

Influência da temperatura na superação de dormência e germinação de *Brachiaria*
Influence of temperature on breaking dormancy and germination of *Brachiaria*
Influencia de la temperatura en la ruptura de la latencia y la germinación de *Brachiaria*

Recebido: 19/12/2020 | Revisado: 26/12/2020 | Aceito: 26/12/2020 | Publicado: 28/12/2020

Renato Fernando Menegazzo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1597-4580>

Universidade Paranaense, Brasil

E-mail: renato.menegazzo@edu.unipar.br

André Werlang Menegazzo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0380-1017>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: werlangandre30@gmail.com

João Paulo Francisco

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7173-4461>

Universidade Estadual de Maringá, Brasil

E-mail: jpfrancisco2@uem.br

Ana Daniela Lopes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2027-5741>

Universidade Paranaense, Brasil

E-mail: anadanielalopes@prof.unipar.br

Resumo

As Regras de Análise de Sementes (RAS) recomendam uma escarificação com ácido sulfúrico e umedecimento do substrato com nitrato de potássio a 0,2% para a superação de dormência de *Brachiaria* e sua germinação. Este trabalho teve como objetivo avaliar o emprego de metodologia alternativa aos tratamentos recomendados pela RAS por resfriamento das sementes a 4°C e imersão em água destilada à temperatura ambiente e ao nitrato de sódio 0,2%, por duas horas, para a superação de dormência e germinação de *B. decumbens* Stapf cv. Basilisk e *B. brizantha* (Hochst. Ex. A. Rich.) Stapf cv. Marandu e cv. Piatã. Para tanto, foi estruturado Delineamento Inteiramente Casualizado 3×2×2, em caixas gerbox, para comparar os percentuais de germinação de sementes mantidas em temperatura ambiente e embebidas em H₂O e em H₂O + NaNO₃ com sementes refrigeradas e embebidas em H₂O e em H₂O + NaNO₃.

Também foi estruturado DIC em rolo, para, além do PG (%), avaliar comprimento da parte aérea (cm) e de raiz (cm) e massa fresca total (g). Foram, ainda, realizados testes de tetrazólio e índice de velocidade de germinação. Os resultados foram submetidos ao teste de Tukey ($p \leq 0,05$). A porcentagem de germinação avaliada aos 14 dias foi afetada pelas cultivares e temperatura, sendo que as sementes refrigeradas a 4°C superaram as mantidas em temperatura ambiente (aumento de 220%). Não houve diferença significativa para o fator de embebição em H₂O ou H₂O + NaNO₃.

Palavras-chave: Sementes; Metodologia alternativa; Basilisk; Marandu; Piatã.

Abstract

The Seed Analysis Rules (SAR) recommend scarification with sulfuric acid and moistening of the substrate with 0.2% potassium nitrate to break the dormancy of *Brachiaria* and its germination. This work aimed to evaluate the use of an alternative methodology to the treatments recommended by RAS by cooling the seeds to 4 ° C and immersion in distilled water at room temperature and 0.2% sodium nitrate for two hours, to break down dormancy and germination of *B. decumbens* Stapf cv. Basilisk and *B. brizantha* (Hochst. Ex. A. Rich.) Stapf cv. Marandu and cv. Piatã. For this purpose, a 3 × 2 × 2 Fully Randomized Design was structured in gerbox to compare the germination percentages of seeds kept at room temperature and soaked in H₂O and H₂O + NaNO₃ with chilled seeds and soaked in H₂O and H₂O + NaNO₃. DIC was also structured in a roll, in addition to the PG (%), to evaluate the length of the aerial part (cm) and root (cm) and total fresh weight (g). Tetrazolium tests and germination speed index were also performed. The results were submitted to the Tukey test ($p \leq 0.05$). The germination percentage evaluated at 14 days was affected by cultivars and temperature, with the seeds refrigerated at 4°C surpassing those kept at room temperature (an increase of 220%). There was no significant difference for the imbibition factor in H₂O or H₂O + NaNO₃.

Keywords: Seeds; Alternative methodology; Basilisk; Marandu; Piatã.

Resumen

Las Reglas de Análisis de Semillas (RAS) recomiendan escarificar con ácido sulfúrico y humedecer el sustrato con nitrato de potasio al 0.2% para romper la latencia de *Brachiaria* y su germinación. Este trabajo tuvo como objetivo evaluar el uso de una metodología alternativa a los tratamientos recomendados por RAS mediante el enfriamiento de las semillas a 4 ° C e inmersión en agua destilada a temperatura ambiente y nitrato de sodio al 0,2%, durante dos horas, para descomponer latencia y germinación de *B. decumbens* Stapf cv. Basilisk y *B.*

brizantha (Hochst. Ex. A. Rich.) Stapf cv. Marandu y cv. Piatã. Para ello, se estructuró un diseño totalmente aleatorizado de $3 \times 2 \times 2$ en un gerbox para comparar los porcentajes de germinación de semillas mantenidas a temperatura ambiente y empapadas en H₂O y H₂O + NaNO₃ con semillas enfriadas y empapadas en H₂O y H₂O + NaNO₃. El DIC también se estructuró en rollo, además del PG (%), para evaluar el largo de la parte aérea (cm) y raíz (cm) y el peso fresco total (g). También se realizaron pruebas de tetrazolio e índice de velocidad de germinación. Los resultados fueron sometidos a la prueba de Tukey ($p \leq 0,05$). El porcentaje de germinación evaluado a los 14 días se vio afectado por los cultivares y la temperatura, con las semillas refrigeradas a 4°C superando a las mantenidas a temperatura ambiente (incremento del 220%). No hubo diferencia significativa para el factor de imbibición en H₂O o H₂O + NaNO₃.

Palabras clave: Semillas; Metodología alternativa; Basilisco; Marandu; Piatã.

1. Introdução

As Regras para Análise de Sementes (RAS) fornecem métodos padrão de uso obrigatório em laboratórios para verificar a qualidade genética, física, fisiológica e sanitária de sementes, incluindo aquelas de espécies de gramíneas do gênero *Brachiaria* (Krzyzanowski et al., 2018). Os testes de germinação visam determinar o potencial máximo de germinação de um lote e, seus resultados permitem a comparação da qualidade das sementes entre os diferentes lotes, além de estimar seu valor para o plantio. Esses testes podem ser realizados em laboratório ou em campo, mas o laboratorial apresenta a vantagem de aumentar a repetibilidade (Lopes & Nascimento, 2009).

Em geral, a dormência das sementes é imposta pela impermeabilidade do tegumento (Cardoso, 2004) e as condições ideais para o teste de germinação ainda não foram definidas. Portanto, há espaço para o aprimoramento dos métodos e da própria RAS para incluir alternativas inovadoras. Trabalhos neste sentido são importantes para a definição de procedimentos mais indicados para a realização do teste de germinação de *Brachiaria* e obtenção da maior germinação no menor tempo, para facilitar e promover a utilização desse teste pelas empresas e laboratórios de análise de sementes (Gaspar-Oliveira et al., 2008).

Sementes de espécies de *Brachiaria* normalmente têm uma baixa porcentagem de germinação devido à dormência natural ou primária das sementes (Benech-Arnold et al., 2000). Os autores apontam que as causas mais comuns de dormência são a imaturidade fisiológica do embrião e a impermeabilidade do tegumento à água e, às vezes, ao oxigênio. Para romper a dormência, a RAS recomenda a escarificação com ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄) por um

período de no máximo 15 min, seguida de lavagem em água corrente e umedecimento do substrato em solução de nitrato de potássio (KNO_3) a 0,2% (Brasil, 2009).

O uso de um ácido forte e corrosivo como o ácido sulfúrico apresenta, no entanto, alguns riscos, podendo ser classificados em: operacionais, para quem o manuseia; ambiental, poluição do meio ambiente e; físico: danos às sementes (Lacerda et al., 2010). Por sua vez, o nitrato de potássio pode causar fitotoxicidade (Bonome et al., 2006). Uma alternativa que se apresenta de forma mais segura para superação de dormência das sementes é a refrigeração (Souza et al., 2016) seguida da imersão das sementes em água, resultando em altos valores de germinação, podendo até ser comparado aos tratamentos com KNO_3 (média de 90%) (Silva et al., 2012).

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo comparar a eficácia do resfriamento a 4 °C e embebição de H_2O e $\text{H}_2\text{O} + \text{NaNO}_3$ na superação de dormência e aumento do percentual de germinação de sementes de *Brachiaria brizantha* (Hochst. Ex. A. Rich.) Stapf cv. Piatã e cv. Marandu e *B. decumbens* Stapf cv. Basilisk.

2. Metodologia

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia de Produtos Vegetais e Microbiologia, do Campus Sede, da Universidade Paranaense – UNIPAR, no município de Umuarama, PR, e trata-se de uma pesquisa experimental e laboratorial (Pereira et al., 2018). Foram utilizadas sementes comerciais de *B. decumbens* cv. Basilisk e *B. brizantha* cvs. Piatã e Marandu. As três cultivares foram selecionadas para o experimento por representarem cerca de 70% das pastagens plantadas, o equivalente a 78,5 milhões de hectares (Brasil, 2019), e podem ser utilizadas nas fases de criação, recria e engorda da pecuária brasileira (Zimmer et al., 2012).

Na universidade, as sementes foram armazenadas em frascos hermeticamente fechados e protegidos da luz. Metade das sementes ficou acondicionada em local a temperatura ambiente e a outra metade foi acondicionada sob refrigeração a 4 °C. Para a realização do experimento, foram utilizadas sementes separadas manualmente, com auxílio de pinça, para eliminação de material inerte e de palhas, obtendo-se amostras constituídas por sementes fisicamente puras (Brasil, 2009).

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com um fatorial $3 \times 2 \times 2$: (A) três cultivares de *Brachiaria*; (B) embebição com H_2O destilada ou embebição com $\text{H}_2\text{O} + \text{nitrato de sódio}$ (NaNO_3) 0,2% e (C) sementes armazenadas à temperatura de 25 °C ou a 4 °C, com quatro repetições, totalizando 48 unidades experimentais. A metodologia adotada foi adaptada de (Silva et al., 2013).

Testes de germinação foram realizados para obtenção da porcentagem de germinação (PG) e do índice de velocidade de germinação (IVG). A PG (%) foi calculado de acordo com a equação:

$$PG(\%) = \frac{N}{A} \times 100$$

sendo: N o número de sementes germinadas e A o número total de sementes por replicação.

A germinação foi considerada como tendo ocorrido quando qualquer raiz emergida atingiu pelo menos 2 mm de comprimento (Brasil, 2009).

O índice de velocidade de germinação foi calculado de acordo com a Equação 2, descrita por Maguirre (1962):

$$IVG = \frac{G1}{N1} + \frac{G2}{N2} + \dots + \frac{Gn}{Nn}$$

sendo: G o número de sementes germinadas por dia e N o número total de dias, contados do terceiro ao o 12º dia após a semeadura, ou seja, até o dia em que não houve mais verificação de sementes germinadas.

2.1 Teste de Tetrazólio

Para o teste de tetrazólio, quatro repetições de 50 sementes cada, resfriadas a 4 °C, foram pré-condicionadas por imersão em água destilada por 6 h à temperatura ambiente. Em seguida, as sementes foram cortadas longitudinalmente ao embrião e três quartos do endosperma, foram colocados em vidros plásticos e imersas em solução de tetrazólio 0,1% (pH 6,5) (Custodio et al., 2012) e mantidas por 18 h no escuro em temperatura ambiente. Após esse período, os embriões foram lavados em água corrente e avaliados pela observação da presença (sementes viáveis) ou ausência (sementes não viáveis) de um composto vermelho na superfície do corte, com auxílio de estereomicroscópio (Brasil 2009). Os resultados do teste de tetrazólio foram expressos como porcentagem de sementes viáveis.

2.2 Teste de germinação em gerbox e em rolo

Para o teste de germinação, sementes de três cultivares, previamente embebidas em H₂O e em H₂O + NaNO₃ 0,2%, separadamente, por duas horas, em placas de Petri, foram colocadas em caixas de acrílico tipo gerbox, previamente desinfetadas com água sanitária e álcool 70%.

Em cada gerbox foram colocadas 25 sementes cujo espaçamento entre uma e outra obedeceu ao recomendado na RAS. O substrato consistiu em duas folhas de papel germiteste autoclavado, umedecido com água destilada na proporção de $2,5 \times$ a massa do substrato seco (Brasil 2009). As unidades experimentais foram armazenadas em sacos de polietileno transparentes e mantidas em incubadora de Demanda Bioquímica de Oxigênio (BOD), regulada para 10h luz/14h escuro, a uma temperatura de 30 ± 2 °C e 20 ± 2 °C, respectivamente, por 14 dias, segundo Gaspar-Oliveira et al. (2008) com adaptações.

Um segundo teste, utilizando um rolo de papel germiteste como substrato, foi realizado para comparar o efeito na germinação das sementes da temperatura de 4 °C e embebição em H₂O e em H₂O + NaNO₃ 0,2%. O experimento se deu em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 3×2 (cultivares x sementes a 4 °C embebidas em H₂O e em H₂O + NaNO₃ a 0,2%), com quatro repetições e 20 sementes por rolo. Os rolos foram armazenados verticalmente em sacos plásticos transparentes de polietileno e mantidos em câmara BOD programada para as mesmas condições utilizadas para o teste gerbox. Após 14 dias, foram avaliados o comprimento da parte aérea (cm), o comprimento da raiz (cm) e a massa fresca total (parte aérea + raiz) (g) das mudas. O comprimento da parte aérea e da raiz foi medido com auxílio de paquímetro digital. A massa fresca foi obtida por meio de pesagem em balança analítica.

2.3 Análise dos dados

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e teste de homocedasticidade de Bartlett. Após a confirmação da parametricidade, foram avaliados pelo teste “F”, a 5% de significância. Quando significativa pelo teste “F”, a significância estatística das médias foi calculada pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$). Os testes de tetrazólio também foram avaliados pelo teste post-hoc de Tukey ($\alpha = 0,05$) e submetidos à análise de correlação linear simples com os dados do teste de germinação, por meio do programa *Action for Excel* (Equipe Estatcamp 2014). As demais análises foram realizadas com o programa estatístico R, versão 2.2.1 (R. Development Core Team, 2013).

3. Resultados

3.1 Teste de germinação em gerbox e em rolo

A porcentagem de germinação, aos sete dias (Tabela 1), diferiu entre as cultivares (Fdf = 12,20, p = 0,0001, temperatura (Fdf = 85,57, p = 0,0000) e interação entre esses fatores (Fdf = 4,0801, p = 0,0253). Não foi verificada diferença em embebição (Fdf = 0,0442, p = 0,8347) e interação entre cultivares x embebição x temperatura (Fdf = 0,1851, p = 0,8318), cultivar x embebição (Fdf = 0,0193, p = 0,9809) e embebição x temperatura (Fdf = 0,0110, p = 0,9169).

Tabela 1. Comparação das médias de porcentagem de germinação (\pm desvio padrão) de *B. brizantha* cv. Piatã e Marandu e *B. decumbens* cv. Sementes de Basilisk mantidas a 25° e submetidas ao resfriamento a 4°C e germinação (%) das sementes das três cultivares mantidas a 25°C e submetidas ao resfriamento a 4°C embebidas em H₂O, e em H₂O + NaNO₃ a 0,2%, sete dias após a instalação do ensaio.

Cultivar	Germinação (%) aos 7 dias	
	25°C	4°C
Piatã	18.00 \pm 15.71 aB	56.50 \pm 5.83 aA
Marandu	17.00 \pm 13.48 aB	49.50 \pm 6.74 aA
Basilisk	10.50 \pm 9.55 aB	27.50 \pm 5.42 bA

CV (%) = 36.82

Médias com letras minúsculas iguais na mesma coluna e letras maiúsculas na mesma linha não diferem pelo teste de Tukey no nível de significância de 0,05. CV = Coeficiente de Variação. Fonte: Autores.

Aos sete dias, o desdobramento da interação das cultivares dentro das temperaturas mostrou que as cultivares não diferiram entre si a 25 °C, mas diferiram quando mantidas sob refrigeração a 4 °C, sendo que Marandu e Piatã não diferiram entre si, mas diferiram de Basilisk, que apresentou a menor porcentagem de germinação (Tabela 1). Marandu e Piatã apresentaram germinação 80 e 105% maior que Basilisk, respectivamente. Ainda, na primeira avaliação, a superação de temperatura para cada cultivar indicou um aumento na porcentagem de germinação para todas as cultivares quando submetidas à refrigeração a 4 °C. Esse aumento foi de 191% para a cultivar Marandu, 214% para Piatã e 162% para Basilisk.

A porcentagem de germinação avaliada aos 14 dias (Tabela 2) foi afetada pelas cultivares (Fdf = 8,9062, p = 0,0007) e temperatura (Fdf = 135,0519, p = 0,0000). Não houve

diferença significativa para o fator de embebição ($F_{df} = 0,0519$, $p = 0,821$), nem para as interações cultivar \times temperatura \times embebição ($F_{df} = 0,0187$, $p = ,9814$), cultivares \times temperatura ($F_{df} = 3,1197$, $p = 0,0563$), cultivares \times embebição ($F_{df} = 0,0303$, $p = 0,9702$) e temperaturas \times embebição ($F_{df} = 0,0231$, $p = 0,8801$). A germinação das cultivares Marandu e Piatã superaram Basilisk em 42 e 66% respectivamente. De forma semelhante ao observado aos sete dias, a porcentagem de germinação das sementes refrigeradas a 4°C superou as mantidas em temperatura ambiente. Esse aumento foi de 202% para a cultivar Marandu, 247% para Piatã e 209% para o Basilisk.

Tabela 2. Porcentagem de germinação das cv Piata, Marandu e Basilisk sob efeito dos principais fatores (Fator A - cultivares e fator B: temperatura) aos 14 dias após a instalação do experimento.

Cultivar	Germination (%)
Piatã	57.00 \pm 22.52 a
Marandu	53.25 \pm 19.59 a
Basilisk	35.75 \pm 15.41 b

Temperature	Germination (%)
25°C	23.17 \pm 18.98 b
4°C	74.17 \pm 15.65 a

CV (%) = 31.24

Médias com letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem pelo teste de Tukey no nível de significância de 0,05. CV = Coeficiente de Variação. Fonte: Autores.

O experimento de rolo resultou em uma interação não-significativa para todas as variáveis cujos valores de F_{df} e p foram 0,1910 e 0,8279, 1,6200 e 0,2249, 1,2380 e 0,3135, respectivamente, para comprimento da parte aérea, massa fresca total e comprimento da raiz.

De acordo com a Tabela 3, em comprimento da parte aérea (CPA) e massa fresca (MF), Piatã e Marandu apresentaram os maiores valores, respectivamente. Especificamente em relação a CPA, essas duas cultivares apresentaram diferenças não-significativas ($P \geq 0,05$) nas médias dos dois tratamentos, mas diferiram de Basilisk. Para MF, Marandu apresentou o maior valor (0,66 g), diferindo estatisticamente de Piatã e Basilisk. Para o comprimento da raiz, a interação cultivares ($F_{df} = 10,0676$, $p = 0,00116$) e embebição ($F_{df} = 5,8068$, $p = 0,0269$) foram significativas. Piatã e Marandu não diferiram entre si, apresentando os menores valores para comprimento de raiz, 5,66 e 5,70 cm, respectivamente, mas diferiram do Basilisk, com

comprimento de 6,98 cm. A imersão em H₂O e NaNO₃ também influenciou o comprimento da raiz das plântulas, pois as sementes embebidas em NaNO₃ excederam em 11% a porcentagem de germinação daquelas embebidas em água.

Tabela 3. Análise do comprimento da parte aérea (APL), comprimento da raiz (RL), massa fresca (FM) e porcentagem de germinação (GP) de *B. decumbens* cv. Basilisk e *B. brizantha* cvs. Sementes de Piatã e Marandu resfriadas a 4 °C, e submetidas ao teste de germinação em rolo após embebição em H₂O e nitrato de sódio (NaNO₃) a 0,2%.

Cultivar	Tratamentos	
	H ₂ O	NaNO ₃
----- Comprimento de parte aérea (cm) -----		
Piatã	6.16±0.34 aA	6.53±0.48 aA
Marandu	5.75±0.29 aA	6.05±0.48 aA
Basilisk	4.49±0.55 bA	4.79±0.32 bA
CV (%) = 7.32	Média = 5.61±0.41	
----- Comprimento de raiz (cm) -----		
Piatã	5.56±0.27 aA	5.76±0.46 bA
Marandu	5.43±0.45 aA	5.97±0.91 bA
Basilisk	6.36±0.89 aB	7.60±0.76 aA
CV (%) = 10.26	Média = 6.09±0.63	
----- Massa fresca (g) -----		
Piatã	0.57±0.017 bA	0.58±0.011 bA
Marandu	0.67±0.018 aA	0.65±0.008 aA
Basilisk	0.36±0.040 cA	0.33±0.022 cA
CV (%) = 3.67	Média = 0.54±0.02	
----- Germinação (%), 14 dias após instalação do experimento -----		
Piatã	73.75±8.54 aA	85.00±5.77 aA
Marandu	70.00±12.91 aA	77.50±6.45 aA
Basilisk	55.00±12.25 bA	63.75±11.09 bA
CV (%) = 13.97	Média = 70.83±9.89	

Médias com letras minúsculas iguais na mesma coluna e letras maiúsculas na mesma linha não diferem pelo teste de Tukey no nível de significância de 0,05. CV = Coeficiente de Variação. Fonte: Autores.

Em relação à germinação, a cultivar que apresentou maior percentual foi Piatã (85%), seguida de Marandu, com 77,5%, e Basilisk, com 63,75%, no tratamento com NaNO₃, e respectivamente 73,75%, 70% e 55%, no tratamento com água destilada. Porém, estatisticamente, o efeito do tratamento nas cultivares só foi significativo ($P \leq 0,05$) para Piatã e Marandu em relação ao Basilisk, conforme observado na comparação das médias na coluna de ambos os tratamentos da Tabela 3.

Ainda em relação ao efeito do tratamento sobre as cultivares, foram evidenciadas interações significativas ($P \leq 0,05$) para comprimento de parte aérea e massa fresca em ambos os tratamentos. Nestes casos, Piatã e Marandu, respectivamente, tiveram as melhores respostas. Especificamente em relação ao comprimento de parte aérea, essas duas cultivares apresentaram diferenças não significativas ($P \geq 0,05$) nas médias de ambos os tratamentos. Considerando comprimento de raiz, Basilisk apresentou a maior média com diferença significativa quando comparado a Piatã e Marandu no tratamento com NaNO_3 .

3.2 Índice de velocidade de germinação e teste de tetrazólio

O índice de velocidade de germinação (IVG) e o teste de tetrazólio revelaram que B. brizantha cv. Piatã apresentou o maior IVG (20,59) com diferença significativa de B. brizantha cv. Marandu (17,86) e B. decumbens cv. Basilisk (12,68), que também diferiram significativamente ($F_{df} = 59,5980$, $p = 0,0000$) (Tabela 4).

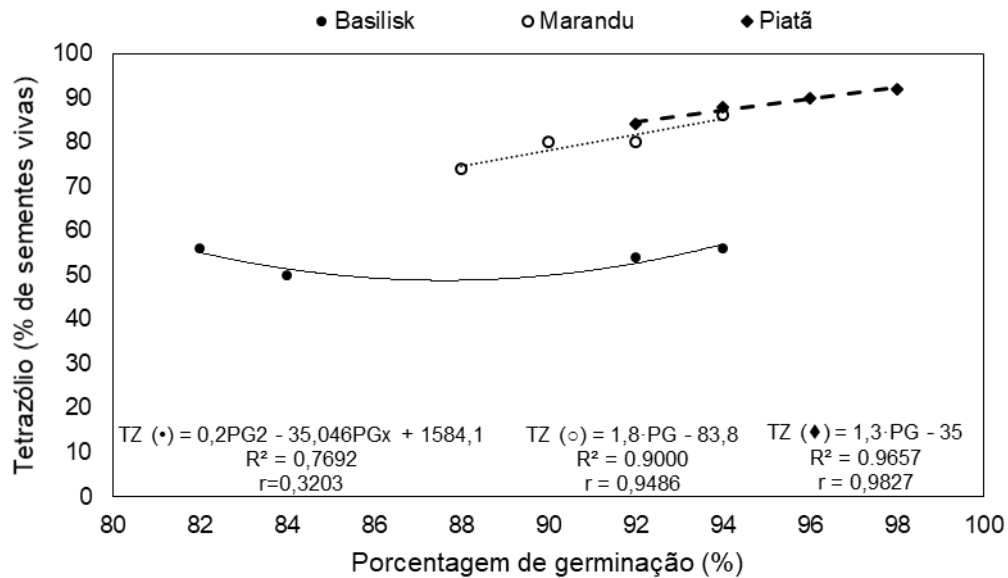
Tabela 4. Análise do Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e teste de tetrazólio realizado com B. brizantha cv. Piatã e Marandu e B. decumbens cv. Basilisk, onde o GSI foi obtido a partir de sementes resfriadas a 4 °C e embebidas em H_2O e em $\text{H}_2\text{O} + \text{NaNO}_3$ a 0,2% por 2h, e a porcentagem de embriões viáveis foi obtida a partir do teste de tetrazólio feito apenas com sementes resfriadas a 4 °C e embebidas em H_2O .

Cultivar	IVG (%) [*]	Tetrazólio (%)
Piatã	20.59 ± 1.21 a	95.00 ± 1.49 a
Marandu	17.86 ± 1.67 b	91.00 ± 1.55 a
Basilisk	12.68 ± 1.21 c	88.00 ± 8.03 a
CV (%)	8.64	3.84

* Médias de IVG com as mesmas letras minúsculas na mesma coluna e letras maiúsculas na mesma linha não diferem pelo teste de Tukey no nível de significância de 0,05. As médias de tetrazólio com as mesmas letras minúsculas não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 0,05. CV = Coeficiente de Variação. Fonte: Autores.

Os dados do teste de tetrazólio evidenciam que 95% dos embriões de Piatã eram viáveis, seguidos de 91% de Marandu e 88% de Basilisk, com diferenças não significativas ($P \geq 0,05$) entre as cultivares. Também mostraram que o teste apresentou correlação linear com a germinação para Piatã e Marandu, com coeficientes de 0,9827 e 0,9486, respectivamente (Figura 1).

Figura 1. Correlação entre o resultado do teste de Tetrazólio e a porcentagem de germinação (PG) média das cultivares Basilisk, Marandu e Piatã submetidas aos tratamentos de resfriamento a 4 °C e embebição de H₂O e em H₂O + NaNO₃ a 0,2%.



Fonte: Autores.

Em relação à cv. Basilisk, a correlação ($r = 0,32026$) é compatível com a diferença entre a porcentagem de germinação e a porcentagem de embriões viáveis observada neste estudo, explicando porque a equação quadrática é a que melhor demonstra esse comportamento.

4. Discussão

Os testes de IVG e Tetrazólio evidenciam a qualidade das sementes empregadas nestes trabalhos. Mas esta qualidade não garante por si mesma a germinação, porque esta depende de mecanismos que podem estar limitados ao tegumento duro e impermeável de suas sementes e de outros fatores, como a ação de fungos (Souza e Silva et al., 2014). Estas características geram a chamada dormência cuja natureza, intensidade e persistência não estão suficientemente elucidadas, mas são responsáveis pela irregularidade e baixo estande em campos de produção (Vela et al., 2018).

A embebição é o tratamento recomendado pela RAS para romper a dormência e pode ser feita antes ou depois do início do teste de germinação, porque sementes com tegumento duro podem germinar mais rapidamente após embebição em água (Brasil, 2009). No entanto, as porcentagens de germinação reduzidas das sementes em temperatura ambiente obtidas neste

estudo indicam que a embebição por si só foi insuficiente para estimular a germinação.

O papel do nitrato para superação da dormência de sementes de várias espécies é relatado na literatura há muito tempo. Toole et al. (1956), por exemplo, apontou os nitratos como um dos principais agentes dessa superação. Porém, como a braquiária apresenta dormência causada pela imaturidade fisiológica do embrião (Marcos Filho, 1986), é plausível inferir que sua ação estaria restrita à germinação. Por outro lado, autores como Santos et al. (2011) não encontraram efeito significativo do nitrato na porcentagem de germinação. Em um experimento, usando *B. brizantha* cv. Sementes de Piatã, escarificadas segundo RAS, e umedecidas em água destilada e nitrato de potássio, os autores obtiveram porcentagens de germinação de 42,5 e 44,17% das sementes embebidas em KNO_3 e H_2O , respectivamente, 7 dias após a instalação, e porcentagens de germinação de 56,5 e 59,33%, respectivamente, obtidos em 14 dias. Em ambas as contagens, não houve diferença estatística significativa entre as médias.

Não há na literatura especializada trabalho com metodologia semelhante a esta, no que se refere à combinação de tratamentos refrigeração x embebição em H_2O e $\text{H}_2\text{O} + \text{NaNO}_3$. O uso do NaNO_3 como estimulador da germinação de sementes foi demonstrado por Adkins et al. (1984), em experimento com *Avena fatua* (linha AN51) L., com as sementes mantidas em temperatura ambiente, sem terem sido submetidas a embebição prévia H_2O , ou seja, sem sofrer o efeito do frio em seus tegumentos para desencadear o processo de germinação.

Porém, como todo nitrato é solúvel em água (Silva et al., 2004), pelo processo de solvatação, podemos inferir que não faz diferença usar sódio (molalidade $0,0235 \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$) ou potássio (molalidade $0,0198 \text{ mol}\cdot\text{kg}^{-1}$) em experimentos de germinação. Neste experimento, foi constatado que não, sugerindo que a germinação resultou da soma dos efeitos do frio (Souza et al., 2016) + embebição, uma vez que ativa a α -galactosidase, que catalisa a hidrólise das galactomananas da célula parede para manose e galactose, absorvida para o crescimento do embrião e posteriormente usada como fonte de carbono para fornecer energia para vários processos metabólicos (Goes & Ribeiro, 2002).

Novembre et al. (2006), avaliando a germinação de sementes de *B. brizantha*, obtiveram valores que variam de 77% a 90% com o uso de água destilada. A partir desses resultados, pode-se concluir que a germinação é decorrente da embebição e não da superação de dormência pela ação do nitrato. Essa conclusão reforça a hipótese de que a utilização desse sal pode ser descartada. Resultados quanto ao efeito do nitrato de potássio na germinação da braquiária não foram relatados na literatura, porém, para a espécie *Paspalum notatum*, uma possível ação é apontada: ao entrar em contato com o tegumento, o nitrato de potássio causaria seu

amolecimento, facilitando as trocas gasosas (Frank & Nabinger, 1996). Porém, embora a imersão de sementes em KNO_3 para romper a dormência seja um procedimento utilizado em laboratório, sua ação ainda é muito discutida (Lula et al., 2000).

A única variável que sofreu o efeito da embebição de NaNO_3 foi o comprimento da raiz, que ultrapassou o tamanho das raízes das mudas embebidas em água. Uma variável associada ao crescimento radicular é a presença de células mitóticas, Gajbhiye (2013), encontrou um número mais significativo dessas células nas raízes de *Vigna radiata* quando embebidas em água e uma redução desta quantidade na concentração de 0,1% e ausência de células mitóticas na concentração de NaNO_3 0,9%, porém para este tratamento o autor relatou a presença de células alongadas, o que sugere que um possível alongamento celular, promovido pelo nitrato, pode ter refletido no maior comprimento de raiz encontrado neste trabalho.

Porém, a ação da água sobre a germinação está estabelecida na literatura, sendo considerada o principal agente estimulador e controlador dos processos de embebição e germinação, pois proporciona amolecimento do tegumento, aumento do volume do embrião e dos tecidos de reserva, aumento dos estímulos à digestão, translocação e assimilação de nutrientes com consequente crescimento do eixo embrionário (Villela, 2008). A água também estimula a síntese de giberelina (GA) que favorece a produção de enzimas hidrolíticas responsáveis pela quebra das reservas de endosperma durante a germinação, enfraquecendo os tecidos circundantes que recobrem o embrião e facilitando a protusão da radícula (Guimarães et al., 2008).

A ação da baixa temperatura para romper a dormência foi demonstrada por Souza et al. (2016) em um experimento desenvolvido para avaliar a qualidade fisiológica de *B. brizantha* cv. Lotes de sementes de Piatã. O teste de frio foi realizado utilizando sementes embebidas em KNO_3 a 0,2% colocadas em rolo de papel germiteste a uma temperatura de 20°C por 16h no escuro e a 35°C por 8h de iluminação em câmara de germinação. Os resultados revelaram significância para a interação lote de sementes \times superação de dormência, sendo que o maior percentual de germinação foi obtido 21 dias após a instalação do ensaio, com média de 73,5%.

Com base nas características mecânicas dos tegumentos, na lei do resfriamento de Newton e nos conceitos de contração térmica e endurecimento dos materiais, é possível estabelecer a hipótese de que quando submetido a uma temperatura de 4 °C, o tegumento das sementes de braquiária sofreu endurecimento. , mas à temperatura ambiente, voltou às suas propriedades originais com fissuras que permitiram a entrada da água, levando à superação da dormência e desencadeando o processo de germinação, com melhor resposta apresentada por Piatã, independentemente de terem ou não sido tratadas com nitrato. A eficácia do uso de nitrato

para fins de germinação, portanto, mostrou-se dispensável. Para o futuro, sugere-se a realização de experimentos com microscopia eletrônica, para verificar o efeito de endurecimento do tegumento.

5. Considerações Finais

A germinação de sementes submetidas ao resfriamento a 4 °C foi superior aos tratamentos a temperatura ambiente, destacando-se a cv. Piatã, independente do tratamento com nitrato de sódio. Em decorrência disto, formulou-se a hipótese de que a superação da dormência das sementes se deu por encruamento, permitindo a embebição e, conseqüentemente, a superação da imaturidade fisiológica do embrião. Diante disso, e em função da escassez de trabalhos que combinem os efeitos temperatura e embebição na superação da dormência de sementes do gênero *Brachiaria*, sugere-se, em trabalhos futuros, avaliar o efeito destes tratamentos em solo, simulando o cultivo desta forrageira.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Universidade Paranaense (UNIPAR) pelo apoio financeiro à pesquisa, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação Araucária e ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia (IFRO) pelo apoio à capacitação e pesquisa.

Referências

Adkins, S. W., Simpson, G. M., & Naylor, J. M. (1984). The physiological basis of seed dormancy in *Avena fatua* IV. Alternative respiration and nitrogenous compounds. *Physiologia Plantarum*, 60(2), 234–238. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1984.tb04570.x>

Benech-Arnold, R. L., Sanchez, R. A., Forcella, F., Kruk, B. C., & Ghersa, C. M. (2000). Controle ambiental de dormência em bancos de sementes de plantas daninhas no solo. *Field Crops Research*, 67(1), 105–122.

Bonome, L. T. da S., Guimarães, R. M., Oliveira, J. A., Andrade, V. de C., & Cabral, P. de S.

(2006). Efeito do condicionamento osmótico em sementes de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. *Ciência e Agrotecnologia*, 30(3), 422–428.

Brasil. (2009). *Regras para Análise de Sementes* (1st ed.). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA/ACS.

Cardoso. (2004). Germinação de sementes. In *Fisiologia vegeta* (pp. 386–408). Guanabara Koogan.

Custodio, C. C., Damasceno, R. L., & Machado Neto, N. B. (2012). Imagens digitalizadas na interpretação do teste de tetrazólio em sementes de *Brachiaria brizantha*. *Revista Brasileira de Sementes*, 34(2), 334–341.

Frank, L. B., & Nabinger, C. (1996). Avaliação da germinação de seis acessos de *Paspalum notatum* Flüggé, nativos do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Sementes*, 18(1), 102–107.

Gajbhiye, N. D. (2013). Toxic effect of sodium nitrate on germinating seeds of *Vigna radiata*. *International Journal of Biotechnology and Bioengineering*, 7(10), 1002–1006.

Gaspar-Oliveira, C. M., Martins, C. C., Nakagawa, J., & Cavariani, C. (2008). Duração do teste de germinação de *Brachiaria brizantha* cv. marandu (Hochst. ex A. Rich.) Stapf. *Revista Brasileira de Sementes*, 30(3), 30–38. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222008000300005>

Goes, S. P., & Ribeiro, M. L. L. (2002). α -galactosidase: aspectos gerais e sua aplicação em produtos a base de soja. *Semina: Ciências Agrárias*, 23(1), 111–119.

Guimarães, M. A., Dias, D. C. F. S., & Loureiro, M. E. (2008). Hidratação de sementes. *Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas*, 2(1), 32–39.

Krzyzanowski, F. C., França-Neto, J. B., & Henning, A. A. (2018). *A alta qualidade da semente de soja: fator importante para a produção da cultura*. Embrapa Soja.

Lacerda, M. J. R., Cabral, J. S. R., Sales, J. D. F., Freitas, K. R., & Fontes, A. J. (2010).

Superação da dormência de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. “Marandu.” *Semina: Ciências Agrárias*, 31(4), 823. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2010v31n4p823>

Lopes, A. C. A., & Nascimento, W. M. (2009). *Análise de sementes de hortaliças*. Embrapa Hortaliças.

Lula, A. A., Alvarenga, A. A., Almeida, L. P., Alves, J. D., & Magalhães, M. M. (2000). Estudos de agentes químicos na quebra da dormência de sementes de *Paspalum paniculatum* L. *Revista Ciência Agrotecnica*, 24(2), 358–366.

Maguirre, J. D. (1962). Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Science*, 2(1), 176–177.

Marcos Filho, J. (1986). Germinação de sementes. *Semana De Atualização Em Produção De Sementes*, 11–39.

Novembre, A. D. L. C., Chamma, H. M. C. P., & Gomes, R. B. R. (2006). Viabilidade das sementes de braquiária pelo teste de tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes*, 28(2), 147–151.
Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J., & Shitsuka, R. (2018). Metodologia de Pesquisa Científica. In *Metodologia da Pesquisa Científica*. UFSM, NTE.

Santos, L. D. C., Benett, C. G. S., Silva, K. S., & Silva, L. V. (2011). Germinação de diferentes tipos de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. BRS Piatã. *Bioscience Journal*, 27(3), 420–426.

Silva, A. B., Landgraf, P. R. C., & Machado, G. W. O. (2013). Germinação de sementes de braquiária sob diferentes concentrações de giberelina. *Semina: Ciências Agrárias*, 34(2), 657–662. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n2p657>

Silva, K. S., Machado, S. L. O., Menezes, N. L., Uurban, L. J. K., & Alves, M. V. (2012). Adequação da metodologia do teste de tetrazólio para sementes de *Hymenachne amplexicaulis*. *Semina: Ciências Agrárias*, 33(5), 1819–1824.

Silva, L. A., Martins, C. R., & Andrade, J. B. (2004). Por que todos os nitratos são solúveis? *Química Nova*, 27(6), 1016–1020.

Souza e Silva, A. L. M. de, Torres, F. E., Garcia, L. L. P., Mattos, E. M., & Teodoro, P. E. (2014). Tratamentos para quebra de dormência em *Brachiaria brizantha*. *Revista de Ciências Agrárias*, 37(1), 37–41.

Souza, V. Q., N., F. D., Trombetta, C. G., Zimmer, P. D., Nardino, M., & Carvalho, I. R. (2016). Testes de vigor associado à superação de dormência em *Brachiaria brizantha* cv. BRS Piatã. *Global Science and Technology*, 9(2), 13–24.

Toole, E. H., Hendricks, S. B., Bortwick, H. A., & Toole, V. K. (1956). Physiology of Seed Germination. *Annual Review of Plant Physiology*, 7(1), 299–324.

Vela, R. S., Moterle, L. M., Santos, R. F., Chichanoski, C., & Braccini, A. L. (2018). Quebra de dormência em sementes de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf. *Revista de Ciências Agrárias*, 41(2), 327–335. <https://doi.org/10.19084/RCA17267>

Villela, F. A. (2008). Water relations in seed biology. *Scientia Agricola*, 55(spe), 98–101. <https://doi.org/10.1590/S0103-90161998000500018>

Zimmer, A. H., Macedo, M. C. M., Kichel, A. N., & Almeida, R. G. (2012). *Degradação, recuperação e renovação de pastagens*. Embrapa Gado de Corte.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Renato Fernadno Menegazzo – 50%

André Werlang Menegazzo – 05%

João Paulo Francisco – 20%

Ana Daniela Lopes – 25%