistatina, 67 U/ml, que tem efeito fungistático, para umedecer o papel de filtro. Posteriormente, verificou-se que a contaminação era muito rara e passou-se a usar apenas água destilada.

Todos os experimentos de germinação foram mantidos em câmaras de crescimento a 25 ± 1°C constante, pois foi verificado que esta é a temperatura ótima para a germinação da espécie (FRANCOIS & GOODIN, 1972; AMARAL, 1978).

Nos experimentos realizados na luz, esta foi obtida de lâmpadas fluorescentes brancas (320 $\mu W.cm^{-2}$).

Todos os tratamentos constaram de cinco repetições de 40 sementes cada uma.

Quanto ao volume de água no substrato, foram utilizados dois padrões:

a) pouca água - 6ml de água destilada;

b) muita água - 10ml de água destilada.

O critério de germinação utilizado foi a protusão da radícula. Nos experimentos realizados no escuro, a contagem de germinação foi feita com lâmpada verde de segurança. As sementes germinadas eram retiradas do "gerbox".

## 3. POSIÇÃO DA SEMENTE NO SUBSTRATO

O fato das sementes de beterraba açucareira possuírem o pericarpo com características morfológicas, onde o po

ro basal é oposto ao opérculo, permite o seu posicionamento no papel de filtro de duas maneiras distintas:

1. posição A - opérculo em contacto com o substrato;
2. posição B - poro basal em contacto com o papel de filtro.

Quando o efeito da posição da semente em relação ao substrato foi estudado, utilizou-se papel de filtro com pequenas concavidades, onde as sementes foram colocadas. Testes onde não há indicação da posição de semente em relação ao substrato, foi utilizada a Posição A.

## 4. LAVAGEM

A lavagem das sementes foi feita intermitentemente com auxílio de um extrator "Soxhlet", por 6 horas, com intervalos de 1 a 2 minutos. As sementes do lote controle, neste caso, foram colocadas para embeber nas caixas "gerbox" no mesmo período do início da lavagem.

## 5. EMBEBIÇÃO

Para se verificar a embebição das sementes, foram utilizadas 4 repetições de 30 sementes cada.

As sementes permaneceram submersas em água destilada por 24 horas. A embebição foi analisada após 15, 30 e 60 minutos. As verificações seguintes foram feitas após 2, 3, 4, 6, 23 e 24 horas.

O cálculo para obtenção da porcentagem de embebição

foi feito de acordo com a fórmula:

$$\% \text{ de Embebição} = \frac{PF - PI}{PI} \times 100,$$

onde PF = peso final;

PI = peso inicial.

As pesagens foram feitas em balança analítica com precisão de décimos de mg.

Para se construir a curva de embebição do pericarpo, utilizou-se a diferença entre o valor do peso das sementes intactas e o valor do peso das sementes nuas.

As sementes nuas foram obtidas através da retirada do pericarpo com auxílio de bisturi e agulha, com o cuidado de não se danificar a semente propriamente dita.

## 6. ALTERNÂNCIA DE VOLUME DE ÁGUA NA GERMINAÇÃO

Em um caso as sementes foram mantidas por períodos de 1, 5, 24, 48, 54 e 72 horas em caixas "gerbox" com o papel de filtro pouco umedecido (6ml de água destilada). Depois acrescentava-se mais água ao substrato, até se atingir o padrão de volume de muita água, onde as sementes permaneciam até o final do experimento.

No outro teste, as sementes foram mantidas nos mesmos períodos de tempo descritos acima, em excesso de água (10 ml de água destilada por "gerbox") e depois a água era retirada até se obter a condição de pouca água. Os dois tratamentos tiveram controles com muita e pouca água por todo

o período de duração do experimento. Nestes testes as sementes foram mantidas no escuro.

## 7. ATMOSFERA ENRIQUECIDA COM OXIGÊNIO

Para se obter um meio enriquecido com oxigênio, foi utilizada água oxigenada 100 volumes e diluições desta, nas concentrações de 10%, 30% 50% e 70%. 5ml de água oxigenada foram colocados em uma placa de Petri de 5cm de diâmetro, que foi mantida na parte central de cada caixa "gerbox". Ao redor da placa de Petri foram dispostas as sementes. As caixas foram vedadas com fita adesiva.

No primeiro e segundo dias após o início do experimento, foram acrescentados 2 e 1ml de água oxigenada, respectivamente, nas placas de Petri, para que o volume fosse mantido. No controle foi utilizada água destilada nas placas de Petri.

## 8. EXTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS INIBIDORAS

O método de extração utilizado foi descrito por GHERARDI (1974). As sementes foram maceradas em graal. Ao material assim obtido foi adicionado metanol 80% (10ml de metanol 80% para cada 1g de semente) e mantido por 24 horas a 5°C. Após esse período, o extrato foi filtrado sob pressão reduzida e o resíduo novamente extraído com metanol 80% por mais 24 horas a 5°C. Foi feita nova filtragem e o filtrado foi juntado ao obtido anteriormente. Obteve-se assim o ex-

trato bruto metanólico. O metanol foi evaporado em evaporador rotatório, sob baixa pressão, a 40 ± 2°C. O extrato aquoso obtido foi fracionado segundo o esquema I.

As frações neutra e ácida foram evaporadas até secar em evaporador rotatório a baixa pressão, 45°C e ressuspensos em etanol 70%.

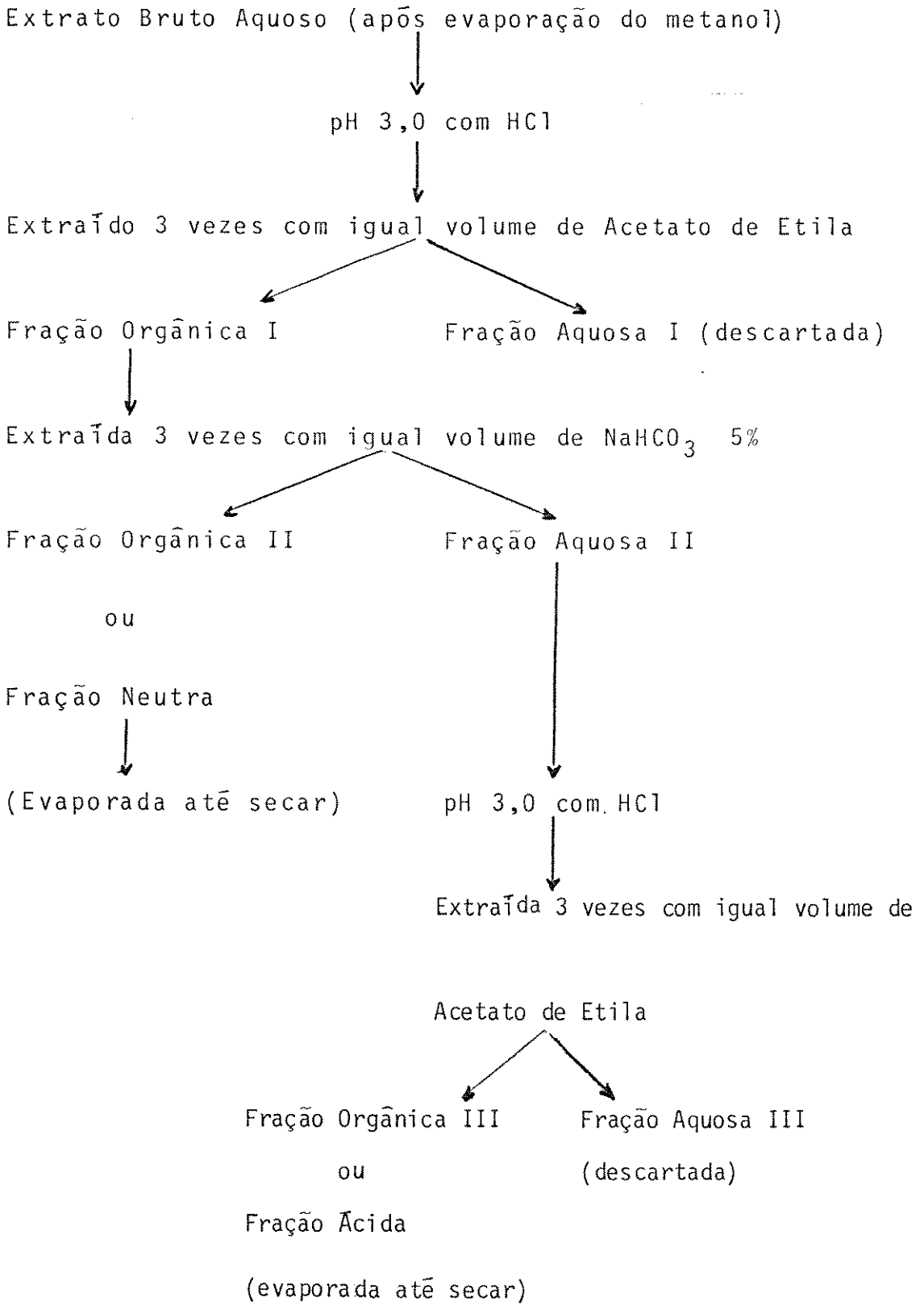
## 9. EXTRAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS FENÓLICAS

O método utilizado para extração de fenóis foi o descrito por HARBORNE (1973). As sementes foram maceradas em graal e foi adicionado etanol 70% (20ml de etanol 70% para cada 1g de semente). O extrato obtido foi aquecido até a fervura em balão de vidro, com refluxo, durante 2 horas. Após essa etapa, o extrato foi filtrado sob pressão reduzida. O filtrado obtido foi evaporado em evaporador rotatório, sob baixa pressão, a 40 ± 5°C, obtendo-se o extrato aquoso.

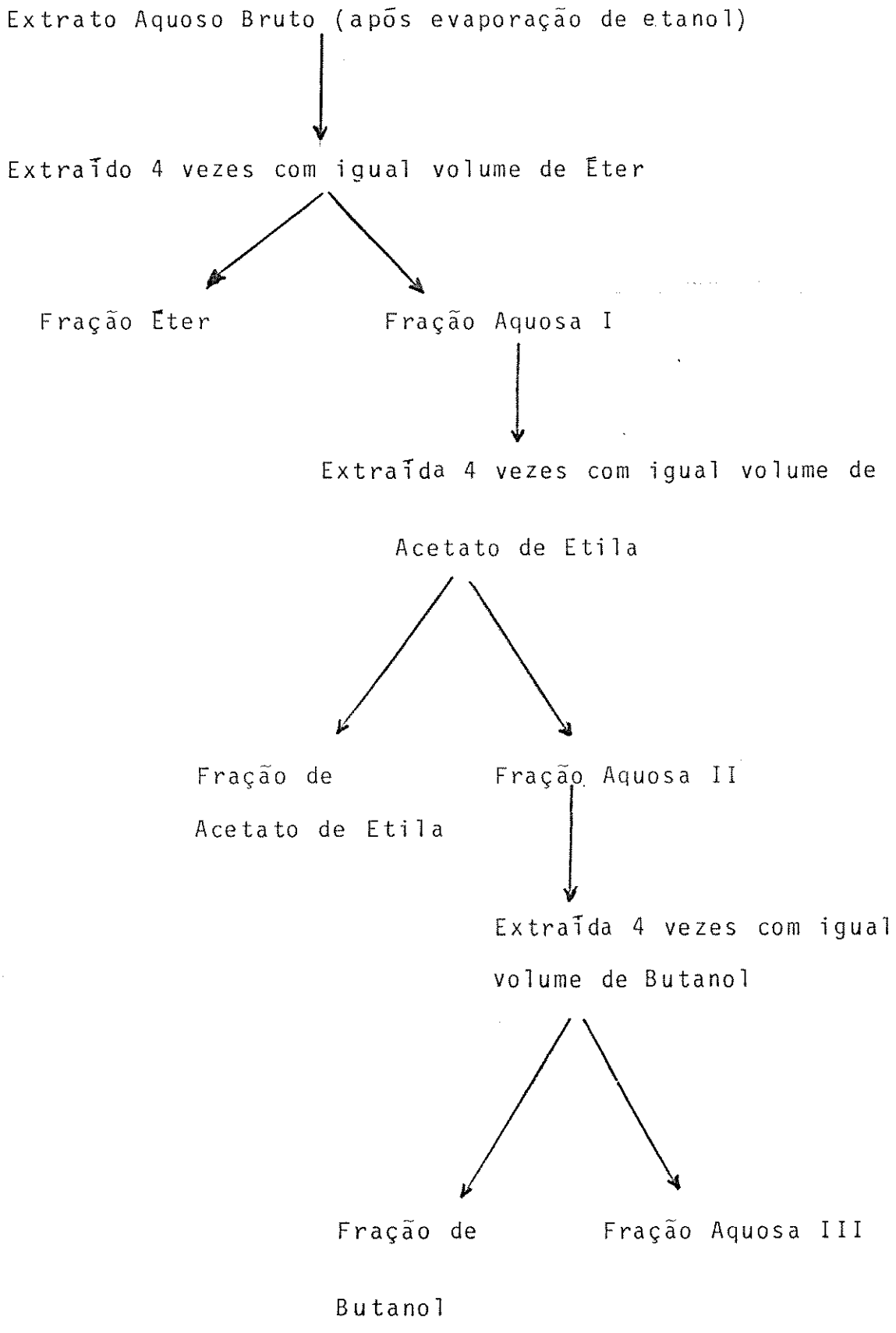
O fracionamento do extrato aquoso seguiu o método de KEFELI (1978) descrito no esquema II.

As frações de Éter, Acetato de Etila, Butanol e Aquosa III foram evaporadas até secar em evaporador rotatório, sob baixa pressão, a 45 ± 2°C e ressuspendidas com Etanol 70%.

Em alguns casos o extrato bruto fenólico obtido com Etanol 70% fervente foi separado em duas frações. Para tanto o extrato bruto foi evaporado até secar, em evaporador rotatório, sob baixa pressão, e após ressuspenso em água destilada, obtendo-se a fração Aquosa-A. Os resíduos que permaneceram no frasco foram ressuspensos com Etanol 70% (sendo chamado de Fração de Etanol 70%-A).




ESQUEMA I - Método de Fracionamento do Extrato




ESQUEMA II - Fracionamento de Fenóis

Em alguns casos, que serão mencionados no texto, foi utilizado como antioxidante o sal sódico do ácido dietilditiocarbâmico (0,02M). Este foi adicionado no início da extração de substâncias fenólicas, obtidas com Etanol 70% fervente, para se tentar evitar a oxidação dos possíveis fenóis dos extratos. Este antioxidante foi utilizado por ERNSTSEN *et al.* (1986) na extração de auxina de *Pinus sylvestris*.

## 10. GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Beta vulgaris* EM PRESENÇA DE EXTRATOS OBTIDOS DAS PRÓPRIAS SEMENTES

A germinação de sementes de beterraba açucareira cv. Britta foi testada em presença das frações neutra e ácida do extrato de sementes obtidas como descrito no item 8. O papel de filtro dos "gerbox" foi umedecido com os extratos, num volume correspondente a 1,25g de sementes por "gerbox" (correspondente a 100 sementes por "gerbox"). Após total evaporação do etanol em câmara com ventilação, à temperatura ambiente, por 24 horas, o papel de filtro foi umedecido com 6ml de água destilada e as sementes foram colocadas para germinar na posição A.

A germinação foi testada também em presença do extrato fenólico bruto, obtido segundo o item 9. A metodologia para o teste de germinação na presença do extrato foi a mesma descrita acima. O volume do extrato por "gerbox" variou em cada experimento, sendo citado quando da descrição dos resultados.

As frações de Éter, Acetato de Etila, Butanol e Aquosa III do extrato fenólico, também foram utilizadas para o teste de germinação, num volume correspondente a 1,36g por cada "gerbox", sem antioxidante e 1,23g por cada "gerbox" das frações com antioxidante, correspondendo a 100 sementes por "gerbox".

Os extratos fenólicos que foram fracionados em fração Aquosa-A e fração de Etanol 70%-A também foram utilizadas no teste de germinação em concentrações referentes a 0,14g, 0,29g, 0,57g, 1,14g e 1,72g de sementes/"gerbox" correspondentes a 12.5, 25, 50, 100 e 150 sementes por cada "gerbox", respectivamente.

Nos testes de germinação onde os extratos continham antioxidante, foi utilizado um controle com a mesma substância.

## 11. DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DOS FENÓIS

Foi utilizado o método colorimétrico, para determinação dos fenóis dos extratos, descrito por SWAIN & HILLIS (1959).

Foi feita a determinação quantitativa de substâncias inibidoras dos extratos obtidos conforme os itens 8 e 9.

A 0,25ml do extrato foram acrescentados 3,25ml de água destilada, agitando-se. Adicionaram-se 0,25ml de Folin Ciocalteau, agitando-se em seguida. Após três minutos acrescentaram-se 0,5ml de solução saturada de $Na_2CO_3$, agitando-se. Em seguida adicionaram-se 0,75ml de água destilada, agitando-se. Após 1 hora, foi feita a leitura em espectrofotômetro a 725nm.

A curva padrão foi feita com Ácido Salicílico nas concentrações de $10^{-3}$M, $5X10^{-3}$M e $10^{-2}$M, que foi dissolvido em Etanol 70%.

## 12. EFEITO DE ÁCIDO SALICÍLICO E CUMARINA NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Beta vulgaris*

Soluções de $10^{-4}$M, $10^{-3}$M e $10^{-2}$M de Ácido Salicílico e $10^{-3}$M, $5X10^{-3}$M e $10^{-2}$M de Cumarina foram utilizadas para o teste de germinação de beterraba açucareira. As diferentes soluções foram utilizadas para umedecer o papel de filtro dos "gerbox", em volume de 6ml. Foram colocadas 40 sementes por "gerbox", para o teste.

## 13. DETERMINAÇÃO DA PRESSÃO OSMÓTICA

Foi estimado o valor da pressão osmótica da Fração Aquosa-A, obtida segundo o item 9, com Osmômetro (Osmometer O.M. 801-Vogel). As concentrações da fração Aquosa-A utilizadas foram: 0,14g, 0,29g, 0,57g, 1,14g e 1,72g de sementes por amostra, correspondentes a 12.5, 25, 50, 100 e 150 sementes, respectivamente.

Os valores encontrados em osmol/Kg foram recalculados para bars, de acordo com SALISBURY & ROSS (1969), pela fórmula

$$\Pi = - i.m.R.T.\emptyset$$

onde:

$\tilde{\Pi}$ = Potencial Osmótico (bars);
i = Número de íons dissociados da molécula;
m = Molalidade;
R = Constante dos Gases (0,083 $bar.mol^{-1}.K^{-1}$);
T = Temperatura Absoluta (273K);
O = Coeficiente Osmótico.

$\varnothing$ e i $\cong$ 1, por serem consideradas moléculas dissolvidas.

Os mesmos valores de concentrações da Fração Aquosa-A, acima citados foram utilizados para a obtenção de concentrações similares de manitol, com as quais foram feitos testes de germinação de beterraba açucareira.

## 14. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores de porcentagem de germinação foram transformados em valores angulares, onde o ângulo = arco-seno. $\sqrt{P}$, sendo P a proporção de sementes germinadas, para se normalizarem os dados (SNEDECOR & COCHRAN, 1967).

Foi feita análise de variância fatorial nos experimentos com duas variáveis e análise de variância simples, naqueles com uma só variável. Foi usado o teste F e calculou-se a Diferença Mínima Significativa (DMS), pelo teste Tukey 5%, sendo esta representada graficamente por barras verticais nas figuras.

Quando foi determinada a regressão linear este cálculo foi feito segundo SNEDECOR & COCHRAN (1967).

# I I I - R E S U L T A D O S

## 1. EFEITO DO VOLUME DE ÃGUA E LUZ NA GERMINAÇÃO

Sementes intactas de *Beta vulgaris* L.cv.Britta apresentaram sensibilidade à quantidade de água no substrato. A porcentagem de germinação das sementes em excesso de água foi significativamente menor do que aquelas mantidas em substrato pouco umedecido (Fig.2). Notou-se também que, em excesso de água, houve um adiantamento da germinação no segundo dia em relação àquelas pouco umedecidas. Nas sementes em substrato muito umedecido, a porcentagem de germinação após o segundo dia manteve-se constante. Nas sementes em papel de filtro pouco umedecido, as taxas de germinação continuaram se elevando até o dia 4 após o início do experimento.

Observou-se também que as sementes mostraram-se indiferentes à presença de luz para o processo de germinação (Fig.2).

Em sementes nuas não foi observado o efeito de quantidade de água que umedece o papel de filtro, mostrando estas porcentagens de germinação altas já no primeiro dia após a embebição, independente do substrato ter sido pouco ou excessivamente umedecido. As sementes intactas confirmaram o padrão obtido anteriormente (Fig.3).

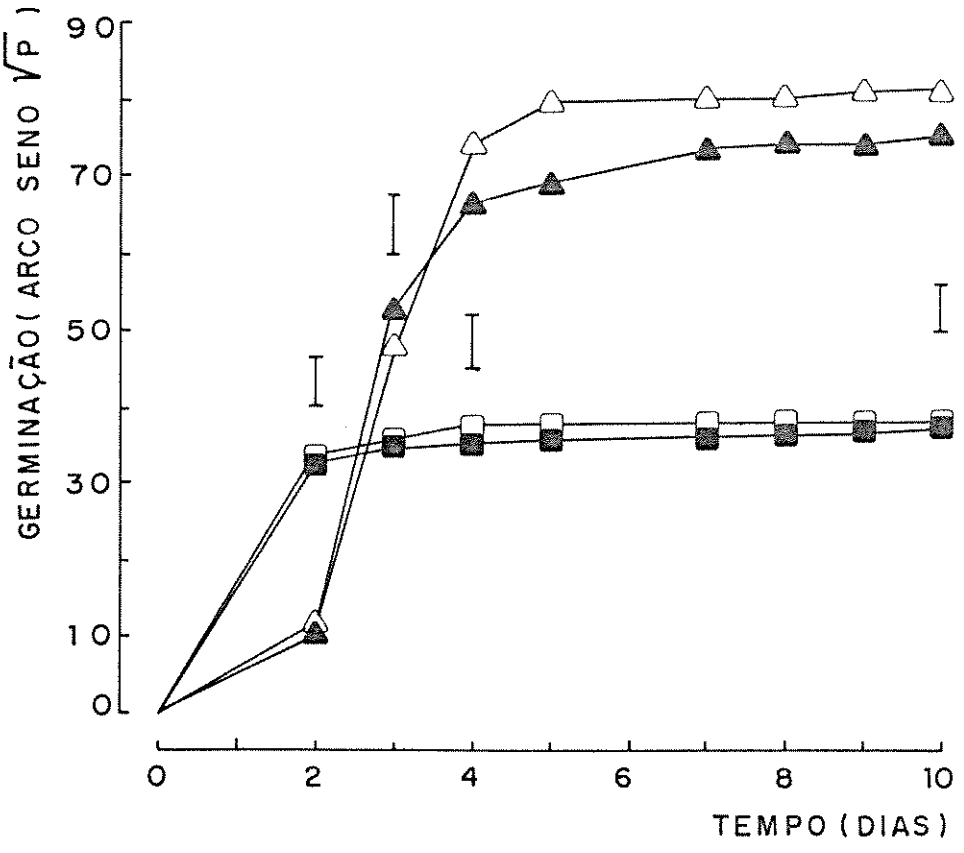



FIGURA 2 - Efeito de luz e volume de água no substrato, na germinação de *Beta vulgaris* cv. Britta. Posição A.

□ Muita água △ Pouca água

Símbolos claros - luz

Símbolos escuros - escuro

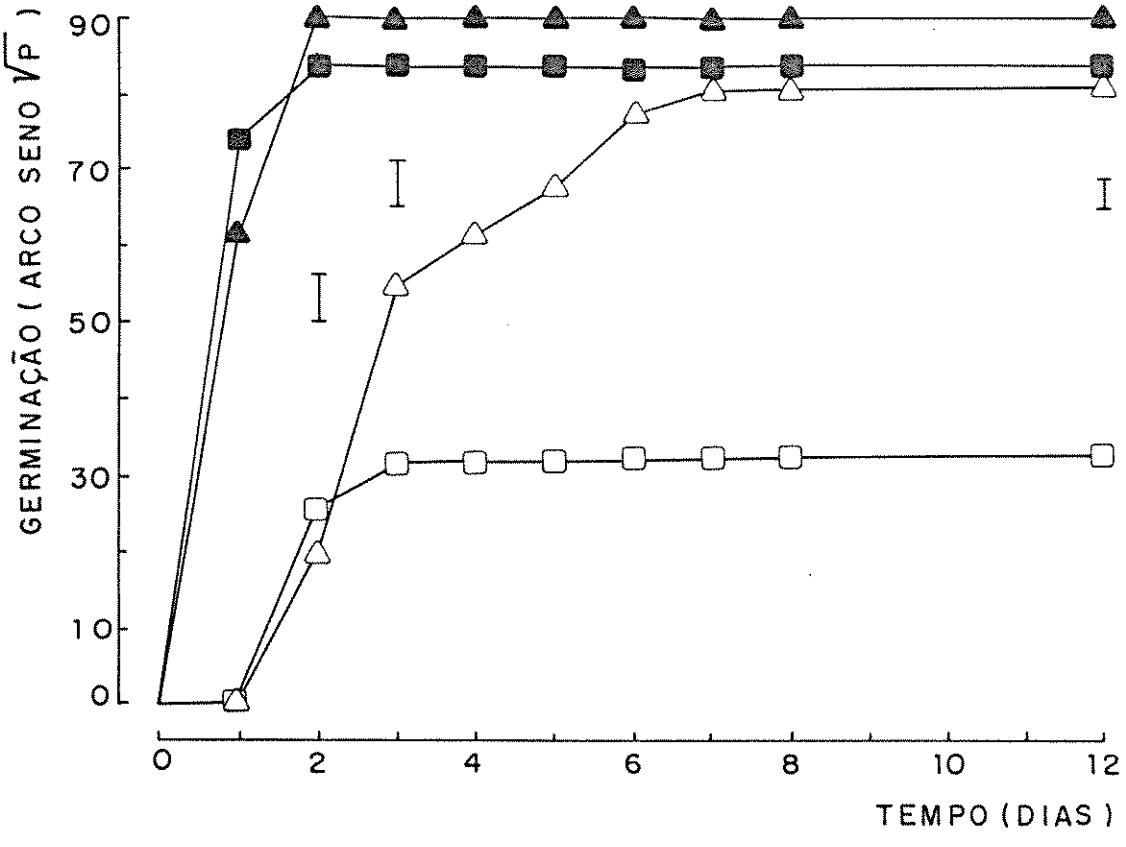



FIGURA 3 - Efeito do pericarpo e volume de água no substrato, na germinação de *Beta vulgaris* cv. Britta . Posição A.

□ Muita água △ Pouca água

Símbolos claros - sementes intactas

Símbolos escuros - sementes nuas

## 2. EFEITO DA POSIÇÃO DA SEMENTE SOBRE O SUBSTRATO

A maneira como as sementes são colocadas no substrato também pode influir na germinação, juntamente com a condição de umedecimento do mesmo. Em substrato com muita água notou-se, na posição A (onde o poro basal está voltado para cima e o opérculo está em contacto com o papel de filtro),a porcentagem de germinação apresentou valores mais altos do que na posição B (onde o poro basal está em contacto com o substrato). Porém estes valores são mais baixos que aqueles encontrados na mesma condição em substrato pouco umedecido (Fig.4). O efeito da posição das sementes em relação ao substrato não foi observado quando o papel de filtro foi pouco umedecido (Fig.4).

## 3. EFEITO DO VOLUME DE ÁGUA NO INÍCIO DO PROCESSO DE GERMINAÇÃO

Para se verificar o efeito do volume de água no início da germinação, as sementes foram mantidas em substrato pouco umedecido por períodos de até 24 horas. Depois foram transferidas para a condição de muita água.Os resultados foram semelhantes aos do controle que permaneceu constantemente em papel de filtro excessivamente umedecido. Para aquelas que permaneceram 48 horas em substrato com pouca água, sendo depois transferidas para substrato com muita água, foram alcançadas porcentagens de germinação intermediárias,em relação aos valores dos controles em muita e pouca água (Fig.5). Quando a duração da permanência em papel de filtro

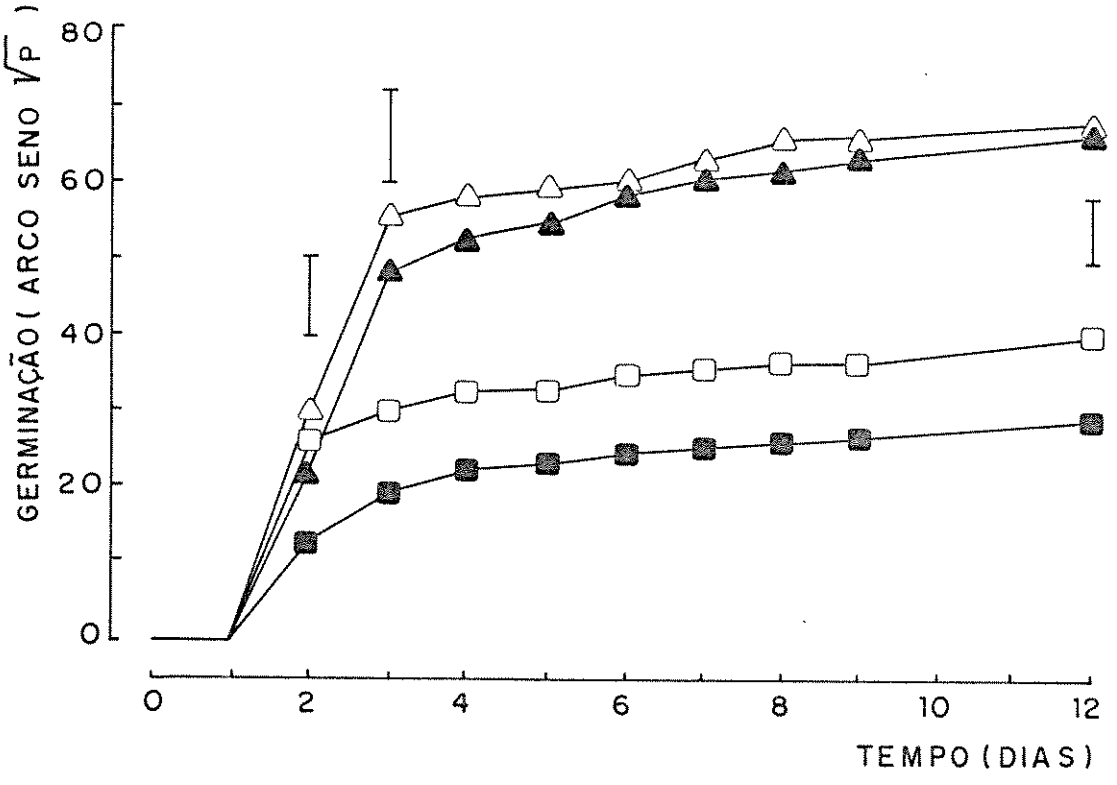



FIGURA 4 - Efeito da posição da semente no substrato e nível de hidratação, na germinação de *Beta vulgaris* cv. Britta.

□ Muita água △ Pouca água

Símbolos claros - Posição A

Símbolos escuros - Posição B

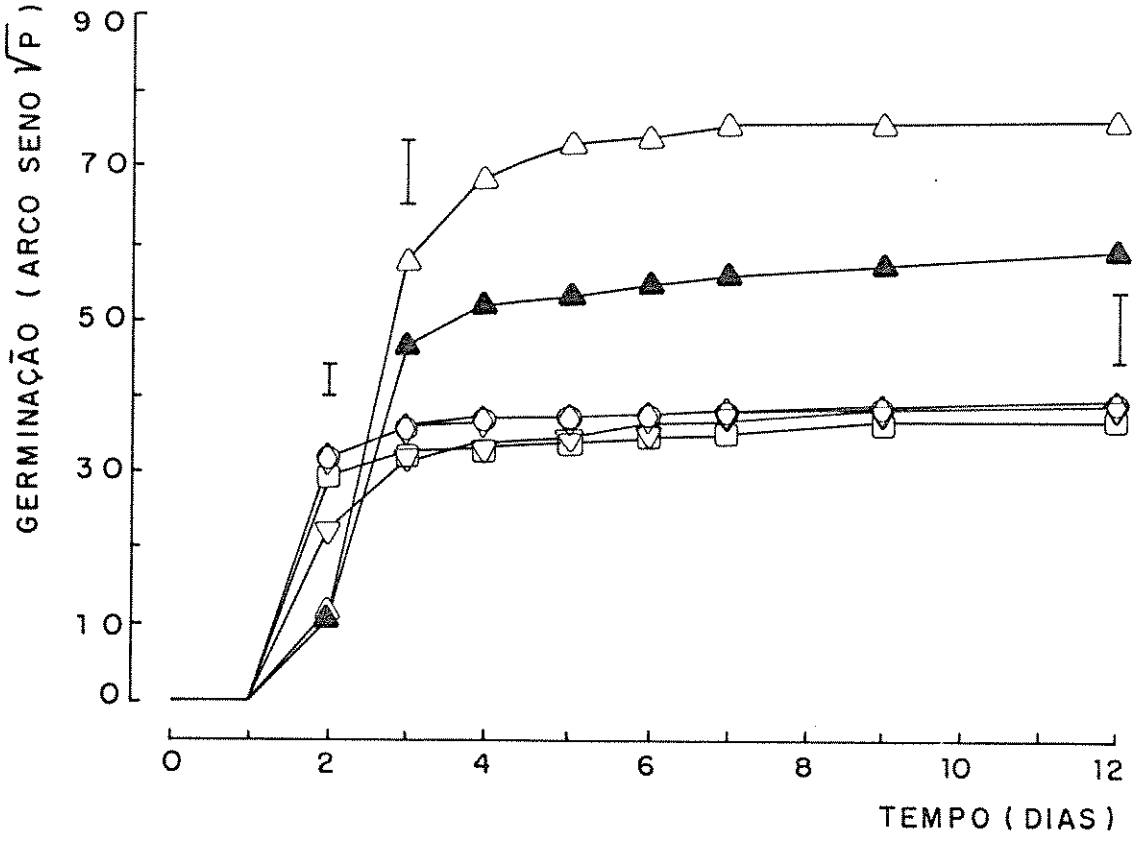



FIGURA 5 - Efeito de alto teor de água por períodos de até 48 horas na germinação de *Beta vulgaris* cv.Britta. Posição A, no escuro.

Períodos de permanência em substrato pouco umedecido e posterior transferência para muita água, até o final do experimento.

□ Muita água constante;

△ Pouca água constante;

○ 1 hora em pouca água,

◇ 5 horas em pouca água;

▽ 24 horas em pouca água;

▲ 48 horas em pouca água.

pouco umedecido foi prolongada para 54 e 72 horas, foram obtidas porcentagens de germinação semelhantes àquelas encontradas para o período de 48 horas. Neste experimento confirmou-se o mesmo padrão de germinação das sementes que permaneceram 24 horas em substrato pouco umedecido (Fig.6).

Sementes mantidas em excesso de água por vários períodos e depois transferidas para substrato pouco umedecido, mostraram resultados de porcentagem de germinação altos logo que a mudança de condições de hidratação do substrato ocorria. A taxa de germinação das sementes do controle, que permaneceram constantemente em substrato pouco umedecido, e os tratamentos onde as sementes foram mantidas por períodos de até 48 horas em excesso de água, mostraram resultados finais semelhantes, independente do tempo em que permaneceram em excesso de água (Fig.7). O mesmo resultado foi observado quando o período de permanência em muita água se prolongou até 72 horas (Fig.8).

## 4. EMBEBIÇÃO

Para se analisar o processo de absorção de água pela semente, foi feita a curva de embebição das sementes intactas, nuas ou apenas no pericarpo. Observou-se que para as sementes intactas ou apenas pericarpo, a absorção de água foi maior nas primeiras duas horas, enquanto que para as sementes nuas a embebição se completou durante a primeira hora. Estes valores mantiveram-se até 24 horas após o início de embebição (Fig.9).

Os resultados mostraram que as curvas de embebição

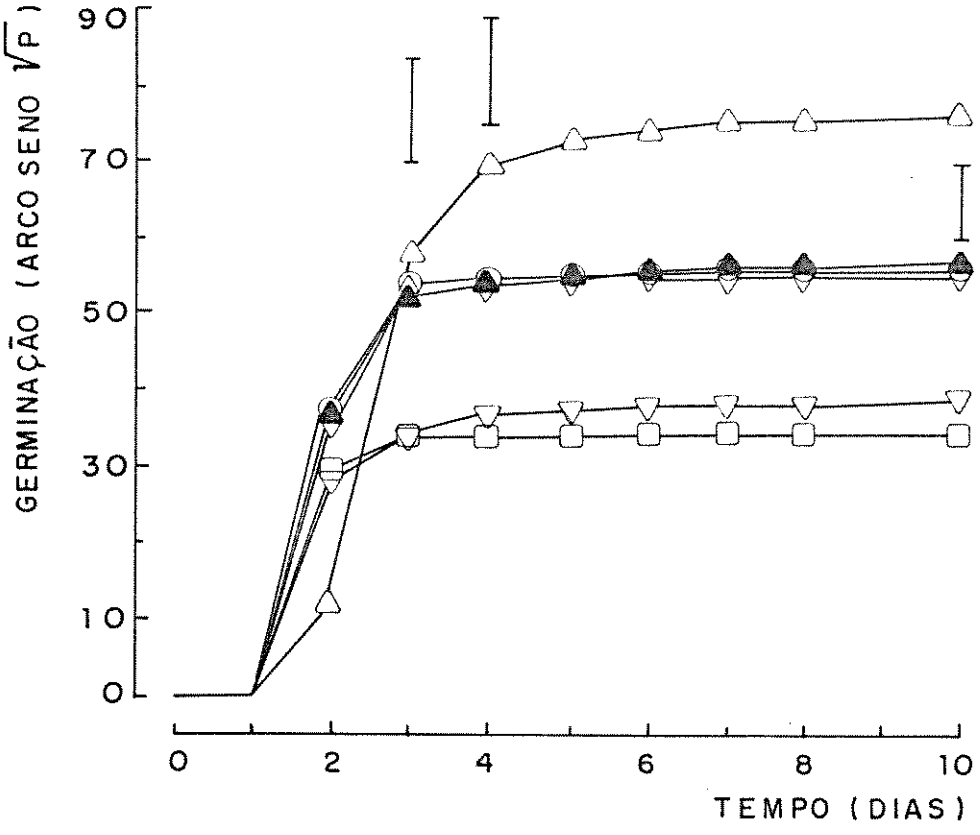



FIGURA 6 - Efeito de alto teor de água por períodos de até 72 horas na germinação de *Beta vulgaris* cv.Britta. Posição A, no escuro.

Períodos de permanência em substrato pouco umedecido e posterior transferência para muita água, até o final do experimento.

□ Muita água constante;

△ Pouca água constante;

▽ 24 horas em pouca água;

▲ 48 horas em pouca água;

○ 54 horas em pouca água;

◇ 72 horas em pouca água.

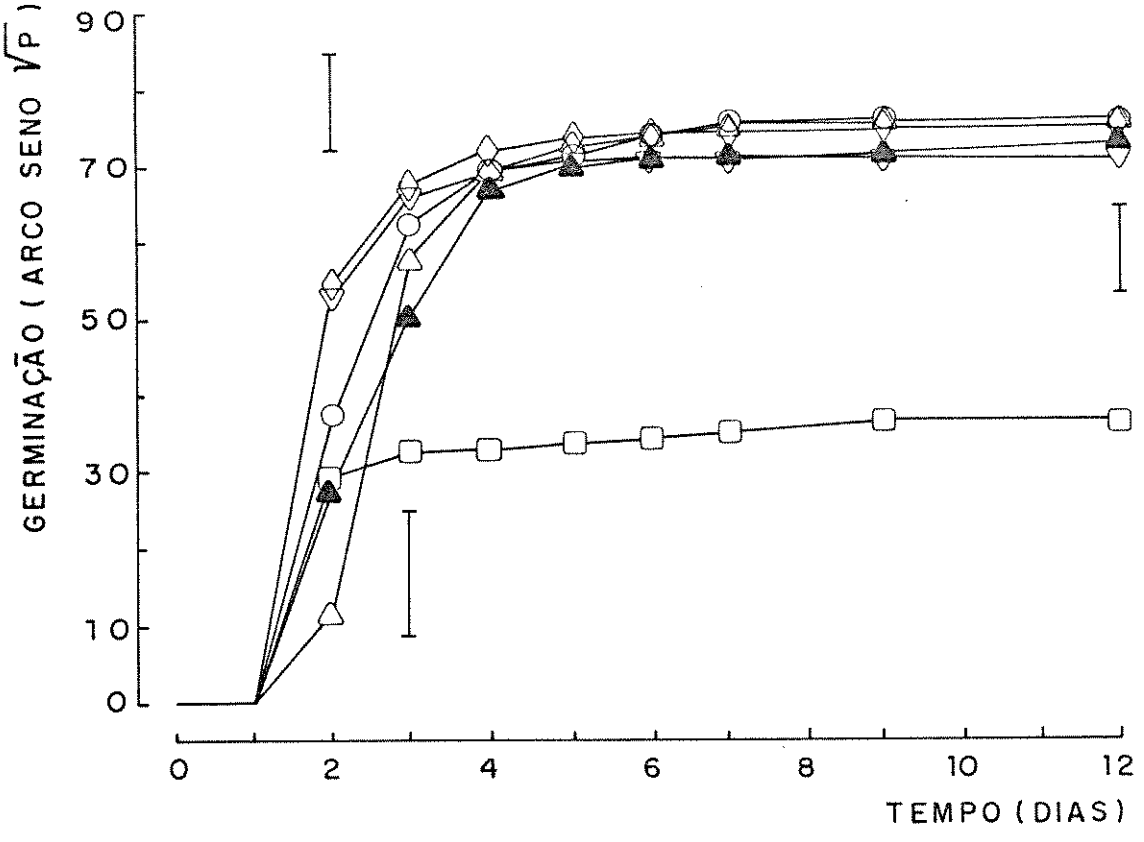



FIGURA 7 - Efeito de baixo teor de água por períodos de até 48 horas na germinação de *Beta vulgaris* cv.Britta. Posição A, no escuro.

Períodos de permanência em substrato muito umedecido e posterior transferência para pouca água , até o final do experimento.

□ Muita água constante;

△ Pouca água constante;

○ 1 hora em muita água;

◇ 5 horas em muita água;

▽ 24 horas em muita água;

▲ 48 horas em muita água.

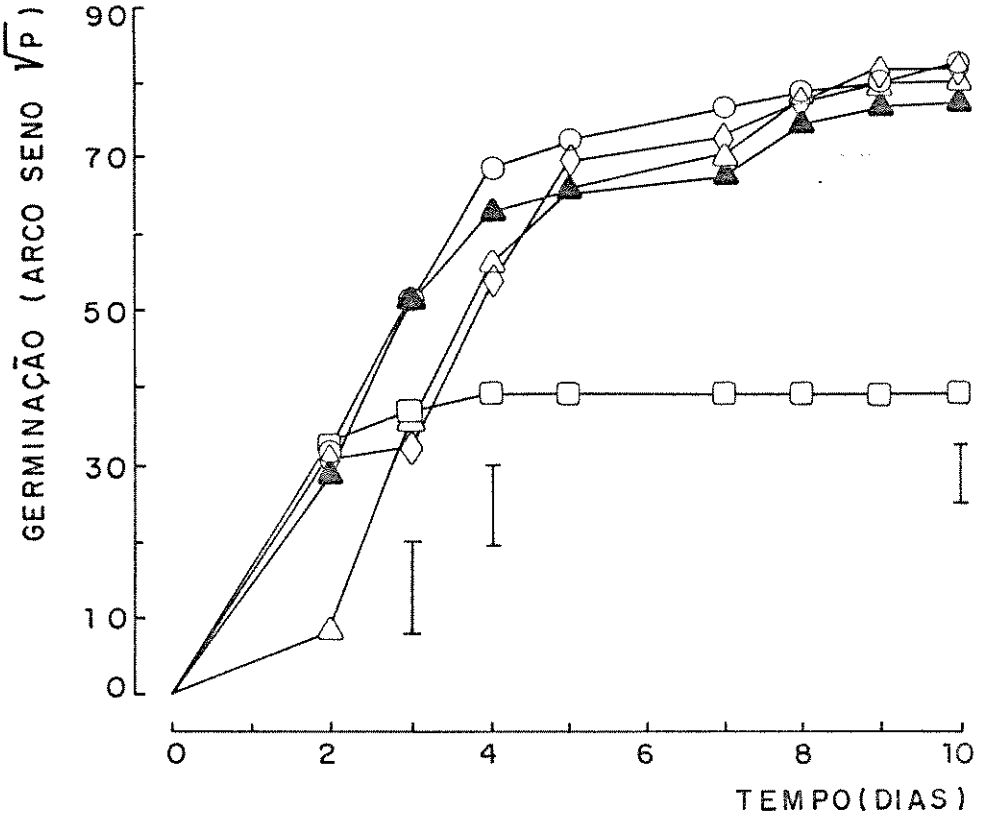



FIGURA 8 - Efeito do baixo teor de água por períodos de até 72 horas na germinação de *Beta vulgaris* cv.Britta. Posição A, na luz.

Períodos de permanência em substrato muito umedecido e posterior transferência para pouca água, até o final do experimento.

□ Muita água constante;

△ Pouca água constante;

▲ 48 horas em muita água;

○ 54 horas em muita água;

◇ 72 horas em muita água.

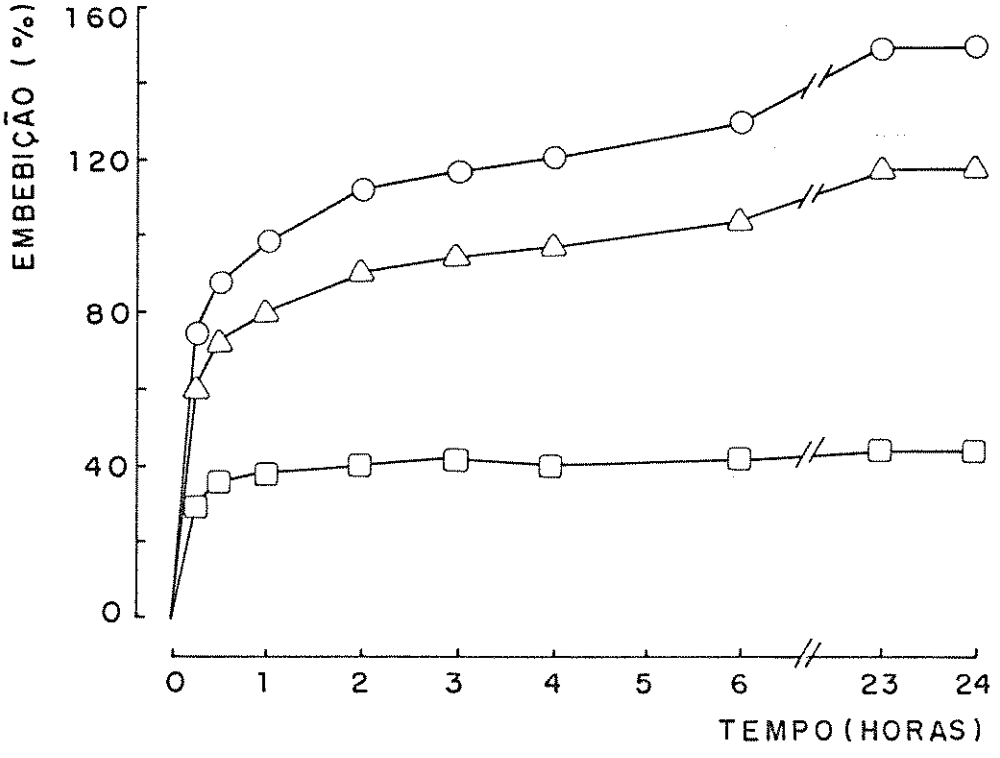



FIGURA 9 - Curva de embebição de sementes de *Beta vulgaris* cv. Britta.

△ Sementes intactas;

□ Sementes nuas;

○ Apenas pericarpo.

apresentaram um padrão semelhante entre sementes intactas, apenas pericarpo e sementes nuas, sendo que entre estas a porcentagem de embebição foi menor do que entre as sementes intactas e só pericarpo (Fig.9).

Analisando-se a embebição em função do aumento de peso da semente, notou-se que a absorção de água ocorreu principalmente pelo pericarpo, ficando a semente nua com uma porcentagem pequena na absorção total (Fig.10).

## 5. EFEITO DO AUMENTO DO TEOR DE OXIGÊNIO NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Beta vulgaris*

### 5.1 - Volume de Água no Substrato

Na tentativa de se verificar se o teor de oxigênio no meio poderia ser o fator limitante para a germinação, foi aumentado o teor deste gás. Sementes mantidas neste meio enriquecido com oxigênio (água oxigenada 100 volumes) e em substrato com excesso de água, apresentaram valores de taxa de germinação mais altos, até o sexto dia, do que sementes mantidas em pouca água, porém, estas taxas se igualaram após esse período de tempo (Fig.11).

Observou-se que entre as sementes mantidas em excesso de água e com meio enriquecido com oxigênio a germinação apresentou altas taxas já no segundo dia após o início do experimento, em relação aos outros tratamentos (Fig.11).

Na condição pouca água e alto teor de oxigênio, as porcentagens de germinação foram semelhantes àquelas do controle, com atmosfera normal. Nestes experimentos confirma-

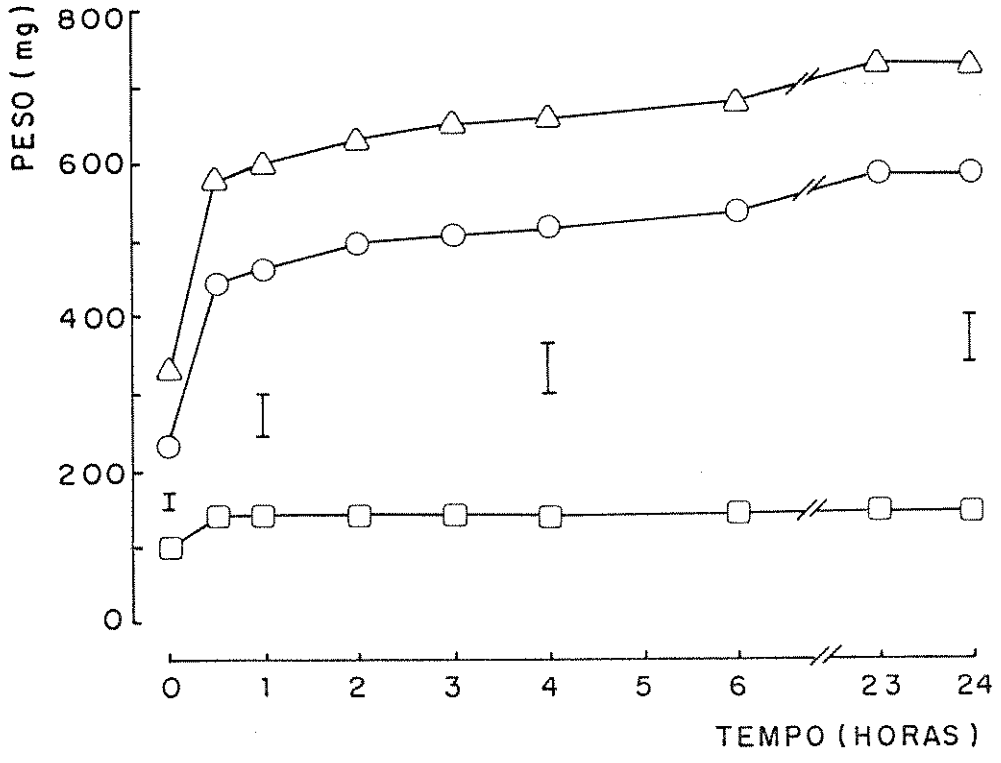



FIGURA 10 - Peso das sementes durante a embebição.

△ Sementes intactas;

□ Sementes nuas;

○ Apenas pericarpo.

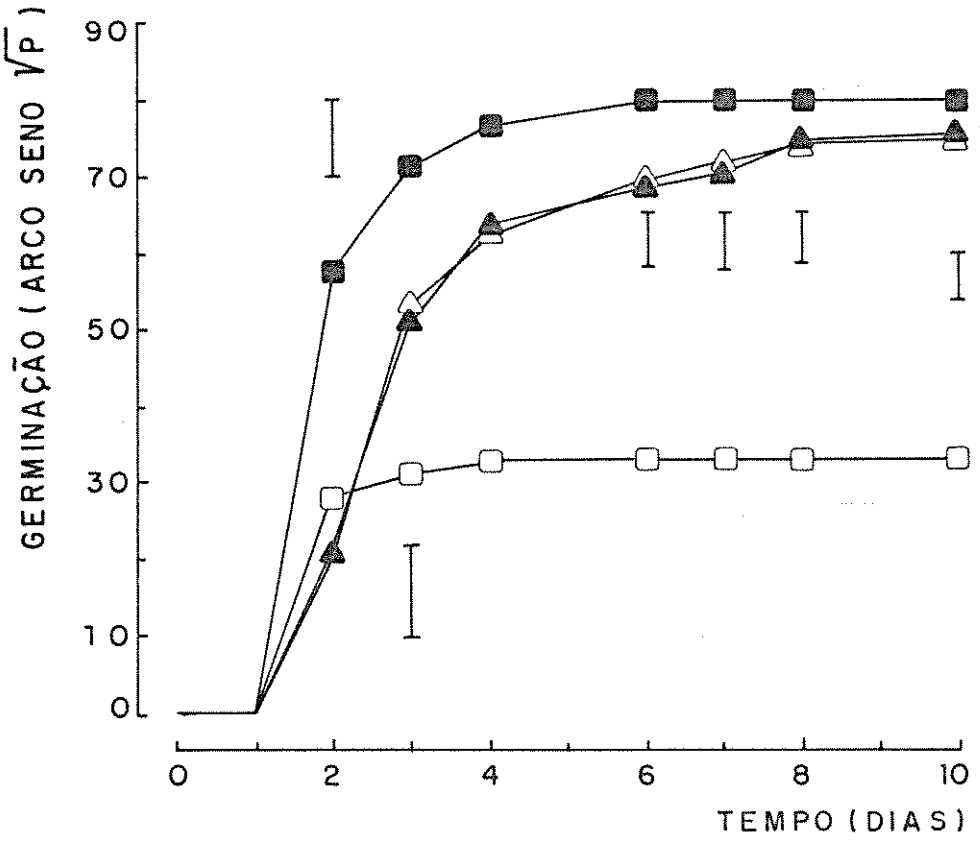



FIGURA 11 - Efeito do teor de oxigênio no meio e volume de água no substrato, na germinação de *Beta vulgaris* cv.Britta. Posição A.

□ Muita água △ Pouca água

Símbolos claros - controle

Símbolos escuros - alto teor de oxigênio

se novamente a baixa taxa de germinação das sementes mantidas em excesso de água e com atmosfera normal (Fig.11).

## 5.2 - Concentração de Oxigênio no Meio

Devido aos resultados obtidos anteriormente com aumento de teor de oxigênio com água oxigenada 100 volumes, foram também testadas diluições dessa água oxigenada.

Notou-se que a taxa de germinação aumentou à medida em que se elevou o teor de oxigênio no meio em excesso de água. Em presença de água oxigenada 100 volumes ou diluída a 70%, foram obtidas as mais altas porcentagens de germinação, que não diferiram entre estes dois tratamentos. Valores intermediários foram encontrados com a diluição de 50% de água oxigenada 100 volumes. Diluições de 30% e 10% apresentaram taxas de germinação semelhantes às do controle em muita água (Fig.12).

Com os dados obtidos no experimento anterior construiu-se (para o 10º dia do início da embebição) a reta onde se nota que a concentração de oxigênio e a germinação são altamente relacionadas (Fig.13).

## 5.3 - Posição da Semente sobre o Papel de Filtro

O efeito do aumento de teor de oxigênio no meio (obtido através de água oxigenada 100 volumes, item II.7) foi testado em relação às duas maneiras de se posicionarem as sementes no substrato. Foi feito um experimento, onde o papel de filtro foi excessivamente umedecido, e as sementes mantidas na posição A e B.

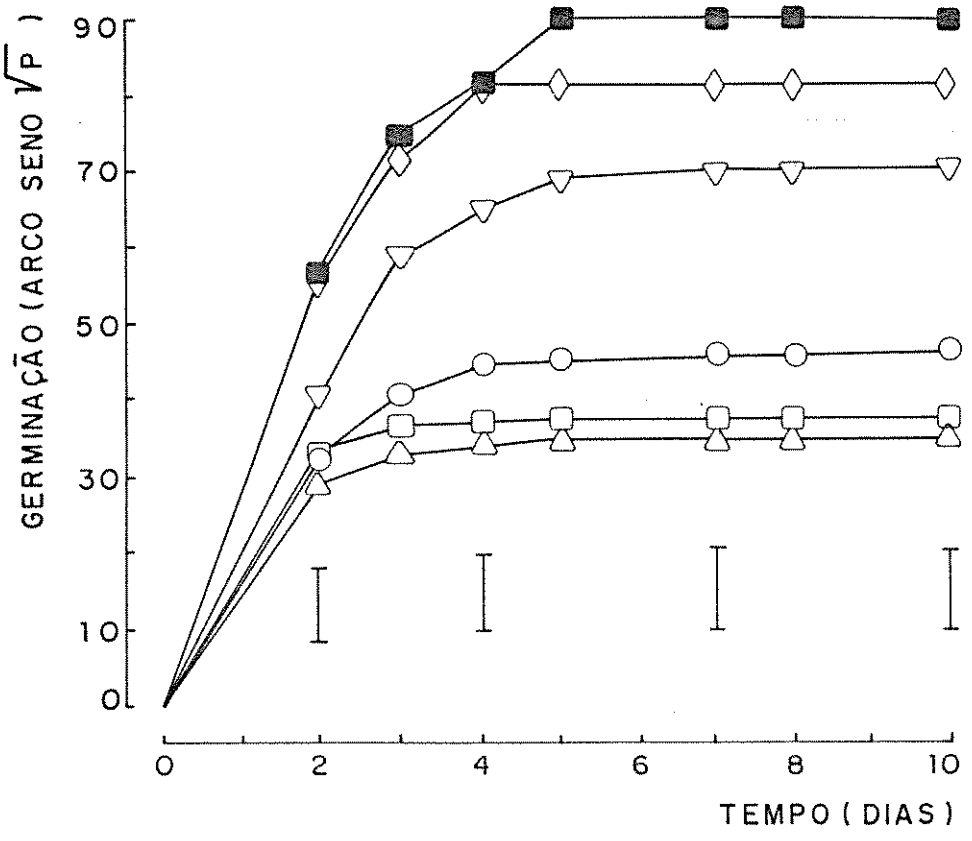



FIGURA 12 - Efeito da concentração de oxigênio na germinação de *Beta vulgaris* cv.Britta. Posição A em muita água.

□ Controle:
△ 10% de água oxigenada 100 volumes;
○ 30% de água oxigenada 100 volumes;
▽ 50% de água oxigenada 100 volumes;
◇ 70% de água oxigenada 100 volumes;
■ 100% de água oxigenada 100 volumes.

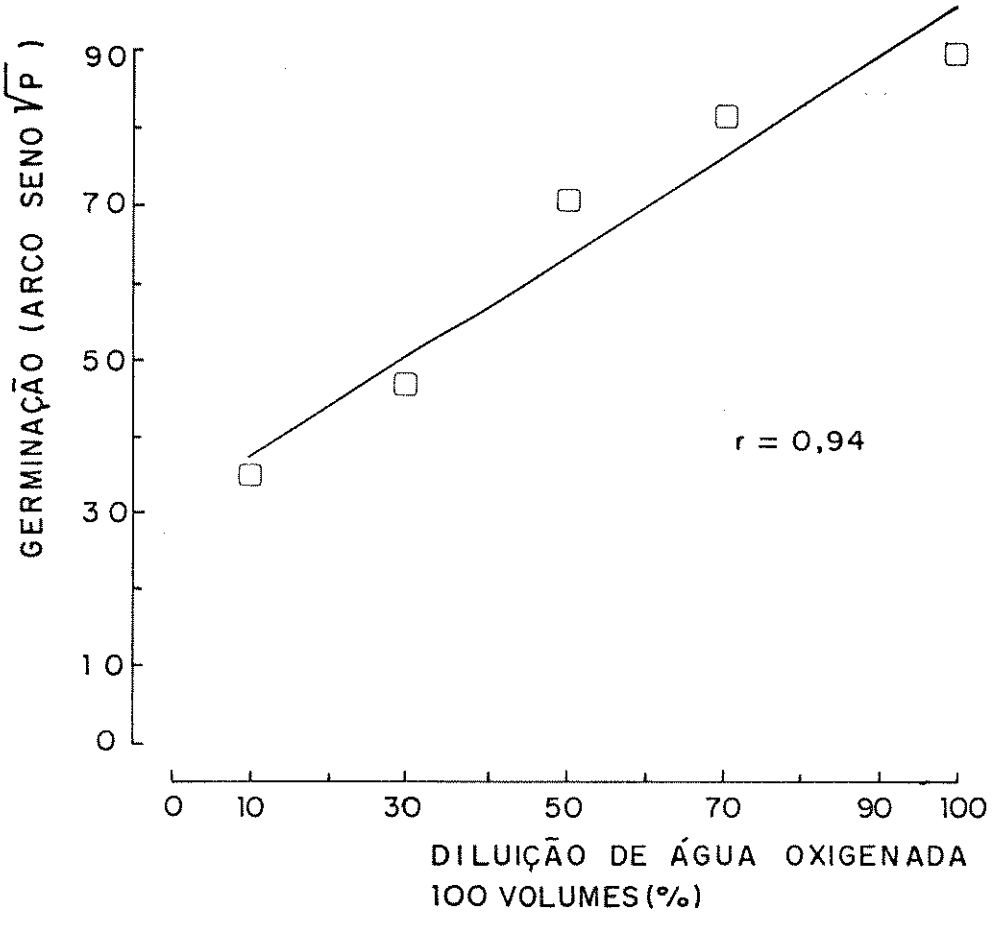



FIGURA 13 - Efeito da concentração de oxigênio na germinação de *Beta vulgaris* cv.Britta, no 10º dia após o início do experimento.

Observou-se que o enriquecimento do meio com oxigênio além de promover significativamente a germinação das sementes, eliminou o efeito de posição da semente no substrato, efeito este bem evidente nas sementes do controle (Fig. 14).

## 6. EFEITO DA LAVAGEM

A lavagem das sementes em água corrente, geralmente remove substâncias inibidoras presentes. Desse modo, procedeu-se a lavagem de sementes do cultivar Britta.

Observou-se que a lavagem das sementes não modificou a porcentagem de germinação obtida. Os resultados confirmaram os obtidos anteriormente, isto é, em excesso de água as sementes mantidas na posição B apresentaram taxas de germinação mais baixas do que aquelas na posição A (Fig.15), e em substrato pouco umedecido não ocorreu este tipo de efeito de posição da semente sobre o papel de filtro (Fig.16).

## 7. ANÁLISE DE SUBSTÂNCIAS FENÓLICAS

### 7.1 - Determinação Quantitativa de Fenóis

Vários autores citam a presença de substâncias fenólicas nos diferentes cultivares de *Beta vulgaris*. Desse modo foi feita a extração e a determinação destas substâncias, das sementes do cultivar Britta. Os resultados estão apresentados na Tabela 1.

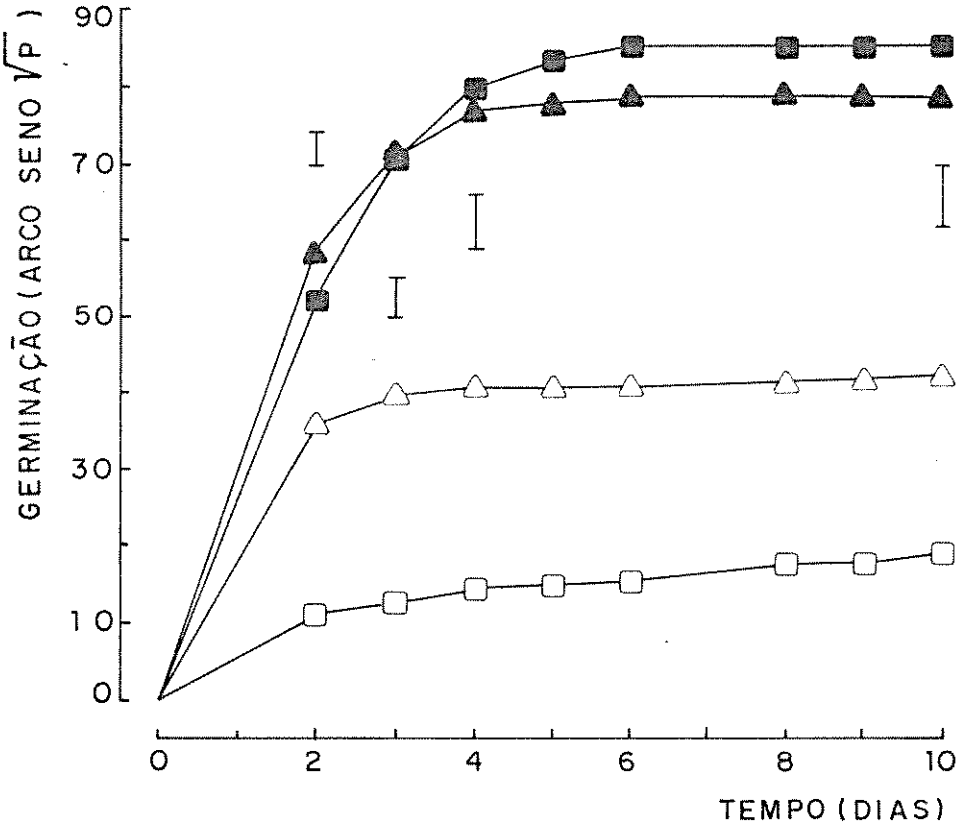



FIGURA 14 - Efeito do teor de oxigênio e posição da semente no substrato na germinação de *Beta vulgaris* cv.Britta. Muita água.

△ Posição A  □ Posição B

Símbolos claros - controle

Símbolos escuros - alto teor de oxigênio

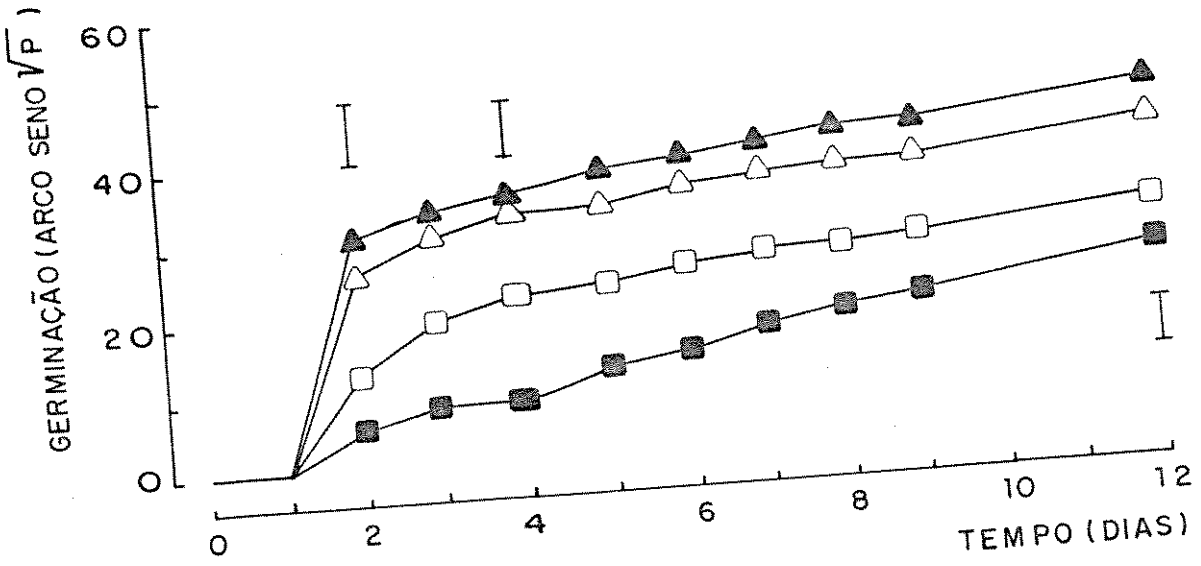



FIGURA 15 - Efeito da lavagem e posição da semente no substrato, em muita água.

△ Posição A □ Posição B

Símbolos claros - controle

Símbolos escuros - lavadas

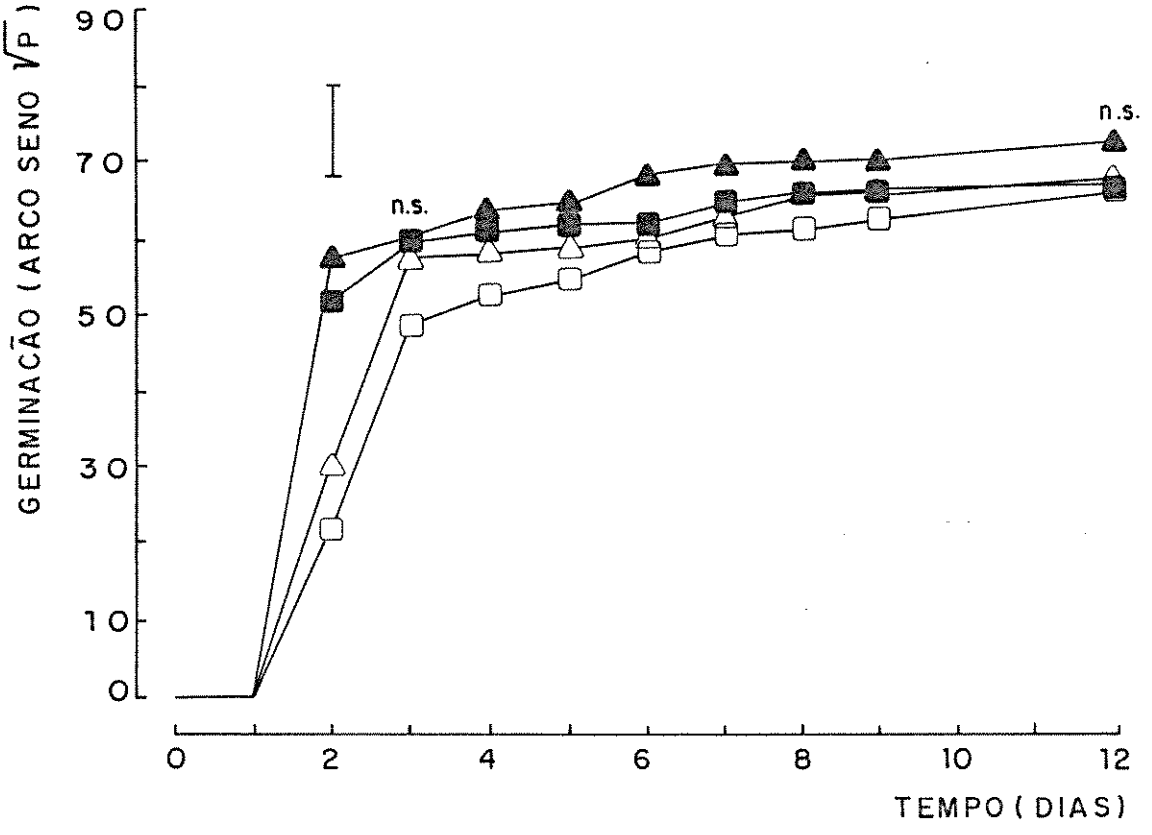



FIGURA 16 - Efeito da lavagem e posição da semente no substrato, em pouca água.

△ Posição A □ Posição B

Símbolos claros - controle

Símbolos escuros - lavadas

n.s. - nenhuma diferença significativa ao nível de 5%.

TABELA 1 - Determinação do conteúdo de fenóis totais em sementes de *Beta vulgaris* cv.Britta(equivalente mg. ácido salicílico/g. de sementes).

| | | |
|---|---|---|
| Extrato Metanol 80% | | |
| Fração | Ácida | 5,48 |
| | Neutra | 8,37 |
| Extrato Etanol 70% | | |
| Extrato Bruto | | 104,27 |
| Frações | Éter | 39,17 |
| | Acetato de Etila | 2,81 |
| | Butanol | 14,49 |
| | Aquoso III | 2,19 |

Pelos resultados apresentados notou-se que houve a detecção de uma maior quantidade de substâncias fenólicas, quando se utilizou o método para extração de fenóis, com etanol 70% fervente. Para confirmação dos altos valores encontrados para fenóis totais, com a extração em Etanol 70%, novos extratos foram feitos. Os resultados das dosagens são mostrados na Tabela 2.

Notou-se também que a maior concentração de fenóis está na fração de éter, a seguir na fração de butanol, sendo esta seguida pelos valores obtidos na fração Aquosa e na fração de Acetato de Etila (Tab.1).

TABELA 2 - Determinação do conteúdo fenólico total em sementes de *Beta vulgaris* cv.Britta (equivalente mg. ácido salicílico/g. de sementes).

| Experimento | Extrato Etanol 70% |
|---|---|
| 1 | 108,14 |
| 2 | 117,90 |
| 3 | 107,51 |

## 7.2 - Efeito de Substâncias Fenólicas na Germinação de *Beta vulgaris* cv.Britta

Para se testar o efeito das substâncias fenólicas encontradas em sementes, foi feito o teste de germinação com as próprias sementes do cultivar estudado em presença dos extratos.

### 7.2-a) Fração Ácida e Neutra de Extrato Metanol 80%

Foi utilizado extrato referente a 100 sementes por caixa "gerbox", equivalente a 1,25g de sementes por "gerbox" na Fração Ácida e Fração Neutra.

A porcentagem de germinação das sementes não foi alterada quando em presença das frações neutra e ácida de extratos, apresentando resultados semelhantes àqueles do controle com pouca água (Fig.17).

7.2.-b) Extrato Bruto de Etanol 70%

Foi feita extração dos fenóis com antioxidante, para se evitar a perda destas substâncias, porém os resultados dos testes de germinação em presença dos extratos com antioxidante e sem antioxidante não apresentaram diferenças entre si. O mesmo ocorreu entre os controles com ou sem a substância antioxidante (Fig.18).

Nos extratos do experimento da Fig.18 a concentração foi de 1,30g de sementes por caixa "gerbox", equivalente a 100 sementes, e notou-se que as sementes mantidas em presença do extrato apresentaram taxas de germinação mais baixas que as do controle, durante todo o período do teste.

Em um outro experimento, onde se usou extrato obtido da mesma maneira que a anterior, observou-se resultado diferente. A concentração do extrato sem antioxidante foi de 1,24g de sementes por "gerbox" e em extrato com antioxidante de 1,31g de sementes por "gerbox", referentes a 100 sementes. Neste teste notou-se uma redução na porcentagem de germinação de sementes mantidas no extrato com ou sem antioxidante até o sétimo dia. Após esse período a diferença não foi mais significativa no extrato sem antioxidante. No extrato com antioxidante a germinação apresentou taxas menores daquelas do controle, durante todo o período analisado. Embora a diferença entre os tratamentos seja muito

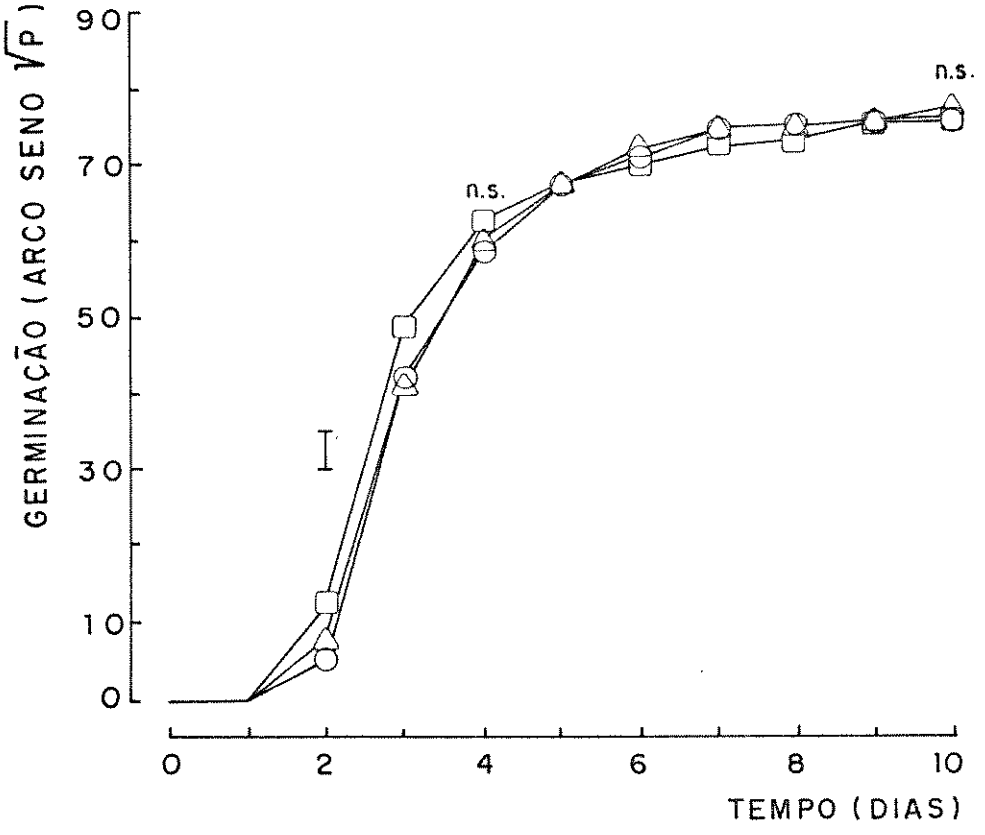



FIGURA 17 - Efeito da fração ácida e neutra de extrato de sementes de *Beta vulgaris* cv.Britta, na germinação de sementes da própria espécie, em pouca água. Posição A.

□ Controle:

○ Fração ácida;

△ Fração neutra.

n.s. - nenhuma diferença significativa ao nível de 5%.

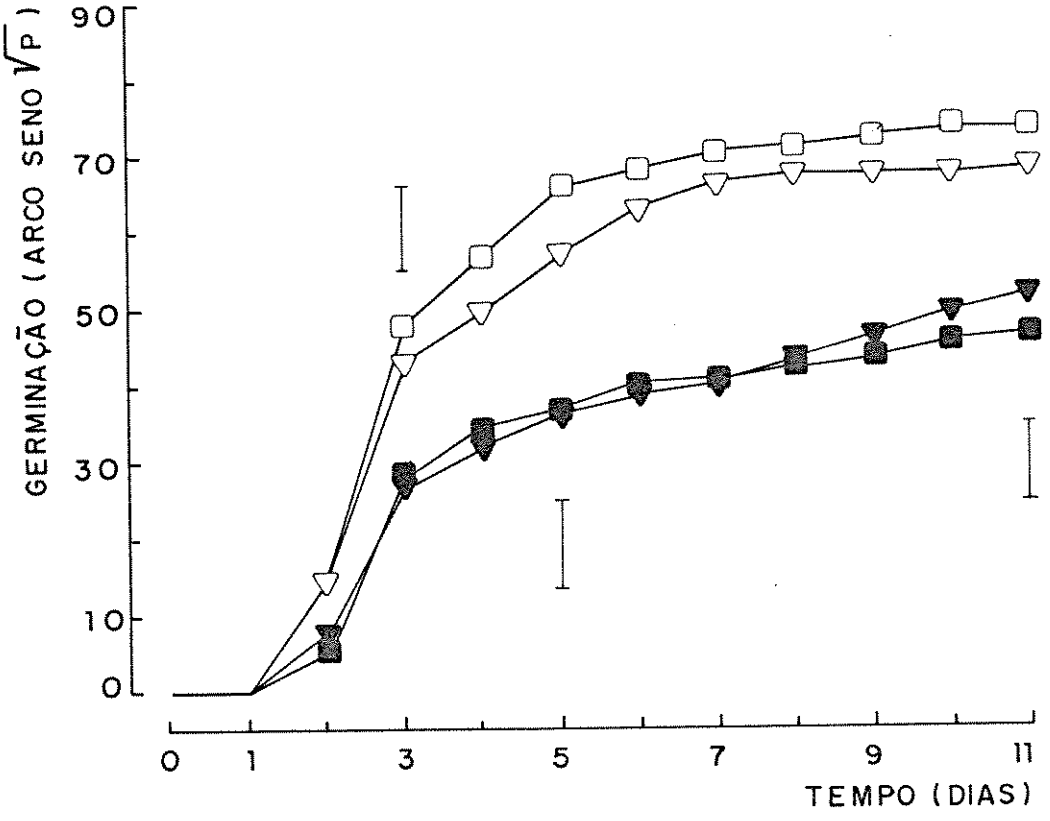



FIGURA 18 - Efeito de extrato bruto de sementes de *Beta vulgaris* cv.Britta e de antioxidante na germinação de sementes da própria espécie, em pouca água. Posição A.

□ Com antioxidante ▽ Sem antioxidante

Símbolos claros - controle

Símbolos escuros - extrato

pequena, foi suficiente para, após o oitavo dia, apenas o extrato com antioxidante, ser estatisticamente significativo em relação ao controle (Fig.19).

### 7.2-c) Extrato Fracionado de Etanol 70%

Frações obtidas a partir do extrato de etanol 70% foram testadas com e sem antioxidante. A fração sem antioxidante utilizada no teste continha a concentração de 1,36 g de sementes por "gerbox" (equivalente a 100 sementes) e a germinação das sementes em presença destas frações não foi alterada, em relação ao controle (Fig.20).

Nas frações com antioxidante a concentração foi de 1,24g de sementes por "gerbox" (referentes a 100 sementes). Neste caso observou-se que em presença da fração Aquosa as taxas de germinação foram menores durante o período entre o quarto ao sétimo dias, em relação ao controle, sendo que após o sétimo dia a germinação se iguala aos outros tratamentos e controle. Na fração de Butanol apenas houve diferença significativa entre este tratamento e o controle no quarto dia (Fig.21). Com estes resultados, notou-se que entre os extratos, aquele que contém antioxidante apresenta resultados com taxas de germinação mais baixas do que em extratos sem antioxidante, em algumas frações.

### 7.2-d) Fração de Etanol 70%-A e Fração Aquosa-A em Concentrações Distintas

As frações de Etanol 70%-A e Aquosa-A foram obtidas conforme descrição no item 9 de Material e Métodos. Na fração Aquosa-A foram utilizadas concentrações de 0.14g, 0.29g,

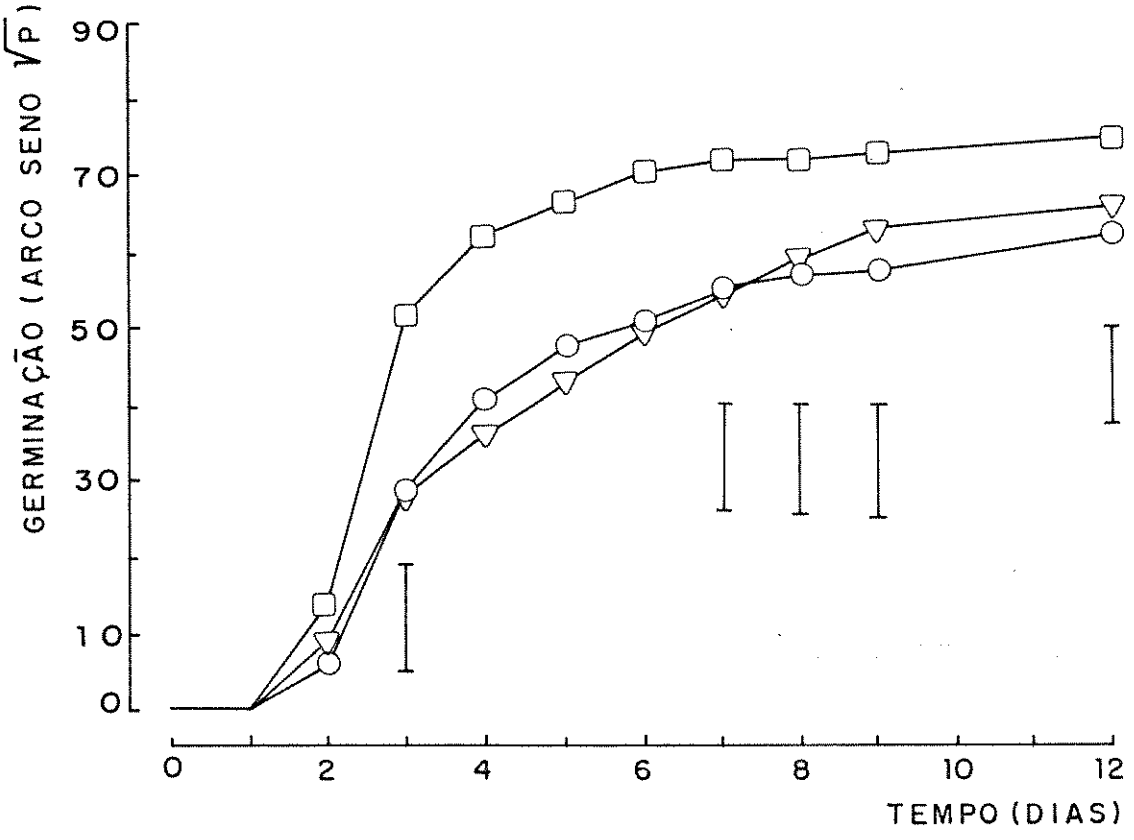



FIGURA 19 - Efeito de extrato bruto de sementes de *Beta vulgaris* cv.Britta, com ou sem antioxidante, na germinação de sementes da própria espécie, em pouca água. Posição A.

□ Controle:

○ Extrato com antioxidante;

▽ Extrato sem antioxidante.

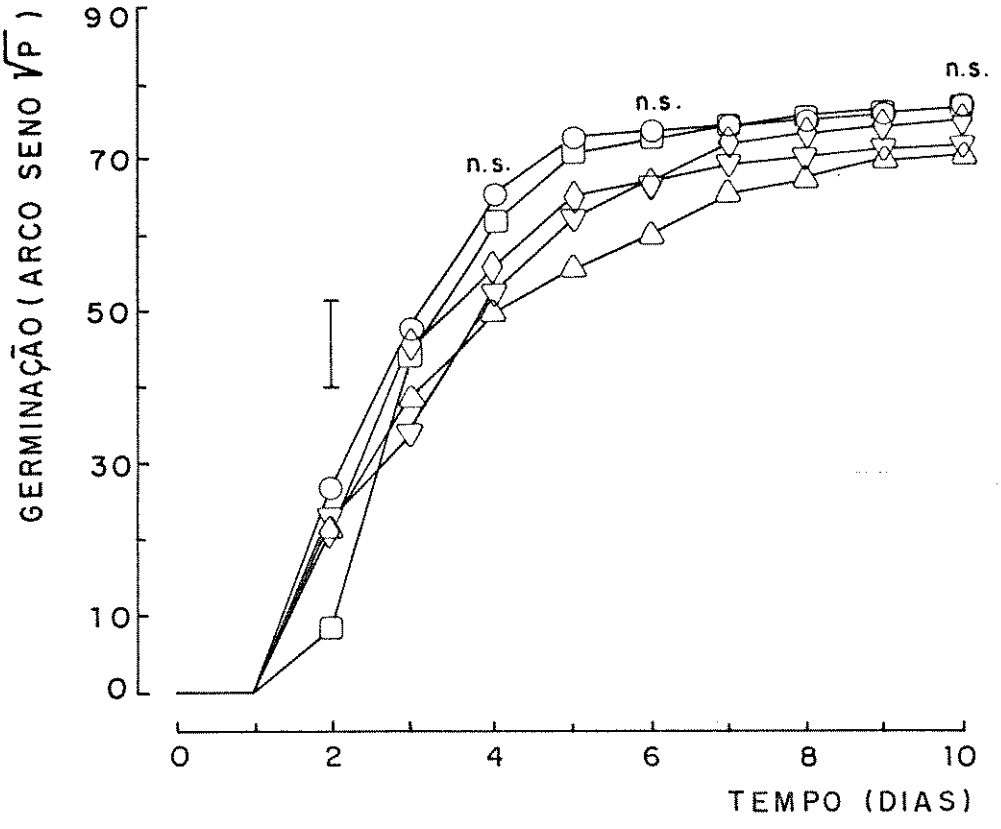



FIGURA 20 - Efeito do extrato sem antioxidante fracionado de sementes de *Beta vulgaris* cv.Britta,na germinação de sementes da própria espécie,em pouca água. Posição A.

□ Controle:

△ Fração éter;

○ Fração acetato de etila;

◇ Fração butanol;

▽ Fração aquosa.

n.s. - nenhuma diferença significativa ao nível de 5%.

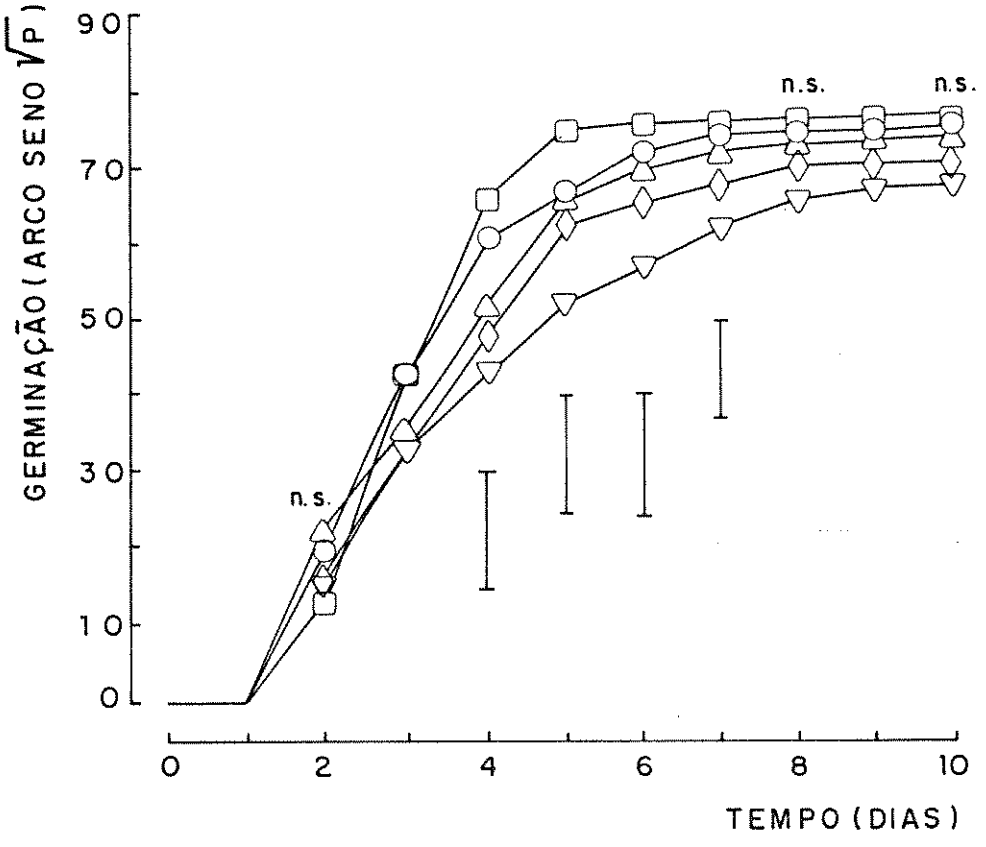



FIGURA 21 - Efeito do extrato com antioxidante fracionado de sementes de *Beta vulgaris* cv. Britta, na germinação de sementes da própria espécie, em pouca água. Posição A.

□ Controle:

△ Fração éter;

○ Fração acetato de etila;

◇ Fração butanol;

▽ Fração aquosa.

n.s. - nenhuma diferença significativa ao nível de 5%.

0.57g, 1.14g e 1.72g de sementes por "gerbox", equivalentes, respectivamente a 12.5, 25, 50, 100 e 150 sementes por "gerbox". Observou-se que as sementes mantidas nas duas concentrações mais altas da fração Aquosa-A sofreram um atraso na germinação no terceiro e quarto dias do início do teste em relação ao controle. Porém após esse período, os valores se igualaram (Fig.22).

Sementes mantidas na presença da fração de Etanol 70%-A não apresentaram taxas de germinação diferentes das do controle (Fig.23). As concentrações utilizadas da fração neste teste foram as mesmas da fração Aquosa-A.

## 8. DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL OSMÓTICO DO EXTRATO DAS SEMENTES DO CULTIVAR BRITTA

Foi avaliado o potencial osmótico da Fração Aquosa-A, obtida do extrato de Etanol 70%. Os resultados são apresentados na Tabela 3.

TABELA 3 - Potencial Osmótico da Fração Aquosa-A de *Beta vulgaris* cv.Britta (bars).

| Sementes por "gerbox" | 12,5 | 25 | 50 | 100 | 150 |
|---|---|---|---|---|---|
| g sementes/"gerbox" | 0.14 | 0.29 | 0.57 | 1.14 | 1.72 |
| bars | -0.45 | -1.85 | -1.82 | -3.28 | -5.07 |

Notou-se que há uma relação entre o número de se-

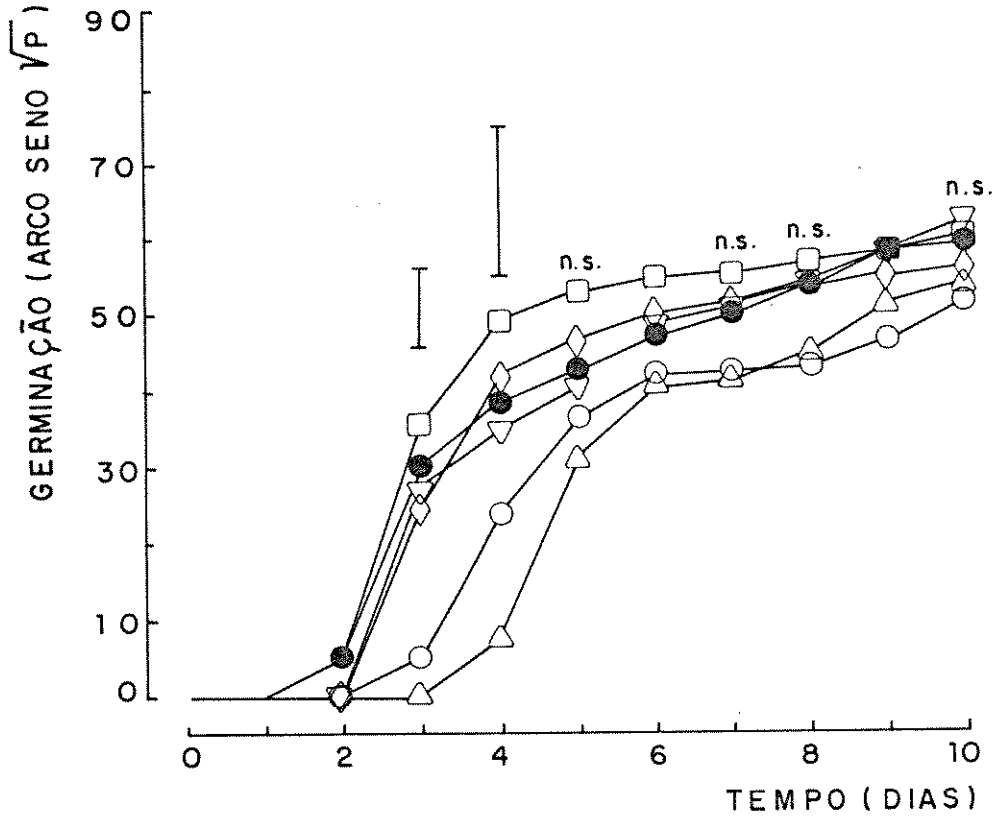



FIGURA 22 - Efeito de diferentes concentrações de Fração Aquosa-A de sementes de *Beta vulgaris* cv. Britta na germinação de sementes da própria espécie. Posição A.

□ Controle

| Concentrações de g de sementes /"gerbox" | Equivalência em nº de sementes |
|---|---|
| ● 0,14 g | 12,5 |
| ▽ 0,29 g | 25 |
| ◇ 0,57 g | 50 |
| ○ 1,14 g | 100 |
| △ 1,72 g | 150 |

n.s. nenhuma diferença significativa ao nível de 5%

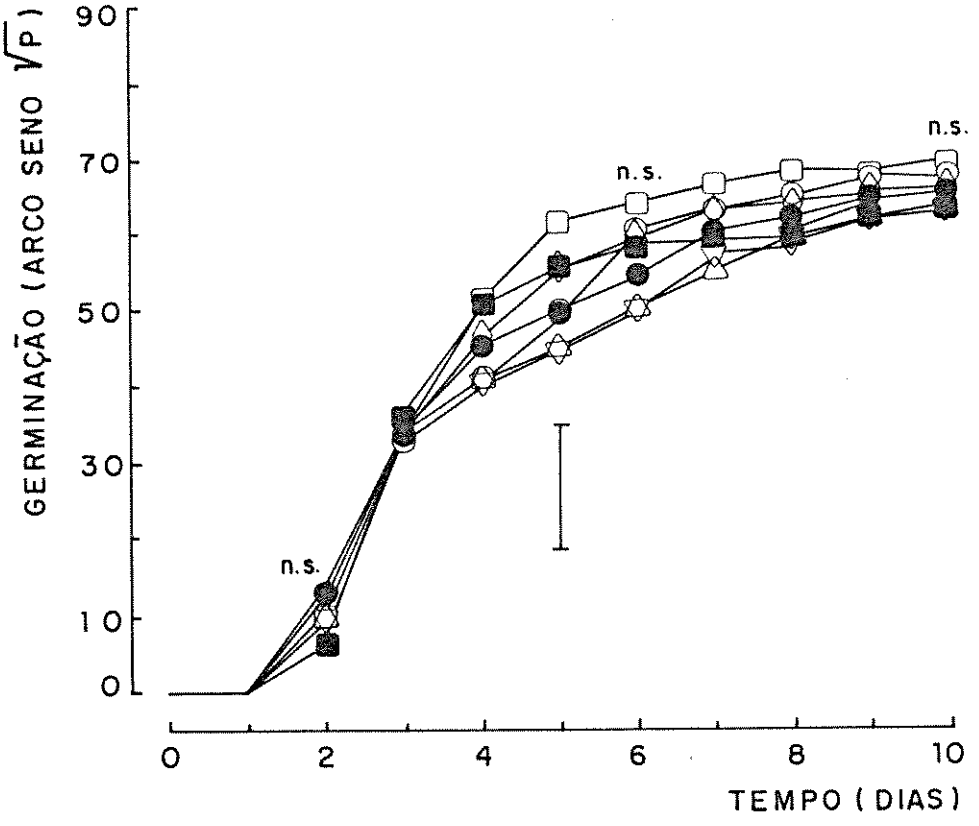



FIGURA 23 - Efeito de diferentes concentrações de extrato de etanol 70%-A de sementes de *Beta vulgaris* cv.Britta, na germinação de sementes da própria espécie, em pouca água. Posição A.

| □ Controle Concentrações de g de sementes/"gerbox" | ■ Controle Etanol 70% Equivalência em nº de sementes |
|---|---|
| ● 0,14 g | 12,5 |
| ▽ 0,29 g | 25 |
| ◇ 0,57 g | 50 |
| ○ 1,14 g | 100 |
| △ 1,72 g | 150 |

n.s. - nenhuma diferença significativa ao nível de 5%

mentes utilizadas nos extratos e o potencial osmótico por elas fornecidas.

## 9. EFEITO DE MANITOL NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE BETERRABA AÇUCAREIRA

Os valores encontrados na fração Aquosa-A do Extrato de Etanol 70%-A serviu de base para o cálculo das concentrações de manitol, que foi utilizado para o teste de germinação, obtendo-se portanto os mesmos valores de potencial osmótico entre soluções de manitol e fração Aquosa-A.

Foi observado que a germinação das sementes não sofreu influência do meio com manitol em diferentes concentrações, ocorrendo resultados semelhantes ao controle (Fig.24).

## 10. EFEITO DE ÁCIDO SALICÍLICO E CUMARINA NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Beta vulgaris* cv. Britta

### 10.1 - Ácido Salicílico

Para se verificar o efeito de substâncias fenólicas na germinação de sementes do cultivar estudado, utilizou-se Ácido Salicílico nas concentrações de $10^{-4}$M, $10^{-3}$M e $10^{-2}$M, pois esta substância foi utilizada como padrão na determinação das substâncias fenólicas do extrato.

Foi observado que este fenol não afetou, nas concentrações estudadas, a germinação das sementes de beterraba açucareira (Fig.25).

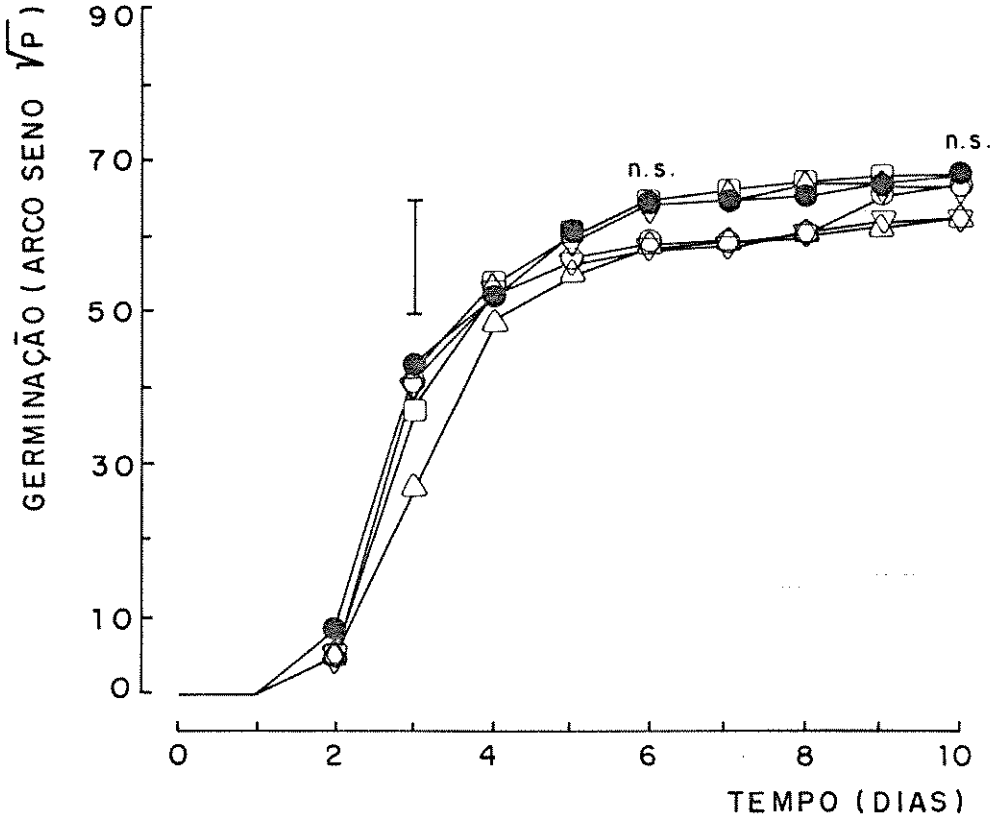



FIGURA 24 - Efeito de diferentes concentrações de manitol na germinação de sementes de *Beta vulgaris* cv. Britta. Posição A, em pouca água.

□ Controle

| | Concentração de Manitol | | Equivalência em sementes | |
|---|---|---|---|---|
| | (M) | (Bars) | Nº | g de sementes/"gerbox" |
| ● | 0,02 | -0,45 | 12,5 | 0.14g |
| ▽ | 0,08 | -1,85 | 25 | 0.29g |
| ◇ | 0,08 | -1,82 | 50 | 0.57g |
| ○ | 0,14 | -3,28 | 100 | 1.14g |
| △ | 0,22 | -5,07 | 150 | 1.72g |

n.s. - nenhuma diferença significativa ao

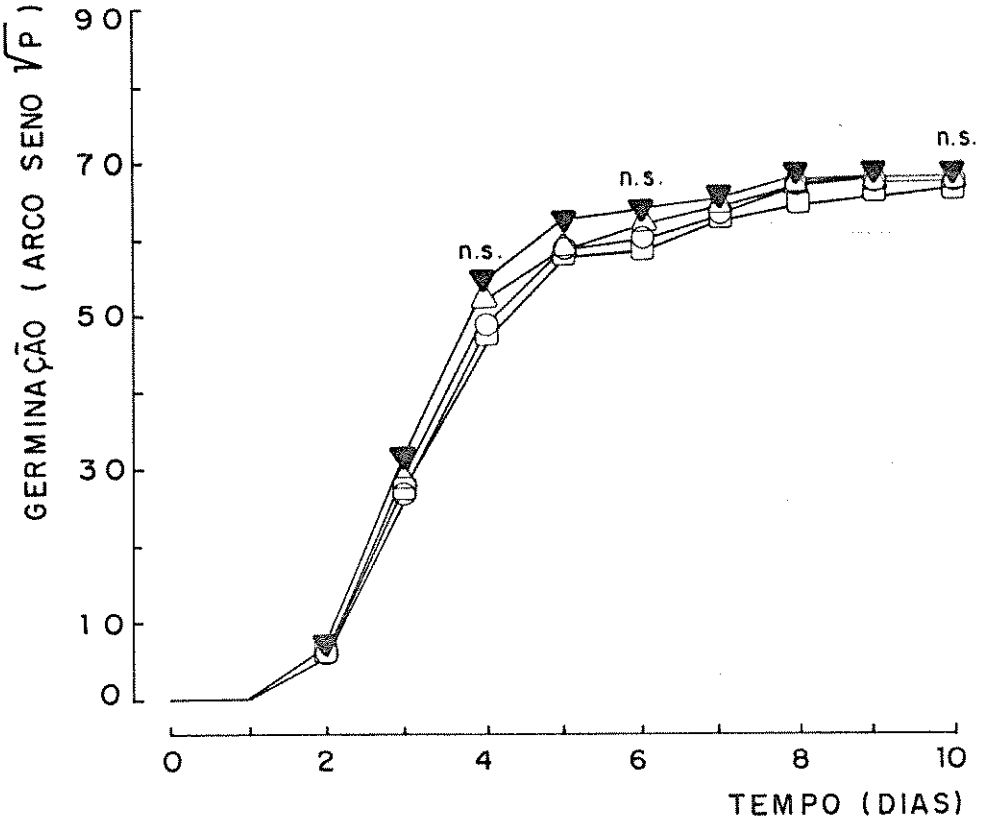



FIGURA 25 - Efeito de ácido salicílico na germinação de *Beta vulgaris* cv.Britta, em pouca água. Posição A.

□ Controle

Ácido salicílico

△ $10^{-2}$ M

○ $10^{-3}$ M

▼ $10^{-4}$ M

n.s. - nenhuma diferença significativa ao nível de 5%.

10.2 - Cumarina

A cumarina foi utilizada devido ao seu conhecido efeito inibidor na germinação de sementes de várias espécies.

As sementes de *Beta vulgaris* foram mantidas em concentrações de $10^{-3}$M, 5X $10^{-3}$M e $10^{-2}$M de cumarina. Foi observado que a cumarina não afetou a germinação do cultivar estudado, nestas concentrações (Fig.26).

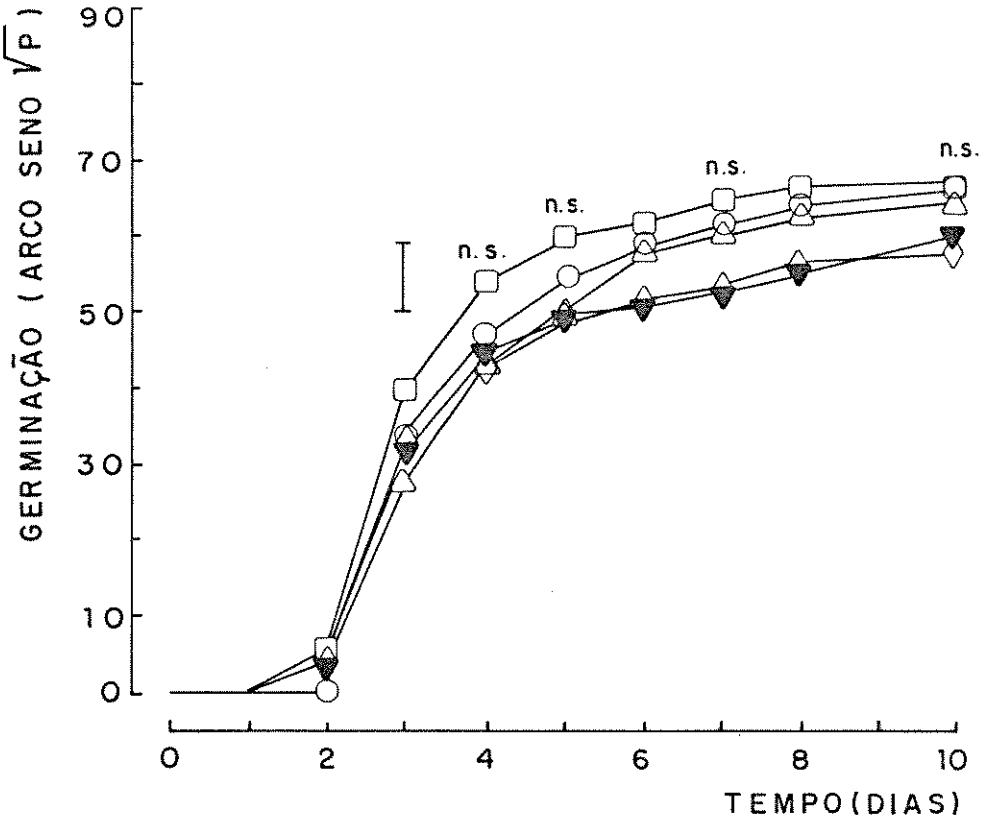



FIGURA 26 - Efeito de cumarina na germinação de sementes de *Beta vulgaris* cv.Britta, em pouca água. Posição A.

□ Controle (água) ◇ controle (etanol)

Cumarina

△ $10^{-2}$ M

▼ $5X\ 10^{-3}$ M

○ $10^{-3}$ M

n.s. - nenhuma diferença significativa ao nível de 5%.

# IV - DISCUSSÃO

O processo final de germinação é o crescimento do embrião, com a geração de força suficiente, em geral, para romper os envoltórios da semente ou da unidade de dispersão (KOLLER *et al.*, 1962). A presença do tegumento pode influenciar na germinação das sementes, e quando este é removido ou partes dele são retiradas, a germinação ocorre prontamente. Vários exemplos são citados onde ocorre este fato, como em *Leucospermum cordifolium* (VAN STADEN & BROWN, 1973), *Aristida contorta* (MOTT, 1974), *Carica papaya* (GHERARDI &VALIO, 1976) e pêssego (MEHANNA & MARTIN, 1985).

Em sementes de *Beta vulgaris* cv.Britta, em que o pericarpo foi removido, a germinação ocorre logo após 24 horas do início da embebição, apresentando valores altos, que serão alcançados por sementes intactas, apenas por volta do quinto dia após o início do experimento. Vários mecanismos podem estar associados a este papel do pericarpo, na restrição da germinação. Um deles pode ser o efeito de barreira mecânica que o tegumento oferece para a protusão da radícula. Este mecanismo foi sugerido para sementes de *Rapanea guianensis* (JOLY & FELIPPE, 1979), onde o endocarpo restringe o o crescimento do embrião. PETO (1964 *apud* HEYDECKER *et al.*, 1971) trabalhando com sementes de beterraba açucareira sugere que o opérculo (parte do pericarpo que se abre quando da protusão da radícula) encontra-se firmemente ligado ao pericarpo o que lhe conce-

deria o papel de uma barreira à protusão da radícula. Observa ainda que o opérculo pode ser retirado através de alguns tratamentos específicos, com a utilização de enzimas ou ácido hidroclorídrico. COUMANS *et al.* (1980) e MORRIS *et al.* (1985) também sugerem que o pericarpo de sementes de *Beta vulgaris* restrinja a germinação, por oferecer uma barreira mecânica, porém, estes autores, associam este efeito ao tamanho das sementes, que sendo pequenas, não conseguem exercer uma força suficiente para romper o opérculo. Outros autores (COUMANS *et al.*, 1976 e COUMANS, 1978), no entanto, observaram que as células da periferia do opérculo de sementes de beterraba açucareira se caracterizam por não possuírem lignina e que a celulose aparece em pequena quantidade, o que lhe confere menor resistência, em relação ao resto do pericarpo. Corroborando esta última observação, foi verificado que no cultivar Britta, aqui estudado, muitas vezes a simples manipulação das sementes embebidas era suficiente para o opérculo se soltar, sendo, portanto, pouco provável a hipótese de barreira mecânica oferecida pelo opérculo, neste caso.

Em presença de substrato excessivamente umedecido, as sementes intactas do cultivar Britta apresentam uma redução das taxas de germinação em relação às sementes mantidas em pouca água. Este efeito, porém, desaparece se o pericarpo for removido, sugerindo, que as restrições à germinação das sementes, devido a presença do tegumento, estão associadas às condições específicas do ambiente, como o excesso de água no substrato. Este efeito negativo na germinação em excesso de água havia sido descrito anteriormente por GOFF (1897) em beterraba, e tem sido

confirmado por vários autores (CHETRAM & HEYDECKER, 1967; HEYDECKER & CHETRAM, 1971; PERRY & HARRISON, 1974; COUMANS *et al.*, 1976 e 1979; SANTOS, 1985). Foi observado que quando o solo está excessivamente umedecido, a emergência de beterraba açucareira também apresenta taxas baixas (PERRY, 1973). A condição de excesso de água não é letal para as sementes do cultivar Britta, mantidas a 25°C, pois sementes que não germinavam nesta condição, germinaram prontamente quando foram transferidas para substrato pouco umedecido, mesmo quando haviam sido mantidas em excesso de umidade por período de 10 dias (dados não apresentados). Esta inibição reversível da germinação em substrato excessivamente umedecido foi observada em outro cultivar de beterraba açucareira, porém quando este efeito estava associado a temperaturas mais altas, como 30°C ou 35°C, ocorria a morte das sementes (SANTOS, 1985).

Em experimentos onde a atmosfera foi enriquecida com oxigênio, a germinação foi bastante promovida, sendo que esta promoção aumenta com o aumento do teor do gás no meio. Estes dados sugerem que o impedimento da germinação de sementes mantidas em substrato excessivamente hidratado envolve o nível de oxigênio do meio.

Em alto nível de hidratação pode estar ocorrendo a formação de um filme de água ao redor da semente, o que dificultaria a difusão do oxigênio, já que em meio aquoso o coeficiente de difusão desse gás é cerca de $10^4$ vezes menor do que o valor de difusão no ar (CÔME & TISSAOUI, 1973; BEWLEY & BLACK, 1982). A água promoveria assim, a formação de uma barreira física à difusão do oxigênio (WERKER, 1980/81).

Muitos autores, trabalhando com sementes de *Beta vulgaris*, associam certas partes específicas do pericarpo à entrada de oxigênio. Alguns atribuem ao opérculo o papel de controle de entrada de oxigênio para o embrião, pois quando este é retirado, a germinação ocorre com maior eficiência (HEYDECKER *et al.*, 1971; COUMANS *et al.*, 1976). Outros autores, no entanto, discordam do papel do opérculo no processo de germinação, atribuindo ao poro basal o papel de principal via de entrada de oxigênio para o embrião, e mostraram que quando este poro foi obstruído com vaselina (COUMANS, 1978) ou parafina (SANTOS, 1985), a porcentagem de germinação foi significativamente menor do que em sementes não tratadas. SANTOS (1985) mostrou que a taxa respiratória em sementes com o poro basal obstruído foi significativamente reduzida quando comparada com a de sementes intactas ou de sementes com o opérculo obstruído. Vários autores mostraram que sementes de beterraba cujo poro basal se encontra voltado para o substrato excessivamente umedecido, estando desta forma obstruído pela água, apresentam taxas reduzidas de germinação. Atribuem este fato à formação de um filme de água ao redor da semente o que dificultaria o acesso do oxigênio à esta principal via de entrada do gás (PERRY & HARRISON, 1974; COUMANS, 1978; COUMANS *et al.*, 1979; SANTOS, 1985).

No cultivar Britta aqui estudado, também é provável que partes específicas do pericarpo desempenhem importante papel na absorção do oxigênio, pois em condição de alta hidratação do substrato a porcentagem de germinação de sementes cujo poro basal está voltado para o papel de filtro (posição B) é inferior à obtida com sementes mantidas com o poro basal para cima (posição A), e consequentemente desobs

truído para a entrada do gás. Porém, esse efeito da posição das sementes sobre o substrato muito umedecido é anulado quando o meio é enriquecido com oxigênio ocorrendo neste caso taxas de germinação independentemente da posição em que as sementes são mantidas. Estas taxas são mais elevadas do que aquelas encontradas com sementes mantidas em atmosfera normal. Pode-se sugerir que o pericarpo como um todo absorve o oxigênio, quando este se encontra disponível, e o poro basal tem seu papel na entrada do gás, mais evidenciado,quando está desobstruído e a quantidade de oxigênio no meio é restrita. Esta hipótese pode ser corroborada pela observação de que em condição de substrato pouco umedecido e atmosfera normal não ocorre diferença nas taxas de germinação entre as sementes mantidas nas duas posições distintas. Neste caso a disponibilidade de oxigênio é maior, pois não ocorre a formação do filme de água ao redor da semente, como em substrato excessivamente hidratado.

Em *Blepharis persica* (GUTTERMAN *et al.*,1967) ocorre fenômeno semelhante quanto ao volume de água no substrato influenciando a germinação das sementes intactas, e quando o tegumento é retirado, a germinação apresenta altas taxas,em qualquer nível de hidratação. Os autores explicam os resultados pela formação de mucilagem ao redor da semente, que juntamente com o excesso de água atuaria como uma barreira ao acesso do oxigênio para o embrião. Em beterraba vermelha, HEYDECKER *et al.* (1971), sugeriram também o efeito de mucilagem ao redor do opérculo, o que dificultaria a difusão do gás para o embrião. Porém, PERRY & HARRISON (1974), trabalhando com beterraba açucareira, não encontraram mucilagem no cultivar estudado, discordando desta hipótese.

No cultivar Britta, também não foi observada a formação de mucilagem no envoltório das sementes, durante todo o processo de germinação. No entanto, é conhecido que o pericarpo é constituído por tecido muito poroso (PERRY & HARRISON, 1974) e que é responsável, no caso do cultivar aqui estudado, pela absorção da maior quantidade de água no período de embebição, sendo que a semente verdadeira absorve um volume de água muito pequeno. Dessa maneira o pericarpo, ao absorver e reter a água em seu tecido poroso, poderia oferecer uma barreira, no caso líquida, mas com o mesmo princípio do mecanismo da mucilagem, atuando como uma barreira à difusão do oxigênio para o embrião.

No cultivar aqui estudado, provavelmente o nível baixo de água só é vantajoso para a germinação porque permite um acesso facilitado do oxigênio ao embrião, pois quando o ambiente foi enriquecido com este gás, e havia maior disponibilidade de água (substrato excessivamente umedecido), ocorreu aumento da velocidade de germinação. PERRY & HARRISON (1974), mostraram que a germinação de sementes de beterraba açucareira foi retardada quando o teor de oxigênio era de 5%, ocorrendo, no entanto, inibição de germinação quando havia 1% do mesmo gás no meio, evidenciando, assim, que existe um teor mínimo de oxigênio para que o processo de germinação se inicie.

Outro fator que pode estar associado à inibição da germinação é a presença de substâncias inibidoras no tegumento das sementes. Estas substâncias, quando as sementes são embebidas, se hidratam e podem agir como uma barreira química à difusão do oxigênio, pois podem utilizá-lo em sua oxidação, diminuindo assim a disponibilidade do gás para o

embrião (WERKER, 1980/81). Esse mecanismo foi proposto para sementes de *Pirus malus*, onde fenóis presentes no tegumento competiriam pelo oxigênio disponível no ambiente (CÔME e TISSAOUI, 1973).

A presença de substâncias fenólicas em *Beta vulgaris* tem sido descrita na literatura por vários autores (MITCHELL & TOLBERT,1968; BATTLE & WHITTINGTON,1969; CHIJI *et al.*,1980 e 1984) . HEIDE *et al.* (1976) observaram que extratos nas concentrações de 0,5 a 0,6g de glomérulos de beterraba vermelha inibiram a germinação de sementes lavadas do próprio cultivar. SANTOS(1985) embora não tendo caracterizado quimicamente, evidenciou a presença de substâncias na fração neutra de extratos de sementes de *Beta vulgaris* cv.Kawemwgamono, capazes de inibir a germinação das sementes do próprio cultivar estudado.

No cultivar Britta foi detectado alto nível de substâncias fenólicas que mostraram atividade inibidora ou retardante na germinação de sementes do mesmo cultivar. Porém quando os extratos foram separados com diferentes solventes nenhuma das frações obtidas mostraram efeito inibidor a nível significativo. Este fato poderia ser explicado pela ação conjunta de fenóis de diferentes grupos, e que, quando separados não exibiriam a mesma atividade, ou poderia ter ocorrido oxidação dessas substâncias durante o processo de fracionamento.

Para se verificar a probabilidade desta última alternativa utilizou-se uma substância antioxidante na tentativa de proteger os fenóis da oxidação. Este composto foi anteriormente utilizado para prevenir a oxidação de compostos indólicos durante a extração de auxinas (ERNSTSEN *et al.* , 1986). Em uma das frações (aquosa) foi encontrada atividade que retardou significativamente a germinação, quando a extração foi feita com antioxidante, sugerindo que, pelo menos neste caso, ocorreu perda de atividade na fração sem an

tioxidante. Nos extratos de fenóis totais a ação inibidora na germinação não foi modificada, tanto na presença como na ausência de antioxidante. Há duas explicações possíveis para estes resultados: ou o antioxidante não atuaria nas substâncias fenólicas ou os fenóis não sofreriam oxidação durante a extração. A primeira alternativa pode ser contestada, uma vez que nos extratos fracionados, a fração aquosa apresentou uma diferença na sua atividade, quando o fracionamento foi feito na presença ou ausência de antioxidante. A segunda possibilidade, provavelmente, também pode ocorrer, pois segundo HARBORNE (1973) a extração com álcool fervente poderia evitar a oxidação enzimática dos fenóis, já que este método desnaturaria as fenolases responsáveis por esta reação. Desse modo é provável que durante a extração dos fenóis, sem antioxidante, não ocorra oxidação representativa dessas substâncias.

A ausência de uma inibição mais efetiva dos compostos encontrados nos extratos, na germinação das sementes, pode ainda ser explicada pela possível ocorrência de restrição à penetração dessas substâncias através do pericarpo (MORRIS, *et al.*, 1984). Essa mesma hipótese pode justificar a ausência de efeito inibidor quando substâncias fenólicas exógenas, como cumarina e ácido salicílico foram usados no teste de germinação do cultivar Britta. Outros autores mostraram que ácido ferúlico também não inibe a germinação de sementes desta espécie (HEYDECKER & CHETRAM, 1971; JUNTTILA, 1976; MORRIS *et al.*, 1984). Também é possível que a ausência de efeito destas substâncias esteja relacionada com diferenças na capacidade de metabolismo destas substâncias por diferentes espécies. No caso da cumarina, acredita-se que o

efeito inibidor seja devido aos seus produtos metabólicos, e não à molécula de cumarina em si (MAYER & POLJAKOFF-MAYBER, 1982). Este fato poderia explicar a diversidade de sensibilidade às substâncias inibidoras entre as sementes de diversas espécies.

Outro fator que deve ser considerado quando se estuda a germinação na presença de extrato, é a concentração osmótica resultante dos compostos dissolvidos na solução, ou a toxicidade que substâncias, presentes nos extratos, possam oferecer para a semente. Vários autores atribuem à toxicidade da amônia presente ao redor do glomérulo de *Beta vulgaris* um papel na inibição da germinação das sementes(STOUT & TOLMAN, 1941; RHEM, 1953). Outros atribuem o efeito inibidor de sais presentes na casca dos glomérulos, que reduziria o potencial osmótico do meio (JUNTTILA, 1976; MORRIS *et al.*, 1984).

No cultivar Britta o efeito inibidor ou retardante de germinação causada pelo extrato de sementes foi verificado com as concentrações mais altas do extrato. Estes resultados poderiam ser explicados por um efeito de dose-resposta das substâncias inibidoras ativas, ou por envolvimento de potencial osmótico das soluções resultantes. Soluções de manitol com potencial osmótico semelhante ao das diferentes concentrações de extratos não afetaram, no entanto a germinação das sementes do cv.Britta, sugerindo assim que a inibição causada pelo extrato se deve à ação fisiológica das substâncias presentes.

A lavagem das sementes é um tratamento normalmente feito com o objetivo de retirar possíveis compostos do envoltório da semente que poderiam agir como inibidores da

germinação. Vários autores observaram o efeito promotor da lavagem d a sementes de *Beta vulgaris*, com água, na sua germinação (TOLMAN & STOUT, 1940; BARTHODEISZKY *et al.*, 1965; CHETRAM & HEYDECKER, 1967; BATTLE & WHITTINGTON, 1969; HEYDECKER *et al.*, 1971; LONGDEN, 1976; JUNTTILA, 1976; KHAN *et al.*, 1983; NELSON *et al.*, 1984; SANTOS, 1985.

No entanto este não é um efeito verificado em todos os cultivares estudados, pois a germinação, em alguns casos, foi inibida pela lavagem (RHEM , 1953; HEYDECKER & CHETRAM, 1971). Em outros cultivares, ainda, a lavagem não afeta a germinação da semente (HIBBER & WOODWARK, 1965; MORRIS *et al.*, 1984). Este é o caso do cultivar Britta, aqui estudado. Mesmo com o aumento da duração da lavagem até 24 horas, não ocorreu alteração da germinação (dados n ã o apresentados).

Os resultados apresentados neste trabalho sugerem que o principal fator que interfere na germinação de *Beta vulgaris* cv.Britta é o teor de oxigênio disponível para o embrião, que, em determinadas condições, pode ser restringido pela presença do pericarpo. O fato do pericarpo apresentar um tecido esponjoso e consequentemente reter grande quantidade de água, pode constituir uma barreira física para a difusão do gás, em substrato excessivamente hidratado. O poro basal pode ser visto como uma via importante para o acesso de oxigênio para o embrião, porém este ocorre através de todo o pericarpo. A presença de compostos fenólicos no pericarpo pode também contribuir para o controle da germinação deste cultivar, e sua ação pode ocorrer através de uma redução do nível de oxigênio disponível para o embrião. Assim,o controle da germinação de sementes do cultivar Britta d e

*Beta vulgaris* parece ser exercido por um conjunto de fatores associados, onde, cada um, pode assumir uma maior ou menor importância em situações específicas e diferentes entre si.

# V - R E S U M O

A beterraba açucareira foi introduzida no Brasil para ser utilizada como material alternativo para a produção de álcool e tem, na baixa taxa de germinação o fator que mais afeta a produção. Os baixos níveis de emergência, no campo, e de germinação, em laboratório, têm sido associados à presença do pericarpo que envolve a semente e ao nível de hidratação do meio. Neste trabalho tentou-se elucidar os possíveis mecanismos, que, devido a estes dois fatores, poderiam atuar na inibição da germinação de sementes do cultivar Britta de *Beta vulgaris*.

A germinação das sementes de beterraba açucareira é dependente da hidratação do substrato onde foram colocadas para germinar. Em condição de excesso de água a taxa de germinação foi menor do que aquela em pouca hidratação. Isto parece estar associado ao pericarpo e à absorção de oxigênio pelas sementes, uma vez que, sementes nuas germinam independentemente do nível de umidade, assim como sementes intactas em meio enriquecido com este gás.

Um dos fatores que pode estar associado à inibição da germinação de sementes do cultivar Britta, em condição de excesso de água no meio é a formação de uma barreira líquida, devido ao tecido bastante poroso do pericarpo, que ao

absorver grande quantidade de água durante a embebição, pode retê-la. Isso dificultaria o acesso de oxigênio do meio para o embrião, já que em meio líquido a difusão desse gás é menor que no ar, diminuindo assim a disponibilidade do gás para o embrião.

A presença de fenóis no pericarpo e o seu efeito na inibição ou redução de germinação das sementes do cultivar estudado, pode ser outro fator que também atua no processo de germinação. Estas substâncias ao se oxidarem, competiriam pelo oxigênio disponível no meio, diminuindo assim o seu teor.

O poro basal desempenha o papel de principal via de acesso de oxigênio para o embrião, pois quando a semente está numa posição onde este poro se encontra obstruído, a taxa de germinação é menor do que em casos onde isto não ocorre. Porém quando o meio tem alto teor de oxigênio, o efeito de posição é anulado. Desse modo o papel de poro basal fica mais evidente nos casos onde há excesso de umidade no meio, o que deixaria o pericarpo como um todo muito embebido.

A taxa de germinação é alta em condição de pouca água no substrato provavelmente devido ao acesso facilitado do oxigênio através do pericarpo, e não por se constituir este nível de hidratação ideal para germinação deste cultivar.

# V I - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


ADDICOTT, F.T. & LYON, J.L. 1969. Physiology of Abscisic acid and related substances. *Annu.Rev.Plant Physiol. 20*: 139-164.

AKESON, W.R., HENSON, M.A., FREYTAG, A.H. & WESTFALL, D. G. 1980. Sugarbeet fruit germination and emergence under moisture and temperature stress. *Crop Sci. 20*: 735-739.

AMARAL, J.D. 1978. A *beterraba sacarina*. Lisboa, Clássica Editora. 606p.

BARTHODEISZKY, A., GÁSPÁR, S. & KISS, E. 1965. Studies on the possibility to terminate the lability of germination in the seeds of beet (*Beta vulgaris* L.) *Proc. Int. Seed Test. Ass. 30*: 677-688.

BATTLE, J.P. & WHITTINGTON, W.J. 1969. The relation between inhibitory substances and variability in time to germination of sugar beet clusters. *J.Agric.Sci.Camb. 73*: 337-345.

BEWLEY, J.D. & BLACK, M. 1978. *Physiology and biochemistry of seeds*. Springer-Verlag. Vol.I, New York. 306p.

BEWLEY, J.D. & BLACK, M. 1982. *Physiology and biochemistry of seeds*. Springer-Verlag. Vol.II, New York. 375p.

BLACK, M. 1959. Dormancy studies in seed of *Avena fatua*. I-the possible role of germination inhibitors. *Can.J.Bot. 37*: 393-402.

BLACK, M. & WAREING, P.F. 1959. The role of germination inhibitors and oxygen in the dormancy of the light-sensitive seed of *Betula spp J.Exp.Bot. 10*: 134-145.

BRADBEER, J.W. 1968. Studies in seed dormancy. IV-the role of endogenous inhibitors and gibberellin in the dormancy and germination of *Corylus avellana* L.seeds. *Planta 78*: 266-276.

CHETRAM, R.S. & HEYDECKER, W. 1967. Moisture sensitivity, mechanical injury and gibberellin treatment of *Beta vulgaris* seeds. *Nature 215*: 210-211.

CHIJI, H., TANAKA, S. & IZAWA, M. 1980. Phenolic germination inhibitors in the seed balls of red beet (*Beta vulgaris* L.var.rubra). *Agric.Biol.Chem. 44*: 205-207.

CHIJI, H., GIGA, T., IZAWA, M. & KIRIYAMA, S. 1984. T w o phenolic amides in the seed balls of sugar beet (*Beta vulgaris* L.var.saccharifera Alefeld). *Agric.Biol.Chem. 48*: 1653-1654.

CÔME, D. & TISSAOUI, T. 1973. Interrelated effects of imbibition, temperature and oxygen on seed germination. *In* HEYDECKER, W., Ed. *Seed Ecology*. Butterworths, London, pp. 157-168.

CÔME, D., PERINO, C. & RALAMBOSOA, J. 1985. Oxygen sensitivity of apple (*Pyrus malus* L.) embryos in relation to dormancy. *Israel J. Bot. 34*: 17-23.

COUMANS, M. 1978. Rôle du pore basal dans la germination du glomérule de betterave sucrière. *Biol. Plant. 20*: 114-118.

COUMANS, M., CEULEMANS, E. & GÁSPÁR, T. 1977. Dormance statilisée de semences de betterave sucrière. II-Rôle del' acide abscissique. *Physiol. Vég.15*: 589-595.

COUMANS, M., CEULEMANS, E. & GÁSPÁR, T. 1979. Stabilized dormancy in sugarbeet fruits. III-Water sensitivity. *Bot. Gaz. 140*: 389-392.

COUMANS, M., CEULEMANS, E. & GÁSPÁR, T. 1980. Dormance stabilisée de semences de betterave sucrière: désoperculation mécanique des fruits. Parte IV. *Biol.Plant. 22*: 135-142.

COUMANS, M., CÔME, D., GÁSPÁR, T. 1976. Stabilized dormancy in sugarbeet fruits. I-Seed coats as a phisicochemical barrier to oxygen. *Bot.Gaz. 137*: 274-278.

DASBERG, S. & MENDEL, K. 1971. The effect of soil water and aeration on seed germination. *J.Exp.Bot. 22*: 992-998.

DURHAM, V.M. & WELLINGTON, P.S. 1961. Studies on the germination of cereals. 4-The oxygen requirement for germination of wheat grains during maturation. *Ann.Bot. 25*: 197-205.

ERNSTSEN, A., SANDBERG, G. & CROSIER, A. 1986. Effects of sodium diethyldithiocarbamate, solvent, temperature and plant extracts on the stability of indoles. *Physiol. Plant 68*: 519-522.

EVENARI, M. 1949. Germination inhibitors. *Bot.Rev. 15*: 153-194.

FAHN, A. & WERKER, E. 1972. Anatomical mechanisms of seed dispersal. *In* KOZLOWSKI, T.T. (eds.) *Seed Biology*. Academic Press, New York. 151-221pp.

FRANCOIS, L.E. & GOODIN, J.R. 1972. Interaction of temperature and salinity on sugar beet germination. *Agron. J. 64*: 272-273.

GARNER, F.H. & SANDERS, H.G. 1932. Investigations in crop husbandry. I-The effects of seed treatments on the germination and yield of sugar beet. *J.Agric.Sci. 22*: 551-559.

GHERARDI, E. 1974. Promotores e Inibidores de crescimento em sementes de *Carica papaya* L. *Tese de Mestrado*. Escola Paulista de Medicina.

GHERARDI, E. & VALIO, I.F.M. 1976. Occurrence of promoting and inhibitory substances in the seed arils of *Carica papaya* L. *J.Hortic.Sci. 51*: 1-14.

GOFF, E.S. 1897. The influence of varying amounts of water on the germination of beet seed. *Report Univ. Wisconsin* 1897: 299-302.

GUTTERMAN, Y., WITZTUM, A. & EVENARI, M. 1967. Seed dispersal and germination in *Blepharis persica* (Burn.) Kuntze. *Israel J.Bot. 16*: 213-234.

HARBORNE, J.B. 1973. Methods of plant analysis in phytochemical methods. *Phytochemical Methods*. London, 1-26pp.

HAY, J.R. 1962. Experiments on the mechanism of induced dormancy in wild oats, *Avena fatua* L. *Can.J.Bot.40*: 191-202.

HEIDE, O.M., JUNTTILA, O. & SAMUELSEN, R.T. 1976. Seed germination and bolting in red beet as affected by parent plant environment. *Physiol.Plant. 36*: 343-349.

HEYDECKER, W. & CHETRAM, R.S. 1971. Water relations of beetroot seed germination. I-Microbial factors, with special reference to laboratory germination. *Ann.Bot. 35*: 17-29.

HEYDECKER, W. & ORPHANOS, P.I. 1968. The effect of excess moisture on the germination of *Spinacea oleracea* L. *Planta 83*: 237-247.

HEYDECKER, W., CHETRAM, R.S. & HEYDECKER, J.C. 1971. Water relations of beetroot seed germination. II-Effects of the ovary cap and of the endogenous inhibitors (*Beta vulgaris* L.). *Ann.Bot. 35*: 31-42.

HIBBERT, D. & WOODWARK, W. 1965. The effect of various analytical factors on the germination test results obtained on some British sugar beet seeds. *Proc.Int.Seed Test. Ass. 30*: 689-704.

JOLY, C.A. & FELIPPE, G.M. 1979. Dormência das sementes de *Rapanea guianensis* Aubl. *Rev. Bras. Bot. 2*: 1-6.

JOLY, C.C., FELIPPE, G.M., DIETRICH, S.M.C. & CAMPOS-TAKAKI, G.M. 1980. Physiology of germination and seed gel analysis in two populations of *Magonia pubescens* St. Hil. *Rev.Bras.Bot. 3*: 1-9.

JUNTTILA, O. 1976. Germination inhibitors in fruit extracts of red beet (*Beta vulgaris* cv. rubra). *J. Exp. Bot. 27*: 827-836.

KEFELI, V.I. 1978. Principles of analysis of phytohormones and natural growth inhibitor. *In Natural plant growth inhibitors and phytohormones*. Hague. Boston 9-43pp.

KHAN, A.A., PECK, N.H., TAYLOR, A.G. & SAMIMY, C. 1983. Osmoconditioning of beet seeds to improve emergence and yield in cold soil. *Agr. J.* 75: 788-794.

KOCK, P.C., HUNTER, R.F. & MACDONALD, I.R. 1953. A germination inhibitor from sugar-beet. *J.Exp.Bot.* 4: 272-282.

KOLLER, D., MAYER, A.M., POLJAKOFF-MAYBER, A. & KLEIN, S. - 1962. Seed germination. *Annu.Rev.Plant Physiol.* 13: 437-464.

LERNER, H.R., MAYER, A.M. & EVENARI, M. 1959. The nature of the germination inhibitors present in dispersal units of *Zygophyllum dumosum* and *Trigonella arabica*. *Physiol.Plant.* 12: 245-250.

LONGDEN, P.C. 1976. Seed treatments to lengthen the sugar-beet growing period. *Ann.Appl.Biol.* 83: 87-92.

MAYER, A.M. & POLJAKOFF-MAYBER, A. 1982. *The germination of seeds*. Pergamon Press. 3nd Ed. New York. 211p.

MEHANNA, H.T. & MARTIN, G.C. 1985. Effect of seed coat on peach seed germination. *Sci.Hort.* 25: 247-254.

MITCHELL, E.D.Jr. & TOLBERT, N.E. 1968. Isolation from sugar beet fruit and characterization of cis-4-cyclohexene-1,2-dicarboximide as a germination inhibitor. *Biochemistry* 7: 1019-1025.

MORINAGA, T. 1926. The favorable effect of reduced oxygen

supply upon the germination of certain seeds. *Am.J.Bot.* *13*: 159-166.

MORRIS, P.C., GRIERSON, D.G. & WHITTINGTON, W.J. 1984. Endogenous inhibitors and germination of *Beta vulgaris*. *J. Exp.Bot.* *35*: 994-1002.

MORRIS, P.C., GRIERSON, D.G. & WHITTINGTON, W.J. 1985. The influence of fruit structure on germination of sugar beet (*Beta vulgaris*). *Seed Sci. Technol.* *13*: 41-51.

MOTT, J.J. 1974. Mechanisms controlling dormancy in the arid zone grass *Aristida contorta*. I-Physiology and mechanisms of dormancy. *Aust. J.Bot.* *22*: 635-645.

NELSON, J.M., JENKINS, A. & SHARPLES, G.C. 1984. Soaking and other seed pretreatment effects on germination and emergence of sugarbeets at high temperature. *J.Seed Technol.* *9*: 79-86.

PERRY, D.A. 1973. Studies on field stablishment of monogerm sugar beet. *J.Agric.Sci.* Camb. *81*: 245-252.

PERRY, D.A. & HARRISON, J.G. 1974. Studies on the sensitivity of monogerm sugar beet germination to water. *Ann.Appl.Biol.* *77*: 51-60.

PORTER, N.G. & WAREING, P.F. 1974. The role of the oxygen permeability of the seed coat in the dormancy of seed of *Xanthium pennsylvanicum* Walb. *J.Exp.Bot.* *25*: 583-594.

REHM, S. 1953. The origin of toxic ammonia in germinating garden beet seed. *J.Hortic.Sci.* *28*: 1-13.

SALISBURY, F.B. & ROSS, C. 1969. Osmosis and the components of water potencial. *In Plant Physiology*. Wadsworth Publ. Company, California. 52-77pp.

SANTOS, D.S.B. 1985. *Germinação de sementes de Beta vulgaris* L. cv.Kawemegamono. *Tese de Doutorado*. UNICAMP. 166p.

SHULL, C.A. 1914. The role of oxygen in germination. *Bot. Gaz. 57*: 64-69.

SIEGEL, S.M. & ROSEN, L.A. 1962. Effects of reduced oxygen tension on germination and seedling growth. *Physiol.Plant. 15*: 437-444.

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

STOUT, M. & TOLMAN, B. 1941. Factors affecting the germination of sugar-beet and other seeds, with special reference to the toxic effects of ammonia. *J.Agric. Research 63*: 687-713.

SWAIN, T. & HILLIS, W.E. 1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I-The quantitative analysis of phenolic constituents. *J.Sci.Food Agric. 10*: 63-68.

TAKAHASHI, N. 1985. Inhibitory effects of oxygen on the germination of *Oryza sativa* L. seeds. *Ann.Bot.55*: 597-600.

TOLMAN, B. & STOUT, M. 1940. Toxic effect on germinating sugar-beet seed of water-soluble substances in the seed ball. *J.Agric.Res. 61*: 817-830.

VALIO, I.F.M. 1973. Effect of endogenous coumarin on the

SALISBURY, F.B. & ROSS, C. 1969. Osmosis and the components of water potencial. *In Plant Physiology*. Wadsworth Publ. Company, California. 52-77pp.

SANTOS, D.S.B. 1985. *Germinação de sementes de Beta vulgaris* L. cv.Kawemegamono. *Tese de Doutorado*. UNICAMP. 166p.

SHULL, C.A. 1914. The role of oxygen in germination. *Bot. Gaz*. 57: 64-69.

SIEGEL, S.M. & ROSEN, L.A. 1962. Effects of reduced oxygen tension on germination and seedling growth. *Physiol.Plant*. *15*: 437-444.

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

STOUT, M. & TOLMAN, B. 1941. Factors affecting the germination of sugar-beet and other seeds, with special reference to the toxic effects of ammonia. *J.Agric. Research 63*: 687-713.

SWAIN, T. & HILLIS, W.E. 1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I-The quantitative analysis of phenolic constituents. *J.Sci.Food Agric. 10*: 63-68.

TAKAHASHI, N. 1985. Inhibitory effects of oxygen on the germination of *Oryza sativa* L. seeds. *Ann.Bot.55*: 597-600.

TOLMAN, B. & STOUT, M. 1940. Toxic effect on germinating sugar-beet seed of water-soluble substances in the seed ball. *J.Agric.Res. 61*: 817-830.

VALIO, I.F.M. 1973. Effect of endogenous coumarin on the

germination of seeds of *Coumarouna odorata* Aublet. *J.Exp. Bot.* 24: 442-449.

VAN STADEN, J. & BROWN, N.A.C. 1973. The role of the covering structures in the germination of seed of *Leucospermum cordifolium* (Proteaceae). *Aust.J.Bot.* 21: 189-192.

VILLIERS, T.A. 1972. Seed dormancy. *In* KOZLOWSKI, T.T.(eds.) *Seed Biology*. Academic Press, New York. 219-281pp.

WERKER, E. 1980/81. Seed dormancy as explained by the anatomy of embryo envelopes. *Israel J.Bot.* 29: 22-44.