

ALAN CARVALHO ANDRADE

ADAPTAÇÃO DO TESTE RÁPIDO (pH DO EXUDATO-FENOLFTALEÍNA), PARA ESTIMAR A VIABILIDADE DE SEMENTES DE CAPIM BRAQUIÁRIA (*Brachiaria decumbens* STAPP.)

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia, para a obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof^a. MARIA DAS GRAÇAS G. CARVALHO VIEIRA

**LAVRAS
MINAS GERAIS-BRASIL
1994**

Ficha Catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e Classificação da Biblioteca Central da ESAL.

Andrade, Alan Carvalho

Adaptação do teste rápido (pH do exudato fenolftaleína), para estimar a viabilidade de sementes de capim braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf.) / Alan Carvalho Andrade.--Lavras : ESAL, 1994.

67 p. : il.

Orientador: Maria das Graças G. Carvalho Vieira

Dissertação(Mestrado) - ESAL.

Bibliografia.

1. *Brachiaria decumbens* - Sementes - Viabilidade. 2. *Brachiaria decumbens* - Sementes - Teste rápido. 3. pH do exudato-fenolftaleína - Sementes. 4. Sementes - *Brachiaria decumbens* - Qualidade fisiológica. I. Escola Superior de Agricultura de Lavras. II. Título.

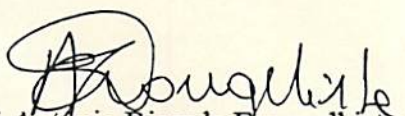
CDD-633.20821

ALAN CARVALHO ANDRADE

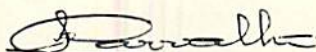
ADAPTAÇÃO DO TESTE RÁPIDO (pH DO EXUDATO-FENOLFTALEÍNA), PARA ESTIMAR A VIABILIDADE DE SEMENTES DE CAPIM BRAQUIÁRIA (*Brachiaria decumbens* STAPF.)

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia, para a obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 14 de abril de 1994




Prof. Antônio Ricardo Evangelista



Prof.^a. Maria Laene Moreira de Carvalho



Biólogo João Almir de Oliveira



Prof.^a. Maria das Graças G. Carvalho Vieira

(Orientador)

A Deus,
por sua benevolência.

Aos meus pais, avós e familiares,
minha maior riqueza.

A minha esposa e familiares,
pelo amor, carinho e amizade.

Aos meus 'mestros',
pelo exemplo a ser seguido.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Escola Superior de Agricultura de Lavras (ESAL), pela oportunidade de realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

À Professora Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira, pela orientação, amizade e apoio, na realização deste trabalho.

Aos Professores Antônio Carlos Fraga, José da Cruz Machado, José Ferreira da Silveira e Maria Laene Moreira de Carvalho, pela amizade, colaboração e sugestões.

Ao Biólogo João Almir de Oliveira e demais funcionários dos Laboratórios de Análise e Patologia de Sementes da ESAL, pela dedicação, colaboração e convivência, durante a realização deste trabalho.

À todos os colegas e amigos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE QUADROS	vi
LISTA DE FIGURAS.....	ix
RESUMO.....	x
SUMMARY	xii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 Deterioração de Sementes	3
2.2 Testes Rápidos para a Avaliação da Qualidade de Sementes.....	8
2.3 Fatores que Afetam o Teste de pH do Exudato-Fenolftaleína	14
3 MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1 Primeira Etapa - Aplicabilidade do Teste para <i>Brachiaria decumbens</i>	20
3.1.1 Determinação do Grau de Umidade.....	21
3.1.2 Separação de Sementes Puras.....	21
3.1.3 Escarificação Química	21
3.1.4 Caracterização do Perfil Fisiológico dos Lotes.....	22
3.1.4.1 Teste Padrão de Germinação.....	22
3.1.4.2 Teste de Emergência em Solo.....	23
3.1.4.3 Teste de Tetrazólio	23
3.1.5 Teste de pH do Exudato-Fenolftaleína	24
3.1.6 Procedimento Estatístico.....	25
3.2 Segunda Etapa - Tempo e Temperatura de Embebição das Sementes e Tamanho de Gota de Carbonato de Sódio	25
3.2.1 Escarificação Química	26
3.2.2 Caracterização do Perfil Fisiológico dos Lotes.....	26

3.2.2.1 Teste Padrão de Germinação.....	26
3.2.2.2 Teste de Emergência em Solo.....	27
3.2.2.3 Teste de Tetrazólio	27
3.2.2.4 Teste de Sanidade	27
3.2.3 Teste de pH do Exudato-Fenolftaleína	28
3.2.3.1 Ensaio I - Embebição à Temperatura de 25 °C.....	28
3.2.3.2 Ensaio II - Embebição à Temperatura de 35 °C.....	28
3.2.4 Procedimento Estatístico.....	29
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
4.1 Primeira Etapa - Aplicabilidade do Teste para <i>Brachiaria decumbens</i>	30
4.2 Segunda Etapa - Tempo e Temperatura de Embebição das Sementes e Tamanho de Gota de Carbonato de Sódio	39
4.2.1 Ensaio I - Embebição à Temperatura de 25 °C.....	39
4.2.2 Ensaio II - Embebição à Temperatura de 35 °C.....	48
5 CUNCLUSÕES.....	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52
ANEXOS	60

LISTA DE QUADROS

QUADRO	Página
1 Resultados médios de grau de umidade dos lotes de sementes de <i>Brachiaria decumbens</i> Stapf. cv. <i>Basillisk</i> . ESAL, Lavras-MG, 1992...	31
2 Resultados médios do percentual de viabilidade dos lotes de sementes de <i>Brachiaria decumbens</i> Stapf. cv. <i>Basillisk</i> , submetidas ou não ao tratamento de escarificação química, determinados pelos testes padrão de germinação e tetrazólio-I. ESAL, Lavras-MG, 1992.....	33
3 Resultados percentuais médios do teste de emergência em solo, para sementes de <i>Brachiaria decumbens</i> Stapf. cv. <i>Basillisk</i> , em ausência e presença de tratamento de escarificação química, aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura (d.a.s). ESAL, Lavras-MG, 1992	34
4 Resultados médios do percentual de viabilidade determinados pelo teste de pH do exudato-fenolftaleína, nos tempos de embebição de 45, 60, 75 e 90 minutos, em sementes de <i>Brachiaria decumbens</i> Stapf. cv. <i>Basillisk</i> , submetidas ao tratamento de escarificação química. ESAL, Lavras-MG, 1992	38
5 Valores do coeficiente de correlação de Pearson, entre o teste de pH do exudato-fenolftaleína, nos diferentes tempos de embebição, com os demais testes realizados na determinação da viabilidade das sementes de <i>Brachiaria decumbens</i> Stapf. cv. <i>Basillisk</i> . ESAL, Lavras-MG, 1992...	39

QUADRO

Página

6	Resultados médios (%) de grau de umidade e viabilidade de sementes de <i>Brachiaria decumbens</i> Stapf. cv. <i>Basilisk</i> , determinados pelos testes padrão de germinação, tetrazólio e emergência em solo aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura (d.a.s.), realizados com sementes em ausência e presença de tratamento de escarificação química. ESAL, Lavras-MG, 1993	41
7	Resultados percentuais médios de ocorrência de fungos em sementes de <i>Brachiaria decumbens</i> Stapf. cv. <i>Basilisk</i> , em ausência e presença de tratamento de escarificação química, detectados pelo método se papel de filtro. ESAL, Lavras-MG, 1993	42
8	Valores do coeficiente de correlação de Pearson, entre o teste de pH do exudato-fenolftaleína, à temperatura de 25 °C, com os testes de tetrazólio, padrão de geminação e emergência em solo aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura (d.a.s.), realizados com sementes de <i>Brachiaria decumbens</i> Stapf. cv. <i>Basilisk</i> , submetidas ao tratamento de escarificação química. ESAL, Lavras-MG, 1993	43
9	Resultados percentuais médios de viabilidade de sementes de <i>Brachiaria decumbens</i> Stapf. cv. <i>Basilisk</i> , determinados pelo teste de pH do exudato-fenolftaleína, realizado em diferentes tamanhos de gota de carbonato de sódio e diferentes tempos de embebição, à temperatura de embebição de 25°C. ESAL, Lavras-MG, 1993	44
10	Resultados percentuais médios de viabilidade de sementes de <i>Brachiaria decumbens</i> Stapf. cv. <i>Basilisk</i> , determinados pelo teste de pH do exudato-fenolftaleína, realizado em diferentes tempos de embebição e diferentes tamanhos de gota de carbonato de sódio, à temperatura de embebição de 25°C. ESAL, Lavras-MG, 1993	46
11	Resultados percentuais médios de viabilidade de sementes de <i>Brachiaria decumbens</i> Stapf. cv. <i>Basilisk</i> , determinados pelo teste de pH do exudato-fenolftaleína, nos tempos de embebição de 60, 75 e 90 minutos, à 35°C, nos tamanhos de gotas de carbonato de sódio de 12, 14 e 16 µl. ESAL, Lavras-MG, 1993	49

QUADRO

Página

- 12 Valores do coeficiente de correlação de Pearson, entre o teste de pH do exudato-fenolftaleína, à temperatura de 35 °C, com os testes de tetrazólio, padrão de germinação e emergência em solo aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura (d.a.s.), realizados com sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basilisk*, submetidas ao tratamento de escarificação química. ESAL, Lavras-MG, 1993 50

LISTA DE FIGURAS

FIGURA		Página
1	Comparação dos resultados médios do percentual de viabilidade de sementes de <i>Brachiaria decumbens</i> Stapf. cv. <i>Basilisk</i> , determinados pelo teste de pH do exudato-fenolftaleína, nos tempos de embebição de 75 e 90 minutos, com os dos testes padrão de germinação, tetrazólio-I e emergência em solo aos 21 e 28 dias após a semeadura (d.a.s.). ESAL, Lavras-MG, 1992.....	35
2	Comparação dos resultados médios do percentual de viabilidade de sementes de <i>Brachiaria decumbens</i> Stapf. cv. <i>Basilisk</i> , determinados pelo teste de pH do exudato-fenolftaleína, nos tempos de embebição de 75 e 90 minutos, com os do teste de tetrazólio-I. ESAL, Lavras-MG, 1992.....	36
3	Comparação dos resultados médios do percentual de sementes viáveis de <i>Brachiaria decumbens</i> Stapf. cv. <i>Basilisk</i> , pelo teste de pH do exudato-fenolftaleína, nos tempos de embebição de 75 e 90 minutos, e pelo teste de tetrazólio - II. ESAL, Lavras-MG, 1992.....	37
4	Comparação dos resultados médios do percentual de viabilidade de sementes de <i>Brachiaria decumbens</i> Stapf. cv. <i>Basilisk</i> , determinados pelo teste de pH do exudato-fenolftaleína, nos tempos de embebição de 75, 60 e 90 minutos, utilizando-se o tamanho de gota de carbonato de sódio de 14 µl, à temperatura de 25 °C, com os dos testes de tetrazólio e emergência em solo aos 28 dias após a semeadura (d.a.s.). ESAL, Lavras-MG, 1993.....	46

RESUMO

ANDRADE, Alan Carvalho. **Adaptação do teste rápido (pH do exudato-fenolftaleína), para estimar a viabilidade de sementes de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf).** Lavras: ESAL, 1994. 67p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).

Foram conduzidos experimentos objetivando avaliar a viabilidade da utilização do teste do pH do exudato-fenolftaleína, na determinação rápida do potencial de germinação de sementes de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basilisk*) e a influência do período e temperatura de embebição e tamanho de gota do carbonato de sódio, na execução do teste. A presente pesquisa foi conduzida no Laboratório de Análise de Sementes da ESAL, Lavras-MG.

Os resultados do teste de pH do exudato foram comparados com os dos testes de germinação padrão, tetrazólio e emergência em campo, de cinco lotes de sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basilisk*. O delineamento utilizado foi blocos casualizados com quatro repetições de cinquenta sementes. No teste de fenolftaleína, foi adotado o esquema fatorial, sendo 5 lotes x 4 tempos de embebição (45; 60; 75 e 90

* Orientador: Maria das Graças Guimarães Carvalho Vieira. Membros da banca: Maria Laene Moreira de Carvalho, Antônio Ricardo Evangelhista e João Almir de Oliveira.

minutos), com 5 repetições de 20 sementes. As médias foram comparadas pelo teste Tukey ao nível de 1% de significância e foi conduzida análise de correlação simples entre os resultados. Foi detectada a viabilidade da utilização do teste do pH do exudato-fenolftaleína para se estimar de forma rápida o potencial germinativo de sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basilisk*.

Nos experimentos sobre a influência do período e temperatura de embebição e tamanho de gota do carbonato de sódio na execução do teste de fenolftaleína, foram estudados 5 lotes, utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial [5 lotes x 3 tempos de embebição (60; 75 e 90 minutos) x 3 tamanhos de gota de carbonato de sódio (12; 14 e 16 μ l)], em 4 repetições de 50 sementes para cada tratamento. Foram utilizadas as temperaturas de 25 °C e 35 °C nos ensaios I e II, respectivamente. O perfil fisiológico e sanitário destes lotes, usados na comparação dos resultados, foi determinado pelos testes padrão de germinação, tetrazólio, emergência em solo e sanidade, onde se utilizou o delineamento de blocos casualizados com 4 repetições de 50 sementes, para cada tratamento do fatorial 5 Lotes x 2 tratamentos (ausência e presença de escarificação química). As médias foram comparadas pelo teste Tukey à 1% de probabilidade e foi efetuada a análise de correlação simples entre os resultados de todos os testes. Embora o tempo de 75 minutos à 35 °C, associado aos tamanhos de gota de 12 e 16 μ l tenham apresentado coeficientes de correlação altamente significativos com os demais testes, os percentuais de viabilidade foram subestimados e superestimados, respectivamente, em relação a estes. O tempo de embebição de 75 minutos à 25 °C, associado ao tamanho de gota de carbonato de sódio de 14 μ l propiciou maior precisão de resultados.

SUMMARY

VIABILITY OF THE USE OF THE EXUDATE pH TEST TO FAST ESTIMATE SEED VIABILITY OF TROPICAL GRASS (*Brachiaria decumbens* STAPF).

The purpose of this study was to evaluate the possibility of the use of the pH test (Phenolphthalein test) to estimate seed viability of tropical grass (*Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basilisk.*) in a short period of time. The work also aimed to study the influence of the imbibition period, imbibition temperature and drop size of sodium carbonate in the test methodology. The research was performed at the Seed Analysis Laboratory of the Agriculture Department of the Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras-MG, Brazil.

In order to evaluate the viability of the use of the exudate pH test, five seed lots were selected and then submitted to the pH, standard germination, tetrazolium and field emergence tests. These tests were conducted in randomized block design having four replicates of fifty seeds. The exudate pH test, was carried out in a factorial scheme, five seed lots X four periods of imbibition time (45, 60, 75 and 90 minutes), using five replicates of twenty seeds. The average data were compared by Tukey test at 1% probability and the correlation analysis was also done. The results showed that the exudate pH test proved to be

feasible to fast estimate seed viability of tropical grass (*Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basilisk*.) seed lots.

In the trials dealing with the imbibition period, imbibition temperature and drop size of sodium carbonate, five seed lots were used having as statistical model a randomized experiment in a factorial scheme [5 seed lots X 3 imbibition periods (60, 75 and 90 minutes) X 3 drop sizes of sodium carbonate (12, 14 and 16 μ l)], with four replicates of fifty seeds for each treatment. The imbibition temperatures used in the trial one was 25 °C and in other 35 °C. The physiological and health quality of the seed lots used in the comparisons of the results were determined by the standard germination test, tetrazolium, soil emergence and blotter test. As statistical design it was used the randomized blocks in a factorial scheme [5 seed lots X 2 chemical scarification treatments (treated and untreated seeds), with four replicates of fifty seeds. The statistical means were compared by Tukey test at 1% probability and statistical analysis of simple correlation between all results of these tests were carried out.

Although the imbibition period at 35 °C, associated with drop size of 12 and 16 μ l of sodium carbonate, has presented highly significative correlation coefficients with the other tests, the viability percentages were underestimated and overestimated, respectively, in relation to those tests.

On the other hand, the imbibition time of 75 minutes at 25 °C associated with the drop size of 14 μ l provided results, closer to the results indicated by the other conventional tests in the present study.

1 INTRODUÇÃO

Na formação de pastagens melhoradas, a *Brachiaria decumbens* é a principal espécie do gênero e compõe a maior parte das pastagens no país. No entanto, a maioria das sementes de gramíneas forrageiras tropicais, possui fatores que dificultam a obtenção de altas produções de sementes de boa qualidade.

Santos Filho (1990) comenta que os valores culturais médios de mercado têm se apresentado em torno de 40 % para a *Brachiaria decumbens* e de 35 % para a *Brachiaria brizantha*, os quais são considerados baixos quando comparados aos índices exigidos para exportação, de 72 e 63 %, respectivamente. Esse baixo valor cultural apresentado comumente pelo produto comercializado é, segundo Santos Dias (1990), devido principalmente, à desuniformidade de florescimento e maturação, ao emprego de métodos e épocas de colheita inadequados e ao beneficiamento ineficiente. Além destes, o autor cita também, a presença de dormência pós-colheita como outro fator que pode contribuir para essa redução.

O desenvolvimento de métodos rápidos na avaliação da viabilidade de sementes, tem sido uma tônica entre os pesquisadores de diversos países, tendo em vista a necessidade por parte dos produtores de sementes em tomar decisões rápidas não só sobre o aproveitamento

ou descarte de seu produto, como também para se conseguir eficiência no programa de qualidade da empresa.

Para que os testes utilizados neste tipo de avaliação, cumpram seus objetivos, é necessário que sejam rápidos, simples, seguros, de baixo custo, possibilitando assim seu uso em larga escala como testes rotineiros (Fernandes, Sader e Carvalho, 1987 e Marcos Filho, Cícero e Silva, 1987).

Vários testes desta natureza têm surgido, sem contudo atingirem todos os requisitos e objetivos. O teste de pH do exudato - fenolftaleína desenvolvido por Amaral e Peske (1984a), tem se mostrado eficiente em prever a viabilidade de sementes de soja e se destaca por ser um método que atende à maioria dos requisitos acima mencionados. Com isso, alguns estudos têm sido realizados, buscando a adaptação de sua metodologia para outras espécies.

No caso de capim-braquiária, o teste que tem sido universalmente empregado para prever a viabilidade é o teste padrão de germinação, o qual leva cerca de 30 dias para fornecimento de resultados. Visando a possibilidade da utilização do teste de pH do exudato (Teste de Fenolftaleína), na determinação rápida do potencial de germinação de sementes desta espécie e estudar a influência do período e temperatura de embebição e tamanho de gota do carbonato de sódio no teste do pH do exudato-fenolftaleína, a presente pesquisa foi desenvolvida.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Deterioração de Sementes

O processo de deterioração de sementes é muito complexo, e várias teorias têm sido propostas para explicá-lo. Todavia, as causas primárias da deterioração de sementes, local, natureza e a sequência das reações bioquímicas envolvidas ainda permanecem desconhecidas (Abdul-Baki e Anderson, 1972; Bewley, 1986). A teoria da inativação enzimática e a teoria da degeneração das membranas celulares, têm sido atualmente, as mais estudadas.

Pela teoria da inativação enzimática, a perda da viabilidade das sementes seria uma consequência da diminuição da atividade das enzimas relacionadas com o processo respiratório, existindo uma boa correlação entre viabilidade das sementes e a atividade de enzimas como a descarboxilase do ácido glutâmico, no caso específico de gramíneas (Popinigis, 1985).

Hibbard e Miller (1928), trabalhando com sementes de milho, trigo, ervilha e outras, encontraram evidências, baseando-se em observações da condutividade das soluções de embebição das sementes, que o processo de deterioração está relacionado com a permeabilidade das membranas celulares. Essas observações, foram confirmadas posteriormente, por vários outros autores (Pollock e Toole, 1966; Matthews e Bradnock, 1968; Ching e Schoolcraft, 1968; Takayanagi e Murakami, 1968; Abdul-Baki e Anderson, 1970; Bradnock e Matthews, 1970; entre outros).

Em meados da década de 50, Harman (1956) propôs uma hipótese para explicar a deterioração nos sistemas biológicos. Ele sugeriu que havia um fator comum nas mutações, carcinogênese e envelhecimento, como resultado de radiações deletérias, bem como do metabolismo normal. A formação de grupos químicos denominados radicais livres, fator comum, que seriam formados pelo efeito de radiações ionizantes, pela quebra de oxigênio molecular, pela ação de enzimas de metais de transição e através de processos metabólicos normais. Desta forma, a deterioração foi hipotetizada como sendo uma consequência do ataque dos radicais livres aos constituintes celulares e tecidos de ligação.

Mais tarde, Harman (1969), constatou que a maior fonte de radicais livres nos tecidos vivos seria resultante da peroxidação de lipídios, ou seja, o processo de formação dos radicais livres através da atividade metabólica da célula, é consequência da reação de lipídios estruturais, principalmente os polinsaturados, com o O_2 , resultando radicais livres e peróxidos instáveis, daí a denominação de peroxidação de lipídios.

Segundo Wilson Jr. e McDonald Jr. (1986), ao serem formados em tecidos de metabolismo alterado, os radicais livres podem vazar para tecidos vizinhos, causando danos

biológicos. Existe uma grande quantidade de tipos de radicais livres, mas os mais importantes são a hidroxila (OH) e o superóxido (O_2).

As membranas celulares representam um sítio chave de danos diretos da peroxidação de lipídios, por possuírem uma área de superfície inerentemente grande e por serem usualmente mais insaturadas que os lipídios de armazenamento (Mead, 1976). Lehninger (1985) descreve as membranas celulares como sendo uma bicamada de lipídios polares, associados a diferentes proteínas, ou seja, as da superfície, denominadas extrínsecas, cuja função seria a de "capturar" íons nas proximidades da membrana celular possibilitando posteriormente sua entrada para o interior da célula e as internas à superfície da membrana, denominadas intrínsecas, que têm a função de permitir o transporte de moléculas através desta. Em situações de trocas intensas, à exemplo das membranas do mitocôndrio, as proteínas intrínsecas são abundantes, chegando a ocupar até 80 % da área da membrana (Bewlew, 1986).

Os lipídios polares mais abundantes nas membranas celulares são os fosfolipídios, denominados polares, por possuírem grupos localizados em extremidades opostas e que se comportam de maneira distinta com relação à afinidade por água. Esses lipídios possuem um ou mais agrupamentos hidrofílicos, além de suas caudas hidrocarbonadas, que se constituem o grupo hidrofóbico. Essas caudas hidrocarbonadas são ácidos graxos de cadeias longas, sendo mais comuns no tecido vegetal os ácidos palmítico e esteárico (saturados) e oléico, linolêico e linolênico (insaturados) (Lehninger 1985).

Existem evidências de que a peroxidação de lipídios pode acarretar o aumento da permeabilidade das membranas (Simon, 1974). As membranas mitocondriais mais interiores são compostas de uma maior proporção de cadeias de ácidos graxos insaturados

que outras membranas (Moreu, DuPont e Lance, 1974). Desta forma, um aumento na permeabilidade da membrana mitocondrial pode provocar uma quebra do gradiente prótonico necessário para manter o acoplamento respiratório, afetando a atividade respiratória (Linnane e Crowfoot, 1975). Então, a consequência primária da peroxidação de lipídios nos tecidos pode ser a redução da eficiência respiratória, bem como da perda da integridade da membrana. A peroxidação de lipídios pode ser prejudicial aos organismos, 1)Pela destruição dos lipídios das membranas; 2)Pela remoção co-oxidativa de componentes celulares pelos radicais livres e 3)Pela formação de aldeídos citotóxicos. É importante ressaltar que a maioria desses mecanismos têm sido estudados aplicando substâncias exógenamente, em sistemas *in vitro*. (Wilson Jr. e McDonald Jr., 1986).

Koostra e Harrington (1969) foram os primeiros a propor a oxidação das membranas celulares como o principal mecanismo na deterioração de sementes. Eles argumentam que o ataque oxidativo poderia ser aleatoriamente iniciado em alguns dos ácidos graxos insaturados localizados na membrana plasmática. Esses sítios poderiam aumentar, via reação em cadeia dos radicais livres, através de pontes polares ao longo da barreira hidrofóbica da membrana, acarretando um aumento na permeabilidade associado com o envelhecimento.

Berjak e Villiers (1972), sugeriram que a perda da viabilidade de sementes pode ser o resultado da desintegração das membranas celulares e a mais importante ocorreria nas membranas do mitocôndrio. Isto causaria um decréscimo na eficiência do mecanismo respiratório, cuja consequência final seria a perda da viabilidade.

Delouche e Baskin (1973) sugeriram que a deterioração de sementes envolve uma sequência hipotética de eventos, que se inicia com a desorganização das membranas e perda

do controle de sua permeabilidade, culminando com a redução do poder germinativo e morte da semente.

No entanto, a correlação entre a peroxidação de lipídios e a deterioração de sementes nem sempre tem sido verificada. Segundo Wilson Jr. e McDonald Jr. (1986), os trabalhos realizados com o objetivo de demonstrar essa associação, se basearam no monitoramento do conteúdo de fosfolipídios e na detecção de malondialdeído, que é um produto secundário da peroxidação. Esses autores apontam várias deficiências nesses estudos, destacando como as mais críticas, o uso de sementes envelhecidas artificialmente e a falta de objetividade na diferenciação entre causas e efeitos potenciais da deterioração. Estes, entre outros fatos, propiciaram resultados conflitantes, quando se buscou demonstrar a associação da peroxidação de lipídios e a deterioração de sementes.

Alguns autores (Koostra e Harrington, 1969; Villiers, 1973; Pammenter, Adamson e Berjak, 1974; Harman e Mattick, 1976; Berjak, 1978; Gorecki e Harman, 1987; Flood e Sinclair, 1981 e Basavarajappa, Shetty e Prakash, 1991), sugerem que a deterioração conduz a uma redução no conteúdo de lipídios na semente e conseguiram encontrar evidências dessa redução.

Outros, como Priestley e Leopold (1983) e Powell e Harman (1985) não encontraram tal correlação e argumentam que os estudos que objetivam medir a variação de lipídios em sementes deterioradas têm feito uso de técnicas de envelhecimento artificial, o que pode levar a resultados diferentes daqueles em que o envelhecimento é "natural". Relatam ainda que não encontraram qualquer alteração significativa nos níveis de tocoferol e de radicais livres em sementes de cinco cultivares de soja. Pelo trabalho destes pesquisadores, nem a

perda de fosfolipídios nem o acúmulo de hidroperóxidos apresentaram-se consistentemente associados ao envelhecimento de sementes.

Desta forma, apesar dos diversos autores concordarem que a primeira consequência da deterioração de sementes, seja a desestruturação de sistemas membranais e consequente aumento da permeabilidade, não chegaram a um consenso sobre quais seriam as causas básicas dessa deterioração.

Com base no aumento de permeabilidade das membranas celulares e consequentemente do fluxo de solutos, diversos pesquisadores têm analisado a composição do exudato de sementes em embebição e estabelecido correlações com a viabilidade de sementes. Neste sentido, diferentes testes visando prever a viabilidade e o vigor de sementes, têm sido propostos (Takayanagi e Murakami, 1968; Abdul-Baki e Anderson, 1970; Matthews e Bradnock, 1968; Matthews e Powell, 1981; Woodstock e Taylorson, 1981; Amaral e Peske, 1984a; Fernandes, Sader e Carvalho, 1987; Barros, 1988; Franco, Petrini e Amaral, 1984; Carvalho, 1992; Deswal e Sheoran, 1993 e Tyagi, 1993).

2.2 Testes Rápidos para a Avaliação da Qualidade de Sementes

A necessidade de métodos rápidos para se estimar ou prever o comportamento germinativo de sementes tem sido de longa data reconhecido (Delouche et al., 1976). Vários autores comentam que estes testes são de fundamental importância em programas de controle de qualidade de sementes, com necessidade de utilização em diversas fases do sistema de produção tais como: semeadura, colheita e outras etapas da produção e

beneficiamento (Amaral e Peske, 1984a; Fernandes, Sader e Carvalho, 1987; Marcos Filho, Cícero e Silva, 1987).

Dentre os testes rápidos que têm sido propostos, o teste de tetrazólio, baseado na atividade das enzimas desidrogenases, apresenta bons resultados, requerendo porém, analistas altamente especializados para sua execução (Amaral e Peske, 1984a; Fernandes, Sader e Carvalho, 1987 e Marcos Filho, Cícero e Silva, 1987).

Waller (1901), trabalhando com método elétrico para determinar a viabilidade, demonstrou que sementes viáveis, quando submetidas à uma corrente elétrica, apresentaram as chamadas "correntes marcadas", as quais poderiam ser medidas galvanometricamente e que as sementes mortas reagiriam diferentemente ao tratamento. Trabalhos posteriores mostraram que a técnica era razoavelmente segura, mas requeria muito tempo e considerável competência técnica.

Hibbard e Miller (1928), fizeram experimentos baseados na premissa de que as sementes não viáveis apresentavam seu sistema de membranas mais permeável do que a de sementes viáveis, e que em consequência os eletrólitos lixiviavam mais rapidamente das sementes mortas ou velhas. Embebendo uma quantidade de sementes em água, ou em uma solução diluída de permanganato de potássio e posteriormente medindo a resistência elétrica da água de embebição, estes autores, determinaram que a resistência elétrica variou diretamente com a viabilidade e que a capacidade germinativa das sementes poderia desta forma, ser estimada com certa precisão.

Mais recentemente, baseado no princípio de que a membrana celular é a primeira estrutura da semente a exibir alterações degenerativas, vários pesquisadores (Woodstock, 1973; Heydecker, 1974; Mullett e Considine, 1980; Woodstock e Taylorson, 1981; Amaral

e Peske, 1984a e Deswal e Sheoran, 1993), concentraram seus esforços no estudo da composição do exudato de sementes embebidas em água e suas correlações com a viabilidade.

Heydecker (1974) observou que a falta de integridade das membranas pode propiciar lixiviação de açúcares, aminoácidos, proteínas, eletrólitos, enzimas mitocondriais e outras substâncias solúveis em água. Woodstock (1973) destacou que a lixiviação de metabólitos das sementes está inversamente associada ao seu vigor, uma vez que reflete a perda da integridade das membranas; perda de constituintes essenciais da célula e pode favorecer a associação de microorganismos. Takayanagi e Murakami (1968) relataram que a exudação de açúcares de sementes embebidas em água destilada, tem se destacado dentre as características bioquímicas utilizadas para se distinguir sementes viáveis das não viáveis. Segundo esses autores, houve um aumento em monossacarídeos, frutose e glucose, no soluto exudado, de sementes não viáveis em comparação ao de sementes viáveis.

Woodstock e Taylorson (1981), correlacionaram níveis de acetaldeído e etanol de sementes de soja embebidas em água, com deterioração. Esses autores constataram que a elevação dos níveis de acetaldeído e etanol durante a embebição foram mais acentuados em sementes de baixo vigor do que em sementes vigorosas, sendo que nas de baixo vigor, os níveis de etanol aumentaram cerca de 40 vezes, decorridos apenas 30 minutos de embebição à 25 °C.

Em seus comentários, estes autores citam que as sementes vigorosas também apresentaram aumentos nos níveis dessas substâncias e concluíram que estes aumentos concordam com os trabalhos de Crawford e McManmon (1968), que sugere que algum grau de anoxia e/ou ainda com os de Morohashi e Shimokoriana (1975) os quais inferem que

atraso na ativação das atividades mitocondriais em relação à glicólise, podem ser características de sementes normais. Já os níveis altamente elevados de etanol e acetaldeído, os quais aparecem durante a embebição de sementes deterioradas, podem ser explicados com base no trabalho de Stewart e Bewley (1980), os quais propõem que o decréscimo nas atividades mitocondriais, pode ser devido às trocas peroxidativas nas membranas mitocondriais, sendo que, tais trocas poderiam conduzir à um desarranjo na integração entre glicólise e o ciclo de Krebs, com um resultado de desequilíbrio severo e acúmulo de etanol e acetaldeído. Desta forma, ainda que leve e transitório desequilíbrio possa ser tolerado e também ser de frequente ocorrência em sementes não envelhecidas, uma intensificação deste desequilíbrio ocorre durante a deterioração.

Popinigis (1985), comentando os mecanismos respiratórios da semente, descreve que a glicólise compreende uma série de reações que ocorrem no citoplasma, iniciando com uma hexose (geralmente glicose) e terminando com a formação de ácido pirúvico, sendo que este produto final, dependendo da presença ou ausência de oxigênio, pode sofrer transformações subsequentes, com a formação de etanol e CO_2 , conforme a seguinte reação final: ácido pirúvico \Rightarrow acetaldeído \Rightarrow etanol + CO_2 . Este autor comenta ainda, que as enzimas que catalizam estas reações são uma carboxilase e uma desidrogenase.

Mullett e Considine (1980), trabalhando com ervilha e feijão, observaram que os níveis de K^+ e o total de eletrólitos exudados de sementes embebidas em água, se correlacionaram com a condição fisiológica da semente. A extensão e a taxa de perda de K^+ e de eletrólitos totais variou com a condição da semente. As sementes envelhecidas artificialmente por 15 a 20 dias, perderam mais K^+ durante as primeiras quatro horas de embebição do que as envelhecidas por 10 dias ou menos. Quando o período de

envelhecimento aumentou, a habilidade da semente em restabelecer a semi-permeabilidade da membrana ficou reduzida, resultando em maiores perdas de K^+ durante os estágios iniciais de embebição. No entanto, Marcos Filho et al. (1984) trabalhando com sementes de soja, observaram que a utilização exclusiva da lixiviação de K^+ poderia conduzir à uma interpretação inadequada sobre a qualidade dos lotes estudados, pois o teste se mostrou pouco sensível às diferenças de vigor entre a maioria dos lotes.

Matthews e Bradnock (1968) trabalhando com ervilha, desenvolveram o teste de condutividade elétrica do exudato de sementes. Posteriormente, Duke e Kakefuda (1981) relataram a possibilidade de se medir as substâncias lixiviadas, quando da embebição das sementes em água, através do teste de condutividade elétrica. Os testes baseados na condutividade dos exudatos podem correlacionar com a germinação dependendo da espécie, cultivar,, temperatura, umidade e vigor da semente (Perl e Feder, 1983 e Tao, 1978).

Marcos Filho, Cícero e Silva (1987) comentam que a avaliação da qualidade das sementes, baseada na perda de eletrólitos, dá indicação do desempenho da planta em relação ao índice de emergência e o crescimento vegetativo precoce.

Alizaga et al. (1969), em estudos de avaliação de testes de vigor em sementes de feijão, concluíram que dentre os diversos testes, o de lixiviação de aminoácidos (4 horas) foi um dos que melhor diferenciou os níveis de vigor das sementes, apresentando correlação com a emergência em campo.

Recentemente, Deswal e Sheoran (1993), utilizando exudatos individuais de sementes de algodão, ervilha e outras espécies, submetidas ou não ao envelhecimento artificial, obtiveram altas correlações entre os resultados de densidade óptica através de espectrofotometria e o teste de condutividade elétrica. Observaram os autores, que em

sementes mais deterioradas houve lixiviação de maiores quantidades de ácidos nucléicos, nucleotídeos e compostos fenólicos. Comentam ainda que este teste apresentou-se bastante sensível, seguro, simples, rápido e reproduzível, podendo ser usado em sementes de qualquer tamanho.

Franco, Petrini e Amaral (1984), desenvolveram o teste de timerosal, comercialmente conhecido como Merthiolate, o qual se baseia na reação deste composto com o exudato de sementes embebidas em água, resultando em coloração laranja brilhante para sementes viáveis e avermelhada para deterioradas. Observaram esses pesquisadores, que as alterações de coloração ocorreram em função do pH dos exudatos.

Também baseado no pH do exudato, Amaral e Peske (1984a) desenvolveram um método colorimétrico, denominado teste de fenolftaleína. O princípio bioquímico do teste pode hipoteticamente ser descrito, da seguinte maneira: a organização do sistemas de membranas à nível celular, em sementes, pode refletir seu estágio de deterioração e conseqüentemente, a qualidade fisiológica. Assim, durante a embebição e previamente à reorganização das membranas, há liberação do conteúdo citoplasmático. A liberação de maiores quantidades de íons H^+ contribui para acidificar o meio e, como o pH baixo tem efeitos negativos sobre a atividade enzimática, pode estar desfavoravelmente relacionado à germinabilidade de sementes (Marcos Filho, Cícero e Silva, 1987).

Quando as sementes são submetidas à embebição em água, lixiviam maior ou menor quantidade de íons H^+ dependendo do seu estágio de deterioração, sendo que, as mais deterioradas apresentam maior lixiviação desses íons e conseqüentemente exudatos mais ácidos, com menor valor de pH; em contrapartida as sementes menos deterioradas originarão exudatos com valores de pH mais elevados (Amaral e Peske, 1984a).

Esses mesmos autores sugerem a possibilidade do CO_2 estar envolvido nessa acidificação ($\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \Leftrightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$), uma vez que em seus trabalhos, o exudato das sementes mortas ou em adiantado estágio de deterioração, apresentava teor de CO_2 livre de 116.0 mg/l, enquanto que no exudato das sementes viáveis, esse teor foi de 60.8 mg/l e a água destilada utilizada apresentava 4 mg de CO_2 livre por litro.

Trabalhando com soja, estes pesquisadores obtiveram correlação positiva entre viabilidade e pH do exudato de sementes, embebidas em água, e determinaram o período de 30 minutos de embebição como ótimo. Esses mesmos autores em 1985, destacaram como vantagens do teste de pH do exudato-fenolftaleína, a rapidez, simplicidade, precisão, ser de fácil avaliação e baixo custo. Ressaltam ainda os autores a possibilidade de seu uso para outras espécies (Amaral e Peske, 1985).

2.3. Fatores que Afetam o Teste de pH do Exudato-Fenolftaleína

Segundo Mayer e Poljakoff-Mayber (1989), o processo de embebição depende, da composição química da semente, da permeabilidade do tegumento à água e da disponibilidade desta na forma líquida ou gasosa, no ambiente em que o processo está ocorrendo.

Um dos pontos importantes na determinação do exudato de sementes é o tempo de embebição. Simon e Raja-Harun (1972), trabalhando com sementes de ervilha, relataram que a exudação inicia-se assim que os embriões secos começam a embeber e os eletrólitos exudados partem de dentro do embrião.

Matthews e Rogerson (1976) observaram que a maior lixiviação de solutos ocorreu durante as primeiras horas de embebição da semente. Sugeriram que as diferenças ocorridas entre lotes de sementes foram devido mais à retenção de solutos dentro do citoplasma do que às diferenças na taxa de restabelecimento da membrana.

Parrish e Leopold (1977) estudando mudanças ocorridas durante o processo de embebição em sementes de soja, verificaram que a membrana da semente muda de porosa para menos permeável com o decorrer do processo de embebição e que as mudanças físicas ocorrem nos primeiros momentos de entrada de água.

A embebição se processa mais rapidamente em altas temperaturas, devido à menor viscosidade da água e sua energia cinética, nestas condições (Mayer e Poljakoff-Mayber, 1989). De acordo com Holtzman e Novikoff (1985) a elevação da temperatura aumenta a fluidez da membrana citoplasmática, permitindo que a água a atravesse com maior facilidade. Dentro de determinados limites, a velocidade de embebição da água pela semente aumenta com a elevação da temperatura, isto porque, aquecendo-se a água aumenta-se a energia cinética desta, resultando num aumento de pressão de difusão da água, além de um incremento da atividade metabólica a qual também contribui para aumentar a velocidade de embebição da semente (Popinigis, 1985). Este mesmo autor afirma que quando a semente está em embebição, o aumento do volume de água no seu interior exerce pressão sobre as membranas, gerando como reação, pressão de igual magnitude e em sentido oposto, denominada pressão hidrostática. Esta pressão atuando sobre a água embebida, aumenta a pressão de difusão desta, fazendo com que parte da mesma difunda-se para fora da semente. O autor comenta ainda que sementes imaturas e sementes deterioradas absorvem água mais rapidamente, sendo que este fato está associado à maior permeabilidade das membranas

nestas sementes. Vieira (1980) observou um aumento na absorção de água pela semente de soja com o retardamento da colheita e atribuiu este fato a um aumento na permeabilidade das membranas, ocasionado pelo processo de deterioração.

Amaral e Peske (1984a), trabalhando com sementes de soja, relatam como aspectos importantes na execução do teste de pH do exudato-fenolftaleína, o grau de umidade das sementes, tempo de embebição e qualidade da água utilizada. Foi observada uma variação na tonalidade rosa forte, entre sementes de diferentes cultivares, concluindo que o tempo de embebição de 30 minutos, foi o que estimou com relativa precisão o potencial de germinação destas sementes.

Estes autores observaram também, que algumas células com sementes apresentavam uma coloração mais forte do que as células que continham apenas água, indicando assim, que no estágio inicial de embebição o pH do exudato das sementes aumenta. Esta observação pode ser explicada, segundo os autores, com base nos trabalhos de Loomis e Smith (1980), onde salientam que no processo de embebição das sementes os íons Ca, Mg, Mn, K e Cl são lixiviados, ocasionando a elevação do pH do exudato das sementes. Amaral e Peske (1984b), observaram que após um certo período de embebição, todas as sementes de soja que apresentaram o exudato com valor de pH menor ou igual a 5.8, eram sementes mortas e que este valor seria o limite mais provável entre sementes viáveis e não-viáveis.

Fernandes, Sader e Carvalho (1987) trabalhando com sementes de sete cultivares de feijão, as quais apresentavam grau de umidade variando de 13-14 %, e utilizando a mesma metodologia descrita por Amaral e Peske (1984a), obtiveram resultados semelhantes entre os testes de pH do exudato-fenolftaleína e o teste padrão de germinação para quatro das cultivares estudadas. Estes autores relatam ainda, que grande parte das sementes oriundas

da solução incolor, quando submetidas ao teste padrão de germinação, apresentaram plântulas normais. Salientam que o teste de pH do exudato-fenolftaleína, para sementes de feijão, necessita ainda de maiores estudos quanto à composição dos exudatos, tempo de embebição, grau de umidade das sementes e pH do exudato.

Barros (1988), utilizando diferentes períodos de tempo de embebição e vários lotes de sementes de soja de três cultivares, com níveis de qualidade fisiológica diferenciados, constatou que não ficou suficientemente caracterizado, qual o período de tempo de embebição que proporcionou uma separação mais eficiente dos lotes, provavelmente pelas diferenças de qualidade muito pequenas entre os mesmos. Entretanto, com o período de embebição de 20 minutos, de um modo geral, os valores obtidos foram numericamente maiores, em relação aos obtidos com 30 minutos. Este fato evidencia a menor lixiviação quando o teste é realizado em 20 minutos, confirmando as observações de Amaral e Peske (1984a).

Barros (1988) destaca também a importância da padronização de procedimentos, visando uma maior uniformidade de resultados principalmente no que se refere ao volume de água, período e temperatura de embebição, bem como o peso das gotas das soluções de carbonato de sódio e fenolftaleína, sendo que estes fatores podem originar alterações nas colorações dos exudatos das sementes, provocando interpretações errôneas. Neste mesmo trabalho, o autor ainda concluiu que o teste de pH do exudato-fenolftaleína realizado com 30 minutos de embebição, apresentou tendência de comportamento semelhante ao teste de germinação, mas que por outro lado, os resultados do teste superestimaram a viabilidade das sementes, nos lotes com maior grau de deterioração, nos dois períodos de tempo de embebição utilizados.

Marcos Filho, Cícero e Silva (1987), referindo-se ao teste de pH do exudato-fenolftaleína, ressaltam a necessidade de utilização de amostras com grau de umidade uniforme, para a obtenção de resultados mais precisos.

Carvalho (1992) trabalhando com seis amostras de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.), com linter e deslinteradas quimicamente com ácido sulfúrico, testou seis tempos de embebição associados à três temperaturas na execução do teste de pH do exudato-fenolftaleína. O aumento do período de tempo de embebição proporcionou a redução do pH nos exudatos das sementes, sendo que este fator apresentou alta dependência da temperatura de embebição. O teste aplicado em sementes deslinteradas quimicamente apresentou potencialidade para estimar a viabilidade de sementes, enquanto que, quando aplicado em sementes com linter mostrou capacidade de separação de lotes de diferentes níveis de qualidade.

Chamma, Dias e Marcos Filho (1993), trabalhando com sementes de milho, utilizaram sementes inteiras e cortadas transversalmente na extremidade superior (cerca de 2 mm), sem atingir o embrião, para a execução do teste de pH do exudato-fenolftaleína. Realizaram determinações do pH dos exudatos, antes e após a adição das soluções de carbonato de sódio e fenolftaleína, concluindo que não foi possível identificar um valor limite de pH que permitisse a separação entre sementes viáveis e inviáveis, não havendo uma relação definida entre coloração do exudato e capacidade de germinação das sementes.

Avanços para a determinação da metodologia adequada do teste de pH do exudato-fenolftaleína em sementes de milho, foram alcançados por Peske et al. (1990), ao trabalharem com duas concentrações das soluções de fenolftaleína e carbonato de sódio anidro. Os autores conseguiram para o tratamento 20 minutos de embebição das sementes à

0.5% de fenolftaleína e 0.8 g/l de Na_2CO_3 , uma correlação de 90% com o teste padrão de germinação. Apesar da alta correlação, o tipo de preparo para o acondicionamento, por secção da semente ao longo do eixo embrionário, não apresentou correlação para lotes de baixa qualidade fisiológica.

Tyagi (1993) utilizando o teste de pH do exudato-fenolftaleína para estimar a viabilidade de sementes de dois lotes de soja, de três cultivares, provenientes de duas épocas de colheita diferentes, verificou que o teste apresentou alta relação com o teste de germinação padrão, tendo porém, apresentado valores numéricos mais elevados que este.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido nos Laboratórios de Análise de Sementes (LAS) e Patologia de Sementes (LPS) da Escola Superior de Agricultura de Lavras (ESAL), Lavras- MG, em duas etapas, no período de 1992 a 1993.

3.1 Primeira Etapa - Aplicabilidade do Teste para *Brachiaria decumbens*

Para verificar a possibilidade de utilização do teste de pH do exudato-fenolftaleína na estimativa da germinabilidade de sementes de capim braquiária, foram selecionados do arquivo do Laboratório de Sementes da ESAL, 5 lotes de sementes safra 91/92, com diferentes níveis de qualidade fisiológica. Após homogeneização, retirou-se uma amostra para determinação do grau de umidade e o restante foi submetido ao teste de pureza física.

3.1.1 Determinação do Grau de Umidade

A umidade das sementes foi determinada através do método de estufa à 105 ± 3 °C, durante 24 horas conforme as prescrições das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). Foram utilizadas 2 sub-amostras para cada um dos 5 lotes em estudo, e os resultados foram expressos em porcentagem.

3.1.2 Separação das Sementes Puras

Foi realizada de acordo com as prescrições das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992), para o teste de pureza física, utilizando-se um assoprador vertical da marca “De Leo”, no auxílio da separação de impurezas. As sementes puras obtidas foram utilizadas nas determinações subsequentes.

3.1.3 Escarificação Química

Parte das sementes a serem utilizadas nos testes foram submetidas à escarificação química com ácido sulfúrico concentrado, com agitação intermitente por intermédio de um bastão de vidro, durante um período de 10 minutos. Decorrido este tempo, foram lavadas em água corrente, por igual período.

Após o tratamento de escarificação química, as sub-amostras foram imersas em uma solução neutralizante de carbonato de cálcio à uma concentração de 0.01% por 1 minuto,

[REDACTED]

tendo sido esta concentração e tempo, determinados através de ensaio preliminar. Em seguida, as sementes foram novamente lavadas em água corrente, pelo tempo de 10 minutos e postas a secar sob condição ambiente.

As sub-amostras foram acondicionadas e armazenadas em câmara fria e seca à $10 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e 45% de umidade relativa, até a realização dos testes.

3.1.4 Caracterização do Perfil Fisiológico dos Lotes

3.1.4.1 Teste Padrão de Germinação

O teste padrão de germinação foi realizado com 4 repetições de 50 sementes, para cada sub-amostra com e sem escarificação química. As sementes foram semeadas sobre duas folhas de papel marca "germibox", previamente umedecidos em uma solução de nitrato de potássio à 0.2%, acondicionadas em caixas plásticas do tipo "gerbox" e mantidas em germinador tipo "Mangelsdorf" marca Biomatic, à temperatura alternada de $20-35^{\circ}\text{C}$, com iluminação durante o período de 8 horas associada à temperatura mais alta. As avaliações foram feitas aos 7, 14 e 21 dias após a semeadura e seguiram as prescrições das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992).

3.1.4.2 Teste de Emergência em Solo

Em bandejas contendo solo:areia na proporção de 3:1, esterilizado em autoclave à 120 °C / 30 minutos, 4 repetições de 50 sementes de cada sub-amostra de cada lote, foram semeadas e mantidas em uma câmara de crescimento vegetal previamente regulada à 30°C, em regime alternado de 8 horas luz e 16 horas no escuro. As avaliações constaram da contagem do número de plântulas emergidas aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura, sendo que os resultados foram expressos em porcentagem.

3.1.4.3 Teste de Tetrazólio

Após embebição em água por 18 horas, à temperatura de 25°C, 4 repetições de 50 sementes das sub-amostras que não foram submetidas à escarificação química, foram seccionadas longitudinalmente através do embrião, com o auxílio de um bisturi e imersas em solução 0.5% de tetrazólio por 4 horas, à 30 °C. As sementes foram examinadas individualmente sob microscópio estereoscópico para a determinação do percentual de germinação potencial, conforme prescrições das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). Este teste foi denominado teste de tetrazólio-I.

3.1.5. Teste de pH do Exudato-Fenolftaleína

Através de ensaios preliminares, determinou-se a necessidade da escarificação química, para que o processo de submersão e embebição das sementes se processasse, possibilitando desta forma a execução do teste de pH do exudato-fenolftaleína. Observou-se nestes ensaios ser inviável a execução do teste com sementes intactas.

Desta forma, foram utilizadas 5 repetições de 20 sementes/lote, retiradas das subamostras que foram submetidas à escarificação química. Posteriormente as sementes foram embebidas em água deionizada, pH próximo de 6.0, por 45, 60, 75 e 90 minutos. Para o processo de embebição das sementes foram utilizadas formas plásticas com células individualizadas de fundo côncavo de 2.7 cm de diâmetro e 1.8 cm de profundidade. Em cada célula foi colocado 1 ml de água deionizada e uma semente, sendo que para cada repetição deixou-se uma das células somente com água, para referência no ato da interpretação. Após os períodos de embebição, foi adicionado em cada célula, uma gota de solução de fenolftaleína (± 20 mg) e uma gota de solução de carbonato de sódio anidro (± 40 mg), agitando-se em seguida por meio de um bastão de vidro. A avaliação foi em função da coloração desenvolvida, sendo que as sementes avaliadas em normais, anormais e mortas, apresentavam respectivamente, as colorações rosa forte, rosa fraco e incolor.

Durante o período de execução do teste, mediu-se a temperatura ambiente a qual permaneceu em torno de 25 ± 1 °C. Os resultados do teste de pH do exudato-fenolftaleína foram expressos em valores percentuais de sementes viáveis. As sementes, de cada categoria, foram em seguida submetidas à um teste de tetrazólio (Tetrazólio-II), conforme

metodologia descrita no item 3.3.5, à exceção da parte referente ao tempo de embebição para o acondicionamento.

3.1.6. Procedimento estatístico

O delineamento experimental utilizado nos testes laboratoriais foi o de blocos casualizados com 4 repetições. As médias foram comparadas pelo teste Tukey ao nível de 1% de significância. Também foi conduzida a análise de correlação simples entre os resultados de todos os testes realizados.

O teste de pH do exudato-fenolftaleína, foi montado em esquema fatorial, com: 5 lotes e 4 tempos de embebição.

3.2 Segunda Etapa - Tempo e Temperatura de Embebição das Sementes e Tamanho de Gota de Carbonato de Sódio

Inicialmente, 5 lotes de sementes de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basllisk*), foram selecionados, sendo 2 lotes da safra 91/92 e 3 lotes da safra 92/93. Amostras representativas destes lotes foram retiradas, homogeneizadas e submetidas à um teste de pureza física, conforme descrito no item 3.1.2., visando a obtenção de sementes puras para a execução dos testes posteriores.

Em seguida, estas amostras foram uniformizadas para 13% de umidade, utilizando-se de um determinador de umidade da marca "Dole", onde, através de testes preliminares, ficou estabelecida uma correspondência entre os valores da "escala-A" do aparelho e o grau de umidade das sementes, determinado pelo método da estufa. Desta forma, cada "amostra de trabalho" era submetida ao aparelho e, quando a leitura da "escala-A", correspondia ao valor que proporcionaria o grau de umidade almejado, separava-se 2 sub-amostras para a determinação do grau de umidade pelo método da estufa, conforme descrito no item 3.1.1., sendo o restante dividido em 5 sub-amostras. Cada uma das sub-amostras foi, separadamente embalada em envelopes de alumínio laminado, hermeticamente lacrados e armazenadas em câmara fria e seca (10 ± 2 °C e 45% U.R.), até a realização dos testes.

3.2.1 Escarificação Química

Parte das sub-amostras dos 5 lotes, foram submetidas à escarificação química, conforme descrito no item 3.1.3. e armazenadas em câmara fria e seca.

3.2.2 Caracterização do Perfil Fisiológico dos Lotes

3.2.2.1 Teste Padrão de Germinação

O teste padrão de germinação foi realizado conforme descrito no item 3.1.4.1.

3.2.2.2 Teste de Emergência em Solo

O teste de emergência em solo foi realizado em canteiros, em 4 repetições de 50 sementes tanto para as submetidas ao tratamento de escarificação química, quanto para as não submetidas, dos 5 lotes estudados. As avaliações foram efetuadas aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura e os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais estabelecidas.

3.2.2.3 Teste de Tetrazólio

Conforme descrito no item 3.1.4.3. da primeira etapa.

3.2.2.4 Teste de Sanidade

A avaliação da sanidade das sementes, foi efetuada pelo método de papel de filtro ("Blotter Test"), conforme descrito nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). Foram utilizadas 8 repetições de 25 sementes para cada uma das sub-amostras submetidas e não, à escarificação química. As sementes foram mantidas em câmara de incubação por um período de 7 dias, sob regime alternado de luz negra (N.U.V.) e 12 horas de escuro, à uma temperatura de 20 ± 1 °C. Decorrido este período, foi realizado o exame das sementes sob microscópio estereoscópico, sendo determinado o percentual e a identificação dos fungos ocorrentes.

3.2.3 Teste de pH do Exudato-Fenolftaleína

Para o estudo dos fatores período e temperatura de embebição e tamanho de gotas do carbonato de sódio, foram realizados 2 ensaios.

3.2.3.1 Ensaio I - Embebição à Temperatura de 25^oC

Para a execução do teste, foram utilizadas 20 repetições de 15 sementes da sub-amostra que foi submetida à escarificação química, de cada um dos 5 lotes, em três tempos de embebição (60, 75 e 90 minutos) utilizando-se 3 tamanhos de gota de carbonato de sódio (12, 14 e 16 µl) para a reação. O processo de embebição processou-se à 25^oC.

Os procedimentos para a execução do teste foram idênticos aos descritos no item 3.1.5., à excessão da forma plástica utilizada para a embebição, a qual neste caso, possuía 90 células, sendo que para cada repetição, 15 células foram mantidas somente com água para servir de referência na interpretação e do tamanho da gota de fenolftaleína que foi de 8µl.

3.2.3.2 Ensaio II - Embebição à Temperatura de 35^oC

O procedimento foi o mesmo do ensaio I, com excessão da temperatura utilizada no processo de embebição, que foi de 35^oC.

3.2.4 Procedimento Estatístico

O delineamento experimental utilizado nos testes para a caracterização do perfil fisiológico foi o de blocos casualizados em esquema fatorial com: 5 lotes X 2 tratamentos (com e sem escarificação química). O teste de pH do exudato-fenolftaleína, também foi montado em esquema fatorial, utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado, sendo que nos ensaios I e II o fatorial foi: 5 lotes X 3 tempos de embebição (60, 75 e 90 minutos) X 3 tamanhos de gota de carbonato de sódio (12, 14 e 16 μ l).

Analogamente ao descrito no item 3.1.6. da primeira etapa, as médias foram comparadas pelo teste Tukey ao nível de 1% de probabilidade, bem como foi realizada a análise de correlação simples entre os resultados de todos os testes realizados.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resumos das análises de variância dos dados referentes à caracterização do perfil fisiológico e pH do exudato das sementes dos 5 lotes estudados na 1ª etapa, encontram-se nos quadros 1A, 2A, 3A e 4A e os da 2ª etapa, nos quadros 5A, 6A e 7A.

4.1 Primeira Etapa - Aplicabilidade do Teste para *Brachlaria decumbens*

Os resultados médios do grau de umidade dos 5 lotes estudados, encontram-se apresentados no quadro 1. Observa-se que os lotes de sementes se apresentavam com diferentes graus de umidade, extratificados em 3 níveis; em torno de 6.5 % (lotes 2 e 3), 11.7 % (lotes 4 e 5) e 15.0 % (lote 1).

Os resultados da caracterização do perfil fisiológico, determinado pelos testes padrão de germinação, tetrazólio e emergência aos 7, 14, 21 e 28 dias, encontram-se nos quadros 2 e 3 e os resultados médios do percentual de viabilidade das sementes, determinado pelo teste de pH do exudato-fenolftaleína, nos quatro tempos de embebição, encontram-se apresentados no quadro 4.

QUADRO 1. Resultados médios de grau de umidade dos lotes de sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basillisk*. ESAL, Lavras-MG, 1992.

LOTES	GRAU DE UMIDADE (%)
1	14,9
2	6,1
3	6,7
4	11,6
5	11,9

Observa-se que todos os testes detectaram ser o lote 3 o de melhor nível de qualidade e o lote 5 o de pior. De uma maneira geral, todos os testes apresentaram uma tendência em classificar os lotes 2, 3 e 4 como os de melhor qualidade e os lotes 1 e 5 como os de pior (Figura-1). Da mesma forma, os resultados obtidos pelo teste de pH do exudato-fenolftaleína, considerando-se os resultados médios dos diferentes tempos de embebição, mostraram a mesma tendência de classificação, embora à exemplo do teste de tetrazólio, apresentou-se mais sensível em detectar diferenças entre os níveis de qualidade dos 5 lotes, quando comparado ao teste padrão de germinação. Provavelmente, isto ocorreu devido ao fato destes dois testes não sofrerem influência de fatores externos, como dormência e presença de microorganismos. Pode ser observado pelos resultados, que estes 2 testes apresentaram valores percentuais de viabilidade mais elevados em relação aos apresentados pelo teste padrão de germinação. Essas considerações, são reforçadas quando se compara os

resultados obtidos por estes testes com os de emergência em solo aos 21 e 28 dias, com sementes escarificadas quimicamente. Os dados obtidos nas avaliações de emergência aos 7 e 14 dias, ressaltam a influência do aspecto dormência nos resultados, à exemplo do que ocorreu no teste padrão de germinação. Desta forma parece que estes testes (tetrazólio e fenolftaleína) não superestimam os resultados como evidenciam Barros (1988) e Tyagi (1993), mas sim fornecem informações sobre a germinação potencial dos lotes de sementes, como já comentado por Marcos Filho, Cícero e Silva (1987).

Comparando-se os resultados dos testes de pH do exudato nos tempos de embebição de 75 e 90 minutos com os testes de germinação padrão e emergência aos 21 e 28 dias após a semeadura, pode-se observar, que todos os testes destacaram os lotes 3 e 5 como os de melhor e pior qualidade, respectivamente. Observa-se também, uma melhor correspondência dos resultados entre os testes de pH do exudato-fenolftaleína e emergência em campo do que com os resultados obtidos pelo teste padrão de germinação (Figura 1).

Na Figura 2, observa-se a correspondência dos resultados do teste de pH do exudato-fenolftaleína nos tempos de embebição de 75 e 90 minutos, com os do teste de tetrazólio-I. Por sua vez, na figura 3, estão apresentados os resultados dos testes de pH do exudato-fenolftaleína (75 e 90 minutos) e tetrazólio-II. Nota-se uma maior aproximação dos resultados do teste de pH do exudato-fenolftaleína tanto em relação ao tetrazólio-I, quanto em relação ao tetrazólio-II (Figuras 2 e 3), nos lotes de melhor qualidade fisiológica (lotes 2 e 3), concordando com os resultados de Barros (1988). Deve-se ressaltar porém, que os lotes não se apresentavam uniformes em relação ao grau de umidade, nesta primeira etapa, o que pode ter influenciado nos resultados do teste de pH do exudato-fenolftaleína, conforme comenta Marcos Filho, Cícero e Silva (1987). Também o tamanho das gotas de carbonato

utilizadas, podem ter sido excessivas para a quantidade de exudatos das sementes, nos tempos estudados, conforme comentários de Barros (1988).

QUADRO 2. Resultados médios do percentual de viabilidade dos lotes de sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basillisk*, submetidas ou não ao tratamento de escarificação química, determinados pelos testes padrão de germinação e tetrazólio-I. ESAL, Lavras-MG, 1992.¹

LOTES	GERMINAÇÃO PADRÃO (%)		TETRAZÓLIO-I (%) SEM ESCARIFICAÇÃO QUÍMICA
	COM ESCARIFICAÇÃO QUÍMICA	SEM ESCARIFICAÇÃO QUÍMICA	
1	39 b	37 b	57 cd
2	68 a	59 a	80 ab
3	75 a	60 a	89 a
4	62 a	60 a	71 bc
5	13 c	02 c	47 d

¹ Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 1% de probabilidade.

De uma maneira geral, pode ser observado na Figura 1, que os resultados do teste de pH do exudato-fenolftaleína realizado com 90 minutos de embebição, apresentou valores de viabilidade inferiores em relação ao tempo de 75 minutos.

QUADRO 3. Resultados percentuais médios do teste de emergência em solo, para sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basilisk*, em ausência e presença de tratamento de escarificação química, aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura (d.a.s). ESAL, Lavras-MG, 1992.¹

LOTES	EMERGÊNCIA EM SOLO (%)							
	7 d.a.s.		14 d.a.s.		21 d.a.s.		28 d.a.s.	
	com trat.	sem trat.	com trat.	sem trat.	com trat.	sem trat.	com trat.	sem trat.
1	25 ab	10 cd	34 b	16 c	55 c	20 c	56 c	23 b
2	33 ab	19 bc	45 ab	28 bc	77 ab	33 bc	82 ab	34 ab
3	56 a	31 ab	68 a	45 ab	89 a	50 a	90 a	50 a
4	60 a	34 a	69 a	49 a	71 bc	49 ab	71 bc	50 a
5	16 b	00 d	32 b	09 c	38 d	21 c	40 d	25 b

¹ Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 1% de probabilidade.

Apesar da interação Lotes X Tempos de embebição, não ter se mostrado significativa (Quadro 4A); quando se procedeu a análise de correlação entre o teste de pH do exudato-fenolftaleína, e os testes realizados na fase de caracterização do perfil fisiológico das sementes, obteve-se coeficientes de correlação de Pearson significativos para todos os testes em relação ao de pH do exudato-fenolftaleína, nos tempos de embebição de 75 e 90 minutos (Quadro 5).

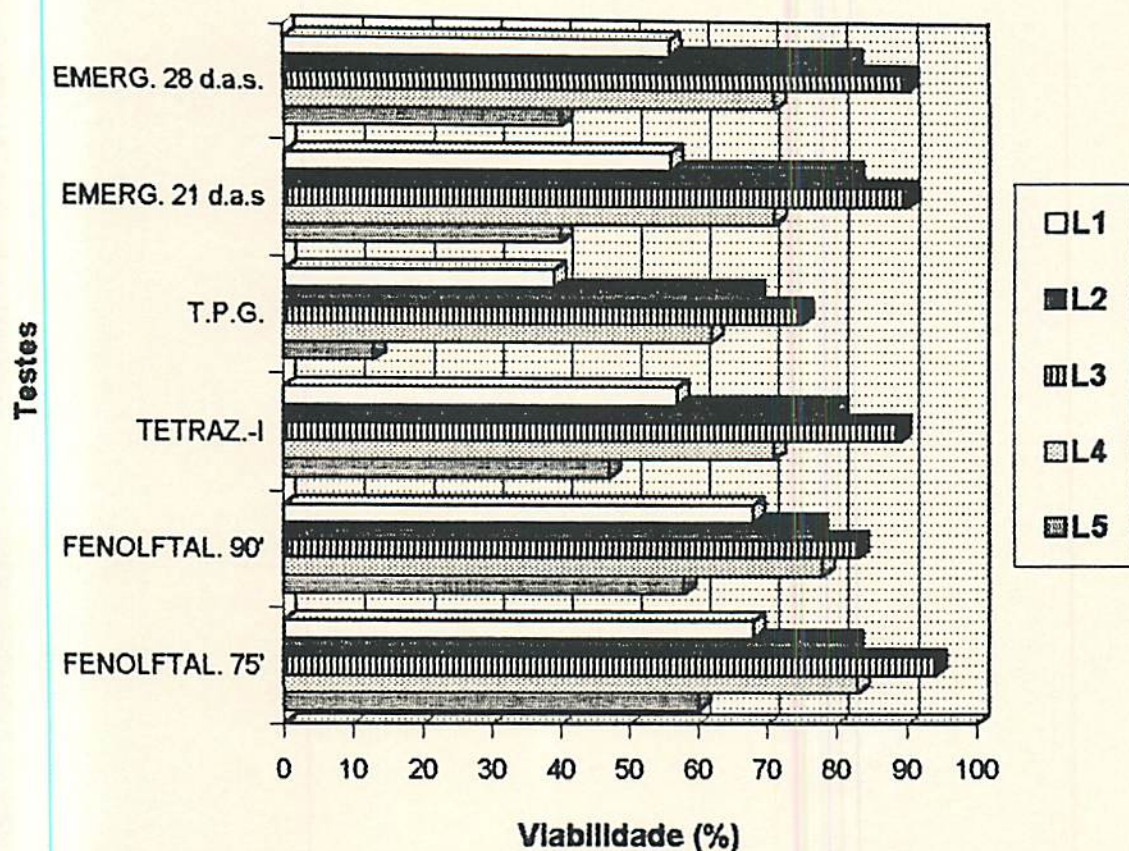


FIGURA 1. Comparação dos resultados médios do percentual de viabilidade de sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basilisk*, determinados pelo teste de pH do exudato-fenolftaleína, nos tempos de embebição de 75 e 90 minutos, com os dos testes padrão de germinação, tetrazólio-I e emergência em solo aos 21 e 28 dias após a semeadura (d.a.s.). ESAL, Lavras-MG, 1992.

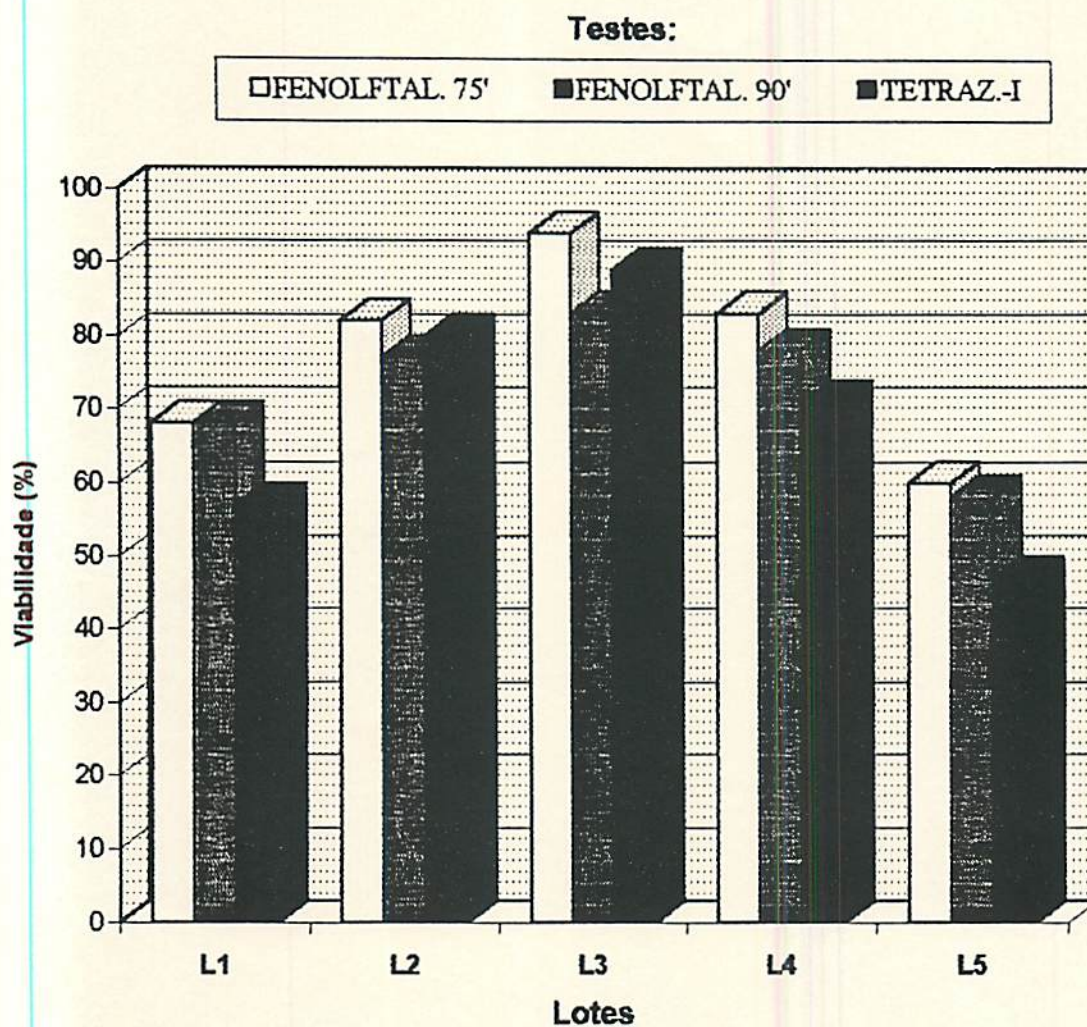


FIGURA 2. Comparação dos resultados médios do percentual de viabilidade de sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basilisk*, determinados pelo teste de pH do exudato-fenolftaleína, nos tempos de embebição de 75 e 90 minutos, com os do teste de tetrazólio-I. ESAL, Lavras-MG, 1992.

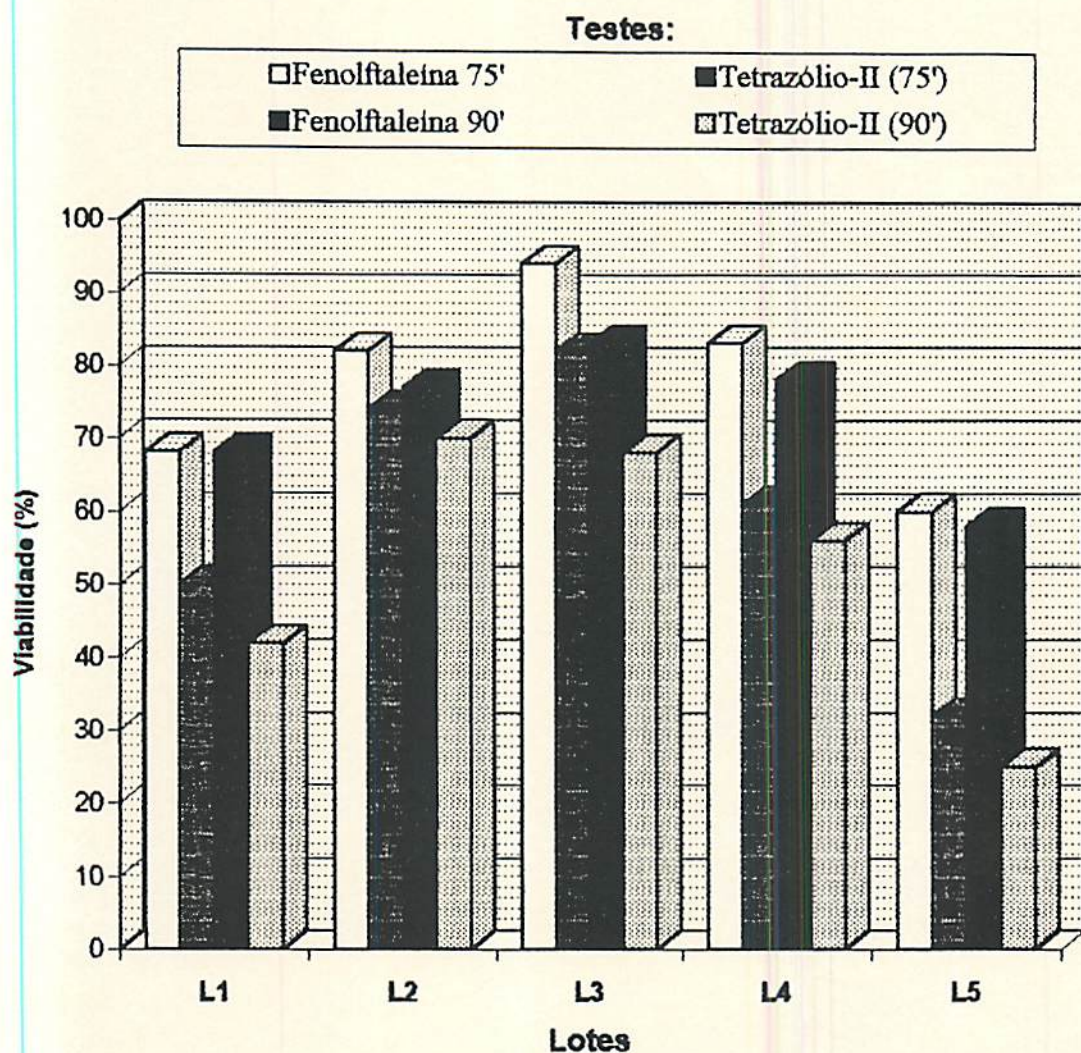


FIGURA 3. Comparação dos resultados médios do percentual de sementes viáveis de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basilisk*, pelo teste de pH do exudato-fenolftaleína, nos tempos de embebição de 75 e 90 minutos, e pelo teste de tetrazólio-II. ESAL, Lavras-MG, 1992.

QUADRO 4. Resultados médios do percentual de viabilidade determinado pelo teste de pH do exudato-fenolftaleína, nos tempos de embebição de 45, 60, 75 e 90 minutos, em sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basilisk*, submetidas ao tratamento de escarificação química. ESAL, Lavras-MG, 1992.¹

LOTES	VIABILIDADE DE SEMENTES (%)				
	Tempos de embebição em minutos:				
	45	60	75	90	Média
1	78	67	68	68	70 c
2	76	70	82	77	76 bc
3	83	82	83	78	82 a
4	83	82	83	78	82 ab
5	68	52	60	58	60 d

¹. Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 1% de probabilidade.

QUADRO 5. Valores do coeficiente de correlação de Pearson, entre o teste de pH do exudato-fenolftaleína, nos diferentes tempos de embebição, com os demais testes realizados na determinação da viabilidade das sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basillisk*. ESAL, Lavras-MG, 1992.

TESTE DE ENOLFT. com trat.	TESTE DE TETRAZ. I sem trat.	TESTE DE TETRAZ. II com trat.	TESTE PADRÃO DE GERM. com trat.	TESTE DE EMERGÊNCIA EM SOLO com trat.			
				7 d.a.s.	14 d.a.s.	21 d.a.s.	28 d.a.s.
45 minutos	0,75	0,70	0,84 *	0,91 *	0,85 *	0,83 *	0,66
60 minutos	0,87 *	0,62	0,90 *	0,94 **	0,92 *	0,91 *	0,80
75 minutos	0,98 **	0,92 *	0,96 **	0,87 *	0,88 *	0,99 **	0,95 **
90 minutos	0,96 **	0,93 *	0,99 **	0,87 *	0,85 *	0,99 **	0,91 *

** Significativo ao nível de 1 % de probabilidade.
* Significativo ao nível de 5 % de probabilidade.

4.2 Segunda Etapa - Tempo e Temperatura de Embebição das Sementes e Tamanho de Gota de Carbonato de Sódio

4.2.1 Ensaio I - Embebição à Temperatura de 25^o C

Os resultados médios de grau de umidade, bem como os resultados médios do percentual de viabilidade dos 5 lotes de sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basillisk*, determinados pelos testes padrão de germinação, tetrazólio e emergência em solo

aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura, encontram-se apresentados no quadro 6.

Observa-se neste quadro, que de uma maneira geral, todos os testes detectaram os lotes 1, 2, 3 e 4 como os de melhor qualidade e o lote 5 como o de pior, fato também evidenciado pelo teste de sanidade (quadro 7), onde se detectou altos índices de *Aspergillus sp.*, fungos estes sabidamente associados à deterioração de sementes. Nota-se também a uniformidade dos lotes em relação ao grau de umidade ($13,2 \pm 0,4 \%$). Vale ressaltar que foram desenvolvidos estudos preliminares, onde se determinou ser este, o grau de umidade mais indicado para a execução do teste de pH do exudato-fenolftaleína em sementes de *Brachiaria decumbens*. É importante salientar também, o comportamento diferenciado do lote 4, em relação ao aspecto dormência, uma vez que não se observou o efeito positivo do tratamento de escarificação química, bem como ganhos no percentual de emergência a partir do 7º dia da semeadura.

Pelo quadro 8, nota-se que os resultados percentuais médios do teste de pH do exudato-fenolftaleína, nos diferentes tempos de embebição (60, 75 e 90) apresentaram correlação positiva com os resultados detectados pelos demais testes da avaliação do perfil fisiológico. Da mesma forma, quando se procede a comparação dos resultados médios de percentual de viabilidade determinados pelo teste de pH do exudato-fenolftaleína nos 3 tamanhos de gota de carbonato de sódio, com os resultados apresentados pelos testes realizados na fase de caracterização do perfil fisiológico, pode-se observar uma correlação positiva para os tamanhos de 14 e 16 µl.

Nos quadros 9 e 10, encontram-se apresentados os resultados médios do percentual de viabilidade das sementes dos 5 lotes, determinados pelo teste do pH do exudato-fenolftaleína.

QUADRO 6 - Resultados médios (%) de grau de umidade e viabilidade de sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basilisk*, determinados pelos testes padrão de germinação, tetrazólio e emergência em solo aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura (d.a.s.), realizados com sementes em ausência e presença de tratamento de escarificação química. ESAL, Lavras-MG, 1993.¹

LOTES	GRAU DE UMIDADE (%)	EMERGÊNCIA EM SOLO (%)										
		T.P.G. (%)		TETRAZ. (%)	7 d.a.s.		14 d.a.s.		21 d.a.s.		28 d.a.s.	
		com	sem		com	sem	com	sem	com	sem	com	sem
		trat.	trat.	média geral	trat.	trat.	trat.	trat.	trat.	trat.	trat.	trat.
L1	12.9	83 a	71 a	85 a	53 a	33 b	80 a	50 b	82 a	51 b	84 a	54 b
L2	13.3	89 a	73 a	81 a	49 a	22 b	79 a	40 b	79 a	46 b	80 a	46 b
L3	13.6	81 ab	75 a	82 a	58 a	24 b	82 a	42 b	81 a	47 b	83 a	50 b
L4	12.9	65 b	65 a	80 a	66 a	66 a	70 a	76 a	70 a	76 a	69 a	76 a
L5	12.9	35 c	05 b	47 b	30 b	03 c	36 b	16 c	37 b	18 c	37 b	19 c

¹ Médias seguidas pela mesma letra na vertical, não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 1% de probabilidade.

Pode-se observar que quando se utilizou a gota de carbonato de sódio de 16 µl, obteve-se de uma maneira geral, valores percentuais de viabilidade mais elevados em relação aos dos outros 2 tamanhos de gota estudados. Provavelmente isto se deveu ao maior tamanho de gota de carbonato de sódio provocar uma elevação do pH da solução, o que proporciona uma coloração rosa mais forte, na presença de fenolftaleína, podendo superestimar desta forma, os percentuais de viabilidade, mesmo para sementes com potencial de produzir plântulas anormais, fato este também observado por Barros (1988) e Peske et al. (1990).

QUADRO 7. Resultados percentuais médios de ocorrência de fungos em sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basillsk*, em ausência e presença de tratamento de escarificação química, detectados pelo método se papel de filtro. ESAL, Lavras-MG, 1993.

MICROORGANISMOS	LOTES									
	1		2		3		4		5	
	com trat.	sem trat.	com trat.	sem trat.	com trat.	sem trat.	com trat.	sem trat.	com trat.	sem trat.
<i>Alternaria alternata</i>	0.5	4.0	0.0	2.0	1.0	4.0	2.5	1.0	5.0	1.0
<i>Aspergillus candidus</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0
<i>Aspergillus flavus</i>	2.0	0.5	0.5	0.0	0.0	0.5	1.5	6.5	2.5	50.5
<i>Aspergillus glaucus</i>	3.5	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	8.0	3.5	10.5
<i>Aspergillus niger</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	36.5
<i>Botriodiplodia sp.</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	0.0
<i>Cephalosporium sp.</i>	1.0	3.5	0.0	1.0	0.5	8.0	0.0	0.5	0.5	0.0
<i>Cladosporium sp.</i>	0.5	3.0	0.0	0.5	1.0	2.0	2.0	0.0	8.5	0.0
<i>Colletotrichum sp.</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0
<i>Curvularia sp.</i>	1.0	1.0	0.0	1.5	1.0	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Epicoccum sp.</i>	0.5	0.0	0.5	0.0	1.0	0.5	0.5	0.0	0.5	0.0
<i>Fusarium sp.</i>	7.0	5.5	9.0	6.5	19.0	10.5	6.0	5.0	10.0	0.0
<i>Helminthosporium sp.</i>	38.5	72.5	41.5	57.5	28.0	63.5	2.0	1.5	0.0	4.0
<i>Mirotecium sp.</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Nigrospora sp.</i>	2.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Penicillium sp.</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	2.5	4.0	0.5	0.5
<i>Phoma sp.</i>	10.0	12.0	8.5	12.5	11.0	12.5	10.5	33.0	10.5	0.0
<i>Rhizoctonia sp.</i>	1.0	0.0	1.0	0.5	1.0	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Trichoderma sp.</i>	0.0	0.5	0.0	0.0	0.5	0.0	0.5	2.0	0.0	0.0

QUADRO 8. Valores do coeficiente de correlação de Pearson, entre o teste de pH do exudato-fenolftaleína, à temperatura de 25 °C, com os testes de tetrazólio, padrão de germinação e emergência em solo aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura (d.a.s.), realizados com sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basillisk*, submetidas ao tratamento de escarificação química. ESAL, Lavras-MG, 1993.

TESTE DE FENOLFTAL.	TESTE DE TETRAZÓLIO	TESTE GERMINAÇÃO PADRÃO	TESTE DE EMERGÊNCIA EM SOLO			
			7 d.a.s.	14 d.a.s.	21 d.a.s.	28 d.a.s.
60 min.	0.98 **	0.93 *	0.80	0.98 **	0.97 **	0.96 **
75 min.	0.97 **	0.91 *	0.83	0.97 **	0.95 **	0.95 **
90 min.	0.97 **	0.95 **	0.77	0.97 **	0.96 **	0.96 **
12 µl	0.85	0.80	0.82	0.85	0.83	0.82
14 µl	0.98 **	0.96 **	0.73	0.99 **	0.99 **	0.99 **
16 µl	0.99 **	0.93 *	0.81	0.97 **	0.97 **	0.96 **

** Significativo ao nível de 1 % de probabilidade.
* Significativo ao nível de 5 % de probabilidade.

O sentido decrescente do percentual de viabilidade do tempo de embebição de 60 minutos para os de 75 e 90 minutos (quadro 10), indica ter havido maior lixiviação do agente redutor do pH do exudato, com o incremento do período de embebição, concordando com as observações de Amaral e Peske (1984a), Barros (1988), Carvalho (1992), bem como com os resultados obtidos na primeira etapa deste trabalho. Ainda com relação ao período de embebição, nota-se que o tempo de 75 minutos foi o que propiciou um comportamento mais diferenciado entre os 3 tamanhos de gota de carbonato de sódio (quadro 9). Já com relação aos tamanhos de gota, pode-se verificar que os tamanhos de 14 e 16 µl não apresentaram diferença estatística entre as médias dos 3 tempos de embebição estudados (quadro 9).

QUADRO 9. Resultados percentuais médios de viabilidade de sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basilisk*, determinados pelo teste de pH do exudato-fenolftaleína, realizado em diferentes tamanhos de gota de carbonato de sódio e diferentes tempos de embebição, à temperatura de embebição de 25 °C. ESAL, Lavras-MG, 1993.¹

LOTES		1	2	3	4	5	MÉDIAS
12 µl	60 min.	66	86	92	84	44	74.40 a
	75 min.	62	82	84	77	37	67.40 b 70.53 b
	90 min.	63	88	85	73	44	69.80 b
		63.67 _{b C}	82.33 _{b AB}	87.00 _{a A}	78.00 _{b B}	41.67 _{a D}	
14 µl	60 min.	87	77	86	73	40	73.60 a
	75 min.	83	79	83	77	42	72.80 a 72.20 b
	90 min.	75	89	81	73	41	70.20 a
		81.67 _{a A}	80.67 _{b AB}	83.33 _{a A}	74.33 _{b B}	41.00 _{a C}	
16 µl	60 min.	92	84	88	86	36	78.00 a
	75 min.	85	81	87	84	41	77.20 a 76.93 a
	90 min.	83	89	81	83	42	75.60 a
		86.67 _{a A}	88.67 _{a A}	85.33 _{a A}	84.33 _{a A}	39.67 _{a B}	
MÉDIAS		77.33 B	83.89 A	85.22 A	78.89 B	40.78 C	

¹ Em cada linha, as médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas e em cada coluna pelas mesmas letras minúsculas, não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 1 % de probabilidade.

No entanto, em termos de valores percentuais, observa-se que o tempo de embebição de 75 minutos à 25 °C, associado ao tamanho de gota de 14 µl foi o que melhor correspondeu aos resultados encontrados pelo teste de emergência aos 28 dias, para sementes escarificadas quimicamente, à excessão do lote 4, pois como já mencionado, não apresentava dormência, devendo pois considerar para este lote sementes sem escarificação; bem como com os resultados encontrados pelo tetrazólio (Figura 4). Esses resultados, reforçam os comentários de Barros (1988) e Peske et al. (1990) , quando se referem à possibilidade do tamanho de gota ter influenciado negativamente nos resultados, em termos percentuais, superestimando desta forma o percentual de viabilidade em relação aos demais testes.

QUADRO 10. Resultados percentuais médios de viabilidade de sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basilisk*, determinados pelo teste de pH do exudato-fenoltaleína, realizado em diferentes tempos de embebição e diferentes tamanhos de gota de carbonato de sódio, à temperatura de embebição de 25 °C. ESAL, Lavras-MG, 1993.¹

LOTES		1	2	3	4	5	MÉDIAS	
60 min.	12 µl	66	86	92	84	44	74.40	ab
	14 µl	87	77	86	73	40	73.60	b
	16 µl	92	84	88	86	36	78.00	a
		81.67 a B	85.33 a AB	88.67 a A	81.00 a B	41.67 a C		75.33 a
75 min.	12 µl	62	82	84	77	37	67.40	c
	14 µl	83	79	83	77	42	72.80	b
	16 µl	85	81	87	84	41	77.20	a
		76.67 ab B	81.67 a AB	84.67 ab A	79.33 a AB	40.00 a C		72.47 b
90 min.	12 µl	63	88	85	73	44	69.80	b
	14 µl	75	89	81	73	41	70.20	b
	16 µl	83	89	81	83	42	75.60	a
		73.67 b C	84.67 a A	82.33 b AB	76.33 a BC	42.33 a D		71.87 b
MÉDIAS	77.33 B	83.89 A	85.22 A	78.89 B	40.78 C			

¹ Em cada linha, as médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas e em cada coluna pelas mesmas letras minúsculas, não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 1 % de probabilidade.

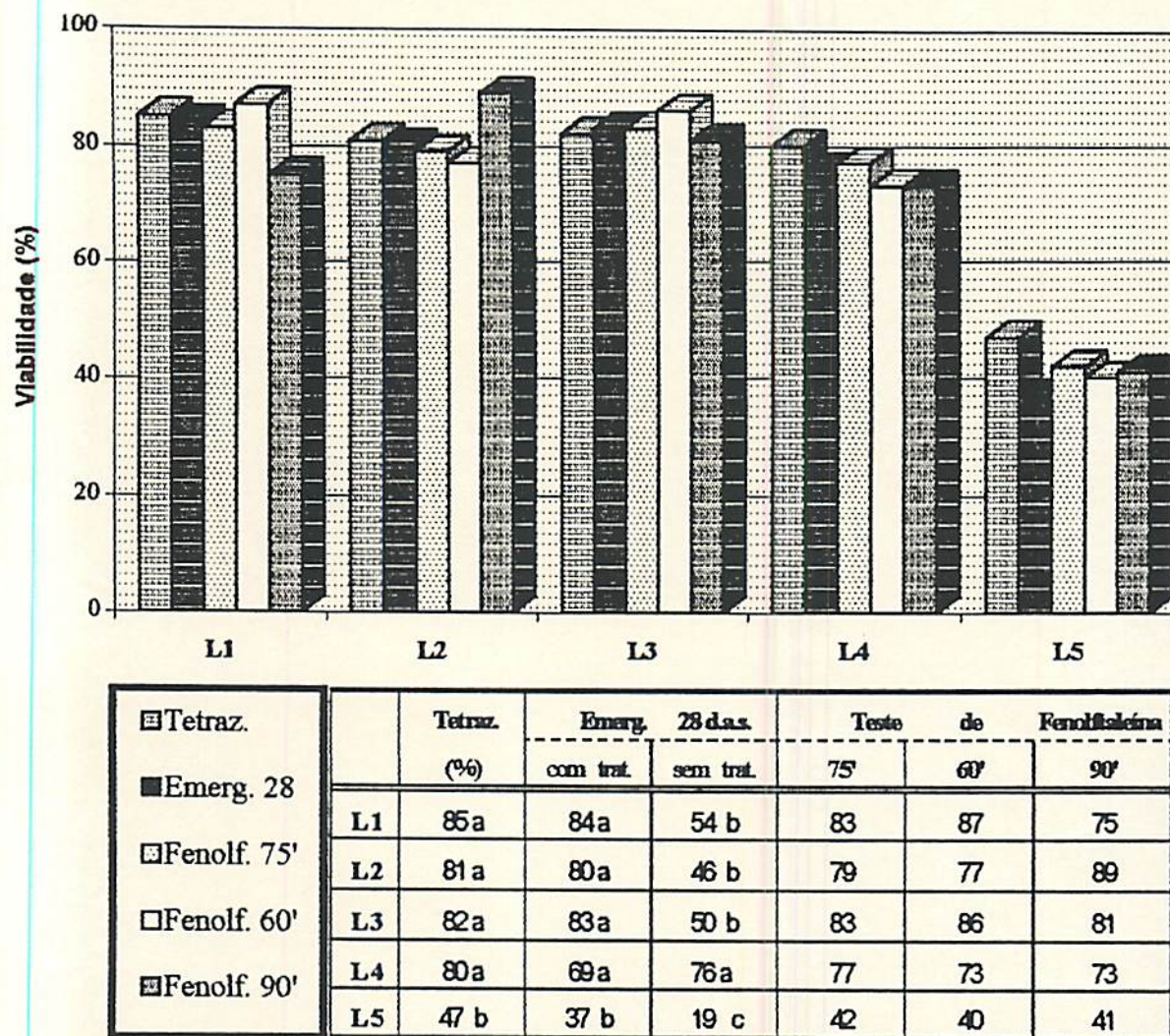


FIGURA 4. Comparação dos resultados médios do percentual de viabilidade de sementes de *Brachlaria decumbens* Stapf. cv. *Basilisk*, determinados pelo teste de pH do exudato-fenolftaleína, nos tempos de embebição de 75, 60 e 90 minutos, utilizando-se o tamanho de gota de carbonato de sódio de 14 μ l, à temperatura de 25 °C, com os dos testes de tetrazólio e emergência em solo aos 28 dias após a semeadura (d.a.s.). ESAL, Lavras-MG, 1993.

4.2.2. Ensaio II - Embebição à Temperatura de 35 °C

Neste ensaio, onde se utilizou a temperatura de 35 °C para o processo de embebição das sementes, a interação Lotes X Tempos X Tamanho de gotas, se apresentou significativa ao nível de 1% de probabilidade (Quadro 7A).

No quadro 11, encontra-se apresentado o desdobramento da interação, indicando os resultados médios do percentual de viabilidade das sementes dos 5 lotes, associado ao tamanho de gota de carbonato de sódio e tempos de embebição. Pode-se verificar que em termos de extratificação de lotes, o tempo de 75 minutos, quando associado aos tamanhos de gota de 12 e 16 µl, foi igual à fornecida pelos testes determinantes do perfil fisiológico. Observa-se no entanto, que o tempo de embebição de 75 minutos, associado ao tamanho de gota de 12µl e 16µl, subestimou e superestimou respectivamente, os resultados percentuais de viabilidade, em relação aos apresentados pelos demais testes. Já o tempo de embebição de 60 minutos, quando se utilizou a gota de 14 µl, de um modo geral, foi o que propiciou uma maior aproximação em termos de valores percentuais (quadros 6, 11 e 12).

QUADRO 11. Resultados percentuais médios de viabilidade de sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basillisk*, determinados pelo teste de pH do exudato-fenolftaleína, nos tempos de embebição de 60, 75 e 90 minutos, à 35 ° C, nos tamanhos de gota de carbonato de sódio de 12, 14 e 16 µl. ESAL, Lavras-MG, 1993.¹

LOTES	60 minutos			75 minutos			90 minutos		
	12 µl	14 µl	16 µl	12 µl	14 µl	16 µl	12 µl	14 µl	16 µl
L1	61 b	83 a	85 ab	69 a	89 a	89 a	71 b	90 a	92 a
L2	73 a	76 ab	78 ab	71 a	86 a	85 a	83 a	83 ab	85 ab
L3	79 a	82 a	88 a	72 a	92 a	85 a	89 a	92 a	89 ab
L4	69 ab	70 b	76 b	65 a	70 b	86 a	80 ab	78 b	80 b
L5	39 c	43 c	44 c	33 b	39 c	37 b	36 c	44 c	42 c

¹. Médias seguidas pela mesma letra na vertical, não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 1 % de probabilidade.

QUADRO 12. Valores do coeficiente de correlação de Pearson, entre o teste de pH do exudato-fenolaléina, à temperatura de 35 °C, com os testes de tetrazólio, padrão de germinação e emergência em solo aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura (d.a.s.), realizados com sementes de *Bracharia decumbens* Stapf. cv. *Basilisk*, submetidas ao tratamento de escarificação química. ESAL, Lavras-MG, 1993.

TESTE	DE	TESTE	DE	TESTE	DE	TESTE DE EMERGÊNCIA EM SOLO			
						d.a.s.	d.a.s.	d.a.s.	
TESTE	DE	TESTE	DE	TESTE	DE	7	14	21	28
						PADRÃO DE GERMINAÇÃO			
						TETRAZÓLIO			
60 min.	12 µl	0,88 *	0,84	0,80	0,90 *	0,88 *	0,87		
	14 µl	0,96 **	0,95 *	0,65	0,99 **	0,99 **	0,99 **		
	16 µl	0,97 **	0,92 *	0,71	0,98 **	0,98 **	0,98 **		
	12 µl	0,98 **	0,95 **	0,76	0,99 **	0,98 **	0,98 **		
	14 µl	0,93 *	0,97 **	0,59	0,98 **	0,98 **	0,99 **		
	16 µl	0,99 **	0,91 *	0,82	0,97 **	0,96 **	0,95 **		
	12 µl	0,93 *	0,87	0,84	0,93 *	0,91 *	0,90 *		
	14 µl	0,97 **	0,94 *	0,69	0,99 **	0,99 **	0,99 **		
	16 µl	0,98 **	0,94 *	0,71	0,99 **	0,99 **	0,99 **		
75 min.	12 µl	0,98 **	0,95 **	0,76	0,99 **	0,98 **	0,98 **		
	14 µl	0,93 *	0,97 **	0,59	0,98 **	0,98 **	0,99 **		
	16 µl	0,99 **	0,91 *	0,82	0,97 **	0,96 **	0,95 **		
	12 µl	0,98 **	0,87	0,84	0,93 *	0,91 *	0,90 *		
	14 µl	0,97 **	0,94 *	0,69	0,99 **	0,99 **	0,99 **		
	16 µl	0,98 **	0,94 *	0,71	0,99 **	0,99 **	0,99 **		
	12 µl	0,93 *	0,87	0,84	0,93 *	0,91 *	0,90 *		
	14 µl	0,97 **	0,94 *	0,69	0,99 **	0,99 **	0,99 **		
	16 µl	0,98 **	0,94 *	0,71	0,99 **	0,99 **	0,99 **		
** Significativo ao nível de 1 % de probabilidade.									
* Significativo ao nível de 5 % de probabilidade.									

5 CONCLUSÕES

1. É viável a utilização do teste do pH do exudato-fenolftaleína para se estimar de forma rápida a viabilidade de sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basilisk*.
2. O tempo de embebição de 75 minutos à 35 °C, associado aos tamanhos de gota de 12 e 16 µl, apresentou alta relação com os demais testes, tendo porém, apresentado valores numéricos subestimados e superestimados respectivamente, em relação à estes.
3. O tempo de embebição de 75 minutos à 25 °C, associado ao tamanho de gota de carbonato de sódio de 14 µl, propiciou maior precisão de resultados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDUL-BAKI, A.A.; ANDERSON, J.D. Physiological and biochemical deterioration of seeds. In: KOZLOWISK, T.T. (ed.). **Seed Biology: germination control, metabolism and pathology**. New York: Academic Press, 1972. v.2, cap. 4, p.283-315.
- ABDUL-BAKI, A.A.; ANDERSON, J.D. Viability and leaching of sugars from germinating barley. **Crop Science**, Madison, v.10, n.1, p.31-34, Jan./Feb. 1970.
- ALIZAGA, R.L.; MELO, V.D.C.; SANTOS, D.S.B. dos; IRIGON, D.L. Avaliação de testes de vigor em sementes de feijão e suas relações com a emergência em campo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 6, Brasília, 1989. **Resumos dos trabalhos técnicos...** Brasília: ABRATES, 1969. p.60.
- AMARAL, A.S.; PESKE, S.T. pH como parâmetro para estimar a germinação de sementes de soja. Passo Fundo: APASSUL, 1984b. 4p. (Boletim Informativo v.1, n.1).
- AMARAL, A.S.; PESKE, S.T. pH do exsudato para avaliar a viabilidade das sementes. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 4, Brasília, 1985. **Resumos...** Brasília: ABRATES, 1985. p.54.
- AMARAL, A.S.; PESKE, S.T. pH do exsudato para estimar, em 30 minutos, a viabilidade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.6, n.3, p.85-92, 1984a.

- BARROS, A.S. do R. **Testes para avaliação rápida da viabilidade e do vigor de sementes de soja [*Glycine max* (L.) Merrill]**. Piracicaba: ESALQ, 1988. 140p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).
- 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**, Zürich, v.19, n.2, p.279-286, 1991.
- BERJAK, P. Viability extension and improvement of stored seeds. **South African Journal of Science**, New Delhi, v.74, p.365-368, 1978.
- BERJAK, P.; VILLIERS, T.A. Ageing in plant embryos V: Lysis of the cytoplasm in nonviable embryos. **New Phytologist**, Cambridge, v.71, p.1075-1079, 1972.
- BEWLEY, J.D. Membrane changes in seeds as related to germination and the perturbations resulting from deterioration in storage. In: McDONALD, M.B.; NELSON, C.J. (eds.). **Physiology of seed deterioration**. Madison: CSSA, 1986. Cap. 2, p.27-45. (CSSA special publication, n.11).
- BRADNOCK, W.T.; MATTHEWS, S. Assessing field emergence potential of wrinkle-seeded peas. **Horticulture Research**, Edinburgh, v.10, p.50-58, 1970.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: SNAD-Departamento Nacional de Defesa Vegetal, CLAV, 1992. 365p.
- CARVALHO, C.A.M. **Viabilidade de utilização do teste de pH de exsudato na avaliação da qualidade de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.)**. Lavras: ESAL, 1992. 76p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).
- CHAMA, H.M.C.P.; DIAS, D.C.F.S.; MARCOS FILHO, J. Estudo preliminar do teste do pH do exsudato em sementes de milho (*Zea mays* L.). **Informativo Abrates**, Londrina, v.33, p.73, jun. 1993.
- CHING, T.M.; SCHOOLCRAFT, I. Physiological and chemical differences in aged seeds. **Crop Science**, Madison, v.8, n.4, p.407-409, July/Aug. 1968.

- CRAWFORD, R.M.M.; McMANMON, M. Inductive responses of alcohol and malic dehydrogenases in relation to flooding tolerance in roots. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.19, n.50, p.435-441, June 1968.
- DELOUCHE, J.C.; BASKIN, C.C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.1, n.2, p.427-452, 1973.
- DELOUCHE, J.C.; STILL, T.W.; RASPET, M.; LIENHARD, M. O teste de tetrazólo para a viabilidade da semente. Brasília: AGIPLAN, 1976. 103p.
- DESWAL, D.P.; SHEORAN, I.S. A simple method for seed leakage measurement: applicable to single seeds of any size. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.21, n.1, p.179-185, 1993.
- DUKE, S.H.; KAKEFUDA, G. Role of the testa in preventing cellular rupture during inhibition of legume seeds. **Plant Physiology**, Maryland, v.67, n.3, p.449-456, Mar. 1981.
- FERNANDES, E.J.; SADER, R.; CARVALHO, N.M. de. Viabilidade de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) estimada pelo pH do exsudato. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.9, n.3, p.69-75, 1987.
- FLOOD, R.G.; SINCLAIR, A. Fatty acid analysis of aged permeable and impermeable seeds of *Trifolium subterraneum* (Subterranean clover). **Seed Science and Technology**, Zürich, v.9, n.2, p.475-477, 1981.
- FRANCO, D.F.; PETRINI, J.A.; AMARAL, A.S. Novo teste de viabilidade em sementes de soja: teste de timerosal. Pelotas: EMBRAPA-UEPAE de Pelotas, 1984. 3p. (Pesquisa em andamento, 10).
- GORECKI, R.J.; HARMAN, G.E. Effects of antioxidants on viability and vigour of ageing pea seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.15, n.1, p.109-117, 1987.
- HARMAN, D. Ageing: a theory based on free radical and radiation chemistry. **Journal of Gerontology**, Springfield, v.11, p.298-300, 1956.

- HARMAN, D. Prolongation of life: role of free radical reactions in ageing. **Journal of American Geriatrics Society**, Baltimore, v.17, p.721-735, 1969.
- HARMAN, G.E.; MATTICK, L.R. Association of lipid peroxidation with seed ageing and death. **Nature**, London, v.260, n.5549, p.323-324, Mar. 1976.
- HEYDECKER, W. Vigour. In: ROBERTS, G.H. (ed.). **Viability of seeds**. London: Chapman and Hall, 1974. p.209-252.
- HIBBARD, R.P.; MILLER, E.V. Biochemical studies on seed viability: 1. Measurements of conductance and reduction. **Plant Physiology**, Maryland, v.3, n.2, p.335-352, Apr. 1928.
- HOLTZMAN, E.; NOVIKOFF, A.B. **Células e estrutura celular**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1985. 630p.
- KOOSTRA, P.T.; HARRINGTON, J.F. Biochemical effects of age on membrane lipids of *Cucumis sativus* L. seed. In: INTERNATIONAL SEED TESTING CONGRESS, 15, New Zealand, 1968. **Proceedings...** Zürich: ISTA, 1969. p.329-340.
- LEHNINGER, A.L. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 1985. 726p.
- LINNANE, A.W.; CROWFOOT, P.D. Biogenesis of the yeast mitochondrial membranes. In: TZAGOLOFF, A. (ed.). **Membrane biogenesis**. New York: Plenum Press, 1975. p.113-116.
- LOOMIS, E.L.; SMITH, O.E. The effect of artificial aging on the concentration of Ca, Mg, Mn, K and Cl in imbibing cabbage seed. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.105, n.5, p.647-650, 1980.
- MARCOS FILHO, J.; CÍCERO, S.M.; SILVA, W.R. da. **Avaliação da qualidade de sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 230p.

- MARCOS FILHO, J.; PESCARINI, H.M.C.; KOMATSU, Y.H.; DEMETRIO, C.G.B.; FANCELLI, A.L. Testes para avaliação do vigor de sementes de soja e suas relações com a emergência das plântulas no campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.19, n.5, 605-613, Maio 1984.
- MATTHEWS, S.; BRADNOCK, W.T. Relationship between seed exudation and field emergence in peas and french beans. **Horticulture Research**, Edinburgh, v.8, p.89-93, 1968.
- MATTHEWS, S.; POWELL, A.A. Electrical conductivity test. In: PERRY, D.A.(ed.). **Handbook of Vigour Test Methods**. Zurich: ISTA, 1981. p.37-42.
- MATTHEWS, S.; ROGERSON, N.E. The influence of embryo condition on the leaching of solutes from pea seeds. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.27, n.100, p.961-968, Oct. 1976.
- MAYER, A.M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. Factors affecting germination. In: MAYBER, A.M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. (eds.). **The germination of seeds**. 4 ed. Oxford: Pergamon Press, 1989. p.39-70.
- MEAD, J.F. Free radical mechanisms of lipid damage and consequences for cellular membranes. In: PRYOR, W.A. (ed.). **Free radicals in biology**. New York: Academic Press, 1976. v.1, p.51-68.
- MOREAU, F.; DuPONT, J.; LANCE, C. Phospholipid and fatty acid composition of outer and inner membranes of plant mitochondria. **Biochemical Biophysical Acta**, v.345, p.294-304, 1974.
- MOROHASHI, Y.; SHIMOKORIAMA, M. Development of glycolytic and mitochondrial activities in the early phase of germination of *Phaseolus mungo* seeds. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.26, n.95, p.932-938, Dec. 1975.
- MULLETT, J.H.; CONSIDINE, J.A. Potassium release and uptake in germinating legume seeds in relation to seed condition and germination environment. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.31, n.120, p.151-162, Feb. 1980.

- PAMMENTER, N.W.; ADAMSON, J.H.; BERJAK, P. Viability of stored seed: extension by cathodic protection. *Science*, Washington, v.186, n.4169, p.1123-1124, Dec. 1974.
- PARRISH, D.J.; LEOPOLD, A.C. Transient changes during soybean imbibition. *Plant Physiology*, Maryland, v.59, n.6, p.1111-1115, June 1977.
- PERL, M.; FEDER, Z. Cotton seed quality prediction with the automatic seed analyser. *Seed Science and Technology*, Zürich, v.11, n.2, p.273-280, 1983.
- PESKE, S.T.; MONTENEGRO, H.; PEREIRA, F.T.F.; BAUDET, L. Teste do pH do exsudato para sementes de milho. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 8, Vitória, 1990. *Resumos...* Vitória: EMBRAPA, 1990.
- POLLOCK, B.M.; TOOLE, V.K. Imbibition period as the critical temperature sensitive stage in germination of lima bean seeds. *Plant Physiology*, Maryland, v.41, n.2, p.221-229, Feb. 1966.
- POPINIGIS, F. *Fisiologia da semente*. Brasília: AGIPLAN, 1985. 289p.
- POWELL, A.A.; HARMAN, G.E. Absence of a consistent association of changes in membranal lipids with the ageing of pea seeds. *Seed Science and Technology*, Zürich, v.13, n. 3, p.659-667, 1985.
- PRIESTLEY, D.A.; LEOPOLD, A.C. Lipid changes during natural aging of soybean seeds. *Plant Physiology*, Copenhagen, v.59, n.4, p.467-470, Apr. 1983.
- SANTOS DIAS, D.C.F. dos. *Influência de microorganismos nos resultados dos testes de germinação de sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. e *Brachiaria brizantha* Stapf. escarificadas com ácido sulfúrico*. Piracicaba: ESALQ, 1990. 131p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).
- SANTOS FILHO, L.F. Diagnóstico da situação da produção de sementes de plantas forrageiras no estado de São Paulo. In: ENCONTRO SOBRE PRODUÇÃO DE SEMENTES DE PLANTAS FORRAGEIRAS, 4, São José do Rio Preto, 1990. *Anais...* São José do Rio Preto: Gráfica Só cópias, 1990. p.1-14.

- SIMON, E.W. Phospholipid and plant membrane permeability. *New Phytologist*, Cambridge, v.73, p.377-420, 1974.
- SIMON, E.W.; HAJA-HARUN, R.M.R. Leakage during seed imbibition. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v.23, n.77, p.1076-1085, Dec. 1972.
- STEWART, R.R.C.; BEWLEY, J.D. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. *Plant Physiology*, Maryland, v.65, n.2, p.245-248, Feb. 1980.
- TAKAYANAGI, K.; MURAKAMI, K. Rapid germinability test with exudate from seed. *Nature*, London, v.218, n.5140, p.493-494, Apr. 1968.
- TAO, K.L.J. Factors causing variations in the conductivity test for soybean seeds. *Journal of Seed Technology*, East Lansing, v.3, n.1, p.10-18, 1978.
- TYAGI, C.S. Evaluating viability and vigour in soybean seed by an exudate pH test. *Seed Science and Technology*, Zürich, v.21, n.2, 475-478, 1993.
- VIEIRA, R.D. *Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de quatorze cultivares de soja [Glycine max (L.) Merrill]*. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa, 1980. 76p. (Tese - Mestrado em Fitotecnia).
- VILLIERS, T.A. Ageing and the longevity of seeds in field conditions. In: HEYDECKER, W. (ed.). *Seed Ecology*. University Park, USA: Pennsylvania State University Press, 1973. p.265-288.
- WALLER, A.D. An attempt to estimate the viability of the seed by an electrical method. *Proceedings of the Royal Society*, London, v.68, p.79-92, 1901.
- WILSON Jr., D.O.; McDONALD Jr., M.B. The lipid peroxidation model of seed ageing. *Seed Science and Technology*, Zürich, v.14, n.2, p.269-300, 1986.
- WOODSTOCK, L.W. Physiological and biochemical tests for seed vigor. *Seed Science and Technology*, Zürich, v.1, n.1, 127-157, 1973.

WOODSTOCK, L.W.; TAYLORSON, R.B. Ethanol and acetaldehyde in imbibing soybean seeds in relation to deterioration. **Plant Physiology, Maryland**, v.67, n.3, p.424-428, Mar. 1981.

ANEXOS

QUADRO 1A. Resumo da análise de variância dos dados obtidos no teste padrão de germinação, para sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basillisk* em presença e ausência de escarificação química. ESAL, Lavras-MG, 1992.

Causas de Variação	G.L.	Quadrados Médios	
		T.P.G. (%) sem. tratadas	T.P.G. (%) sem. não tratadas
Lotes	4	2569.30 **	2524.30 **
Blocos	3	17.60	57.80
Resíduo	12	21.43	41.63
TOTAL	19		
C.V. (%)		9.04	14.90

** Significativo à 1 % de probabilidade pelo teste F.

QUADRO 2A. Resumo da análise de variância dos dados obtidos no teste de tetrazólio-I, para sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basillisk* em presença e ausência de escarificação química. ESAL, Lavras-MG, 1992.

Causas de Variação	G.L.	Quadrados Médios	
		TETRAZOLIO - I (%) sementes não escarificadas	
Lotes	4	1153.70 **	
Blocos	3	24.80	
Resíduo	12	31.30	
TOTAL	19		
C.V. (%)		8.15	

** Significativo à 1 % de probabilidade pelo teste F.

QUADRO 3A. Resumo da análise de variância dos dados obtidos no teste de emergência em solo aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura (d.a.s.) para sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basllisk* em presença e ausência de escarificação química. ESAL, Lavras-MG, 1992.

Causas de Variação	G.L.	Quadrados Médios							
		Emergência em solo (%)							
		7 d.a.s		14 d.a.s		21 d.a.s.		28 d.a.s.	
		tratadas	não trat.	tratadas	não trat.	tratadas	não trat.	tratadas	não trat.
Lotes	4	1503.30**	810.80**	1322.70**	1207.30**	1585.20**	858.30**	1644.80**	683.30**
Blocos	3	409.80	15.13	175.73	32.53	28.26	14.60	52.53	19.46
Resíduo	12	161.30	24.13	85.89	43.70	32.26	31.76	28.96	35.30
TOTAL	19								
C.V. (%)		33.69	26.27	18.76	22.64	8.66	16.43	8.07	16.41

** Significativo à 1 % de probabilidade pelo teste F.

QUADRO 4A. Resumo da análise de variância dos dados obtidos nos testes de pH do exudato-fenolftaleína e tetrazólio-II, para sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basilisk* submetidas ao tratamento de escarificação química. ESAL, Lavras-MG, 1992.

Causas de Variação	G.L.	Quadrados Médios	
		TETRAZOLIO - II sementes tratadas	FENOLFTALEINA sementes tratadas
Lotes	4	5283.50 **	2345.87 **
Tempos	3	253.66	218.92 *
Lotes X Tempos	12	136.16	104.54
Blocos	4	96.62	79.00
Resíduo	76	107.68	73.87
TOTAL	99		
C.V. (%)		15.94	11.45

** Significativo à 1 % de probabilidade pelo teste F.

* Significativo à 5 % de probabilidade pelo teste F.

QUADRO 5A. Resumo da análise de variância dos dados percentuais obtidos nos testes padrão de germinação, tetrazólio e emergência em solo aos 7, 14, 21 e 28 dias após a semeadura (d.a.s.) para sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basillisk* submetidas ao tratamento de escarificação química. ESAL, Lavras-MG, 1993.

Causas de Variação	Quadrados Médios						
	G.L.	T.P.G.	TETRAZ.	Emergência em solo			
				7 d.a.s.	14 d.a.s.	21 d.a.s.	28 d.a.s.
Lotes	4	5196.35**	2002.40**	2525.35**	2619.60**	2583.90**	2618.85**
Tratamentos químicos	1	1587.60**	4.90	4972.90**	6150.40**	4972.90**	4708.90**
Lotes X Trat. químicos	4	268.35**	16.90	365.15**	693.90**	575.40**	571.15**
Blocos	3	15.47	83.56**	117.43	9.86	48.63	81.43
Resíduo	27	48.65	14.90	49.95	26.53	41.59	39.21
TOTAL	39						
C.V. (%)		10.93	5.16	17.47	9.07	11.05	10.51

** Significativo à 1 % de probabilidade pelo teste F.

QUADRO 6A. Resumo da análise de variância dos dados percentuais de viabilidade, para sementes de *Brachiaria decumbens* Stapf. cv. *Basillisk*, determinados pelo teste de pH do exudato-fenoltaleína, à 25^oC, utilizando-se 3 tamanhos de gota de carbonato de sódio (12, 14 e 16 µl). ESAL, Lavras-MG, 1993.

Causas de Variação	G.L.	Quadrados Médios
		----- TESTE DE pH DO EXUDATO FENOLTALEÍNA
Lotes	4	12234.89 **
Tempos	2	205.95 **
Gotas	2	661.42 **
Lotes X Tempos	8	61.95 **
Lotes X Gotas	8	417.09 **
Tempos X Gotas	4	70.09 *
Lotes X Tempos X Gotas	16	23.25
Resíduo	135	21.89
TOTAL	179	
C.V. (%)		6.39

** Significativo à 1 % de probabilidade pelo teste F.

* Significativo à 5 % de probabilidade pelo teste F.

QUADRO 7A. Resumo da análise de variância dos dados percentuais de viabilidade, para sementes de *Brachyaria decumbens* Stapf. cv. *Basilisk*, determinados pelo teste de pH do exudato-fenoltaleína, à 35°C, utilizando-se 3 tamanhos de gota de carbonato de sódio (12, 14 e 16 µl). ESAL, Lavras-MG, 1993.

Causas	de	G.L.	Variação	
			FENOLTALEÍNA	TESTE DE pH DO EXUDATO
Lotes		4	12387,69 **	
Tempos		2	559,29 **	
Gotas		2	1755,82 **	
Lotes X Tempos		8	83,95 **	
Lotes X Gotas		8	219,15 **	
Tempos X Gotas		4	127,42 **	
Lotes X Tempos X Gotas		16	48,92 **	
Resíduo		135	21,89	
TOTAL		179		
C.V. (%)				6,41

** Significativo a 1 % de probabilidade pelo teste F.