

**EFEITO DO ÁCIDO SULFÚRICO CONCENTRADO SOBRE O POTENCIAL
FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE *Brachiaria brizantha* (A. Rich.) Stapf cv.
'MARANDU' E *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick. cv. 'TULLY'
DURANTE O ARMAZENAMENTO.**

CECI CASTILHO CUSTÓDIO

Orientador: Prof. Dr. VICTOR JOSÉ MENDES CARDOSO

Tese apresentada ao Instituto de Biociências da
Universidade Estadual Paulista, Campus de Rio
Claro, para a obtenção do título de Doutor em
Ciências Biológicas (Área de Concentração: Biologia
Vegetal).

Rio Claro

Estado de São Paulo - Brasil

Dezembro de 2000

Custódio, Ceci Castilho

Efeito do ácido sulfúrico concentrado sobre o potencial fisiológico de sementes de *Brachiaria brizantha* (A. Rich.) Stapf cv. 'Marandu' e *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick. cv. 'Tully'

Tese – Doutorado – Instituto de Biociências – Universidade Estadual Paulista.

1. Semente, Brachiaria. 2. Germinação, Dormência, Armazenamento

CDD 633.2

Ao Nelson,

companhia, amor, inspiração,

alicecerce;

Aos meus pais,

Miguel e Dirce

motivos de orgulho e exemplos de dedicação;

Aos meus tios,

Dorival (in memoriam) e Eunice,

Que ao me acolherem, me possibilitaram

infinitas oportunidades, inclusive esta;

Ao Helder, único irmão,

pelas alegrias.

A todos dedico

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Victor José Mendes Cardoso pela orientação segura e por jamais ter perdido a sua confiança, até mesmo quando, por vezes, vacilei.

Ao Prof. Dr. Massanori Takaki pelo estímulo e incentivo.

Aos demais professores do Departamento de Botânica pelos ensinamentos, companhia e convivência.

Aos funcionários do Instituto de Biociências de Rio Claro pela paciência com que nos atendem e pela manutenção da ordem e limpeza, sem as quais qualquer trabalho seria impossível.

Aos colegas de Pós-Graduação pela amizade, carinho e incentivos, em especial a Simone, Gláucia, Dora, Débora, Viviane, Raquel, Sert, Cláudia, Denise.

Ao amigo Gustavo pelas discussões científicas, companhia em algumas disciplinas e convivência agradável fora da Universidade.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela bolsa de estudos concedida.

Às Empresas Sementes Facholi e Sementes Matsuda pela doação das sementes utilizadas neste estudo.

À Universidade do Oeste Paulista por permitir a realização de parte das atividades em suas instalações.

Aos funcionários da Universidade do Oeste Paulista pela atenção e paciência com que me atenderam. Especial agradecimento a Célia, funcionária do Laboratório de Análise de Sementes por todo carinho que sempre me dedicou.

ÍNDICE

1- INTRODUÇÃO	11
2- REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 - PRODUÇÃO DE SEMENTES.....	14
2.2 – GERMINAÇÃO E DORMÊNCIA	17
2.3. SUPERAÇÃO DA DORMÊNCIA EM GRAMÍNEAS FORRAGEIRAS.....	25
2.4 – ARMAZENAMENTO E DETERIORAÇÃO	32
3- MATERIAL E MÉTODOS.....	40
3.1 – GERMINAÇÃO.....	42
3.1.1 - <i>Experimentos 1 e 2 - Preliminares</i>	42
3.1.1.1 Caracterização inicial das sementes	42
3.1.1.2. Experimento 1	43
3.1.1.3 - Experimento 2.....	44
3.1.2 - <i>Experimento 3</i>	45
3.1.3 - <i>Experimento 4</i>	47
3.1.4 - <i>Experimento 5</i>	47
3.2 – DETERMINAÇÕES BIOQUÍMICAS	48
3.2.1 - <i>Atividade de peroxidase</i>	48
3.2.2 - <i>Atividade de amilase</i>	49
3.2.3 - <i>Análise da composição química das sementes</i>	50
3.2.4 - <i>Lixiviação de potássio</i>	50
4- RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
4.1 - GERMINAÇÃO	52
4.1.1 - <i>Experimentos 1 e 2</i>	52
4.1.1.1 - Experimento 1.....	53
4.1.1.1.1 - <i>Brachiaria brizantha</i>	55
4.1.1.1.2 - <i>Brachiaria humidicola</i>	59
4.1.1.2 - Experimento 2.....	64
4.1.1.2.1 - <i>Brachiaria brizantha</i>	65
4.1.1.2.2 - <i>Brachiaria humidicola</i>	70
4.1.1.3 - Considerações gerais sobre os experimentos 1 e 2.....	75
4.1.2.1 - <i>Brachiaria brizantha</i>	79
4.1.2.2 - <i>Brachiaria humidicola</i>	88
4.1.2.3 - Considerações gerais sobre o experimento 3.....	97
4.1.3 - <i>Experimento 4</i>	100
4.1.3.1 - <i>Brachiaria brizantha</i>	102
4.1.3.2 - <i>Brachiaria humidicola</i>	111
4.1.3.3 - Considerações gerais sobre o experimento 4.....	121
4.1.4.1 - <i>Brachiaria brizantha</i>	129
4.1.4.2 - <i>Brachiaria humidicola</i>	139
4.1.4.3 - Considerações gerais sobre o experimento 5.....	148
4.2 - DETERMINAÇÕES BIOQUÍMICAS	153
4.2.1 - <i>Brachiaria brizantha</i>	153
4.2.1.1 - Atividade de peroxidase	153
4.2.1.2 - Atividade de amilase total.....	160
4.2.1.3 – Composição de Macronutrientes e Lixiviação de potássio	162
4.2.2 - <i>Brachiaria humidicola</i>	167
4.2.2.1 - Atividade de peroxidase	167
4.2.2.2 - Atividade de amilase total.....	173
4.2.2.3 – Composição de Macronutrientes e Lixiviação de potássio	175
4.2.3 - <i>Considerações gerais sobre as determinações bioquímicas</i>	180
4.3 – CONSIDERAÇÕES FINAIS	184
5 - CONCLUSÕES	186
6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	187

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Esquema da análise de variância dos dados de germinação para cada espécie, critério de germinação e índice de velocidade de germinação obtidos no Experimento 1. Presidente Prudente, 1997.....	43
Tabela 2: Esquema da análise de variância dos dados de germinação para cada espécie, critério de germinação e índice de velocidade de germinação obtidos no Experimento 2. Presidente Prudente, 1997.....	45
Tabela 3: Esquema da análise de variância dos dados de germinação para cada espécie, safra, critério de germinação e índice de velocidade de germinação, obtidos no Experimento 3. Presidente Prudente, 1997.....	46
Tabela 4: Esquema da análise de variância dos dados de atividade total e específica de peroxidase para cada espécie, sublote e estado da semente obtidos no Experimento 5. Rio Claro, 1998.....	49
Tabela 5: Esquema da análise de variância dos dados de atividade de amilase total para cada espécie, obtidos no Experimento 5. Rio Claro, 1998.	50
Tabela 6: Equações lineares obtidas através da calibração do fotômetro de chama em padrão 20 ppm K para leitura 100 e respectivos coeficientes de determinação (R^2) obtidos no teste de lixiviação de potássio no Experimento 5. Rio Claro, 1998.....	51
Tabela 7: Esquema da análise de variância dos dados de lixiviação de potássio para cada espécie, obtidos no Experimento 5. Rio Claro, 1998.	51
Tabela 8: Resultados médios obtidos nos testes de tetrazólio e de determinação do grau de umidade, nas sementes os três lotes de <i>Brachiaria brizantha</i> e de <i>Brachiaria humidicola</i> . Presidente Prudente, 1997.....	53
Tabela 9: Resultados médios obtidos no teste de massa de 100 sementes em <i>Brachiaria brizantha</i> e <i>Brachiaria humidicola</i> para os três lotes de cada espécie. Presidente Prudente, 1997.....	53
Tabela 10: Valores de F obtidos nas análises de variância dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), critério protrusão de raiz primária (CPRP) e índice de velocidade de germinação (IVG) em três lotes de sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> e <i>Brachiaria humidicola</i> produzidos na safra 95/96 durante o experimento 1. Presidente Prudente, 1997.....	54
Tabela 11: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de três lotes de <i>Brachiaria brizantha</i> produzidos na safra 95/96 durante o experimento 1. Presidente Prudente, 1997.....	56
Tabela 12: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de três lotes de <i>Brachiaria brizantha</i> produzidos na safra 95/96 durante o experimento 1. Presidente Prudente, 1997.....	57
Tabela 13: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de três lotes de <i>Brachiaria brizantha</i> produzidos na safra 95/96 durante o experimento 1. Presidente Prudente, 1997.	58
Tabela 14: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de três lotes de <i>Brachiaria humidicola</i> produzidos na safra 95/96 durante o experimento 1. Presidente Prudente, 1997.....	61
Tabela 15: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de três lotes de <i>Brachiaria humidicola</i> produzidos na safra 95/96 durante o experimento 1. Presidente Prudente, 1997.....	62
Tabela 16: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de três lotes de <i>Brachiaria humidicola</i> produzidos na safra 95/96 durante o experimento 1. Presidente Prudente, 1997.	63
Tabela 17: Valores de F obtidos nas análises de variância dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), critério protrusão de raiz primária (CPRP) e índice de velocidade de germinação (IVG) em três lotes de sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> e <i>Brachiaria humidicola</i> produzidos na safra 95/96 durante o experimento 2. Presidente Prudente, 1997.....	65
Tabela 18: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de três lotes de <i>Brachiaria brizantha</i> produzidos na safra 95/96 durante o experimento 2. Presidente Prudente, 1997.....	67
Tabela 19: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de três lotes de <i>Brachiaria brizantha</i> produzidos na safra 95/96 durante o experimento 2. Presidente Prudente, 1997.....	68
Tabela 20: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de três lotes de <i>Brachiaria brizantha</i> produzidos na safra 95/96 durante o experimento 2. Presidente Prudente, 1997.	69
Tabela 21: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de três lotes de <i>Brachiaria humidicola</i> produzidos na safra 95/96 durante o experimento 2. Presidente Prudente, 1997.....	72
Tabela 22: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de três lotes de <i>Brachiaria humidicola</i> produzidos na safra 95/96	

durante o experimento 2. Presidente Prudente, 1997.....	73
Tabela 23: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de três lotes de <i>Brachiaria humidicola</i> produzidos na safra 95/96 durante o experimento 2. Presidente Prudente, 1997.	74
Tabela 24: Valores de F obtidos nas análises de variância dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), critério protrusão de raiz primária (CPRP) e índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> , lotes 3 e 4, durante o experimento 3. Presidente Prudente, 1997.	79
Tabela 25: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> , lote 3, experimento 3. Presidente Prudente, 1997.....	81
Tabela 26: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> , lote 3, experimento 3. Presidente Prudente, 1997.....	82
Tabela 27: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> , lote 3, experimento 3. Presidente Prudente, 1997.	83
Tabela 28: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> , lote 4, experimento 3. Presidente Prudente, 1997.....	85
Tabela 29: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> , lote 4, experimento 3. Presidente Prudente, 1997.....	86
Tabela 30: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> , lote 4, experimento 3. Presidente Prudente, 1997.	87
Tabela 31: Valores de F obtidos nas análises de variância dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), critério protrusão de raiz primária (CPRP) e índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de <i>Brachiaria humidicola</i> , lotes 3 e 4, o experimento 3. Presidente Prudente, 1997.....	88
Tabela 32: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de <i>Brachiaria humidicola</i> , lote 3, experimento 3. Presidente Prudente, 1997.....	90
Tabela 33: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de <i>Brachiaria humidicola</i> , lote 3, experimento 3. Presidente Prudente, 1997.	91
Tabela 34: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de <i>Brachiaria humidicola</i> , lote 3, experimento 3. Presidente Prudente, 1997.	92
Tabela 35: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de <i>Brachiaria humidicola</i> , lote 4, experimento 3. Presidente Prudente, 1997.....	94
Tabela 36: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de <i>Brachiaria humidicola</i> , lote 4, experimento 3. Presidente Prudente, 1997.	95
Tabela 37: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de <i>Brachiaria humidicola</i> , lote 4, experimento 3. Presidente Prudente, 1997.	96
Tabela 38: Valores de F obtidos nas análises de variância dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), critério protrusão de raiz primária (CPRP) e índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> , lotes 3 e 4, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.	102
Tabela 39: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> , lote 3, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.....	104
Tabela 40: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> , lote 3, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.....	105
Tabela 41: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> , lote 3, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.	106
Tabela 42: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> , lote 4, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.....	108
Tabela 43: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> , lote 4, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.....	109
Tabela 44: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> , lote 4, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.	110

Tabela 45: Valores de F obtidos nas análises de variância dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), critério protrusão de raiz primária (CPRP) e índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de <i>Brachiaria humidicola</i> , lotes 3 e 4, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.....	112
Tabela 46: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de <i>Brachiaria humidicola</i> , lote 3, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.....	114
Tabela 47: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de <i>Brachiaria humidicola</i> , lote 3, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.....	115
Tabela 48: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de <i>Brachiaria humidicola</i> , lote 3, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.....	116
Tabela 49: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de <i>Brachiaria humidicola</i> , lote 4, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.....	118
Tabela 50: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de <i>Brachiaria humidicola</i> , lote 4, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.....	119
Tabela 51: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de <i>Brachiaria humidicola</i> , lote 4, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.....	120
Tabela 52: Valores de F obtidos nas análises de variância dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), critério protrusão de raiz primária (CPRP) e índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> , lotes 3 e 4, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.....	130
Tabela 53: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> , lote 3, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.....	132
Tabela 54: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> , lote 3, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.....	133
Tabela 55: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> , lote 3, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.....	134
Tabela 56: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> , lote 4, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.....	136
Tabela 57: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> , lote 4, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.....	137
Tabela 58: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> , lote 4, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.....	138
Tabela 59: Valores de F obtidos nas análises de variância dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), critério protrusão de raiz primária (CPRP) e índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de <i>Brachiaria humidicola</i> , lotes 3 e 4, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.....	139
Tabela 60: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de <i>Brachiaria humidicola</i> , lote 3, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.....	141
Tabela 61: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de <i>Brachiaria humidicola</i> , lote 3, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.....	142
Tabela 62: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de <i>Brachiaria humidicola</i> , lote 3, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.....	143
Tabela 63: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de <i>Brachiaria humidicola</i> , lote 4, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.....	145
Tabela 64: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de <i>Brachiaria humidicola</i> , lote 4, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.....	146
Tabela 65: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de <i>Brachiaria humidicola</i> , lote 4, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.....	147

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Determinação do grau de umidade (%) obtidos imediatamente antes e após o tratamento com o ácido sulfúrico e após a secagem ao ar, nas sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> , lote 3 (A) e lote 4 (B), experimento 3. Presidente Prudente, 1997.	77
Figura 2: Determinação do grau de umidade (%) obtidos imediatamente antes e após o tratamento com o ácido sulfúrico e após a secagem ao ar, nas sementes de <i>Brachiaria humidicola</i> , lote 3 (A) e lote 4 (B), experimento 3. Presidente Prudente, 1997.	78
Figura 3: Determinação do grau de umidade (%) obtidos imediatamente antes e após o tratamento com o ácido sulfúrico e após a secagem ao ar, nas sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> , lote 3 (A) e lote 4 (B), experimento 4. Presidente Prudente, 1997.	100
Figura 4: Determinação do grau de umidade (%) obtidos imediatamente antes e após o tratamento com o ácido sulfúrico e após a secagem ao ar, nas sementes de <i>Brachiaria humidicola</i> , lote 3 (A) e lote 4 (B), experimento 4. Presidente Prudente, 1997.	101
Figura 5: Determinação do grau de umidade (%) obtidos imediatamente antes da instalação do experimento 5 (A) e após embebição por 24 horas a 30°C (B) nas sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> , lotes 3 e 4, escarificadas e armazenadas por oito meses. Presidente Prudente, 1998.	127
Figura 6: Determinação do grau de umidade (%) obtidos imediatamente antes da instalação do experimento 5 (A) e após embebição por 24 horas a 30°C (B) nas sementes de <i>Brachiaria humidicola</i> , lotes 3 e 4, escarificadas e armazenadas por oito meses. Presidente Prudente, 1998.	128
Figura 7: Resultados médios da determinação, por trinta minutos, da atividade total (A) e específica (B) de peroxidase em sementes não embebidas de <i>Brachiaria brizantha</i> , lote 3, experimento 5. Rio Claro, 1998.	156
Figura 8: Resultados médios da determinação, por trinta minutos, da atividade total (A) e específica (B) de peroxidase em sementes embebidas de <i>Brachiaria brizantha</i> , lote 3, experimento 5. Rio Claro, 1998.	157
Figura 9: Resultados médios da determinação, por trinta minutos, da atividade total (A) e específica (B) de peroxidase em sementes não embebidas de <i>Brachiaria brizantha</i> , lote 4, experimento 5. Rio Claro, 1998.	158
Figura 10: Resultados médios da determinação, por trinta minutos, da atividade total (A) e específica (B) de peroxidase em sementes embebidas de <i>Brachiaria brizantha</i> , lote 4, experimento 5. Rio Claro, 1998.	159
Figura 11: Resultados médios da determinação de atividade total de amilase em sementes embebidas de <i>Brachiaria brizantha</i> , lotes 3 e 4, experimento 5. Rio Claro, 1998.	161
Figura 12: Resultados da análise da composição química de macronutrientes em sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> , lotes 3 (A) e 4(B), experimento 5. Rio Claro, 1998.	164
Figura 13: Resultados médios de lixiviação de potássio em função de diferentes tempos para realização da leitura e tratamentos nas sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> , lote 3 (A) e lote 4 (B), experimento 5. Rio Claro, 1998.	165
Figura 14: Resultados médios de lixiviação de potássio em função de diferentes tratamentos nas sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> , lotes 3 e 4, experimento 5. Rio Claro, 1998.	166
Figura 15: Resultados médios da determinação, por trinta minutos, da atividade total (A) e específica (B) de peroxidase em sementes não embebidas de <i>Brachiaria humidicola</i> , lote 3, experimento 5. Rio Claro, 1998.	169
Figura 16: Resultados médios da determinação, por trinta minutos, da atividade total (A) e específica (B) de peroxidase em sementes embebidas de <i>Brachiaria humidicola</i> , lote 3, experimento 5. Rio Claro, 1998.	170
Figura 17: Resultados médios da determinação, por trinta minutos, da atividade total (A) e específica (B) de peroxidase em sementes não embebidas de <i>Brachiaria humidicola</i> , lote 4, experimento 5. Rio Claro, 1998.	171
Figura 18: Resultados médios da determinação, por trinta minutos, da atividade total (A) e específica (B) de peroxidase em sementes embebidas de <i>Brachiaria humidicola</i> , lote 4, experimento 5. Rio Claro, 1998.	172
Figura 19: Resultados médios da determinação de atividade total de amilase em sementes embebidas de <i>Brachiaria humidicola</i> , lotes 3 e 4, experimento 5. Rio Claro, 1998.	174
Figura 20: Resultados da análise da composição química de macronutrientes em sementes de <i>Brachiaria humidicola</i> , lote 3 (A) e lote 4 (B), experimento 5. Rio Claro, 1998.	177
Figura 21: Resultados médios de lixiviação de potássio em função de diferentes tempos para realização da leitura e tratamentos nas sementes de <i>Brachiaria humidicola</i> , lote 3 (A) e lote 4 (B), experimento 5. Rio Claro, 1998.	178
Figura 22: Resultados médios de lixiviação de potássio em função de diferentes tratamentos nas sementes de <i>Brachiaria humidicola</i> , lotes 3 e 4, experimento 5. Rio Claro, 1998.	179

RESUMO

Espécies de *Brachiaria* são de grande importância, como forrageiras, sendo o Brasil um dos principais produtores e exportadores de sementes dessas espécies. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do ácido sulfúrico concentrado, sobre o potencial fisiológico das sementes de *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria humidicola*, decorrente do uso imediato ou após armazenamento, isoladamente ou combinado ao uso de ácido giberélico e nitrato de potássio. O estudo compreendeu 5 experimentos sendo os 2 primeiros, com três lotes de cada espécie, preliminares, e os 3 últimos, com dois lotes de cada espécie, o estudo do tratamento das sementes com ácido sulfúrico concentrado e seus efeitos imediatos e após armazenamento destas, sendo feitas avaliações de porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação, atividades de peroxidase e amilase e teste de lixiviação de potássio. As sementes de *Brachiaria brizantha* respondem favoravelmente ao tratamento com ácido sulfúrico para superação de dormência, principalmente por 10 minutos, mesmo durante o armazenamento, podendo este ser utilizado para avaliação da germinação, em análises de sementes, ou em larga escala pela indústria de sementes, enquanto que, sementes de *Brachiaria humidicola* não devem ser tratadas com ácido sulfúrico. Sementes escarificadas com ácido sulfúrico podem ser armazenadas, por oito meses à 25°C, sem redução da germinação e da velocidade de germinação, não diferindo, neste período, do armazenamento das sementes intactas. Os tratamentos com nitrato de potássio e ácido giberélico não foram efetivos para a superação da dormência. O teste de lixiviação de potássio e as determinações de atividades enzimáticas, foram importantes para avaliação do potencial fisiológico das sementes e do tratamento para superação de dormência com ácido sulfúrico.

PALAVRAS-CHAVE: germinação, vigor, armazenamento, ácido sulfúrico, ácido giberélico, nitrato de potássio.

ABSTRACT

Brachiaria species have a great importance as forage, being Brazil one of the main producers and exporters of these species seeds. The objective of this work was to evaluate the effect of the treatment with sulphuric acid of *Brachiaria brizantha* and *Brachiaria humidicola* seeds, immediately or after storage, alone or combined with gibberelic acid or potassium nitrate. There were five experiments done. Preliminary, the first 2, with three seed lots of each species, and the last 3, the study of sulphuric acid treatment in seeds and its effects after treatment and after seed storage, with two seed lots of each species. Evaluations were made using germination percentages, germination speed index, peroxidase and amylase activities determination and potassium leakage studies. *Brachiaria brizantha* seeds had their highest germination after ten minutes of exposition to sulphuric acid, as dormancy breaking treatment, even when they were stored. Sulphuric acid treatment could be used for germination test, in seed analysis, or in wide scale by the seed industry. However, *Brachiaria humidicola* seeds did not allow sulphuric acid treatment. Sulphuric acid scarified seeds, could be stored, during eight months at 25°C, without germination percentage or germination speed reduction in relation of intact seeds. Potassium nitrate and gibberelic acid treatment were not effective for dormancy breaking. Potassium leakage test and enzymatic activity determinations were important to evaluate the seeds physiological potential and the sulphuric acid dormancy breaking treatment.

KEYWORDS: germination, vigour, storage, sulphuric acid, gibberellic acid, potassium nitrate

1- INTRODUÇÃO

Algumas espécies do gênero *Brachiaria* são de grande importância para os países de clima tropical, sendo utilizadas como pastagem em uma grande área (28%) do continente Sul Americano, em especial no Brasil, Colômbia, Paraguai e Venezuela (Vera et al., 1992). Somente no Brasil entre 30 e 70 milhões de hectares são pastagens de *Brachiaria* (Miles et al., 1996).

O potencial dessa espécie forrageira foi primeiramente reconhecido, por volta de 40 anos atrás, em algumas áreas restritas da Austrália tropical. Apenas há 25 - 30 anos foram largamente disseminados na América Tropical. No Brasil, entre 1972 e 1975, foram importados 2.000.000 kg de *Brachiaria decumbens* cv. 'Basilisk' da Austrália (Thomas & Grof, 1986).

A utilização de espécies de *Brachiaria* vem crescendo dentro e fora do Brasil. Outros países como Colômbia, México, países da América Central, Caribe e até Estados Unidos têm aumentado a utilização de sementes deste gênero. No Brasil, o aumento se deve a crescente substituição de pastagens nativas e de outros gêneros por *Brachiaria*, pela incorporação de áreas antes não utilizadas pela pecuária, bem como pela reforma de pastagens que se tornaram degradadas, pois algumas espécies do gênero têm se sobressaído quanto à adaptação a solos ácidos e pobres (Rao et al., 1996; Santos Filho, 1996). Seis espécies de *Brachiaria* são importantes como pastagens e, portanto, para a produção em larga escala de sementes. São elas *Brachiaria decumbens* cv. 'Basilisk', *Brachiaria humidicola* cv. 'Tully', *Brachiaria brizantha* cv. 'Marandu' e cv. 'La Libertad', *Brachiaria mutica*, *Brachiaria ruziziensis* e *Brachiaria dictyoneura* cv. 'Llanero' (Hopkinson et al., 1996).

A crescente ocupação do cerrado, no início dos anos 70, impulsionou a produção de sementes, de *Brachiaria decumbens*, em larga escala, o que, poucos anos mais tarde, fez do Brasil o principal produtor, com cerca de 98% da produção mundial de sementes das espécies de *Brachiaria* (Hopkinson et al., 1996). Atualmente a produção brasileira de sementes de *Brachiaria* se encontra em torno de 100.000.000 kg/ano, enquanto que aproximadamente 10% desse montante é exportado (Santos Filho, 1996).

O mercado interno de sementes de *Brachiaria* ainda é pouco exigente em qualidade, tanto física como fisiológica, aceitando sementes com no mínimo 60% de germinação e 40% de pureza física. Todavia, o mercado externo exige sementes com alta pureza (95%) e germinação (90%) e ainda, muitas vezes, escarificadas com ácido sulfúrico para, entre outros motivos, garantir a liberação de quarentena (Santos Filho, 1996). Assim sendo, o estudo da longevidade de sementes armazenadas, em especial das escarificadas quimicamente, têm sido apontado como importante (Santos Filho, 1996; Previero et al., 1998a).

Apesar do sucesso e expansão do setor de produção de sementes de *Brachiaria*, alguns pontos precisam ser melhor estudados, como os aspectos relacionados às dinâmicas de germinação e dormência, bem como o efeito dos períodos de armazenamento sobre o potencial fisiológico e dormência das sementes.

Em *Brachiaria*, dois tipos de dormência são relatados, a dormência relacionada ao embrião, de curta duração, e a imposta pelos envoltórios, de longa duração, persistindo mesmo em sementes armazenadas por longos períodos (Simpson, 1990). Produtos como, ácido giberélico e nitrato de potássio, atuam na superação de dormência relacionada ao embrião, enquanto que o ácido sulfúrico atua na dormência imposta pelos envoltórios.

No início do armazenamento, os dois tipos de dormência estariam envolvidos, e portanto, o uso conjunto de ácido sulfúrico, nitrato de potássio e ácido giberélico, poderiam atuar na superação da dormência das sementes. Com o envelhecimento, a dormência imposta pelo embrião deixaria de atuar, restando somente a imposta pelos envoltórios, superada com o uso de ácido

sulfúrico. Por outro lado, o armazenamento das sementes escarificadas com ácido sulfúrico, permitiria maior exposição aos fatores ambientais, como por exemplo, gases e umidade relativa, favorecendo o envelhecimento e a perda de vigor.

A superação de dormência e os tratamentos comumente empregados para tal, em laboratórios de análises, como a escarificação química com ácido sulfúrico concentrado e o uso de nitrato de potássio, precisam ser profundamente estudados. Estes tratamentos, bem como o uso de ácido giberélico, têm produzido resultados diversos, de acordo com a literatura, tanto para *Brachiaria brizantha*, como para *Brachiaria humidicola*.

Muitos dos resultados obtidos para superação de dormência em sementes de *Brachiaria* revelam que o período de armazenamento foi determinante para o sucesso ou não das técnicas empregadas. De fato, interferências no metabolismo respiratório e nas propriedades das membranas, que são eventos associados com o processo de envelhecimento (Woodstock et al., 1985; Wilson & McDonald, 1986; Basavarajappa et al., 1991), tem sido estudados em relação ao processo de dormência (Swamy & Narasimha Reddy; 1977; Weges & Karssen, 1990; Voll et al., 1997). Assim, testes que avaliam a integridade dos sistemas de membranas celulares, como o teste de lixiviação de potássio (Granqvist, 1987; Marcos Filho et al., 1990; Lott et al., 1991; Dias et al., 1996; Custódio & Marcos Filho, 1997), bem como, verificações de atividade de algumas enzimas podem ser valiosos em estudos com sementes que apresentam dormência.

Nesse sentido, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do ácido sulfúrico concentrado, sobre o potencial fisiológico das sementes de *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria humidicola*, decorrente do uso imediato ou após armazenamento, isoladamente ou combinado ao uso de ácido giberélico e nitrato de potássio.

2- REVISÃO DE LITERATURA

2.1 - Produção de sementes

A produção de sementes inclui alguns fatores principais como localidade para desenvolvimento da cultura, sistema de manejo, época e método de colheita e atenção aos problemas de qualidade de semente. (Carmo et al., 1988; Cardozo et al., 1991; Castro et al., 1994b; Hopkinson et al. 1996; Carvalho & Nakagawa, 2000).

Para as sementes da maioria das espécies forrageiras a necessidade de sincronização da maturação da semente depende do método de colheita. Quando a colheita é feita por uma única ação de separação da semente da planta a sincronização é importante. Se, no entanto, a colheita é feita por acumulação da semente caída (varredura) a sincronização é menos importante. Assim, entre as espécies de *Brachiaria* comumente utilizadas para pastagem e com produção de semente em larga escala, a maturação das sementes de *Brachiaria humidicola* é altamente sincronizada enquanto que a de *Brachiaria brizantha* é menos sincronizada, no pico de produção, com uma única colheita, apenas 10% da produção de sementes se encontra em ponto de colheita (Hopkinson et al., 1996).

Em larga escala, com mão-de-obra barata e uma estação seca, como em partes do Brasil, sementes de *Brachiaria decumbens* e *Brachiaria brizantha* são deixadas cair, acumularem-se no chão e, mais tarde, varridas e recolhidas manualmente (método da varredura). Já existem máquinas, no

entanto, que executam coleta das sementes através de sucção pneumática ou varredura mecânica. O uso de colhedoras combinadas, onde as sementes são colhidas diretamente da planta, é viável, para *Brachiaria humidicola*, onde a sincronização de maturação permite este tipo de colheita (Souza, 1991).

Convencionalmente a qualidade das sementes compreende quatro atributos: genético, físico, fisiológico e sanitário. O potencial fisiológico compreende a inter-relação de processos complexos, como o desenvolvimento da semente e sua maturação, a dormência, a germinação e a deterioração. A vitalidade está intimamente relacionada ao processo de deterioração que, por sua vez, pode ser considerado uma continuação do processo de desenvolvimento e maturação. Hopkinson et al. (1996) ressaltaram que, em *Brachiaria*, lotes com alta vitalidade somente podem ser obtidos se as sementes tiverem a oportunidade de completar a maturação. Porém, um certo nível de sementes imaturas, freqüentemente ao redor de 30%, é um componente inevitável da semente colhida da planta, uma consequência da imperfeita sincronização da maturação, enquanto as sementes deixadas cair da planta são completamente maduras.

A prática da secagem também tem sido alvo de estudos, mostrando que secagem rápida após a maturidade fisiológica pode comprometer a qualidade das sementes (Hopkinson et al., 1988). Após a completa maturação, a secagem foi eficiente em prolongar a manutenção do potencial fisiológico ao longo de armazenamento prolongado (Magalhães & Groth, 1992; Previero et al., 1998b).

Em gramíneas o termo 'semente' é comumente usado para descrever uma unidade de dispersão constituída de um fruto do tipo cariopse e seus envoltórios. Em *Brachiaria* sp. as sementes fisicamente puras poderão ser: espiguetas que são constituídas de glumas superior e inferior, lema e pálea envolvendo a cariopse, mais lema estéril aderida; antécio, constituído por lema e pálea envolvendo a cariopse; cariopses nuas ou pedaços de cariopses maiores que metade do tamanho original (Brasil, 1992). O embrião, em muitas gramíneas, é usualmente menor que metade do comprimento da cariopse e formado pelo eixo embrionário e o escutelo (único cotilédone). O restante é

ocupado pelo endosperma que, em gramíneas, é constituído, quase que totalmente, por células não vivas, na maturidade, pois o conteúdo citoplasmático foi preenchido por reservas durante o desenvolvimento. A parte externa do endosperma conserva um tecido vivo remanescente, a camada de aleurona, que não armazena reservas, mas é responsável pela liberação de enzimas hidrolíticas (Bewley e Black, 1994). O escutelo é a estrutura mais visível e tipicamente tem a função de, durante a germinação, alongar as suas células epiteliais aumentando a superfície para absorção de produtos hidrolisados das reservas endospermáticas. Também estão envolvidas na secreção de reguladores de crescimento e hidrolases, tais como, giberelinas, amilases e outros. As giberelinas também ativam a camada de aleurona para mobilizar as reservas endospermáticas as quais são absorvidas pelo escutelo (Simpson, 1990).

Tanto o controle do desenvolvimento do embrião, como a dormência primária, têm continuamente sido associados à presença de ácido abscísico durante o desenvolvimento da semente. O conteúdo de ABA tem sido mensurado em sementes em desenvolvimento de um grande número de espécies. Caracteristicamente o conteúdo de ácido abscísico aumenta durante a primeira metade do desenvolvimento e declina durante o final da maturação, quando o conteúdo de água decresce. Muitas vezes dois picos de ABA ocorrem, como em feijão e ervilha. O ABA tem sido encontrado no embrião, endosperma, testa e nos tecidos da planta mãe como o fruto, pericarpo e tecido locular. A ação do ABA foi relacionada a alguns processos, tais como acúmulo de reservas protéicas, supressão da germinação precoce em trigo e cevada (Marshall & Grace, 1992), indução de proteínas LEA (Late Embriogenesis Abundant Proteins) e indução de tolerância a dessecação. Muitas destas evidências são baseadas em ocorrência simultânea da elevação do conteúdo de ABA com o processo específico, ou sobre efeitos de ABA exógeno sobre estes processos (Misra, 1994; Hilhorst, 1995; McCarty, 1995).

2.2 – Germinação e dormência

O processo de germinação inicia-se com uma rápida absorção de água pelos biocolóides, ocorrendo a hidratação de todos os tecidos a expansão do tegumento envolvente (McDonald et al., 1994; Woodstock, 1988; Carvalho & Nakagawa, 2000). Com a absorção da água, as células do embrião tornam-se ativas, expandem-se e iniciam seu crescimento antes da ruptura do tegumento, ou mesmo, antes das principais substâncias de reserva serem mobilizadas.

Há pouca informação sobre o papel desempenhado pelas substâncias reguladoras de crescimento na germinação em si. Apesar de ter sido demonstrado que, as substâncias reguladoras de crescimento estão envolvidas na regulação e coordenação do crescimento de todas plantas, nos diversos estágios de desenvolvimento, não há indícios claros de que elas estejam envolvidas no controle do desenvolvimento do embrião durante a germinação. A aplicação exógena de substâncias reguladoras de crescimento em embriões, com certeza, afeta o crescimento destes. O ácido abscísico (ABA), por exemplo, inibe fortemente o crescimento do embrião, mas isso não comprova que as substâncias reguladoras de crescimento possam novamente estar envolvidas (Bewley & Black, 1994; Carvalho & Nakagawa, 2000).

A única prova convincente do envolvimento de substâncias reguladoras de crescimento na germinação refere-se à mobilização de reservas para o desenvolvimento de embriões em gramíneas (Simpson, 1990, Bewley & Black, 1994; Carvalho & Nakagawa, 2000).

O amido, que é, dentre os carboidratos, o principal armazenado, até degradar-se em forma solúvel e utilizável (glicose), necessita sofrer a ação de enzimas específicas. As duas enzimas iniciais são a alfa e beta amilase que apresentam atividades complementares. A alfa-amilase age tanto na amilose quanto na amilopectina e as transforma numa complexa mistura de oligossacarídeos solúveis (dextrina). A beta-amilase agindo sobre estes oligossacarídeos libera unidades de dissacarídeos, a maltose. Esta por sua vez, pela ação da maltase ou alfa-glucosidase, é degradada a glicose. Da glicose obtida, algumas unidades são empregadas na síntese de sacarose, que são translocadas para outras partes, onde podem ser reconvertidas em glicose

ou utilizadas diretamente na síntese. A glicose pode ser oxidada através da glicólise e ciclo de Krebs, originando ATP, o qual será utilizado na produção de energia. Os estudos sobre alfa e beta-amilase em sementes de *Avena sativa* em germinação mostram que a beta-amilase, presente na semente seca, é reativada durante a embebição, enquanto que a alfa-amilase é sintetizada durante as primeiras fases da germinação, por estímulo de reguladores de crescimento de plantas, às expensas, provavelmente, de aminoácidos originados de corpúsculos de proteínas hidrolisadas e com energia fornecida da atividade de fosforilação da glicólise e respiração. Com a absorção de água, o embrião sintetiza e libera giberelinas que se movem através do endosperma e dão início a formação de alfa-amilase na camada de aleurona, bem como outras enzimas (Simpson, 1990; Nandi et al., 1995; Shephard et al., 1996; Carvalho & Nakagawa, 2000).

Os grãos de cevada podem ser cortados em duas metades, uma contendo o embrião e outra contendo grande parte do endosperma. Se ambas as metades forem postas a germinar, a metade sem embrião não exibirá nenhum aumento na atividade das enzimas hidrolíticas, como a alfa-amilase. No entanto, se a metade do grão sem embrião for posta a germinar em contato com ácido giberélico (GA), ocorre aumento normal da atividade enzimática e da hidrólise das reservas (Foley et al., 1993; Bewley & Black, 1994; Carvalho & Nakagawa, 2000).

Quando o endosperma é constituído de células vivas, não há indícios claros de que o embrião controle a hidrólise das reservas do endosperma via secreção de substâncias reguladoras de crescimento. Finalmente, para aquelas sementes nas quais as reservas são depositadas em outra parte do embrião, principalmente nos cotilédones, começa a ficar evidente que o crescimento do do eixo embrionário, não exerce nenhuma influência hormonal sobre a hidrólise de reservas (Bryant, 1989; Bewley & Black, 1994; Carvalho & Nakagawa, 2000).

Assim, várias hipóteses têm sido sugeridas para explicar o efeito de ativação enzimática de órgãos separados dos eixos embrionários por ácido giberélico, mas a questão ainda está aberta à especulação. Uma sugestão

aponta a existência de um efeito direto sobre a transcrição, mas outras sugestões preferem o envolvimento de uma tradução ampliada do mRNA. De qualquer modo, não está claro se a giberelina atua num nível primário sobre a síntese de alfa-amilase, ou se o aumento de produção desta é consequência de uma cadeia de eventos controlados pela giberelina (Hilhorst, 1995).

A síntese e secreção de alfa-amilase e outras hidrolases ácidas da camada de aleurona de cereais é regulada por fitohormônios, GA₃ e ABA (Fincher, 1989; Sanwo & DeManson, 1994). O cálcio também é requerido para a síntese e secreção de alfa-amilase pelo tecido de aleurona (Jones & Jacobsen, 1983). A alfa-amilase de cevada é uma metaloproteína contendo Ca²⁺, e a ligação de um íon de Ca²⁺ para cada molécula de amilase é requerida para a atividade enzimática e estabilidade protéica (Bush et al., 1989b). Um dos efeitos de GA₃ na camada de aleurona de cevada é estimular o transporte de Ca²⁺ para dentro do lúmen do retículo endoplasmático (RE). Os efeitos de GA₃ sobre o transporte de Ca²⁺ e sobre a síntese e secreção de alfa-amilase são inibidos por ABA (Bush et al, 1989a).

Jones & Bush (1991) propuseram que uma proteína, denominada BiP (Binding Protein) é uma proteína ligada a Ca²⁺, presente na membrana do RE, cuja síntese é regulada por GA₃ e ABA. Desta maneira duas hipóteses são prováveis: GA₃ e ABA poderiam afetar a síntese de alfa-amilase por regulação da transcrição de genes de alfa-amilase, como propõem vários autores entre eles Fincher (1989) e Lenton et al. (1994), ou afetar a síntese e a secreção de alfa-amilase por regulação do transporte de Ca²⁺ e síntese de BiP. Propõem ainda que BiP regula síntese de alfa-amilase por catalisar a dobradura da molécula de amilase, e isto regula a secreção de alfa-amilase por tamponar o lúmen do RE com Ca²⁺.

A dormência de sementes, em biologia, é ainda um dos fenômenos menos entendidos enquanto que outras áreas tiveram considerável progresso nas últimas décadas. O fato da dormência ser mensurada através da germinação, tem levado freqüentemente a interpretações errôneas devido à interferência com processos relacionados à germinação (Simpson, 1990, Hilhorst, 1995). Esta é apontada como uma possível causa que tem impedido

progresso sistemático nas pesquisas (Hilhorst, 1995). Recentemente tem sido publicado revisões discutindo este problema (Hilhorst & Karssen, 1992; Bewley e Black, 1994; Vleeshouwers et al., 1995).

A classificação em dormência primária e secundária, introduzida por Crocker em 1916 (Vleeshouwers et al., 1995), tem sido geralmente aceita, quando a dormência primária está essencialmente relacionada ao desenvolvimento e maturação das sementes, e a dormência secundária com ocorrência após a dispersão das sementes e está, freqüentemente, sujeita a ciclos anuais de dormência no banco de sementes, sendo reversível.

Porém, esta classificação está baseada no momento de instalação e não em fatores endógenos ou exógenos que controlam a dormência, mas que não, necessariamente, implicam em mecanismos ou modos diferentes de regulação (Hilhorst, 1995).

Classificações frequentes foram baseadas em respostas das sementes a condições específicas, por exemplo, fotodormência para expressar dormência induzida por luz ou termodormência para indicar o papel de temperaturas elevadas na indução de dormência. Todos estes termos são descritivos e não fazem distinção entre diferenças verdadeiras nas formas de dormência, simplesmente porque não se conhece muito sobre os mecanismos.

Geralmente, os pesquisadores classificam dois tipos de locais específicos de dormência nas sementes: dormência no embrião, quando o mecanismo de dormência se encontra no próprio embrião; e dormência imposta pelo tegumento ou envoltórios, quando está localizada nas estruturas que envolvem o embrião. Ambos os tipos de dormência existem simultaneamente ou sucessivamente em muitas espécies (Simpson, 1990; Bewley & Black, 1994)

A dormência imposta pelos envoltórios, em geral, ocorre em sementes que possuem tegumento, pericarpo ou outras estruturas duras ou espessas que impõe uma alta resistência mecânica ao embrião freqüentemente, não dormente, ou bloqueio à absorção de água e/ou difusão de oxigênio.

Com relação às outras formas de dormência, como imaturidade do

embrião e dormência fisiológica, pouco se esclareceu com relação aos mecanismos que as controlam. Alguns autores acreditam que ambas podem ser reguladas por mecanismos parecidos, tendendo a considerá-las em um mesmo grupo (Amen, 1968¹, citado por Carvalho & Nakagawa, 2000).

Os mecanismos de dormência podem envolver inibidores químicos da germinação, e há uma variedade de substâncias reguladoras de crescimento, naturais e sintéticas, que podem ou imitar ou reverter os efeitos inibitórios. Por outro lado, o ácido giberélico pode promover germinação em sementes com ambas as formas de dormência (Simpson, 1990).

Novas proposições tem sido lançadas com relação à dormência fisiológica e ao papel das substâncias reguladoras de crescimento, quer seja com relação a dormência primária ou a secundária (Bianco et al, 1994; Vleeshouwers et al., 1995; Hilhorst, 1995). Sabe-se que, em muitas espécies, sementes maduras e desidratadas são ainda dormentes e um armazenamento adicional, em atmosfera seca, é necessário e suficiente para supressão da dormência (Hilhorst, 1995). Estudos fisiológicos, em sementes de *Avena fatua*, mostraram que a quebra de dormência, por armazenamento em atmosfera seca, é caracterizada por um aumento na sensibilidade aos fatores que estimulam germinação tais como nitrogênio, nitrato e GA₃ (Adkins e Simpson, 1988).

Mutantes para deficiência de substâncias reguladoras de crescimento de *Arabidopsis thaliana* estão sendo úteis para estabelecer o papel de ABA e GA₃ na transição entre o estado dormente e não dormente (Hilhorst & Karssen, 1992). Está definido que ABA exerce um papel chave durante o desenvolvimento de dormência primária e que GA_s estão envolvidas na indução da germinação. O uso de um inibidor da síntese de ABA permitiu demonstrar que a indução de dormência no embrião pode estar associada com a síntese de ABA no eixo ou seja, a supressão da síntese de ABA no eixo do embrião, induzida durante o armazenamento, parece necessária, para a perda da dormência e, por esta razão, constitui pré requisito para o estabelecimento dos eventos metabólicos que predispõe as sementes para germinação (Bianco

¹ AMEN, R. D. A model of seed dormancy. **Botanical Review**, v. 34, n. 1, p. 1-31, 1968.

et al., 1994).

Em alguns casos, onde os tecidos envoltórios restringem o embrião, é necessário enfraquecê-los quimicamente antes que a radícula possa emergir. Este enfraquecimento é causado por enzimas produzidas sobre a influência do embrião: sementes dormentes falham em produzir estas enzimas. Em tomate, por exemplo, embriões de sementes dormentes não provocam o aparecimento da enzima mananase, requerida para a degradação das paredes celulares do endosperma - o tecido que impõe a dormência (Liu et al., 1996). Uma situação similar parece existir em alface e cevada (Bewley & Black, 1994).

Pesquisas recentes têm apontado que o ABA está envolvido na inibição da elongação celular do embrião durante o desenvolvimento da semente, relacionado com a supressão do 'afrouxamento' da parede celular. Além disso afeta a regulação do turgor por meio de modulação da 'flexibilidade' da parede celular.

A 'flexibilidade' da parede celular ou 'afrouxamento' depende de ligações da parede com cadeias de polissacarídeos (principalmente xilose, manose, glucose e galactose). Estas ligações são mediadas por enzimas como a XET (Xiloglucano Endo-transglucolase) que media a clivagem e ressíntese de xiloglucanos (maior esqueleto de hemicelulose da parede celular primária) e endo-beta-mananase responsável pela hidrólise de manose. Há indícios da ação de ABA e GA sob estas enzimas (Hilhorst, 1995) e de ABA na síntese de parede celular (Wakabayashi et al., 1991).

Estudos morfogênéticos têm mostrado a ação do ABA na morfogênese das estruturas da semente, que contribuem para o processo germinativo. Como exemplos, Hilhorst (1995) cita que mutantes ABA deficientes e ABA insensíveis de *Arabidopsis* apresentam reduzida camada de mucilagem recobrindo a testa. Em tomate, o mutante ABA deficiente apresenta apenas uma camada de células na testa, enquanto que o tipo selvagem apresenta cinco camadas de células. Em resumo, o ABA pode ter papel importante na formação dos integumentos ou testa, traduzidos por alterações fisiológicas como aumentos das taxas de absorção de água e O₂, que em última análise, afetam a germinação.

Parece haver uma interação entre ação do ABA e o ambiente osmótico onde está inserido o embrião. Em *Arabidopsis* ABA-mutante, ocorre maior sensibilidade ao estresse hídrico. Existem evidências que o ABA está combinado com o ambiente osmótico para prevenir germinação precoce, porém a ação é diferente. O ABA inibe a absorção de água por impedir o 'afrouxamento' da parede celular das células dos embriões. Mantém um turgor mínimo e decresce a flexibilidade da parede. Já, o ambiente osmótico, age prevenindo a absorção de água pelo embrião por abaixamento do turgor. O ABA tem ainda papel relevante na tolerância a dessecação durante o final da fase de maturação. Neste sentido foi comprovado que o duplo mutante ABA-deficiente (*aba-1*, *abi 3-1*) de *Arabidopsis* é intolerante à dessecação (Hilhorst, 1995).

Durante o desenvolvimento da semente, estresse hídrico, temperatura e fotoperíodo exercem ação sobre ABA e GA tanto quantitativamente quanto em relação a sensibilidade, alterando o grau de dormência da semente formada (Bewley & Black, 1994).

Porém, apesar de praticamente todos os estudos presumirem o envolvimento de ABA na dormência Hilhorst (1995) ressalta a recente identificação de um mutante de *Arabidopsis thaliana* *dor-1* e *dor-2*. Estes mutantes perderam a dormência, mas não têm sido mostrada mutação para ABA (*abi* ou *aba*).

A atividade metabólica de sementes, incluindo síntese de ácidos nucléicos e proteínas, e aspectos do metabolismo respiratório - trocas gasosas, produção de ATP, via pentoses-fosfato e glicólise, tem sido investigada em relação ao término de dormência por luz, resfriamento, armazenamento e substâncias reguladoras de crescimento, tais como GA. Os resultados, no entanto, indicam poucas evidências de qualquer diferença metabólica entre sementes dormentes e não dormentes quanto a síntese de RNA ou proteínas, quanto ao consumo de oxigênio ou produção de ATP. O conceito de que a via pentoses-fosfato tem um papel importante na quebra de dormência de semente se difundiu largamente a partir de estudos sobre o efeito de certos químicos sobre a dormência. A dormência de muitos tipos de sementes (alface e várias

gramíneas) é quebrada por aplicação de inibidores da respiração incluindo aí substâncias que inibem a oxidação final e o ciclo do ácido tricarboxílico na mitocôndria (cianeto e malonato) e algumas que inibem glicólise (fluoreto). Aceptores de elétrons tais como nitrato, nitrito, e azul de metileno também podem quebrar dormência assim como altas concentrações de oxigênio. Uma explicação para o efeito dessas substâncias é que o consumo de oxigênio pela respiração convencional é bloqueado pelos inibidores, e o oxigênio então torna-se disponível para outras rotas, sendo sugerida a via pentoses-fosfato como sendo uma das principais.

No entanto Bewley & Black (1994) afirmam que há dúvida na literatura sobre a viabilidade da hipótese do término da dormência requerer um interruptor no metabolismo respiratório em direção ao aumento da via pentoses-fosfato mas ressaltam que uma rota respiratória 'alternativa' não inibida por cianeto e, portanto, que não usa o mecanismo normal de oxidação terminal tem sido sugerida como importante na terminação da dormência. Ainda, com relação ao metabolismo, Cohn (1996) considera que substâncias químicas como nitrito, ácido propiônico, metil propionato, propionaldeído e propanol são rapidamente absorvidas e metabolizadas e que podem estar envolvidas com rápida mudança no pH das células por direcionar o metabolismo ou para absorção ou produção de um ácido fraco. Tal mudança no pH citoplasmático seria o gatilho ou responsável pela quebra de dormência.

Factivemente, o aumento dos conteúdos de GA ou o aumento na sensibilidade a este regulador de crescimento tem papel tão importante quanto a própria redução dos níveis de ABA no término da dormência (Bradford & Trewavas, 1994). A teoria do balanço hormonal permanece válida na medida que o processo de quebra de dormência constitui uma crescente capacidade de síntese e/ou incremento na sensibilidade a GA em adição a uma possível lixiviação e/ou inativação de ABA, sendo ambos determinados por fatores ambientais tais como luz, temperatura, presença de nitratos e níveis de O₂ ou CO₂ nos tecidos da semente (Hilhorst, 1995).

2.3. Superação da dormência em gramíneas forrageiras

A dormência, durante os estágios finais do amadurecimento, é obviamente, vantajosa para a planta já que representa uma barreira para a germinação da semente madura, ou quase madura, ainda presa a planta mãe. Nos embriões maduros e desidratados, há indícios, em muitas espécies, de um aumento de ABA impondo a dormência. Apesar da grande maioria das sementes passar por este estado durante o amadurecimento, boa parte das sementes usadas na agricultura e horticultura supera sua dormência pouco depois ou imediatamente antes da abscisão da planta mãe.

Tal característica é, sem dúvida, muito útil ao agricultor e é resultado da seleção feita em muitas gerações para evitar a dormência. A seleção para evitar a dormência de longa duração, entretanto, não tem sido totalmente bem sucedida com todas as sementes de hortícolas, floríferas e gramíneas tropicais (Bryant, 1989). Tal dormência em um produto comercial é pouco vantajosa, pois dificulta muito a previsão do desempenho germinativo e concorre para a desuniformidade do plantio.

O teste de germinação é uma maneira, muito utilizada, de monitoramento do valor de um lote de sementes para a agricultura. No entanto, nessa análise dois problemas são particularmente relevantes para as gramíneas tropicais: primeiro a baixa pureza física e segundo, muitos dos propágulos com sementes bem formadas mostram pronunciada dormência (Goedert, 1984).

A pesquisa sobre dormência mostra que, para sua superação necessita ser considerada a interação de vários agentes de quebra de dormência. Goedert (1984) em seu trabalho com cinco espécies de gramíneas tropicais demonstrou que o uso simultâneo de três destes agentes foram especialmente valiosos - alternância de temperaturas, luz e íons nitrato.

Alternância de temperatura parece ser um fator estimulatório da germinação, como em *Brachiaria humidicola* (Oliveira & Mastrocola, 1983; Goedert & Roberts, 1986), em *Brachiaria brizantha* (Carneiro, 1994) e *Brachiaria dyctioneura* (Herrera, 1997). No entanto, ressaltam Goedert & Roberts (1986) que o período em que a temperatura alta foi aplicada, durante a

maior parte do ciclo de 24 horas, tende a ser muito menos estimulatório. Lima & Cardoso (1996) observaram, em sementes de *Brachiaria decumbens*, que não só o regime de luz (branco, vermelho, vermelho distante ou escuro) como o de temperatura (constante ou alternada) não afetaram a germinação.

As substâncias reguladoras de crescimento das plantas mostram algum tipo de ligação na quebra da dormência entre dois fatores diferentes: luz e frio, especialmente nas espécies em que qualquer um desses elementos é efetivo (Bryant, 1989). As espécies de gramíneas tropicais, como é o caso de *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria humidicola*, apresentam alguma dependência de luz e de temperatura para a germinação e, portanto, a quebra da dormência deve ser causada pela mudança no balanço entre substâncias inibidoras de crescimento da planta, como o ácido abscísico (ABA), e substâncias promotoras de crescimento, como o ácido giberélico (GA), citocinina e etileno.

Não se sabe, entretanto, de que maneira a luz, atuando via fitocromo, influencia os níveis de substâncias de crescimento, apesar de haver alguns indícios de que o fitocromo afeta a síntese e o transporte do ácido giberélico. Da mesma forma que ocorre em relação aos inúmeros efeitos das substâncias de crescimento, o mecanismo pelo qual eles induzem ou quebram a dormência não é, na realidade, reconhecido. Mudanças na permeabilidade das membranas, por conseguinte, no movimento dos íons, estão envolvidos na ação dos reguladores de crescimento (Bewley & Black, 1994; Carvalho & Nakagawa, 2000).

Hou & Simpson (1993) estudando o efeito da combinação de qualidade de luz, injúria mecânica na cariopse e aplicação de ácido giberélico, encontraram resultados que sugerem que a dormência de linhas silvestres de *Avena fatua* foi quebrada por GA₃ de uma maneira diferente que injúria mecânica. Enquanto a promoção da germinação, por injúria mecânica, foi atribuída ao aumento do potencial hídrico, em regiões próximas ao embrião, a função do GA₃ nas sementes foi atribuída a um rearranjo de processos metabólicos.

Diversos trabalhos, no entanto, têm mostrado que a aplicação de ácido giberélico exógeno, em combinação com outros fatores, produz um

aumento na germinação de diversas espécies, entre eles, Goedert (1984) com gramíneas forrageiras tropicais; Rodrigues et al. (1986) com *Brachiaria humidicola*; Bevilaqua et al. (1993a, 1993b) com arroz; Richa & Sharma (1994) com bambu; Voll et al. (1996) com *B. plantaginea*; Vieira et al. (1998a, 1998c) com *Brachiaria brizantha*. Por outro lado, o uso de ácido giberélico não foi efetivo em alguns casos, em *Brachiaria brizantha* (Garcia & Cícero, 1992) e em embriões muito jovens de trigo (Dubert et al., 1993).

A quebra de dormência em laboratório é útil, pois traz subsídios que futuramente poderão ser utilizados em campo. Os estudos com *Brachiaria brizantha* tem sido conduzidos usando-se escarificação química com ácido sulfúrico concentrado, cujo efeito tem sido atribuído ao favorecimento da difusão do oxigênio através das glumas (Castro & Alvarenga, 1996; Carvalho & Nakagawa, 2000).

Dentre os resultados, Dias & Toledo (1993a,b, 1994) verificaram que a escarificação, por 13 minutos, não promoveu aumento na germinação tanto de *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria decumbens*, mas contribuiu para diminuir o nível de incidência de fungos. Faria et al. (1996), também, não encontraram resultados positivos da utilização de escarificação com ácido sulfúrico, por 10 minutos, nas espécies *Brachiaria humidicola*, *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria decumbens*. Previero et al. (1998a) também não encontraram alterações na qualidade fisiológica das sementes de *Brachiaria brizantha*, submetidas a escarificação ácida em escala comercial. Resultados negativos para *B. humidicola* foram obtidos por Atalla & Tosello (1979), Oliveira & Mastrocola (1983), Goedert (1984), Macedo et al. (1994) e Ruiz et al. (1996). Entre os trabalhos, que verificaram efeito positivo da escarificação ácida, pode-se citar Castro et al. (1994a), trabalhando com 20 minutos de escarificação, e Martins & Lago (1996), com 15 minutos, ambos com *Brachiaria brizantha*; Freitas et al. (1990) trabalhando com *Brachiaria plantaginea* e 30 minutos de escarificação; Ruiz et al. (1996) trabalharam com 9 espécies de *Brachiaria*, entre elas *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria brizantha*, *Brachiaria ruziziensis*, *Brachiaria dictyoneura* encontrando efeito positivo da escarificação para todas com exceção de *Brachiaria humidicola* que respondeu negativamente ao tratamento

ácido.

A dormência das sementes do gênero *Brachiaria* tem mostrado uma grande relação com o período de armazenamento. Armazenamento prolongado, sem perda de viabilidade tem sido reportado. Oliveira & Mastrocola (1984) citam para *Brachiaria decumbens* e *Brachiaria humidicola* manutenção da viabilidade por 20 a 24 meses. Flores (1996), trabalhando com diferentes condições de armazenamento para *B. dictyoneura*, observou que sob condições ambientes a viabilidade foi mantida a 82-90%, por 10 meses e decresceu, a partir de então, enquanto que o máximo de germinação foi 54% aos 7 meses de armazenamento. Rivero & Espinosa (1988) avaliaram o tempo de armazenamento sobre a dormência de *Brachiaria decumbens*; o máximo de germinação foi alcançado aos 207 e aos 325 dias, dependendo do local de produção e data de colheita. Gonzalez et al. (1993) afirmaram que as condições de armazenamento tiveram efeito significativo sobre a germinação porque *Brachiaria decumbens* cv. 'Basilisk' exibiu dormência pós-colheita que podia ser reduzida por armazenamento, sob condições ambientes por 6 meses ou controladas (5-10°C) por 12 a 16 meses.

Ruiz et al. (1996), trabalhando com 9 espécies de *Brachiaria*, mostraram que, apenas o armazenamento não foi suficiente para quebrar a dormência, pois o tratamento químico de escarificação com ácido sulfúrico aumentou a germinação de sementes armazenadas, por 11 meses (*Brachiaria decumbens*) e por 14 meses (*Brachiaria dictyoneura*). Vieira et al. (1998b) comprovaram que a temperatura de armazenamento afetou o comportamento da dormência das sementes de *Brachiaria brizantha*. A temperatura de 28°C acelerou a superação da dormência, que atingiu germinação máxima (100%) após 269 dias, enquanto que armazenada a 4°C pelo mesmo período, o máximo de germinação foi 50%. Gonzalez et al. (1994), trabalhando com *Brachiaria decumbens* cv. 'Basilisk', observaram que as condições de armazenamento afetaram a manutenção da dormência. Sob condições ambientes (tratamento controle) a germinação atingiu o máximo com 6 meses de armazenamento (45,5%) decrescendo, a partir daí, para 3,3% após 12 meses e 0,5% após 20 meses. Até os 6 meses, o tratamento de escarificação

mecânica (cariopses nuas) foi o mais efetivo seguido do tratamento com ácido sulfúrico, por 10 minutos. Quando foram armazenadas a frio (5-10°C), a germinação (tratamento controle) gradualmente aumentou até o máximo de 57% aos 20 meses. Os tratamentos de escarificação foram efetivos até os 20 meses, com maior eficácia da escarificação mecânica, seguida da escarificação com ácido sulfúrico, por 10 minutos.

Lima & Cardoso (1996), consideraram que a resposta de *Brachiaria decumbens*, a fatores ambientais (ex. luz e temperatura) e a tratamentos que possam atenuar a dormência, deve ser fortemente influenciada pelo tempo de armazenamento e pela origem da semente. No entanto, podem ser mencionadas duas formas de dormência em *Brachiaria decumbens*: dormência de curta duração ou a necessidade de maturação após a colheita, observada em sementes recém colhidas (até 6 meses) e; dormência de longa duração, relacionada à presença de envoltórios e predominante em sementes armazenadas. Segundo estes autores, a dormência de sementes recém colhidas pode ser parcialmente atenuada através de substâncias que atuam no metabolismo respiratório, como KCN (inibidor respiratório) e H₂O₂ (agente oxidante). Adicionalmente, a chamada dormência de longa duração parece não ser exclusiva de sementes armazenadas, mas também ocorre em sementes recém colhidas, explicando o efeito da escarificação ácida nesse período, que seria diminuir a ação dos envoltórios como barreira à difusão de oxigênio.

Renard & Capelle (1976), trabalhando com *Brachiaria ruziziensis*, mensurando a absorção de oxigênio pelas palhas e por espiguetas vazias e utilizando H₂O₂ como agente oxidante, concluíram que nenhuma substância inibidora foi lixiviada pelas palhas e que a restrição às trocas gasosas, impostas pelas palhas envoltentes, era responsável pela dormência. Nesse sentido, Castro et al. (1996), trabalhando com sementes de *Brachiaria decumbens*, armazenadas por 2 meses antes do início do experimento, não encontraram respostas ao uso de H₂O₂, mas reportaram resultados positivos com o uso de escarificação mecânica, concordando então, que após certo tempo de armazenamento permanece apenas a dormência de longa duração, imposta pelos envoltórios. Resultados semelhantes foram obtidos por Barbosa

et al. (1995) com *Brachiaria plantaginea*, mostrando a necessidade de um período de armazenamento em atmosfera com baixa umidade relativa para obtenção de boa germinação. Segundo seus dados, o armazenamento em câmara seca proporcionou maior germinação que o armazenamento em condições ambientes. Martins et al. (1998) demonstraram que seis meses de armazenamento, em condições ambientes, as sementes de *Brachiaria brizantha* reduziram a dormência natural e, conseqüentemente, aumentaram a germinação e o valor cultural. Por outro lado, dos seis meses em diante, a deterioração revelada resultou em decréscimo na germinação e no valor cultural, notadamente dos 12 aos 18 meses.

Alguns trabalhos têm mostrado que, a utilização de métodos que aceleram a deterioração têm contribuído para o processo de diminuição de dormência, em sementes do gênero *Brachiaria*. O envelhecimento acelerado (aquecimento da semente em ambiente com alta umidade relativa) foi considerado uma forma eficiente de superação de dormência em *Brachiaria brizantha* (Vieira et al., 1998b). Temperaturas altas, a seco, (40, 50, 60 e 70°C) também foram utilizadas, produzindo bons resultados. Martins et al. (1998) recomendaram a utilização de pré aquecimento a 40°C por 7 dias, combinado com tratamento com ácido sulfúrico concentrado para a superação da dormência de *Brachiaria brizantha*. Vieira et al. (1998b) consideraram que 70°C a seco por 72 horas, foi a melhor operação, porém seguido do tratamento de envelhecimento acelerado (42°C com alta umidade relativa por 96 horas). Estas técnicas no entanto, que utilizam combinação de altas temperaturas e umidades, conduzem a perda de dormência relativamente rápida porém, também causam concomitantemente rápida perda de viabilidade (Ellis et al., 1983).

Enquanto a maioria dos autores armazena as sementes intactas e testa tratamentos para superação de dormência, ao longo do armazenamento (Macedo et al., 1994; Gonzalez et al., 1994; Lima & Cardoso, 1996; Martins & Lago, 1996; Martins et al., 1998; Vieira et al., 1998b), poucos trabalhos estudam o comportamento de sementes tratadas durante o armazenamento. Herrera (1994) estudou o comportamento de sementes de *Brachiaria*

decumbens tratadas com ácido sulfúrico concentrado e nitrato de potássio e armazenadas por 6 meses. Verificou que o período de armazenamento interagiu positivamente com o nitrato de potássio, aumentando a germinação ao longo do armazenamento. Com o tratamento ácido ocorreu o contrário, ou seja, a germinação das sementes diminuiu, ao longo do armazenamento, o que foi atribuído ao fato de que em muitas sementes o tratamento ácido produz danos nos envoltórios e no embrião, os quais tornam-se críticos quando a semente envelhece. Previero et al. (1998a) estudaram o comportamento de *Brachiaria brizantha*, submetida a escarificação ácida em escala comercial e armazenada em embalagens de polietileno e papel multifoliado, concluindo que nenhum dos tratamentos favoreceu a superação da dormência, que ocorreu de forma natural no quarto mês de armazenamento.

A utilização de nitrato de potássio tem sido mais favorável logo no início do armazenamento, como reportam Lima & Cardoso (1996), pois com o armazenamento a semente tende a conservar apenas a dormência de longa duração, relacionada com a permeabilidade dos envoltórios a gases (Renard & Capelle, 1976; Simpson, 1990; Castro & Alvarenga, 1996). Carvalho & Nakagawa (2000), no entanto, reportaram que substâncias fixadoras de oxigênio, presente nos envoltórios, seriam responsáveis pela diminuição de disponibilidade de oxigênio para o embrião e portanto pela duração da dormência. Assim substâncias que transportassem oxigênio, pelos envoltórios, contribuiriam para a diminuição da dormência.

Nesse sentido, resultados positivos de utilização de KNO_3 foram encontrados para *Brachiaria humidicola* (Atalla & Tosello, 1979; Oliveira & Mastrocola, 1983; Goedert & Roberts, 1986; Ruiz et al., 1996). Faria et al. (1996) não obtiveram resultados positivos para utilização de KNO_3 em *Brachiaria humidicola*, *Brachiaria decumbens* e *Brachiaria brizantha*. Para *Brachiaria decumbens* e *Brachiaria brizantha*, no entanto, tem sido comum a obtenção de pouca resposta ou até mesmo resultados negativos (Toledo & Carvalho, 1990; Martins & Lago, 1996; Lima & Cardoso, 1996). O uso de outras substâncias que contenham nitrato, como o fertilizante nitrato de amônio também podem ter efeito, como o descrito por Cardoso (1997).

Os tratamentos para superar dormência têm apresentado respostas variáveis, no entanto, os avanços na compreensão dos mecanismos que determinam dormência e, das relações desta, com envelhecimento, podem proporcionar a obtenção de resultados mais seguros.

2.4 – Armazenamento e deterioração

A deterioração de sementes é universal. Sementes de *Brachiaria* são ortodoxas, isto é a conservação por longo período é possível a baixas temperaturas e umidade das sementes (Roberts, 1981, 1986). A deterioração de sementes depende de três fatores principais: temperatura, umidade das sementes e pressão de oxigênio. A viabilidade das sementes é determinada por, pelo menos, dois fatores: (i) o montante de energia que está disponível para germinação, e (ii) o total de danos que se acumulam durante o desenvolvimento e armazenamento e que tem de ser reparados antes da germinação (Osborne, 1983).

Além da inter-relação entre temperatura, umidade da semente e período de armazenamento, outros fatores devem ser considerados pois interferem na longevidade das sementes: i) diferenças relacionadas ao cultivar e a colheita; ii) condições pré e pós colheita; iii) pressão de oxigênio durante o armazenamento; iv) flutuações nas condições de armazenamento (Bewley & Black, 1994).

Vários pesquisadores têm procurado elucidar os mecanismos que determinam a deterioração das sementes. Os principais sítios de envelhecimento parecem ser as proteínas, enzimas, membranas, ribossomos e mitocôndrias (Ching, 1973), verificando-se também perda de funcionalidade do RNA mensageiro (mRNA) de longa duração, na ativação dos ribossomos pré-existentes (Ching, 1973) e declínio na atividade respiratória (Parrish & Leopold, 1978). A observação, que o envelhecimento em sementes é acompanhado por declínio na habilidade das sementes em reter solutos, sugere que um dos primeiros eventos no processo de envelhecimento é a degradação de membranas celulares (Parrish & Leopold, 1978; Matthews, 1985)

principalmente em mitocôndrias (Parrish & Leopold, 1978; Wilson & McDonald, 1986). Assim, ocorre sério comprometimento do metabolismo respiratório em sementes deterioradas (Woodstock et al., 1985; Wilson & McDonald, 1986).

A perda de integridade da membrana (Gill & Delouche, 1973; Woodstock et al., 1985; Matthews, 1985; Powell, 1986) está relacionada com peroxidação de lipídios (Harman & Mattick, 1976; Stewart & Bewley, 1980; Powell & Matthews, 1981; Wilson & McDonald, 1986; Basavarajappa et al., 1991). Esta ocorre pois, em presença de oxigênio, os ácidos graxos oxidam-se espontaneamente produzindo intermediários altamente reativos - os radicais livres, uma classe de compostos chamados hidroperóxidos, outros ácidos graxos oxigenados e uma larga variedade de produtos secundários da decomposição de hidroperóxidos. A taxa desta reação é grandemente acelerada, em sementes úmidas, por uma classe de enzimas chamadas lipoxigenases. A sequência de reação não mediada por enzimas também pode ser chamada de autooxidação e acontece em sementes com baixo teor de água. Os radicais livres são instáveis podendo reagir e danificar moléculas vizinhas. Durante o armazenamento, o baixo teor de água das sementes não permite reparo, levando ao acúmulo dos danos. Os ácidos graxos oxigenados, na ausência de atividade enzimática em sementes com baixa umidade, se acumulam, representando danos que seriam manifestados com a hidratação por ocasião da germinação, aumentando a formação de radicais livres e compostos secundários tóxicos que inibem a respiração, a síntese de DNA e proteína (Ohlrogge & Kernan, 1982; Wilson & McDonald, 1986).

Vários trabalhos comprovam a peroxidação de lipídios através da perda de fosfolipídios das membranas e presença de radicais livres em sementes envelhecidas naturalmente ou artificialmente (Priestley et al., 1980; Powell & Matthews, 1981; Priestley & Leopold, 1983; Priestley et al., 1985; Wilson & McDonald, 1986; Basavarajappa et al., 1991; Brown et al., 1994). No entanto, alguns trabalhos ressaltam que a peroxidação de lipídios não se constitui num evento importante durante o envelhecimento (Priestley et al., 1980; Pearce & Abdel Samad, 1980). De qualquer forma, a perda de integridade da membrana leva a descompartimentalização subcelular o que é

suficiente para alterar ou impedir o metabolismo celular e causar perda de viabilidade (Berjak & Villiers, 1972 a,b; Pearce & Abdel Samad, 1980; Matthews, 1985; Basavarajappa et al., 1991). Em sementes envelhecidas artificialmente, tem sido reportado perda de hidrolases previamente confinadas nos lisossomos (Berjak & Villiers, 1972b), degradação de proteínas do embrião (Dell'Aquila, 1994; Begnami & Cortelazzo, 1996), decréscimo na taxa de síntese de proteínas que pode ser atribuída a inabilidade para sintetizar novo mRNA *in vivo* o que pode ser relacionado a degradação do DNA e a deficiência do sistema de reparo de DNA, assim como a falta de suprimento de energia e aumento da atividade de peroxidase (Begnami & Cortelazzo, 1996).

Basavarajappa et al. (1991) ressaltam que o envelhecimento artificial em sementes de milho mostrou claras evidências que a perda da integridade de membranas é o primeiro passo deteriorativo durante o envelhecimento. Esta observação foi suportada por decréscimo do nível de fosfolipídios e ácido ascórbico, reduzida atividade de peroxidase e aumento na atividade de fosfolipase A, no nível de ácidos graxos livres totais e malonaldeído que suportam a hipótese de peroxidação de lipídios da membrana. Também foi encontrada a redução do total de reservas como carboidratos, açúcares redutores e proteínas. Decréscimo na atividade de enzimas como fosfatase ácida, fosfomonoesterase e desidrogenase enquanto um substancial aumento no total de aminoácidos livres, na atividade de amilase e protease confirmam a degradação das biomoléculas armazenadas nas sementes durante o envelhecimento.

Na observação minuciosa sobre o assunto ocorrem inconsistências e contradições que podem ser atribuídas a diferenças no modo nos quais as sementes foram envelhecidas, natural ou artificialmente, (Powell, 1986; Bewley & Black, 1994), os tipos de tecidos que foram estudados, eixo ou cotilédone, ou o tempo em que o mensuramento foi feito em relação a perda de viabilidade, durante a deterioração ou após a morte da semente (Bewley & Black, 1994).

Mais recentemente, tem-se ponderado que a presença de açúcares solúveis, em células vivas das sementes, favorece a formação de um estado vitrificado ("glassy") no citoplasma. Esta "vitrificação" é essencial para a

manutenção da viabilidade e do vigor da semente pois protege as proteínas e os lipídios contra reações deteriorativas, incluindo os efeitos nocivos de radicais livres (Sun & Leopold, 1993, 1994). O estado vitrificado oferece sérias restrições à ocorrência de reações químicas e de alterações físicas como, por exemplo, a cristalização de solutos, que danifica as células. Os aumentos de temperatura e umidade da semente fazem com que a consistência do citoplasma passe para um líquido viscoso ("melted"), de modo que o envelhecimento pode ser associado à perda gradual da habilidade das células vivas das sementes manterem o citoplasma vitrificado; essa redução é rapidamente acompanhada pela redução do poder germinativo (Marcos Filho, 1999).

Por outro lado, tratando do assunto sob o aspecto do comportamento fisiológico da semente, Matthews (1985) observou que a manifestação mais óbvia do processo de envelhecimento é o declínio da velocidade de germinação das sementes, seguido pela redução do tamanho das plântulas e numa terceira etapa, pelo aumento da incidência de plântulas anormais. A manifestação inicial (menor velocidade de germinação) é correspondente aos primeiros indícios de desestruturação das membranas, enquanto a ocorrência de anormalidades nas plântulas (nos estágios finais da deterioração) é determinada pela morte parcial ou total de tecidos importantes, em diferentes regiões da semente, uma vez que as células em sementes envelhecendo não deterioram ao mesmo tempo, algumas morrem antes de outras.

Assim, a mensuração da lixiviação de solutos tem sido útil como um teste de vigor ou seja, para avaliar o estado de conservação do sistema de membranas e conseqüentemente o estado de deterioração de sementes (Powell & Matthews, 1978, 1979; McKersie & Stinson, 1980; Schoettle & Leopold, 1984; Wann, 1986; Loeffler et al., 1988; Tracy & Juvik, 1988; Madhusudanan & Johnson, 1990; Lin, 1990; Bruggink et al., 1991; Lott et al., 1991; Dias et al., 1996; Custódio & Marcos Filho, 1997). Dentre os lixiviados o potássio aparece como o principal íon (Loomis & Smith, 1980; Powell, 1986; Granqvist, 1987; Lee & Karunanithy, 1990; Wood, 1990), seguido de sódio e

cálcio, havendo forte relação entre a perda desse íon durante a embebição de sementes e a integridade das membranas, sendo então considerado um dos melhores testes para avaliação do estado de deterioração de sementes (Matthews & Rogerson, 1976; Loomis & Smith, 1980; Woodstock et al., 1985; Simon & Mathavan, 1986; Granqvist, 1987; Marcos Filho et al., 1990; Lott et al., 1991; Dias et al., 1996; Custódio & Marcos Filho, 1997).

Por outro lado, a organização das membranas celulares tem recebido especial atenção com relação ao estado de dormência. Em algumas espécies, em que a condição de dormência é exibida apenas em certas temperaturas e nestas, ocorre aumento na lixiviação de solutos, a brusca superação da dormência em resposta a temperatura sugere uma mudança nas fases das membranas celulares, ou seja, de cristalina ou gel a baixas temperaturas, para uma líquida-cristalina a temperaturas mais altas. Assim, ocorrem alterações relacionadas às propriedades da membrana, como controle na passagem de solutos e atividade de enzimas ligadas, causando profundos efeitos sobre a fisiologia das células e interferindo em processos necessários à germinação (Bewley & Black, 1994). Considerando que quanto maior a faixa de temperatura que uma semente germina, menor é sua dormência (Weges & Karssen, 1990; Vleeshouwers et al., 1995), Weges & Karssen (1990) mostraram que o cultivar 'Musette' de alface apresentou grande aumento na lixiviação de potássio, nos tratamentos que induziram dormência, indicando que a dormência estava relacionada com a permeabilidade das membranas celulares. Voll et al. (1997), estudando embebição e germinação de sementes de *Brachiaria plantaginea* (capim-marmelada), observaram que as sementes dormentes dessa espécie apresentaram maior porcentagem de absorção de água, maior lixiviação de eletrólitos e menor porcentagem de germinação indicando que o estado de dormência dessa espécie não está relacionado a impermeabilidade do tegumento à água e, ainda, que a permeabilidade das membranas celulares interfere com o estado de dormência.

O papel especial das membranas celulares no mecanismo de dormência está sendo relacionado com a habilidade de certos produtos químicos em liberarem as sementes da dormência. Estes químicos, éter etílico,

clorofórmio, acetona e etanol, são conhecidos por agirem sobre as células, entrando nas membranas e alterando a relação entre seus componentes. O etanol é marcadamente efetivo em reduzir a dormência em várias espécies de gramíneas, *Panicum* spp., *Digitaria* spp. e o propanol em sementes de alface (Bewley e Black, 1994).

Por outro lado, Swamy & Narasimha Reddy (1977) mostraram que ocorreu aumento na lixiviação de eletrólitos e perda de dormência durante os 40 dias em que sementes de amendoim permaneceram armazenadas em maturação pós-colheita. Comparações diretas entre sementes, dormentes e não dormentes de *Avena fatua*, indicaram que a substituição de proteínas e fosfolipídios é similar nas membranas de embriões de ambos os tipos de sementes (Cuming & Osborne, 1978a,b). Isto sugere que sementes dormentes podem manter e reparar a integridade da membrana rapidamente durante a embebição (Simpson, 1990) e que as membranas poderiam ser modificadas durante o armazenamento ou maturação pós-colheita (Swamy & Narasimha Reddy, 1977).

O “priming” ou osmocondicionamento é conhecido por atenuar os efeitos do envelhecimento (Alvarado & Bradford, 1988; Pandey, 1989; Dell’Aquila & Tritto, 1991; Sung & Chang, 1993; Liu et al., 1996). Tem sido verificado que sementes submetidas ao priming necessitam de menor tempo para germinação. A embebição controlada e posterior secagem proporciona o reparo de danos induzidos durante o envelhecimento, como os das membranas celulares, verificados por diminuição na lixiviação de solutos e aumento na atividade de enzimas, relacionadas a síntese de proteínas e DNA (Pandey, 1989; Dell’Aquila & Tritto, 1991; Sung & Chang, 1993; Shatters et al., 1994; Basra et al., 1994). O reparo dos danos ocorre sob condições normais nas células vivas, mas devido a reidratação que ocorre durante o priming em sementes, sua ocorrência é aumentada. Tal reparo envolve a ação de substâncias que recebem o nome de “scavengers”, ou extratores, removedores, as quais reagem com os radicais livres, eliminando-os. Entre elas, uma das mais eficientes é o tocoferol, ou vitamina E (Priestley et al., 1980; Carvalho, 1994), ácido ascórbico ou vitamina C (Basra et al., 1994) e as

enzimas conhecidas como peroxidases, catalases e superóxido dismutases (Basra et al., 1994; Zeng et al., 1998; Bhattacharjee & Mukherjee, 1998). Assim, podem ser encontrados relatos de aumentos na atividade de peroxidase com o envelhecimento de sementes (Begnami & Cortelazzo, 1996) e também decréscimo (Basavarajappa et al., 1991; Nandi et al., 1997) de acordo com o grau de deterioração, pois até certo ponto do processo deteriorativo as células conseguem acionar os mecanismos de reparo e, em estágios que precedem a morte, ocorre um esgotamento onde o processo de deterioração suplanta o de reparo levando a célula ao colapso e à morte.

Nandi et al. (1997), estudando atividade de oxigênio e de seus “scavengers” em sementes de arroz naturalmente envelhecidas sob condições tropicais, ressaltaram que a atividade de superóxido dismutase, em embriões secos isolados, mostrou uma correlação positiva com o estado de vigor ou viabilidade, assim como, a atividade de peroxidase mostrou correlação positiva com o vigor, porém em sementes embebidas. Concluiu-se que a deterioração de células do eixo embriário depende do balanço entre acumulação de radicais livres e a atividade de enzimas removedoras de oxigênio durante o início da embebição. Durante armazenamento prolongado, acumulam-se os efeitos de dano macromolecular devido a formação de produtos por reações oxidativas em cadeia, acompanhado de perda de atividade enzimática resultando na morte do embrião. Entretanto, Coin et al. (1995), trabalhando com cevada, não encontraram qualquer modificação bioquímica na quantidade ou qualidade de isoenzimas de peroxidase com o envelhecimento artificial, enquanto a composição de isoenzimas mudou com o envelhecimento natural ao longo de 30 anos a 4°C.

Outra forma de amenizar os efeitos da deterioração em sementes tem sido a utilização de químicos bioativos, permeados na semente durante a germinação, com o priming, ou através de via seca. Efeitos favoráveis foram verificados para o uso de ácido giberélico (Singh & Amritphale, 1993; Richa & Sharma, 1994; Liu et al., 1996) com aumento na porcentagem de germinação, o que não é comumente verificado apenas com o priming. Liu et al. (1996) atribuem o aumento da germinação e da velocidade de germinação das

sementes de tomate submetidas a priming juntamente com ácido giberélico a indução da síntese de DNA, que disparou quando comparada ao tratamento de priming sem ácido giberélico ou com as sementes não tratadas. No entanto, Singh & Amritphale (1993), permearam ácido giberélico em sementes de soja por via seca, ressaltaram que o efeito do ácido giberélico em atenuar os efeitos do envelhecimento não se deve aos reparos nas membranas, pois as sementes tratadas aumentaram a germinação porém continuaram apresentando alta lixiviação de solutos. O efeito positivo da utilização de ácido giberélico pode ser atribuído à ativação de hidrolases durante a germinação (Richa & Sharma, 1994; Sanwo & DeMason, 1994). De fato, em sementes de gramíneas, onde a enzima amilase assume importante papel no início da germinação, tem sido reportada diminuição na atividade de amilase de sementes envelhecidas quando comparada às não envelhecidas no início da embebição (Nandi et al., 1995; Shephard et al., 1996).

Portanto, a literatura apresentada, ainda deixa dúvidas, em forrageiras tropicais, quanto aos tratamentos para superação de dormência, como nitrato de potássio ou ácido giberélico, em uso imediato ou após o armazenamento, bem como, sobre a atuação da dormência do embrião e da imposta pelos envoltórios, e ainda dos fatores que as controlam, durante o armazenamento.

Os efeitos do envelhecimento em sementes intactas ou tratadas com ácido sulfúrico concentrado, também têm pouca representatividade, merecendo especial atenção neste trabalho. Nos estudos de envelhecimento em sementes, têm sido freqüente avaliações de atividade de enzimas, alterações no metabolismo respiratório, na permeabilidade das membranas, na peroxidação de lipídeos etc. Recentemente, no entanto, algumas dessas avaliações têm sido úteis em estudos com sementes dormentes, com destaque para os testes que avaliam permeabilidade das membranas celulares, desta forma, as metodologias necessitam ser adaptadas para esta finalidade.

3- MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE em Presidente Prudente - SP e no Laboratório de Fotomorfogênese de Plantas do Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da UNESP, Campus de Rio Claro - SP. O estudo compreendeu 5 experimentos sendo os 2 primeiros preliminares e os 3 últimos o estudo do tratamento das sementes com ácido sulfúrico concentrado e seus efeitos imediatos e após armazenamento das sementes por 8 meses. Os experimentos 1 e 2 foram conduzidos de janeiro a abril de 1997. O experimento 3 em setembro e outubro de 1997. Os experimentos 4 e 5 foram conduzidos em junho e julho de 1998, e as determinações bioquímicas do experimento 5 foram realizadas no período de agosto a outubro de 1998.

As sementes foram obtidas na região de Presidente Prudente-SP, sendo recebidas no Laboratório de Análise de Sementes da UNOESTE passando por limpeza através de soprador e peneiras, restando somente as sementes fisicamente puras (Brasil, 1992). Durante toda fase experimental os lotes e sublotos foram mantidos armazenados em ambiente de laboratório (temperatura média de 25°C).

Para os experimentos 1 e 2 foram utilizadas sementes de *Brachiaria brizantha* (A. Rich.) Stapf cv. 'Marandu' obtida pelo método de varredura e *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick. cv. 'Tully' colhidas da planta, produzidas na safra 95/96, sendo três lotes de cada espécie, tomados ao acaso. As sementes fisicamente puras foram caracterizadas quanto ao teor de

água, teste de tetrazólio e da massa de 100 sementes.

O lote 3, selecionado nos experimentos 1 e 2, ficou armazenado por seis meses em condições de laboratório, até o início do experimento 3. Para os experimentos 3, 4 e 5 foram utilizados dois lotes; um selecionado pelos experimentos 1 e 2 (lote 3 para as duas espécies) e um outro colhido na safra 96/97 (denominado lote 4), perfazendo dois lotes de cada espécie, sendo um de cada safra. O lote 4 foi caracterizado inicialmente com determinação do grau de umidade e teste de tetrazólio. As sementes dos experimentos 4 e 5 foram armazenadas durante 8 meses em ambiente de laboratório, sendo as do experimento 4 mantidas intactas e as utilizadas no experimento 5 armazenadas após terem sido escarificadas por ácido sulfúrico pelos períodos de 0, 5, 10 e 15 minutos.

Para todos os experimentos foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes por tratamento. O teste de germinação foi efetuado em germinador regulado para fornecer alternância de temperatura (15/35°C) e fotoperíodo de 8 horas (Brasil, 1992). As sementes foram colocadas sobre papel embebido em água filtrada ou com a solução apropriada, conforme o tratamento (ácido giberélico, nitrato de potássio ou água pura), e reumedecidas com água filtrada sempre que necessário. Foram consideradas germinadas as sementes através dos critérios de protrusão da raiz primária, contagens diárias e, plântulas normais, contagens aos 7, 14 e 21 dias (Brasil, 1992) sendo os resultados expressos em porcentagem. Com os dados de plântulas normais foi calculado o Índice de Velocidade de Germinação (IVG) utilizando-se a metodologia de Maguire (1962) sendo os resultados expressos em número médio de plântulas normais/dia.

Os dados foram analisados estatisticamente, segundo delineamento inteiramente casualizado, de acordo com o esquema fatorial (Tabelas 1, 2 e 3, respectivamente para os experimentos 1, 2 e 3 a 5). Os resultados de germinação foram transformados em $\arcsin$ da raiz de $x/100$, enquanto os resultados de índice de velocidade de germinação não sofreram transformação. Para comparação múltipla de médias empregou-se o teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Os dados de determinação do grau de umidade e teste

de tetrazólio não foram analisados estatisticamente; sua interpretação foi relacionada apenas aos aspectos biológicos. Os dados de massa de 100 sementes foram analisados através de estatística não paramétrica (Brasil, 1992).

3.1 – Germinação

3.1.1 - Experimentos 1 e 2 - Preliminares

3.1.1.1 Caracterização inicial das sementes

Determinação do grau de umidade

A determinação do teor de água foi efetuada em estufa a $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$ durante 24h, utilizando-se duas subamostras para cada lote (Brasil, 1992).

Teste de tetrazólio

O teste de tetrazólio foi conduzido utilizando-se duas subamostras de 100 sementes, de cada lote, tomadas da porção sementes fisicamente puras. As sementes foram pré-condicionadas, sobre papel umedecido com água filtrada, por 16 horas à 25°C . Após este período as sementes foram cortadas longitudinalmente, dividindo-se o embrião ao meio. Apenas uma metade de cada semente foi colorida. A coloração foi desenvolvida, mergulhando-se, as metades, em solução de sal 2,3,5 cloreto de trifenil tetrazólio 0,1%, no escuro, à 35°C por 5 horas. A avaliação foi feita computando-se as sementes viáveis (Brasil, 1992) e os resultados expressos em porcentagem.

Massa de 100 sementes

A massa de 100 sementes foi determinada com oito repetições de 100 sementes, de cada lote, tomadas da porção sementes fisicamente puras (Brasil, 1992).

3.1.1.2. Experimento 1

Avaliação do ácido giberélico para a superação de dormência no teste de germinação

Os três lotes de sementes, de cada espécie, foram submetidos aos seguintes tratamentos e a todas as combinações entre eles:

a) KNO_3 - a germinação foi conduzida com ou sem a utilização de solução 0,2% de nitrato de potássio para superação da dormência;

b) GA_3 - a germinação foi conduzida utilizando-se solução de ácido giberélico para superação da dormência, nas concentrações de 0, 50, 100 e 150 ppm de GA_3 , Sigma (PM 346,38g), equivalendo a 0, 0,144, 0,289 e 0,433mM de ácido giberélico. As soluções foram preparadas dissolvendo-se a quantidade pesada, para cada concentração, em 1ml de etanol e completando o volume final requerido por adição de água destilada.

O experimento foi analisado segundo delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial de $3 \times 2 \times 4$ (Tabela 1).

Tabela 1: Esquema da análise de variância dos dados de germinação para cada espécie, critério de germinação e índice de velocidade de germinação obtidos no Experimento 1. Presidente Prudente, 1997.

Causas de variação	Graus de Liberdade
Lote (L)	2
KNO_3 (K)	1
Ácido Giberélico (GA_3)	3
L x K	2
L x GA_3	6
K x GA_3	3
L x K x GA_3	6
Resíduo	72
Total	95

3.1.1.3 - Experimento 2

Avaliação do ácido sulfúrico concentrado para a superação de dormência no teste de germinação

Os três lotes de sementes, de cada espécie, foram submetidos aos seguintes tratamentos e a todas as combinações entre eles:

a) KNO_3 - a germinação foi conduzida com ou sem a utilização de solução 0,2% de nitrato de potássio para superação da dormência;

b) H_2SO_4 - as sementes foram pré-tratadas por 0, 5, 10 e 15 minutos em ácido sulfúrico concentrado sob agitação constante. Ao final desses períodos, o ácido foi drenado e, todas as sementes utilizadas no experimento, inclusive as não escarificadas, foram profusamente lavadas, em água corrente por 5 minutos permanecendo imersas em água por outros 10 minutos. A seguir, foram novamente lavadas em água corrente e secas sobre papel, por 48 horas, em ambiente de laboratório, e somente após, foram utilizadas para instalação da germinação.

O experimento foi analisado segundo delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial de $3 \times 2 \times 4$ (Tabela 2).

Tabela 2: Esquema da análise de variância dos dados de germinação para cada espécie, critério de germinação e índice de velocidade de germinação obtidos no Experimento 2. Presidente Prudente, 1997.

Causas de variação	Graus de Liberdade
Lote (L)	2
KNO ₃ (K)	1
H ₂ SO ₄ (H)	3
L x K	2
L x H	6
K x H	3
L x K x H	6
Resíduo	72
Total	95

3.1.2 - Experimento 3

Avaliação do ácido sulfúrico concentrado para a superação de dormência no teste de germinação, isolado ou em combinação com ácido giberélico e nitrato de potássio.

Neste experimento o efeito do ácido sulfúrico concentrado foi avaliado imediatamente após o tratamento.

Os lotes 3 e 4, de cada espécie, foram avaliados inicialmente, através do teste de tetrazólio, de acordo com a metodologia descrita no item 3.1.1. sendo posteriormente submetidos aos seguintes tratamentos e a todas as combinações entre eles:

a) GA₃ - a germinação foi conduzida com ou sem a utilização de solução de ácido giberélico na concentração de 150 ppm de GA₃ para superação da dormência;

b) KNO₃ - a germinação foi conduzida com ou sem a utilização de

solução 0,2% de nitrato de potássio para superação da dormência;

c) H_2SO_4 - as sementes foram pré-tratadas por 0, 5, 10 e 15 minutos em ácido sulfúrico concentrado, como descrito no experimento 2. O teor de água das sementes foi determinado em estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$ durante 24h, utilizando-se duas subamostras para cada tratamento (Brasil, 1992), antes do tratamento com ácido sulfúrico, após secagem ao ar por 48 horas e imediatamente antes da instalação do experimento.

O experimento foi analisado segundo delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial de $2 \times 2 \times 4$ (Tabela 3).

Tabela 3: Esquema da análise de variância dos dados de germinação para cada espécie, safra, critério de germinação e índice de velocidade de germinação, obtidos no Experimento 3. Presidente Prudente, 1997.

Causas de variação	Graus de Liberdade
Ácido Giberélico (GA_3)	1
KNO_3 (K)	1
H_2SO_4 (H)	3
$\text{GA}_3 \times \text{K}$	1
$\text{GA}_3 \times \text{H}$	3
$\text{K} \times \text{H}$	3
$\text{GA}_3 \times \text{K} \times \text{H}$	3
Resíduo	48
Total	63

3.1.3 - Experimento 4

Avaliação do ácido sulfúrico concentrado para a superação de dormência no teste de germinação, isolado ou em combinação com ácido giberélico e nitrato de potássio em sementes intactas envelhecidas naturalmente.

A avaliação da germinação foi feita após 8 meses de armazenamento, seguindo os mesmos passos do experimento 3. Neste caso, o teor de água das sementes foi monitorado durante o tratamento com ácido sulfúrico como descrito para o experimento 3 e logo no início do experimento 4.

A análise dos dados foi efetuada como no experimento 3.

3.1.4 - Experimento 5

Avaliação do envelhecimento natural em sementes escarificadas com ácido sulfúrico concentrado.

Foram utilizados os mesmos lotes empregados no experimento 3. As sementes escarificadas naquela ocasião foram armazenadas, por 8 meses em ambiente de laboratório, formando 4 sublotos, ou sejam, sementes não escarificadas (0Min), escarificadas em ácido sulfúrico concentrado por 5 minutos (5Min), por 10 minutos (10Min) e por 15 minutos (15Min). O efeito do tratamento com ácido sulfúrico concentrado foi avaliado após o armazenamento. A avaliação da germinação seguiu os mesmos passos do experimento 3. Estes sublotos foram avaliados bioquimicamente através de atividade de peroxidase, de amilase e lixiviação de potássio, tentando relacionar estes dados com os resultados de germinação. Neste caso o teor de água das sementes foi monitorado durante o tratamento com ácido sulfúrico como descrito para o experimento 3 e logo no início do experimento 5 (após o armazenamento).

A análise dos dados foi efetuada como nos experimentos 3 e 4.

3.2 – Determinações Bioquímicas

3.2.1 - Atividade de peroxidase

A atividade de peroxidase foi determinada em sementes não embebidas e embebidas por 24 horas a 30°C. A umidade das sementes foi monitorada através de determinação do teor de água conforme metodologia utilizada nos experimentos 1, 2 e 3. Nas sementes não embebidas a extração da enzima foi feita tomando-se 300mg de cariopses de cada sublote que foram moídos em moinho de bola aos quais foram adicionados 3ml de tampão fosfato (pH 6,0). A extração foi feita em banho de gelo (4°C) por 1 hora. A seguir o extrato foi centrifugado por 10 minutos a 9.400g e -18°C guardando-se o sobrenadante a -18°C e descartando-se o precipitado. Alíquotas de 50µl do sobrenadante foram utilizadas para quantificação de proteínas pelo método de Bradford (1976). As sementes, embebidas por 24 horas a 30°C, foram colocadas em contato com o tampão fosfato (pH 6,0) na proporção de 1:10 (peso/volume) e maceradas em almofariz e pistilo. A seguir, permaneceram em banho de gelo (4°C/1h). O restante do procedimento seguiu o relatado para as sementes não embebidas. Alíquotas de 10µl do sobrenadante foram utilizadas para quantificação de proteínas pelo método de Bradford (1976).

Para a determinação da atividade de peroxidase foram feitas quatro repetições por sublote, sendo utilizados 50 e 10µl de extrato bruto de sementes não embebidas e embebidas respectivamente, por amostra. Para cada amostra a atividade foi determinada completando-se o volume para 2,5ml com tampão fosfato (pH 6,0) contendo 13mM de guaiacol e adicionando-se 5mM de peróxido de hidrogênio. As leituras foram feitas em espectrofotômetro MICRONAL B - 380, a 470nm, em intervalos de 1 minuto durante 7 minutos e após aos 10, 20 e 30 minutos (Lance, 1955). Os resultados de atividade total foram expressos em Densidade Óptica (DO) por mg de semente e os de atividade específica em DO por µg de proteína.

Os dados obtidos no experimento foram analisados estatisticamente,

segundo delineamento inteiramente casualizado, de acordo com o esquema apresentado na Tabela 4, sem transformação.

Tabela 4: Esquema da análise de variância dos dados de atividade total e específica de peroxidase para cada espécie, sublote e estado da semente obtidos no Experimento 5. Rio Claro, 1998.

Causas de variação	Graus de Liberdade
Sublote (S)	3
Resíduo	12
Total	15

3.2.2 - Atividade de amilase

A atividade de amilase total foi determinada em sementes embebidas por 24 horas a 30°C. A umidade das sementes foi monitorada através de determinação de umidade conforme metodologia utilizada nos experimentos 1, 2 e 3. As sementes, embebidas por 24 horas a 30°C, foram colocadas em contato com o tampão Tris-maleato a frio (0,05M pH 7,0), na proporção de 1:10 (peso/volume) e maceradas em almofariz e pistilo. A seguir permaneceram em banho de gelo (4°C/1h). O extrato obtido foi centrifugado por 10 minutos a 9.400g e -18°C guardando-se o sobrenadante (-18°C) e descartando-se o precipitado. Alíquotas de 10µl do extrato foram utilizadas para quantificação de proteínas pelo método de Bradford (1976).

A atividade foi determinada, utilizando-se quatro repetições por sublote, tomando-se para cada uma 96µl de extrato bruto, 96µl de solução de amido (150mg de amido solúvel, 600mg de KH₂PO₄ e 200µmoles de CaCl₂ em 100ml de H₂O), 96 µl de solução de iodo (6g de KI mais 600mg de I em 100ml de H₂O) e 2,11ml de H₂O incubando-se por 5 minutos em banho-maria a 30°C; a reação foi paralizada adicionando-se 96µl de ácido clorídrico 0,05N à amostra e homogeneizando-se com auxílio de um agitador de tubos. A leitura foi feita em espectrofotômetro MICRONAL B-380, a 620nm, aos 0 e 5 minutos. Os dados obtidos foram convertidos em unidades internacionais (U) considerando-

se a variação de 0,1 na absorbância.

A análise estatística foi realizada, segundo delineamento inteiramente casualizado, de acordo com o esquema fatorial 2 x 4, apresentado na Tabela 5, sem transformação dos dados.

Tabela 5: Esquema da análise de variância dos dados de atividade de amilase total para cada espécie, obtidos no Experimento 5. Rio Claro, 1998.

Causas de variação	Graus de Liberdade
Lote (L)	1
Sublote (S)	3
L x S	3
Resíduo	24
Total	31

3.2.3 - Análise da composição química das sementes

A análise da composição química das sementes, em termos de macronutrientes, foi realizada pelo Laboratório de Análise Química de Terra e Tecidos Vegetais da UNOESTE. Foram utilizadas 50g de sementes por sublote, e a determinação seguiu o método analítico descrito por Sarruge e Haag (1974).

3.2.4 - Lixiviação de potássio

Este teste foi efetuado com quatro repetições de 25 sementes por sublote. Cada repetição foi embebida em 50ml de água destilada, em copos plásticos. As leituras do potássio lixiviado foram feitas após 3, 6, 12 e 24h de embebição, a 30°C, em fotômetro de chama DIGIMED NK-2020, calibrado para padrão 20ppm K e leitura 100. As calibrações, para cada período de leitura, se encontram na Tabela 6. Os resultados foram expressos em ppm K/g de amostra.

Tabela 6: Equações lineares obtidas através da calibração do fotômetro de chama em padrão 20 ppm K para leitura 100 e respectivos coeficientes de determinação (R^2) obtidos no teste de lixiviação de potássio no Experimento 5. Rio Claro, 1998.

Período	Regressão Linear	R^2
3 horas	$Y = 0,1911 X$	0,993
6 horas	$Y = 0,1724 X$	0,948
12 horas	$Y = 0,1922 X$	0,995
24 horas	$Y = 0,1960 X$	0,998

Os dados, obtidos no experimento, foram analisados estatisticamente, segundo delineamento inteiramente casualizado de acordo com o esquema fatorial 2 x 4 x 4 (Tabela 7). Os resultados de lixiviação não foram transformados.

Tabela 7: Esquema da análise de variância dos dados de lixiviação de potássio para cada espécie, obtidos no Experimento 5. Rio Claro, 1998.

Causas de variação	Graus de Liberdade
Lote (L)	1
Sublote (S)	3
Período de embebição (P)	3
L x S	3
L x P	3
S x P	9
L x S x P	9
Resíduo	96
Total	127

4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - Germinação

4.1.1 - Experimentos 1 e 2

Caracterização inicial

Os resultados de determinação do grau de umidade (Tabela 8) e massa de 100 sementes (Tabela 9) indicaram que os lotes de *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria humidicola* estavam com grau de umidade uniforme, variando de 10,3 a 10,6% para *Brachiaria brizantha* e de 9,5 a 10,2% para *Brachiaria humidicola* enquanto que a massa de 100 sementes também mostrou uniformidade para as duas espécies o que forneceu indícios de desenvolvimento adequado e boa formação das cariopses.

Tabela 8: Resultados médios obtidos nos testes de tetrazólio e de determinação do grau de umidade, nas sementes os três lotes de *Brachiaria brizantha* e de *Brachiaria humidicola*. Presidente Prudente, 1997.

Espécie	Lote	Teste de tetrazólio (%)	Grau de umidade (%)
<i>Brachiaria brizantha</i>	1	74	10,3
	2	80	10,3
	3	79	10,6
<i>Brachiaria humidicola</i>	1	49	10,2
	2	53	9,8
	3	57	9,5

Tabela 9: Resultados médios obtidos no teste de massa de 100 sementes em *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria humidicola* para os três lotes de cada espécie. Presidente Prudente, 1997.

Espécie	Lote	Massa (g)	C.V.(%) ¹
<i>Brachiaria brizantha</i>	1	7,91	2,65
	2	8,03	2,64
	3	7,75	1,54
<i>Brachiaria humidicola</i>	1	4,38	2,93
	2	4,35	2,13
	3	4,31	2,23

¹C.V. = coeficiente de variação

4.1.1.1 - Experimento 1

Observando-se os valores de F obtidos nas análises da variância dos dados referentes ao uso de ácido giberélico durante o teste de germinação (Tabela 10), verificou-se que para a espécie *Brachiaria brizantha*

o tratamento nitrato de potássio foi significativo para todas as variáveis estudadas, enquanto o tratamento com ácido giberélico mostrou efeito significativo apenas para a avaliação do índice de velocidade de germinação. Não ocorreu efeito significativo nem para lotes, nem para as interações entre os tratamentos.

Para a espécie *Brachiaria humidicola*, ocorreu efeito significativo dos tratamentos nitrato de potássio e ácido giberélico para os dados de germinação, tanto pelo critério plântulas normais quanto pelo de protrusão de raiz primária, enquanto que, para estes não ocorreu efeito significativo de interação entre tratamentos. Para o índice de velocidade de germinação, o efeito do tratamento nitrato de potássio e da interação nitrato de potássio x ácido giberélico foram significativos. Para qualquer uma das variáveis não ocorreu efeito significativo para lotes mostrando que os mesmos, em relação aos tratamentos, se comportaram uniformemente.

Tabela 10: Valores de F obtidos nas análises de variância dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), critério protrusão de raiz primária (CPRP) e índice de velocidade de germinação (IVG) em três lotes de sementes de *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria humidicola* produzidos na safra 95/96 durante o experimento 1. Presidente Prudente, 1997.

Tratamentos	<i>Brachiaria brizantha</i>			<i>Brachiaria humidicola</i>		
	CPN	CPRP	IVG	CPN	CPRP	IVG
LOTES (L)	0,0162 ^{n.s.}	0,1979 ^{n.s.}	0,6202 ^{n.s.}	0,0822 ^{n.s.}	0,4004 ^{n.s.}	0,1355 ^{n.s.}
KNO ₃ (K)	38,4975 **	65,3740 **	46,8547 **	12,3291 **	5,5191 *	23,5558 **
GA ₃	1,6777 ^{n.s.}	1,3564 ^{n.s.}	3,4993 *	3,3548 *	4,2006 **	2,2290 ^{n.s.}
L x K	0,0505 ^{n.s.}	0,2341 ^{n.s.}	0,2575 ^{n.s.}	1,7868 ^{n.s.}	0,7862 ^{n.s.}	0,8345 ^{n.s.}
L x GA ₃	1,3934 ^{n.s.}	1,3627 ^{n.s.}	1,7170 ^{n.s.}	1,0193 ^{n.s.}	0,5023 ^{n.s.}	0,7349 ^{n.s.}
K x GA ₃	0,4959 ^{n.s.}	0,7477 ^{n.s.}	0,5150 ^{n.s.}	2,7030 ^{n.s.}	2,1257 ^{n.s.}	3,1393 *
L x K x GA ₃	1,3497 ^{n.s.}	1,4686 ^{n.s.}	0,9718 ^{n.s.}	0,9529 ^{n.s.}	1,1595 ^{n.s.}	0,6529 ^{n.s.}
* significativo a 5%			** significativo a 1%		^{n.s.} não significativo	

4.1.1.1.1 - *Brachiaria brizantha*

As Tabelas 11 e 12 apresentam os resultados de germinação, pelos critérios plântulas normais e protrusão de raiz primária, para lotes, nitrato de potássio e ácido giberélico. As médias gerais foram, respectivamente, 21 e 24%, e o tratamento com efeito significativo foi à ausência de nitrato de potássio. O teste de tetrazólio conduzido com os três lotes (Tabela 8), mostrou que os três lotes apresentavam, no mínimo, 74% de viabilidade, indicando que os tratamentos foram pouco efetivos na superação da dormência.

A Tabela 13 apresenta os resultados de índice de velocidade de germinação, para lotes, nitrato de potássio e ácido giberélico. A média geral foi de 4,5 plântulas normais/dia e ocorreu significância dos efeitos dos tratamentos nitrato de potássio e ácido giberélico, com ambos agindo de forma independente. Apresentou resultados superiores não utilizar nitrato de potássio. Quanto ao ácido giberélico, a germinação foi mais rápida sem a sua utilização (0ppm) que com a utilização de 100ppm. As outras concentrações não se diferenciaram, produzindo resultados intermediários.

Estes resultados, da utilização de ácido giberélico, foram contrários aos obtidos por Richa & Sharma (1994) e Sanwo & DeManson (1994), onde o efeito positivo da utilização de ácido giberélico foi atribuído a ativação de hidrolases; mas semelhantes aos de Garcia & Cícero (1992) que também não obtiveram resultados positivos.

Têm sido reportados, freqüentemente, na literatura a obtenção de pouca resposta ou até mesmo resultados negativos para o tratamento com nitrato de potássio em sementes de *Brachiaria brizantha* (Toledo & Carvalho, 1990; Martins & Lago, 1996; Lima & Cardoso, 1996).

Constatou-se então que, apesar de serem citados como tratamentos auxiliares na superação de dormência, tanto ácido giberélico como nitrato de potássio foram inefetivos para tal finalidade.

Tabela 11: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de três lotes de *Brachiaria brizantha* produzidos na safra 95/96 durante o experimento 1. Presidente Prudente, 1997.

Tratamentos		Ácido Giberélico				Média
		0ppm	50ppm	100ppm	150ppm	
Lote 1	Sem KNO ₃	27	25	24	23	25
Lote 2	Sem KNO ₃	26	25	23	23	24
Lote 3	Sem KNO ₃	25	21	24	27	24
Lote 1	KNO ₃ 0,2%	17	18	16	18	18
Lote 2	KNO ₃ 0,2%	19	16	19	16	18
Lote 3	KNO ₃ 0,2%	22	18	10	22	18
Média		23 a ¹	20 a	19 a	21 a	21
Lote 1		22	21	20	20	21 A ¹
Lote 2		23	20	21	19	21 A
Lote 3		23	19	17	25	21 A
Média		23 a	20 a	19 a	21 a	21
Sem KNO ₃		26	24	24	24	24 A
KNO ₃ 0,2%		19	17	15	19	18 B
Média		23 a ¹	20 a	19 a	21 a	21
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Lote 1		25		18		21 A
Lote 2		24		18		21 A
Lote 3		24		18		21 A
Média		24 a		18 b		21

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 12: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de três lotes de *Brachiaria brizantha* produzidos na safra 95/96 durante o experimento 1. Presidente Prudente, 1997.

Tratamentos		Ácido Giberélico				Média
		0ppm	50ppm	100ppm	150ppm	
Lote 1	Sem KNO ₃	29	28	27	26	28
Lote 2	Sem KNO ₃	30	30	27	29	29
Lote 3	Sem KNO ₃	27	26	29	31	28
Lote 1	KNO ₃ 0,2%	19	21	18	21	20
Lote 2	KNO ₃ 0,2%	21	18	21	18	20
Lote 3	KNO ₃ 0,2%	23	19	11	24	19
Média		25 a ¹	24 a	22 a	25 a	24
Lote 1		24	24	23	23	24 A ¹
Lote 2		26	24	24	23	24 A
Lote 3		25	22	19	28	24 A
Média		25 a	24 a	22 a	25 a	24
Sem KNO ₃		29	28	28	29	28 A
KNO ₃ 0,2%		21	19	17	21	19 B
Média		25 a	24 a	22 a	25 a	24
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Lote 1		28		20		24 A
Lote 2		29		20		24 A
Lote 3		28		19		24 A
Média		28 a		19 b		24

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 13: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de três lotes de *Brachiaria brizantha* produzidos na safra 95/96 durante o experimento 1. Presidente Prudente, 1997.

Tratamentos		Ácido Giberélico				Média
		0ppm	50ppm	100ppm	150ppm	
Lote 1	Sem KNO ₃	6,1	5,5	5,1	4,8	5,4
Lote 2	Sem KNO ₃	5,7	5,2	4,5	4,8	5,0
Lote 3	Sem KNO ₃	5,8	4,5	4,6	5,7	5,1
Lote 1	KNO ₃ 0,2%	3,8	4,0	3,4	3,8	3,7
Lote 2	KNO ₃ 0,2%	4,0	2,8	4,0	3,3	3,5
Lote 3	KNO ₃ 0,2%	4,4	3,8	2,5	4,9	3,9
Média		5,0 a ¹	4,3 ab	4,0 b	4,5 ab	4,5
Lote 1		4,9	4,8	4,3	4,3	4,6 A ¹
Lote 2		4,9	4,0	4,3	4,0	4,5 A
Lote 3		5,1	4,2	3,5	5,3	4,3 A
Média		5,0 a	4,3 ab	4,0 b	4,5 ab	4,5
Sem KNO ₃		5,9	5,1	4,7	5,1	5,2 A
KNO ₃ 0,2%		4,1	3,5	3,3	4,0	3,7 B
Média		5,0 a	4,3 ab	4,0 b	4,5 ab	4,5
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Lote 1		5,4		3,7		4,6 A
Lote 2		5,0		3,5		4,5 A
Lote 3		5,1		3,9		4,3 A
Média		5,2 a		3,7 b		4,5

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

4.1.1.1.2 - *Brachiaria humidicola*

A Tabela 14 apresenta os resultados de germinação, pelo critério plântulas normais, para lotes, nitrato de potássio e ácido giberélico. A média geral de germinação foi 21% e ocorreu significância dos efeitos dos tratamentos nitrato de potássio e ácido giberélico, com ambos agindo de forma independente. Quanto ao nitrato de potássio, a sua utilização (23%) apresentou resultados superiores em relação à não utilização (20%). Quanto ao ácido giberélico, resultados superiores foram obtidos sem a sua utilização (0 ppm) em relação à utilização de 50 ppm. As demais concentrações apresentaram resultados intermediários. Em valores absolutos, o melhor resultado foi a combinação de 0 ppm de ácido giberélico e 0,2% de nitrato de potássio com resultado de 26% de plântulas normais. O resultado do teste de tetrazólio, para os três lotes, apresentou resultados de, no mínimo, 49% de viabilidade (Tabela 8) indicando a ineficácia dos tratamentos de superação de dormência.

A Tabela 15 apresenta os resultados de germinação pelo critério protrusão de raiz primária, para lotes, nitrato de potássio e ácido giberélico. A média geral de germinação foi 24% e ocorreu significância dos efeitos de nitrato de potássio e ácido giberélico, com ambos agindo de forma independente. O tratamento com nitrato de potássio a 0,2% apresentou resultados superiores em relação à não utilização do mesmo. Quanto ao ácido giberélico, tanto à ausência quanto a maior concentração estudada (150 ppm) produziram resultados superiores à concentração de 50 ppm. A concentração de 100 ppm produziu resultado intermediário. Em valores absolutos, o melhor resultado foi a combinação de 0 ppm de ácido giberélico e 0,2% de nitrato de potássio com resultado de 28% de protrusão de raiz primária.

A Tabela 16 apresenta os resultados de índice de velocidade de germinação, para lotes, nitrato de potássio e ácido giberélico. A média geral do índice foi 3,2 plântulas normais/dia e ocorreu significância para o efeito do tratamento nitrato de potássio, porém este foi dependente do efeito do ácido giberélico. A utilização de nitrato de potássio foi significativamente superior a sua ausência quando não se empregou ácido giberélico. Quando se utilizou

ácido giberélico (50, 100 e 150 ppm) não ocorreu diferença significativa entre o uso ou não do nitrato de potássio embora, em números absolutos, o índice de velocidade de germinação foi sempre superior quando se utilizou 0,2% de nitrato de potássio. Ainda em valores numéricos, a combinação 0 ppm de ácido giberélico e 0,2% de nitrato de potássio produziu a germinação mais rápida, com índice de velocidade de germinação de 3,8 plântulas normais/dia.

Apesar da significância do nitrato de potássio para superar parcialmente a dormência, corroborando os dados de Atalla & Tosello (1979), Oliveira & Mastrocola (1983), Goedert & Roberts (1986) e Ruiz et al. (1996), o aumento da germinação não foi suficientemente alto para justificar o uso de tal tratamento.

Tabela 14: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de três lotes de *Brachiaria humidicola* produzidos na safra 95/96 durante o experimento 1. Presidente Prudente, 1997.

Tratamentos		Ácido Giberélico				Média
		0 ppm	50 ppm	100 ppm	150 ppm	
Lote 1	Sem KNO ₃	19	18	20	24	20
Lote 2	Sem KNO ₃	16	20	19	20	19
Lote 3	Sem KNO ₃	23	18	19	22	21
Lote 1	KNO ₃ 0,2%	26	22	19	22	22
Lote 2	KNO ₃ 0,2%	26	21	24	23	23
Lote 3	KNO ₃ 0,2%	25	19	21	23	22
Média		23 a ¹	20 b	20 ab	22 ab	21
Lote 1		23	20	19	23	21 A ¹
Lote 2		21	20	22	21	21 A
Lote 3		24	19	20	22	21 A
Média		23 a	20 b	20 ab	22 ab	21
Sem KNO ₃		19	19	20	22	20 B
KNO ₃ 0,2%		26	21	21	23	23 A
Média		23 a	20 b	20 ab	22 ab	21
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Lote 1		20		22		21 A
Lote 2		19		23		21 A
Lote 3		21		22		21 A
Média		20 b		23 a		21

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 15: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de três lotes de *Brachiaria humidicola* produzidos na safra 95/96 durante o experimento 1. Presidente Prudente, 1997.

Tratamentos		Ácido Giberélico				Média
		0 ppm	50 ppm	100 ppm	150 ppm	
Lote 1	Sem KNO ₃	24	20	21	25	23
Lote 2	Sem KNO ₃	19	23	21	24	22
Lote 3	Sem KNO ₃	25	21	24	24	24
Lote 1	KNO ₃ 0,2%	27	23	22	25	24
Lote 2	KNO ₃ 0,2%	28	22	25	24	25
Lote 3	KNO ₃ 0,2%	27	22	22	25	24
Média		25 a ¹	22 b	23 ab	25 a	24
Lote 1		26	22	22	25	24 A ¹
Lote 2		23	22	23	24	23 A
Lote 3		26	22	23	25	24 A
Média		25 a	22 b	23 ab	25 a	24
Sem KNO ₃		23	21	22	25	23 B
KNO ₃ 0,2%		28	22	23	25	24 A
Média		25 a	22 b	23 ab	25 a	24
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Lote 1		23		24		24 A
Lote 2		22		25		23 A
Lote 3		24		24		24 A
Média		23 b		24 a		24

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 16: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de três lotes de *Brachiaria humidicola* produzidos na safra 95/96 durante o experimento 1. Presidente Prudente, 1997.

Tratamentos		Ácido Giberélico				Média
		0 ppm	50 ppm	100 ppm	150 ppm	
Lote 1	Sem KNO ₃	2,7	2,8	2,9	3,6	3,0
Lote 2	Sem KNO ₃	2,7	2,8	2,9	2,8	2,8
Lote 3	Sem KNO ₃	2,6	2,9	2,9	3,2	2,9
Lote 1	KNO ₃ 0,2%	3,8	3,3	3,0	3,4	3,4
Lote 2	KNO ₃ 0,2%	3,8	3,1	3,7	3,4	3,5
Lote 3	KNO ₃ 0,2%	3,6	2,9	3,2	3,7	3,4
Média		3,2 a ¹	3,0 a	3,1 a	3,4 a	3,2
Lote 1		3,3	3,1	3,0	3,5	3,2 A ¹
Lote 2		3,3	3,0	3,3	3,1	3,2 A
Lote 3		3,1	2,9	3,1	3,4	3,1 A
Média		3,2 a	3,0 a	3,1 a	3,4 a	3,2
Sem KNO ₃		2,7 aB	2,8 aA	2,9 aA	3,2 aA	2,9 B
KNO ₃ 0,2%		3,8 aA	3,1 bA	3,3 abA	3,5 abA	3,4 A
Média		3,2 a	3,0 a	3,1 a	3,4 a	3,2
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Lote 1		3,0		3,4		3,2 A
Lote 2		2,8		3,5		3,2 A
Lote 3		2,9		3,4		3,1 A
Média		2,9 b		3,4 a		3,2

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

4.1.1.2 - Experimento 2

Observando-se os valores de F obtidos nas análises da variância dos dados referentes ao uso de ácido sulfúrico durante o teste de germinação (Tabela 17), verificou-se que para a espécie *Brachiaria brizantha* os efeitos dos tratamentos nitrato de potássio e ácido sulfúrico, assim como da interação dos mesmos foram significativos para a variável germinação em qualquer dos critérios avaliados. Para a variável índice de velocidade de germinação foram significativos os efeitos para lotes, nitrato de potássio e ácido sulfúrico assim como para as interações lotes x ácido sulfúrico e nitrato de potássio x ácido sulfúrico.

Para a espécie *Brachiaria humidicola*, a variável germinação, segundo o critério de avaliação de plântulas normais, mostrou efeito significativo para o efeito do tratamento ácido sulfúrico e das interações lotes x nitrato de potássio, lotes x ácido sulfúrico e de nitrato de potássio x ácido sulfúrico. Os demais tratamentos e interações não foram significativos. Para a variável germinação, critério protrusão da raiz primária, os efeitos dos tratamentos lotes, nitrato de potássio e ácido sulfúrico bem como das interações lotes x nitrato de potássio, lotes x ácido sulfúrico e nitrato de potássio x ácido sulfúrico foram significativos. Para a variável índice de velocidade de germinação os efeitos dos tratamentos nitrato de potássio e ácido sulfúrico bem como das interações lotes x nitrato de potássio, lotes x ácido sulfúrico e nitrato de potássio x ácido sulfúrico foram significativos.

Tabela 17: Valores de F obtidos nas análises de variância dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), critério protrusão de raiz primária (CPRP) e índice de velocidade de germinação (IVG) em três lotes de sementes de *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria humidicola* produzidos na safra 95/96 durante o experimento 2. Presidente Prudente, 1997.

Tratamentos	<i>Brachiaria brizantha</i>			<i>Brachiaria humidicola</i>		
	CPN	CPRP	IVG	CPN	CPRP	IVG
LOTES (L)	2,1140 ^{n.s.}	2,2140 ^{n.s.}	2,9066 *	2,2517 ^{n.s.}	3,0102 *	2,9141 ^{n.s.}
KNO ₃ (K)	9,7456 **	20,5419 **	4,0103 *	0,1521 ^{n.s.}	5,6528 *	13,1865 **
H ₂ SO ₄ (H)	26,9472 **	24,5933 **	87,0317 **	19,8655 **	18,0608 **	7,2133 **
L x K	0,8929 ^{n.s.}	0,8723 ^{n.s.}	0,5970 ^{n.s.}	2,2490 *	3,4562 *	3,2018 *
L x H	1,0364 ^{n.s.}	1,0294 ^{n.s.}	2,3502 *	1,9722 *	2,6157 *	2,6105 *
K x H	5,7532 **	7,3510 **	4,8015 **	5,6464 **	7,3117 **	4,3209 **
L x K x H	0,4124 ^{n.s.}	0,5239 ^{n.s.}	0,5563 ^{n.s.}	0,8285 ^{n.s.}	0,7110 ^{n.s.}	0,5473 ^{n.s.}
* significativo a 5%			** significativo a 1%		^{n.s.} não significativo	

4.1.1.2.1 - *Brachiaria brizantha*

As Tabelas 18 e 19 apresentam os resultados, respectivamente, de germinação pelos critérios plântulas normais e protrusão de raiz primária, para lotes, nitrato de potássio e ácido sulfúrico. As médias gerais de germinação foram, respectivamente, 31 e 33% e os efeitos dos tratamentos nitrato de potássio, ácido sulfúrico e da interação dos mesmos foram significativos. O uso do nitrato de potássio diminuiu a germinação principalmente quando não se utilizou o tratamento com ácido sulfúrico ou no tratamento mais prolongado (15 minutos). Nos tratamentos de 5 e 10 minutos de ácido sulfúrico a utilização ou não do nitrato de potássio não interferiu nos resultados. O tratamento com ácido sulfúrico foi efetivo, aumentando a germinação tanto na ausência como na presença do nitrato de potássio, porém não foram significativos os períodos. Em valores absolutos os períodos de 5 e 10 minutos produziram as maiores germinações, 34 e 35%

de plântulas normais e 35 e 36% de protrusão, respectivamente.

A Tabela 20 apresenta os resultados de índice de velocidade de germinação para lotes, nitrato de potássio e ácido sulfúrico. A média geral do índice foi 8,0 plântulas normais/dia e os efeitos dos tratamentos lotes, nitrato de potássio, ácido sulfúrico e das interações lotes x ácido sulfúrico e nitrato de potássio x ácido sulfúrico foram significativos. Os lotes se distinguiram principalmente no tratamento com ácido sulfúrico por 5 minutos quando o lote 1 apresentou índice de velocidade de germinação inferior ao lote 3. O lote 2 ficou em posição intermediária. Em valores absolutos este comportamento pôde ser observado também para 10 e 15 minutos. O nitrato de potássio diminuiu a velocidade de germinação, principalmente quando não se utilizou o ácido sulfúrico. O tratamento com ácido sulfúrico foi efetivo aumentando a germinação (Tabelas 18 e 19) e o índice de velocidade de germinação tanto na ausência como na presença do nitrato de potássio. Na ausência não foram significativas as diferenças entre os períodos, mas na presença o resultado superior foi obtido com 10 minutos que foi diferente de 15 minutos e 0 minutos. Este último produziu índice inferior aos demais. A utilização de 5 minutos produziu resultado intermediário.

Houve resposta ao ácido sulfúrico, semelhantes aos obtidos por Ruiz et al. (1996) e Martins et al. (1998), indicando que os envoltórios são importantes na dormência nesta espécie. No entanto, a dormência não foi completamente superada, pois os resultados de viabilidade, pelo teste de tetrazólio (Tabela 8) indicaram que os três lotes de sementes apresentavam, no mínimo, 74% de viabilidade.

Tabela 18: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de três lotes de *Brachiaria brizantha* produzidos na safra 95/96 durante o experimento 2. Presidente Prudente, 1997.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Lote 1	Sem KNO ₃	29	33	34	31	32
Lote 2	Sem KNO ₃	29	34	34	36	33
Lote 3	Sem KNO ₃	28	36	38	29	33
Lote 1	KNO ₃ 0,2%	17	32	33	28	28
Lote 2	KNO ₃ 0,2%	19	32	35	32	29
Lote 3	KNO ₃ 0,2%	22	37	37	31	31
Média		24 c ¹	34 ab	35 a	31 b	31
Lote 1		23	33	34	30	30 A ¹
Lote 2		24	33	34	34	31 A
Lote 3		25	37	37	30	32 A
Média		24 c	34 ab	35 a	31 b	31
Sem KNO ₃		29 bA	34 aA	35 aA	32 abA	33 A
KNO ₃ 0,2%		19 bB	34 aA	35 aA	30 aA	29 B
Média		24 c	34 ab	35 a	31 b	31
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Lote 1		32		28		30 A
Lote 2		33		29		31 A
Lote 3		33		31		32 A
Média		33 a		29 b		31

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 19: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de três lotes de *Brachiaria brizantha* produzidos na safra 95/96 durante o experimento 2. Presidente Prudente, 1997.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Lote 1	Sem KNO ₃	32	35	35	35	34
Lote 2	Sem KNO ₃	33	35	36	40	36
Lote 3	Sem KNO ₃	31	38	39	31	35
Lote 1	KNO ₃ 0,2%	19	33	34	29	29
Lote 2	KNO ₃ 0,2%	21	35	37	33	31
Lote 3	KNO ₃ 0,2%	23	37	38	32	32
Média		26 b ¹	35 a	36 a	33 a	33
Lote 1		25	34	35	32	31 A ¹
Lote 2		27	35	36	36	34 A
Lote 3		26	38	38	32	33 A
Média		26 b	35 a	36 a	33 a	33
Sem KNO ₃		32 aA	36 aA	37 aA	35 aA	35 A
KNO ₃ 0,2%		21 bB	35 aA	36 aA	31 aB	31 B
Média		26 b	35 a	36 a	33 a	33
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Lote 1		34		29		31 A
Lote 2		36		31		34 A
Lote 3		35		32		33 A
Média		35 a		31 b		33

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 20: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de três lotes de *Brachiaria brizantha* produzidos na safra 95/96 durante o experimento 2. Presidente Prudente, 1997.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Lote 1	Sem KNO ₃	6,1	8,5	8,8	8,4	7,9
Lote 2	Sem KNO ₃	5,7	9,0	8,8	9,7	8,3
Lote 3	Sem KNO ₃	5,8	9,8	10,2	7,6	8,3
Lote 1	KNO ₃ 0,2%	3,8	8,7	9,2	7,7	7,3
Lote 2	KNO ₃ 0,2%	4,0	8,5	9,7	8,6	7,7
Lote 3	KNO ₃ 0,2%	4,4	10,2	10,2	8,2	8,2
Média		5,0 c ¹	9,1 ab	9,5 a	8,4 b	8,0
Lote 1		4,9 bA	8,6 aB	9,0 aA	8,1 aA	7,6 B ¹
Lote 2		4,9 bA	8,7 aAB	9,2 aA	9,2 aA	8,0 AB
Lote 3		5,1 cA	10,0 aA	10,2 aA	7,9 bA	8,3 A
Média		5,0 c	9,1 ab	9,5 a	8,4 b	8,0
Sem KNO ₃		5,9 bA	9,1 aA	9,2 aA	8,6 aA	8,2 A
KNO ₃ 0,2%		4,1 cB	9,1 abA	9,7 aA	8,2 bA	7,6 B
Média		5,0 c	9,1 ab	9,5 a	8,4 b	8,0
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Lote 1		7,9		7,3		7,6 B
Lote 2		8,3		7,7		8,0 AB
Lote 3		8,3		8,2		8,3 A
Média		8,2 a		7,6 b		8,0

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

4.1.1.2.2 - *Brachiaria humidicola*

As Tabelas 21, 22 e 23 apresentam, respectivamente, os resultados de germinação pelo critério plântulas normais, protrusão da raiz primária e de índice de velocidade de germinação para lotes, nitrato de potássio e ácido sulfúrico. As médias gerais foram de 16 e 19% para plântulas normais e protrusão da raiz primária respectivamente, e 2,6 plântulas normais/dia. Para plântulas normais ocorreu significância dos efeitos dos tratamentos ácido sulfúrico e das interações lotes x nitrato de potássio, lotes x ácido sulfúrico e nitrato de potássio x ácido sulfúrico. Para protrusão da raiz primária ocorreu significância dos efeitos dos tratamentos lotes, nitrato de potássio, ácido sulfúrico e das interações lotes x nitrato de potássio, lotes x ácido sulfúrico e nitrato de potássio x ácido sulfúrico. Para índice de velocidade de germinação ocorreu significância para nitrato de potássio, ácido sulfúrico e para as interações lotes x nitrato de potássio, lotes x ácido sulfúrico e nitrato de potássio x ácido sulfúrico.

O tratamento com ácido sulfúrico foi prejudicial a germinação desta espécie pois em qualquer período de tratamento ocorreu decréscimo da porcentagem de germinação. Os lotes foram afetados de maneira diversa pois após o estresse do tratamento com ácido apareceu diferença na germinação que antes não era possível detectar. Com 5 minutos de tratamento o lote 3 foi o que perdeu menos germinação se diferenciando do lote 1 que foi mais afetado pelo tratamento. O mesmo também pode ser notado na interação lotes x nitrato de potássio onde, quando se utilizou nitrato de potássio o lote 3 respondeu com germinação mais elevada que os demais. O tratamento nitrato de potássio apresentou efeito quando não se utilizou tratamento com ácido sulfúrico (0 minutos) produzindo as maiores médias, 26% de plântulas normais, 28% de protrusão de raiz primária e 3,8 de índice de velocidade de germinação.

Os tratamentos empregados neste experimento, ácido sulfúrico em seus diversos tempos de aplicação, diminuíram a germinação. Todavia, nitrato de potássio, apesar de apresentar significância estatística, biologicamente, foi ineficaz em elevar a germinação em níveis próximos daqueles indicados pelo teste de tretrazólio, mínimo de 49% (Tabela 8), ou

seja, não foi eficiente para a superação de dormência.

A utilização conjunta de ácido sulfúrico e nitrato de potássio foi ainda mais drástica na redução dos valores de germinação para os lotes ensaiados. Voll et al.(1996) concluíram que alguns tratamentos de superação de dormência em sementes podem resultar em efeitos negativos sobre germinação e desenvolvimento. Sementes de *Brachiaria humidicola* parecem ser muito sensíveis à escarificação ácida (Atalla & Tosello, 1979; Oliveira & Mastrocola, 1983; Goedert, 1984; Macedo et al., 1994; Ruiz et al., 1996) embora Brasil (1992) recomende sua utilização.

Uma possível explicação para o efeito drástico da combinação ácido sulfúrico e nitrato de potássio, é que a ação do ácido sulfúrico sobre os envoltórios permite que o nitrato de potássio possa entrar nas células do embrião, causando desequilíbrio osmótico, o que levaria a rápida entrada de água nas células e injuriaria o embrião (Alvarado & Bradford, 1988).

Tabela 21: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de três lotes de *Brachiaria humidicola* produzidos na safra 95/96 durante o experimento 2. Presidente Prudente, 1997.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Lote 1	Sem KNO ₃	20	13	16	16	16
Lote 2	Sem KNO ₃	20	17	14	15	16
Lote 3	Sem KNO ₃	20	20	14	12	16
Lote 1	KNO ₃ 0,2%	26	9	14	12	15
Lote 2	KNO ₃ 0,2%	26	13	16	6	14
Lote 3	KNO ₃ 0,2%	25	17	21	14	19
Média		23 a ¹	14 bc	16 b	12 c	16
Lote 1		23 A	11 B	15 A	14 A	15 A ¹
Lote 2		23 A	15 AB	15 A	10 A	15 A
Lote 3		23 A	19 A	17 A	13 A	18 A
Média		23 a	14 bc	16 b	12 c	16
Sem KNO ₃		20 aB	17 abA	15 abA	14 bA	16 A
KNO ₃ 0,2%		26 aA	13 bcB	17 bA	10 cB	16 A
Média		23 a	14 bc	16 b	12 c	16
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Lote 1		16 aA		15 aB		15 A
Lote 2		16 aA		14 aB		15 A
Lote 3		16 aA		19 aA		18 A
Média		16 a		16 a		16

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 22: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de três lotes de *Brachiaria humidicola* produzidos na safra 95/96 durante o experimento 2. Presidente Prudente, 1997.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Lote 1	Sem KNO ₃	23	16	20	21	20
Lote 2	Sem KNO ₃	23	22	19	20	21
Lote 3	Sem KNO ₃	23	23	19	17	20
Lote 1	KNO ₃ 0,2%	27	10	15	14	16
Lote 2	KNO ₃ 0,2%	28	16	17	10	17
Lote 3	KNO ₃ 0,2%	27	20	23	16	22
Média		25 a ¹	18 b	19 b	16 b	19
Lote 1		25 aA	13 bB	18 bA	18 bA	18 B ¹
Lote 2		26 aA	19 bA	18 bA	15 bA	19 AB
Lote 3		25 aA	21 abA	21 abA	17 bA	21 A
Média		25 a	18 b	19 b	16 b	19
Sem KNO ₃		23 aB	21 aA	19 aA	19 aA	21 A
KNO ₃ 0,2%		28 aA	15 bcB	18 bA	14 cB	18 B
Média		25 a	18 b	19 b	16 b	19
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Lote 1		20 aA		16 bB		18 B
Lote 2		21 aA		17 bB		19 AB
Lote 3		20 aA		22 aA		21 A
Média		21 a		18 b		19

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 23: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de três lotes de *Brachiaria humidicola* produzidos na safra 95/96 durante o experimento 2. Presidente Prudente, 1997.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Lote 1	Sem KNO ₃	2,7	1,7	2,3	2,9	2,4
Lote 2	Sem KNO ₃	2,7	2,4	2,0	2,2	2,3
Lote 3	Sem KNO ₃	2,6	2,9	2,1	1,9	2,4
Lote 1	KNO ₃ 0,2%	3,8	1,3	2,7	2,2	2,5
Lote 2	KNO ₃ 0,2%	3,8	2,5	3,1	2,1	2,9
Lote 3	KNO ₃ 0,2%	3,6	3,2	4,2	2,7	3,4
Média		3,2 a ¹	2,3 b	2,7 ab	2,3 b	2,6
Lote 1		3,3 aA	1,5 bB	2,5 abA	2,6 aA	2,5 A ¹
Lote 2		3,3 aA	2,4 abAB	2,5 abA	2,1 bA	2,6 A
Lote 3		3,1 aA	3,1 aA	3,2 aA	2,3 aA	2,9 A
Média		3,2 a	2,3 b	2,7 ab	2,3 b	2,6
Sem KNO ₃		2,7 aB	2,3 aA	2,1 aB	2,3 aA	2,4 B
KNO ₃ 0,2%		3,8 aA	2,3 bA	3,3 aA	2,3 bA	2,9 A
Média		3,2 a	2,3 b	2,7 ab	2,3 b	2,6
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Lote 1		2,4 aA		2,5 aB		2,5 A
Lote 2		2,3 bA		2,9 aAB		2,6 A
Lote 3		2,4 bA		3,4 aA		2,9 A
Média		2,4 b		2,9 a		2,6

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

4.1.1.3 - Considerações gerais sobre os experimentos 1 e 2

As espécies se comportaram de maneira distinta quando submetidas aos mesmos tratamentos, tanto no experimento 1 quanto no experimento 2. *Brachiaria brizantha*, de maneira geral, exibiu resultados superiores de germinação, plântulas normais e protrusão de raiz primária, e índice de velocidade de germinação no experimento 2 (Tabelas 18, 19 e 20), mostrando que os tratamentos deste foram mais efetivos que os do experimento 1 (Tabelas 11, 12 e 13). O efeito positivo do ácido sulfúrico foi superior nos menores períodos (5 e 10 minutos). A utilização de nitrato de potássio, nos experimentos 1 e 2, ocasionou queda na germinação.

A espécie *Brachiaria humidicola* mostrou, nos experimentos 1 e 2, que houve resposta favorável à aplicação de nitrato de potássio, principalmente quando não se utilizou ácido giberélico ou ácido sulfúrico. No experimento 1 (Tabelas 14, 15 e 16), para todos os parâmetros estudados, resultados superiores foram obtidos com a combinação de 0ppm de ácido giberélico e 0,2% de solução de nitrato de potássio. Os resultados, de maneira geral, foram divergentes dos da espécie *Brachiaria brizantha*, pois as médias gerais de todos os parâmetros foram superiores no experimento 1 em relação ao experimento 2 (Tabelas 21, 22 e 23). Isto pode ser explicado através da utilização de ácido sulfúrico no experimento 2 onde, para todos os parâmetros estudados, quanto maior foi o período de aplicação do produto, menores foram os resultados. O tratamento com nitrato de potássio mostrou resultados positivos para *Brachiaria humidicola*, pois tanto no experimento 1 quanto no experimento 2, foi favorável à germinação para todos os parâmetros estudados, porém no experimento 2 mostrou-se eficiente apenas quando isolado.

Nos dois experimentos os tratamentos utilizados para superação de dormência, foram pouco eficazes para promoverem aumentos da germinação, em níveis próximos aos índices obtidos pelo teste de tetrazólio, em ambas espécies.

4.1.2 - Experimento 3

Caracterização inicial

As sementes de *Brachiaria brizantha*, lotes 3 e 4, apresentaram pelo teste de tetrazólio 84 e 97% de viabilidade, respectivamente. As sementes de *Brachiaria humidicola*, lotes 3 e 4, por sua vez apresentaram, 58 e 60% de viabilidade, respectivamente.

A observação, das Figuras 1 e 2, mostra que todos os lotes estavam com teores de água entre 8 e 10% antes do tratamento ácido. Com o tratamento todos os lotes absorveram água e atingiram teores entre 20 e 30% porém, a secagem ao ar, por 48 horas, foi suficiente para que o grau de umidade retomasse níveis próximos aos iniciais. Este procedimento foi feito com o intuito de que todos os tratamentos de germinação do experimento 3 fossem iniciados com as sementes em grau de umidade próximos.

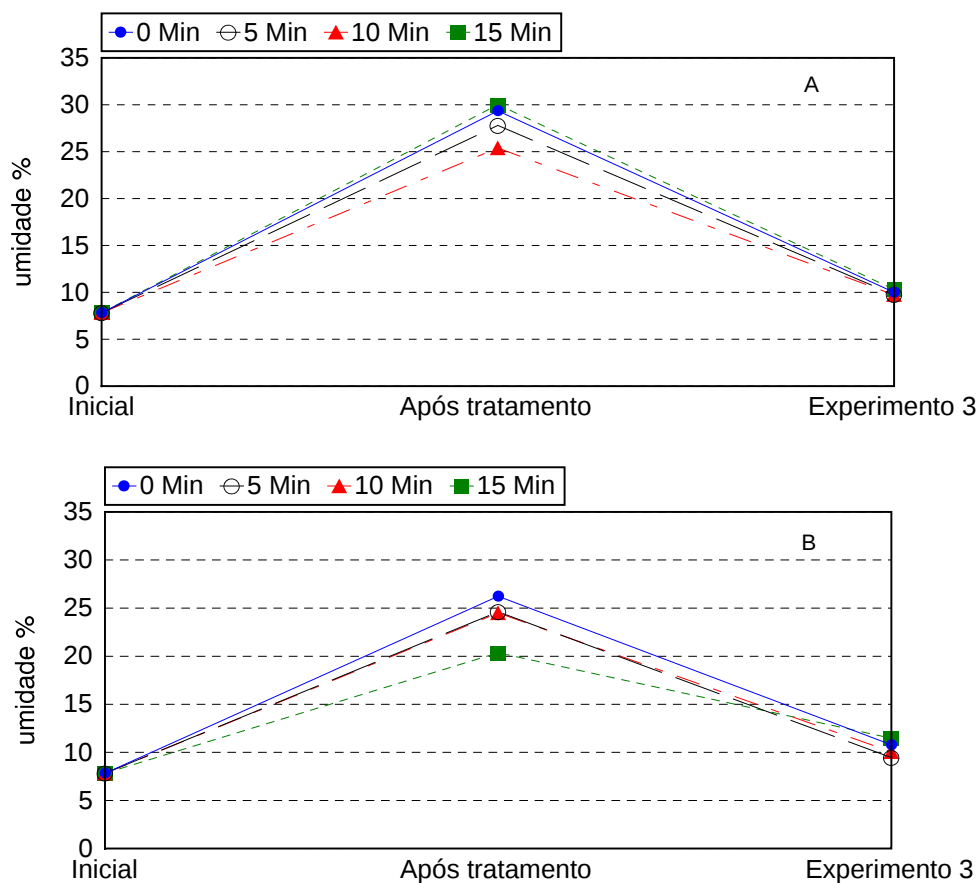


Figura 1: Determinação do grau de umidade (%) obtidos imediatamente antes e após o tratamento com o ácido sulfúrico e após a secagem ao ar, nas sementes de *Brachiaria brizantha*, lote 3 (A) e lote 4 (B), experimento 3. Presidente Prudente, 1997.

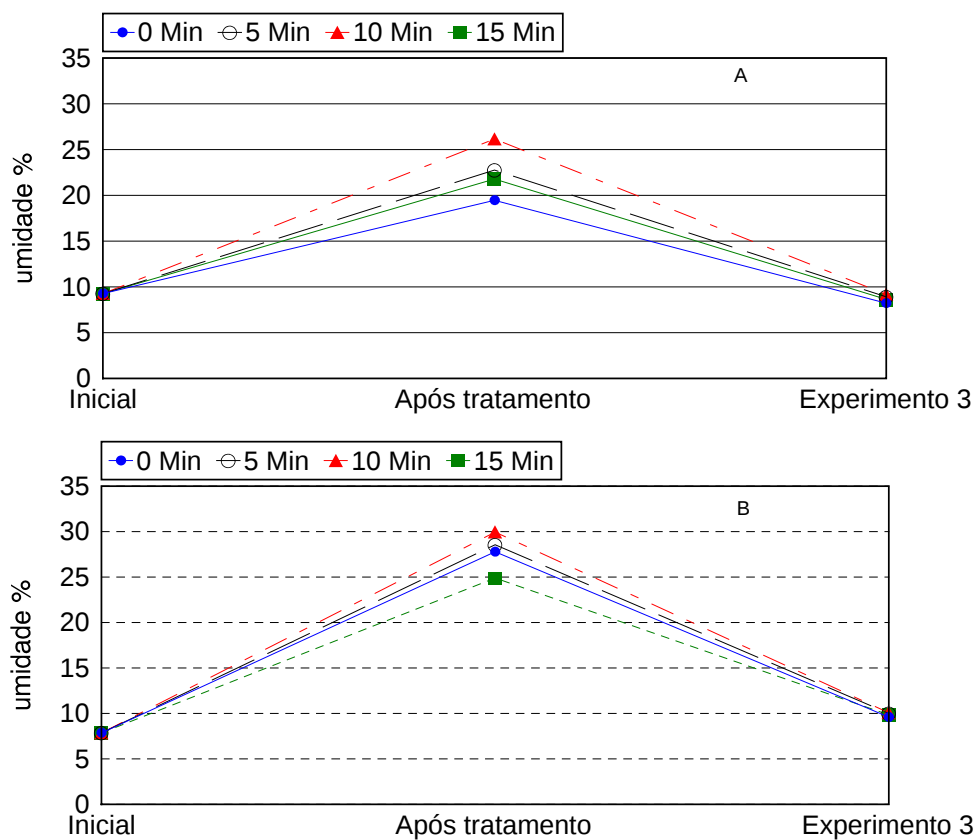


Figura 2: Determinação do grau de umidade (%) obtidos imediatamente antes e após o tratamento com o ácido sulfúrico e após a secagem ao ar, nas sementes de *Brachiaria humidicola*, lote 3 (A) e lote 4 (B), experimento 3. Presidente Prudente, 1997.

4.1.2.1 - *Brachiaria brizantha*

Observando-se os valores de F obtidos nas análises da variância dos dados referentes ao experimento 3 (Tabela 24), verificou-se que com o lote 3, para todos os parâmetros estudados, apenas o efeito do tratamento com ácido sulfúrico foi significativo. Para o lote 4, o ácido sulfúrico apresentou efeito significativo para todos os parâmetros, enquanto o efeito de nitrato de potássio foi significativo para a germinação, critério plântulas normais, e o da interação ácido giberélico x nitrato de potássio foi significativo para o índice de velocidade de germinação.

Tabela 24: Valores de F obtidos nas análises de variância dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), critério protrusão de raiz primária (CPRP) e índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de *Brachiaria brizantha*, lotes 3 e 4, durante o experimento 3. Presidente Prudente, 1997.

<i>Brachiaria brizantha</i>						
Tratamentos	lote 3			lote 4		
	CPN	CPRP	IVG	CPN	CPRP	IVG
GA ₃	0,0599 ^{n.s.}	0,0167 ^{n.s.}	0,3397 ^{n.s.}	1,7540 ^{n.s.}	0,2025 ^{n.s.}	0,9974 ^{n.s.}
KNO ₃ (K)	0,7931 ^{n.s.}	2,0972 ^{n.s.}	0,4280 ^{n.s.}	5,2426 *	3,2599 ^{n.s.}	3,3995 ^{n.s.}
H ₂ SO ₄ (H)	7,0663 **	12,6930 **	27,6513 **	8,3190 **	11,3610 **	36,2397 **
GA ₃ x K	0,8875 ^{n.s.}	0,1771 ^{n.s.}	1,8069 ^{n.s.}	1,3472 ^{n.s.}	0,1403 ^{n.s.}	10,9126 **
GA ₃ x H	0,1987 ^{n.s.}	0,1036 ^{n.s.}	0,0564 ^{n.s.}	0,5401 ^{n.s.}	0,2096 ^{n.s.}	1,3665 ^{n.s.}
K x H	0,7506 ^{n.s.}	0,5702 ^{n.s.}	0,8201 ^{n.s.}	0,3135 ^{n.s.}	0,6526 ^{n.s.}	1,1723 ^{n.s.}
GA ₃ x K x H	1,1209 ^{n.s.}	0,7939 ^{n.s.}	2,3144 ^{n.s.}	0,8850 ^{n.s.}	0,9950 ^{n.s.}	0,1817 ^{n.s.}
* significativo a 5%		** significativo a 1%		^{n.s.} não significativo		

As Tabelas 25, 26 e 27 apresentam, respectivamente, os resultados de germinação (critérios plântulas normais e protrusão de raiz primária) e de índice de velocidade de germinação, para ácido sulfúrico, nitrato de potássio e ácido giberélico para o lote 3. As médias gerais foram, respectivamente, 66 e 71% e 8,4 plântulas normais/dia e apenas o efeito do tratamento ácido sulfúrico foi significativo, originando aumento na porcentagem e na velocidade de germinação. Não ocorreram diferenças em relação ao período de tratamento porém, em valores absolutos, o período de 5 minutos produziu as maiores médias com 71% de plântulas e 9,2 plântulas normais/dia.

O resultado do teste de tetrazólio indicou 84% de viabilidade, possibilitando a afirmação que o tratamento com ácido sulfúrico foi eficiente em promover a superação da dormência. Porém, somente o armazenamento das sementes, entre os experimentos 2 e 3, elevou a germinação, indicando sinergismo entre ácido sulfúrico e armazenamento, como para Martins & Lago (1996) e Martins et al. (1998).

Tabela 25: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de *Brachiaria brizantha*, lote 3, experimento 3. Presidente Prudente, 1997.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	65	68	66	66	66
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	52	74	70	69	66
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	57	73	69	72	68
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	54	69	65	66	63
Média		57 b ¹	71 a	67 a	68 a	66
Sem GA ₃		58	71	68	67	66 A ¹
GA ₃ 150 ppm		55	71	67	69	66 A
Média		57 b	71 a	67 a	68 a	66
Sem KNO ₃		61	70	68	69	67 A
KNO ₃ 0,2%		53	71	67	68	65 A
Média		57 b	71 a	67 a	68 a	66
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		66		66		66 A
GA ₃ 150 ppm		68		63		66 A
Média		67 a		65 a		66

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 26: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de *Brachiaria brizantha*, lote 3, experimento 3. Presidente Prudente, 1997.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	67	73	71	78	72
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	55	74	74	76	70
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	61	77	75	77	73
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	57	72	70	76	69
Média		60 b ¹	74 a	73 a	77 a	71
Sem GA ₃		61	73	73	77	71 A ¹
GA ₃ 150 ppm		59	75	72	77	71 A
Média		60 b	74 a	73 a	77 a	71
Sem KNO ₃		64	75	73	78	72 A
KNO ₃ 0,2%		56	73	72	76	70 A
Média		60 b	74 a	73 a	77 a	71
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		72		70		71 A
GA ₃ 150 ppm		73		69		71 A
Média		72 a		70 a		71

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 27: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de *Brachiaria brizantha*, lote 3, experimento 3. Presidente Prudente, 1997.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	7,1	8,7	8,6	8,6	8,3
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	5,5	9,5	9,5	9,4	8,4
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	6,5	10,0	9,3	9,3	8,8
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	6,5	8,8	9,0	8,8	8,2
Média		6,4 b ¹	9,2 a	9,1 a	9,0 a	8,4
Sem GA ₃		6,3	9,1	9,1	9,0	8,3 A ¹
GA ₃ 150 ppm		6,5	9,4	9,1	9,0	8,5 A
Média		6,4 b	9,2 a	9,1 a	9,0 a	8,4
Sem KNO ₃		6,8	9,4	8,9	9,0	8,5 A
KNO ₃ 0,2%		6,0	9,1	9,3	9,0	8,3 A
Média		6,4 b	9,2 a	9,1 a	9,0 a	8,4
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		8,3		8,4		8,3 A
GA ₃ 150 ppm		8,8		8,2		8,5 A
Média		8,5 a		8,3 a		8,4

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

As Tabelas 28 e 29 apresentam, respectivamente, os resultados de germinação pelos critérios plântulas normais e protrusão de raiz primária, para ácido sulfúrico, nitrato de potássio e ácido giberélico para o lote 4. A média geral de germinação (plântulas normais) foi 82% e os efeitos dos tratamentos nitrato de potássio e ácido sulfúrico foram significativos e agiram de forma independente. Resultados superiores de germinação foram obtidos quando não se utilizou o tratamento com nitrato de potássio. O ácido sulfúrico foi efetivo, produzindo aumento na germinação. Não ocorreram diferenças em relação ao período de tratamento, porém, em valores absolutos o período de 10 minutos produziu a maior média (87%, Tabela 28). A média geral de germinação (protrusão de raiz primária) foi 86% e apenas o efeito do tratamento ácido sulfúrico foi significativo, produzindo um aumento na germinação. Não ocorreram diferenças em relação ao período de tratamento, porém, em valores absolutos 10 minutos produziu a maior média (90%, Tabela 29). Este tratamento foi eficaz para a superação da dormência, pois o valor obtido, pelo teste de tetrazólio, para este lote, foi 97% de viabilidade.

A Tabela 30 apresenta os resultados de índice de velocidade de germinação para ácido sulfúrico, nitrato de potássio e ácido giberélico para o lote 4. A média geral do índice foi 9,9 plântulas normais/dia e o efeito do tratamento ácido sulfúrico e da interação ácido giberélico x nitrato de potássio foram significativos. A utilização de ácido sulfúrico produziu um aumento na velocidade de germinação. Não ocorreram diferenças em relação ao período de tratamento, porém, em valores absolutos o período de 10 minutos produziu o maior índice (9,2 plântulas normais/dia). O emprego de 150 ppm de ácido giberélico e 0,2% de nitrato de potássio provocaram diminuição significativa na velocidade de germinação.

Tabela 28: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de *Brachiaria brizantha*, lote 4, experimento 3. Presidente Prudente, 1997.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	75	85	91	84	84
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	73	86	84	85	82
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	78	84	88	85	84
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	72	80	84	73	76
Média		74 b ¹	84 a	87 a	82 a	82
Sem GA ₃		74	85	89	84	83 A ¹
GA ₃ 150 ppm		75	82	86	79	81 A
Média		74 b	84 a	87 a	82 a	82
Sem KNO ₃		76	85	90	84	84 A
KNO ₃ 0,2%		72	83	84	80	80 B
Média		74 b	84 a	87 a	82 a	82
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		84		82		83 A
GA ₃ 150 ppm		84		78		81 A
Média		84 a		80 b		82

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 29: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de *Brachiaria brizantha*, lote 4, experimento 3. Presidente Prudente, 1997.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	80	88	94	85	87
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	75	87	85	87	84
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	80	88	91	89	87
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	74	87	90	87	85
Média		77 b ¹	87 a	90 a	87 a	86
Sem GA ₃		78	87	90	86	85 A ¹
GA ₃ 150 ppm		77	87	90	88	86 A
Média		77 b	87 a	90 a	87 a	86
Sem KNO ₃		80	88	92	87	87 A
KNO ₃ 0,2%		75	87	87	87	84 A
Média		77 b	87 a	90 a	87 a	86
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		87		84		85 A
GA ₃ 150 ppm		87		85		86 A
Média		87 a		84 a		86

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 30: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de *Brachiaria brizantha*, lote 4, experimento 3. Presidente Prudente, 1997.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	6,2	9,8	12,0	11,2	9,8
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	7,3	10,9	11,3	11,7	10,3
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	7,7	11,1	12,3	11,2	10,5
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	6,9	9,5	10,0	9,1	8,9
Média		7,0 b ¹	10,3 a	11,4 a	10,8 a	9,9
Sem GA ₃		6,7	10,3	11,7	11,4	10,0 A ¹
GA ₃ 150 ppm		7,3	10,3	11,1	10,1	9,7 A
Média		7,0 b	10,3 a	11,4 a	10,8 a	9,9
Sem KNO ₃		7,0	10,4	12,1	11,2	10,2 A
KNO ₃ 0,2%		7,1	10,2	10,6	10,4	9,6 A
Média		7,0 b	10,3 a	11,4 a	10,8 a	9,9
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		9,8 aA ¹		10,3 aA		10,0 A
GA ₃ 150 ppm		10,5 aA		8,9 bB		9,7 A
Média		10,2 a		9,6 a		9,9

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

4.1.2.2 - *Brachiaria humidicola*

Observando-se os valores de F obtidos nas análises da variância dos dados referentes ao experimento 3 (Tabela 31), verificou-se que com o lote 3, para a variável germinação, critério plântulas normais, apenas o efeito do tratamento com ácido sulfúrico foi significativo enquanto para as variáveis germinação, critério protrusão de raiz primária, e índice de velocidade de germinação os efeitos dos tratamentos nitrato de potássio e ácido sulfúrico foram significativos. Para o lote 4 com a variável germinação, critério plântulas normais, os efeitos dos tratamentos nitrato de potássio, ácido sulfúrico e da interação ácido giberélico x ácido sulfúrico foram significativos. Para as variáveis germinação, critério protrusão de raiz primária, e índice de velocidade de germinação os efeitos dos tratamentos nitrato de potássio e ácido sulfúrico foram significativos.

Tabela 31: Valores de F obtidos nas análises de variância dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), critério protrusão de raiz primária (CPRP) e índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de *Brachiaria humidicola*, lotes 3 e 4, o experimento 3. Presidente Prudente, 1997.

Brachiaria humidicola						
	lote 3			lote 4		
Tratamentos	CPN	CPRP	IVG	CPN	CPRP	IVG
GA ₃	1,4363 ^{n.s.}	0,0176 ^{n.s.}	1,4214 ^{n.s.}	0,4809 ^{n.s.}	0,4532 ^{n.s.}	0,1970 ^{n.s.}
KNO ₃ (K)	2,2588 ^{n.s.}	6,2482 *	5,3823 *	10,5018 **	9,8246 **	11,2912 **
H ₂ SO ₄ (H)	15,3933 **	11,8997 **	14,0682 **	5,6456 **	11,8319 **	14,8690 **
GA ₃ x K	3,2281 ^{n.s.}	0,0892 ^{n.s.}	2,9164 ^{n.s.}	0,0050 ^{n.s.}	0,0295 ^{n.s.}	0,8258 ^{n.s.}
GA ₃ x H	1,0717 ^{n.s.}	0,2708 ^{n.s.}	0,3810 ^{n.s.}	3,2061 *	2,4328 ^{n.s.}	2,0192 ^{n.s.}
K x H	1,6415 ^{n.s.}	2,7187 ^{n.s.}	1,3933 ^{n.s.}	0,8280 ^{n.s.}	0,7769 ^{n.s.}	1,0295 ^{n.s.}
GA ₃ x K x H	0,1516 ^{n.s.}	0,1076 ^{n.s.}	0,8489 ^{n.s.}	2,3742 ^{n.s.}	2,8164 ^{n.s.}	2,7552 ^{n.s.}
* significativo a 5% ** significativo a 1% ^{n.s.} não significativo						

A Tabela 32 apresenta os resultados de germinação pelo critério plântulas normais, para ácido sulfúrico, nitrato de potássio e ácido giberélico para o lote 3. A média geral de germinação, critério plântulas normais, foi 25% e apenas o efeito do tratamento ácido sulfúrico foi significativo, produzindo uma diminuição na germinação. Ocorreram diferenças em relação ao período de tratamento onde, quanto maior o período de tratamento maior foi a perda de germinação. A germinação sem tratamento com ácido sulfúrico foi 35% enquanto o período de 15 minutos produziu a menor média com 17% de germinação. Os períodos de 5 e 10 minutos produziram resultados intermediários. O valor obtido, pelo teste de tetrazólio, para este lote, foi de 58% de viabilidade, mostrando que o tratamento ácido apresenta uma relação negativa com a germinação das sementes desta espécie.

As Tabelas 33 e 34 apresentam, respectivamente, os resultados de germinação critério protrusão de raiz primária e índice de velocidade de germinação para ácido sulfúrico, nitrato de potássio e ácido giberélico para o lote 3. As médias gerais foram, respectivamente, 30% e 2,1 plântulas normais/dia e os efeitos dos tratamentos nitrato de potássio e ácido sulfúrico foram significativos, porém ambos agiram de forma independente. A utilização de nitrato de potássio foi prejudicial a germinação e a velocidade de germinação reduzindo-as. O ácido sulfúrico também foi prejudicial a ambas. Ocorreram diferenças em relação ao período de tratamento onde quanto maior o período de tratamento maior foi a perda de germinação e de velocidade de germinação. Os resultados foram, respectivamente, sem tratamento com ácido sulfúrico, 39% e 3,1 plântulas normais/dia, enquanto o período de 15 minutos produziu as menores médias com 22% e 1,5 de índice. Os períodos de 5 e 10 minutos produziram resultados intermediários.

Tabela 32: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de *Brachiaria humidicola*, lote 3, experimento 3. Presidente Prudente, 1997.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	35	36	27	20	29
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	32	22	20	17	22
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	35	29	17	14	23
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	40	21	20	15	24
Média		35 a ¹	27 b	21 bc	17 c	25
Sem GA ₃		33	29	23	19	26 A ¹
GA ₃ 150 ppm		37	25	19	15	23 A
Média		35 a	27 b	21 bc	17 c	25
Sem KNO ₃		35	33	22	17	26 A
KNO ₃ 0,2%		36	21	20	16	23 A
Média		35 a	27 b	21 bc	17 c	25
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		29		22		26 A
GA ₃ 150 ppm		23		24		23 A
Média		26 a		23 a		25

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 33: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de *Brachiaria humidicola*, lote 3, experimento 3. Presidente Prudente, 1997.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	36	41	31	25	33
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	38	28	24	19	27
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	37	40	29	24	32
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	43	25	25	18	28
Média		39 a ¹	33 b	27 bc	22 c	30
Sem GA ₃		37	35	27	22	30 A ¹
GA ₃ 150 ppm		40	32	27	21	30 A
Média		39 a	33 b	27 bc	22 c	30
Sem KNO ₃		37	41	30	24	33 A
KNO ₃ 0,2%		41	27	24	19	27 B
Média		39 a	33 b	27 bc	22 c	30
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		33		27		30 A
GA ₃ 150 ppm		32		28		30 A
Média		33 a		27 b		30

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 34: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de *Brachiaria humidicola*, lote 3, experimento 3. Presidente Prudente, 1997.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	3,7	3,0	2,0	1,9	2,6
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	2,4	1,7	1,8	1,6	1,9
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	3,0	2,6	1,4	1,4	2,1
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	3,4	1,7	1,6	1,2	2,0
Média		3,1 a ¹	2,3 b	1,7 bc	1,5 c	2,1
Sem GA ₃		3,1	2,4	1,9	1,7	2,3 A ¹
GA ₃ 150 ppm		3,2	2,1	1,5	1,3	2,0 A
Média		3,1 a	2,3 b	1,7 bc	1,5 c	2,1
Sem KNO ₃		3,3	2,8	1,7	1,6	2,4 A
KNO ₃ 0,2%		2,9	1,7	1,7	1,4	1,9 B
Média		3,1 a	2,3 b	1,7 bc	1,5 c	2,1
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		2,6		1,9		2,3 A
GA ₃ 150 ppm		2,1		2,0		2,0 A
Média		2,4 a		1,9 b		2,1

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

A Tabela 35 apresenta os resultados de germinação pelo critério plântulas normais, para ácido sulfúrico, nitrato de potássio e ácido giberélico para o lote 4. A média geral de germinação foi 17% e os efeitos dos tratamentos nitrato de potássio, ácido sulfúrico e da interação ácido giberélico x ácido sulfúrico foram significativos. A utilização de ácido giberélico proporcionou uma atenuação no efeito do ácido sulfúrico. O tratamento com ácido sulfúrico foi prejudicial à germinação. Quando não se utilizou ácido giberélico, qualquer período de tratamento com ácido sulfúrico diminuiu significativamente a germinação e não ocorreram diferenças entre os períodos de tratamento. Quando as sementes foram tratadas com ácido giberélico, o ácido sulfúrico também diminuiu a germinação, porém, no menor período (5 minutos) não foi suficiente para promover diferença significativa. A menor germinação foi obtida com a combinação ácido giberélico e ácido sulfúrico por 10 minutos. A utilização de nitrato de potássio também foi prejudicial a germinação. O resultado, do teste de tetrazólio, foi 60% de viabilidade, levando a considerar-se, que esta espécie, foi insensível aos tratamentos para superação da dormência.

As Tabelas 36 e 37 apresentam, respectivamente, os resultados de germinação pelo critério de protrusão de raiz primária e de índice de velocidade de germinação, para ácido sulfúrico, nitrato de potássio e ácido giberélico para o lote 4. As médias gerais foram, respectivamente, 23% e 1,5 plântulas normais/dia e os efeitos dos tratamentos nitrato de potássio e ácido sulfúrico foram significativos, porém ambos agiram de forma independente. A utilização de nitrato de potássio foi prejudicial a germinação e ao índice reduzindo-os. O ácido sulfúrico também foi prejudicial a germinação e ao índice, não ocorrendo diferença entre os períodos de tratamento.

Tabela 35: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de *Brachiaria humidicola*, lote 4, experimento 3. Presidente Prudente, 1997.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	30	15	18	18	20
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	33	10	16	4	14
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	29	17	14	16	19
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	20	14	6	13	13
Média		28 a ¹	14 b	13 b	12 b	17
Sem GA ₃		32 a A	13 b A	17 b A	10 b A	17 A ¹
GA ₃ 150 ppm		25 a A	15 ab A	10 b B	14 b A	16 A
Média		28 a	14 b	13 b	12 b	17
Sem KNO ₃		30	16	16	17	19 A
KNO ₃ 0,2%		27	12	11	8	14 B
Média		28 a	14 b	13 b	12 b	17
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		20		14		17 A
GA ₃ 150 ppm		19		13		16 A
Média		19 a		14 b		17

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 36: Resultados médios dos dados de germinação (G). critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de *Brachiaria humidicola*, lote 4, experimento 3. Presidente Prudente, 1997.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	35	23	23	23	26
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	40	15	21	9	21
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	31	26	24	19	25
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	24	18	14	19	19
Média		32 a ¹	21 b	20 b	17 b	23
Sem GA ₃		37	19	22	15	23 A ¹
GA ₃ 150 ppm		28	22	19	19	22 A
Média		32 a	21 b	20 b	17 b	23
Sem KNO ₃		33	25	23	21	25 A
KNO ₃ 0,2%		32	17	18	13	20 B
Média		32 a	21 b	20 b	17 b	23
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		26		21		23 A
GA ₃ 150 ppm		25		19		22 A
Média		25 a		20 b		23

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 37: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de *Brachiaria humidicola*, lote 4, experimento 3. Presidente Prudente, 1997.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	2,5	1,2	1,4	1,6	1,7
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	2,4	0,7	1,4	0,8	1,3
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	3,1	1,6	1,2	1,6	1,9
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	1,5	1,4	0,7	1,4	1,2
Média		2,4 a ¹	1,2 b	1,2 b	1,3 b	1,5
Sem GA ₃		2,4	1,0	1,4	1,2	1,5 A ¹
GA ₃ 150 ppm		2,3	1,5	1,0	1,5	1,5 A
Média		2,4 a	1,2 b	1,2 b	1,3 b	1,5
Sem KNO ₃		2,8	1,4	1,3	1,6	1,8 A
KNO ₃ 0,2%		1,9	1,1	1,0	1,1	1,3 B
Média		2,4 a	1,2 b	1,2 b	1,3 b	1,5
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		1,7		1,3		1,5 A
GA ₃ 150 ppm		1,9		1,2		1,5 A
Média		1,8 a		1,3 b		1,5

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

4.1.2.3 - Considerações gerais sobre o experimento 3

Os resultados obtidos no experimento 3 foram divergentes para cada espécie estudada. *Brachiaria brizantha* apresentou resposta ao tratamento com ácido sulfúrico, que aumentou significativamente a porcentagem e a velocidade de germinação das sementes desta espécie. No entanto, não houve resposta significativa em relação ao período de aplicação do produto para nenhum dos lotes. Em valores absolutos o lote 3 apresentou resposta superior para plântulas normais no período de 5 minutos, enquanto para protrusão foi superior o período de 15 minutos. Para o lote 4 os valores absolutos tenderam a apontar superioridade do período de 10 minutos.

É interessante ressaltar que *Brachiaria brizantha* mostrou resposta significativa ao tratamento com ácido sulfúrico no experimento 2 (Tabelas 18, 19 e 20). O lote 3 apresentara média de germinação, critério plântulas normais, de 32%, critério protrusão de raiz primária, de 33% e índice de velocidade de germinação de 8,3 plântulas normais/dia. No experimento 3 os valores aumentaram para 66%, 71% e 8,4 plântulas normais/dia, respectivamente, indicando que o tratamento com ácido sulfúrico foi efetivo aumentando a germinação, porém sua eficiência não foi total pois, com o armazenamento entre os experimentos, houve um incremento na germinação do lote. Resultados positivos da utilização de ácido sulfúrico em *Brachiaria brizantha* foram obtidos por diversos autores, entre eles Castro et al. (1994a); Martins & Lago (1996), Ruiz et al. (1996) e Martins et al. (1998). Ruiz et al. (1996), trabalhando com 9 espécies de *Brachiaria*, mostraram que, apenas o armazenamento não foi suficiente para quebrar dormência pois o tratamento químico de escarificação com ácido sulfúrico aumentou a germinação de sementes armazenadas por 11 meses (*Brachiaria decumbens*) e por 14 meses (*Brachiaria dictyoneura*). Na presente pesquisa, o tratamento com ácido sulfúrico continuou efetivo mesmo após o armazenamento (Tabelas 25, 26 e 27) concordando portanto com Ruiz et al. (1996).

Os outros tratamentos (ácido giberélico e nitrato de potássio) não apresentaram resultado positivo (Tabelas 25, 26 e 27), concordando com Garcia & Cícero (1992) que, também, não obtiveram resultados positivos da utilização de ácido giberélico em *Brachiaria brizantha*. Quanto ao nitrato de

potássio tem sido freqüente, para *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria decumbens*, a obtenção de pouca resposta ou até mesmo resultados negativos (Toledo & Carvalho, 1990; Martins & Lago, 1996; Lima & Cardoso, 1996), pois após um pequeno período de armazenamento, a dormência de curta duração, foi facilmente superada, o que pode ser notado pelo aumento nos índices de germinação das sementes não submetidas a nenhum tratamento (Tabelas 18 e 25).

O lote 4, ao contrário do 3, apresentou alta germinação logo na primeira avaliação (experimento 3, Tabelas 28, 29 e 30) mesmo na ausência de qualquer tratamento, porém ocorreu evidente resposta ao ácido sulfúrico. Esta diferença pode ser relacionada ao histórico do material como condições de maturação e pós-maturação até a colheita, por varredura (Hopkinson et al., 1996; Lima & Cardoso, 1996), pois durante o desenvolvimento da semente, estresse hídrico, temperatura e fotoperíodo exercem ação sobre ABA e GA tanto quantitativamente quanto em relação a sensibilidade, alterando o grau de dormência da semente formada (Bewley & Black, 1994).

As sementes de *Brachiaria humidicola* apresentaram resposta negativa tanto ao tratamento com ácido sulfúrico quanto ao nitrato de potássio. Os melhores resultados foram obtidos sem qualquer tratamento tanto para o lote 3 quanto para o 4.

Notou-se que *Brachiaria humidicola* havia mostrado que não respondia favoravelmente ao tratamento com ácido sulfúrico no experimento 2 (Tabelas 21, 22 e 23). O lote 3 havia apresentado média de germinação, critério plântulas normais, de 21%, critério protrusão de raiz primária, de 24% e índice de velocidade de germinação de 3,1 plântulas normais/dia. No experimento 3 (Tabelas 32, 33 e 34) os valores aumentaram para 25%, 30% e o índice diminuiu para 2,1 plântulas normais/dia, respectivamente, indicando que o tratamento com ácido sulfúrico foi prejudicial diminuindo a germinação antes e após o armazenamento (experimentos 2 e 3). Resultados negativos com ácido sulfúrico para *Brachiaria humidicola* também foram obtidos por diversos autores (Atalla & Tosello, 1979; Oliveira & Mastrocola, 1983; Goedert, 1984; Macedo et al., 1994; Faria et al., 1996; Ruiz et al., 1996).

O tratamento com ácido giberélico não mostrou efetividade quer

seja isoladamente ou combinado com nitrato de potássio ou ácido sulfúrico (experimentos 1 e 3). Estes resultados não concordam com Goedert (1984) e Rodrigues et al. (1986) que encontraram efeito positivo da utilização de ácido giberélico em *Brachiaria humidicola*.

O tratamento com nitrato de potássio mostrou-se efetivo, quando isolado, nos experimentos 1 e 2 o que não se confirmou no experimento 3. Realmente na literatura tem sido encontrados resultados divergentes para *Brachiaria humidicola* com relação ao tratamento com nitrato de potássio, ora relatando resultados positivos (Atalla & Tosello, 1979; Oliveira & Mastrocola, 1983; Goedert & Roberts, 1986; Ruiz et al., 1996) ora negativos (Faria et al., 1996). Porém, o efeito positivo verificado nos experimentos 1 e 2 deste trabalho, não foi capaz de promover germinação em níveis próximos aos obtidos para o teste de tetrazólio (58% de viabilidade).

O armazenamento não foi efetivo em proporcionar alteração no comportamento do lote 3 pois ocorreu apenas um leve aumento na germinação deste lote após 6 meses de armazenamento. Outros autores também não observaram efeito positivo do armazenamento para esta espécie, ao contrário, observaram que após certo tempo (aproximadamente 6 meses) a deterioração causou perda de potencial fisiológico (Atalla & Tosello, 1979; Macedo et al., 1994).

O lote 4 apresentou comportamento semelhante ao lote 3 apresentando baixa germinação logo na primeira avaliação (experimento 3, Tabelas 35, 36 e 37) e nenhuma resposta ou resposta negativa aos tratamentos. Mais uma vez esta espécie mostrou-se insensível aos tratamentos para superação de dormência, pois os resultados de germinação ficaram aquém do resultado do teste de tetrazólio (60%).

4.1.3 - Experimento 4

Caracterização inicial

Observando-se as Figuras 3 e 4, constatou-se que todos os lotes apresentavam teores de água próximos a 10%, antes do tratamento com o ácido; com o tratamento as sementes absorveram água e, ao final deste, atingiram teores de água em torno de 20 e 30%. Todavia, apenas a secagem ao ar por 48 horas foi suficiente para a umidade atingisse níveis próximos aos iniciais. Este procedimento foi feito com o intuito de que todos os tratamentos de germinação do experimento 4 fossem iniciados com as sementes em grau de umidade inicial próximos.

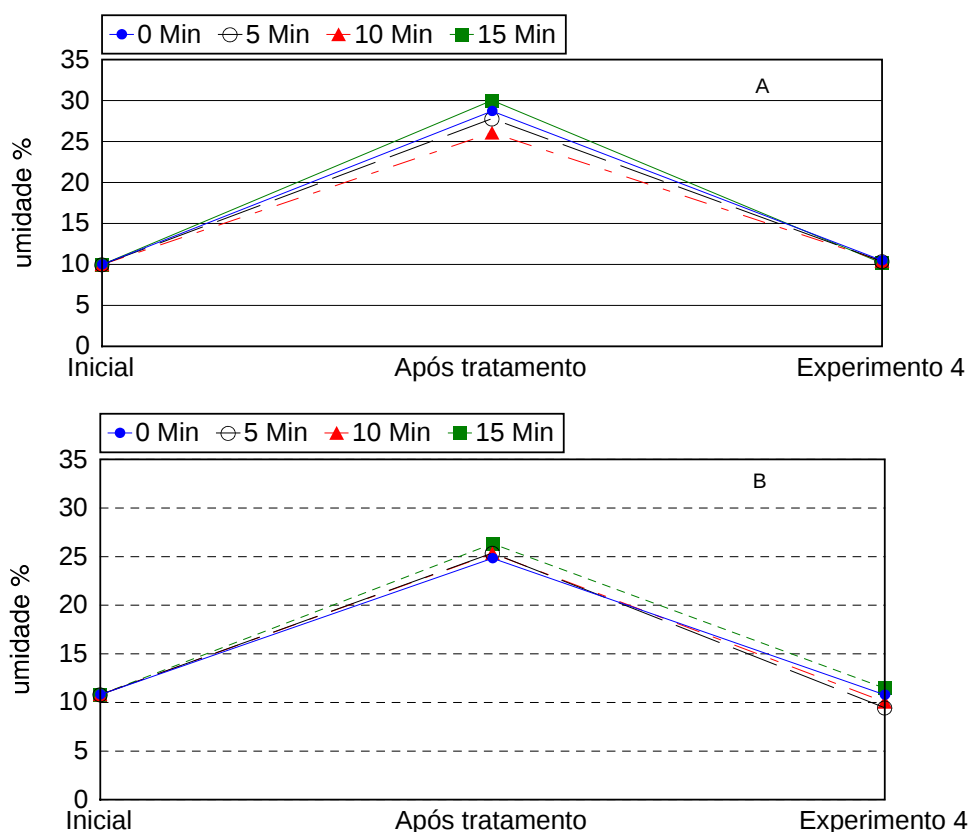


Figura 3: Determinação do grau de umidade (%) obtidos imediatamente antes e após o tratamento com o ácido sulfúrico e após a secagem ao ar, nas sementes de *Brachiaria brizantha*, lote 3 (A) e lote 4 (B), experimento 4. Presidente Prudente, 1997.

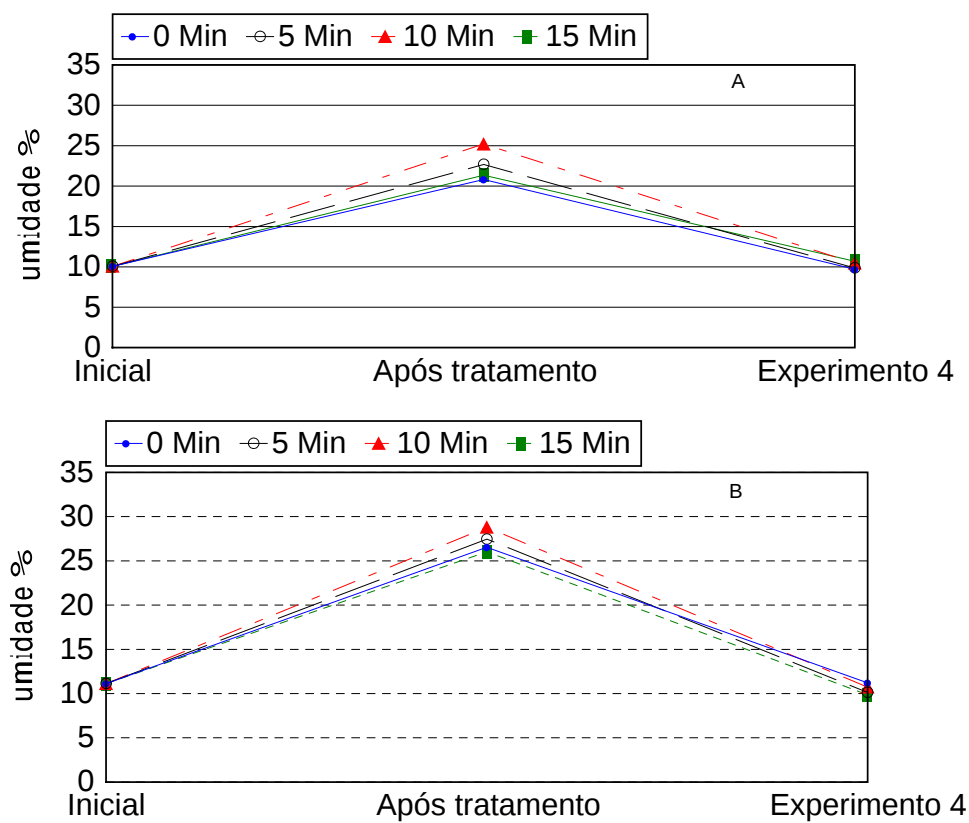


Figura 4: Determinação do grau de umidade (%) obtidos imediatamente antes e após o tratamento com o ácido sulfúrico e após a secagem ao ar, nas sementes de *Brachiaria humidicola*, lote 3 (A) e lote 4 (B), experimento 4. Presidente Prudente, 1997.

4.1.3.1 - *Brachiaria brizantha*

Observando-se os valores de F obtidos nas análises da variância dos dados referentes ao uso de ácido sulfúrico concentrado, imediatamente após o tratamento, isoladamente ou combinado com ácido giberélico e nitrato de potássio, durante o teste de germinação, após armazenamento das sementes intactas por 8 meses (Tabela 38). Verificou-se que, com o lote 3, para todos os parâmetros estudados, os efeitos dos tratamentos com nitrato de potássio, ácido sulfúrico e da interação ácido giberélico x nitrato de potássio foram significativos. Para o lote 4, os efeitos dos tratamentos com ácido giberélico e ácido sulfúrico, foram significativos para todos os parâmetros.

Tabela 38: Valores de F obtidos nas análises de variância dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), critério protrusão de raiz primária (CPRP) e índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de *Brachiaria brizantha*, lotes 3 e 4, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.

<i>Brachiaria brizantha</i>						
Tratamentos	lote 3			lote 4		
	CPN	CPRP	IVG	CPN	CPRP	IVG
GA ₃	3,2280 ^{n.s.}	3,2280 ^{n.s.}	1,9692 ^{n.s.}	28,9100 **	27,3101 **	41,9641 **
KNO ₃ (K)	8,8019 **	8,8019 **	5,1337 *	1,0814 ^{n.s.}	0,4285 ^{n.s.}	3,6300 ^{n.s.}
H ₂ SO ₄ (H)	3,5112 *	3,5112 *	9,4595 **	15,7512 **	14,0828 **	31,3229 **
GA ₃ x K	11,1314 **	11,1314 **	12,4275 **	0,3697 ^{n.s.}	0,0670 ^{n.s.}	0,0228 ^{n.s.}
GA ₃ x H	2,5592 ^{n.s.}	2,5592 ^{n.s.}	1,9635 ^{n.s.}	1,2951 ^{n.s.}	0,7650 ^{n.s.}	2,1286 ^{n.s.}
K x H	1,5799 ^{n.s.}	1,5779 ^{n.s.}	1,1501 ^{n.s.}	1,0338 ^{n.s.}	1,4210 ^{n.s.}	0,8246 ^{n.s.}
GA ₃ x K x H	2,5006 ^{n.s.}	2,5006 ^{n.s.}	2,0513 ^{n.s.}	3,5626 ^{n.s.}	2,2021 ^{n.s.}	2,1644 ^{n.s.}
* significativo a 5%			** significativo a 1%		^{n.s.} não significativo	

As Tabelas 39 e 40 apresentam, respectivamente, os resultados de germinação pelos critérios plântulas normais e protrusão de raiz primária, para ácido sulfúrico, nitrato de potássio e ácido giberélico para o lote 3. As médias gerais de germinação foram de 61% e os efeitos dos tratamentos ácido sulfúrico e nitrato de potássio foram significativos, ocorrendo interação apenas entre os efeitos de ácido giberélico e nitrato de potássio. O tratamento com ácido sulfúrico produziu aumento na germinação principalmente no período de 10 minutos. Nos períodos de 5 e 15 minutos os resultados não diferiram de 10 e da não utilização, ficando portanto em posição intermediária. À ausência do ácido sulfúrico produziu resultado inferior. O uso de nitrato de potássio diminuiu a germinação principalmente se empregado juntamente com ácido giberélico.

A Tabela 41 apresenta os resultados de índice de velocidade de germinação para ácido sulfúrico, nitrato de potássio e ácido giberélico para o lote 3. A média geral do índice foi 7,6 plântulas normais/dia e os efeitos dos tratamentos ácido sulfúrico e nitrato de potássio foram significativos, ocorrendo interação apenas entre os efeitos de ácido giberélico e nitrato de potássio. O tratamento com ácido sulfúrico produziu aumento na velocidade de germinação principalmente no período de 10 minutos seguido pelo período de 15 minutos. À ausência do ácido sulfúrico produziu resultado inferior. O uso de nitrato de potássio diminuiu a germinação principalmente se empregado juntamente com ácido giberélico.

Tabela 39: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de *Brachiaria brizantha*, lote 3, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	69	62	63	60	64
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	52	75	75	57	65
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	62	71	81	64	70
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	32	26	65	58	45
Média		54 b ¹	59 ab	71 a	60 ab	61
Sem GA ₃		61	70	69	59	65 A ¹
GA ₃ 150 ppm		47	48	74	61	58 A
Média		54 b	59 ab	71 a	60 ab	61
Sem KNO ₃		66	67	73	62	67 A
KNO ₃ 0,2%		42	51	70	57	55 B
Média		54 b	59 ab	71 a	60 ab	61
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		64 aA		65 aA		65 A
GA ₃ 150 ppm		70 aA		45 bB		58 A
Média		67 a		55 b		61

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 40: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de *Brachiaria brizantha*, lote 3, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	71	62	63	59	64
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	52	76	75	57	65
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	62	71	81	63	70
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	34	26	65	58	45
Média		55 b ¹	59 ab	71 a	59 ab	61
Sem GA ₃		61	70	69	58	65 A ¹
GA ₃ 150 ppm		48	48	74	61	58 A
Média		54 b	59 ab	71 a	59 ab	61
Sem KNO ₃		66	67	73	61	68 A
KNO ₃ 0,2%		43	51	70	57	55 B
Média		54 b	59 ab	71 a	59 ab	61
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		64 aA		65 aA		65 A
GA ₃ 150 ppm		70 aA		45 bB		58 A
Média		67 a		55 b		61

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 41: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de *Brachiaria brizantha*, lote 3, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	6,7	7,8	8,5	7,6	7,6
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	6,1	9,4	9,6	7,8	8,2
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	7,0	8,9	10,5	8,0	8,6
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	3,7	3,7	8,7	7,7	6,0
Média		5,9 c ¹	7,4 bc	9,3 a	7,8 ab	7,6
Sem GA ₃		6,4	8,6	9,0	7,7	7,9 A ¹
GA ₃ 150 ppm		5,4	6,3	9,6	7,9	7,3 A
Média		5,9 c	7,4 bc	9,3 a	7,8 ab	7,6
Sem KNO ₃		6,9	8,3	9,5	7,8	8,1 A
KNO ₃ 0,2%		4,9	6,5	9,1	7,8	7,1 B
Média		5,9 c	7,4 bc	9,3 a	7,8 ab	7,6
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		7,6 aA		8,2 aA		7,9 A
GA ₃ 150 ppm		8,6 aA		6,0 bB		7,3 A
Média		8,1 a		7,1 b		7,6

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

As Tabelas 42, 43 e 44 apresentam, respectivamente, os resultados de germinação pelos critérios plântulas normais e protrusão de raiz primária e de índice de velocidade de germinação para ácido sulfúrico, nitrato de potássio e ácido giberélico para o lote 4. As médias gerais foram, respectivamente, 75 e 76% e 9,3 plântulas normais/dia. Os efeitos dos tratamentos ácido giberélico e ácido sulfúrico foram significativos, porém ambos agiram de forma independente. Resultados superiores de germinação e índice foram obtidos quando não se utilizou o tratamento com ácido giberélico. O ácido sulfúrico foi muito efetivo produzindo um aumento na porcentagem e na velocidade de germinação. Não ocorreram diferenças em relação ao período de tratamento.

Tabela 42: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de *Brachiaria brizantha*, lote 4, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	66	89	91	90	85
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	75	87	80	80	81
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	50	78	75	67	68
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	35	73	68	86	67
Média		57 b ¹	82 a	79 a	81 a	75
Sem GA ₃		71	88	86	85	83 A ¹
GA ₃ 150 ppm		42	76	72	77	67 B
Média		57 b	82 a	79 a	81 a	75
Sem KNO ₃		58	84	84	79	77 A
KNO ₃ 0,2%		55	81	74	83	74 A
Média		57 b	82 a	79 a	81 a	75
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		85		81		83 A
GA ₃ 150 ppm		68		67		67 B
Média		77 a		74 a		75

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 43: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de *Brachiaria brizantha*, lote 4, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	66	89	91	90	85
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	75	87	80	87	82
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	50	78	75	67	68
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	35	73	68	86	67
Média		57 b ¹	82 a	79 a	83 a	76
Sem GA ₃		71	89	86	88	84 A ¹
GA ₃ 150 ppm		42	76	72	77	67 B
Média		57 b	82 a	79 a	83 a	76
Sem KNO ₃		58	84	84	79	77 A
KNO ₃ 0,2%		55	81	74	87	75 A
Média		57 b	82 a	79 a	83 a	76
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		68
Sem GA ₃		85		82		84 A
GA ₃ 150 ppm		68		67		67 B
Média		77a		75a		76

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 44: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de *Brachiaria brizantha*, lote 4, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	8,0	10,7	12,0	12,4	10,8
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	8,5	10,8	10,3	11,0	10,2
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	5,2	10,1	9,9	9,1	8,5
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	3,9	8,6	8,5	10,3	7,8
Média		6,4 b ¹	10,0 a	10,2 a	10,7a	9,3
Sem GA ₃		8,3	10,7	11,2	11,7	10,5 A ¹
GA ₃ 150 ppm		4,5	9,4	9,2	9,7	8,2 B
Média		6,4 b	10,0 a	10,2 a	10,7a	9,3
Sem KNO ₃		6,6	10,4	11,0	10,7	9,7 A
KNO ₃ 0,2%		6,2	9,7	9,4	10,7	9,0 A
Média		6,4 b	10,0 a	10,2 a	10,7a	9,3
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		10,8		10,2		10,5 A
GA ₃ 150 ppm		8,5		7,8		8,2 B
Média		9,7 a		9,0 a		9,3

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

4.1.3.2 - *Brachiaria humidicola*

Observando-se os valores de F obtidos nas análises da variância dos dados referentes ao uso de ácido sulfúrico concentrado, imediatamente após o tratamento, isoladamente ou combinado com ácido giberélico e nitrato de potássio, durante o teste de germinação, após armazenamento das sementes intactas por 8 meses (Tabela 45), verificou-se que, com o lote 3, o efeito do tratamento ácido giberélico foi significativo para o índice de velocidade de germinação. O efeito do tratamento ácido sulfúrico foi significativo para germinação quando se considerou o critério de protrusão da raiz primária. O efeito da interação ácido giberélico x ácido sulfúrico foi significativo para a germinação quando se considerou plântulas normais e para o índice de velocidade de germinação enquanto da interação nitrato de potássio x ácido sulfúrico somente foi significativo para a germinação pelo critério protrusão da raiz primária.

Com o lote 4, os efeitos, dos tratamentos nitrato de potássio e ácido sulfúrico bem como da interação ácido giberélico x nitrato de potássio, foram significativos para todos os parâmetros estudados. O efeito do tratamento ácido giberélico foi significativo para a germinação pelo critério protrusão da raiz primária e para o índice de velocidade de germinação.

Tabela 45: Valores de F obtidos nas análises de variância dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), critério protrusão de raiz primária (CPRP) e índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de *Brachiaria humidicola*, lotes 3 e 4, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.

<i>Brachiaria humidicola</i>						
Tratamentos	lote 3			lote 4		
	CPN	CPRP	IVG	CPN	CPRP	IVG
GA ₃	4,0284 ^{n.s.}	0,4310 ^{n.s.}	4,2432 *	3,3464 ^{n.s.}	6,8819 *	7,5125 **
KNO ₃ (K)	0,5574 ^{n.s.}	0,7069 ^{n.s.}	0,8701 ^{n.s.}	11,8131 **	17,6490 **	13,4117 **
H ₂ SO ₄ (H)	0,9682 ^{n.s.}	3,4680 *	3,2362 *	6,6426 **	8,2035 **	10,3970 **
GA ₃ x K	0,6681 ^{n.s.}	0,8779 ^{n.s.}	0,0967 ^{n.s.}	6,0601 *	5,8964 *	10,2499 **
GA ₃ x H	4,2861 **	2,6477 ^{n.s.}	4,4164 **	0,5241 ^{n.s.}	0,4785 ^{n.s.}	0,9653 ^{n.s.}
K x H	2,2648 ^{n.s.}	2,9614 *	2,4350 ^{n.s.}	1,9380 ^{n.s.}	1,7569 ^{n.s.}	1,0106 ^{n.s.}
GA ₃ x K x H	0,0880 ^{n.s.}	0,2168 ^{n.s.}	0,0826 ^{n.s.}	0,5777 ^{n.s.}	0,2566 ^{n.s.}	0,5480 ^{n.s.}
* significativo a 5%			** significativo a 1%		^{n.s.} não significativo	

As Tabelas 46 e 47 apresentam os resultados de germinação, respectivamente pelos critérios plântulas normais e protrusão de raiz primária, para ácido sulfúrico, nitrato de potássio e ácido giberélico para o lote 3. A média geral de germinação (plântulas normais) foi 19% e apenas o efeito da interação ácido giberélico x ácido sulfúrico foi significativo mostrando que a utilização do tratamento com ácido sulfúrico foi prejudicial à germinação principalmente quando não se utilizou o tratamento com ácido giberélico. Quando se utilizou o tratamento com ácido giberélico isoladamente ou seja, sem a utilização do tratamento prévio das sementes com ácido sulfúrico foi obtido um resultado superior (35%). Em valores absolutos, no entanto, a maior germinação foi obtida com a utilização combinada de ácido giberélico e nitrato de potássio sem o uso de ácido sulfúrico (38%). A média geral de germinação (protrusão de raiz primária) foi 23%, sendo que o efeito do tratamento ácido sulfúrico e da interação nitrato de potássio x ácido sulfúrico foram significativos. O uso do ácido sulfúrico concentrado foi prejudicial a

germinação das sementes reduzindo-a em qualquer período de utilização. O nitrato de potássio foi favorável à germinação (35%) principalmente quando isolado. O tratamento com ácido giberélico, apesar de não ter apresentado significância, quando isolado, foi responsável por aumentar a germinação em relação a sua utilização combinada com ácido sulfúrico. Em valores absolutos, no entanto, a maior germinação foi obtida com a utilização combinada de ácido giberélico e nitrato de potássio sem o uso de ácido sulfúrico (40%).

A Tabela 48 apresenta os resultados de índice de velocidade de germinação para ácido sulfúrico, nitrato de potássio e ácido giberélico para o lote 3. A média geral do índice foi 1,4 plântulas normais/dia e os efeitos dos tratamentos ácido giberélico, ácido sulfúrico e da interação ácido giberélico x ácido sulfúrico foram significativos. A utilização de ácido sulfúrico foi prejudicial ao índice de velocidade de germinação diminuindo-o em qualquer período de tratamento. A utilização de ácido giberélico foi favorável aumentando a velocidade de germinação principalmente quando as sementes não foram submetidas ao tratamento com ácido sulfúrico (2,5 plântulas normais/dia). Em valores absolutos, no entanto, a maior velocidade de germinação foi obtida com a utilização combinada de ácido giberélico e nitrato de potássio sem o uso de ácido sulfúrico (2,7 plântulas normais/dia).

Tabela 46: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de *Brachiaria humidicola*, lote 3, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	8	22	15	24	17
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	18	16	18	16	17
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	33	21	18	27	24
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	38	14	16	15	20
Média		23 a ¹	18 a	17 a	20 a	19
Sem GA ₃		12 aB	19 aA	16 aA	20 aA	17 A ¹
GA ₃ 150 ppm		35 aA	17 bA	17 bA	21 abA	22 A
Média		23 a	18 a	17 a	20 a	19
Sem KNO ₃		19	22	16	25	20 A
KNO ₃ 0,2%		27	15	17	16	18 A
Média		23 a	18 a	17 a	20 a	19
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		17		17		17 A
GA ₃ 150 ppm		24		20		22 A
Média		20 a		18 a		19

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 47: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de *Brachiaria humidicola*, lote 3, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	17	29	15	29	22
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	29	20	22	18	22
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	37	22	19	29	26
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	40	14	18	17	22
Média		30 a ¹	21 ab	18 b	23 ab	23
Sem GA ₃		23	24	18	23	22 A ¹
GA ₃ 150 ppm		38	18	19	23	24 A
Média		30 a	21 ab	18 b	23 ab	23
Sem KNO ₃		26 aA	25 aA	17 aA	29 aA	24 A
KNO ₃ 0,2%		35 aA	17 bA	20 abA	18 bB	22 A
Média		30 a	21 ab	18 b	23 ab	23
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		22		22		22 A
GA ₃ 150 ppm		26		22		24 A
Média		24 a		22 a		23

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 48: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de *Brachiaria humidicola*, lote 3, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	1,0	1,4	1,0	1,8	1,3
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	1,3	1,1	1,3	1,0	1,2
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	2,3	1,4	1,1	1,9	1,7
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	2,7	1,0	1,1	1,1	1,5
Média		1,8 a ¹	1,2 ab	1,1 b	1,4 ab	1,4
Sem GA ₃		1,1 aB	1,3 aA	1,2 aA	1,4 aA	1,2 B ¹
GA ₃ 150 ppm		2,5 aA	1,2 bA	1,1 bA	1,5 bA	1,6 A
Média		1,8 a	1,2 ab	1,1 b	1,4 ab	1,4
Sem KNO ₃		1,6	1,4	1,1	1,8	1,5 A
KNO ₃ 0,2%		2,0	1,1	1,2	1,1	1,3 A
Média		1,8 a	1,2 ab	1,1 b	1,4 ab	1,4
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		1,3		1,2		1,2 B
GA ₃ 150 ppm		1,7		1,5		1,6 A
Média		1,5 a		1,3 a		1,4

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

A Tabela 49 apresenta os resultados de germinação pelo critério plântulas normais, para ácido sulfúrico, nitrato de potássio e ácido giberélico para o lote 4. A média geral de germinação foi 18% e os efeitos dos tratamentos nitrato de potássio, ácido sulfúrico e da interação ácido giberélico x nitrato de potássio foram significativos. O ácido sulfúrico foi prejudicial à germinação diminuindo-a em qualquer período de tratamento. O nitrato de potássio também foi prejudicial, principalmente quando associado ao tratamento com ácido sulfúrico. O ácido giberélico mostrou resultado favorável aumentando a germinação quando isolado (33%), fato este revelado pela significância da interação ácido giberélico x nitrato de potássio.

As Tabelas 50 e 51 apresentam, respectivamente, os resultados de germinação pelo critério de protrusão de raiz primária e de índice de velocidade de germinação, para ácido sulfúrico, nitrato de potássio e ácido giberélico para o lote 4. As médias gerais foram, respectivamente, 21% e 1,3 plântulas normais/dia. Os efeitos dos tratamentos ácido giberélico, nitrato de potássio e ácido sulfúrico assim como da interação ácido giberélico x nitrato de potássio foram significativos. O ácido sulfúrico foi prejudicial à porcentagem e à velocidade de germinação diminuindo-os em todos os períodos estudados. O nitrato de potássio também diminuiu ambos principalmente quando associado ao tratamento com ácido sulfúrico. O ácido giberélico, no entanto, foi favorável aumentando a germinação e o índice principalmente quando isolado, fato este revelado pelo efeito significativo da interação ácido giberélico x nitrato de potássio. Os maiores valores absolutos foram, respectivamente, 43% e 2,3 plântulas normais/dia, obtidos com aplicação exclusiva de ácido giberélico.

Tabela 49: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de *Brachiaria humidicola*, lote 4, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	24	14	15	14	16
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	27	7	14	12	14
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	33	27	17	33	27
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	24	8	13	10	13
Média		27 a ¹	13 b	15 b	16 b	18
Sem GA ₃		25	10	14	13	15 A ¹
GA ₃ 150 ppm		28	16	15	20	19 A
Média		27 a	13 b	15 b	16 b	18
Sem KNO ₃		28	20	16	22	21 A
KNO ₃ 0,2%		25	7	13	11	14 B
Média		27 a	13 b	15 b	16 b	18
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		16 aB		14 aA		15 A
GA ₃ 150 ppm		27 aA		13 bA		19 A
Média		21 a		14 b		18

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 50: Resultados médios dos dados de germinação (G). critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de *Brachiaria humidicola*, lote 4, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	29	16	15	19	19
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	31	8	14	12	15
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	43	35	21	35	33
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	26	11	16	11	16
Média		32 a ¹	16 b	16 b	19 b	21
Sem GA ₃		30	11	14	16	17 B ¹
GA ₃ 150 ppm		34	22	19	22	24 A
Média		32 a	16 b	16 b	19 b	21
Sem KNO ₃		36	25	18	27	26 A
KNO ₃ 0,2%		28	9	15	12	15 B
Média		32 a	16 b	16 b	19 b	21
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		19 aB		15 aA		17 B
GA ₃ 150 ppm		33 aA		16 bA		24 A
Média		26 a		15 b		21

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 51: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de *Brachiaria humidicola*, lote 4, experimento 4. Presidente Prudente, 1998.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	1,7	0,8	1,0	0,9	1,1
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	1,9	0,6	0,8	0,9	1,0
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	2,3	1,7	1,3	2,3	1,9
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	1,6	0,5	0,8	1,0	1,0
Média		1,9 a ¹	0,9 b	1,0 b	1,3 b	1,3
Sem GA ₃		1,8	0,7	0,9	0,9	1,1 B ¹
GA ₃ 150 ppm		2,0	1,1	1,0	1,6	1,4 A
Média		1,9 a	0,9 b	1,0 b	1,3 b	1,3
Sem KNO ₃		2,0	1,3	1,1	1,6	1,5 A
KNO ₃ 0,2%		1,7	0,5	0,8	0,9	1,0 B
Média		1,9 a	0,9 b	1,0 b	1,3 b	1,3
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		1,1 aB		1,0 aA		1,1 B
GA ₃ 150 ppm		1,9 aA		1,0 bA		1,4 A
Média		1,5 a		1,0 b		1,3

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

4.1.3.3 - Considerações gerais sobre o experimento 4

No experimento 4 os resultados divergiram em cada espécie estudada. *Brachiaria brizantha* apresentou resposta positiva ao tratamento com ácido sulfúrico, com aumento significativo da germinação e da velocidade de germinação. No entanto, não houve resposta significativa com relação ao período de tratamento; em valores absolutos o lote 3 (Tabelas 39, 40 e 41) apresentou resposta superior para plântulas normais e protrusão, no período de 10 minutos, enquanto para o índice de velocidade de germinação os períodos de 10 e 15 minutos se destacaram. No lote 4, mesmo os valores absolutos, indicaram resultados muito próximos não revelando qualquer tendência (Tabelas 42,43 e 44). Na literatura podem-se encontrar resultados positivos para *Brachiaria brizantha* com períodos de até 20 minutos (Castro et al., 1994a) no entanto, tem sido mais comum a utilização de 15 minutos (Brasil, 1992; Garcia & Cícero, 1992; Martins & Lago, 1996; Martins et al., 1998).

Para o lote 3, no experimento 4 (Tabelas 39, 40 e 41), os valores obtidos foram de 61% de plântulas normais e protrusão de raiz primária, e 7,6 plântulas normais/dia. Durante o primeiro período de armazenamento, entre os experimentos 1-2 e 3, o envelhecimento natural contribuiu para a diminuição da dormência, assim, no experimento 2 (Tabelas 18, 19 e 20) a eficiência do tratamento com ácido sulfúrico não foi total pois com o armazenamento, o lote teve aumentada sua germinação (experimento 3 – Tabelas 25, 26 e 27). Durante o segundo período de armazenamento, entre o experimento 3 e 4-5, o envelhecimento natural provocou queda no potencial fisiológico do lote o que foi constatado pela diminuição da porcentagem e da velocidade de germinação no experimento 4 (Tabelas 39, 40 e 41) em relação ao experimento 3, embora ainda tenha havido resposta ao tratamento com ácido sulfúrico para quebra da dormência. A dormência das sementes do gênero *Brachiaria* tem mostrado dependência em relação a temperatura e a duração do armazenamento. Vieira et al. (1998b) mostraram que o armazenamento de sementes de *Brachiaria brizantha* a 28°C acelerou a superação da dormência que atingiu germinação máxima (100%) após 269 dias, enquanto que as sementes armazenada a 4°C, pelo mesmo período,

apresentaram 50% de sementes dormentes. Previero et al. (1998a) estudaram o comportamento de *Brachiaria brizantha*, submetida a escarificação ácida em escala comercial e armazenada em dois tipos de embalagem, concluindo que, dos tratamentos, nenhum favoreceu a superação de dormência, que ocorreu de forma natural, no quarto mês de armazenamento.

Os outros tratamentos (ácido giberélico e nitrato de potássio) não foram efetivos para aumentar a germinação ou sua velocidade. O tratamento com ácido sulfúrico continuou efetivo, mesmo após o segundo período de armazenamento e da diminuição do potencial fisiológico do lote (Tabelas 39, 40 e 41). Os resultados obtidos neste trabalho, onde o tratamento com ácido sulfúrico continuou fazendo efeito mesmo após 14 meses de armazenamento, concordam com os de Ruiz et al. (1996). Entre as espécies de *Brachiaria* comumente utilizadas para pastagem e com produção de sementes em larga escala, a *Brachiaria brizantha* tem a maturação menos sincronizada; no pico de produção, com uma única colheita, apenas 10% da produção se encontra em ponto de colheita (Hopkinson et al., 1996). É possível, então, que a grande desuniformidade de maturação das sementes possa ter reflexo no processo de deterioração, produzindo sementes com potenciais fisiológicos distintos, daí o tratamento com ácido sulfúrico continuar eficaz mesmo após o armazenamento.

O lote 4 apresentou comportamento distinto do lote 3, apresentando alta germinação logo na primeira avaliação (experimento 3, Tabelas 28, 29 e 30), embora tenha ocorrido resposta ao ácido sulfúrico. Durante o desenvolvimento da semente, estresse hídrico, temperatura e fotoperíodo exercem ação sobre ABA e GA, tanto quantitativamente, quanto em relação a sensibilidade, alterando o grau de dormência da semente formada (Simpson, 1990; Bewley & Black, 1994).

As sementes foram armazenadas, entre o experimento 3 e 4, por 8 meses, onde ambos os lotes apresentaram diminuição na germinação e na velocidade de germinação. No experimento 4 as médias, do lote 4 (Tabelas 42, 43 e 44), foram 75 e 76% para plântulas normais e protrusão de raiz primária, respectivamente, e, 9,3 plântulas normais/dia, indicando que o armazenamento provocou queda na qualidade fisiológica do lote. O

tratamento com ácido sulfúrico continuou sendo eficaz aumentando a germinação e velocidade de germinação do lote 4 no experimento 4, em relação ao mesmo lote no experimento 3 (Tabelas 28,29 e 30), ainda que tenham sido observados indícios de perda de potencial fisiológico durante o armazenamento. Estes resultados corroboram com os obtidos por Martins & Lago (1996) e Martins et al. (1998) com até 18 meses de armazenamento, utilizando como tratamentos escarificação com ácido sulfúrico por 15 minutos e pré-aquecimento a 40°C por 7 dias. No entanto, Previero et al. (1998a) e Vieira et al. (1998b) observaram que o armazenamento foi mais efetivo que os demais tratamentos para superação da dormência.

A espécie *Brachiaria humidicola* apresentou resposta negativa ao tratamento com ácido sulfúrico, o que já havia sido verificado no experimento 3. Os melhores resultados foram obtidos com a utilização isolada de ácido giberélico ou em combinação com nitrato de potássio, tanto para o lote 3 quanto para o lote 4, resultado este que não havia sido verificado no experimento 3.

No experimento 4 (Tabelas 46, 47 e 48) os valores de germinação, para o lote 3, foram de 19 e 23% para plântulas normais e protrusão de raiz primária e 1,4 plântulas normais/dia. O tratamento com ácido sulfúrico foi prejudicial diminuindo a germinação como nos experimentos anteriores (experimento 2, Tabelas 18, 19 e 20; experimento 3, Tabelas 32, 33 e 34). Resultados negativos com ácido sulfúrico para *Brachiaria humidicola* também foram obtidos por diversos autores (Atalla & Tosello, 1979; Oliveira & Mastrocola, 1983; Goedert, 1984; Macedo et al., 1994; Faria et al., 1996; Ruiz et al., 1996).

O tratamento com ácido giberélico não mostrou efetividade quer seja isolado ou em combinação com nitrato de potássio ou ácido sulfúrico (experimentos 1 e 3), mas mostrou-se efetivo no experimento 4, quando isolado, ou com nitrato de potássio, ou seja, após 14 meses de armazenamento. Resultados positivos da utilização de ácido giberélico, relacionados a quebra de dormência em sementes de *Brachiaria humidicola*, foram descritos por outros autores, entre eles Goedert (1984) e Rodrigues et al. (1986). Aqui porém, o efeito positivo só foi verificado após 14 meses de armazenamento, podendo, então, estar mais relacionado ao fato do ácido

giberélico amenizar os efeitos da deterioração, provavelmente induzindo síntese de hidrolases e DNA, como os descritos por Singh & Amritphale (1993), Richa & Sharma (1994) e Liu et al. (1996).

O tratamento com nitrato de potássio mostrou-se efetivo no experimento 1 (Tabelas 14, 15 e 16), o que não se confirmou nos experimentos 2 e 3; no experimento 4 apresentou sinergismo positivo com o ácido giberélico, embora sem significância estatística. Outros autores também observaram efeito positivo da utilização de nitrato de potássio em sementes de *Brachiaria humidicola*, entre eles, Atalla & Tosello (1979), Oliveira & Mastrocola (1983), Goedert & Roberts (1986) e Ruiz et al. (1996). Existem algumas hipóteses para o efeito do nitrato de potássio. Aceptores de elétrons tais como nitrato, nitrito e azul de metileno atuam para quebrar dormência por inibir o consumo de oxigênio pela respiração convencional, deixando o oxigênio disponível para a via pentoses-fosfato ou atuando diretamente na oxidação de NADPH (Bewley & Black, 1994). No entanto, estes autores ainda afirmam que tem-se acumulado dúvidas quanto a viabilidade da hipótese, de que o término da dormência requer um inibidor no metabolismo respiratório em direção ao aumento da via pentoses-fosfato mas, ressaltam que, uma rota respiratória 'alternativa' que não usa o mecanismo normal de oxidação terminal tem sido sugerida, como importante, na terminação da dormência. Ainda com relação ao metabolismo, Cohn (1996) considera que substâncias químicas aceptoras de elétrons podem estar envolvidas com rápida mudança no pH das células, por direcionar o metabolismo ou para absorção ou para produção de ácidos fracos. Tal mudança no pH citoplasmático seria o gatilho ou responsável pela quebra de dormência. Nesse sentido, cátions como K^+ poderiam ter importante ação ou como cofator de enzimas, cujos primeiros produtos geralmente são ácidos orgânicos fracos, ou como cátions, usados em trocas entre os lados das membranas provocando diferenças no pH.

Durante o primeiro período de armazenamento, entre os experimentos 1-2 e 3 (6 meses), não ocorreu alteração no comportamento do lote 3. O armazenamento entre os experimentos 3 e 4 (8 meses), levou a uma diminuição do potencial fisiológico do lote 3, o que pode ter sido ocasionado por deterioração ou envelhecimento natural, como também foi

observado por Atalla & Tosello (1979) e Macedo et al. (1994).

O lote 4 exibiu comportamento semelhante ao lote 3 apresentando baixa germinação, na primeira avaliação, e nenhuma ou resposta negativa aos tratamentos (experimento 3, Tabelas 35, 36 e 37). No experimento 4, após 8 meses de armazenamento, houve resposta positiva de germinação e de índice de velocidade de germinação ao tratamento com ácido giberélico quando isolado, podendo, então, estar relacionado com amenização dos efeitos da deterioração, oriundos dos efeitos do ácido giberélico sobre síntese *de novo* de biomoléculas (Liu et al., 1996) e ativação de hidrolases (Richa & Sharma, 1994; Sanwo & DeManson, 1994; Nandi et al., 1995; Shephard et al., 1996).

Ambos os lotes de *Brachiaria humidicola* tiveram seus parâmetros fisiológicos pouco alterados com o armazenamento, ao contrário do que foi verificado para *Brachiaria brizantha*, indicando que o armazenamento não contribuiu para a diminuição de dormência de *Brachiaria humidicola*, mas foi muito importante para *Brachiaria brizantha*, embora tenham havido diferenças de comportamento entre os lotes.

4.1.4 - Experimento 5

Caracterização inicial

A observação da Figura 5 mostra que todos os sublotes do lote 3 de *Brachiaria brizantha* foram armazenados com grau de umidade próximo a 10% ao final do experimento 3 (Figura 1). Ao final do armazenamento por 8 meses (Figura 5A) o sublote sem tratamento (0Min), do lote 3, tornou a apresentar grau de umidade próximo a 10% enquanto que os sublotes tratados com ácido sulfúrico (5, 10 e 15Min) apresentaram um pequeno aumento no teor de água com o armazenamento. Já, os sublotes do lote 4 apresentaram ao final do armazenamento valores muito próximos entre si e aos apresentados antes do armazenamento.

A observação da Figura 6 mostra que todos os lotes de *Brachiaria humidicola* foram armazenados com grau de umidade próximo a 10% ao final do experimento 3 (Figura 2) e após armazenamento por 8 meses (Figura 6A); os sublotes tratados (5, 10 e 15Min) do lote 3 apresentaram pequeno incremento do teor de água em relação ao sublote sem tratamento (0Min). Os sublotes do lote 4 também apresentaram incremento no teor de água em relação ao sublote sem tratamento (0Min) sendo que o sublote que apresentou maior teor de água, após o armazenamento, foi o 5Min atingindo valor próximo a 13%.

As partes B das Figuras 5 e 6 referem-se ao grau de umidade atingido pelos sublotes, após 24 horas de embebição, a 30°C. Após este período, as sementes atingiram graus de umidade entre 25 e 30%. Os lotes de *Brachiaria brizantha* (Figura 5B) apresentaram comportamento distinto para o sublote sem tratamento (0Min). Este atingiu valores próximos de 30% para o lote 3 e valores próximos de 25% para o lote 4. Os demais sublotes (5, 10 e 15Min) apresentaram teores de água mais elevados que seus respectivos sublotes sem tratamento. Para os sublotes de *Brachiaria humidicola* (Figura 6B) não ocorreu diferença entre os sublotes sem tratamento, das duas safras. Já os sublotes tratados (5, 10 e 15Min), para as duas safras, apresentaram maiores teores de água que os respectivos sublotes sem tratamento. Este resultado, que foi comum para as duas

espécies, indicou que o tratamento com ácido sulfúrico, ao danificar os envoltórios, facilitou a entrada de água na semente durante a embebição.

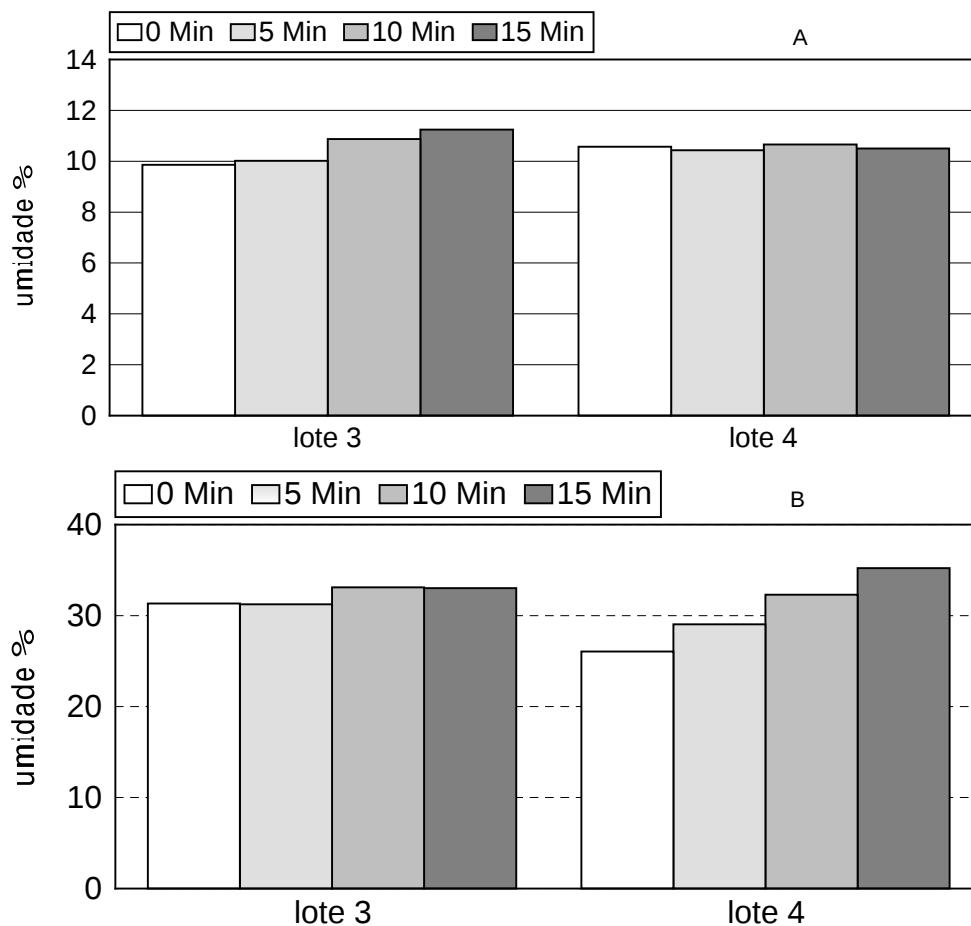


Figura 5: Determinação do grau de umidade (%) obtidos imediatamente antes da instalação do experimento 5 (A) e após embebição por 24 horas a 30°C (B) nas sementes de *Brachiaria brizantha*, lotes 3 e 4, escarificadas e armazenadas por oito meses. Presidente Prudente, 1998.

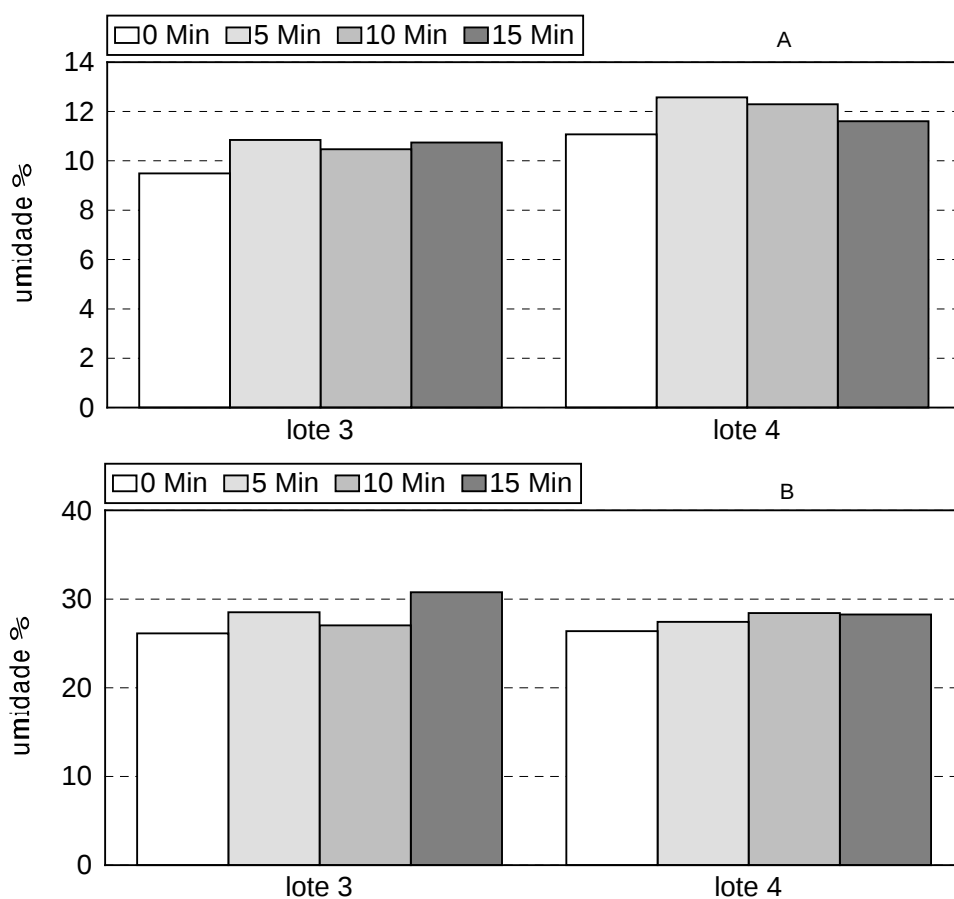


Figura 6: Determinação do grau de umidade (%) obtidos imediatamente antes da instalação do experimento 5 (A) e após embebição por 24 horas a 30°C (B) nas sementes de *Brachiaria humidicola*, lotes 3 e 4, escarificadas e armazenadas por oito meses. Presidente Prudente, 1998.

4.1.4.1 - *Brachiaria brizantha*

Observando-se os valores de F obtidos nas análises da variância dos dados referentes ao experimento 5 (Tabela 52), verificou-se que com o lote 3, para os parâmetros de germinação, por ambos os critérios, os efeitos dos tratamentos com ácido giberélico, nitrato de potássio, ácido sulfúrico e da interação nitrato de potássio x ácido sulfúrico foram significativos. Para o parâmetro índice de velocidade de germinação apenas os efeitos dos tratamentos ácido giberélico e ácido sulfúrico foram significativos. Para o lote 4, para os parâmetros de germinação, por ambos os critérios, os efeitos dos tratamentos com nitrato de potássio, ácido sulfúrico e das interações ácido giberélico x nitrato de potássio e ácido giberélico x ácido sulfúrico foram significativos. Para o parâmetro índice de velocidade de germinação os efeitos dos tratamentos ácido giberélico, nitrato de potássio, ácido sulfúrico e das interações ácido giberélico x nitrato de potássio e ácido giberélico x ácido sulfúrico foram significativos.

Tabela 52: Valores de F obtidos nas análises de variância dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), critério protrusão de raiz primária (CPRP) e índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de *Brachiaria brizantha*, lotes 3 e 4, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.

<i>Brachiaria brizantha</i>						
Tratamentos	lote 3			lote 4		
	CPN	CPRP	IVG	CPN	CPRP	IVG
GA ₃	8,1911 **	8,7867 **	5,7320 *	2,3833 ^{n.s.}	2,3833 ^{n.s.}	23,5366 **
KNO ₃ (K)	5,2202 *	5,6974 *	4,0341 ^{n.s.}	5,9688 *	5,9688 *	9,5793 **
H ₂ SO ₄ (H)	7,5020 **	7,8155 **	16,0315 **	18,3112 **	18,3112 **	42,7368 **
GA ₃ x K	0,1477 ^{n.s.}	0,2365 ^{n.s.}	0,1488 ^{n.s.}	4,9447 *	4,9447 *	4,5073 *
GA ₃ x H	1,2153 ^{n.s.}	1,1765 ^{n.s.}	0,6542 ^{n.s.}	4,2449 **	4,2449 **	3,7518 *
K x H	4,8856 **	4,8151 **	1,6807 ^{n.s.}	0,9431 ^{n.s.}	0,9431 ^{n.s.}	1,8642 ^{n.s.}
GA ₃ x K x H	1,3682 ^{n.s.}	1,4822 ^{n.s.}	1,4092 ^{n.s.}	0,0987 ^{n.s.}	0,0987 ^{n.s.}	0,5551 ^{n.s.}
* significativo a 5%			** significativo a 1%		^{n.s.} não significativo	

As Tabelas 53 e 54 apresentam os resultados de germinação respectivamente pelo critério plântulas normais e protrusão de raiz primária, para ácido sulfúrico, nitrato de potássio e ácido giberélico para o lote 3. A média geral de germinação foi 64% para ambos os critérios e os efeitos dos tratamentos ácido giberélico, nitrato de potássio e ácido sulfúrico foram significativos, ocorrendo interação apenas entre nitrato de potássio e ácido sulfúrico. O tratamento com ácido sulfúrico produziu aumento na germinação principalmente no período de 10 minutos. No período de 5 minutos os resultados não diferiram de 10 e de 15 minutos. No período de 15 minutos os resultados não diferiram de 5 minutos e da não utilização, ficando portanto em posição intermediária. O uso de nitrato de potássio diminuiu a germinação em relação a sua ausência principalmente se empregado sem a utilização de ácido sulfúrico.

A Tabela 55 apresenta os resultados de índice de velocidade de germinação para ácido sulfúrico, nitrato de potássio e ácido giberélico para o

lote 3. A média geral do índice foi 8,0 plântulas normais/dia e apenas ácido giberélico e ácido sulfúrico foram significativos ambos agindo de forma independente. O tratamento com ácido sulfúrico produziu aumento na velocidade de germinação não ocorrendo significância entre os períodos, porém, a germinação foi, em valores absolutos, mais rápida no período de 10 minutos seguido pelo período de 5 minutos. À ausência do ácido sulfúrico e o uso de ácido giberélico diminuíram os três parâmetros.

Tabela 53: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de *Brachiaria brizantha*, lote 3, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	70	72	82	63	72
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	52	77	63	64	64
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	62	59	71	58	63
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	32	64	72	60	57
Média		54 c ¹	68 ab	72 a	61 bc	64
Sem GA ₃		61	75	73	64	68 A ¹
GA ₃ 150 ppm		47	61	72	59	60 B
Média		54 c	68 ab	72 a	61 bc	64
Sem KNO ₃		66 abA	66 abA	77 aA	61 bA	67 A
KNO ₃ 0,2%		42 bB	71 aA	68 aA	62 aA	61 B
Média		54 c	68 ab	72 a	61 bc	64
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		72		64		68 A
GA ₃ 150 ppm		63		57		60 B
Média		67 a		61 b		64

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 54: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de *Brachiaria brizantha*, lote 3, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	70	73	83	63	73
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	52	77	63	64	64
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	62	59	71	58	63
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	32	64	72	60	57
Média		54 c ¹	68 ab	73 a	61 bc	64
Sem GA ₃		61	75	74	64	69 A ¹
GA ₃ 150 ppm		47	61	72	59	60 B
Média		54 c	68 ab	73 a	61 bc	64
Sem KNO ₃		66 abA	66 abA	77 aA	61 bA	68 A
KNO ₃ 0,2%		42 bB	71 aA	68 aA	62 aA	61 B
Média		54 c	68 ab	73 a	61 bc	64
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		73		64		69 A
GA ₃ 150 ppm		63		57		60 B
Média		68 a		61 b		64

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 55: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de *Brachiaria brizantha*, lote 3, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	6,7	9,5	10,8	8,3	8,8
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	6,1	9,6	8,7	8,4	8,2
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	7,0	8,0	9,6	7,7	8,0
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	3,7	7,6	9,2	8,0	7,1
Média		5,9 b ¹	8,7 a	9,5 a	8,0 a	8,0
Sem GA ₃		6,4	9,5	9,7	8,4	8,5 A ¹
GA ₃ 150 ppm		5,4	7,8	9,4	7,8	7,6 B
Média		5,9 b	8,7 a	9,5 a	8,0 a	8,0
Sem KNO ₃		6,9	8,7	10,2	8,0	8,4 A
KNO ₃ 0,2%		4,9	8,6	8,9	8,2	7,6 A
Média		5,9 b	8,7 a	9,5 a	8,0 a	8,0
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		8,8		8,2		8,5 A
GA ₃ 150 ppm		8,0		7,1		7,6 B
Média		8,4 a		7,6 a		8,0

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

As Tabelas 56 e 57 apresentam os resultados de germinação respectivamente pelo critério plântulas normais e protrusão de raiz primária, para ácido sulfúrico, nitrato de potássio e ácido giberélico para o lote 4. A média geral de germinação foi 80% para ambos os critérios e os efeitos dos tratamentos nitrato de potássio, ácido sulfúrico e das interações entre ácido giberélico x nitrato de potássio e ácido giberélico x ácido sulfúrico foram significativos. O ácido sulfúrico aumentou a germinação não ocorrendo significância entre os períodos de tratamento. Em valores absolutos, resultados mais elevados foram obtidos com 10 minutos. O nitrato de potássio diminuiu a germinação em relação a sua ausência principalmente se combinado com a não utilização de ácido sulfúrico e a utilização de ácido giberélico. Em valores absolutos, resultados superiores foram obtidos com a combinação de tratamento com ácido sulfúrico por 10 minutos e emprego de 150 ppm de ácido giberélico no umedecimento do substrato (99%).

A Tabela 58 apresenta os resultados de índice de velocidade de germinação para ácido sulfúrico, nitrato de potássio e ácido giberélico para o lote 4. A média geral do índice foi 9,9 plântulas normais/dia. Os efeitos dos tratamentos ácido giberélico, nitrato de potássio e ácido sulfúrico, bem como das interações entre ácido giberélico x nitrato de potássio e ácido giberélico x ácido sulfúrico foram significativos. Resultados superiores de velocidade de germinação foram obtidos com a utilização de ácido sulfúrico não ocorrendo significância entre os períodos. Quando não foi utilizado ácido sulfúrico e no menor período (5 minutos), o emprego conjunto de ácido giberélico reduziu a velocidade de germinação. O nitrato de potássio não aumentou a velocidade de germinação principalmente se utilizado em conjunto com o ácido giberélico.

Tabela 56: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de *Brachiaria brizantha*, lote 4, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	66	92	87	88	83
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	73	90	88	79	83
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	50	90	99	92	84
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	35	78	92	64	68
Média		56 b ¹	88 a	92 a	81 a	80
Sem GA ₃		70 bA	91aA	88 abA	84 abA	84 A ¹
GA ₃ 150 ppm		42 cB	85 abA	96 aA	81 bA	77 A
Média		57 b	88 a	92 a	82 a	80
Sem KNO ₃		58	91	94	90	85 A
KNO ₃ 0,2%		54	84	90	72	75 B
Média		56 b	88 a	92 a	81 a	80
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		83 aA		84 aA		84 A
GA ₃ 150 ppm		84 aA		68 bB		78 A
Média		84 a		75 b		80

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 57: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de *Brachiaria brizantha*, lote 4, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	66	92	87	88	83
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	76	90	88	81	84
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	50	90	99	92	83
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	35	78	92	66	70
Média		57 b ¹	88 a	92 a	82 a	80
Sem GA ₃		71 bA	91 aA	88 abA	84 abA	84 A ¹
GA ₃ 150 ppm		42 cB	85 abA	96 aA	81 bA	78 A
Média		57 b	88 a	92 a	82 a	80
Sem KNO ₃		58	91	94	90	85 A
KNO ₃ 0,2%		55	84	90	73	76 B
Média		57 b	88 a	92 a	82 a	80
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		84 aA		84 aA		84 A
GA ₃ 150 ppm		87 aA		70 bB		78 A
Média		85 a		76 b		80

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 58: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de *Brachiaria brizantha*, lote 4, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	8,0	12,2	12,0	11,7	11,0
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	8,5	10,8	12,2	10,9	10,6
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	5,2	10,7	12,0	12,1	10,0
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	3,9	8,9	11,2	8,2	8,1
Média		6,4 b ¹	10,6 a	10,7 a	11,8 a	9,9
Sem GA ₃		8,3 bA	11,5 aA	12,1 aA	11,3 aA	10,8 A ¹
GA ₃ 150 ppm		4,5 bB	9,8 aB	11,6 aA	10,2 aA	9,0 B
Média		6,4 b	10,6 a	10,7 a	11,8 a	9,9
Sem KNO ₃		6,6	11,4	12,0	11,9	10,5 A
KNO ₃ 0,2%		6,2	9,9	11,7	9,5	9,3 B
Média		6,4 b	10,6 a	10,7 a	11,8 a	9,9
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		11,0 aA		10,6 aA		10,8 A
GA ₃ 150 ppm		10,0 aA		8,1 bB		9,0 B
Média		10,5 a		9,3 b		9,9

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

4.1.4.2 - *Brachiaria humidicola*

Observando-se os valores de F obtidos nas análises da variância dos dados referentes ao experimento 5 (Tabela 59), verificou-se que com o lote 3, para o parâmetro germinação, critério plântulas normais, o efeito do tratamento ácido giberélico e da interação ácido giberélico x ácido sulfúrico foi significativo. Para o critério protrusão de raiz primária, apenas o tratamento ácido sulfúrico apresentou efeito significativo e agiu de forma independente. Para o índice de velocidade de germinação os efeitos dos tratamentos ácido giberélico, ácido sulfúrico e da interação ácido giberélico x ácido sulfúrico foram significativos.

Com o lote 4 os efeitos dos tratamentos nitrato de potássio e ácido sulfúrico bem como da interação nitrato de potássio x ácido sulfúrico foram significativos para todos os parâmetros estudados.

Tabela 59: Valores de F obtidos nas análises de variância dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), critério protrusão de raiz primária (CPRP) e índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de *Brachiaria humidicola*, lotes 3 e 4, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.

<i>Brachiaria humidicola</i>						
	lote 3			lote 4		
Tratamentos	CPN	CPRP	IVG	CPN	CPRP	IVG
GA ₃	6,2293 *	2,6833 ^{n.s.}	7,3307 **	0,0147 ^{n.s.}	0,1760 ^{n.s.}	0,1242 ^{n.s.}
KNO ₃ (K)	0,5291 ^{n.s.}	1,1681 ^{n.s.}	0,7720 ^{n.s.}	36,4357 **	45,5152 **	31,7874 **
H ₂ SO ₄ (H)	2,7759 ^{n.s.}	4,8754 **	5,7155 **	22,6992 **	25,7686 **	15,9116 **
GA ₃ x K	1,5926 ^{n.s.}	3,0473 ^{n.s.}	0,7719 ^{n.s.}	1,0214 ^{n.s.}	2,5079 ^{n.s.}	0,3924 ^{n.s.}
GA ₃ x H	3,4583 *	1,7136 ^{n.s.}	3,3363 *	0,9415 ^{n.s.}	1,1489 ^{n.s.}	1,6285 ^{n.s.}
K x H	1,5475 ^{n.s.}	1,5290 ^{n.s.}	1,2563 ^{n.s.}	5,0799 **	4,4287**	2,9188 *
GA ₃ x K x H	0,4392 ^{n.s.}	0,2446 ^{n.s.}	0,5310 ^{n.s.}	3,0233 ^{n.s.}	3,6633 ^{n.s.}	3,0455 ^{n.s.}
* significativo a 5%			** significativo a 1%		^{n.s.} não significativo	

As Tabelas 60 e 62 apresentam os resultados de germinação pelo critério plântulas normais e índice de velocidade de germinação, para ácido sulfúrico, nitrato de potássio e ácido giberélico para o lote 3. As médias gerais foram de 19% de plântulas normais e 1,4 plântulas normais/dia. O efeito do tratamento ácido giberélico e da interação ácido giberélico x ácido sulfúrico foram significativos. Quando se utilizou o tratamento com ácido giberélico isoladamente ou seja, sem a utilização do tratamento prévio das sementes com ácido sulfúrico foram obtidos resultados superiores (35% de plântulas normais e 2,5 plântulas normais/dia). Em valores absolutos, no entanto, os maiores valores foram obtidos com a utilização combinada de ácido giberélico e nitrato de potássio sem o uso de ácido sulfúrico (38% de plântulas normais 2,7 plântulas normais/dia).

A Tabela 61 apresenta os resultados de germinação pelo critério de protrusão de raiz primária, para ácido sulfúrico, nitrato de potássio e ácido giberélico para o lote 3. A média geral de germinação foi 23% e o efeito do tratamento ácido sulfúrico foi significativo agindo de forma independente. O uso do ácido sulfúrico concentrado foi prejudicial a germinação das sementes reduzindo-a em qualquer período de utilização. Em valores absolutos, no entanto, a maior germinação foi obtida com a utilização combinada de ácido giberélico e nitrato de potássio sem o uso de ácido sulfúrico (40%).

Tabela 60: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de *Brachiaria humidicola*, lote 3, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	8	10	18	28	15
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	18	13	18	18	16
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	33	24	18	30	26
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	38	12	12	21	20
Média		23 a ¹	14 a	16 a	24 a	19
Sem GA ₃		12 aB	11 aA	18 aA	23 aA	16 B ¹
GA ₃ 150 ppm		35 aA	18 bA	15 bA	25 abA	23 A
Média		23 a	14 a	16 a	24 a	19
Sem KNO ₃		19	16	18	29	20 A
KNO ₃ 0,2%		27	12	15	19	18 A
Média		23 a	14 a	16 a	24 a	19
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		15		16		16 B
GA ₃ 150 ppm		26		20		23 A
Média		20 a		18 a		19

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 61: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de *Brachiaria humidicola*, lote 3, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	17	13	19	28	19
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	29	15	20	21	21
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	37	28	21	32	30
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	40	14	12	21	22
Média		30 a ¹	17 b	18 b	25 ab	23
Sem GA ₃		23	14	19	25	20 A ¹
GA ₃ 150 ppm		38	20	16	26	25 A
Média		30 a	17 b	18 b	25 ab	23
Sem KNO ₃		26	20	20	30	24 A
KNO ₃ 0,2%		35	14	15	21	21 A
Média		30 a	17 b	18 b	25 ab	23
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		19		21		20 A
GA ₃ 150 ppm		29		21		25 A
Média		24 a		21 a		23

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 62: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de *Brachiaria humidicola*, lote 3, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	1,0	0,6	1,1	2,0	1,1
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	1,3	0,9	1,1	1,3	1,1
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	2,3	1,6	1,2	2,0	1,8
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	2,7	0,9	0,8	1,5	1,5
Média		1,8 a ¹	1,0 c	1,1 bc	1,7 ab	1,4
Sem GA ₃		1,1 aB	0,7 aA	1,1 aA	1,6 aA	1,1 B ¹
GA ₃ 150 ppm		2,5 aA	1,3 bA	1,0 bA	1,7 abA	1,6 A
Média		1,8 a	1,0 c	1,1 bc	1,7 ab	1,4
Sem KNO ₃		1,6	1,1	1,2	2,0	1,5 A
KNO ₃ 0,2%		2,0	0,9	1,0	1,4	1,3 A
Média		1,8 a	1,0 c	1,1 bc	1,7 ab	1,4
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		1,1		1,1		1,1 B
GA ₃ 150 ppm		1,8		1,5		1,6 A
Média		1,5 a		1,3 a		1,4

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

As Tabelas 63, 64 e 65 apresentam os resultados, respectivamente, de germinação pelos critérios plântulas normais e protrusão de raiz primária e de índice de velocidade de germinação, para ácido sulfúrico, nitrato de potássio e ácido giberélico para o lote 4. As médias gerais foram, respectivamente, 23, 24% e 1,7 plântulas normais/dia. Os efeitos dos tratamentos nitrato de potássio, ácido sulfúrico e da interação nitrato de potássio x ácido sulfúrico foram significativos. A utilização de ácido sulfúrico foi prejudicial a porcentagem e a velocidade de germinação apenas no maior período (15 minutos) porém não foram significativamente diferentes à não utilização ou o uso de 5 ou 10 minutos. O nitrato de potássio foi prejudicial, principalmente quando associado ao tratamento com ácido sulfúrico por 15 minutos. Em valores absolutos os melhores resultados foram obtidos tratando-se as sementes com ácido sulfúrico por 10 minutos sem utilização de qualquer outro tratamento (54, 57% e 3,7 plântulas normais/dia, respectivamente).

Tabela 63: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério plântulas normais (CPN), em porcentagem, nas sementes de *Brachiaria humidicola*, lote 4, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	24	30	54	15	30
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	27	24	22	4	18
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	33	37	35	26	32
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	24	23	24	1	16
Média		27 a ¹	28 a	33 a	9 b	23
Sem GA ₃		23	27	37	8	23 A ¹
GA ₃ 150 ppm		28	30	29	9	23 A
Média		27 a	28 a	33 a	9 b	23
Sem KNO ₃		28 bA	34 abA	44 aA	20 bA	31 A
KNO ₃ 0,2%		25 aA	23 aA	23 aB	2 bB	16 B
Média		27 a	28 a	33 a	9 b	23
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		30		18		23 A
GA ₃ 150 ppm		32		16		23 A
Média		31 a		16 b		23

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 64: Resultados médios dos dados de germinação (G), critério protrusão de raiz primária (CPRP), em porcentagem, nas sementes de *Brachiaria humidicola*, lote 4, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	29	30	57	15	32
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	31	25	22	4	20
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	43	42	38	29	38
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	26	26	25	1	18
Média		32 a ¹	31 a	35 a	9 b	27
Sem GA ₃		30	28	39	8	26 A ¹
GA ₃ 150 ppm		34	34	31	10	27 A
Média		32 a	31 a	35 a	9 b	27
Sem KNO ₃		36 aA	36 aA	47 aA	21 bA	35 A
KNO ₃ 0,2%		28 aA	25 aA	23 aB	2 bB	19 B
Média		32 a	31 a	35 a	9 b	27
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		32		20		26 A
GA ₃ 150 ppm		38		18		27 A
Média		35 A		19 B		27

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

Tabela 65: Resultados médios dos dados de índice de velocidade de germinação (IVG) nas sementes de *Brachiaria humidicola*, lote 4, experimento 5. Presidente Prudente, 1998.

Tratamentos		Ácido Sulfúrico				Média
		0Min	5Min	10Min	15Min	
Sem GA ₃	Sem KNO ₃	1,7	2,0	3,7	1,1	2,1
Sem GA ₃	KNO ₃ 0,2%	1,9	1,5	1,5	0,4	1,3
GA ₃ 150 ppm	Sem KNO ₃	2,3	2,5	2,4	1,8	2,3
GA ₃ 150 ppm	KNO ₃ 0,2%	1,6	1,6	1,7	0,2	1,3
Média		1,9 a ¹	1,9 a	2,4 a	0,8 b	1,7
Sem GA ₃		1,8	1,7	2,6	0,7	1,7 A ¹
GA ₃ 150 ppm		2,0	2,0	2,1	1,0	1,8 A
Média		1,9 a	1,9 a	2,4 a	0,8 b	1,7
Sem KNO ₃		2,0 bA	2,2 abA	3,1 aA	1,4 bA	2,2 A
KNO ₃ 0,2%		1,7 aA	1,5 aB	1,6 aB	0,3 bB	1,3 B
Média		1,9 a	1,9 a	2,4 a	0,8 b	1,7
Tratamentos		Sem KNO ₃		KNO ₃ 0,2%		Média
Sem GA ₃		2,1		1,3		1,7 A
GA ₃ 150 ppm		2,3		1,3		1,8 A
Média		2,2 a		1,3 b		1,7

¹ Médias seguidas por letras distintas, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste Tukey.

4.1.4.3 - Considerações gerais sobre o experimento 5

Os resultados obtidos foram divergentes para cada espécie estudada. *Brachiaria brizantha* apresentou resposta positiva apenas ao tratamento com ácido sulfúrico onde este aumentou significativamente a germinação e a velocidade de germinação desta espécie. No entanto, houve resposta significativa com relação ao período de tratamento (10 e 5 minutos diferindo da não utilização) para o lote 3, para germinação por ambos os critérios. No lote 4 não houve significância entre os períodos de tratamento porém, em valores absolutos, ocorreu tendência de maior germinação no período de 10 minutos. Estes resultados discordam das indicações da literatura em que tem sido mais comum o emprego de 15 minutos (Brasil, 1992; Garcia & Cícero, 1992; Martins & Lago, 1996; Martins et al., 1998).

Para a espécie *Brachiaria brizantha*, lote 3, no experimento 5 as médias obtidas foram de 64% para os critérios plântulas normais e protrusão da raiz primária e 8,0 plântulas normais/dia. Estes valores foram menores que os observados no experimento 3 (Tabelas 25,26 e 27), mantendo-se em relação ao experimento 4 (Tabelas 39, 40 e 41) indicando que, tanto para sementes tratadas (experimento 5, Tabelas 53, 54 e 55) como para sementes intactas (experimento 4), as respostas ao armazenamento não diferiram. Estes resultados discordam dos obtidos por Herrera (1994), que trabalhando com *Brachiaria decumbens*, observaram que, sementes tratadas com ácido sulfúrico (4, 8 ou 12 minutos) tiveram a germinação diminuída ao longo do armazenamento, quando comparadas com às não tratadas. Previero et al. (1998a) estudaram, ao longo de 10 meses, o envelhecimento de sementes de *Brachiaria brizantha* que receberam tratamento com ácido sulfúrico, em escala comercial, e observaram que o tratamento foi inócuo pois, as sementes perderam a dormência naturalmente, após 4 meses de armazenamento.

Durante o primeiro período de armazenamento, o envelhecimento natural contribuiu para a diminuição da dormência; assim, no experimento 2, a eficiência do tratamento com ácido sulfúrico não foi total pois com o armazenamento ocorreu aumento da germinação das sementes. Durante o segundo período de armazenamento, o envelhecimento natural provocou

diminuição no potencial fisiológico do lote, o que foi constatado pela diminuição da germinação e da velocidade de germinação, nos experimentos 4 e 5 (menos acentuada no 5) em relação ao experimento 3, embora, ainda tenha havido resposta ao tratamento com ácido sulfúrico para quebra da dormência.

Os tratamentos com ácido giberélico e nitrato de potássio não foram efetivos para aumentar a germinação ou sua velocidade. O efeito do tratamento com ácido sulfúrico continuou, mesmo após o segundo período de armazenamento, independentemente da semente ter sido armazenada tratada ou não, e da diminuição do potencial fisiológico do lote (Tabelas 39, 40 e 41 do experimento 4 e Tabelas 53, 54 e 55 do experimento 5). Estes resultados concordam com Ruiz et al. (1996) e também com os observados por Martins & Lago (1996) e Martins et al. (1998) com até 18 meses de armazenamento (sementes intactas).

O lote 4 apresentou comportamento distinto do lote 3 pois apresentou alta germinação logo na primeira avaliação (experimento 3, Tabelas 28, 29 e 30) mesmo na ausência de qualquer tratamento, apesar de ocorrer resposta ao ácido sulfúrico, como já mencionado no item 4.1.3.3, podendo esta diferença estar relacionada ao histórico do material.

As médias de germinação do lote 4, plântulas normais e protrusão de raiz primária (%), e índice de velocidade de germinação (plântulas normais/dia) foram, respectivamente, 82, 86 e 9,9 (experimento 3, Tabelas 28, 29 e 30); 75, 76 e 9,3 (experimento 4, Tabelas 42, 43 e 44) e de 80, 80 e 9,9 (experimento 5, Tabelas 56, 57 e 58), indicando que o armazenamento das sementes tratadas (experimento 5), não foi diferente, em termos de conservação, ao armazenamento das sementes intactas (experimento 4), concordando com os resultados obtidos para o lote 3, neste trabalho, que discordaram portanto dos resultados obtidos por Herrera (1994) e Previero et al. (1998a).

O tratamento com ácido sulfúrico continuou sendo efetivo, aumentando a germinação e velocidade de germinação das sementes nos experimentos 4 e 5, ou seja, mesmo tendo sido observados indícios de perda de qualidade fisiológica durante o armazenamento concordando com Ruiz et al. (1996), Martins & Lago (1996) e Martins et al. (1998).

O tratamento com nitrato de potássio continuou apresentando efeito negativo sobre a germinação e velocidade de germinação, quer isolado ou em interação com os demais tratamentos. A utilização de nitrato de potássio tem sido mais favorável logo no início do armazenamento como reportam Lima & Cardoso (1996), pois com o armazenamento a semente tende a conservar apenas a dormência de longa duração relacionada com a permeabilidade dos envoltórios a gases (Renard & Capelle, 1976; Simpson, 1990; Castro & Alvarenga, 1996) daí o maior efeito de tratamentos, que atuam diretamente nos envoltórios, como o ácido sulfúrico.

O ácido giberélico apresentou interação positiva com a utilização de ácido sulfúrico, por 10 minutos, produzindo o maior valor absoluto de germinação por ambos os critérios (99%). Por ter sido um efeito verificado em interação com ácido sulfúrico é provável que este produto tenha atuado no sentido de reduzir a ação dos envoltórios, enquanto a ação do ácido giberélico pode ser atribuído à ativação de hidrolases, durante a germinação (Richa & Sharma, 1994; Sanwo & DeMason, 1994; Nandi et al., 1995; Shephard et al., 1996).

O lote 3, de *Brachiaria humidicola*, apresentou comportamento aproximadamente semelhante ao que vinha apresentando anteriormente, enquanto que o lote 4 apresentou resposta distinta.

No experimento 1 (Tabelas 14, 15 e 16) este lote havia apresentado média de germinação(%), critério plântulas normais e protrusão de raiz primária e índice de velocidade de germinação (plântulas normais/dia), respectivamente, de 21, 24 e 3,2; para o experimento 3 (Tabelas 32, 33 e 34) os valores foram de 25, 30 e 2,1; no experimento 4 (Tabelas 46, 47 e 48) os valores obtidos foram de 19, 23 e 1,4 e, finalmente, o experimento 5 (Tabelas 60, 61 e 62) apresentou valores de 19, 23 e 1,4; indicando, novamente, que o armazenamento das sementes tratadas (experimento 5) e intactas (experimento 4) não diferem, em termos de conservação, corroborando os dados de *Brachiaria brizantha*, deste trabalho, que não concordam com os obtidos para *Brachiaria decumbens* (Herrera, 1994) e para *Brachiaria brizantha* (Previero et al., 1998a).

O tratamento com ácido sulfúrico foi prejudicial diminuindo a germinação antes e após o armazenamento (experimentos 2, 3, 4 e 5).

O tratamento com ácido giberélico não mostrou efetividade, quer seja isolado ou combinado com nitrato de potássio ou ácido sulfúrico (experimentos 1 e 3), mas mostrou-se efetivo nos experimentos 4 e 5 quando isolado ou com nitrato de potássio. Neste trabalho, porém, o efeito positivo só foi verificado após 14 meses de armazenamento, como já foi discutido no item 4.1.3.3 do experimento 4, podendo, então, estar mais relacionado ao fato do ácido giberélico em atenuar os efeitos da deterioração (Singh & Amritphale 1993; Richa & Sharma, 1994; Liu et al., 1996).

O tratamento com nitrato de potássio mostrou-se efetivo no experimento 1 o que não se confirmou nos experimentos 2 e 3; nos experimentos 4 e 5 apresentou sinergismo com o ácido giberélico, embora sem significância. Outros autores também observaram efeito positivo da utilização de nitrato de potássio em sementes de *Brachiaria humidicola*, entre eles, Atalla & Tosello (1979), Oliveira & Mastrocola (1983), Goedert & Roberts (1986) e Ruiz et al. (1996); as hipóteses para esse efeito já foram discutidas no item 4.1.3.3.

O primeiro período de armazenamento, entre os experimentos 1, 2 e 3 (6 meses), não foi efetivo em proporcionar alteração no comportamento do lote 3 pois ocorreu pequeno aumento na germinação deste lote. O armazenamento, entre os experimentos 3 e 4 ou 5 (8 meses), levou à diminuição da qualidade fisiológica do lote 3, o que pode ser devido a deterioração ou envelhecimento natural. A manifestação inicial de envelhecimento (menor velocidade de germinação) é correspondente aos primeiros indícios de desestruturação das membranas, enquanto a ocorrência de anormalidades nas plântulas (nos estágios finais da deterioração) é determinada pela morte parcial ou total de tecidos importantes, em regiões da semente, uma vez que as células de sementes em processo de envelhecimento não se deterioram ao mesmo tempo, algumas morrem antes de outras (Matthews, 1985). Nesse sentido, podem ser observados casos de manutenção da qualidade fisiológica, por longo tempo, em armazenamento (24 meses a 22°C) Oliveira & Mastrocola (1984) assim como, rápida queda da germinação (12 meses à 25°C) de acordo com Macedo et al. (1994).

O lote 4 apresentou comportamento semelhante ao 3 exibindo baixa germinação na primeira avaliação, experimento 3 (Tabelas 35, 36 e 37),

e nenhuma resposta ou resposta negativa aos tratamentos. No experimento 4, após 8 meses de armazenamento das sementes intactas, houve resposta positiva de germinação e de índice de velocidade de germinação ao tratamento com ácido giberélico, quando isolado. Resultados positivos da utilização de ácido giberélico, relacionados à quebra de dormência em sementes de *Brachiaria humidicola*, foram descritos por outros autores, entre eles Goedert (1984) e Rodrigues et al. (1986). Neste trabalho porém, o efeito positivo só foi verificado após armazenamento, por 8 meses, das sementes tratadas com ácido sulfúrico, podendo, então, estar mais relacionado a atenuação dos efeitos da deterioração (Singh & Amritphale, 1993; Richa & Sharma, 1994; Liu et al., 1996).

A perda de qualidade fisiológica verificada através da diminuição da germinação e da velocidade de germinação não foi observada para o lote 4. No experimento 3 as médias de germinação (%), plântulas normais e protrusão de raiz primária e o índice de velocidade de germinação (plântulas normais/dia), foram de 17, 23 e 1,5. No experimento 4 estes valores foram 18, 21 e 1,3, respectivamente, demonstrando que este lote, foi menos afetado pelos primeiros 8 meses de armazenamento, o que também foi verificado para o lote 3 durante o primeiro período de armazenamento deste. No experimento 5 obtiveram-se médias de 23, 27 e 1,7 respectivamente, ou seja, o armazenamento das sementes já tratadas com o ácido sulfúrico produziu resultados semelhantes aos obtidos antes do armazenamento (experimento 3) e levemente superiores aos obtidos após armazenamento das sementes intactas (experimento 4).

Os tratamentos com ácido sulfúrico por 5 e 10 minutos não foram efetivos em aumentar a germinação após o armazenamento das sementes intactas (experimento 4), porém com as sementes tratadas (experimento 5) o resultado foi outro; os períodos de 5 e 10 minutos foram estatisticamente iguais a sementes não escarificadas (0 minuto), todavia, o tratamento de 10 minutos se destacou produzindo os maiores valores numéricos, quando isolado (54% de plântulas normais, 57% de protrusão de raiz primária e 3,7 plântulas normais/dia de índice de velocidade de germinação). Tais resultados, que não ocorreram com o lote 3, apontam para a possibilidade de que o tratamento ácido pode mudar as relações de permeabilidade entre o

embrião e o ambiente levando a um ganho em germinação após 8 meses de armazenamento. Isto pode ser evidenciado pelo teor de água das sementes, que sinalizou com um pequeno aumento no grau de umidade das sementes armazenadas tratadas em relação as intactas (Figura 6A). Renard & Capelle (1976), trabalhando com *Brachiaria ruziziensis*, demonstraram que a escarificação mecânica foi efetiva em aumentar a germinação desta espécie que é normalmente baixa, por permitir uma maior troca de gases entre a cariopse e o ambiente.

4.2 - Determinações bioquímicas

4.2.1 - *Brachiaria brizantha*

4.2.1.1 - Atividade de peroxidase

Nas sementes não embebidas do lote 3 (14 meses de armazenamento) observou-se atividade de peroxidase acentuadamente menor, tanto total (Figura 7A) quanto específica (Figura 7B) o que levou à inexistência de diferença estatística entre os sublotes (0, 5, 10 e 15Min). Na Figura 8, cujas sementes (lote 3) foram embebidas, por 24 horas, a 30°C, houve semelhança entre os resultados de atividade total (Figura 8A) e específica (Figura 8B) mostrando que a embebição ativou a enzima. O período de maior diferenciação entre os sublotes se deu entre os 3 e 10 minutos de reação; a partir dos 10 minutos as diferenças não se acentuaram até os 30 minutos de reação. O sublote das sementes intactas (0Min) apresentou maior atividade, tanto total quanto específica, no momento de atividade máxima (20 minutos). Os sublotes 5, 10 e 15Min apresentaram atividade inferior ao sublote 0Min.

Nas sementes, não embebidas, do lote 4 (8 meses de armazenamento) observou-se atividade de peroxidase acentuadamente menor, tanto total (Figura 9A) quanto específica (Figura 9B). Apesar da pequena atividade da peroxidase ocorreu diferença estatística entre os sublotes, sendo que a partir dos 10 até os 30 minutos de reação a atividade

da enzima manteve-se uniforme. O sub lote 0Min apresentou menor atividade total que os demais. A atividade específica foi menor e semelhante entre todos os sub lotes.

Na Figura 10 os dados se referem ao lote 4, cujas sementes foram embebidas, por 24 horas a 30°C. Houve semelhança entre os resultados de atividade total (Figura 10A) e específica (Figura 10B) mostrando que, desde o primeiro minuto de reação, houve diferenciação entre os sub lotes e as atividades máximas foram alcançadas com 20 minutos. O período de maior diferenciação se deu entre os 2 e 10 minutos de reação; a partir dos 10 minutos as diferenças não se acentuaram até os 30 minutos de reação. O sub lote das sementes intactas (0Min) apresentou maior atividade tanto total quanto específica. Os sub lotes 5, 10 e 15Min apresentaram atividade inferior ao sub lote 0Min.

Os resultados de determinação do grau de umidade revelaram que as sementes, não embebidas, apresentavam teor de água variando de 10 a 11% (Figura 5A) enquanto que as sementes embebidas apresentavam teor de água variando de 30 a 33%, para o lote 3, e de 27 a 35%, para o lote 4 (Figura 5B) o que pode explicar as diferenças de atividade verificadas entre as Figuras 7 - 8 e 9 - 10, pois a maior atividade da enzima estava relacionada com maior hidratação das sementes.

A peroxidase faz parte do sistema de reparo aos danos das células (Basra et al., 1994; Zeng et al., 1998; Bhattacharjee & Mukherjee, 1998). Nandi et al. (1997) ressaltaram que a deterioração de células do eixo embrionário dependia do balanço entre acúmulo de radicais livres e atividade de enzimas removedoras, durante o início da embebição. Sendo assim, o sub lote 0Min mostrou estar com maior atividade de peroxidase que os demais durante o início da embebição, tanto para o lote 3 quanto para o 4 o que pode ser um indicativo de maior vigor destes sub lotes, pois a hidratação das sementes ativa processos metabólicos, como a síntese *de novo* de enzimas, promovendo a manutenção do equilíbrio celular. Com as sementes desidratadas, para o lote 3 ambas as atividades foram acentuadamente menores e não houve diferença entre os sub lotes. Para o lote 4, com maior vigor (ver item 4.2.1.3, Figura 14), ocorreu atividade total maior para os sub lotes 5, 10 e 15Min indicando que estes sub lotes tentavam, através da

maior atividade de peroxidase, recompor ou reparar os danos causados pelo tratamento de escarificação. O mesmo fenômeno não foi observado para o lote 3, talvez devido a este já estar em estado mais adiantado de deterioração, *i.e.* com menos vigor (Figura 14), não sendo mais possível verificar diferença de atividade de peroxidase. Com a hidratação, os sublotos escarificados não conseguem ativar seus sistemas enzimáticos da mesma forma que os intactos, daí a maior atividade de peroxidase tanto total quanto específica nos sublotos intactos (0Min).

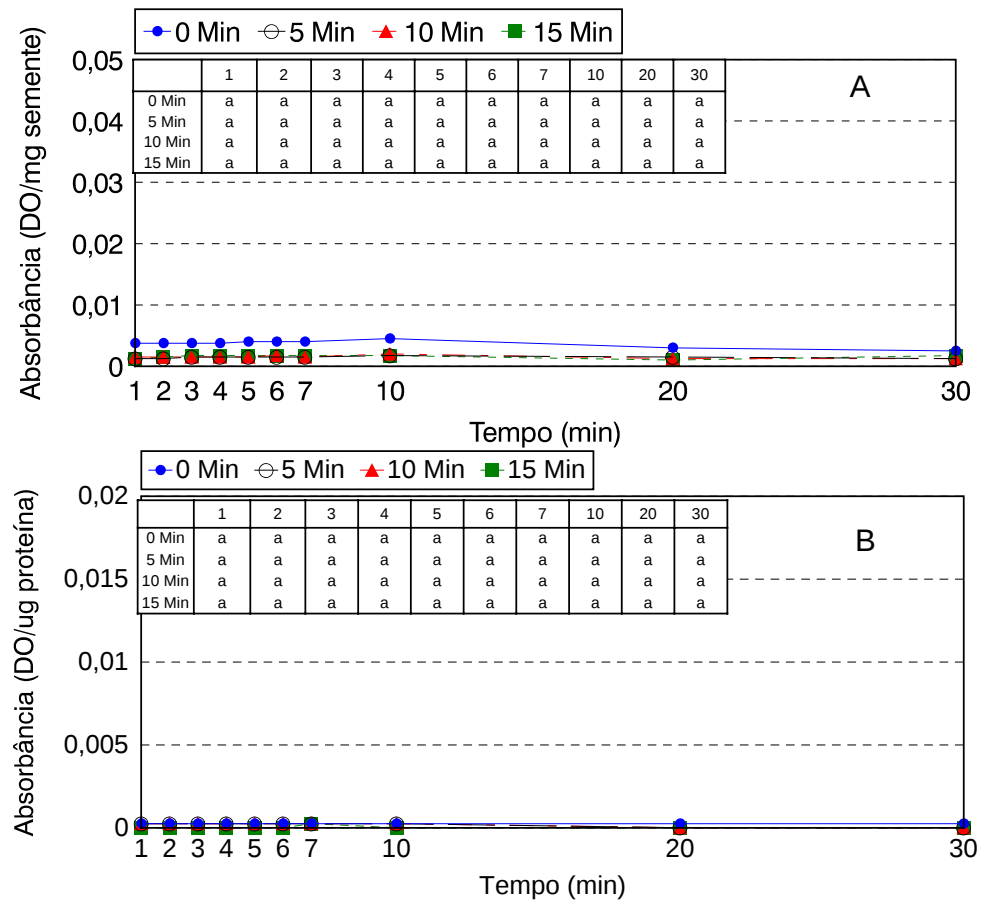


Figura 7: Resultados médios da determinação, por trinta minutos, da atividade total (A) e específica (B) de peroxidase em sementes não embebidas de *Brachiaria brizantha*, lote 3, experimento 5. Rio Claro, 1998. (Letras minúsculas distintas nas colunas, na tabela interna ao gráfico, indicam diferença significativa pelo teste Tukey com 5% de probabilidade)

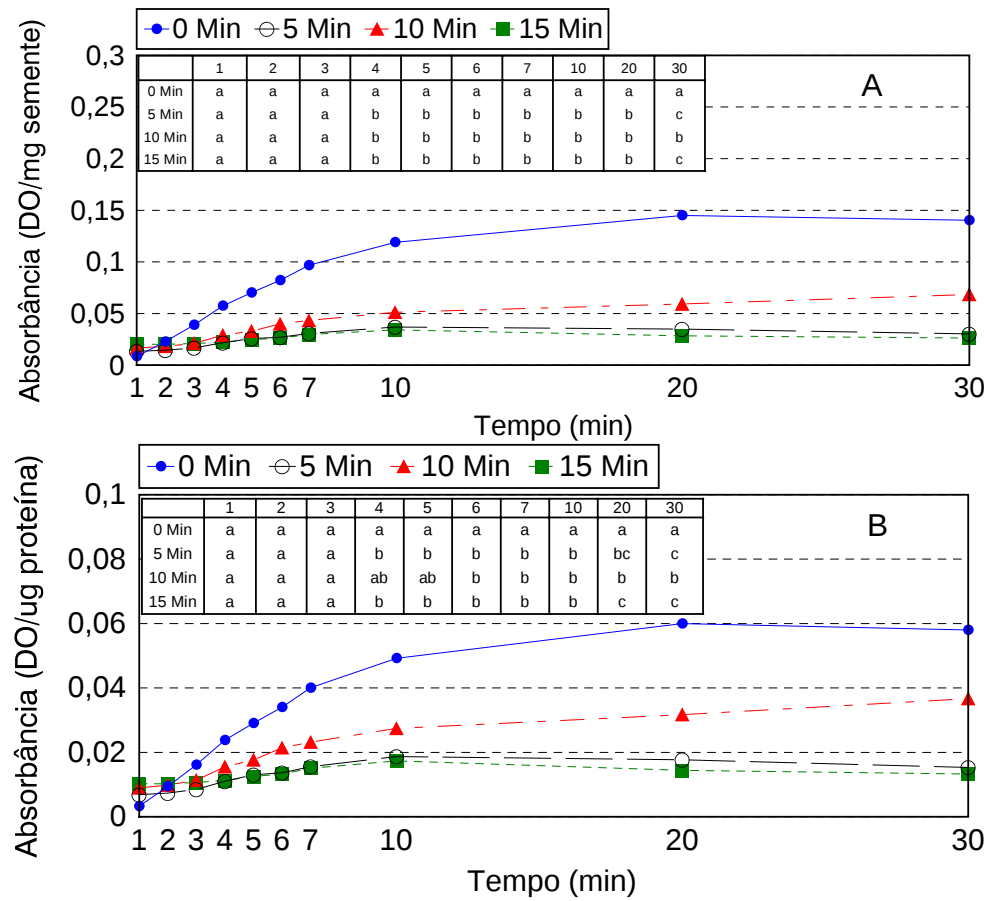


Figura 8: Resultados médios da determinação, por trinta minutos, da atividade total (A) e específica (B) de peroxidase em sementes embebidas de *Brachiaria brizantha*, lote 3, experimento 5. Rio Claro, 1998. (Letras minúsculas distintas nas colunas, na tabela interna ao gráfico, indicam diferença significativa pelo teste Tukey com 5% de probabilidade)

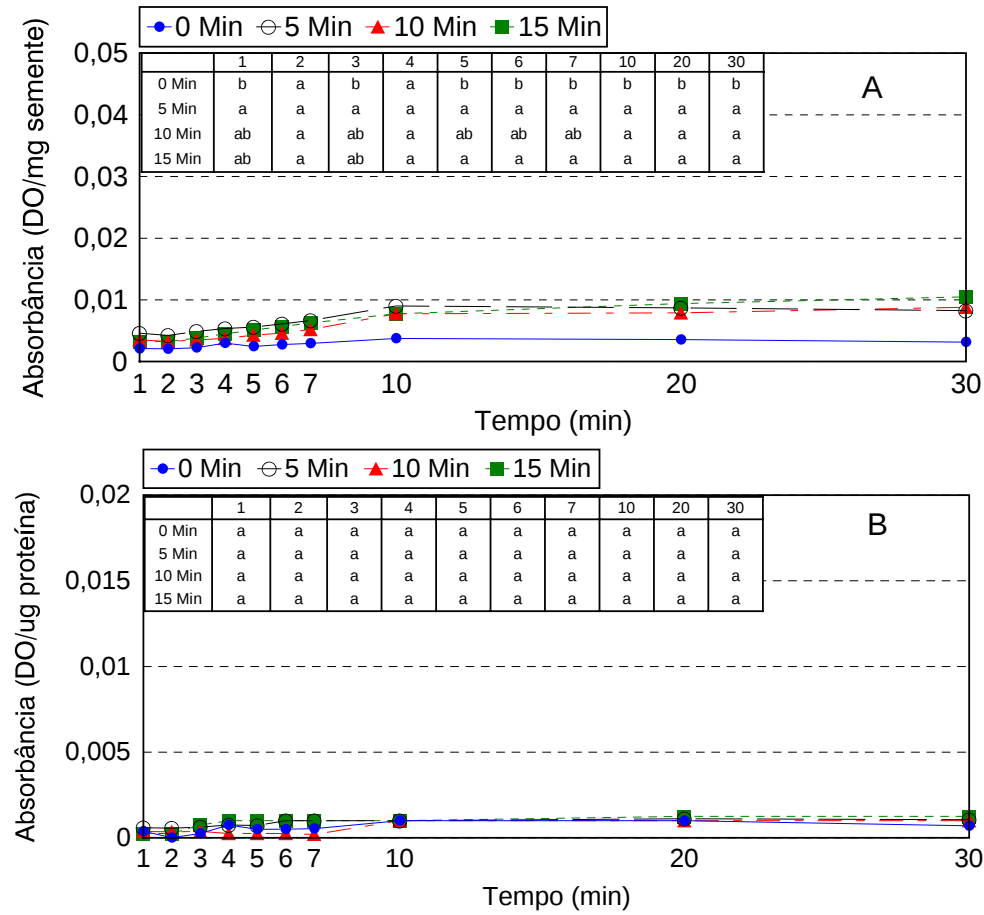


Figura 9: Resultados médios da determinação, por trinta minutos, da atividade total (A) e específica (B) de peroxidase em sementes não embebidas de *Brachiaria brizantha*, lote 4, experimento 5. Rio Claro, 1998. (Letras minúsculas distintas nas colunas, na tabela interna ao gráfico, indicam diferença significativa pelo teste Tukey com 5% de probabilidade)

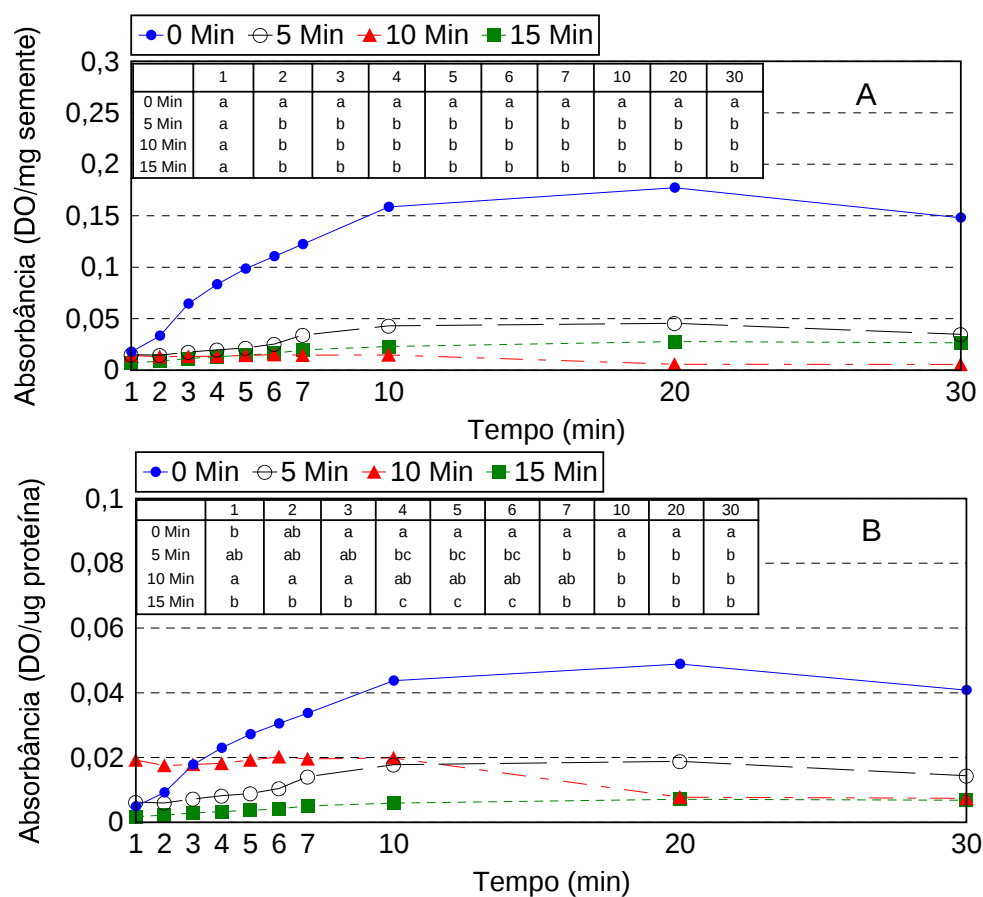


Figura 10: Resultados médios da determinação, por trinta minutos, da atividade total (A) e específica (B) de peroxidase em sementes embebidas de *Brachiaria brizantha*, lote 4, experimento 5. Rio Claro, 1998. (Letras minúsculas distintas nas colunas, na tabela interna ao gráfico, indicam diferença significativa pelo teste Tukey com 5% de probabilidade)

4.2.1.2 - Atividade de amilase total

A atividade de amilase total (Figura 11) foi obtida em sementes embebidas, por 24 horas a 30°C, pois se trata de uma enzima que é sintetizada durante o início da germinação. Para o lote 3 a maior atividade foi observada no sub lote 15Min. Os sub lotes 0, 5 e 10Min apresentaram atividade estatisticamente inferior ao sub lote 15Min, porém não diferiram entre si. Para o lote 4 não houve diferença estatística de atividade de amilase total, entre os sub lotes. A atividade de amilase total, entre os lotes 3 e 4, não acusou diferenças estatísticas.

No entanto, estes resultados não corroboram com os obtidos, através da germinação, tanto para o lote 3 (Tabelas 53, 54 e 55), quanto para o lote 4 (Tabelas 56, 57 e 58), onde as porcentagens e velocidades de germinação foram superiores para os sub lotes 5 e 10Min. Com a absorção de água, o embrião sintetiza e libera giberelinas (GA) que se movem através do endosperma e promovem o início da formação de alfa-amilase na camada de aleurona, bem como de outras enzimas (Simpson, 1990; Nandi et al., 1995; Shephard et al., 1996; Carvalho & Nakagawa, 2000). Assim, existe uma boa correlação entre o início visível da germinação e a atividade desta enzima (Ganguli & Sen-Mandi, 1993) que ainda, pode ser usada como indicadora do vigor (Nandi et al., 1995; Shephard et al., 1996). No entanto, os resultados obtidos neste trabalho, não exibiram coerência com a literatura, pois os sub lotes que mais germinaram não apresentaram maior atividade de amilase total, indicando que a metodologia utilizada nesse trabalho, para esta espécie, foi pouco sensível e portanto, inadequada.

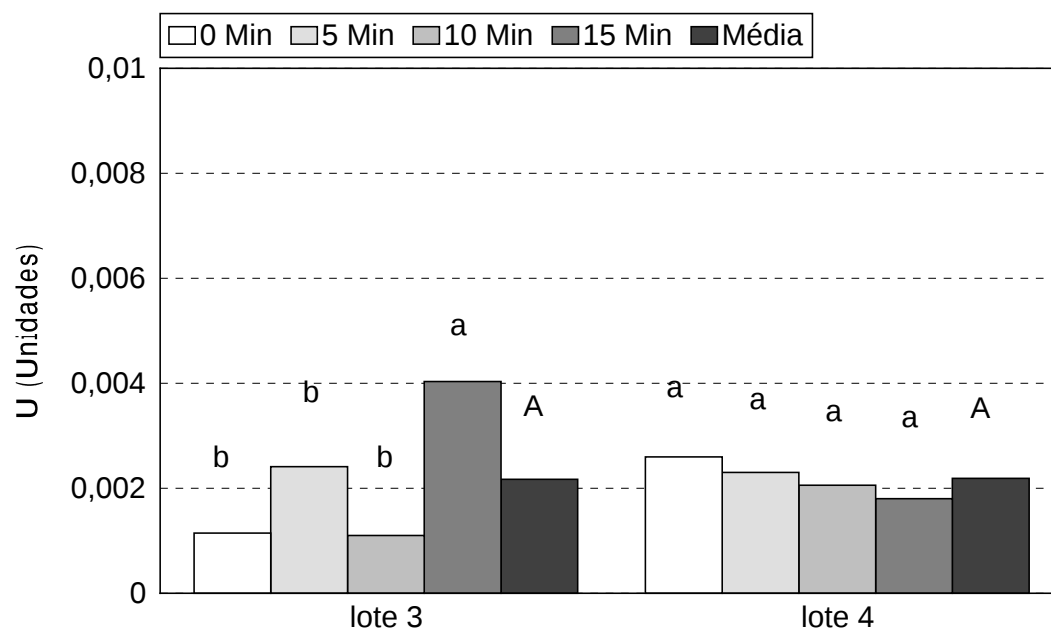


Figura 11: Resultados médios da determinação de atividade total de amilase em sementes embebidas de *Brachiaria brizantha*, lotes 3 e 4, experimento 5. Rio Claro, 1998. (Letras distintas, minúsculas entre tratamentos do mesmo lote e maiúsculas entre lotes, indicam diferença significativa no teste Tukey com 5% de probabilidade)

4.2.1.3 – Composição de Macronutrientes e Lixiviação de potássio

A análise dos dados, Figura 12, mostrou que o tratamento com ácido sulfúrico não causou alteração nos teores de fósforo, potássio, cálcio e magnésio. Os teores de nitrogênio mostraram alteração para o lote 4 (Figura 12B) onde ocorreu leve perda de nitrogênio com o tratamento com ácido sulfúrico. Os teores de enxofre também se alteraram tanto no lote 3 (Figura 12A) quanto no lote 4 (Figura 12B). Esta alteração se deveu ao tratamento com ácido sulfúrico, pois embora as sementes tenham sido lavadas após o tratamento para retirada do ácido, restou alguma impregnação de sulfato, indicando que o procedimento de lavagem das sementes foi insuficiente para neutralizar toda a acidez provocada pelo tratamento com ácido sulfúrico. É importante ressaltar que tanto o sublote das sementes intactas quanto os sublotos das sementes tratadas apresentavam conteúdos muito próximos de potássio, ou seja, que o tratamento com ácido sulfúrico não alterou o conteúdo de potássio das sementes e portanto que a lixiviação de potássio (Figuras 13 e 14), deveu-se ao estado de organização das membranas celulares dos sublotos intactos, em relação aos que passaram pelo tratamento ácido.

A lixiviação de potássio para o lote 3 (14 meses de armazenamento) e 4 (8 meses de armazenamento) mostrou que os sublotos foram afetados diferentemente pelo armazenamento. O sublote que não recebeu tratamento com ácido sulfúrico (0Min), apresentou menor lixiviação (Figura 13A e 13B), indicando menor estado de deterioração, através de maior controle da permeabilidade das membranas desde as primeiras horas de hidratação (3 horas) até 24 horas (última leitura). Os sublotos que foram tratados apresentaram maior lixiviação desde o princípio da embebição, porém com o avanço da hidratação a lixiviação dos sublotos tratados aumentou em relação aos sublotos das sementes intactas indicando que os sublotos armazenados, já tratados, apresentaram menor capacidade de reparo dos sistemas de membranas que o sublote das sementes intactas, indicando que o tratamento ácido, ao deixar os envoltórios danificados permitiu também que o embrião fosse mais atingido pelas condições ambientais (Renard & Capelle, 1976; Simpson, 1990; Castro & Alvarenga,

1996; Carvalho e Nakagawa, 2000) e, nessa situação, por 8 meses de armazenamento, os sublotos das sementes tratadas (5, 10 e 15Min) envelheceram mais acentuadamente, o que foi verificado através da maior lixiviação de potássio, a partir de 6 horas de embebição (Figura 13A).

Para o lote 4 (8 meses de armazenamento), a lixiviação de potássio pelos sublotos tratados com ácido sulfúrico também foi maior, principalmente nos períodos mais avançados de embebição; porém apenas o sublote tratado com ácido por maior período (15Min) lixiviou significativamente mais potássio indicando maior deterioração. O tratamento ácido pode ter agredido menos os envoltórios, principalmente nos menores períodos, de tal forma que os sublotos 5 e 10Min não se diferenciaram das sementes intactas em termos de lixiviação de potássio (Figura 13B). Voll et al. (1996) citam que, para *Brachiaria plantaginea*, a permeabilidade dos envoltórios pode se modificar com o envelhecimento, *i.e.* glumas de sementes mais novas seriam mais impermeáveis ao ácido sulfúrico.

A Figura 14 permite uma visualização geral das médias de lixiviação de potássio para os lotes 3 e 4 e, ainda, a comparação entre eles. Dentro do lote 3 o sublote das sementes intactas foi o que menos lixiviou. Entre as sementes tratadas com ácido sulfúrico o sublote tratado por 5 minutos não diferiu das sementes não tratadas, indicando que no menor período de tratamento a agressão aos envoltórios não foi suficiente para causar diferenças de deterioração com o armazenamento. Já nos maiores períodos de tratamento, a lixiviação de potássio foi significativamente maior indicando que os sublotos 10 e 15Min se encontravam em estágios mais avançados de deterioração. Dentro do lote 4 apenas no maior período de tratamento (15Min) a lixiviação de potássio foi significativamente diferente dos demais sublotos, indicando que nos menores períodos o tratamento ácido não alterou o ritmo de deterioração das sementes intactas e das tratadas com 5 e 10Min.

Entre os lotes, a lixiviação do lote 3 foi significativamente maior que a lixiviação do lote 4, indicando que o lote 3 estava em estado de deterioração mais avançado que o lote 4.

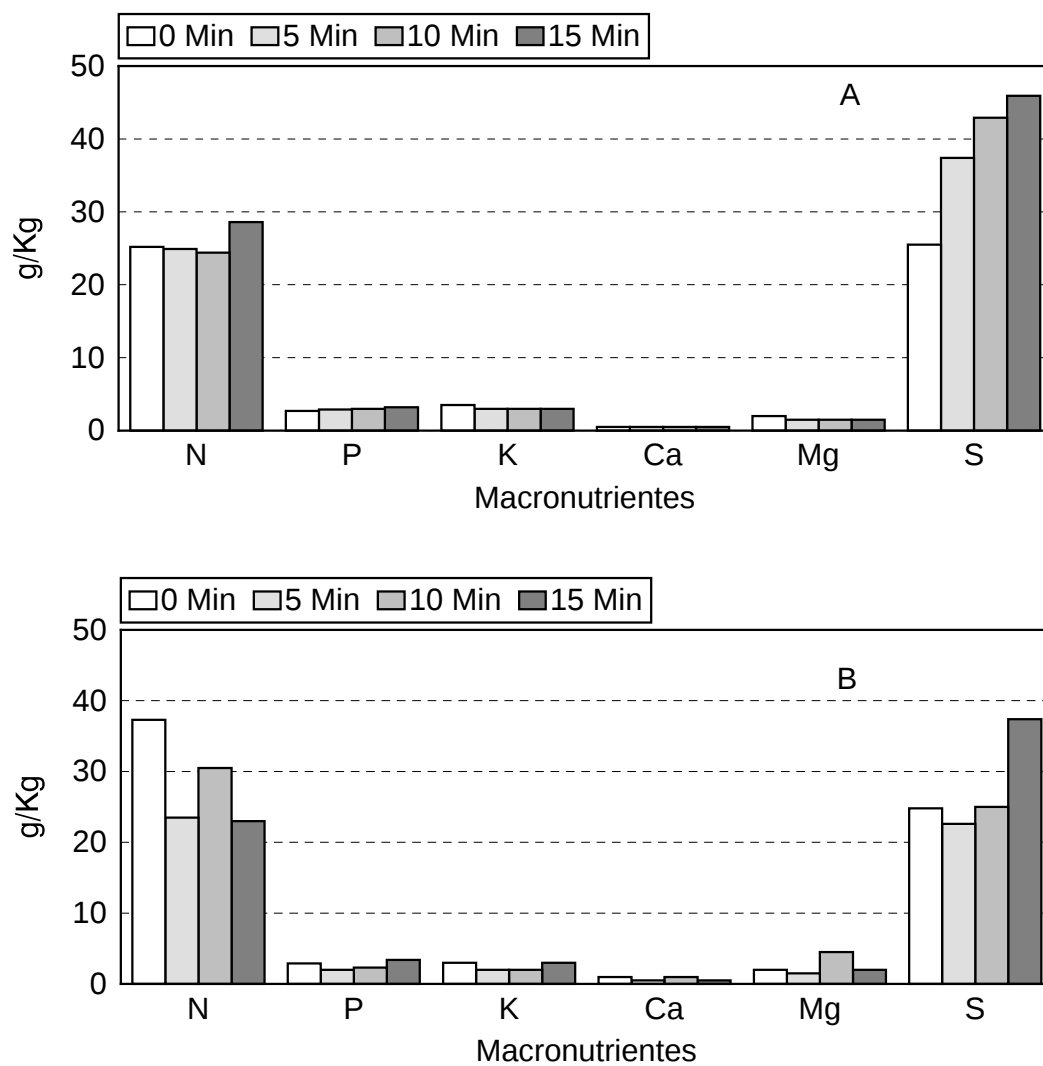


Figura 12: Resultados da análise da composição química de macronutrientes em sementes de *Brachiaria brizantha*, lotes 3 (A) e 4(B), experimento 5. Rio Claro, 1998.

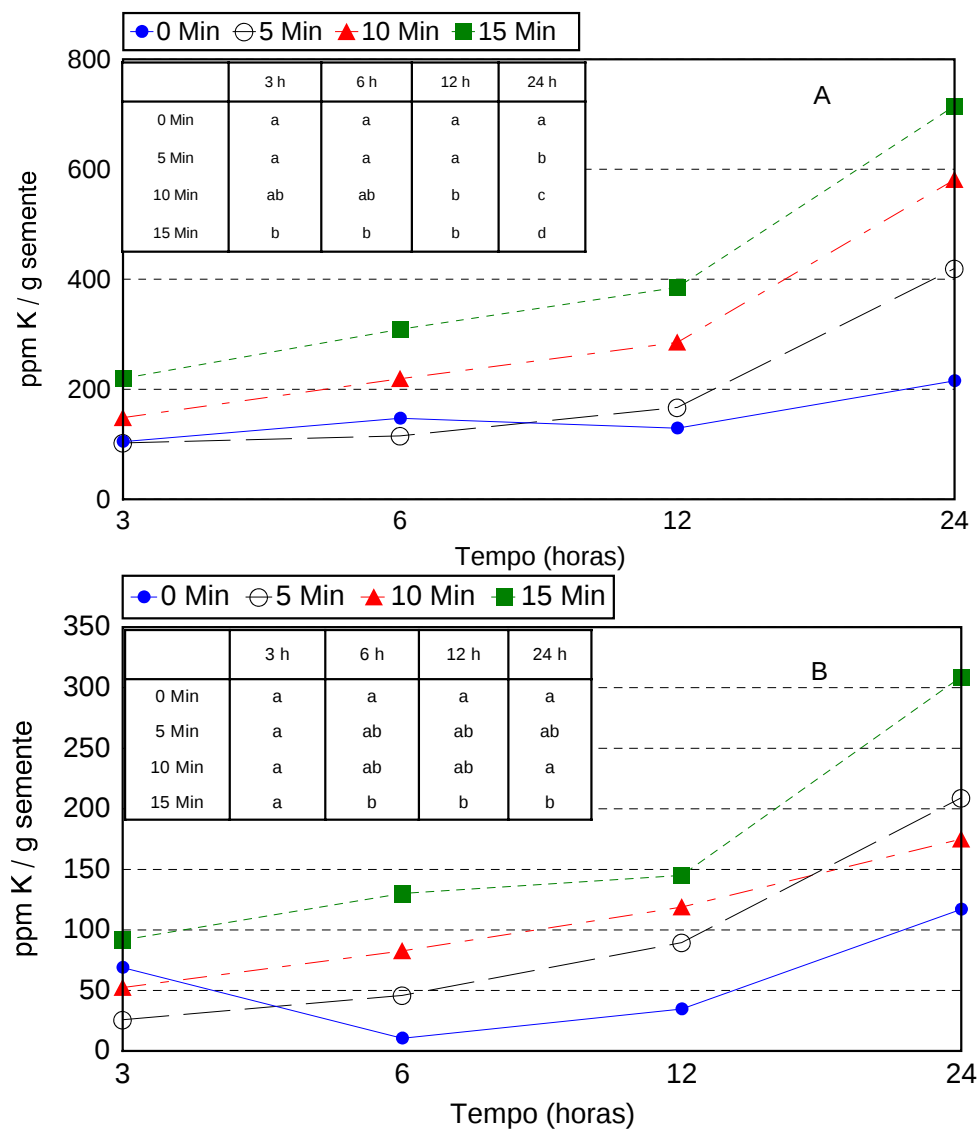


Figura 13: Resultados médios de lixiviação de potássio em função de diferentes tempos para realização da leitura e tratamentos nas sementes de *Brachiaria brizantha*, lote 3 (A) e lote 4 (B), experimento 5. Rio Claro, 1998. (Letras minúsculas distintas nas colunas indicam diferença significativa no teste Tukey com 5% de probabilidade)

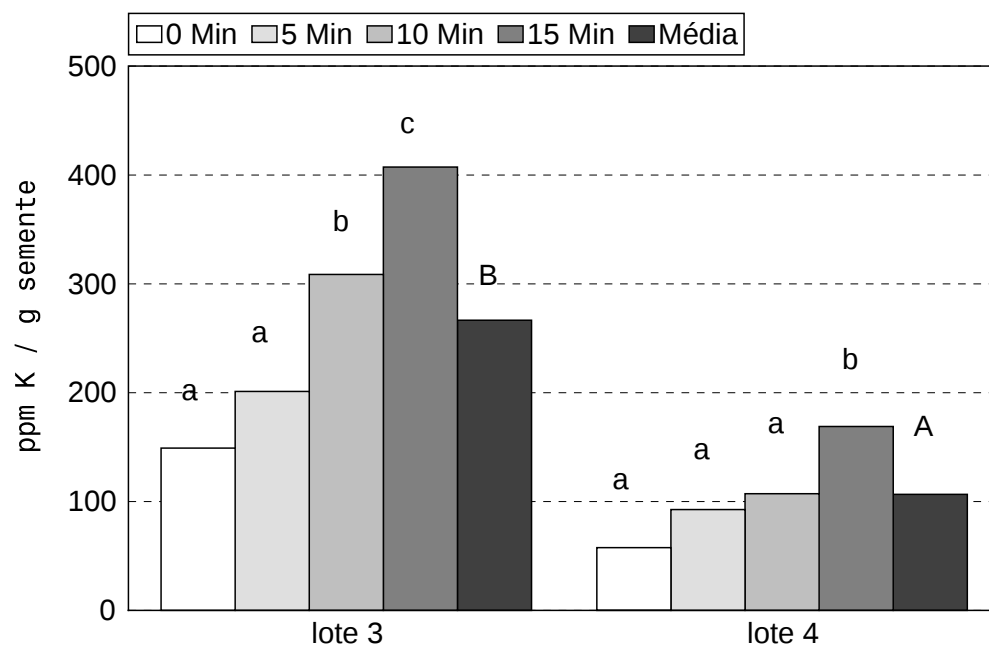


Figura 14: Resultados médios de lixiviação de potássio em função de diferentes tratamentos nas sementes de *Brachiaria brizantha*, lotes 3 e 4, experimento 5. Rio Claro, 1998. (Letras distintas, minúsculas entre tratamentos do mesmo lote e maiúsculas entre lotes, indicam diferença significativa no teste Tukey com 5% de probabilidade)

4.2.2 - *Brachiaria humidicola*

4.2.2.1 - Atividade de peroxidase

Nas sementes, não embebidas, do lote 3 (14 meses de armazenamento) observou-se atividade de peroxidase, tanto total (Figura 15A) quanto específica (Figura 15B) em níveis suficientemente diferentes, de tal forma que ocorreu diferença estatística entre os sublotos. O sub lote 0Min se destacou tanto em atividade total quanto específica, superior aos demais, atingindo a atividade máxima aos 7 minutos. Nas sementes embebidas, por 24 horas a 30°C, os níveis de atividade de peroxidase tanto total (Figura 16A) quanto específica (Figura 16B) foram maiores que nas sementes não embebidas, indicando que, com a hidratação, houve ativação do metabolismo celular, incluindo aí a peroxidase que é uma enzima acessória, porém em escala menor à observada para a espécie *Brachiaria brizantha*.

Embora com maiores níveis de atividade na semente hidratada, a atividade total de peroxidase entre os sublotos não foi estatisticamente diferente, enquanto que para a atividade específica (Figura 16B) ocorreu diferenciação entre os sublotos. A diferenciação ocorreu a partir dos 5 minutos de reação e se intensificou no tempo de atividade máxima que se deu aos 7 minutos de reação. Aí o sub lote 10Min se destacou com maior atividade porém não diferente dos sublotos 0 e 15Min, que por sua vez não se distinguiram do sub lote 5Min que apresentou menor atividade específica de peroxidase em sementes hidratadas.

Nas sementes, não embebidas, do lote 4 (8 meses de armazenamento) observou-se atividade de peroxidase, tanto total (Figura 17A) quanto específica (Figura 17B) e os sublotos se comportaram de maneira distinta principalmente no tempo de atividade máxima, que ocorreu entre o sétimo e décimo minuto, apenas para atividade total. A atividade total revelou que o sub lote 5Min apresentou maior atividade em relação aos demais sublotos seguido pelo sub lote 0Min, depois pelo sub lote 10Min e finalmente pelo 15Min. A atividade específica, no entanto, apresentou-se crescente até os 30 minutos de reação não sendo possível determinação do

ponto de máxima atividade. As atividades, de cada sublote, alternaram-se o que pode ser observado nos tempos de 10, 20 e 30 minutos de tal forma que aos 30 minutos de reação, não houve diferenciação entre os sublotes. É interessante notar que o sublote 0Min se destacou em valores absolutos de atividade específica em todos os tempos de reação, mas foi o segundo em termos de atividade total.

Os resultados de atividade total (Figura 18A) e específica (Figura 18B) mostraram que a hidratação não foi suficiente para provocar um salto na atividade de peroxidase, pois neste caso o aumento de atividade foi menor ao notado para o lote 3 e menor que a ativação verificada para *Brachiaria brizantha*, o que pode ser atribuído ao um maior estado de deterioração desse lote (ver item 4.2.2.3, Figura 22), apesar de ser mais novo que o lote 3 e portanto, estar a menos tempo armazenado.

Desde o primeiro minuto de reação houve diferenciação entre os sublotes. A atividade total apresentou-se crescente para os sublotes, que alternaram posições principalmente nos tempos de 10, 20 e 30 minutos de tal maneira que ao final (20 e 30 minutos) não ocorreu diferenciação entre os sublotes. Em valores absolutos no entanto, o sublote 0Min apresentou maior atividade total, sem se diferenciar no entanto dos sublotes 5 e 10Min, que também não diferiram do sublote 15Min que apresentou a menor atividade total. Para atividade específica o período de maior diferenciação se deu a partir dos 2 minutos e a atividade máxima dos 7 aos 10 minutos. O sublote 5Min se destacou desde o primeiro minuto de reação até os 30 minutos com atividade superior ao sublote 0Min, este ao de 10Min e este último ao sublote 15Min.

A Figura 6, que apresentou os resultados de determinação do grau de umidade, revelou que as sementes não embebidas apresentavam teor de água variando de 9 a 13% (Figura 6A) enquanto que as sementes embebidas apresentavam teores de água variando de 25 a 31% para o lote 3 e 26 a 30% para o lote 4 (Figura 6B), justificando a maior ativação enzimática com a hidratação.

Ocorreu um contraste entre as atividades de peroxidase das sementes não embebidas e embebidas, sendo que a hidratação foi menos eficiente em elevar a atividade de peroxidase em relação a atividade

verificada nas sementes não embebidas. Para esta espécie notou-se uma alta atividade nas sementes não embebidas em relação ao observado para a espécie *Brachiaria brizantha*. Quando hidratou-se a semente o observado foi o inverso, pois *Brachiaria brizantha* respondeu com um grande aumento na atividade de peroxidase enquanto que em *Brachiaria humidicola* o aumento foi menor.

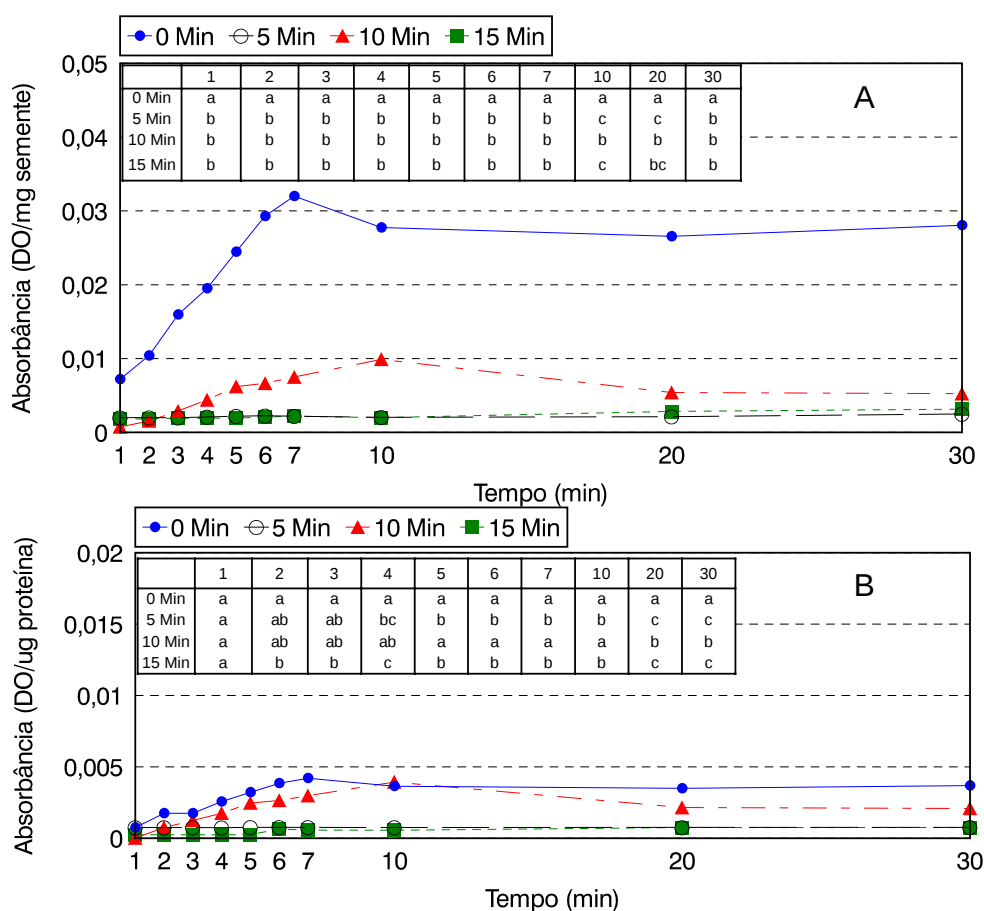


Figura 15: Resultados médios da determinação, por trinta minutos, da atividade total (A) e específica (B) de peroxidase em sementes não embebidas de *Brachiaria humidicola*, lote 3, experimento 5. Rio Claro, 1998. (Letras minúsculas distintas nas colunas, na tabela interna ao gráfico, indicam diferença significativa pelo teste Tukey com 5% de probabilidade)

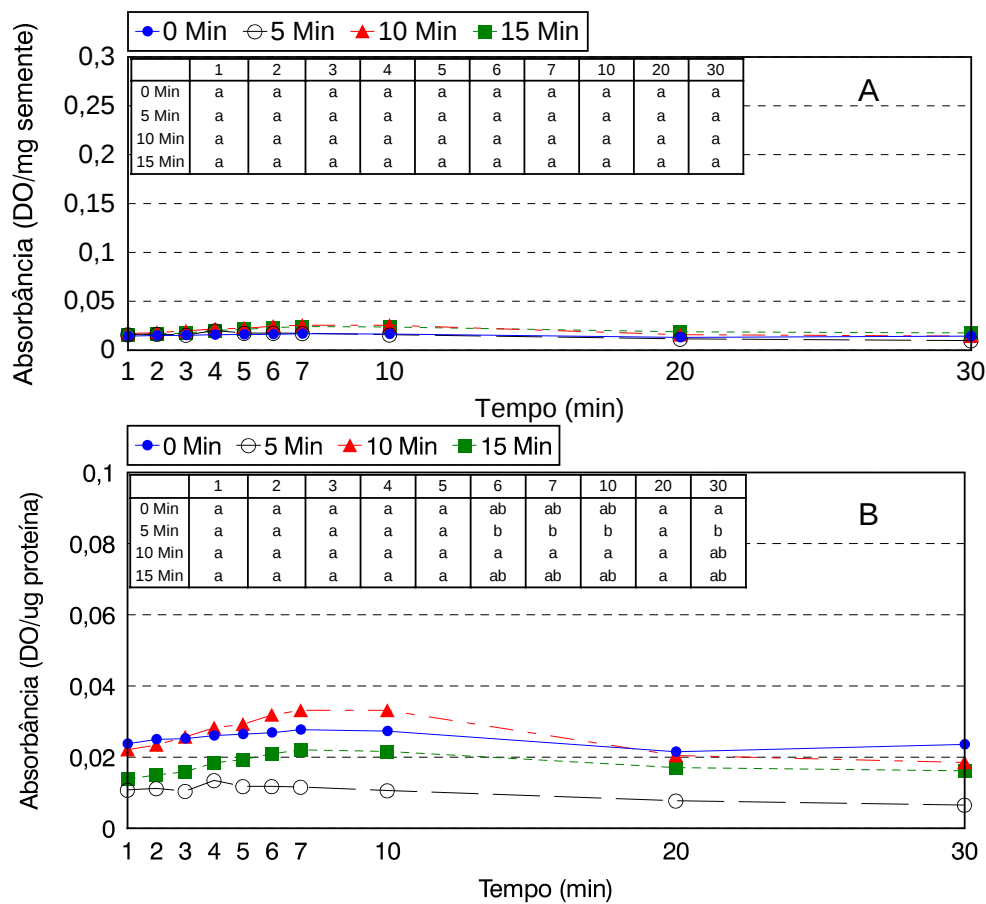


Figura 16: Resultados médios da determinação, por trinta minutos, da atividade total (A) e específica (B) de peroxidase em sementes embebidas de *Brachiaria humidicola*, lote 3, experimento 5. Rio Claro, 1998. (Letras minúsculas distintas nas colunas, na tabela interna ao gráfico, indicam diferença significativa pelo teste Tukey com 5% de probabilidade)

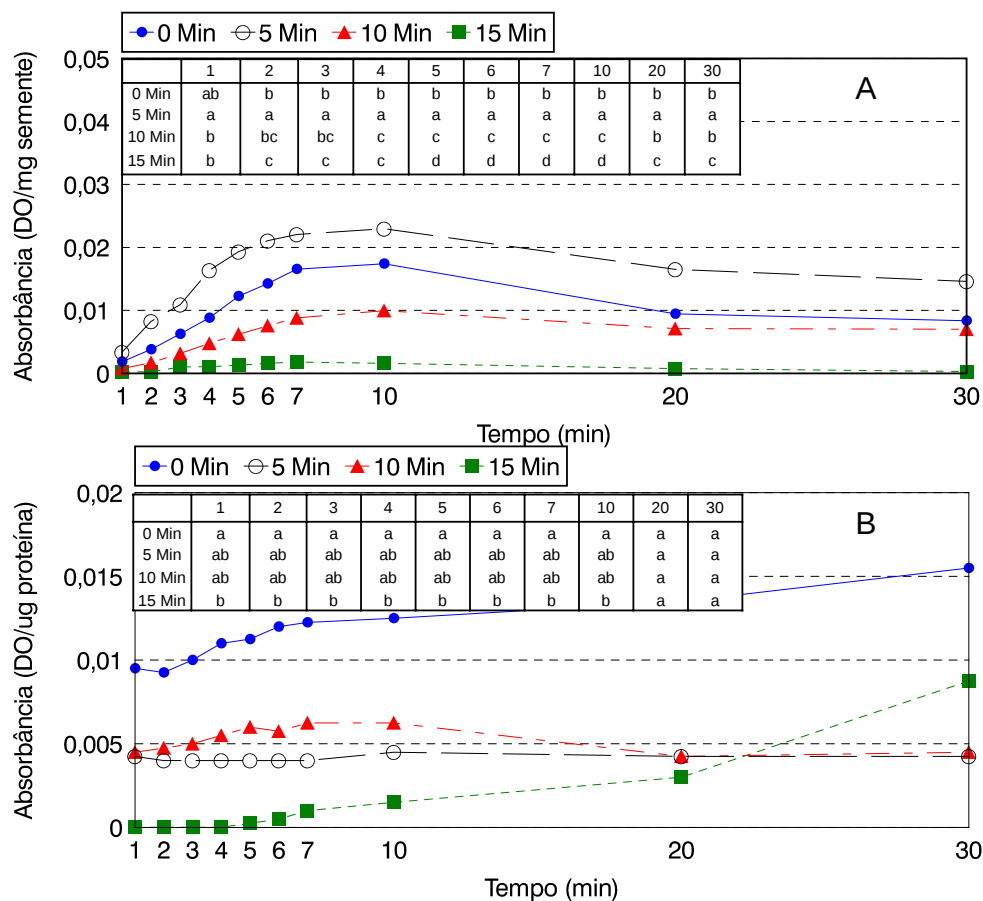


Figura 17: Resultados médios da determinação, por trinta minutos, da atividade total (A) e específica (B) de peroxidase em sementes não embebidas de *Brachiaria humidicola*, lote 4, experimento 5. Rio Claro, 1998. (Letras minúsculas distintas nas colunas, na tabela interna ao gráfico, indicam diferença significativa pelo teste Tukey com 5% de probabilidade)

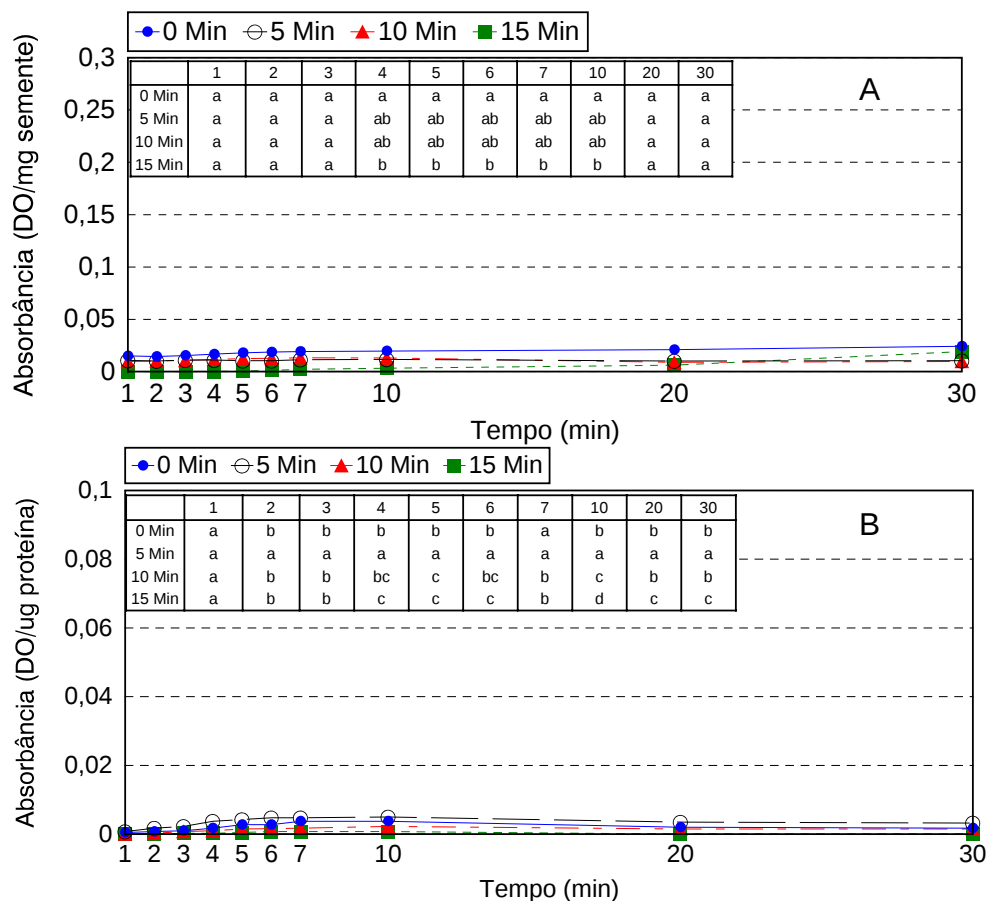


Figura 18: Resultados médios da determinação, por trinta minutos, da atividade total (A) e específica (B) de peroxidase em sementes embebidas de *Brachiaria humidicola*, lote 4, experimento 5. Rio Claro, 1998. (Letras minúsculas distintas nas colunas, na tabela interna ao gráfico, indicam diferença significativa pelo teste Tukey com 5% de probabilidade)

4.2.2.2 - Atividade de amilase total

A atividade de amilase total (Figura 19) foi obtida em sementes embebidas, por 24 horas a 30°C, pois é uma enzima que é preferencialmente sintetizada durante as primeiras fases da germinação (Simpson, 1990; Nandi et al., 1995; Shephard et al., 1996; Carvalho & Nakagawa, 2000). Para o lote 3 a maior atividade foi observada no sub lote 0Min. O sub lote 5Min apresentou a menor atividade de amilase total enquanto os sub lotes 10 e 15Min apresentaram atividades intermediárias, não diferindo nem do maior resultado nem do menor. Para o lote 4, os sub lotes 5 e 10Min produziram atividade de amilase superior aos sub lotes 0 e 15Min. De maneira geral, no entanto, o lote 3 apresentou menor atividade de amilase total que o lote 4.

Estes resultados, no entanto, foram parcialmente coerentes com os resultados de germinação obtidos, tanto para o lote 3 (Tabelas 60, 61 e 62) como para o lote 4 (Tabelas 63, 64 e 65), onde os sub lotes, 0Min (lote 3) e, 5 e 10Min (lote 4), que se destacaram em germinação, também apresentaram maior atividade de amilase, em valores absolutos.

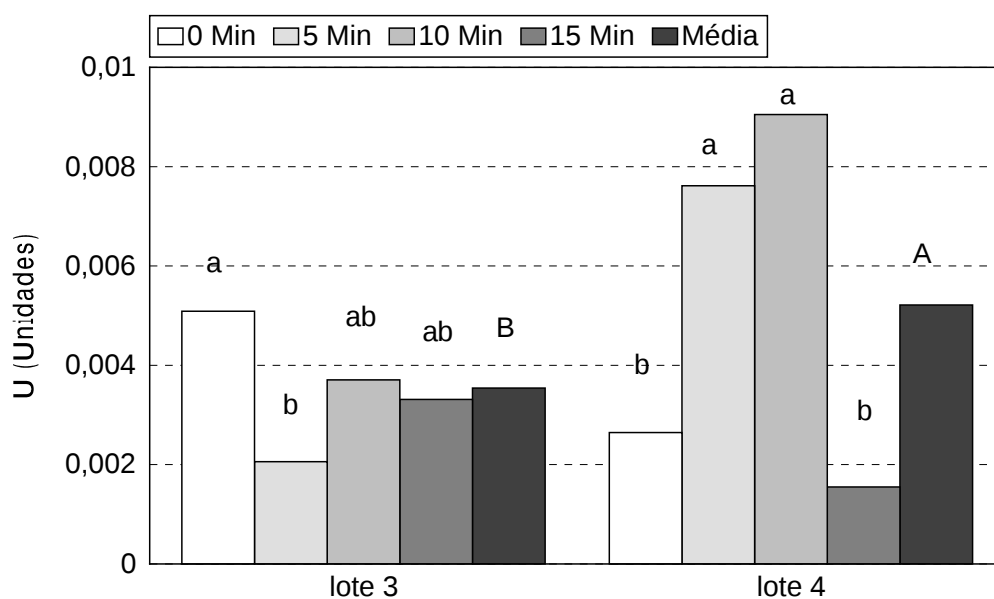


Figura 19: Resultados médios da determinação de atividade total de amilase em sementes embebidas de *Brachiaria humidicola*, lotes 3 e 4, experimento 5. Rio Claro, 1998. (Letras distintas, minúsculas entre tratamentos do mesmo lote e maiúsculas entre lotes, indicam diferença significativa no teste Tukey com 5% de probabilidade)

4.2.2.3 – Composição de Macronutrientes e Lixiviação de potássio

A Figura 20 apresenta os resultados da análise da composição de macronutrientes para os lotes 3 (Figura 20A) e 4 (Figura 20B). A análise dos dados mostrou que o tratamento com ácido sulfúrico praticamente não causou alteração nos teores de cálcio enquanto os teores de nitrogênio, fosforo, potássio e magnésio mostraram pequena oscilação para ambos os lotes provavelmente relacionadas a diferenças de amostragem. Os teores de enxofre se alteraram tanto no lote 3 quanto no 4, tal evento se deveu ao tratamento com ácido sulfúrico como em *Brachiaria brizantha* (item 4.2.1.3).

Para o lote 3, após 14 meses de armazenamento, o sublote 5Min, apresentou menor lixiviação (Figura 21A) indicando menor estado de deterioração através de maior controle da permeabilidade das membranas desde as primeiras horas de embebição até a última leitura (24 horas). Os sublotos que foram tratados com ácido sulfúrico por maiores períodos (10 e 15 minutos) apresentaram maior lixiviação, porém o sublote 10Min não diferiu do 5Min que apresentou baixa liberação de lixiviados assim como não diferiu dos sublotos 0 e 15Min que apresentaram maior lixiviação de potássio.

Para o lote 4, com 8 meses de armazenamento, o sublote das sementes intactas (0Min), apresentou menor lixiviação, indicando maior integridade do sistema de membranas, seguido pelo sublote 5Min, este pelo 15Min. O sublote 10Min apresentou maior lixiviação desde o princípio da embebição indicando que o tratamento ácido, ao deixar os envoltórios danificados permitiu também que o embrião fosse mais atingido pelas condições ambientais (Renard & Capelle, 1976; Simpson, 1990; Castro & Alvarenga, 1996; Carvalho e Nakagawa, 2000) e, nessa situação, por 8 meses de armazenamento, os sublotos das sementes tratadas (5, 10 e 15Min) envelheceram mais, o que foi verificado através da maior lixiviação de potássio, a partir de 6 horas de embebição (Figura 21B).

A Figura 22 permite visualização geral das médias de lixiviação de potássio para os lotes 3 e 4 e ainda comparação entre eles. O que mais chama a atenção é que a média geral de lixiviação do lote 4 é significativamente maior que a do lote 3 indicando que, apesar de ser mais novo, o lote 4 se encontrava em estado mais avançado de deterioração.

O lote 3 apresentou significativamente menor lixiviação que o lote 4, indicando menor deterioração (Figura 22). Tal fato, pode ser devido aos envoltórios das sementes, no lote 3, que se encontravam mais íntegros, mantendo o embrião menos exposto e assim o tratamento com ácido foi menos efetivo.

Dentre os solutos lixiviados de sementes o potássio aparece como o principal íon (Loomis & Smith, 1980; Powell, 1986; Granqvist, 1987; Lee & Karunanithy, 1990; Wood, 1990), havendo forte relação entre a perda desse íon durante a embebição de sementes e a integridade das membranas, sendo então considerado um dos melhores testes para avaliação do estado de deterioração de sementes, como por exemplo, para grandes culturas, entre elas soja (Schoettle & Leopold, 1984; Loeffler et al., 1988; Dias et al., 1996; Custódio & Marcos Filho, 1997); ervilha (Matthews & Rogerson, 1976; Powell & Matthews, 1978, 1979); milho (Wann, 1986; Tracy & Juvik, 1988; Bruggink et al., 1991); algodão (Woodstock et al., 1985); feijão (Lin, 1990); e outras culturas (Loomis & Smith, 1980; Granqvist, 1987; McKersie & Stinson, 1980; Simon & Mathavan, 1986; Lott et al., 1991).

Observando-se os dados obtidos, neste trabalho, tanto para *Brachiaria brizantha* como para *Brachiaria humidicola*, pode-se considerar que o teste de lixiviação de potássio apresentou-se como uma alternativa para a avaliação do vigor.

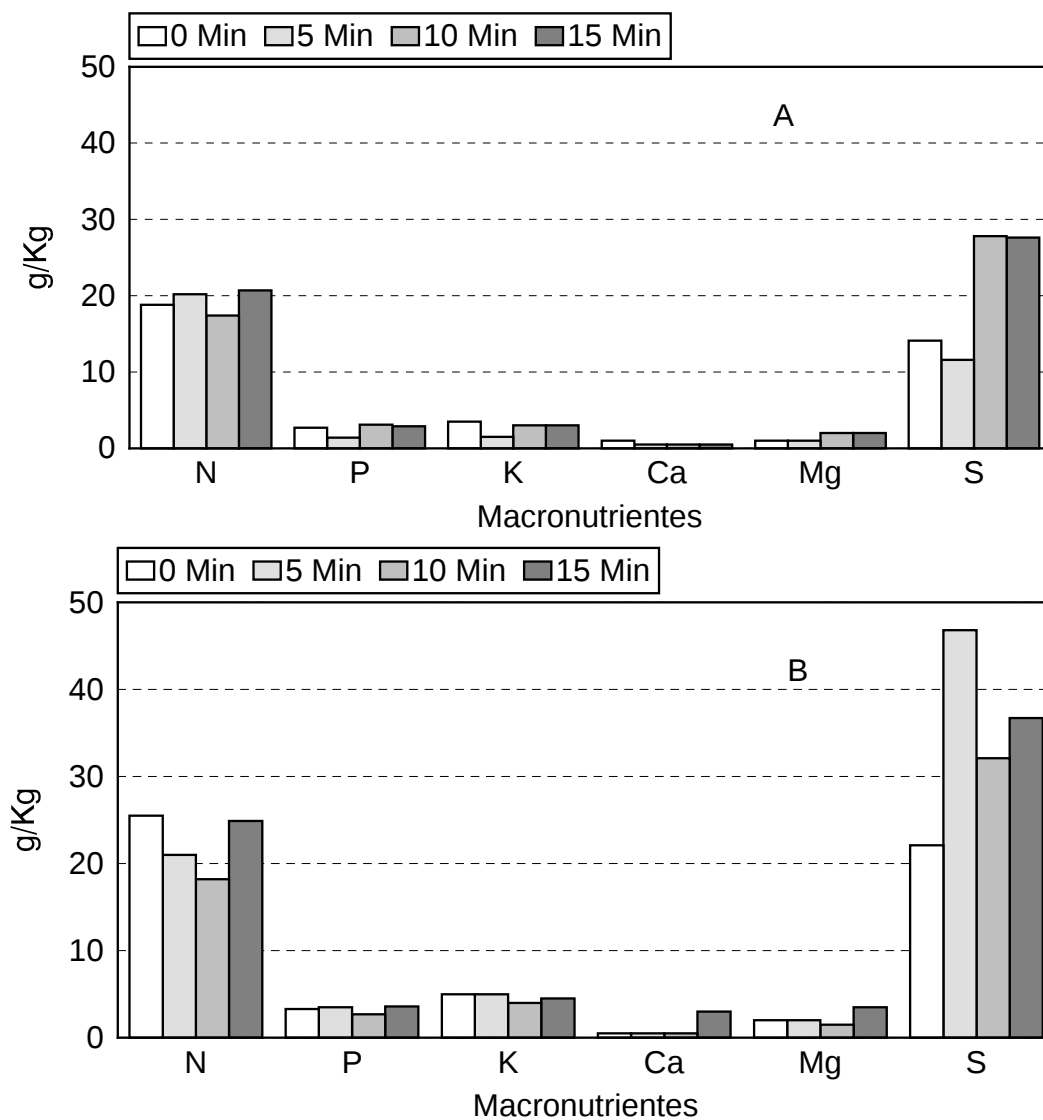


Figura 20: Resultados da análise da composição química de macronutrientes em sementes de *Brachiaria humidicola*, lote 3 (A) e lote 4 (B), experimento 5. Rio Claro, 1998.

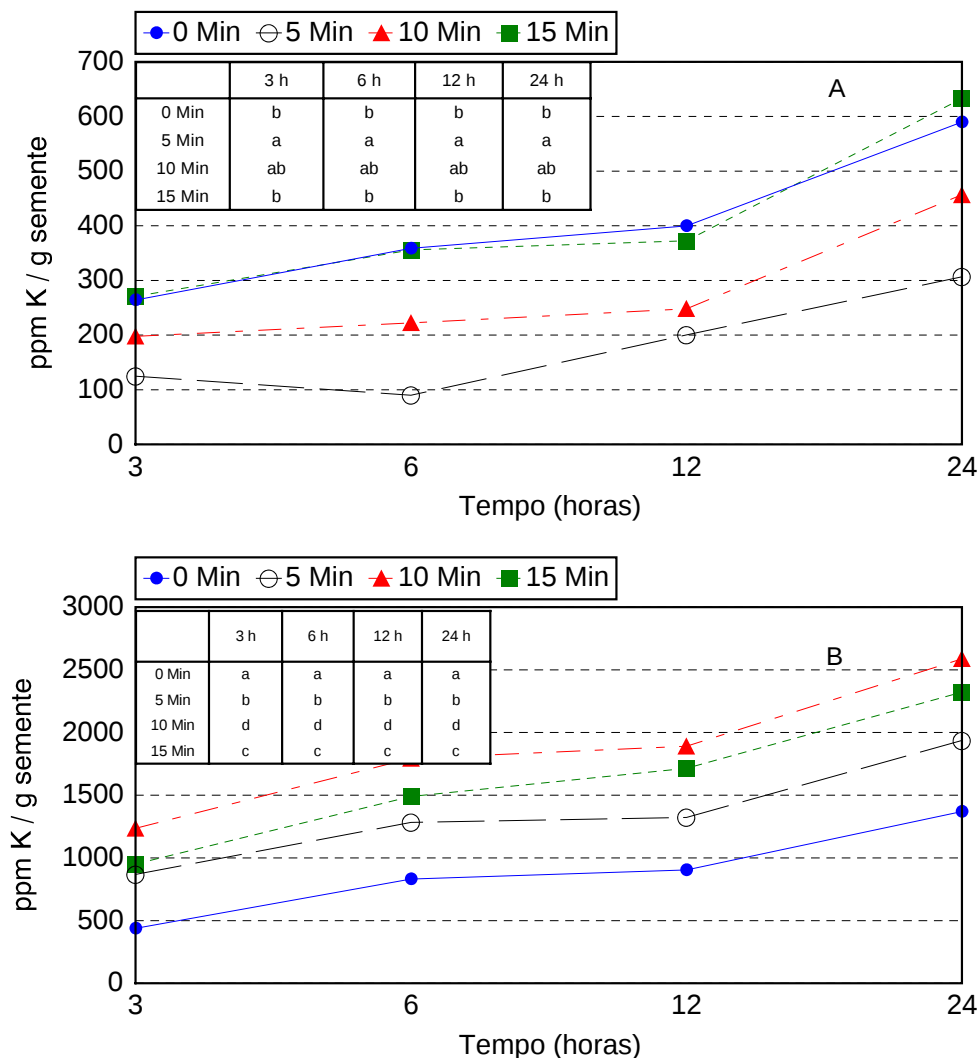


Figura 21: Resultados médios de lixiviação de potássio em função de diferentes tempos para realização da leitura e tratamentos nas sementes de *Brachiaria humidicola*, lote 3 (A) e lote 4 (B), experimento 5. Rio Claro, 1998. (Letras minúsculas distintas nas colunas indicam diferença significativa no teste Tukey com 5% de probabilidade)

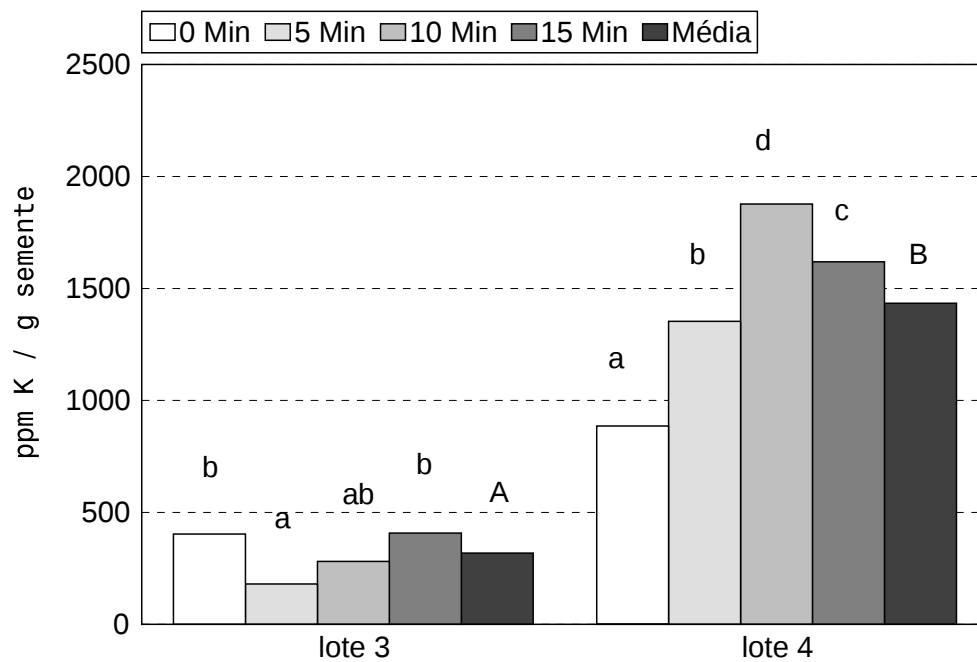


Figura 22: Resultados médios de lixiviação de potássio em função de diferentes tratamentos nas sementes de *Brachiaria humidicola*, lotes 3 e 4, experimento 5. Rio Claro, 1998. (Letras distintas, minúsculas entre tratamentos do mesmo lote e maiúsculas entre lotes, indicam diferença significativa no teste Tukey com 5% de probabilidade)

4.2.3 - Considerações gerais sobre as determinações bioquímicas

Os resultados de germinação, discutidos no item 4.1.4.3, mostraram que para *Brachiaria brizantha*, tanto para o lote 3, quanto para o lote 4, não houve diferença entre os resultados do experimento 4 (armazenamento das sementes intactas) e os do experimento 5 (armazenamento das sementes tratadas), em ambos os experimentos ocorreu evidente resposta positiva à utilização de ácido sulfúrico, que elevou a germinação e a velocidade de germinação, tanto imediatamente ao tratamento (experimento 4) quanto após 8 meses (experimento 5).

A atividade da peroxidase, em sementes não embebidas dessa espécie, foi acentuadamente menor, indicando pouca ou nenhuma diferença entre os sublotos. Em sementes embebidas, ocorreu elevação da atividade de peroxidase em todos os sublotos, porém o sub lote 0Min apresentou maior atividade que os demais. A observação, que o envelhecimento em sementes é acompanhado por declínio na habilidade em reter solutos, sugere que um dos primeiros eventos no processo de envelhecimento é a degradação de membranas celulares (Parrish & Leopold, 1978; Matthews, 1985), que por sua vez está relacionada a peroxidação de lipídios e produção de radicais livres (Priestley et al., 1980; Powell & Matthews, 1981; Priestley & Leopold, 1983; Priestley et al., 1985; Wilson & McDonald, 1986; Basavarajappa et al., 1991; Brown et al., 1994). O reparo dos danos ocorre sob condições normais nas células vivas de sementes armazenadas, mas devido a reidratação sua ocorrência é aumentada. Tal reparo envolve a ação de substâncias que recebem o nome de “scavengers”, as quais reagem com os radicais livres, eliminando-os; entre elas assume grande importância as enzimas conhecidas como peroxidases, catalases e superóxido dismutases (Basra et al., 1994; Bhattacharjee & Mukherjee, 1998).

Ao mesmo tempo, o sub lote 0Min apresentou baixa lixiviação de potássio, indicando que este sub lote, por não ter sido tratado com ácido sulfúrico, sofreu menos danos em seus envoltórios e, portanto, permitiu maior conservação de seus sistemas de membranas. Vários trabalhos indicaram a lixiviação de potássio como um dos melhores testes para avaliação do estado

de deterioração de sementes, por avaliar a integridade do sistema de membranas (Matthews & Rogerson, 1976; Loomis & Smith, 1980; Woodstock et al., 1985; Simon & Mathavan, 1986; Granqvist, 1987; Marcos Filho et al., 1990; Lott et al., 1991; Dias et al., 1996; Custódio & Marcos Filho, 1997) .

A rápida elevação da atividade de peroxidase, durante as primeiras horas de embebição, e a pequena lixiviação de potássio observada para o sublote 0Min confirmaram a capacidade dessas sementes de reorganizarem as membranas, e prevenir danos durante as primeiras fases da embebição. Segundo Simpson (1990) sementes dormentes podem manter e reparar a integridade da membrana rapidamente após embebição, enquanto os resultados de Swamy & Narasimha Reddy (1977) apontam que as membranas poderiam ser modificadas durante o armazenamento ou maturação pós-colheita pois mostraram que ocorreu aumento na lixiviação de eletrólitos e superação de dormência durante os 40 dias em que sementes de amendoim permaneceram armazenadas. No entanto Voll et al. (1997) apontam, para *Brachiaria plantaginea*, resultado contrário, ou seja, sementes em estado dormente absorveram mais água e apresentaram maior lixiviação. Portanto, mudanças na permeabilidade das membranas celulares podem ser necessárias para a superação da dormência, por afetarem o movimento de íons, ação dos reguladores de crescimento ou alterar a relação entre os componentes da membrana e, assim, liberar as sementes da dormência (Bewley & Black, 1994).

Quanto às avaliações fisiológicas, esse sublote foi o que alcançou os menores resultados de germinação e de velocidade de germinação, pois nessa espécie ocorreu superação de dormência com a utilização do ácido sulfúrico, ou seja, o sublote, que pelas determinações bioquímicas apresentava-se menos deteriorado, foi o que menos germinou; e os que sofreram ação do ácido sulfúrico e tiveram seus envoltórios danificados, foram os que mais germinaram. Parece que as sementes dessa espécie precisam atingir certo grau de envelhecimento para superarem a dormência e germinarem. Sendo assim, corroboram com esta constatação diversos trabalhos que demostram que com o armazenamento, ou seja, com o avanço do processo de envelhecimento ocorreu quebra de dormência (Martins & Lago, 1996; Martins et al., 1998; Previero et al., 1998a e Vieira et al., 1998b).

Este fato também foi observado, neste estudo, para o lote 3 entre o experimento 2 (Tabelas 18,19 e 20) e o experimento 3 (Tabelas 25, 26 e 27) quando mesmo as sementes intactas aumentaram a germinação após 6 meses de armazenamento. Além disso alguns trabalhos têm mostrado que a utilização de métodos que aceleram o envelhecimento têm contribuído para o processo de superação da dormência. O envelhecimento acelerado (aquecimento da semente em ambiente com alta umidade relativa) foi considerado uma forma eficiente de superação de dormência em *Brachiaria brizantha* (Vieira et al., 1998b), mesmo temperaturas altas, em atmosfera seca, produziram bons resultados (Martins et al., 1998; Vieira et al., 1998b). No entanto, técnicas que combinam altas temperaturas e umidades, conduzem a superação de dormência relativamente rápida, porém, também causam concomitantemente rápida perda de viabilidade (Ellis et al., 1993).

De qualquer forma, o envelhecimento natural ao provocar degradação do sistemas de membranas celulares, promove a descompartimentalização causando um sério comprometimento ao metabolismo respiratório (Woodstock et al., 1985; Wilson & McDonald, 1986) e existem indícios que é importante que haja mudanças no metabolismo respiratório das sementes para que ocorra supressão da dormência (Bewley & Black, 1994).

No entanto, um contraste foi observado, pois os resultados de determinação de amilase mostraram, para o lote 3, maior atividade no sublote 15Min enquanto para o lote 4 não houve diferença estatística entre os sublotes, o que indicou a baixa sensibilidade da determinação, pois os resultados de germinação mostraram que as sementes tratadas germinaram rapidamente e em maior porcentagem que as não tratadas, fato este não demonstrado pelos resultados de atividade de amilase. No entanto, diversos autores identificaram correlação positiva entre atividade de amilase, germinação e vigor de lotes de sementes (Nandi et al., 1995; Shephard et al., 1996).

Para *Brachiaria humidicola* ocorreu resposta negativa para a utilização do tratamento com ácido sulfúrico, no lote 3, em todos os experimentos. Com o lote 4 ocorreu resposta positiva para a utilização de ácido sulfúrico, isolado, por 10 minutos, apenas após o armazenamento, por

8 meses, das sementes tratadas (experimento 5).

A atividade da peroxidase nas sementes do lote 3, hidratadas ou não, foi maior para os sublotos 0 e 10Min, intermediária para o sub lote 15, a menor para 5Min. O lote 4 apresentou maior atividade de peroxidase, tanto total quanto específica, para os sublotos 0, 5 e 10Min em relação ao 15Min.

O estudo da lixiviação de potássio mostrou, para o lote 3, que os sublotos 0 e 15Min apresentaram maiores valores, o que indicou maior estado de desorganização dos sistemas de membranas. Para o lote 4, o sub lote 10Min, foi o que mais lixiviou. Estes lotes que mais lixiviaram foram também os que se destacaram em termos de porcentagem e velocidade de germinação (valores absolutos), indicando que para ocorrer superação da dormência foi necessário ocorrer algum grau de desorganização. Essa desorganização pôde ser explicada, parcialmente, através das determinações de atividade de peroxidase, pois, geralmente, os sublotos que se destacaram em atividade de peroxidase apresentaram menores lixiviações e germinaram menos. A atividade de peroxidase se relaciona com a capacidade de reparar e prevenir danos (Basra et al., 1994; Keng et al., 1998; Bhattacharjee & Mukherjee, 1998).

A atividade de amilase foi superior no sub lote 0Min, do lote 3, e nos sublotos 5 e 10Min, de lote 4, sendo parcialmente coerente com os resultados de germinação pois, em sementes de gramíneas, a enzima amilase assume importante papel no início da germinação, ocorre maior atividade de amilase em sementes que mais germinam (Richa & Sharma, 1994; Sanwo & DeMason, 1994; Nandi et al., 1995; Shephard et al., 1996).

Os resultados de lixiviação, no entanto, foram muito sensíveis em apontar as diferenças de vigor entre os lotes, mostrando que para *Brachiaria brizantha* o lote 3 apresentava-se mais deteriorado que o 4 o que foi compatível com os resultados de germinação. Para *Brachiaria humidicola* os resultados de lixiviação indicaram que o lote 4, apesar de mais novo se encontrava mais deteriorado que o lote 3 o que também foi confirmado através dos resultados de atividade de peroxidase, pois o lote 4 apresentou baixa ativação de peroxidase total e específica com a hidratação da semente indicando pouca capacidade de reparar os danos acumulados durante o armazenamento. No entanto, houve pouca resposta em termos de

germinação para ambos os lotes de *Brachiaria humidicola*, sendo que o lote 4 apresentou maior germinação que o 3 no experimento 5.

4.3 – Considerações finais

A espécie *Brachiaria brizantha* apresentou resposta positiva apenas ao tratamento com ácido sulfúrico onde este aumentou significativamente a germinação e a velocidade de germinação desta espécie, porém não ocorreu significância em relação ao tempo de tratamento, embora tenha ocorrido, em valores absolutos, tendência de respostas superiores com a utilização de 10 minutos. O armazenamento das sementes tratadas com ácido sulfúrico não foi diferente do armazenamento das sementes intactas. O armazenamento de *B. brizantha* contribui para diminuição da dormência, porém após certo tempo de armazenamento, que variou entre os lotes, começou a ocorrer diminuição do potencial fisiológico com reflexos diretos na germinação e velocidade de germinação. Mesmo após a verificação de diminuição no potencial fisiológico do lote, ainda houve resposta positiva ao tratamento com ácido sulfúrico concentrado. Os outros tratamentos (ácido giberélico e nitrato de potássio) não foram efetivos para aumentar a germinação ou sua velocidade.

A *Brachiaria humidicola* mostrou resposta negativa ao tratamento com ácido sulfúrico em todas as avaliações utilizando armazenamento de sementes intactas. Resultado positivo ao tratamento com ácido giberélico foi observado após o armazenamento, tanto das sementes intactas quanto das sementes tratadas. O tratamento com nitrato de potássio foi inconstante, apresentando sinergismo com ácido giberélico após o armazenamento das sementes intactas. O armazenamento das sementes intactas mostrou pouco efeito em aliviar a dormência, enquanto o armazenamento das sementes tratadas, ou não foi diferente do armazenamento das sementes intactas, ou mostrou efetividade (ácido sulfúrico por 5 e 10 minutos) para o lote 4.

Os resultados de atividade de peroxidase, principalmente para sementes embebidas, juntamente com os resultados de lixiviação de potássio indicaram que a superação da dormência, observada através de maior

germinação, somente foi possível quando as sementes apresentaram indicações bioquímicas de maior deterioração, como pequena ativação de peroxidase com a embebição acompanhada de maior lixiviação de potássio.

5 - CONCLUSÕES

As sementes de *Brachiaria brizantha* respondem favoravelmente ao tratamento com ácido sulfúrico para superação de dormência, principalmente por 10 minutos, mesmo durante o armazenamento, sendo este útil para avaliação da germinação, em análises de sementes, ou em larga escala pela indústria de sementes, enquanto que, sementes de *Brachiaria humidicola* não devem ser tratadas com ácido sulfúrico.

Sementes escarificadas com ácido sulfúrico podem ser armazenadas, por oito meses à 25°C, sem redução da germinação e da velocidade de germinação, não diferindo, neste período, do armazenamento das sementes intactas.

O teste de lixiviação de potássio e as determinações de atividades enzimáticas, em sementes hidratadas, são importantes alternativas para avaliação do potencial fisiológico das sementes e do tratamento para superação de dormência com ácido sulfúrico.

6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADKINS, S.W.; SIMPSON, G.M. The physiological basis of seed dormancy in *Avena fatua*. IX. Characterisation of two distinct dormancy systems. **Physiologia Plantarum**, v.73, p.15-20, 1988.
- ALVARADO, A. D.; BRADFORD, K. J. Priming and storage of tomato (*Lycopersicon esculentum*) seeds. I Effects of storage temperature on germination rate and viability. **Seed Science and Technology**, v. 16, n. 3, p.601-612, 1988.
- ATALLA, A. M. P.; TOSELLO, J. Observações sobre dormência em duas espécies de *Brachiaria*: *B. decumbens* e *B. humidicola* em condições de laboratório. **Científica**, v. 7, n. 3, p. 353-355, 1979.
- BARBOSA, J. M.; SILVA, T. S. da; BARBOSA, L. M.; BARBEDO, C. J.; SANTOS, M. R. O. Germinação e emergência de plântulas de gramíneas (Poaceae) invasoras: *Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc. e *Eleusine indica* (L.) Gaertn. **Ecossistema**, v. 20, p. 10-18, 1995.
- BASAVARAJAPPA, B. S.; SHETTY, H. S.; PRAKASH, H. S. Membrane deterioration and other biochemical changes, associated with accelerated ageing of maize seeds. **Seed Science and Technology**, v. 19, n. 2, p. 279-286, 1991.
- BASRA, A. S.; SINGH, B.; MALIK, C. P. Amelioration of the effects of ageing in anion seeds by osmotic priming and associated changes in oxidative metabolism. **Biologia Plantarum**, v. 36, n. 3, p. 365-371, 1994.
- BEGNAMI, C. N.; CORTELAZZO, A. L. Cellular alterations during accelerated aging of French bean seeds. **Seed Science and Technology**, v. 24, n. 2, p. 295-303, 1996.
- BERJAK, P.; VILLIERS, T. A. Ageing in plant embryos. III. Acceleration of senescence following artificial ageing treatment. **New Phytology**, v. 71, p. 513-518, 1972b.

- BERJAK, P.; VILLIERS, T. A. Ageing in plant embryos. II. Age-induced damage and its repair during early germination. **New Phytology**, v. 71, p. 135-144, 1972a.
- BEVILAQUA, G. A. P.; PESKE, S. T.; SANTOS FILHO, B. G.; BAUDET, L. M. L. Desempenho de sementes de arroz irrigado tratadas com regulador de crescimento. I. Efeito na emergência em campo. **Revista Brasileira de Sementes**, v.15, n.1, p.67-74, 1993a.
- BEVILAQUA, G. A. P.; PESKE, S. T.; SANTOS FILHO, B. G.; BAUDET, L. M. L. Desempenho de sementes de arroz irrigado tratadas com regulador de crescimento. II. Efeito na germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, v.15, n.1, p.75-80, 1993b.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: Physiology of development and germination**. New York : Plenum Press, 1994. 445p.
- BHATTACHARJEE, S.; MUKHERJEE, A. K. The deleterious effects of high temperature during early germination on membrane integrity and subsequent germination of *Amaranthus lividus*. **Seed Science and Technology**, v. 26, n. 1, p. 1-8, 1998.
- BIANCO, J.; GARELLO, G.; PAGE-DEGIVRY, M. T. le. Release of dormancy in sunflower embryos by dry storage: involvement of gibberelins and abscisic acid. **Seed Science Research**, v. 4, n. 2, p. 57-62, 1994.
- BRADFORD, K. J.; TREWAVAS, A. J. Sensitivity thresholds and variable time scales in plant hormone action. **Plant Physiology**, v. 105, p. 1029-1036, 1994.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of micrograms of protein utilizing the principle of protein dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248 - 254, 1976.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. 365 p.
- BROWN, J. H.; CHAMBERS, J. A.; GHOSH, S.; FROESE, C. D.; HUFF, A. M.;

- THOMPSON, J. E. Phospholipid metabolism in membranes of senescing bean cotyledons. **Journal of Experimental Botany**, v. 45, n. 280, p. 1513-1522, 1994.
- BRUGGINK, H.; KRAAK, H. L.; DIJKEMA, M. H. G. E.; BEKENDAM, J. Some factors influencing electrolyte leakage from maize (*Zea mays* L.) kernels. **Seed Science Research**, v. 1, n. 1, p. 15-20, 1991.
- BRYANT, J. A. **Fisiologia da Semente**. São Paulo : EPU, 1989. 86p. (Série Temas de Biologia, 31).
- BUSH, D. S.; BISWAS, A. K.; JONES, R. L. Gibberelic acid stimulated Ca^{2+} accumulation in endoplasmic reticulum of barley aleurone: Ca^{2+} transport and steady state levels. **Planta**, v. 178, p 411-420, 1989a.
- BUSH, D. S.; STICHER, L.; van HUYSTEE, R. B.; WAGNER, D.; JONES, R. L. The calcium requirement for stability and enzymatic activity of two isoforms of barley aleurone α -amylase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 264, p.19392-19398, 1989b.
- CARDOSO, V. J. M. Germinação e desenvolvimento inicial de algumas espécies invasoras de culturas em diferentes tipos de solo. **Naturalia**, v. 22, p. 61-74, 1997.
- CARDOZO, C. I., SÁNCHEZ, M. e FERGUSON, J. E. Efecto del método de casecha en el rendimiento y calidad de las semillas de *Brachiaria dictyoneura* cv. 'Llanero'. **Pasturas tropicales**, v. 13, n. 1, p. 9-17, 1991.
- CARMO, M. A. do; NASCIMENTO Jr., D. do; MANTORANI, E. A. Efecto de la fertilización nitrogenada y la época de cosecha en la producción y la calidad de semillas de *Brachiaria decumbens*. **Pasturas tropicales**, v. 10, n. 2, p. 19-22, 1988.
- CARNEIRO, J. W. P. Influência da temperatura na porcentagem de germinação de sementes de *Brachiaria brizantha* Stapf, cv. 'Marandu'. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 16, n. 2, p. 183-186, 1994.
- CARVALHO, N. M de; NAKAGAWA, J. **Sementes** : Ciência, Tecnologia e

- Produção. 4ª Edição. Jaboticabal :Funep, 2000. 588p.
- CARVALHO, N. M. de O conceito de vigor em sementes. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. de **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 1-30.
- CASTRO, C. R. T. de; CARVALHO, W. L. de; REIS, F. P. Influência do tratamento com ácido sulfúrico na germinação de sementes de *Brachiaria brizantha* Stapf. **Revista Ceres**, v. 41, n. 236, p. 451-458, 1994a.
- CASTRO, C. R. T. de; CARVALHO, W. L. de; REIS, F. P.; BRAGA FILHO, J. M. Superação da dormência tegumentar em sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. **Revista Ceres**, v. 43, n. 245, p. 65-75, 1996.
- CASTRO, R. D. de; VIEIRA, M. das G. G. C.; CARVALHO, M. L. M. Influência de métodos e épocas de colheita sobre a produção e qualidade de sementes de *Brachiaria decumbens* cv. 'Basilisk'. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 16, n. 1, p. 6-11, 1994b.
- CASTRO, R. T. de; ALVARENGA, E. M. Impermeabilidade a gases como fator de dormência em sementes de gramíneas: um destaque para as forrageiras. **Informativo ABRATES**, v. 6, n. 1, p. 28-34, 1996.
- CHING, T. M. Biochemical aspects of seed vigor. **Seed Science and Technology**, v.1, n. 1, p. 73-88, 1973.
- COHN, M. A. Chemical mechanisms of breaking seed dormancy. **Seed Science Research**, v. 6, p. 95-99, 1996.
- COIN, A.; VAISSIERE, L.; NOIROT, M.; CHARRIER, A.; HAMON, S. Effets compares du vieillissement naturel et accelere sur les semences d'orge (*Hordeum vulgare* L.). **Seed Science and Technology**, v. 23, n. 3, p. 673-688, 1995.
- CUMING, A. C.; OSBORNE, D. J. Membrane turnover in imbibed and dormant embryos of the wild oat (*Avena fatua* L.). 1. Protein turnover and membrane replacement. **Planta**, v. 139, p. 209-217, 1978a.
- CUMING, A. C.; OSBORNE, D. J. Membrane turnover in imbibed and dormant

- embryos of the wild oat (*Avena fatua* L.). 2. Phospholipid turnover and membrane replacement. **Planta**, v. 139, p. 219-226, 1978b.
- CUSTÓDIO, C. C.; MARCOS FILHO, J. Potassium leachete test for the evaluation of soybean seed physiological quality. **Seed Science and Technology**, v. 25, n. 3, p. 549-564, 1997.
- DELL'AQUILA, A. Wheat seed ageing and embryo protein degradation. **Seed Science Research**, v. 4, p. 293-298, 1994.
- DELL'AQUILA, A.; TRITTO, V. Germination and biochemical activities in wheat seeds following delayed harvesting, ageing and osmotic priming. **Seed Science and Technology**, n. 19, n. 1, p.73-82, 1991.
- DIAS, D. C. F. S.; MARCOS FILHO, J.; CARMELLO, Q. A. C. Potassium leaching test for the evaluation of vigor in soybean seeds. **Seed Science and Tecnology**, v. 25, p. 7-28, 1996.
- DIAS, D. C. F. S.; TOLEDO, F. F. de. Germinação e incidência de fungos em testes com sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf, colhidas em 1988. **Revista de Agricultura**, v. 69, n. 1, p. 28-40, 1994.
- DIAS, D. C. F. S.; TOLEDO, F. F. de. Germinação e incidência de fungos em testes com sementes de *Brachiaria brizantha* Stapf. **Scientia Agricola**, v. 50, n. 1, p. 68-76, 1993a.
- DIAS, D. C. F. S.; TOLEDO, F. F. de. Germinação e incidência de fungos em testes com sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 15, n. 1, p.81-86, 1993b.
- DUBERT, F.; MARCINSKA, I.; BIESAGA KOSCIELNIAK, J.; SZMIDER, I. The effectiveness of vernalization of immature embryos of winter wheat var. Grana as related to age and exogenous phytohormones. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.171, n.4, p.234-242, 1993.
- ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, E. H. Procedures for the self removal of dormancy from rice seed. **Seed Science and Technology**, v.11, n.1, p.77-112, 1983.

- FARIA, J.; GARCIA-AGUILAR, L.; GONZALEZ, B. Efecto de métodos químicos de escarificación sobre la germinación de seis gramíneas forrajeras tropicales. **Revista de la Faculdade Agronomia**, Universidad del Zulia, v. 13, n. 4, p. 387-393, 1996.
- FINCHER, G.B. Molecular and cellular biology associated with endosperm mobilization in germinating cereal grains. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 40, p. 305-346, 1989.
- FLORES, V. Z. Efecto del almacenamiento sobre la calidad de semillas de *Brachiaria dictyoneura*. **Zootecnia Tropical**, v. 14, n. 2, p. 113-131, 1996.
- FOLEY, M. E. ; NICHOLS, M. B.; MYERS, S. P. Carbohydrate concentrations and interactions in afterripening - responsive dormant *Avena fatua* caryopses induced to germinate by gibberellic acid. **Seed Science Research**, v. 3, n. 4, p. 271-278, 1993.
- FREITAS, R. R. de; CARVALHO, D. A. de; ALVARENGA, A. A. de. Quebra de dormência e germinação de sementes de capim-marmelada (*Brachiaria plantaginea* (Link)). **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 2, n. 2, p. 31-35, 1990.
- GANGULI, S.; SEN-MANDI, S. Effects of ageing on amylase activity and scutellar cell structure during imbibition in wheat seed. **Annals of Botany**, v. 71, p. 411-416, 1993.
- GARCIA, J.; CICERO, S. M. Superação de dormência em sementes de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. **Scientia Agricola**, v.49, n.1, p.9-13, 1992.
- GILL, N. S.; DELOUCHE, J. C. Deterioration of seed corn during storage. **Proc. Assoc. of Off. Seed Anal.**, v. , n. 1, p. 33-50, 1973.
- GOEDERT, C. O. **Seed dormancy of tropical forage grasses and implications for the conservation of genetic resources**. Reading, 1984. 190p. (Tese Doutorado) - University of Reading.
- GOEDERT, C. O.; ROBERTS, E. H. Characterization of alternating -

- temperature regimes that remove seed dormancy in seeds of *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweickhardt. **Plant, Cell and Environment**, v. 7, n. 7, p. 521-525, 1986.
- GONZALEZ, Y.; MENDOZA, F.; TORRES, R. Efecto del almacenamiento y la variación de temperatura sobre las semillas de *Brachiaria decumbens* cv. 'Basilisk'. **Pastos y Forrajes**, v. 16, n. 2, p. 155-165, 1993.
- GONZALEZ, Y.; MENDOZA, F.; TORRES, R. Efecto del almacenamiento y la escarificación química y mecánica sobre las semillas de *Brachiaria decumbens* cv. 'Basilisk'. **Pastos y Forrajes**, v. 17, n. 1, p. 35-43, 1994.
- GRANQVIST, G. A. Leakage of cations from a canot seed lot. **Acta Horticultural**, v. 215, p. 219-224, 1987.
- HARMAN, G. E.; MATTICK, L. R. Association of lipid oxidation with seed ageing and death. **Nature**, v. 260, n. 5549, p. 323-324, 1976.
- HERRERA, J. Efecto de algunos tratamientos para interrumpir el reposo en semillas de pastos.II. *Brachiaria decumbens*. **Agronomía Costarricense**, v. 18, n. 1, p. 75-85, 1994.
- HERRERA, J. La germinación en semilla del pasto *Brachiaria dictyoneura* expuesta a diferentes tiempos de escarificación mecánica y temperaturas. **Tecnología en Marcha**, v. 13, n. 1, p. 49-54, 1997.
- HILHORST, H. W. M ; KARSEN, C. M. Seed dormancy and germination: the role of abscisic acid and gibberelins and the importance of hormone mutants. **Plant Growth Regulation**, v.11, p. 225-28, 1992.
- HILHORST, H. W. M. A critical update on seed dormancy. I. Primary dormancy. **Seed Science Research**, v.5, n.2, p.61-73, 1995.
- HOPKINSON, J. M.; ENGLISH, B. H.; HARTY, R. L. Effects of different drying patterns on quality of seed of some tropical pasture grasses. **Seed Science and Technology**, v. 16, n. 2, p. 361-369, 1988.
- HOPKINSON, J. M.; SOUZA, F. H. D. de; DIULGHEROFF, S.; ORTIZ, A.; SÁNCHEZ, M. Reproductive physiology, seed production, and seed

- quality of *Brachiaria*. In: MILES, J. W., MAASS, B. L.; VALLE, C. B. do. ***Brachiaria*: biology, agronomy, and improvement.** (Ed.) Cali : CIAT - EMBRAPA/CNPQC, 1996. p.124-140.
- HOU, J. Q.; SIMPSON, G. M. Germination response to phytochrome depends on specific dormancy states in wild oat (*Avena fatua*). **Canadian Journal of Botany**, n. 71, p. 1528-1532, 1993.
- JONES, R. L.; BUSH, D. S. Gibberellic acid regulates the level of BiP cognate in the endoplasmic reticulum of barley aleurone cells. **Plant Physiology**, v. 97, p. 456-459, 1991.
- JONES, R. L.; JACOBSEN, J. V. Calcium regulation of the secretion of α -amylase isoenzymes and other proteins from barley aleurone layers. **Planta**, v.158, p.1-9, 1983.
- LANCE, C. Sur la détermination de l'activité peroxydase des extracts bruts de tissus végétaux. **Revue General du Botanique**, n.62, p.609-621, 1955.
- LEE, C.K.; KARUNANITHY, R. Effects of germination on the chemical composition of *Glycine* and *Phaseolus* beans. **Journal of Science Food Agriculture**, v. 51, n. 4, p. 437-445, 1990.
- LENTON, J. R.; APPLEFORD, N. E. J.; CROKER, S. J. Gibberelins and alpha-amylase gene expression in germinating wheat grains. **Plant Growth Regulation**, v. 15, n.3, p. 261-270, 1994.
- LIMA, V. L. de; CARDOSO, V. J. M. On the germination and dormancy of dispersal units of *Brachiaria decumbens* Stapf. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 39, n. 3, p. 595-606, 1996.
- LIN, S. S. Alterações na lixiviação eletrolítica, germinação e vigor da semente de feijão envelhecida sob alta umidade relativa do ar e alta temperatura. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 2, n. 2, p. 1-6, 1990.
- LIU, Y.; BINO, R. J.; van der BURG, W. J.; GROOT, S. P. C.; HILHORST, H. W. M. Effects of osmotic priming on dormancy and storability of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seeds. **Seed Science Research**, v. 6, n.

- 2, p. 49-55, 1996.
- LOEFFLER, T. M.; TEKRONY, D. M.; EGLI, D. B. The bulk conductivity test as an indicator of soybean seed quality. **Journal of Seed Technology**, v. 12, n. 1, p. 37-53, 1988.
- LOOMIS, E. L.; SMITH, O. E. The effect of artificial ageing on the concentration of Ca, Mg, Mn, K, and Cl in imbibing cabbage seed. **Journal of American Society of Horticultural Science**, v. 105, n. 5, p. 647-650, 1980.
- LOTT, J. N. A.; CAVDEK, V.; CARSON, J. Leakage of K, Mg, Cl, Ca and Mn from imbibing seeds, grains and isolated seed parts. **Seed Science Research**, v. 1, n. 1, p. 229-233, 1991.
- MACEDO, E. C.; GROTH, D.; LAGO, A. A. do. Efeito de escarificação com ácido sulfúrico na germinação de sementes de *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 29, n. 3, p. 455-460, 1994.
- MADHUSUDANAN, K. N.; JOHNSON, K. M. Solute leakage from Winged Bean (*Psophocarpus tetragonolobus*) seeds. **Seed Science and Technology**, v. 18, n.1, p. 157-162, 1990.
- MAGALHAES, P. M. de; GROTH, D. Efeito de diversos processos de secagem sobre a qualidade fisiologica da semente de *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 14, n. 2, p. 195-200, 1992.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination - aid in selection and evaluation for seedling and vigour. **Crop Science**, Madison. v.2, n.2, p.176-177, 1962.
- MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. de B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. (Ed.). Londrina: ABRATES, 1999. p. 3-1 - 3-24.
- MARCOS FILHO, J.; SILVA, W.R. da; NOVENBRE, A.D.C.; CHAMMA, H.M.C.P. Estudo comparativo de métodos para avaliação da qualidade fisiológica de

- sementes de soja, com ênfase ao teste de condutividade elétrica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 25, n. 12, p. 1805-1815, 1990.
- MARSHALL, C.; GRACE, J. **Fruit and Seed Production**: Aspects of development, environmental physiology and ecology. Cambridge : Cambridge University Press, 1992. 256p.
- MARTINS, L.; LAGO, A. A. do; GROTH, D. Valor cultural de sementes de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. rich) Stapf durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 20, n. 1, p. 60-64, 1998.
- MARTINS, L.; LAGO, A. A. Germinação e viabilidade de sementes de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. rich) Stapf durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 18, n. 2, p. 262-266, 1996.
- MATTHEWS, S. Physiology of seed ageing. **Outlook on Agriculture**, v. 14, n. 2, p. 89-94, 1985.
- MATTHEWS, S.; ROGERSON, N. E. The influence of embryo condition on the leaching of solutes from pea seeds. **Journal of Experimental Botany**, v. 27, n. 100, p. 961-968, 1976.
- MCCARTY, D. R. Genetic control and integration of maturation and germination pathways in seed development. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 46, p. 71-93, 1995.
- MCDONALD Jr., M. B.; SULLIVAN, J.; AUER, M. J. I. The pathway of water uptake in maize seeds. **Seed Science and Technology**, v. 22, p. 79-90, 1994.
- McKERSIE, B. D.; STINSON, R. H. Effect of dehydration on leakage and membrane structure in *Lotus corniculatus* L. seeds. **Plant Physiology**, v. 66, n. 1, p. 316-320, 1980.
- MILES, J. W., MAASS, B. L.; VALLE, C. B. do. **Brachiaria**: biology, agronomy, and improvement. (Ed.) Cali : CIAT - EMBRAPA/CNPQC, 1996. 288p.
- MISRA, S. Conifer zygotic embryogenesis, somatic embryogenesis, end seed germination: biochemical and molecular advances. **Seed Science**

- Research**, v. 4, n. 4, p. 357-384, 1994.
- NANDI, S.; DAS, G.; SEN-MANDI, S. Beta-Amylase activity as an index for germination potential in rice. **Annals of Botany**, v. 75, n. 5, p. 463-467, 1995.
- NANDI, S.; SEN-MANDI, S.; SINHA, T. P. Active oxygen and their scavengers in rice seeds (*Oryza sativa* cv. IET 4094) aged under tropical environmental conditions. **Seed Science and Technology**, v. 25, n. 3, p. 253-259, 1997.
- OHLROGGE, J. B.; KERNAN, T. P. Oxygen-dependent aging of seeds. **Plant Physiology**, v. 70, n. 3, p. 791-796, 1982.
- OLIVEIRA, P. R. P. de; MASTROCOLA, M. A. *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweickhardt: viabilidade de suas sementes. **Boletim de Industria Animal**, v. 40, n. 1, p. 49-53, 1983.
- OLIVEIRA, P. R. P. de; MASTROCOLA, M. A. Longevidade das sementes de gramineas forrageiras tropicais. **Boletim de Industria Animal**, v. 41, n. 1, p. 203-211, 1984.
- OSBORNE, D. J. Biochemical control systems operating in the early hours of germination. **Canadian Journal of Botany**, v. 61, p. 3568-3577, 1983.
- PANDEY, D.K. Priming induced alleviation of the effects of natural ageing derived selective leakage of constituents in French bean seeds. **Seed Science and Technology**, n. 17, n. 2, p. 391-397, 1989.
- PARRISH, D. J.; LEOPOLD, A. C. On the mechanism of aging in soybean seeds. **Plant Physiology**, v. 61, n. 3, p. 365-368, 1978.
- PEARCE, R. S.; ABDEL SAMAD, I. M. Change in fatty acid content of polar lipids during ageing of seeds of peanut (*Arachis hypogaea* L.). **Journal of Experimental Botany**, v. 31, n. 124, p. 1283-1290, 1980.
- POWELL, A. A. Cell membranes and seed leachate conductivity in relation to the quality of seed for sowing. **Journal of Seed Technology**, v. 10, n. 2, p. 81-100, 1986.

- POWELL, A. A.; MATTHEWS, S. Association of phospholipid changes with early stages of seed ageing. **Annals of Botany**, v. 47, n. 5, p. 709-712, 1981.
- POWELL, A. A.; MATTHEWS, S. The damaging effect of water on dry pea embryos during imbibition. **Journal of Experimental Botany**, v. 29, n. 112, p. 1215-1229, 1978.
- POWELL, A. A.; MATTHEWS, S. The influence of testa condition on the imbibition and vigour of pea seeds. **Journal of Experimental Botany**, v. 30, n. 114, p. 193-197, 1979.
- PREVIERO, C. A.; GROTH, D.; RAZERA, L. F. Dormência de sementes de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf armazenadas com diferentes teores de água em dois tipos de embalagens. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 20, n. 2, p. 392-397, 1998a.
- PREVIERO, C. A.; GROTH, D.; RAZERA, L. F. Secagem ao sol e qualidade fisiológica de sementes de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 20, n. 2, p. 296-300, 1998b.
- PRIESTLEY, D. A. WERNER, B. G.; LEOPOLD, A. C.; McBRIDE, M. B. Organic free radical levels in seeds and pollen: the effects of hydration and aging. **Physiology of Plant**, v. 64, n. 1, p. 88-94, 1985.
- PRIESTLEY, D. A.; LEOPOLD, A. C. Lipid changes during natural aging of soybean seeds. **Physiology of Plant**, v. 59, p. 467-470, 1983.
- PRIESTLEY, D. A.; McBRIDE, M. B.; LEOPOLD, A. C. Tocopherol and organic free radical levels in soybean seeds during natural and accelerated aging. **Plant Physiology**, v. 66, n. 2, p. 715-719, 1980.
- RAO, I. M.; KERRIDGE, P. C.; MACEDO, M. C. M. Nutritional requirements of *Brachiaria* and adaptation to acid soils. In: MILES, J. W., MAASS, B. L.; VALLE, C. B. do. **Brachiaria: biology, agronomy, and improvement**. (Ed.) Cali: CIAT - EMBRAPA/CNPQC, 1996. p. 53-71.
- RENARD, C.; CAPELLE, P. Seed germination in Ruzizi grass (*Brachiaria ruziziensis* Germain & Evrard). **Australian Journal of Botany**, v. 24, n. 4,

- p. 437-446, 1976.
- RICHA; SHARMA, M.L. Enhancing the germination of stored seeds using plant growth regulators. **Seed Science and Technology**, v.22, n.2, p.313-317, 1994.
- RIVERO, M. L.; ESPINOSA, J. Duración de la latencia en semillas de *Brachiaria decumbens*. **Pasturas Tropicales**, v. 10, n. 1, p. 20-23, 1988.
- ROBERTS, E. H. Quantifying seed deterioration. In: McDONALD Jr., M. B. e NELSON, C. J. **Fisiology of seed deterioration**. (ed.). Madison : CSSA, 1986. p. 101-123.
- ROBERTS, E.H. Physiology of ageing and its application to drying and storage. **Seed Science and Technology**, v. 9, n. 2, p. 359-372, 1981.
- RODRIGUES, J. D.; DELACHIAVE, M.H.A.; RODRIGUES, S.D.; PEDRAS, J. F.; GAETI, O. B. N. Efeitos de diferentes métodos para a quebra da dormência em sementes de *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweickhardt. **Científica**, v. 14, n. 1/2, p. 65-72, 1986.
- RUIZ, R. R.; SÁNCHEZ, O. M. S.; KELLER-GREIN, G. Rendimiento y calidad fisiologica de la semilla de *Brachiaria* spp. en los Llanos colombianos. **Acta Agronomica**, v. 46, n. 1/4, p. 23-29, 1996.
- SANTOS FILHO, L. F. Seed Production: perspective from the brasilian private sector. In: MILES, J. W., MAASS, B. L.; VALLE, C. B. do. **Brachiaria: biology, agronomy, and improvement**. (Ed.) Cali : CIAT - EMBRAPA/CNPQC, 1996. p.141-146.
- SANWO, M. M.; DeMASON, D. A. Gibberelic acid (GA₃) induced enhancement of α -amylase activity in the aleurone of *Shrunken-2* maize kernels. **American Journal of Botany**, v.81, n.8, 9. 987-996, 1994.
- SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba, ESALQ, 1974. 55p.
- SCHOETTLE, A. W.; LEOPOLD, A. C. Solute leakage from artifially aged soybean seeds after imbibition. **Crop Science**, v. 24, n. 5, p. 835-838, 1984.

- SHATTERS Jr., R. G.; ABDELGHANY, A.; ELBAGOURY, O.; WEST, S. H. Soybean seed deterioration and response to osmotic priming: changes in specific enzyme activities in extracts from dry and germinating seeds. . **Seed Science Research**, v. 4, p. 33-41, 1994.
- SHEPHARD, H. L.; NAYLOR, R. E. L.; STUCHBURY, T. the influence of seed maturity at harvest and drying method on the embryo, alpha-amylase activity and seed vigour in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). **Seed Science and Technology**, v. 24, n. 2, p. 245-259, 1996.
- SIMON, E. W.; MATHAVAN, S. The time-course of leakage from imbibing seeds of different species. **Seed Science and Technololy**, v. 14, n. 1, p. 9-13, 1986.
- SIMPSON, G. M. **Seed dormancy in grasses**. Cambridge: Cambridge Universty Press, 1990. 297p.
- SINGH, B.; AMRITPHALE, D. Effects of dry permeated gibberellic acid and benzyladenine on germinability of soybean seeds during storage. **Seed Science and Technology**, v. 21, n. 1, p. 351-357, 1993.
- SOUZA, F. H. D. de. As sementes de espécies forrageiras do gênero *Brachiaria* no Brasil Central. In: PAULINO, V. T.; PEDREIRA, J. V. S.; CAMARGO, D. F. V.; MEIRELLES, N. M. F.; BIANCHINI, D.; OLIVEIRA, P. R. P. **2º Encontro para discussão sobre capins do gênero *Brachiaria***. (ed.). Nova Odessa : IZ - FAPESP, 1991. p.137-185.
- STEWART, R. R. C.; BEWLEY, J. D. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. **Plant Physiology**, v. 65, n. 2, p. 245-248, 1980.
- SUN, W. Q.; LEOPOLD, A. C. Glassy state and seed storage stability: a viability equation analysis. **Annals of Botany**, v. 74, p. 601-604, 1994.
- SUN, W. Q.; LEOPOLD, A. C. The glassy state and accelerated aging of soybeans. **Physiologia Plantarum**, v. 89, p. 767-774, 1993.
- SUNG, F. J. M.; CHANG, Y. H. Biochemical activities associated with priming

- of sweet corn seeds to improve vigor. **Seed Science and Technology**, v. 21, n. 1, p.97-105, 1993.
- SWAMY, P. M.; NARASIMHA REDDY, S. B. Changes in the leakage of electrolytes from groundnut seeds (*Arachis hypogaea*) during after-ripening. **Seed Science and Technology**, v. 5, n. 4, p. 645-648, 1977.
- THOMAS, D.; GROF, B. Some pasture species for the tropical savanas of South America. III. *Andropogon gayanus*, *Brachiaria* spp. and *Panicum maximum*. **Herbage Abstracts**, v. 56, p. 557-565, 1986.
- TOLEDO, F. F.; CARVALHO, C. S. Quantity of potassium nitrate solution and germination of *Brachiaria* seeds. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 65, n. 2, p. 125-132, 1990.
- TRACY, W. F.; JUVIK, J. A. Electrolyte leakage and seed quality on a shrunken-2 maize selected for improved field emergence. **Horticultural Science**, v. 23, n. 2, p. 391-392, 1988.
- VERA, R. R.; THOMAS, R.; SANINT, L.; SANZ, J. I. Development of sustainable ley-farming systems for the acid-soil savannas in tropical America. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, v. 64 (Suppl. 1), p.105-125, 1992.
- VIEIRA, H. D. ; SILVA, R. F. da; BARROS, R. S. Efeito de substâncias reguladoras de crescimento sobre a germinação de sementes de braquiara cv. 'Marandu'. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 10, n. 2, p. 143-148, 1998a.
- VIEIRA, H. D.; SILVA, R. F. da; BARROS, R. S. Efeito de diferentes temperaturas sobre a dormência fisiológica de sementes de braquiara (*Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 20, n. 2, p. 322-326, 1998b.
- VIEIRA, H. D.; SILVA, R. F. da; BARROS, R. S. Superação da dormência de sementes de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex. A. Rich) Stapf cv. 'Marandu' submetidas ao nitrato de potássio, hipoclorito de sódio, tiouréia e etanol. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 20, n. 2, p. 282-285,

1998c.

- VLEESHOUWERS, L. M.; BOUWMEESTER, H. J.; KARSSSEN, C. M. Redefining seed dormancy: an attempt to integrate physiology and ecology. **Journal of Ecology**, v. 83, p. 1031-1037, 1995.
- VOLL, E.; GAZZIERO, D. L. P.; QUINA, E.; KRZYZANOWSKI, F. C. Avaliação fisiológica de sementes de *Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc. com procedimentos da superação de dormência. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 18, n. 2, p. 186-192, 1996.
- VOLL, E.; GAZZIERO, D. L. P.; QUINA, E.; KRZYZANOWSKI, F. C. Embebição e germinação de sementes de capim-marmelada (*Brachiaria plantaginea* (Link) Hitchc.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 19, n. 1, p. 58-61, 1997.
- WAKABAYASHI, K.; SAKURAI, N.; KURAISHI, S. Effects of abscisic acid on synthesis of cell wall polysaccharides in segments of etiolated squash hypocotil. II. Levels of UDP-neural sugars. **Plant Cell Physiology**, v. 32, p. 427-432, 1991.
- WANN, E. V. Leaching of metabolites during imbibition of sweet corn seed of different endosperm genotypes. **Crop Science**, v. 26, n. 4, p. 731-733, 1986.
- WEGES, R.; KARSSSEN, C. M. The influence of redesciccation on dormancy and K⁺ leakage of primed lettuce seeds. **Israel Journal of Botany**, v. 39, n. 4-6, p. 327-336, 1990.
- WILSON Jr., D. O.; McDONALD Jr., M. B. The lipid peroxidation model of seed ageing. **Seed Science and Technology**, v. 14, n. 2, p. 269-300, 1986.
- WOOD, I.M. Response of seedlings of soybean, sunflower and sorghum to added mineral nutrients. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 30, n. 6, p. 833-839, 1990.
- WOODSTOCK, L. W.; FURMAN, K.; LEFFLER, H. R. Relationship between weathering deterioration and germination, respiratory metabolism, and

mineral leaching from cottonseeds. **Crop Science**, v. 25, n. 3, p. 459-466, 1985.

WOODSTOCK, L.W. Seed imbibition: a critical period for successful germination. **Journal of Seed Technology**, v. 12, n. 1, p. 1-15, 1988.

ZENG, X. Y.; CHEN, R. Z.; FU, J.R.; ZHANG, X. W. The effects of water content during storage on physiological activity of cucumber seeds. **Seed Science Research**, v. 8, n. 1, p. 65-68, 1998.