

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROBIOLOGIA**

GABRIEL STRECK BORTOLIN

**ESTUDO DA PROMOÇÃO DA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E
DESENVOLVIMENTO INICIAL EM *Paspalum regnellii* Mez.**

Santa Maria, RS
2016

GABRIEL STRECK BORTOLIN

**ESTUDO DA PROMOÇÃO DA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E
DESENVOLVIMENTO INICIAL EM *Paspalum regnellii* Mez**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia, Área de Concentração em Agrobiologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Agrobiologia**

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Ferreira da Silva

Santa Maria, RS
2016

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Streck Bortolin, Gabriel
ESTUDO DA PROMOÇÃO DA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E
DESENVOLVIMENTO INICIAL EM *Paspalum regnellii* Mez. /
Gabriel Streck Bortolin.-2016.
80 p.; 30cm

Orientador: Antonio Carlos Ferreira da Silva
Coorientador: João Carlos Pinto Oliveira
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de
Pós-Graduação em Agrobiologia, RS, 2016

1. Forrageira nativa 2. Qualidade de sementes 3.
Agentes biológicos I. Ferreira da Silva, Antonio Carlos
II. Pinto Oliveira, João Carlos III. Título.

GABRIEL STRECK BORTOLIN

**ESTUDO DA PROMOÇÃO DA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E
DESENVOLVIMENTO INICIAL EM *Paspalum regnellii* Mez**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do
Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia,
Área de Concentração em Agrobiologia, da
Universidade Federal de Santa Maria (UFSM,
RS) como requisito parcial para obtenção do grau
de **Mestre em Agrobiologia**

Aprovado em 08 de março de 2016

Antonio Carlos Ferreira da Silva, Dr.
(Presidente/Orientador)

Raquel Stefanello, Dr^a.
(UFSM)

Mauricio Marini Köpp, Dr.
(Embrapa CPPSul)

Santa Maria, RS
2016

*A minha avó,
Emília Martini Bortolin
(in memoriam)*

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus por tudo.

Aos meus pais, Leandro e Janice, e meu irmão Eduardo, por terem me dado todas as condições para trilhar este caminho, tendo-me apoiado em todos os momentos.

Ao meu orientador Professor Dr. Antonio Carlos Ferreira da Silva, pela contribuição na minha formação, por sua orientação, paciência e disponibilidade na realização deste trabalho.

Ao Dr. João Carlos Pinto Oliveira, por ter incentivado-me a continuar os estudos, pela sua coorientação durante o Mestrado e por seus ensinamentos desde os tempos de graduação.

Aos professores e colegas do PPG Agrobiologia, em especial a Maria Medianeira Saccol Wiethan, pela ajuda incondicional em todas as etapas desse trabalho e pela amizade e companheirismo demonstrada durante esses anos.

A Embrapa Pecuária Sul pelo fornecimento das sementes e também pela disponibilidade dos equipamentos do Laboratório de Análise de Sementes (LABSEM).

A empresa Koppert LTDA pelo fornecimento e disponibilidade das informações a respeito dos produtos biológicos.

Ao Departamento de Solos da Universidade Federal de Santa Maria, pela concessão da bancada utilizada em casa de vegetação para instalação do experimento.

A CAPES, pela concessão da bolsa de Mestrado.

A todos aqueles amigos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

Muito Obrigado!

*"Há homens que lutam um dia e são bons.
Há outros que lutam um ano e são melhores.
Há os que lutam muitos anos e são muito bons.
Porém, há os que lutam toda a vida.
Esses são os imprescindíveis."*

(Bertolt Brecht)

RESUMO

ESTUDO DA PROMOÇÃO DA GERMINAÇÃO DE SEMENTES E DESENVOLVIMENTO INICIAL EM *Paspalum regnellii* Mez.

AUTOR: GABRIEL STRECK BORTOLIN

ORIENTADOR: ANTONIO CARLOS FERREIRA DA SILVA

Conhecido vulgarmente por macega do banhado, *Paspalum regnellii* Mez. é uma gramínea nativa dos campos sul-brasileiros de ciclo perene, caracterizada como uma forrageira de grande potencial para alimentação animal. Entretanto, mesmo apresentando-se como um recurso forrageiro de qualidade, esta espécie ainda apresenta limitantes considerados comuns para espécies forrageiras nativas, principalmente para os processos de germinação e crescimento inicial. A fim de avaliar a influência do armazenamento e do peso na qualidade das sementes, foi realizada a separação por peso de dois lotes de sementes de *P. regnellii* provenientes de duas coletas (2013 e 2014), resultando em quatro classes de densidade para cada lote (extra leves, leves, médias e pesadas). Após este processo, as sementes provenientes de cada classe foram acondicionadas em caixas gerbox e colocadas para germinar em câmara B.O.D., sendo utilizado delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x4. Aos 27 dias após a instalação do teste, foram avaliadas as seguintes variáveis: Primeira contagem, índice de velocidade, frequência relativa e porcentagem de germinação, bem como a incidência de gêneros fúngicos. Fez-se também a avaliação da integridade das sementes através do teste de condutividade elétrica. Com o objetivo de promover o aumento do percentual germinação de *P. regnellii*, realizou-se um segundo experimento onde foram avaliadas diferentes metodologias visando à superação da dormência das sementes. Foram testados três diferentes métodos: Escarificação do tegumento das sementes com lixa número 180 e embebição em ácido sulfúrico (H₂SO₄); 2) Embebição das sementes em água a 60°C; 3) Tratamento com nitrato de potássio (KNO₃) e com o bioestimulante Stimulate[®]. Após os tratamentos, as sementes foram dispostas em caixas gerbox, e colocadas em câmara B.O.D., utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado. Foram avaliadas aos 27 dias após a instalação do experimento as seguintes variáveis: Primeira contagem, índice de velocidade e porcentagem de germinação. Com o objetivo de avaliar o efeito de *Trichoderma* na emergência e no crescimento inicial de *P. regnellii*, foram testadas crescentes doses de dois produtos biológicos compostos pela espécie *Trichoderma harzianum* nas concentrações 2x10⁹ e 5x10⁹ UFC mL⁻¹. O experimento foi conduzido em casa de vegetação e dividido em duas etapas, sendo a primeira composta por avaliações de emergência e desenvolvimento inicial de plantas aos 40 dias após a sementeira, e a segunda composta por avaliações de desenvolvimento de plantas aos 70 dias após a sementeira. A partir dos resultados obtidos observou-se que as sementes com maior densidade em ambos os lotes (2013 e 2014) apresentaram maior vigor quando comparadas às sementes leves. O nitrato de potássio e o bioestimulante promoveram aumento nos valores das variáveis primeira contagem, índice de velocidade e porcentagem de germinação. A partir do tratamento das sementes com trichoderma pode-se constatar que os dois produtos biológicos avaliados promoveram o desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular de *P. regnellii* nas duas etapas de avaliação.

Palavras-chave: Forrageira nativa, Qualidade de sementes, Agentes biológicos.

ABSTRACT

STUDY OF SEED GERMINATION PROMOTION AND DEVELOPMENT INITIAL IN *Paspalum regnellii* Mez.

AUTHOR: GABRIEL STRECK BORTOLIN
ADVISOR: ANTONIO CARLOS FERREIRA DA SILVA

Known commonly by grass waterlogged, *Paspalum regnellii* Mez it is a native grass of the southern Brazilian fields of perennial cycle, characterized as a great potential forage feed. However, even presenting itself as a quality forage resource, this species also presents limiting considered common for native forage species, especially for the germination and early growth processes. In order to evaluate the influence of the weight storage and the quality of the seed weight was carried out by separation of two batches of *P. regnellii* seed collected from two (2013 and 2014), resulting in four density grades for each batch (extra light, light, medium and heavy). After this process, the seeds from each class were placed in gerbox and germinated in B.O.D. chamber being used completely randomized design in a 2x4 factorial design. At 27 days after the test installation, the following variables were evaluated: First count, speed index, relative frequency and percentage of germination as well as the incidence of fungal genera. It is also made to assess the integrity of the seeds through the electrical conductivity test. In order to promote the increase in the percentage germination of *P. regnellii*, there was a second experiment in which we evaluated different methods aimed at overcoming seed dormancy. Three different methods were tested: scarification of the seed coat seeds with sandpaper number 180 and soaking in sulfuric acid (H₂SO₄); 2) Soaking the seeds in water at 60°C; 3) Treatment with potassium nitrate (KNO₃) and the biostimulant Stimulate[®]. After treatment, the seeds were placed in gerbox and placed in B.O.D. camera, using a completely randomized design. They were evaluated at 27 days after the experiment installation the following variables: First count, speed index and percentage of germination. In order to evaluate the effect of *Trichoderma* on emergence and early growth of *P. regnellii* they were tested increasing doses of two biological products composed by the species *Trichoderma harzianum* in the 2x10⁹ and 5x10⁹ CFU concentrations mL⁻¹. The experiment was conducted in a greenhouse and divided into two stages, the first consisting of reviews of emergence and early development of plants 40 days after sowing, and the second consisting of plant development assessments at 70 days after sowing. From the results obtained it was observed that the seeds with the highest density in both batch (2013 to 2014) showed increased vigor when compared to the seed light. Potassium nitrate and biostimulant promoted increase in the values of the variables first count, speed index and percentage of germination. From the seed treatment with *Trichoderma* can be seen that the two evaluated biological products promoted the development of shoot and root system of *P. regnellii* in two stages of evaluation.

Keywords: Native forage, Germination, Biological agents.

LISTA DE FIGURAS

Artigo 1

Figura 1 - Frequência relativa (%) de germinação de dois lotes de *Paspalum regnellii* fracionados nas classes de densidade extra leves, leves, médias e pesadas..... 29

Figura 2 - Avaliação de condutividade elétrica (CE) em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de dois lotes de *Paspalum regnellii* (2013 e 2014) fracionados nas classes de densidade extra leves (EL), leves (L), médias (M) e pesadas (P). Valores representados por letras maiúsculas não diferem entre as classes, enquanto letras minúsculas não diferem entre os lotes pelo teste de Tukey a 5%..... 30

Artigo 2

Figura 1 - Resultados de porcentagem (A), primeira contagem (B) e índice de velocidade de germinação (C) de sementes de *Paspalum regnellii* Mez escarificadas através dos métodos físico e químico por períodos de 0, 30, 60, 90 e 120 segundos..... 46

Figura 2 - Resultados de porcentagem (A), primeira contagem (B) e índice de velocidade de germinação (C) de sementes de *Paspalum regnellii* Mez embebidas em água à 60°C por períodos de 0, 30, 60, 90 e 120 segundos..... 49

Figura 3 - Resultados de porcentagem (A), primeira contagem (B) e índice de velocidade de germinação (C) de sementes de *Paspalum regnellii* Mez em substrato umedecido com solução composta pelas concentrações de 0, 2,0, 4,0, 6,0, e 8,0 $\text{ml}\cdot\text{L}^{-1}$ de bioestimulante..... 50

Figura 4 - Resultados referentes à porcentagem (A), primeira contagem (B) e índice de velocidade de germinação (C) de sementes de *Paspalum regnellii* Mez em substrato umedecido com solução composta pelas concentrações de 0, 0,2, 0,4, 0,6 e 0,8 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de nitrato de potássio (KNO_3)..... 52

Artigo 3

Figura 1 - Valores de porcentagem (A) e índice de velocidade de emergência (B) de *Paspalum regnellii* aos 30 dias após a emergência provenientes de sementes tratadas com as doses 0,0; 5,0; 10,0; 15,0 e 20 $\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ de dois produtos biológicos compostos por *Trichoderma harzianum* com concentrações de 2×10^9 e 5×10^9 $\text{UFC}\cdot\text{mL}^{-1}$ 65

Figura 2 - Valores de massa fresca (A) e seca (B) de parte aérea, fresca (C) e seca (D) de raiz de *Paspalum regnellii* aos 40 dias após a emergência provenientes de sementes

tratadas com as doses 0,0; 5,0; 10,0; 15,0 e 20 ml kg⁻¹ de dois produtos biológicos compostos por *Trichoderma harzianum* com concentrações de 2x10⁹ e 5x10⁹ UFC mL⁻¹. 67

Figura 3 - Valores de comprimento total (A), área superficial (B), volume (C) e comprimento de raízes finas (D) de plantas de *Paspalum regnellii* aos 30 dias após a emergência sob as doses 0,0; 5,0; 10,0; 15,0 e 20 mL kg⁻¹ de dois produtos biológicos compostos por *Trichoderma harzianum* com concentrações de 2x10⁹ e 5x10⁹ UFC mL⁻¹ no tratamento das sementes..... 69

Figura 4 - Valores de taxas de aparecimento de folhas (TApF, folhas/perfilho.dia), alongamento de folhas (TAIF, cm/perfilho.dia), filocrono e taxa de alongamento do colmo (TAIC, cm/perfilho.dia) de plantas de *Paspalum regnellii* aos 70 dias após a emergência sob as doses 0,0; 5,0; 10,0; 15,0 e 20 mL kg⁻¹ de dois produtos biológicos compostos por *Trichoderma harzianum* com concentrações de 2x10⁹ e 5x10⁹ UFC mL⁻¹ no tratamento das sementes..... 71

Figura 5 - Valores de massa fresca (A) e seca (B) de plantas de *Paspalum regnellii* aos 60 dias após a emergência sob as doses 0,0; 5,0; 10,0; 15,0 e 20 mL kg⁻¹ de dois produtos biológicos compostos por *Trichoderma harzianum* com concentrações de 2x10⁹ e 5x10⁹ UFC mL⁻¹ no tratamento das sementes..... 73

LISTA DE TABELAS

Artigo 1

Tabela 1 - Peso de mil sementes e porcentagem de umidade de dois lotes de sementes de <i>Paspalum regnellii</i> Mez (2013 e 2014) fracionadas nas classes de densidade extra leves, leves, médias e pesadas.....	23
Tabela 2 - Primeira contagem de germinação (PCG), índice de velocidade de germinação (IVG) e porcentagem de germinação (PG), de sementes duras (SD) e mortas (SM) de dois lotes de <i>Paspalum regnellii</i> (2013 e 2014) fracionadas nas classes de densidade extra leves, leves, médias e pesadas.....	24
Tabela 3 - Incidência de gêneros fúngicos (%) associados às classes de densidades de sementes extra leves (EL), leves (L), médias (M) e pesadas (P) de dois lotes (2013 e 2014) de sementes de <i>Paspalum regnellii</i> germinadas em papel de filtro.....	26
Tabela 4 - Coeficientes de correlação simples de Pearson (r) entre a densidade das sementes de <i>Paspalum regnellii</i> com as características avaliadas.....	27

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	13
REFERÊNCIAS.....	15
ARTIGO 1: INFLUÊNCIA DO ARMAZENAMENTO E DO PESO DA SEMENTE SOBRE A QUALIDADE FISIOLÓGICA E SANITÁRIA DE <i>Paspalum regnellii</i> MEZ.....	18
Resumo.....	18
Abstract.....	19
Introdução.....	19
Material e Métodos.....	21
Resultados e Discussão.....	24
Conclusões.....	34
Literatura citada.....	35
ARTIGO 2: METODOLOGIAS PARA SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA EM SEMENTES DE <i>Paspalum regnellii</i> Mez.....	40
Resumo.....	40
Abstract.....	41
Introdução.....	42
Material e Métodos.....	43
Resultados e Discussão.....	45
Conclusões.....	53
Referências.....	54
ARTIGO 3: EFEITO DE <i>Trichoderma</i> NA EMERGÊNCIA DE PLÂNTULAS E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE <i>Paspalum regnellii</i> Mez.....	58
Resumo.....	58
Abstract.....	59
Introdução.....	60
Material e Métodos.....	62

Resultados e Discussão.....	64
Conclusão.....	74
Literatura citada.....	74
CONCLUSÃO	80

INTRODUÇÃO

O bioma Pampa, localizado no sul do Brasil, abrange uma área de aproximadamente 178.243 km², o que corresponde a 63% do território do estado Rio Grande do Sul, estendendo-se também por todo o território Uruguaio e pelo nordeste da Argentina (HASENACK et al., 2007). Apesar de ter um elevado número de famílias e gêneros compondo a diversidade dos seus campos, as gramíneas são as mais frequentes, sendo o gênero *Paspalum* o de maior destaque (BERRETA, 2001).

O gênero *Paspalum* caracteriza-se por apresentar um grande número de representantes, com uma ampla variabilidade morfológica e uma extensa distribuição geográfica (ALISCIONI, 2002), uma vez que, inclui cerca de 400 espécies amplamente dispersas em regiões tropicais e temperadas. Ocupa lugar de destaque no cone sul da América do sul, por englobar gramíneas nativas de bom valor forrageiro e com potencial para melhoramento genético (MACHADO et al., 2005).

Em meio às espécies do gênero *Paspalum* com bom valor forrageiro, pode-se destacar os recentes estudos com a espécie *Paspalum regnellii* Mez, com resultados promissores para alimentação animal (BATISTA & GODOY, 2004; BORTOLIN, 2013). Trabalhos com esta espécie sob diferentes manejos de pastoreio apontam um valor de produção de matéria seca superior a 19.000 kg ha⁻¹ ao ano, esta de boa qualidade, chegando a atingir valores de 17% de proteína bruta (PRIMAVESI et al., 2008).

Mesmo com excelentes características que a tornam uma alternativa para produção forrageira, ainda há necessidade de estudos em relação a esta espécie, uma vez que, apresenta aspectos limitantes à produtividade considerados comuns para espécies forrageiras nativas, principalmente no que envolve os processos de germinação, estabelecimento e desenvolvimento inicial (KÖNIG et al., 2014). Pode-se observar que grande parte dos progressos alcançados no setor de tecnologia de sementes encontra-se restrita a espécies cultivadas, limitando assim a produção de sementes forrageiras nativas de qualidade (GARCIA & BASSEGIO, 1999).

Visto como uma importante etapa no processo de beneficiamento das sementes, o armazenamento tem como objetivo manter a qualidade das sementes durante o período em que ficam armazenadas (FERREIRA & BORGHETTI, 2004). Durante este processo, o conhecimento do efeito das condições de armazenamento é considerado essencial, uma vez que, estas influenciam diretamente na intensidade e na velocidade dos processos degenerativos que se iniciam após a maturação fisiológica (MARCOS FILHO, 2005).

Avaliada como uma estratégia interessante para promover o aumento da qualidade de um lote de sementes, a classificação por densidade possibilita a seleção de sementes mais vigorosas, resultando em plântulas com bom desenvolvimento (CARVALHO & NAKAGAWA, 2012). Segundo Bezerra et al., (2004), a densidade da semente é um indicativo da sua qualidade fisiológica, uma vez que, em um mesmo lote, as sementes com menor densidade normalmente demonstram menor desempenho em comparação às sementes pesadas.

De acordo com Cardoso (2004), a desuniformidade no processo de germinação de espécies forrageiras nativas pode estar relacionada à dormência das sementes, fenômeno que pode ser ocasionado por alguma restrição à germinação, proporcionada por um bloqueio situado na própria semente ou unidade de dispersão. A dormência em sementes de espécies de gramíneas forrageiras está relacionada principalmente com causas físicas, provavelmente ocasionadas às restrições impostas pelos envoltórios à entrada de oxigênio, ou proveniente de causas fisiológicas, presentes em sementes recém-colhidas, progressivamente suprimidas durante o armazenamento (BEWLEY & BLACK, 1994).

Visando a superação deste fenômeno, a dormência física proporcionada pelo tegumento pode ser superada por métodos que utilizam a escarificação destas estruturas, promovendo o contato do embrião com oxigênio (AGUIAR, 2014). Entre os métodos para superação da dormência fisiológica das sementes, destacam-se a exposição das sementes em altas ou baixas temperaturas, o tratamento do substrato com KNO_3 e também o aumento da taxa de oxigênio (BRASIL, 2009).

Com o objetivo de promover o aumento da porcentagem de germinação e o crescimento de plantas, a utilização de microrganismos indutores de crescimento é considerada uma alternativa viável e que merece atenção (MACHADO et al., 2012). A promoção da germinação e o desenvolvimento vegetativo ocasionado por microrganismos do solo ocorrem devido à ação de vários fatores. Segundo Altomare (1999), espécies de *Trichoderma* estão entre os microrganismos mais estudados como agentes de biocontrole de fitopatógenos e, apresentam também, atividades que induzem a promoção do desenvolvimento vegetativo em plantas.

A utilização de trichoderma resulta na promoção da porcentagem de germinação e também a precocidade, além de estimular o aumento na altura de plantas, e o desenvolvimento das raízes laterais (MELO, 1996). Possíveis explicações para o fenômeno de promoção de germinação de sementes e do desenvolvimento vegetal por isolados de trichoderma são o controle de fitopatógenos, auxílio na assimilação de nutrientes e

desenvolvimento mais vigoroso das raízes, secreção de fitohormônios reguladores de crescimento, aumento da concentração de nutrientes e minerais do solo através da atividade saprofítica (MELO, 1998).

Levando tais aspectos em consideração, este trabalho teve como objetivo avaliar a influência do armazenamento e do fracionamento das sementes de *P. regnellii* em diferentes classes de densidade e a eficiência de métodos para superação da dormência das sementes, bem como avaliar o efeito do tratamento das sementes com trichoderma na emergência e no crescimento inicial de *P. regnellii*.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, A. R. **Germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de *Paspalum notatum* Flüggé**. 2014, 95 p. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2014.

ALISCIONI, S. S. Contribucion a la filogenia del género *Paspalum* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 89. n. 4, p. 504-532, 2002.

ALTOMARE, C.; NORVELL, W. A.; BJORKMAN, T.; HARMAN, G. E. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 65, n. 7, p. 2926-2933, 1999.

BATISTA, L. A. R; GODOY, R. Efeito do manejo intensivo na produção de biomassa de *Paspalum regnellii* mez em três idades de corte. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41^a, 2004, Campo Grande, MS. **Anais...** Campo Grande, MS: p. 01-04.

BERRETTA, E. J. Ecophysiology and management response of the subtropical grasslands of Southern America. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 19^a, 2001. São Paulo/SP. **Anais...** São Pedro, Forage and Grassland Foundation 2001, p. 939-946.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: Physiology of development and germination**. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.

BEZERRA, A. M. E.; MOMENTÉ, V. G.; MEDEIROS FILHO, S. Germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) em função do peso da semente e do tipo de substrato. **Horticultura Brasileira**, v. 22, p. 295-299, 2004.

BORTOLIN, G. S. **Manejo de pastagens nativas e cultivadas para produção forrageira**. 2013. 25 p. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Agronomia)-Universidade da Região da Campanha, Bagé, RS, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009, 399 p.

CARDOSO, V. J. M. Dormência: estabelecimento do processo. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, p. 95-108, 2004.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência, tecnologia e produção**. 5ª ed. Jaboticabal: FUNEP, 588 p, 2012.

FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 323 p, 2004.

GARCIA, E. N.; BASEGGIO, J. B. Poder germinativo de sementes de *Desmodium incanum* DC. (Leguminosae). **Revista Brasileira de Agrociência**, v.5, n.3, p.199-202, 1999.

HASENACK, H.; CORDEIRO, J. L. P.; COSTA, B. S. C. **Cobertura vegetal atual do Rio Grande do Sul**. In: DALL'AGNOL, M.; NABINGER, C.; SANT'ANNA, D. M. & SANTOS, R.J. (eds.). II SIMPÓSIO DE FORRAGEIRAS E PRODUÇÃO ANIMAL. Depto. Forrageiras e Agrometeorologia/UFRGS, Porto Alegre. p. 15-21. 2007.

KÖNIG, F.; GONÇALVES, C. E. P.; AGUIAR, A. R.; SILVA, A. C. F. Bioma Pampa: Interações entre microrganismos e espécies vegetais nativas. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 37, n. 1, p. 03-09, 2014.

MACHADO, A. C. C.; VALLS, J. F. M.; PEÑALOSA, A. P. S.; SANTOS, S. Novos biótipos pentaplóides do grupo *Dilatata* de *Paspalum* L. (Gramineae) no Sul do Brasil. **Ciência Rural**, v. 35, n. 1, p. 56-61, 2005.

MACHADO, D. F. M.; PARZIANELLO, F. R.; SILVA, A. C. F. D.; ANTONIOLLI, Z. I. *Trichoderma* no Brasil: o fungo e o bioagente. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 35, n.1, p. 274-288, 2012.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 495 p, 2005.

MELO, I. S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 4, p. 261–295, 1996.

MELO, I. S. de. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S. de; AZEVEDO, J. L. (Eds.). **Controle biológico**. Jaguariúna: Embrapa, p. 17-60, 1998.

PRIMAVESI, O.; PRIMAVESI, A. C.; BATISTA, L. A. R.; GODOY, R. Adubação e produção de Paspalum em dois níveis de fertilidade de Latossolo Vermelho-Amarelo: estabelecimento e manutenção. **Ciência & Agrotecnologia**, v. 32, p. 242-250, 2008.

ARTIGO 1**Influência do armazenamento e do peso da semente sobre a qualidade fisiológica e sanitária de *Paspalum regnellii* Mez.¹**

Resumo: *Paspalum regnellii* Mez é uma gramínea nativa de ciclo perene conhecida vulgarmente por macega do banhado que apresenta elevado potencial forrageiro e resultados promissores quanto a ganho de peso em bovinos, porém há escassez de informações quanto à qualidade de suas sementes, principalmente por não ser ainda uma espécie comercialmente cultivada. Com o objetivo de verificar a influência do armazenamento e do peso da semente na sua qualidade fisiológica e sanitária, foram avaliadas quatro classes de densidade (extra leves, leves, médias e pesadas) a partir de sementes provenientes de dois anos de coleta (2013 e 2014). Para fins de comparação do potencial fisiológico foram analisadas as variáveis incidência de gêneros fúngicos, primeira contagem, índice de velocidade, frequência e porcentagem de germinação bem como a integridade da semente através do teste de condutividade elétrica. Os resultados obtidos demonstram que o armazenamento promove um acréscimo na porcentagem de germinação de sementes de *P. regnellii*. Observou-se também que sementes com maior densidade em ambos os anos de coleta apresentaram maior vigor quando comparadas às sementes leves. Verificou-se maior porcentagem de contaminação por fungos em sementes com densidade leve.

Palavras chave: Forrageira nativa, germinação, vigor.

Influence of storage and seed weight on the physiological and sanitary quality of *Paspalum regnellii* Mez

¹ Artigo escrito nas normas da Revista de Engenharia Agrícola e Ambiental (ISSN 1807-1929)

26 **Abstract:** *Paspalum regnellii* Mez is a native grass of perennial known cycle
27 commonly by grass waterlogged presenting high forage potential and promising results
28 as in cattle weight gain, but there is limited information about the quality of their seeds,
29 especially for not being a species grown commercially. In order to check the influence
30 of storage and seed weight in their physiological and sanitary quality were evaluated
31 four density classes (extra light, light, medium and heavy) from seeds from both years
32 (2013 and 2014). For the physiological comparison purposes were analyzed variables
33 incidence of fungal genera, first count, speed index, frequency and percentage of
34 germination and seed integrity through the electrical conductivity test. The results show
35 that the storage promotes an increase in the percentage of *P. regnellii* seed germination.
36 It was also noted that seeds with higher density in both years the collection had higher
37 vigor when compared to light seeds. A higher percentage of fungal contamination in
38 seeds with light density.

39 **Keywords:** Native grass, germination, vigor.

40

41

INTRODUÇÃO

42 As gramíneas do gênero *Paspalum* ocupam um lugar destacado em praticamente
43 todas as comunidades herbáceas de distintos ecossistemas do País, englobando um
44 grande número de espécies nativas com potencial forrageiro, além de um elevado
45 potencial para melhoramento genético visando à introdução de pastagens naturais
46 (Strapasson et al., 2000; Costa et al., 2003; Machado et al., 2005).

47 Uma das espécies promissoras deste gênero, o *Paspalum regnellii* Mez,
48 popularmente denominada de macega do banhado, é descrita como integrante do grupo
49 botânico Virgata que apresenta ciclo perene e hábito cespitoso, podendo atingir até 100
50 cm de altura em crescimento livre (Araújo, 1971). É caracterizada como uma espécie

51 forrageira interessante para a produção animal, chegando a atingir uma produção de
52 32.347 kg ha⁻¹ de massa seca ao ano com teores de até 16,48% de proteína bruta (Batista
53 & Godoy, 2004). De acordo com Meirelles et al., (2006) possui uma boa resposta a
54 ambientes melhorados, como o uso da correção da fertilidade do solo e de irrigação,
55 sendo recomendada para experimentos de avaliação de desempenho animal.

56 Entretanto, apesar dos diversos estudos relacionados ao manejo e a produção de
57 forragem de *P. regnellii*, ainda são insuficientes as informações referentes à qualidade
58 de sementes desta espécie, já que, a maior parte dos progressos alcançados quanto à
59 produção de sementes estão praticamente restritos a espécies cultivadas. A produção de
60 sementes de uma espécie forrageira, na qual a produção vegetativa representa uma
61 função relevante, é considerada um fator de grande importância, uma vez que, muitas
62 espécies com potencial forrageiro são desconsideradas por falta de informações para a
63 multiplicação comercial de sementes (Boggiano & Zanoniani, 2001).

64 Considerada uma importante etapa durante o processo de beneficiamento, o
65 armazenamento tem como principal objetivo manter a qualidade das sementes durante o
66 período em que ficam armazenadas, visto seu melhoramento não ser possível, mesmo
67 sob condições ideais (Ferreira & Borghetti, 2004). Segundo Marcos Filho (2005), o
68 período de conservação do potencial fisiológico depende, em grande parte, do grau de
69 umidade, da temperatura e das condições do ambiente de armazenamento.

70 Avaliada como uma estratégia para a obtenção de um lote de sementes com
71 maior qualidade, o uso da classificação por densidade é considerada uma prática
72 bastante interessante, já que a variação de peso entre sementes de uma espécie pode
73 ocorrer entre plantas de uma mesma população, de ano para ano e, também, dentro de
74 uma mesma planta (Cruz & Carvalho, 2003). Segundo Carvalho & Nakagawa, (2012), a

75 classificação por densidade possibilita a seleção de sementes mais vigorosas, capazes de
76 originar plântulas com bom desenvolvimento.

77 A partir deste contexto, o presente experimento teve como objetivo verificar a
78 influencia do armazenamento e do peso da semente de *P. regnellii* na qualidade
79 sanitária por meio da incidência de gêneros fúngicos e também na qualidade fisiológica,
80 através das avaliações de condutividade elétrica e de primeira contagem, índice de
81 velocidade, frequência e porcentagem de germinação.

82

83 MATERIAL E MÉTODOS

84 As avaliações de qualidade das sementes de *P. regnellii* foram conduzidas no
85 laboratório de Interação Planta-Microrganismos do Centro de Ciências Naturais e
86 Exatas da Universidade Federal de Santa Maria, RS, e no Laboratório de Sementes
87 (LABSEM) da Embrapa Pecuária Sul, município de Bagé, RS. As sementes de *P.*
88 *regnellii* utilizadas neste trabalho foram coletadas de plantas pertencentes ao acesso
89 BRA-007382 localizadas em área experimental na Embrapa Pecuária Sul.

90 Para as avaliações foram utilizados dois lotes de sementes provenientes de duas
91 coletas, sendo que no primeiro, as sementes foram coletadas em março de 2013 (lote
92 2013) e o segundo em março de 2014 (lote 2014), sendo que foram utilizadas as
93 mesmas práticas de manejo das plantas nos dois anos avaliados. Após o processo de
94 coleta, as sementes foram submetidas a um processo de limpeza em peneiras manuais
95 eliminando-se as impurezas mais grosseiras, tais como material inerte, sementes de
96 plantas daninhas, sementes de outras espécies e sementes mal formadas. Em sequência a
97 este procedimento, as sementes foram colocadas em sacos plásticos e armazenadas em
98 câmara com temperatura controlada (20 °C), sendo que o lote 2013 foi armazenado pelo

99 período de dezessete meses e o lote 2014 armazenado por cinco meses até a instalação
100 do teste.

101 Após o final do período de armazenagem procedeu-se o fracionamento dos lotes
102 2013 e 2014 pela densidade com o auxílio de um separador pneumático, marca Deleo[®],
103 modelo General, através de quatro classes de intensidades de ventilação: 0,0 (extra
104 leves); 2,0 (leves); 4,0 (médias) e 6,0 (pesadas). Os valores de intensidade de ventilação
105 representam a largura da fenda de ventilação em centímetros.

106 Para fins de comparação e diferenciação do potencial fisiológico e sanitário dos
107 lotes e das classes, as sementes foram submetidas às seguintes avaliações:

108 **Peso de mil sementes:** Pesaram-se oito subamostras de 100 sementes, contadas
109 ao acaso, sendo os valores expressos em gramas e com precisão de 0,001 g (Brasil,
110 2009).

111 **Teor de água:** Determinado pelo método da estufa a 105 ± 3 °C por 24 h. Foram
112 utilizadas duas repetições com aproximadamente 2 g para cada lote, pesadas em balança
113 com precisão de 0,01 g, e os dados, expressos em porcentagem (Brasil, 2009).

114 **Germinação:** O teste foi conduzido com seis repetições de 50 sementes
115 distribuídas em caixas gerbox sob papel de germinação (tipo Germitest) umedecido com
116 água equivalente a 2,5 vezes a massa do substrato seco. Posteriormente, as caixas foram
117 mantidas em câmara de germinação em condições de 30°C e luz contínua (Oliveira et
118 al., 2013). A avaliação da porcentagem de germinação consistiu de contagens de
119 sementes germinadas a cada dois dias até o final do teste, sendo considerada como tal
120 àquela que evidenciava a radícula com, no mínimo, 2 a 3,0 mm de comprimento
121 (Gimenez-Sampaio et al., 1997). Contabilizou-se também ao final do teste o número de
122 sementes duras e mortas (Brasil, 2009). Todos os valores foram expressos em
123 porcentagem.

124 **Primeira contagem de germinação:** Realizada conjuntamente com o teste de
125 germinação, computando-se as porcentagens médias de sementes germinadas após sete
126 dias da instalação do teste (Brasil, 2009).

127 **Índice de velocidade de germinação:** Determinado conjuntamente com o teste
128 de germinação e calculado com o auxílio da fórmula proposta por Maguire (1962):

$$129 \quad \text{IVG} = G1/N1 + G2/N2 + \dots G_n / N,$$

130 onde G1, G2, Gn = número de sementes germinadas na primeira, segunda e até a última
131 contagem e N1, N2, Nn = número de dias desde a primeira, segunda e até a última
132 contagem realizada.

133 **Frequência relativa de germinação:** Calculada através da seguinte fórmula:

$$134 \quad Fr = n_i / \sum n_i$$

135 onde: Fr = frequência relativa de germinação; ni = número de sementes germinadas por
136 dia; $\sum n_i$ = número total de sementes germinadas (Brasil, 2009).

137 **Condutividade elétrica:** Realizada com quatro repetições de 25 sementes por
138 tratamento, pesadas com precisão de 0,001 g, e imersas em 50 mL de água deionizada
139 em Becker de vidro (capacidade de 100 mL). As sementes foram mantidas a 25 °C,
140 durante 24 horas em câmaras de germinação. Após este período, foi determinada a
141 condutividade elétrica da solução de embebição, por meio de condutímetro MCA 150,
142 e os resultados, expressos em $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ (Marcos Filho & Vieira, 2009).

143 **Incidência de gêneros fúngicos:** Utilizou-se o método do papel de filtro,
144 através de caixas tipo gerbox previamente esterilizadas com hipoclorito de sódio 10%,
145 posteriormente em álcool 70%, sendo colocadas três folhas de papel de filtro
146 previamente esterilizadas em autoclave (120 °C por 40 minutos) umedecidas com água
147 destilada e esterilizada. Após a semeadura, fez-se a incubação por um período de oito
148 dias sob a condição de 30 °C em um regime constante de luz. Para cada classe de

149 densidade foram utilizadas oito repetições constituídas por 25 sementes, totalizando 200
150 sementes por classe. Após este processo, fez-se a observação dos gêneros fúngicos
151 presentes no espermoplano para cada semente, bem como a confecção de lâminas e
152 observação das estruturas fúngicas em microscópio óptico. As identificações dos
153 gêneros foram baseadas nas características morfológicas e na literatura pertinente para
154 confirmação dos resultados (Barnett & Hunter, 2006). Os dados foram transformados
155 em percentuais de incidência para cada gênero de fungo.

156 Para as variáveis envolvendo a qualidade fisiológica e sanitária de sementes de
157 *P. regnellii* foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado e esquema fatorial
158 2x4 (2 lotes x 4 classes de densidade). Fez-se a análise de médias pelo teste de Tukey a
159 5% de probabilidade, bem como a análise de correlação simples de Pearson entre a
160 densidade e as variáveis qualitativas. Todas as análises foram realizadas com o auxílio
161 do programa BioEstat versão 4.0. (Ayres et al., 2005).

162

163

RESULTADOS E DISCUSSÃO

164 Pode-se verificar através da variável peso de mil sementes (Tabela 1) a
165 ocorrência de uma variação significativa de 0,622 e 0,597 para as frações extra leves,
166 chegando a atingir valores de 1,135 e 1,133 para as frações pesadas. É possível
167 constatar que sementes classificadas como pesadas apresentaram um aumento
168 significativo dos valores da variável peso de mil sementes de 82 e 91% nos lotes 2013 e
169 2014, respectivamente, em comparação as sementes da classe extra leve. Observa-se
170 que os valores de peso de mil sementes não foram influenciados significativamente pelo
171 ano de colheita ou pelo período de armazenamento, havendo manutenção de valores
172 semelhantes entre as classes na comparação entre os lotes. Conclui-se também que não

173 houve diferença significativa no percentual de umidade das sementes dos lotes
 174 independente da classe avaliada, havendo manutenção de valores próximo a 9%.

175

176 Tabela 1: Peso de mil sementes (PMS) e porcentagem de umidade de dois lotes de
 177 sementes de *Paspalum regnellii* Mez (2013 e 2014) fracionados nas classes de
 178 densidade extra leves, leves, médias e pesadas.

Classe	PMS		Umidade (%)	
	2013	2014	2013	2014
Extra leves	0,622 Da*	0,597 Da	8,36 Aa	9,77 Aa
Leves	0,965 Ca	0,964 Ca	8,91 Aa	9,83 Aa
Médias	1,035 Ba	1,055 Ba	8,30 Aa	8,48 Aa
Pesadas	1,135 Aa	1,133 Aa	9,07 Aa	10,24 Aa

179 * Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre
 180 si em uma mesma variável, pelo teste de Tukey a 5%.

181

182 A diferença observada nos valores de densidade das sementes dentro de um
 183 mesmo lote pode estar relacionada com aos fatores ambientais, com destaque para a
 184 disponibilidade hídrica. Segundo Nogueira et al. (2010), a diferença na densidade entre
 185 as unidades de dispersão pode ser promovida pelas às condições determinadas pelo
 186 meio ambiente.

187 Na Tabela 2 estão ilustrados os valores referentes à avaliação da germinação de
 188 sementes nos lotes e em suas respectivas frações de densidade através das variáveis
 189 porcentagem, primeira contagem e índice de velocidade de germinação. A partir dos
 190 resultados obtidos, pode-se constatar que as sementes pertencentes ao lote 2013,
 191 armazenadas por período de 17 meses, apresentaram valores superiores em todas as
 192 variáveis qualitativas quando comparadas as sementes do lote 2014, armazenado por

193 cinco meses, podendo-se ressaltar que este último lote apresentou um menor valor de
194 porcentagem de germinação em todas as classes de densidade.

195

196 Tabela 2: Primeira contagem de germinação (PCG), índice de velocidade de germinação
197 (IVG) e porcentagem de germinação (PG), de sementes duras (SD) e mortas (SM) de
198 dois lotes de *Paspalum regnellii* (2013 e 2014) fracionadas nas classes de densidade
199 extra leves, leves, médias e pesadas.

Classe	PCG (%)		IVG		PG (%)		SD (%)		SM (%)	
	2013	2014	2013	2014	2013	2014	2013	2014	2013	2014
Extra leves	29 Ca*	9 Ab	3,1 Ca	1,0 Ab	33 Ba	19 Ab	25 Ab	39 Ba	44 Aa	47 Aa
Leves	47 Ba	11 Ab	7,6 Ba	1,2 Ab	49 Aa	20 Ab	23 ABb	64 Aa	23 Ba	24 Ba
Médias	52 ABa	7 Ab	9,1 ABa	0,7 Ab	57 Aa	17 Ab	12 Cb	62 Aa	26 Ba	28 Ba
Pesadas	55 Aa	8 Ab	9,6 Aa	1,0 Ab	64 Aa	18 Ab	17 BCb	62 Aa	19 Ba	25 Ba

200 * Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e maiúscula na coluna não diferem
201 entre si em uma mesma variável, pelo teste de Tukey a 5%.

202

203 Apesar de não haver variação significativa entre os lotes 2013 e 2014 para a
204 variável peso de mil sementes, é possível constatar através de todas as variáveis
205 avaliadas uma significativa variação existente entre os dois lotes de sementes. Observa-
206 se que as sementes pertencentes ao lote 2013 e armazenadas por um período superior
207 apresentaram valores superiores nas variáveis relacionadas ao processo de germinação
208 em comparação as sementes de 2014, independente da classe avaliada.

209 Esta diferença observada entre os lotes pode ser justificada pela possível
210 presença do fenômeno dormência nas sementes do lote 2014, o qual é caracterizado
211 como uma condição momentânea da semente que, mesmo estando viável e tendo todas
212 as condições ambientais para germinar, não germinam (Carvalho & Nakagawa, 2012).
213 Segundo Marcos Filho (2005), a dormência é um mecanismo resultante da estratégia

214 evolutiva das espécies frente às variações ambientais. É considerado um fenômeno
215 comumente presente em sementes de espécies forrageiras nativas e há vários estudos
216 com métodos que visam sua superação e promovem a germinação (Carvalho &
217 Carvalho 2009; Glison et al., 2015; Lacerda et al., 2010; Shin et al., 2006).

218 É possível constatar também que as classes com sementes de maior densidade
219 pertencentes ao lote 2013 apresentaram valores superiores para as variáveis
220 porcentagem, primeira contagem e índice de velocidade de germinação em comparação
221 as classes de menor densidade. Segundo Bezerra et al., (2004), a densidade da semente é
222 um indicativo da sua qualidade fisiológica, sendo que, em um mesmo lote, as sementes
223 que apresentam menor densidade normalmente demonstram menor desempenho em
224 comparação as sementes pesadas.

225 Resultados semelhantes aos encontrados neste trabalho foram obtidos por Larsen
226 & Andreasen (2004), onde estes autores observaram um acréscimo na porcentagem de
227 germinação e, ao mesmo tempo, um menor período para este processo com o aumento
228 da densidade das sementes das espécies forrageiras *Festuca rubra*, *Lolium perene* e *Poa*
229 *pratensis*. Ao avaliar o efeito do peso no vigor das sementes de *Bromus auleticus*, Silva
230 et al., (2007) constataram através dos testes de envelhecimento acelerado e
231 comprimento de plântulas que sementes maiores apresentaram maior vigor em relação à
232 sementes menores.

233 Os valores obtidos através da porcentagem de sementes duras e sementes mortas
234 (Tabela 2) mostram a ocorrência de uma redução significativa dos valores destas
235 variáveis a partir do aumento da densidade média das sementes através do
236 fracionamento, exceto para o lote 2014, onde o aumento da densidade promoveu
237 acréscimo significativo dos valores de sementes duras.

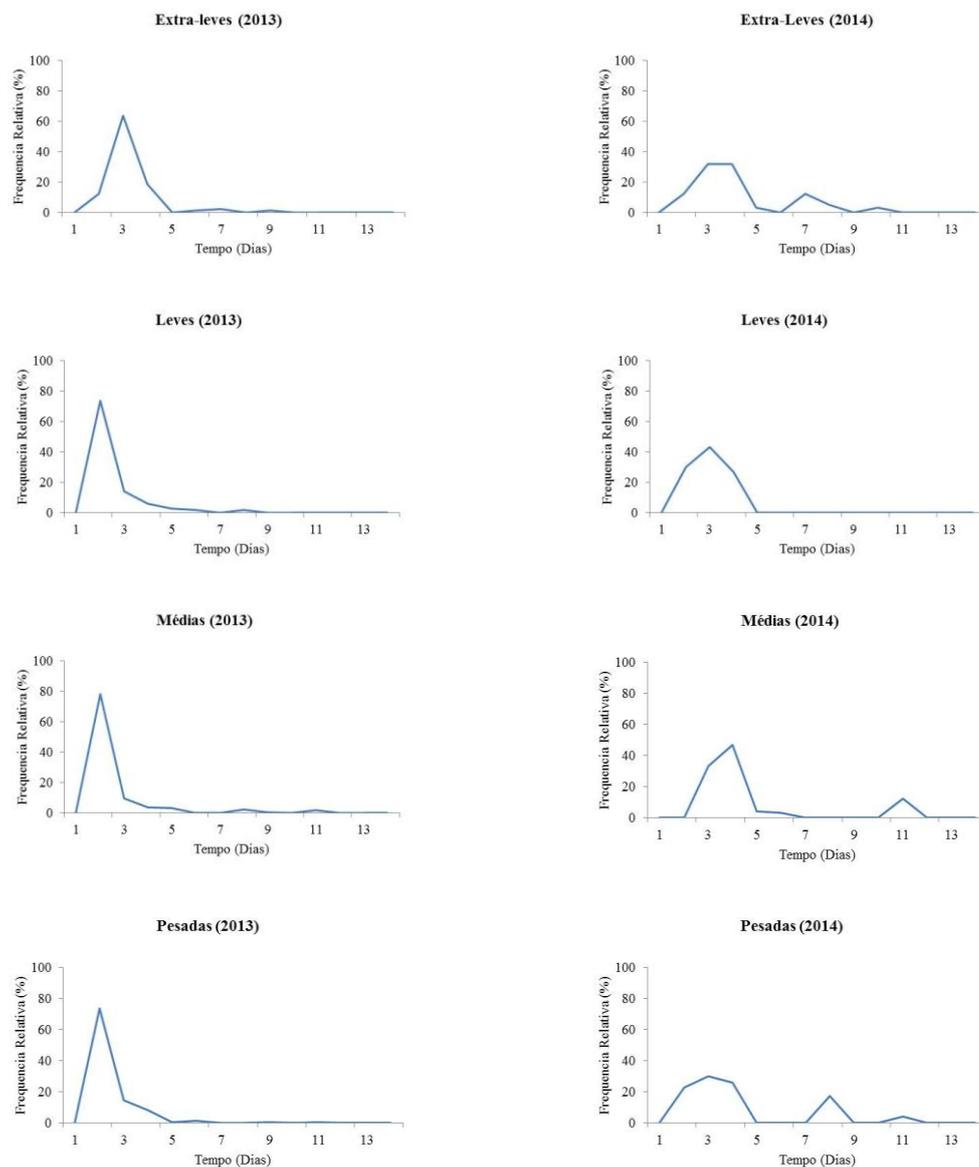
238 Os valores significativamente superiores de porcentagem de sementes duras
239 encontrados nas classes do lote 2014, quando comparados aos do lote 2013 podem ser
240 atribuídos à presença do fenômeno dormência em forma embrionária que, segundo
241 Carvalho & Nakagawa (2012), é um mecanismo frequente em sementes de espécies
242 cujo produto comercial não é o grão, como no caso das forrageiras. Os valores obtidos
243 neste trabalho podem ser justificados pelo estudo de Simpson (1990), que concluiu que
244 a dormência embrionária é progressivamente suprimida durante o período de
245 armazenamento da semente.

246 Na avaliação da porcentagem de sementes mortas (Tabela 4), pode-se verificar
247 através dos valores obtidos que não houve diferença significativa entre os lotes 2013 e
248 2014. Entretanto, observa-se que a seleção de sementes com maior densidade em ambos
249 os lotes (2013 e 2014) acarretou em uma redução significativa nos valores desta
250 variável, sendo que as menores porcentagens de sementes mortas foram observadas no
251 tratamento da classe de sementes pesadas. De acordo com Popinigis (1985), a densidade
252 da semente em muitas espécies é um indicativo de sua qualidade fisiológica, uma vez
253 que, sementes de densidade inferior em um lote apresentam menor vigor em
254 comparação às sementes de maior densidade. Segundo Carvalho & Nakagawa (2012),
255 as sementes maiores, por serem mais bem nutridas durante o seu desenvolvimento,
256 possuem embriões bem formados e com maior quantidade de reservas, resultando em
257 uma semente mais vigorosa em comparação a uma semente de menor densidade.

258 A partir da avaliação de frequência de germinação é possível verificar que
259 sementes do lote 2013, independente da classe avaliada, apresentaram maior
260 uniformidade na germinação, sendo que o período observado para este processo
261 concentrou-se em um pico inicial durante os primeiros cinco dias após o início do teste.
262 Verifica-se também que, sementes do lote 2014, em todas as classes de densidade

263 avaliadas, apresentaram resultados de frequência de germinação de forma diferenciada
 264 em relação às classes do lote 2013, sendo esta verificada até o final do período de
 265 avaliações.

266



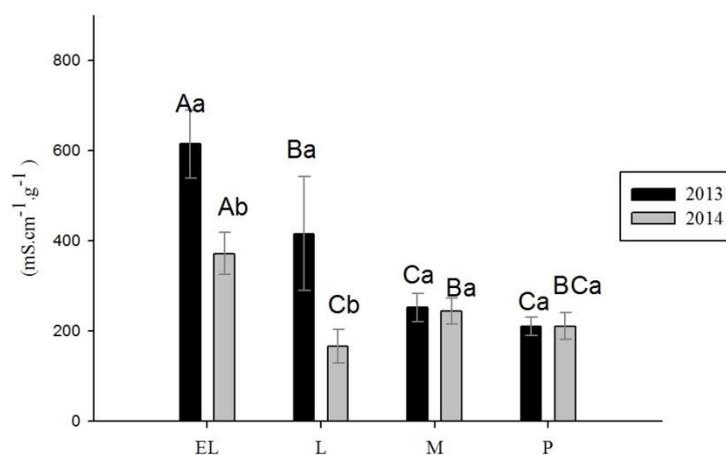
267 Figura 1: Frequência relativa (%) de germinação de dois lotes de *Paspalum regnellii*
 268 (2013 e 2014) fracionados nas classes de densidade classes de densidade extra leves,
 269 leves, médias e pesadas.

270 .

271 Considerados atributos essenciais para um lote de sementes e, observados no
 272 lote 2013, a uniformidade e a velocidade do processo de germinação evitam que as
 273 sementes permaneçam expostas a fatores que possam vir a afetar sua qualidade, gerando
 274 um estande uniforme de plantas a campo (Marcos Filho, 1999). De acordo Gross
 275 (1984), sementes que exibem melhor velocidade de germinação permitem um rápido
 276 crescimento do sistema radicular e da parte aérea, possibilitando à planta aproveitar
 277 rapidamente as reservas nutricionais e hídricas do solo, aumentando a probabilidade do
 278 sucesso no estabelecimento da planta.

279 Os valores obtidos através do teste de condutividade das sementes revelam que
 280 as classes compostas por sementes de maior densidade, independente do lote (2013 e
 281 2014), diferiram significativamente quando comparadas aos valores obtidos de
 282 condutividade para as classes de menor densidade.

283



284

285 Figura 2: Avaliação de condutividade elétrica (CE) em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de dois lotes de
 286 *Paspalum regnellii* (2013 e 2014) fracionados nas classes de densidade extra leves (EL),
 287 leves (L), médias (M) e pesadas (P). Valores representados por letras maiúsculas não
 288 diferem entre as classes, enquanto letras minúsculas não diferem entre os lotes pelo teste
 289 de Tukey a 5%.

290

291 Observa-se que sementes pertencentes às classes de menor densidade
292 apresentaram um número superior de lixiviados na solução de condutividade quando
293 comparadas as mesmas sementes pesadas. Esta diferença observada ocorreu
294 possivelmente pela maior exposição do lote 2013 ao armazenamento, que segundo
295 Carvalho & Nakagawa (2012), pode vir a reduzir a integridade das membranas da
296 semente através da perda de constituintes celulares.

297 Segundo Villela & Peres (2004), entre as principais alterações envolvidas na
298 deterioração da semente, destacam-se o esgotamento das reservas e a alteração da
299 composição química das membranas celulares, ocasionando a redução da integridade e
300 aumento da permeabilidade. Resultados semelhantes envolvendo a deterioração das
301 sementes foram encontrados por Marchiori et al. (2015) que ao avaliarem o efeito do
302 armazenamento na qualidade de sementes nativas dos campos sulinos constataram uma
303 redução do vigor das mesmas após o período de armazenagem.

304 Também é possível verificar através dos valores obtidos que sementes leves
305 apresentam maior suscetibilidade a deterioração pelo armazenamento em comparação a
306 sementes pesadas, tendo esta última classe apresentado uma maior manutenção da
307 integridade das membranas. De acordo com Carvalho & Nakagawa (2012), sementes
308 que apresentam maior densidade, devido sua melhor formação, são capazes de manter a
309 viabilidade durante longos períodos de armazenamento.

310 Os resultados obtidos na avaliação sanitária das sementes (Tabela 3) mostram
311 que as sementes do lote 2013 apresentaram uma maior porcentagem de contaminação
312 quando em comparação as sementes do lote 2014. Da mesma forma, observa-se também
313 que a densidade das sementes influenciou na incidência de gêneros fúngicos associados

314 as sementes, sendo que sementes pertencentes às frações mais leves apresentaram uma
315 maior porcentagem de incidência quando comparadas com as frações mais pesadas.

316

317 Tabela 3. Incidência de gêneros fúngicos (%) associados às classes de densidades de
318 sementes extra leves (EL), leves (L), médias (M) e pesadas (P) de dois lotes (2013 e
319 2014) de sementes de *Paspalum regnellii* germinadas em papel de filtro

Gêneros de Fungos	(% Incidência)							
	2013				2014			
	EL	L	M	P	EL	L	M	P
<i>Aspergillus</i>	22	24	18	15	8	3	-	3
<i>Rhizopus</i>	26	10	4	16	9	4	5	5
<i>Pythium</i>	14	10	3	3	11	23	7	9
<i>Curvularia</i>	1	-	-	1	3	-	3	-
<i>Fusarium</i>	-	-	-	1	-	-	-	-
% total de incidência	63	44	25	34	31	30	15	17

320

321 A maior incidência de gêneros fúngicos nas frações de densidade extra leves e
322 leves de sementes em ambos os lotes (Tabela 3) pode estar associada aos resultados
323 obtidos no teste de condutividade elétrica (Figura 2) onde observou-se uma elevada taxa
324 de lixiviados e, conseqüentemente uma menor integridade das membranas, o que pode
325 ter favorecido a incidência de fungos. Estes resultados estão de acordo com Butts et al.,
326 (2007) que, segundo estes autores, sementes de qualidade inferior são propícias a
327 contaminação por fungos, o que ocasiona a redução da porcentagem de germinação e do
328 desempenho a campo.

329 Através do método utilizado para o teste de sanidade, foi possível detectar os
330 gêneros *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Pythium*, *Curvularia* e *Fusarium*. Os fungos no
331 espermoplano podem influenciar negativamente a qualidade fisiológica das sementes e

332 resultar na redução do potencial germinativo. De acordo com Schafer & Kotanen (2003)
333 os fungos fitopatogênicos além de serem prejudiciais à germinação influenciam
334 negativamente no estabelecimento de plantas no campo.

335 Os gêneros *Aspergillus* e *Rhizopus*, observados em maior incidência, são
336 considerados importantes fungos de armazenamento, podendo estes causar a
337 deterioração das sementes, reduzindo conseqüentemente seu potencial fisiológico
338 (Marcos Filho, 2005). Segundo Atayde et al., (2012) a contaminação por fungos de
339 armazenamento é geralmente decorrente do contato com o solo, no momento da
340 colheita, e de condições de armazenamento que favorecem seu desenvolvimento. De
341 acordo com Fessel & Barreto (2000), fungos de armazenamento estão vinculados as
342 operações de beneficiamento devido aos danos mecânicos que favoreceram sua
343 colonização.

344 Pode-se destacar através dos valores obtidos a elevada incidência do gênero
345 *Pythium*, principalmente para as sementes do lote 2014. De acordo com Krugner &
346 Auer (1997), o *Pythium* sp. é um dos principais causadores do damping-of, sendo que
347 este ataca sementes em germinação, destruindo-as e plântulas recém-emergidas,
348 atacando tecidos tenros e suculentos, ocasionando a destruição dos mesmos, resultando
349 na morte da plântula a muda. Já os gêneros *Curvularia* sp. e *Fusarium* sp, observados
350 em menor incidência nos dois lotes avaliados foram identificados como patogênicos
351 para várias gramíneas (Skadsen & Holn, 2004). Segundo Bevilaqua & Pierobom (1995),
352 apresentam grande frequência de contaminação em sementes de aveia preta da zona sul
353 do Rio Grande do Sul.

354 A partir da análise de correlação simples de Pearson (Tabela 4) é possível
355 verificar que o aumento médio da densidade das sementes do lote 2013 através do
356 fracionamento gerou coeficientes de correlação significativos à 5% para as avaliações

357 que envolvem o processo de germinação. Verifica-se também que o aumento da
 358 densidade das sementes proporcionou coeficientes de correlação negativos para as
 359 variáveis condutividade elétrica e também sementes mortas, tendo estas apresentado
 360 valores significativos a 1% de probabilidade.

361

362 Tabela 4: Coeficientes de correlação simples de Pearson (r) entre a densidade das
 363 sementes de *Paspalum regnellii* com as características avaliadas.

Características avaliadas	Coeficiente de correlação simples (r)	
	Lote 2013	Lote 2014
Porcentagem de germinação	0.995**	- 0.5808
Primeira contagem de germinação	0.994**	-0.3109
Índice de velocidade de germinação	0.993**	-0.2046
Sementes Duras	-0.7826	0.9343
Sementes Mortas	-0.9672*	-0.9315
Condutividade Elétrica	-0.9687*	-0.8301
Porcentagem de contaminação	-0.9003	-0.7640

364 ** Valores significativos a 5%, *Valores significativos a 1%

365

366 Constata-se também que o aumento da densidade das sementes do lote 2014 não
 367 apresentou coeficientes de correlação significativos com as variáveis avaliadas, uma vez
 368 que, sementes provenientes deste lote, por estarem armazenadas por um curto período,
 369 independente da classe avaliada, ainda apresentam elevada integridade de suas
 370 estruturas com manutenção do estado de dormência.

371

372 CONCLUSÕES

373 1. Sementes de *P. regnellii* apresentam dormência fisiológica, sendo este fenômeno
 374 superado através do armazenamento.

- 375 2. A densidade das sementes influenciou na porcentagem de germinação e no vigor
376 das sementes de *P. regnellii*,
- 377 3. Sementes de maior densidade apresentaram maior vigor após o período de
378 armazenamento em relação a sementes leves.
- 379 4. A incidência de gêneros fúngicos foi maior nas classes de densidade de
380 sementes extra leve e leve para os lotes 2013 e 2014

381

382

383

LITERATURA CITADA

384 Atayde, D. D.; Reis, T. A.; Godoy, I. J.; Zorzete, P.; Reis, G. M.; Correa, B. Mycobiota
385 and aflatoxins in a peanut variety grown in different regions in the state of São Paulo,
386 Brazil. *Crop Protection*, v.33, p.7-12, 2012.

387 Ayres, M.; Ayres, M. Jr.; Ayres, D. L.; Santos, S. A. BioEstat 4.0: Aplicações
388 Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas. 4. ed. Belém: Sociedade
389 Civil Mamirauá, 2005, 220p.

390 Araújo, A. A. Principais Gramíneas do Rio Grande do Sul. 1. ed. Porto Alegre: Editora
391 Sulina, 1971, 190p.

392 Barnett, H. L.; Hunter, B. B. Illustrated genera of imperfect fungi. 4. ed. St. Paul: The
393 American Phytopathological Society, 2006, 298p.

394 Batista, L. A. R.; Godoy, R. Efeito do manejo intensivo na produção de biomassa de
395 "*Paspalum regnellii*" Mez em três idades de corte. In: Reunião Anual da Sociedade
396 Brasileira de Zootecnia, 41, 2004, Campo Grande. Anais... SBZ, 2004. CD Rom.

397 Bevilaqua, G.; Pierobom, C. R. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de aveia-
398 preta (*Avena strigosa* Schreb) da zona sul do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de*
399 *Sementes*, v.17, p.19-22, 1995.

- 400 Bezerra, A. M. E.; Momenté, V. G.; Medeiros Filho, S. Germinação de sementes e
401 desenvolvimento de plântulas de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) em função do peso
402 da semente e do tipo de substrato. Horticultura Brasileira, v.22, p.295-299, 2004.
- 403 Butts, C. L.; Faircloth, W. H.; Lamb, M. C.; Nuti, R. C.; Rowland, D. L.; Sorensen, R.
404 B.; Guerke W. R. Effect of bulk handling on runner peanut seed quality. Peanut
405 Science, v.34, p.22-26, 2007.
- 406 Boggiano, P.; Zanoniani, R. A. Producción de semilla de *Bromus auleticus* Trinius.
407 Consideraciones generales. In: Los Recursos Filogenéticos del Genero *Bromus* en el
408 Cono Sur, 56, 2001, Bagé. Anais... Procisur, 2001. CD Rom.
- 409 Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de
410 sementes. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.
- 411 Carvalho, R. I. N.; Carvalho, D. B. Germinação de sementes de um ecótipo de
412 *Paspalum* da região de Guarapuava-PR. Semina: Ciências Agrárias, v.30, p.1187-1194,
413 2009.
- 414 Carvalho, N. M.; Nakagawa, J. Sementes: Ciência, tecnologia e produção. 5 ed.
415 Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590p
- 416 Costa, D. I.; Scheffer-Basso, S. M.; Favero, D. Caracterização morfofisiológica e
417 agrônômica de *Paspalum dilatatum* biotipo Virasoro e *Festuca arundinacea* Schreb.
418 Disponibilidade de forragem e valor nutritivo. Revista Brasileira de Zootecnia, v.32,
419 p.1061-1067, 2003.
- 420 Cruz, E. D.; Carvalho, J. E. U. Biometria de frutos e sementes e germinação de curupixá
421 (*Micropholis* cf. *venulosa* Mart. & Eichler - Sapotaceae). Acta Amazônica, v.33, p.389-
422 398, 2003.
- 423 Ferreira, A. G.; Borguetti, F. Germinação: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed,
424 2004. 323p.

- 425 Fessel, S. A.; Barreto, M. Avaliação da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de
426 amendoim durante o beneficiamento. *Revista Brasileira de Sementes*, v.22, p.126-
427 130, 2000.
- 428 Glison, N.; Viega, L.; Cornaglia, P.; Gutiérrez, L.; Speranza, P. Variability in
429 germination behaviour of *Paspalum dilatatum* Poir. seeds is genotype dependent. *Grass*
430 *and Forage Science*, v.70, p.144-153, 2015.
- 431 Gimenez-Sampaio, T.; Sampaio, N. V.; Vaz de Souza, R. H. Incremento na taxa e
432 velocidade de germinação sob baixas temperaturas de sementes de milho (*Zea mays* L.)
433 submetidas ao pré-condicionamento osmótico. *Revista Científica Rural*, v.2, n.1, p.20-
434 27, 1997.
- 435 Gross, K. L. Effects of seed size and growth form on seedling establishment of six
436 monocarpic perennial plants. *Journal of Ecology*, v.72, p.369-387, 1984.
- 437 Krugner, T. L.; Auer, C. G. Doenças do eucalipto (*Eucalyptus* spp.). In: Kimati, H.;
438 Amorim, L.; Bergamin Filho, A. *Manual de fitopatologia: Doenças das plantas*
439 *cultivadas*. São Paulo: Ceres, 1997. p.358-376.
- 440 Lacerda, M. J. R.; Cabral, J. S. R.; de Fátima Sales, J.; Freitas, K. R.; Fontes, A. J.
441 Superação da dormência de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. “Marandu”. *Semina:*
442 *Ciências Agrárias*, v.31, p.823-828, 2010.
- 443 Larsen, S. U.; Andreasen, C. Comparison of germination criteria in red fescue (*Festuca*
444 *rubra* ssp. *litoralis*), perennial ryegrass (*Lolium perenne*) and Kentucky bluegrass (*Poa*
445 *pratensis*). *Seed Science and Technology*, v.32. p.341-354, 2004.
- 446 Machado, A. C. C.; Valls, J. F. M.; Peñalosa, A. P. S.; Santos, S. Novos biótipos
447 pentaplóides do grupo *Dilatata* de *Paspalum* L. (Gramineae) no Sul do Brasil. *Ciência*
448 *Rural*, v.35, p.56-61, 2005.

- 449 Maguire, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling
450 emergence and vigor. *Crop Science*, v.2, p.176-177, 1962.
- 451 Marchiori, N. M.; Fidelis, A.; Kozovits, A.; Garcia, Q. Germinação de sementes nativas
452 dos campos sulinos após armazenamento e choque de temperatura. *Revista*
453 *Biociências*, v.21, p.89-99, 2015.
- 454 Marcos Filho, J. Testes de vigor: importância e utilização. *In: Krzyzanowski, F. C.;*
455 *Vieira, R. D.; França Neto, J. B. Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina:*
456 *ABRATES, 1999, Cap. 1. p.1-21.*
- 457 Marcos Filho, J. Dormência de sementes. *In: Marcos Filho, J. Fisiologia de sementes de*
458 *plantas cultivadas. Piracicaba: FEALQ, 2005. p.253-289.*
- 459 Marcos Filho, J.; Vieira, R. D. Seed vigor tests: Procedures - conductivity tests. *In:*
460 *Baalbaki, R.; Elias, S.; Marcos Filho, J.; McDonald, M. B. Seed vigor tests handbook.*
461 *Ithaca: AOSA, 2009, p.186-200.*
- 462 Meirelles, P. R. L.; Batista, L. A. R.; Costa, C. Avaliação de germoplasma do gênero
463 *Paspalum* com potencial para produção de forragem. *In: ZOOTECH, 9, 2006,*
464 *Pernambuco. Anais... São Paulo, Associação Brasileira de Zootecistas, 2006. CD-*
465 *ROM.*
- 466 Moraes, S. A.; Mariotto, P. R. Diagnóstico da patologia de sementes de amendoim no
467 Brasil. *Revista Brasileira de Sementes*, v.7, p.41- 43, 1985.
- 468 Nogueira, F. C. B.; Medeiros Filho, S.; Gallao, M. Caracterização da germinação e
469 morfologia de frutos, sementes e plântulas de *Dalbergia cearensis* Ducke (pauvioleta) -
470 Fabaceae. *Acta Botanica Brasilica*, v.24, p.978-985, 2010.
- 471 Oliveira, J. C. P.; Bortolin, G. S.; Köpp, M. M. Metodologia para teste de germinação
472 de *Paspalum regnellii*. *In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 18, 2013,*
473 *Florianópolis. Anais... Brasília, Abrates, 2013. CD-ROM.*

- 474 Popinigis, F. Fisiologia da semente. Brasília: AGIPLAN, 1985. 289p.
- 475 Schafer, M.; Kotanen, P. M. The influence of soil moisture on losses of buried seeds to
476 fungi. *Acta Oecologica* v.24, p.255-263, 2003.
- 477 Silva, G. M.; Maia, M. S.; Moraes, C. O. C. Influência do peso da semente sobre a
478 germinação e o vigor de cevadilha vacariana (*Bromus auleticus* Trinius). *Revista*
479 *Brasileira de Agrociência*, v.13, n.1, p.123-126, 2007.
- 480 Simpson, G. M. Environmental influences on seed dormancy. In: Simpson, G. M. *Seed*
481 *dormancy in grasses*. New York: Cambridge University Press, 1990. 297p.
- 482 Shin, J. S.; Raymer, P.; Kim, W. Environmental factors influencing germination in
483 seeded seashore *Paspalum*. *HortScience*, v.41, p.1330–1331, 2006.
- 484 Skadsen, R. W. & Holn, T. M. Use of *Fusarium graminearum* transformed with *gfp* to
485 follow infection patterns in barley and *Arabidopsis*. *Physiological and Molecular Plant*
486 *Pathology*. v.64, p.45-53. 2004.
- 487 Strapasson, E.; Roland V.; Batista, L. A. R. Seleção de descritores na caracterização de
488 germoplasma de *Paspalum* sp. por meio de componentes principais. *Revista Brasileira*
489 *de Zootecnia*, v.29, p.373-381, 2000.
- 490 Villela, F. A; Peres, W. B. Coleta, beneficiamento e armazenamento. In: Ferreira, A. G.;
491 Borghetti, F. *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed Editora, 2004.
492 p. 265-281.

ARTIGO 2

Metodologias para superação de dormência em sementes de *Paspalum regnellii* Mez

RESUMO

A desuniformidade no processo de germinação em espécies forrageiras nativas se dá em grande parte ao fenômeno dormência. A germinação de sementes de muitas espécies de gramíneas pode ter seu índice aumentado através da utilização de pré-tratamentos, entretanto não há recomendações específicas para *Paspalum regnellii* Mez. Este trabalho teve por objetivo avaliar metodologias para superação de dormência em sementes de *P. regnellii*. Foram testados os três métodos seguintes: 1) Escarificação do tegumento das sementes através do uso de lixa número 180 e embebição em ácido sulfúrico (H_2SO_4) por crescentes períodos; 2) Tratamento térmico com embebição das sementes em água a $60^\circ C$ por diferentes períodos; 3) Tratamento com crescentes concentrações de nitrato de potássio (KNO_3) e bioestimulante. Cada tratamento foi composto de seis repetições com 50 sementes cada, dispostas para germinar em caixas gerbox. Após a semeadura, as caixas foram acondicionadas em germinador com condições de luminosidade e temperatura controladas. Procederam-se às análises de regressão das variáveis primeira contagem, índice de velocidade e porcentagem de germinação de sementes. Os resultados obtidos mostraram que os métodos físico e químico utilizados para escarificação não promoveram o aumento da germinação de sementes, entretanto o uso do H_2SO_4 reduziu os valores dos parâmetros porcentagem de germinação, número de plântulas na primeira contagem e índice de velocidade de germinação de *P. regnellii* em tempo de embebição de 120 segundos e o método físico promoveu o aumento da velocidade de germinação. O uso dos tratamentos com nitrato de potássio e bioestimulante promoveu o aumento dos valores em todos os parâmetros enquanto houve redução dos valores para os mesmos parâmetros com o uso do tratamento térmico.

26 **Termos para indexação:** Macega do banhado, escarificação, tratamento térmico, KNO_3 ,
27 bioestimulante.

28

29 **Methods to overcome dormancy in seeds of *Paspalum reginelli* Mez**

30

31 **ABSTRACT**

32 The unevenness in the germination process in native forage species occurs in large part to the
33 dormancy phenomenon. The germination of many species of grasses can have their index
34 increased by using pretreatments, however there are no specific recommendations for
35 *Paspalum regnellii* Mez. This work aimed to evaluate methodologies to overcome dormancy
36 in *P. regnellii* seeds. Were the three methods tested: 1) scarification of the seed coat of the
37 seed through the use of sandpaper number 180 and soaking in sulfuric acid (H_2SO_4) for
38 increasing periods; 2) Heat Treatment imbibition in water at 60°C for different periods; 3)
39 Treatment with increasing concentrations of potassium nitrate (KNO_3) and biostimulant. Each
40 treatment consisted of six repetitions with 50 seeds each, ready to germinate in gerboxes.
41 After sowing, the boxes were placed in germinator with lighting conditions and controlled
42 temperature. They proceeded to the regression analysis of the first count variable speed index
43 and percentage of germination. The results showed that the chemical and physical methods
44 used for chiseling not promoted increased seed germination, however the use of H_2SO_4
45 reduced values of germination parameters, number of seedlings in the first count and
46 germination rate index. *P. regnellii* for soaking time of 120 seconds and the physical method
47 promoted the increase of the germination rate. The use of treatments with potassium nitrate
48 and biostimulant promoted the increase of the values in all parameters as decreased values for
49 the same parameters with the use of heat treatment.

50 **Index terms:** Grass waterlogged, scarification, heat treatment, KNO_3 , biostimulant.

51

52 **INTRODUÇÃO**

53 O gênero *Paspalum* ocupa um lugar destacado entre as gramíneas brasileiras, pois não
54 só engloba o maior número de espécies nativas, mas também, é considerado o gênero mais
55 importante dentro do grupo de espécies com bom valor forrageiro (Boldrini et al. 2005;
56 Cidade et al. 2013). As espécies deste gênero, além de serem responsáveis por maior parte da
57 forragem disponível em diversas formações vegetais, possuem adaptações ecológicas com
58 potencial para melhoramento genético (Scheffer-Basso et al. 2009).

59 Entre as espécies promissoras que compõe este gênero, destaca-se o *Paspalum*
60 *regnellii* Mez, popularmente denominada de macega do banhado que, segundo Araújo (1971)
61 é descrita como uma espécie integrante do grupo botânico Virgata, com ciclo perene, hábito
62 cespitoso e rizomas curtos, podendo atingir a até 100 cm de altura em crescimento livre. Sua
63 qualidade forrageira é comprovada no trabalho de Batista e Godoy (2000), onde os autores
64 destacam que esta espécie apresentou bons resultados quanto à produção de forragem e de
65 ganho de peso em bovinos. Barro et al. (2013) apontam que esta espécie apresenta elevado
66 rendimento em ambientes sombreados, indicando alto potencial para produção em sistemas
67 silvi-pastoris.

68 Embora se tenha conhecimento sobre o potencial de espécies como o *P. regnellii*, a
69 introdução de gramíneas nativas encontra-se limitada em razão da escassez de informações
70 referentes à qualidade de suas sementes, uma vez que, os progressos alcançados na produção
71 de sementes estão praticamente restritos a espécies cultivadas. O processo de germinação de
72 sementes de gramíneas forrageiras tem sido, de modo geral, um sério problema vivenciado
73 pelo meio interessado na análise e produção das mesmas. As causas do baixo rendimento e
74 baixa qualidade das sementes de gramíneas forrageiras se devem, principalmente, à
75 desuniformidade e demora na emergência (Almeida; Silva, 2004).

76 Segundo Cardoso (2004), a desuniformidade no processo de germinação se dá em
77 grande parte a um fenômeno comum em sementes de espécies forrageiras nativas,
78 denominado dormência, podendo esta ser causada por alguma restrição à germinação,
79 proporcionada por um bloqueio situado na própria semente ou unidade de dispersão. Segundo
80 Carvalho e Nakagawa, (2012), a ocorrência de dormência é considerada um mecanismo
81 frequente em sementes de espécies cujo produto comercial não é o grão, como no caso das
82 forrageiras.

83 Diante deste problema, a germinação de sementes de muitas espécies de gramíneas
84 pode ter seus índices aumentados através da utilização de pré-tratamentos. Nas Regras para
85 Análise de Sementes (Brasil, 2009) são descritas alternativas para a superação da dormência
86 de um número limitado de espécies do gênero *Paspalum*, não havendo recomendações
87 específicas para *P. regnellii*. Entre os métodos citados, destaca-se a escarificação mecânica,
88 imersão em solventes, tratamento com ácido sulfúrico, exposição a altas e baixas temperaturas
89 e tratamentos com hormônios como a giberilina e citocinina.

90 Analisando-se a importância e principalmente o fato de a espécie *P. regnellii* carecer
91 de pesquisas capazes de determinar métodos adequados para a superação de sua dormência,
92 este trabalho teve por objetivo testar os métodos de escarificação física e química, embebição
93 das sementes em água pré-aquecida a 60°C e também uso do nitrato de potássio (KNO₃) e
94 bioestimulante na superação da dormência de sementes de *P. regnellii*.

95

96 MATERIAL E MÉTODOS

97 Os testes de superação de dormência foram conduzidos no laboratório de Interação
98 Planta-Microrganismos do Centro de Ciências Naturais e Exatas da Universidade Federal de
99 Santa Maria, no mês de julho de 2014. As sementes de *P. regnellii* utilizadas neste trabalho

100 foram coletadas de plantas pertencentes ao acesso BRA-007382 localizadas em área
101 experimental na Embrapa Pecuária Sul, município de Bagé, RS.

102 Após a coleta, as sementes foram submetidas a um processo de limpeza em peneiras
103 manuais eliminando-se as impurezas mais grosseiras, tais como material inerte, sementes de
104 plantas daninhas, sementes de outras espécies e sementes mal formadas. Após procedeu-se a
105 separação por densidade visando à eliminação das sementes denominadas “chochas” que,
106 visualmente, tem aspecto normal, mas que consistem de glumas sem a cariopse desenvolvida
107 no interior. Este procedimento foi realizado em separador pneumático marca Deleo[®], modelo
108 General, em abertura de ventilação 6,0. Após este processo e, previamente a implantação dos
109 tratamentos, fez-se a avaliação da qualidade das sementes utilizadas através do teste de
110 germinação (Brasil, 2009), onde foram constatados os seguintes valores: 64 % de sementes
111 germinadas, 17 % de sementes duras e 19 % de sementes mortas.

112 Na etapa seguinte, fez-se o emprego dos tratamentos para superação da dormência,
113 sendo estes baseados em três metodologias: 1) Escarificação física das sementes com lixa
114 número 180 e escarificação química com ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄), sendo ambos
115 os métodos empregados por períodos de 0, 30, 60, 90 e 120 segundos, 2) Embebição das
116 sementes em água a 60°C por períodos de 0, 30, 60, 90 e 120 segundos e 3) Tratamento do
117 substrato de germinação com bioestimulante nas concentrações de 0, 2,0, 4,0, 6,0, e 8,0 mL⁻¹
118 e tratamento do substrato com nitrato de potássio (KNO₃) nas concentrações de 0, 0,2, 0,4, 0,6
119 e 0,8 g.L⁻¹. Para este trabalho, utilizou-se como fonte do bioestimulante o produto comercial
120 Stimulate[®] (composto por cinetina a 0,009%, ácido giberélico a 0,005% e ácido indolbutírico
121 a 0,005%).

122 Após a aplicação dos tratamentos, fez-se a distribuição das sementes sob papel
123 germitest previamente umedecido com água equivalente a 2,5 vezes a massa do substrato seco
124 para os tratamentos 1 e 2, e para o tratamento 3, o papel germitest foi umedecido 2,5 vezes

125 com as respectivas soluções propostas de nitrato de potássio e de bioestimulante, sendo que
126 para todos os tratamentos o papel foi arranjado em uma caixa do tipo gerbox com capacidade
127 para 50 sementes. Para cada tratamento foram utilizadas seis caixas gerbox, totalizando 300
128 sementes. Após a sementeira, as caixas foram postas em germinadores do tipo B.O.D.
129 (Biological Oxygen Demand), permanecendo por um período de 27 dias, com presença de luz
130 em temperatura de 30°C (Oliveira et al., 2014)

131 A avaliação da porcentagem de germinação consistiu de contagens de sementes
132 germinadas a cada dois dias até o final do teste, sendo considerada como tal àquela que
133 evidenciava a radícula com, no mínimo, 2 a 3 mm de comprimento (Gimenez-Sampaio et al.
134 1997). Além da porcentagem de germinação, também foi avaliado o índice de velocidade de
135 germinação (IVG), com o auxílio da fórmula proposta por Maguire (1962):

$$136 \quad \text{IVG} = G_1/N_1 + G_2/N_2 + \dots G_n /N,$$

137 onde G_1, G_2, G_n = número de sementes germinadas na primeira, segunda e até a última
138 contagem e N_1, N_2, N_n = número de dias desde a primeira, segunda e até a última contagem
139 realizada.

140 Fez-se também a contabilização de plântulas na primeira contagem (PCG), sendo esta
141 realizada conjuntamente com o teste de germinação, computando-se as porcentagens médias
142 de sementes germinadas, após sete dias da instalação do teste, conforme as Regras para
143 Análise de Sementes (Brasil, 2009). Para a análise estatística, todos os resultados obtidos
144 foram submetidos à análise de regressão com auxílio do programa estatístico BioEstat 4.0
145 (Ayres et al. 2005).

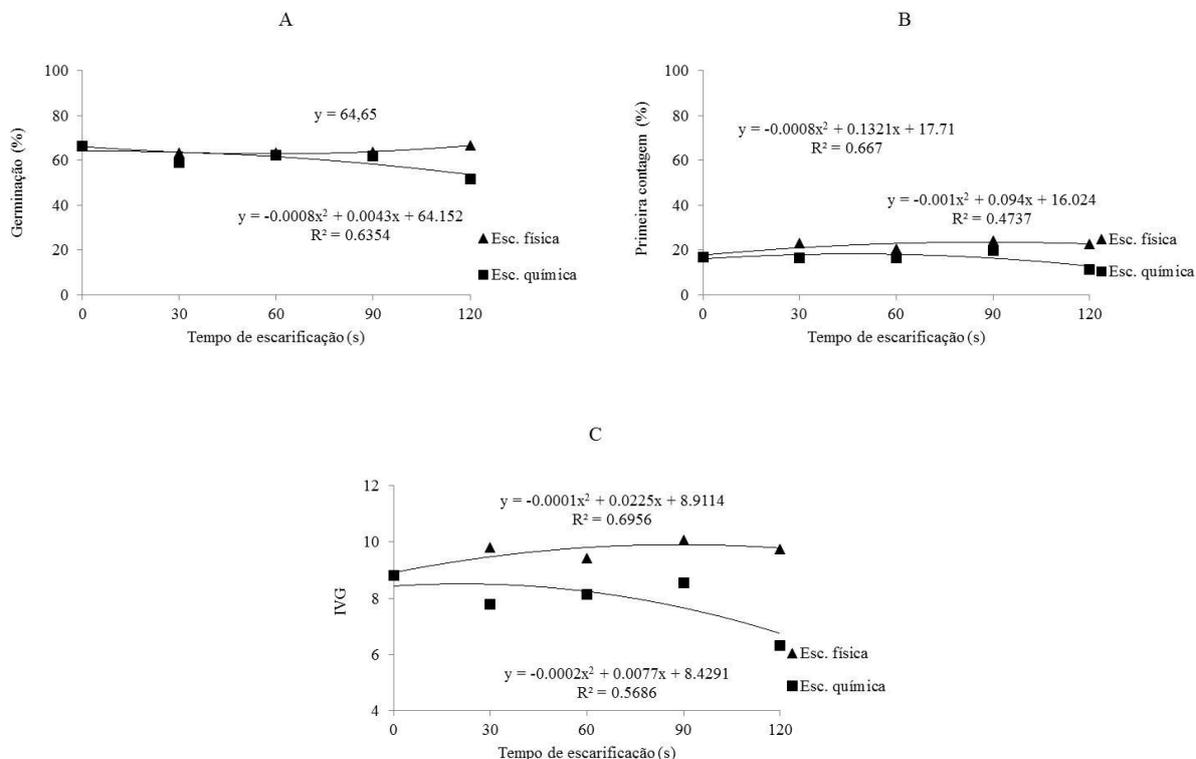
146

147 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

148 De acordo com os dados observados na Figura 1A, é possível verificar que a
149 esscarificação mecânica com lixa por períodos crescentes não influenciou significativamente a

150 porcentagem de germinação das sementes em comparação com a testemunha, havendo a
 151 manutenção do percentual de germinação próximo de 65 %.

152



153 Figura 1: Resultados de porcentagem (A), primeira contagem (B) e índice de velocidade de
 154 germinação (IVG) (C) de sementes de *Paspalum regnellii* Mez escarificadas através dos
 155 métodos físico e químico por períodos de 0, 30, 60, 90 e 120 segundos.

156

157 Este resultado evidencia que o tegumento das sementes de *P. regnellii* não se mostrou
 158 como um impedimento ao processo de germinação, podendo-se afirmar que a dormência
 159 presente nas sementes desta espécie não se encontra na forma física que, segundo Hilhorst
 160 (2007), é caracterizada pela impermeabilidade do tegumento, evitando as trocas do embrião
 161 com o meio, inibindo desta forma a germinação. Os resultados obtidos através da
 162 escarificação física podem estar atrelados à forma com que a dormência está presente na
 163 semente. Segundo Cardoso (2004), além da dormência física, há outra forma de dormência

164 comumente encontrada em espécies tropicais, denominada dormência endógena, esta causada
165 por algum bloqueio à germinação relacionado ao próprio embrião, em que, na maioria das
166 vezes, ocorre devido a mecanismos inibitórios envolvendo os processos metabólicos.

167 Embora não tenha promovido acréscimo no percentual de germinação, a escarificação
168 física proporcionou um incremento nos valores de porcentagem de plântulas na primeira
169 contagem e no índice de velocidade de germinação, tendo a análise de regressão apontado um
170 modelo quadrático para estes dois parâmetros (Figura 1B; 1C). Estes resultados estão de
171 acordo com o trabalho de Carvalho e Nakagawa (2012), onde os autores afirmam que o
172 rompimento do tegumento das sementes pela escarificação proporciona uma maior velocidade
173 de absorção de água e gases pelo embrião, além de promover aumento da sensibilidade à luz e
174 à temperatura. Comportamento semelhante foi observado para as sementes das espécies
175 *Trifolium riograndense* (Suñé; Franke, 2006), *Desmodium ovalifolium* (Deminicis et al.
176 2006), e *Adesmia punctata* (Tedesco et al. 2001), que ao serem submetidas ao método de
177 escarificação física do tegumento, apresentaram um acréscimo significativo na velocidade de
178 germinação.

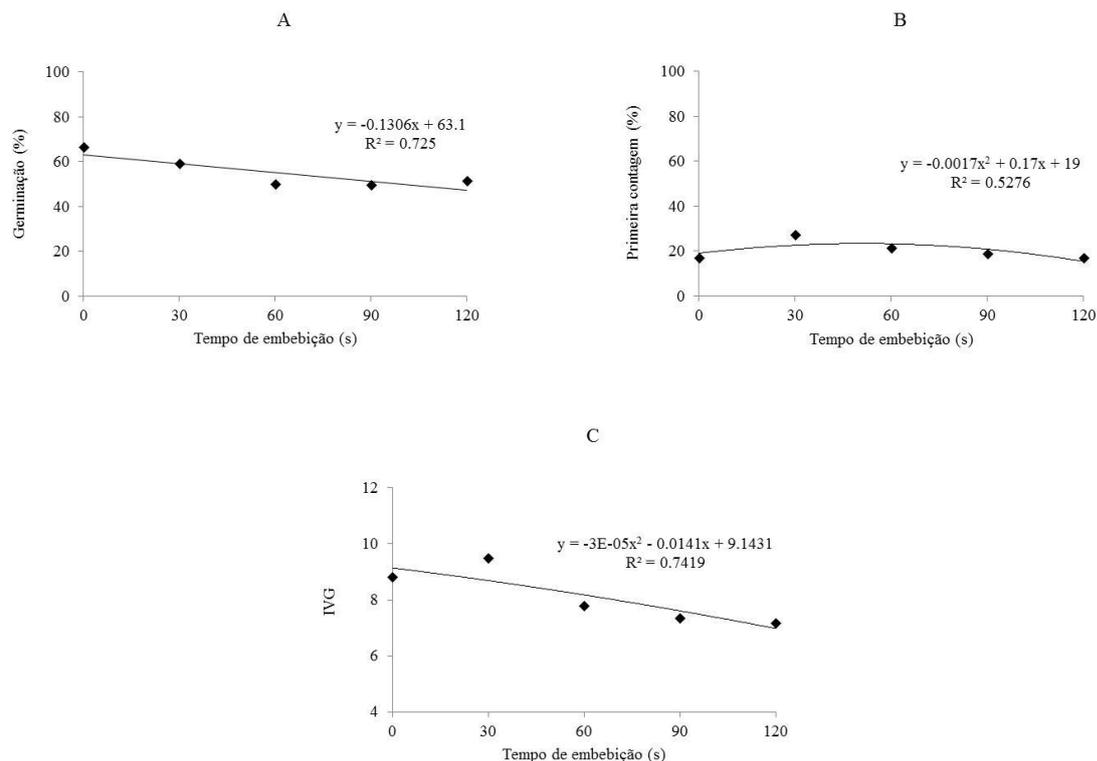
179 Na Figura 1A encontram-se também os dados relativos aos crescentes períodos de
180 escarificação química através da embebição em H₂SO₄. Seguindo a mesma tendência dos
181 resultados obtidos com a escarificação mecânica, os períodos de embebição em H₂SO₄ não
182 foram suficientes para promover o aumento da porcentagem de germinação, resultando em
183 valores semelhantes aos obtidos no tratamento testemunha em todos os parâmetros avaliados
184 até o período de 90 segundos de embebição. A partir da embebição em H₂SO₄ por um período
185 superior a 90 segundos pode-se constatar uma redução nos valores de porcentagem, primeira
186 contagem e índice de velocidade de germinação das sementes, tendo a análise de regressão
187 uma resposta quadrática para estes parâmetros (Figura 1A, 1B e 1C).

188 Segundo Franke e Baseggio (1998) alguns cuidados devem ser tomados quanto à
189 intensidade e forma de aplicação dos tratamentos para superação de dormência, para que as
190 lesões provocadas não causem danos ao embrião, resultando em danos ao vigor das sementes.
191 Comportamento semelhante ao encontrado neste trabalho foi observado em sementes de
192 *Panicum maximum*, onde o uso da escarificação com H₂SO₄ reduziu drasticamente a
193 porcentagem de germinação (Dias; Alves, 2008). Ao avaliar o uso de tratamentos para
194 promover a germinação de sementes de *Brachiaria dictyoneura*, Almeida e Silva (2004)
195 afirmam que, de todos os tratamentos testados, o ácido sulfúrico foi o único a apresentar uma
196 taxa de plântulas anormais estatisticamente superior à testemunha.

197 Estão ilustrados na Figura 2 os valores relativos à porcentagem, primeira contagem e o
198 índice de velocidade de germinação de *P. regnellii* submetidas a crescentes períodos de
199 embebição em água a 60°C. Pode-se verificar através dos valores obtidos que os períodos
200 crescentes de embebição promoveram um decréscimo na germinação e no vigor de sementes
201 em comparação à testemunha, tendo a análise de regressão apontado um modelo linear para a
202 variável porcentagem de germinação. Corroborando com estes valores, os resultados de
203 primeira contagem e índice de velocidade de germinação (Figura 2B; 2C) foram influenciados
204 negativamente pelo aumento crescente do período de embebição, tendo estas variáveis uma
205 resposta quadrática e linear, respectivamente.

206 O uso de altas temperaturas como forma de escarificação tem como princípio básico a
207 retirada da camada de cera presente no tegumento, diminuindo sua impermeabilidade,
208 permitindo a entrada de água e as trocas gasosas, sendo uma prática bastante utilizada em
209 sementes de espécies florestais (Cardoso, 2004). Apesar de ser uma alternativa prática e de
210 fácil condução, o uso deste método requer atenção especial, já que, a temperatura da água e o
211 tempo de embebição podem vir a reduzir o vigor das sementes (Varela et al. 1991; Matheus e
212 Lopes, 2007; Luz et al. 2008).

213

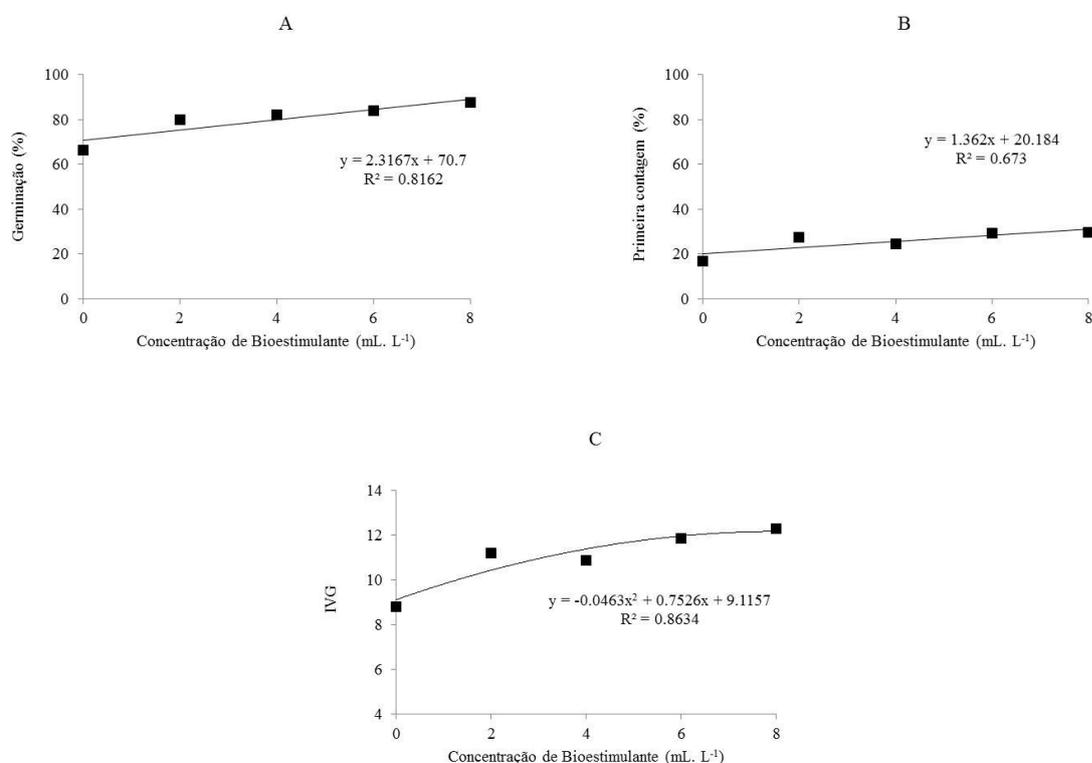


214 Figura 2: Resultados de porcentagem (A), primeira contagem (B) e índice de velocidade de
 215 germinação (C) de sementes de *Paspalum regnellii* Mez embebidas em água à 60°C por
 216 períodos de 0, 30, 60, 90 e 120 segundos.

217

218 Segundo Shimizu et al., 2011, a redução do vigor das sementes expostas a embebição
 219 a elevadas temperaturas pode estar atribuída a promoção de lesões nas membranas celulares,
 220 provocando assim a desnaturação de enzimas importantes no processo de respiração celular.
 221 Embora esta prática tenha reduzido o vigor das sementes de *P. regnellii*, resultados
 222 contraditórios a estes valores foram obtidos por Lacerda et al. (2010), onde o tratamento com
 223 água fervente foi efetivo na superação da dormência de sementes de *Brachiaria brizantha*. Da
 224 mesma forma, ao avaliar o uso de tratamentos para superar a dormência de sementes das
 225 espécies *Adesmia araujoii* e *Adesmia latifolia*, Montardo et al. (2000) afirmaram que a
 226 imersão em água quente proporcionou os melhores resultados de porcentagem de germinação.

227 Os valores referentes à porcentagem, primeira contagem e índice de velocidade de
 228 germinação de sementes de *P. regnellii* submetidas a crescentes concentrações de
 229 bioestimulante encontram-se ilustrados na Figura 3. Pode-se verificar através da variável
 230 porcentagem de germinação que as crescentes concentrações de bioestimulante
 231 proporcionaram um incremento no percentual de germinação em comparação a testemunha
 232 (Figura 3A), chegando a atingir o valor de 88 % na concentração 8 mL.L⁻¹ de bioestimulante,
 233 tendo a análise de regressão apontado um modelo linear para esta variável.
 234



235 Figura 3: Resultados de porcentagem (A), primeira contagem (B) e índice de velocidade de
 236 germinação (C) de sementes de *Paspalum regnellii* Mez em substrato umedecido com solução
 237 composta pelas concentrações de 0, 2,0, 4,0, 6,0, e 8,0 mL.L⁻¹ de bioestimulante.

238

239 Com comportamento semelhante à porcentagem de germinação, as variáveis primeira
 240 contagem e índice de velocidade de germinação foram influenciadas positivamente pelas

241 concentrações de bioestimulante, chegando a atingir o valor de 30 % para plântulas na
242 primeira contagem e 12,31 para o índice de velocidade de germinação em concentrações
243 acima de 6,00 mL.L⁻¹ de bioestimulante (Figura 3B, 3C).

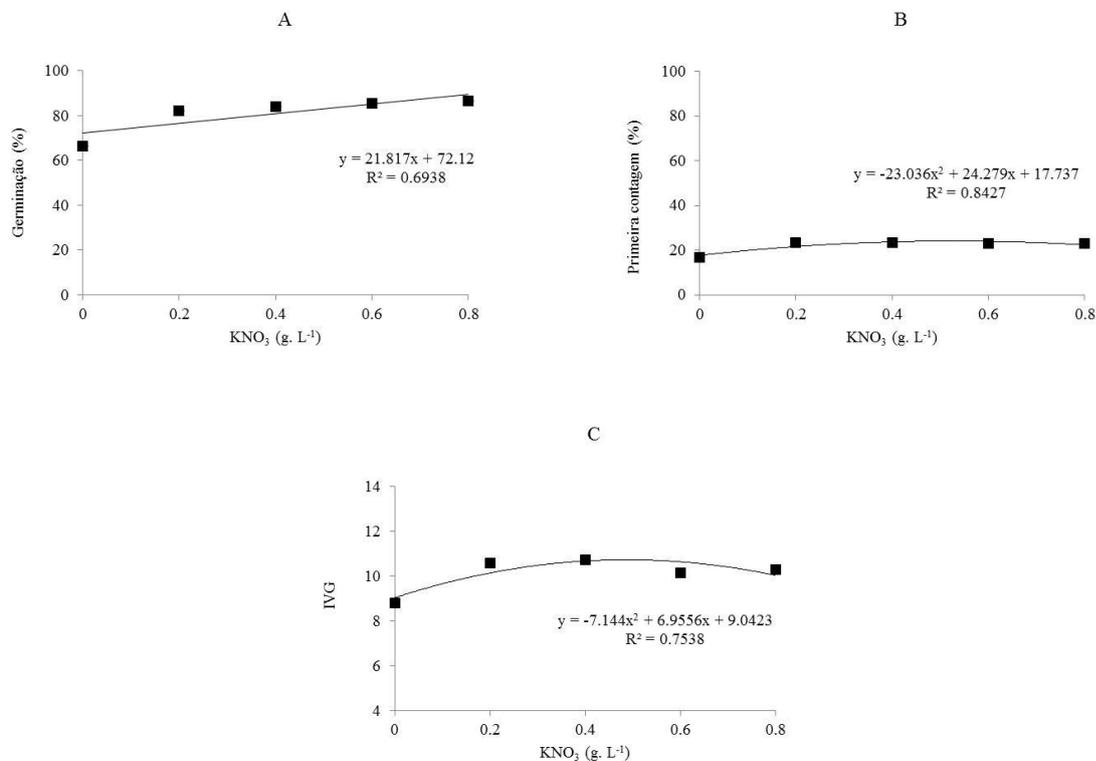
244 Segundo Cardoso (2004), os bioreguladores ou reguladores vegetais exercem um
245 papel primordial na eliminação da dormência das sementes, com destaque para a giberelina
246 (GA₃), presente na composição do bioestimulante, que estimula a ação de enzimas hidrolíticas
247 como a alfa-amilase e protease, promovendo hidrólise de reservas armazenadas na semente
248 (Taiz; Zeiger, 2010). Além da giberelina, as citocininas e as auxinas, componentes do
249 bioestimulante, participam em diversos processos fisiológicos de desenvolvimento, incluindo
250 a germinação de sementes e a quebra de dormência das gemas (Croizer et al. 2001).

251 Resultados semelhantes aos observados neste trabalho foram verificados por Silva et
252 al. (2013), onde a utilização de giberelina, componente do bioestimulante, proporcionou um
253 aumento na porcentagem de germinação de sementes de *Brachiaria brizantha*. Em trabalho
254 semelhante, Dantas et al. (2001) verificaram que sementes de *Brachiaria plantaginea*
255 escarificadas e mergulhadas em solução contendo giberelina, obtiveram um aumento na
256 emergência de plântulas em relação ao controle. Da mesma forma, Costa et al. (2011)
257 afirmam que o uso de ácido giberélico em sementes de *Brachiaria humidicola* após a
258 escarificação com ácido sulfúrico (H₂SO₄) durante 15 minutos, reduziu a porcentagem da
259 dormência em sementes para menos de 30%.

260 Encontram-se ilustrados na Figura 4 os valores relativos à porcentagem, primeira
261 contagem e índice de velocidade de germinação de sementes de *P. regnellii* submetidas a
262 crescentes concentrações de nitrato de potássio (KNO₃). Pode-se verificar que as crescentes
263 doses proporcionaram um incremento nos valores de porcentagem de germinação (Figura 4A)
264 em comparação ao resultado obtido no tratamento testemunha, podendo-se constatar valores

265 máximos de 86% em concentrações acima de 0,6 g.L⁻¹ de nitrato de potássio, tendo a análise
 266 de regressão apontado um modelo linear para esta variável.

267



268 Figura 4: Resultados referentes à porcentagem (A), primeira contagem (B) e índice de
 269 velocidade de germinação (C) de sementes de *Paspalum regnellii* Mez em substrato
 270 umedecido com solução composta pelas concentrações de 0, 0,2, 0,4, 0,6 e 0,8 g.L⁻¹ de nitrato
 271 de potássio (KNO₃).

272

273 Seguindo a mesma tendência encontrada na porcentagem de germinação, os valores de
 274 porcentagem de plântulas na primeira contagem e no índice de velocidade de germinação
 275 (Figura 4B; 4C) foram influenciados positivamente em todas as concentrações de nitrato de
 276 potássio, resultando em valores de 23 % para porcentagem de plântulas na primeira contagem
 277 e 10,78 para índice de velocidade de germinação na concentração de 0,2 g.L⁻¹, havendo

278 manutenção destes valores entre as crescentes doses, tendo ambos os parâmetros uma resposta
279 quadrática na análise de regressão.

280 O uso da solução de nitrato de potássio é considerada uma abordagem química
281 adequada para promover a germinação de várias espécies de plantas (Bush et al. 2000). Seu
282 emprego é uma alternativa para superar a dormência de sementes, uma vez que, o NO_3^-
283 estimula a via pentose fosfato, que depende de oxigênio, dando início a reações metabólicas
284 que culminam no fornecimento de energia e substrato para o crescimento do eixo embrionário
285 (Castro e Alvarenga, 1996).

286 Comportamento semelhante ao encontrado neste trabalho foi observado por Costa et
287 al. (2011), que ao verificar a eficácia de aplicação de substâncias promotoras à germinação de
288 sementes de *Brachiaria humidicola*, constataram que o nitrato de potássio foi eficiente na
289 promoção da germinação das sementes desta espécie. Efeitos benéficos também foram
290 encontrados por Shin et al. (2006), onde o uso do nitrato de potássio promoveu acréscimo na
291 porcentagem de germinação de sementes de *Paspalum vaginatum* Swartz., bem como uma
292 maior uniformidade deste processo. Ao avaliar diferentes tratamentos para a superação da
293 dormência de sementes de *Brachiaria brizantha*, Silva et al. (2013) verificaram que o
294 tratamento com nitrato de potássio promoveu aumento significativo na porcentagem de
295 germinação em comparação à testemunha.

296

297 **CONCLUSÕES**

298 A escarificação com lixa não promove aumento nos parâmetros porcentagem e índice
299 de velocidade de germinação de sementes de *P. regnelli*, no entanto, promove aumento no
300 número de plântulas na primeira contagem. O ácido sulfúrico não promove o aumento, mas
301 houve um decréscimo no tratamento em embebição por 120s em todos os parâmetros
302 estudados.

303 O tratamento térmico influencia negativamente a germinação, índice de velocidade de
304 germinação e o número de plântulas na primeira contagem.

305 O nitrato de potássio e o biostimulante promovem o aumento da porcentagem de
306 germinação, velocidade e o número de plântulas na primeira contagem, e podem ser utilizados
307 em tratamento para a quebra de dormência de sementes em *P. regnellii*.

308

309 REFERÊNCIAS

310 ALMEIDA, C. R.; SILVA, W. R. Comportamento da dormência em sementes de *Brachiaria*
311 *dictyoneura* cv. Llanero submetidas às ações do calor e do ácido sulfúrico. **Revista Brasileira**
312 **de Sementes**, 26, (1): 44-49, 2004.

313 ARAÚJO, A. A. **Principais Gramíneas do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Sulina, 1971,
314 225p.

315 AYRES, M.; AYRES, M. JR.; AYRES, D. L.; SANTOS, S. A. **BioEstat 4.0**: Aplicações
316 Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas. 4. ed. Belém: Sociedade
317 Civil Mamirauá, 2005, 220p.

318 BATISTA, L. A. R.; GODOY, R. Caracterização preliminar e seleção de germoplasma do
319 gênero *Paspalum* para produção de forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 29, (1): 23-
320 32, 2000.

321 BARRO, R. S. et al. Forage yield and nitrogen nutrition dynamics of warm-season native
322 forage genotypes under two shading levels and in full sunlight. **Revista Brasileira de**
323 **Zootecnia**, 41: 1589–1597, 2013.

324 BOLDRINI, I. I.; LONGHI-WAGNER, H. M.; BOECHAT, S. C. **Morfologia e taxonomia**
325 **de gramíneas sul-rio-grandenses**. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2005. 96p.

326 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de**
327 **sementes**. Brasília: MAPA/ ACS, 2009. 399p.

- 328 BUSH, E. W. et al. Enhancement of seed germination in common carpetgrass and
329 centipede grass seed. **HortScience**, 35: 769–770, 2000.
- 330 CARDOSO, V. J. M. Dormência: estabelecimento do processo. In: FERREIRA, A. G.;
331 BORGHETTI, F. **Germinação do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 96-
332 108.
- 333 CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência, tecnologia e produção**.
334 Jaboticabal: FUNEP, 2012, 590p.
- 335 CASTRO, C. R.; ALVARENGA, E. M. Impermeabilidade a gases como fator de dormência
336 em sementes de gramíneas: um destaque para as forrageiras. **Revista Brasileira de Sementes**,
337 6 (1): 28-34, 1996.
- 338 CIDADE, F. W. et al. Genetic variation in polyploid forage grass: Assessing the molecular
339 genetic variability in the *Paspalum* genus. **Bio Medic Central Genetics**, 14: 1-18, 2013.
- 340 COSTA, C. J. et al. Tratamentos para a superação de dormência em sementes de *Brachiaria*
341 *humidicola* (Rendle) Schweick. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, 41 (4): 519-524, 2011.
- 342 CROIZER, A. et al. Biosynthesis of hormones and elicitor molecules. In: BUCHANAN, B.
343 B.; GUISSEM, W.; RUSSEL, L. J. **Biochemistry e molecular biology of plants**. Rockville:
344 American Society of Plant Physiologists, 2001, p. 850-929.
- 345 DANTAS, B. F. et al. Germinação de sementes de capim-marmelada (*Brachiaria plantaginea*
346 Hitchc.) tratadas com ácido giberélico. **Revista Brasileira de Sementes**, 23 (2): 27-34, 2001.
- 347 DEMINICIS, B. B. et al. Superação da dormência de sementes de oito leguminosas
348 forrageiras tropicais. **Archivos de Zootecnia**, 55 (212): 401-404, 2006.
- 349 DIAS, M. C. L. L.; ALVES, S. J. Avaliação da viabilidade de sementes de *Panicum*
350 *maximum* Jacq pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, 30 (3): 152-158,
351 2008.

- 352 FRANKE, L. B.; J. BASEGGIO. Superação da dormência de sementes de *Desmodium*
353 *incanum* DC. e *Lathyrus nervosus* Lam. **Revista Brasileira de Sementes**, 20: 420-424, 1998.
- 354 HILHORST, H. W. M. Definitions and hypotheses of seed dormancy. In: BRADFORD, K. J.;
355 NONOGAKI, H. **Seed development, dormancy and germination**. Oxford: Blackwell, 2007.
356 p. 50-71.
- 357 LACERDA, M. J. R.; et al. Superação da dormência de sementes de *Brachiaria brizantha* cv.
358 “Marandu”. **Semina: Ciências Agrárias**, 31 (4): 823-828, 2010.
- 359 LUZ, P. B. et al. Germinação de palmeira-ráfia: Efeito de tratamentos pré-germinativos.
360 **Revista Árvore**, 32 (5): 793-798, 2008.
- 361 MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling
362 emergence and vigor. **Crop Science**, 2: 176-177, 1962.
- 363 MATHEUS, M. T.; LOPES, J. C. Termoterapia em Sementes de Guapuruvú (*Schizolobium*
364 *parahyba* (Vell.) Blake). **Revista Brasileira de Biociências**, 5: 330-332, 2007.
- 365 MONTARDO, D. P. et al. Efeito de dois tratamentos na superação de dormência de sementes
366 de cinco espécies de *Adesmia* DC. **Revista Científica Rural**, 5 (1): 1-7, 2000.
- 367 SCHEFFER-BASSO, S. M.; BARÉA, K.; JACQUES, A. V. A. 2009. *Paspalum* e *Adesmia*:
368 Importantes forrageiras dos campos sulinos. In: PILLAR, V. P.; MÜLLER, S. C.;
369 CASTILHOS, Z. M. S.; JACQUES, A. V. A. **Campos sulinos: Conservação e uso**
370 sustentável da biodiversidade. Brasília: MMA, 2009, p. 163-174.
- 371 SHIMIZU, E. S. C. et al. Aspectos fisiológicos da germinação e da qualidade de plântulas de
372 *Schizolobium amazonicum* em resposta à escarificação das sementes em lixa e água quente.
373 **Revista Árvore**, 35 (4): 791-800, 2011.
- 374 SILVA, A. B.; LANDGRAF, P. R. C.; MACHADO, G. W. O. Germinação de sementes de
375 braquiária sob diferentes concentrações de giberelina. **Semina: Ciências Agrárias**, 34 (2):
376 657- 662, 2013

- 377 SILVA, A. L. et al. Tratamentos para quebra de dormência em *Brachiaria brizantha*. **Revista**
378 **de Ciências Agrárias**, 37 (1): 37-41, 2014.
- 379 SHIN, J. S.; RAYMER, P.; KIM, W. Environmental factors influencing germination in
380 seeded seashore *Paspalum*. **HortScience**, 41: 1330–1331, 2006.
- 381 SUÑÉ, A. D.; FRANKE, L. B. Superação de dormência e metodologias para testes de
382 germinação em sementes de *Trifolium riograndense* Burkart e *Desmanthus depressus* Humb.
383 **Revista Brasileira de Sementes**, 28 (3): 29-36, 2006.
- 384 TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. Sunderland: Sinauer Associates, 2010. 782p.
- 385 TEDESCO, S. B. et al. Superação de dormência em sementes de espécies de *Adesmia*.
386 (*Leguminosae*). **Revista Brasileira de Agrociência**, 7 (2): 89-92, 2001.
- 387 VARELA, V. P.; BROCKI, E.; SÁ, S. T. V. Tratamentos pré- germinativos de espécies da
388 amazônia. IV. Faveira camuzê - *Stryphnodendron pulcherrimum* (Willd.) Hochr. -
389 Leguminosae. **Revista Brasileira de Sementes**, 13 (2): 87-89, 1991.

ARTIGO 3Efeito de *Trichoderma* na emergência de plântulas e desenvolvimento inicial de
Paspalum regnellii Mez¹

RESUMO

Conhecida vulgarmente por macega do banhado, *Paspalum regnellii* Mez é uma gramínea de ciclo perene, nativa do Bioma Pampa que, embora apresente resultados significativos quanto a ganho de peso em bovinos ainda apresenta limitações no que se refere aos processos de germinação e desenvolvimento inicial. Inseridos neste contexto, fungos do gênero *Trichoderma* estão entre os microrganismos mais estudados como agentes promotores de germinação e desenvolvimento vegetal. A partir deste contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar doses crescentes de dois produtos biológicos compostos por *Trichoderma harzianum* nas concentrações 2×10^9 e 5×10^9 UFC ml⁻¹ e seus efeitos nos processos de emergência e desenvolvimento de *P. regnellii*. O experimento, dividido em duas etapas, foi conduzido em casa de vegetação, sendo que na primeira etapa avaliou-se a emergência das plântulas a cada dois dias até o 27º dia após a semeadura e a seguir o desenvolvimento inicial das plantas, através da avaliação de parâmetros radiculares e determinação das massas fresca e seca da parte aérea e raiz, aos 40 dias após a semeadura. Na segunda etapa, verificou-se o desenvolvimento das plantas através de avaliação morfogênica e determinação da massa fresca e seca da parte aérea aos 70 dias após a semeadura. Os resultados obtidos mostraram que os dois produtos biológicos compostos por trichoderma não influenciaram o processo de porcentagem e velocidade de emergência, porém, pode-se constatar que os dois produtos biológicos promoveram o desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular de *P. regnellii*.

¹ Artigo escrito nas normas da revista Pesquisa Agropecuária Tropical (ISSN 1983-4063)

26 PALAVRAS CHAVE: Forrageira nativa, *Trichoderma harzianum*, produto biológico.

27

28 *Trichoderma* effect on seedling emergence and early development of *Paspalum*
29 *regnellii* Mez

30

31 ABSTRACT

32 Commonly known by the grass waterlogged, *Paspalum regnellii* Mez is a perennial
33 grassy cycle native biome Pampa that, although having significant results as cattle weight
34 gain also presents limitations in relation to the germination and initial development processes.
35 Inserted in this context, *Trichoderma* fungi are among the most studied microorganisms as
36 promoters of seed germination and plant growth. From this context, this study aimed to
37 evaluate increasing doses of two biological products consisting of *Trichoderma harzianum* in
38 the 2×10^9 and 5×10^9 CFU concentrations ml^{-1} and its effects on emergency procedures and
39 development of *P. regnellii*. The experiment was divided into two stages, it was conducted in
40 a greenhouse, and in the first stage emergency was evaluated seedling every other day until
41 the 27th day after sowing and after the initial development through assessment root
42 parameters and determination of fresh and dry part of the area and root, 40 days after sowing.
43 In the second stage, there was the development of plants through morphogenic evaluation and
44 determination of fresh and dry mass of shoots 70 days after sowing. The results showed that
45 the two biological products consisting of *Trichoderma* did not influence the process of
46 emergence percentage and speed, however, it can be seen that the two organic products
47 promoted the development of shoot and root system of *P. regnellii*.

48

49 KEY WORDS: Native Forage, *Trichoderma harzianum*, biologic product.

50

INTRODUÇÃO

51
52 O gênero *Paspalum* ocupa um lugar de destaque entre as gramíneas nativas por
53 apresentar um elevado número de espécies representantes, com uma ampla variabilidade
54 morfológica e uma extensa distribuição geográfica (Aliscioni, 2002). Segundo Valls &
55 Pozzobon (1987), este gênero é caracterizado por envolver um grande número de espécies
56 com destacáveis valores forrageiros. Por apresentar elevada qualidade, ocorre um crescente
57 interesse pelo cultivo por espécies deste gênero, devido basicamente à adaptação destas às
58 condições edafoclimáticas de sua região de origem (Maraschin, 1999).

59 A espécie em estudo, o *Paspalum regnellii* Mez, é caracterizada por Araújo (1971)
60 como uma gramínea nativa de ciclo perene, de estrutura cespitosa e com rizomas curtos.
61 Apresenta características bastante interessantes quanto à produção forrageira, atingindo
62 valores próximos a 30.000 kg ha⁻¹ de massa seca ao ano, esta de boa qualidade, com até 17 %
63 de proteína bruta (Batista & Godoy, 2004). Segundo Meireles et al. (2006) esta espécie é
64 caracterizada por ser uma das constituintes do gênero *Paspalum* com boa resposta a
65 ambientes melhorados (irrigação e fertilidade do solo), sendo recomendada para uso em
66 experimentos de avaliação animal. Entretanto, mesmo tendo características consideradas
67 promissoras para uma planta forrageira, esta espécie ainda apresenta limitantes à
68 produtividade considerados comuns em espécies forrageiras nativas, principalmente no que
69 envolve os processos de germinação, estabelecimento e desenvolvimento inicial (König et al,
70 2014).

71 Avaliado como uma alternativa para o aumento de rendimento de biomassa e,
72 conseqüentemente à produção de grãos de culturas, o uso de produtos biológicos apresenta-se
73 como uma tecnologia alternativa no desenvolvimento da agricultura sustentável, uma vez que,
74 promove o desenvolvimento de plantas e ao mesmo tempo reduz o uso excessivo de produtos
75 químicos (Machado et al. 2012). De acordo com Viterbo et al. (2005) entre os principais

76 benefícios proporcionados pela aplicação de produtos biológicos pode-se destacar a proteção
77 contra patógenos, o aumento da taxa de germinação e vigor das sementes, a promoção do
78 crescimento e aumento do rendimento das plantas.

79 Empregados como inoculante em diversas culturas agrícolas, os fungos do gênero
80 *Trichoderma spp.* são considerados microrganismos de vida livre e estão entre os agentes de
81 biocontrole mais estudados e conhecidos no mundo (Verma, 2007). Os fungos deste gênero
82 são considerados naturais do solo, com desenvolvimento em solos orgânicos, podendo viver
83 saprofiticamente ou parasitando outros fungos (Melo, 1998). Apresentam espécies
84 economicamente importantes por sua atuação no controle biológico além de apresentarem
85 capacidade de produzir antibióticos e enzimas, bem como a produção metabólica com
86 atividades análogas aos hormônios vegetais (Carvajal et al. 2009). De acordo com Almança,
87 (2005), os fungos deste gênero, além de possuírem potencial como biocontroladores e
88 promotores de crescimento vegetal, têm a capacidade de mostrarem competência rizosférica,
89 quando próximo das raízes das plantas. Segundo Harman et al. (2004), podem ser utilizados
90 como formulados em biopesticidas, biofertilizantes e inoculantes de solo.

91 Segundo Kleifeld & Chet (1992), isolados de *Trichoderma harzianum* são capazes de
92 gerar benefícios nos processos de germinação e no crescimento inicial de plantas através do
93 tratamento da semente e de sua aplicação no solo. De acordo com Machado et al. (2012),
94 diversos trabalhos recentes relatam os benefícios do trichoderma na promoção da germinação,
95 no crescimento e na produtividade em diversas culturas com importância agrônômica.

96 A partir deste contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do tratamento
97 das sementes utilizando-se o fungo trichoderma, como parte da formulação de dois produtos
98 biológicos, na emergência de plântulas e no desenvolvimento inicial da parte aérea e do
99 sistema radicular de *P. regnellii*.

MATERIAL E MÉTODOS

101
102 O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Solos da
103 Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria/RS (UFSM). As sementes de *P. regnellii*
104 utilizadas neste trabalho foram coletadas de plantas pertencentes ao acesso BRA-007382
105 localizadas em área experimental na Embrapa Pecuária Sul, município de Bagé, RS. Como
106 fontes do agente biológico trichoderma foram utilizados dois produtos biológicos fornecidos
107 pela empresa Kopert do Brasil LTDA, sendo o primeiro, o Trichodermil 1306 SC[®], composto
108 pela concentração 2×10^9 UFC mL⁻¹, e o segundo produto, este ainda não registrado, composto
109 pela concentração de 5×10^9 UFC mL⁻¹, ambos compostos pela espécie *Trichoderma*
110 *harzianum*.

111 Previamente à instalação do experimento em casa de vegetação, realizou-se a
112 determinação dos tratamentos através da inoculação das sementes de *P. regnellii* com as
113 seguintes doses dos dois produtos biológicos: 0,0; 5,0; 10,0; 15,0 e 20,0 mL para cada kg de
114 semente. O tratamento das sementes foi realizado de acordo com metodologia recomendada
115 por Nunes (2005), em que as doses dos produtos foram colocadas diretamente no fundo de um
116 saco de plástico transparente, com altura de 15 cm, onde logo após foram depositadas as
117 sementes. Após o processo de inoculação, fez-se a instalação do experimento em casa de
118 vegetação, sendo este dividido em duas etapas:

119 **Emergência e desenvolvimento inicial de *P. regnellii*:** As sementes inoculadas com
120 as doses crescentes dos produtos biológicos foram semeadas a uma profundidade de 0,5 cm
121 em vasos com capacidades de 1 litro compostos por substrato comercial da marca Plantmax[®].
122 Previamente a semeadura, fez-se a determinação da umidade dos vasos, sendo esta mantida
123 durante as avaliações em 70 % da capacidade de campo. O experimento foi disposto em
124 delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições com 50 sementes cada,
125 totalizando 200 sementes por tratamento.

126 Aos vinte e sete dias após a semeadura, fez-se a contabilização da emergência de *P.*
127 *regnellii*, com contagens de plântulas emergidas a cada dois dias a partir da instalação do
128 teste, sendo os resultados expressos em porcentagem. Conjuntamente com o teste de
129 emergência, fez-se a determinação do índice de velocidade de emergência (IVE), calculado
130 com o auxílio da fórmula proposta por Maguire (1962):

$$131 \quad \text{IVE} = E1/N1 + E2/N2 + \dots E_n / N,$$

132 onde E1, E2, En = número de plântulas emergidas na primeira, segunda e até a última
133 contagem e N1, N2, Nn = número de dias desde a primeira, segunda e até a última contagem
134 realizada.

135 Após a contabilização final de emergência, foi realizado um desbaste, permanecendo
136 após este processo três plantas por vaso. Aos 40 dias após a semeadura fez-se a determinação
137 das variáveis massa fresca e seca da parte aérea e radicular. Para esta avaliação, as plantas
138 foram cortadas na altura do colo e em seguida procedeu-se à pesagem da parte aérea e
139 radicular em balança de precisão 0,001 g. Após a pesagem para determinação de massa fresca,
140 o sistema radicular de cada planta foi escaneado, sendo as imagens obtidas analisadas com o
141 auxílio do software WinRHIZO Pro 2013, onde foram quantificadas as características de
142 morfologia radicular comprimento total (cm), área de superfície total (cm²) volume total (cm³)
143 e número de raízes finas com até 0,6 mm de diâmetro.

144 Em seguida, os materiais provenientes da parte aérea e radicular foram acondicionados
145 em envelopes de papel, devidamente identificados e levados para estufa de secagem com
146 sistema de ventilação forçada, a temperatura de 65°C. Após atingirem o peso constante fez-se
147 a pesagem novamente para determinação da massa seca.

148 **Desenvolvimento de plantas de *P. regnellii*:** As sementes inoculadas foram semeadas
149 a uma profundidade de 0,5 cm em vasos com capacidades de quatro litros, compostos por
150 substrato comercial da marca Plantmax[®]. Previamente a semeadura, fez-se a determinação da

151 umidade dos vasos, sendo esta mantida em 70 % da capacidade de campo. O experimento foi
152 disposto em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições contendo 30
153 sementes cada, totalizando 120 sementes por tratamento. Aos quinze dias após a semeadura,
154 fez-se um desbaste, permanecendo após este processo três plantas por vaso.

155 A avaliação das características morfogênicas das plantas foi iniciada aos 30 dias após
156 a semeadura, onde para cada tratamento foram estabelecidas quatro repetições compostas por
157 três perfilhos cada. O monitoramento dos perfilhos foi realizado duas vezes por semana com
158 auxílio de uma régua milimetrada, onde foram calculadas as taxas de aparecimento de folhas
159 (TA_{pF}, folhas/perfilho.dia), alongamento de folhas (TA_{lF}, cm/perfilho.dia), filocrono
160 (intervalo de tempo necessário para a emissão de folhas consecutivas) e taxa de alongamento
161 do colmo (TA_{lC}, cm/perfilho.dia). A avaliação das características morfogênicas foi encerrada
162 aos sessenta dias após a semeadura.

163 Aos setenta dias após a semeadura foram determinadas as variáveis massa fresca e
164 seca da parte aérea das plantas. Para esta avaliação, as plantas foram cortadas na altura do
165 colo e em seguida pesadas em balança de precisão 0,001 g. Após este processo, estes
166 materiais foram acondicionados em envelopes de papel e levados para estufa de secagem com
167 sistema de ventilação forçada, a temperatura de 65°C. Após atingirem o peso constante foi
168 feito a pesagem novamente para determinação da massa seca.

169 Na análise estatística, fez-se a análise de médias para os resultados de emergência
170 através do teste de Tukey a 5 % e a análise de regressão para os demais resultados de
171 desenvolvimento das plantas, ambos com auxílio do programa estatístico BioEstat 4.0 (Ayres
172 et al. 2005).

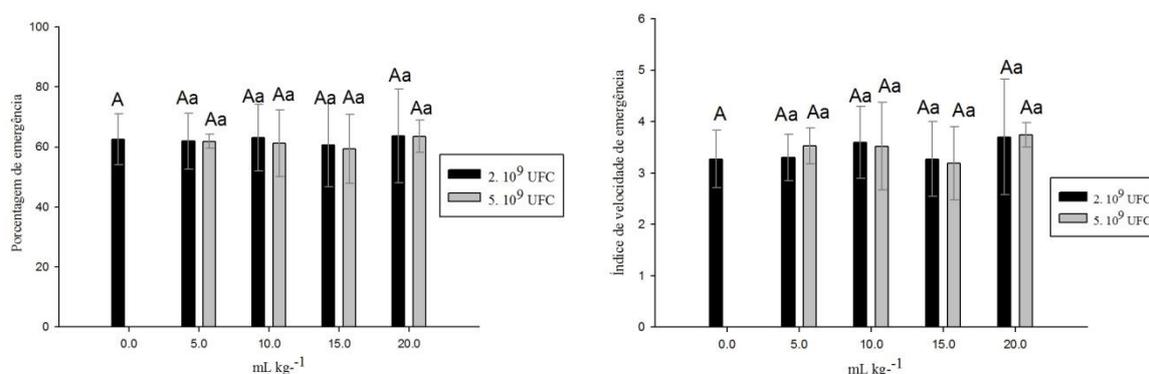
173

174

RESULTADOS E DISCUSSÃO

175 Pode-se observar através da análise de médias que as doses utilizadas, independente
 176 do produto biológico testado, não proporcionaram valores de porcentagem de emergência
 177 (Figura 1 A) e de índice de velocidade de emergência (Figura 1 B) diferentes
 178 significativamente do tratamento testemunha quando comparados pelo teste de Tukey à 5% de
 179 probabilidade. Pode-se constatar também através da análise de médias que não houve
 180 diferença significativa entre os produtos testados e suas respectivas doses nas variáveis
 181 porcentagem e índice de velocidade de emergência.

182



183

184 Figura 1: Valores de porcentagem (A) e índice de velocidade de emergência (B) de *Paspalum*
 185 *regnellii* aos 30 dias após a emergência provenientes de sementes tratadas com as doses 0,0;
 186 5,0; 10,0; 15,0 e 20 ml kg⁻¹ de dois produtos biológicos compostos por *Trichoderma*
 187 *harzianum* com concentrações de 2x10⁹ e 5x10⁹ UFC mL⁻¹

188

189 Resultados semelhantes aos deste trabalho, em que o trichoderma não influenciou no
 190 processo de germinação também foram encontrados por Martini et al. (2014) na cultura do
 191 arroz, onde estes autores verificaram que os valores de porcentagem de germinação não foram
 192 influenciados significativamente pelo tratamento das sementes por isolados do fungo
 193 trichoderma. Da mesma forma, Ethur et al. (2008) observaram que isolados de *T. harzianum*

194 não proporcionaram diferença significativa no percentual de germinação e de emergência na
195 cultura do tomateiro.

196 Embora o tratamento das sementes com os produtos biológicos não tenha promovido
197 acréscimo nos valores de porcentagem e de velocidade de emergência, podem ser encontrados
198 na literatura estudos que relatam os efeitos benéficos gerados por isolados de trichoderma no
199 processo de germinação de sementes de diversas culturas. Resultados obtidos por Menezes
200 (1992), nas culturas de feijão e soja, mostraram que o tratamento das sementes com
201 trichoderma promoveu um incremento na porcentagem de germinação, crescimento e
202 desenvolvimento de plantas de feijão, bem como um maior índice de velocidade de
203 germinação em plantas de soja. Resultados semelhantes foram obtidos por Hassan et al.
204 (2013), onde a utilização de *Trichoderma viride*, na concentração 6×10^1 UFC ml⁻¹, melhorou
205 significativamente a germinação de sementes de *Striga hermonthica* em relação ao controle.
206 Em um estudo realizado por Melo (1996), este autor afirma que os benefícios proporcionados
207 por trichoderma no processo de germinação e emergência de plantas estão relacionados
208 principalmente a capacidade deste fungo em produzir hormônios, vitaminas bem como pela
209 conversão de materiais úteis à planta.

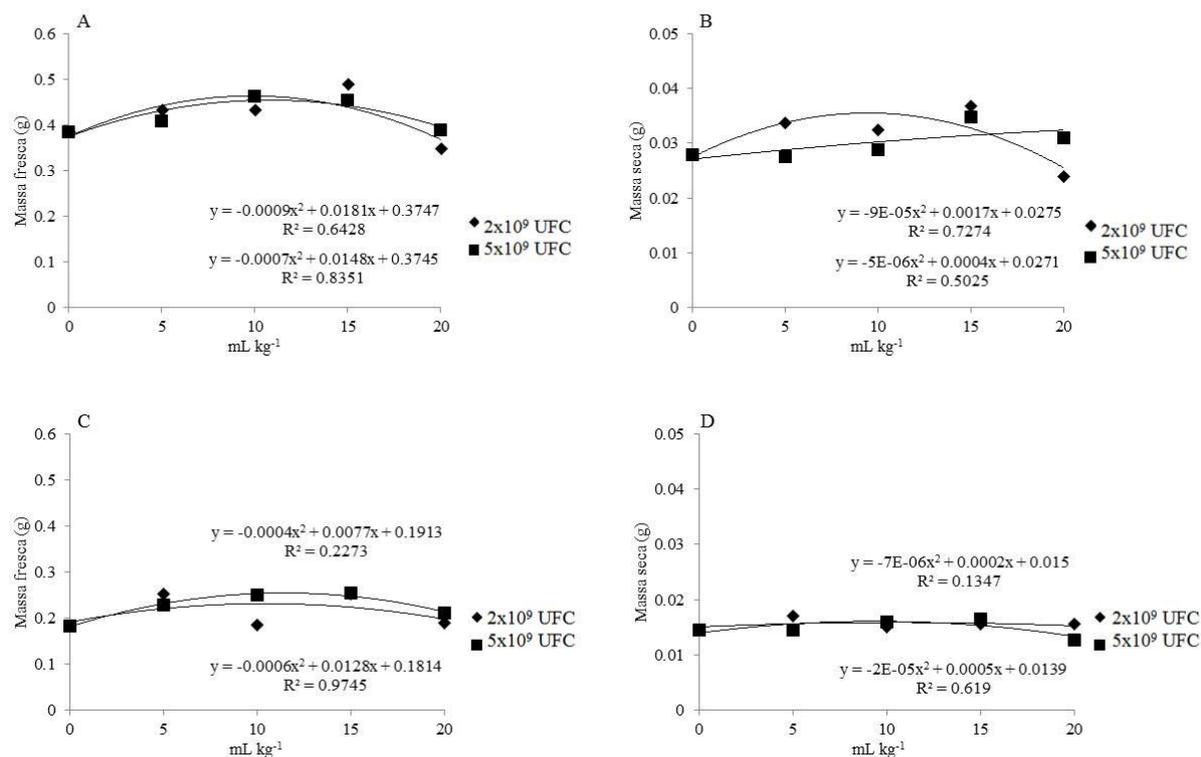
210 A partir dos resultados obtidos na avaliação de desenvolvimento inicial de *P regnellii*
211 aos 40 dias após a emergência (Figura 2), pode-se observar que as doses dos produtos
212 biológicos influenciaram o desenvolvimento inicial das plantas, podendo-se constatar um
213 acréscimo crescente nos valores das variáveis massa seca e fresca da parte aérea (Figura 1 A;
214 B) e do sistema radicular (Figura 1 C; D) em doses de até 15 mL de ambos os produtos
215 biológicos para cada kg de semente, tendo a análise de regressão apresentado uma resposta
216 quadrática para as variáveis avaliadas.

217 Resultados semelhantes aos encontrados neste trabalho foram obtidos por Harman
218 (2004), onde plântulas de milho provenientes de sementes inoculadas com o fungo

219 trichoderma mostraram maior produção de biomassa aos 10 dias após a emergência e, após
 220 terem o solo infestado com os fungos fitopatogênicos *Pythium ultimum* e *Colletotrichum*
 221 *graminicola*, não foram afetadas com os sintomas severos das doenças.

222

223



224 Figura 2: Valores de massa fresca (A) e seca (B) de parte aérea, fresca (C) e seca (D) de raiz
 225 de *Paspalum regnellii* aos 40 dias após a emergência provenientes de sementes tratadas com
 226 as doses 0,0; 5,0; 10,0; 15,0 e 20 mL kg^{-1} de dois produtos biológicos compostos por
 227 *Trichoderma harzianum* com concentrações de 2×10^9 e 5×10^9 UFC mL^{-1}

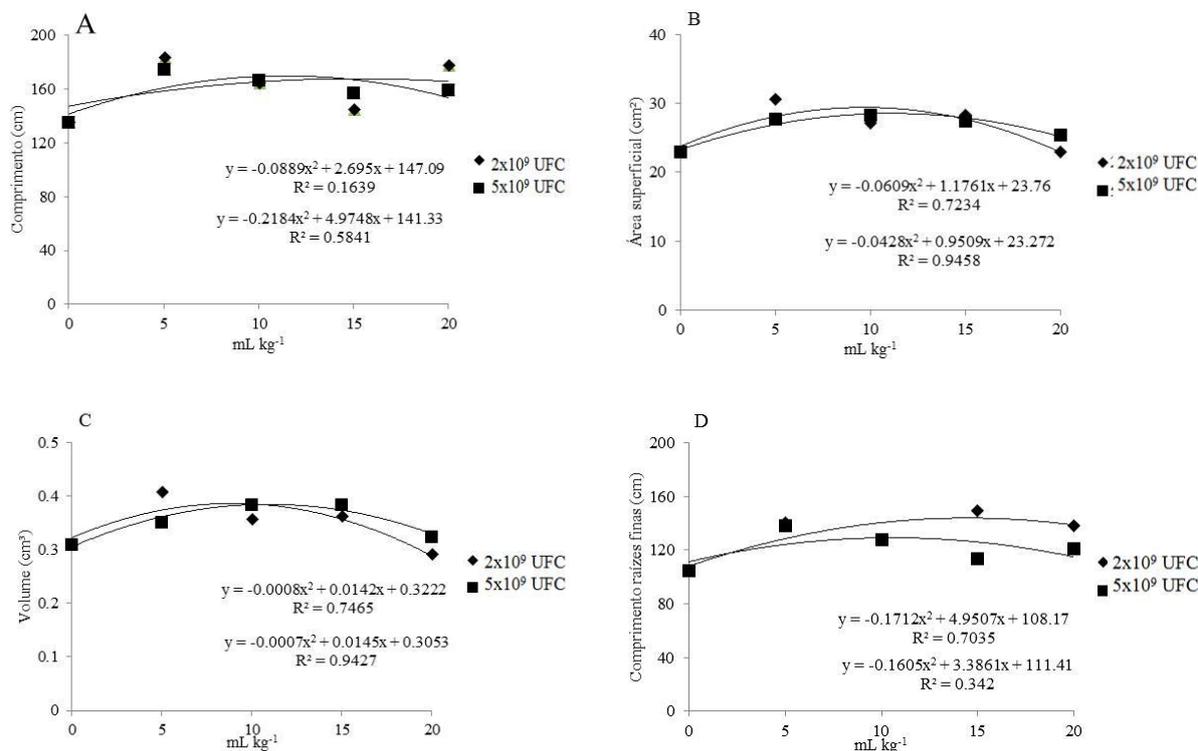
228

229 Benefícios gerados pelo fungo trichoderma também foram observados por Resende et
 230 al. (2004), que constataram um maior acúmulo de matéria seca do sistema radicular em
 231 plantas de milho provenientes de sementes inoculadas com trichoderma. Da mesma forma
 232 Chacón et al. (2007), verificaram que plantas de tomate inoculadas com *T. harzianum*
 233 apresentaram aumento da proliferação de raízes e consequente aumento na massa foliar das

234 plantas. Segundo Viterbo et al. (2005), as razões para o aumento do desenvolvimento e
235 consequentemente o aumento do rendimento da planta por trichoderma se deve
236 principalmente ao fato da produção de fitohormônios, ocasionando a melhora da assimilação
237 de nutrientes. Ao avaliar os benefícios gerados por trichoderma, Osiewacz (2002) verificou
238 que estirpes deste fungo são capazes de produzir moléculas de citocinina e giberelina, sendo
239 que a produção controlada destes compostos pode melhorar o desenvolvimento da planta.

240 É possível verificar também na Figura 2 que os tratamentos compostos por doses
241 superiores à 15 mL de ambos os produtos biológicos promoveram um decréscimo no
242 desenvolvimento da parte aérea e do sistema radicular em comparação aos valores obtidos em
243 doses inferiores, resultando em valores de massa seca e fresca semelhantes aos obtidos no
244 tratamento testemunha. Este comportamento observado em altas concentrações pode ser
245 justificado pela ocorrência de um processo conhecido por autoinibição, que segundo Hjeljord
246 & Tronsmo (2003), ocorre devido à aplicação de altas concentrações de propágulos de
247 trichoderma, ocasionando desta forma uma considerável inibição da germinação dos próprios
248 conídios.

249 Pode-se verificar através da avaliação do sistema radicular de plantas de *P. regnellii*
250 aos 40 dias após a semeadura (Figura 3) que as doses crescentes dos produtos biológicos
251 promoveram um incremento do desenvolvimento do sistema radicular das plantas em
252 comparação ao tratamento testemunha, tendo a análise de regressão apresentado uma resposta
253 quadrática para todas as variáveis radiculares. É possível observar através da análise de
254 regressão que as variáveis radiculares apresentaram curvas de desenvolvimento semelhantes
255 às observadas na avaliação do peso de raiz, com destaque para as variáveis que possibilitam
256 uma maior representatividade do sistema radicular área superficial (Figura 3B) e volume total
257 de raiz (Figura 3C), as quais apresentaram um aumento crescente em doses de até 15 ml para
258 os dois produtos biológicos.



260 Figura 3: Valores de comprimento total (A), área superficial (B), volume (C) e comprimento
 261 de raízes finas (D) de plantas de *Paspalum regnellii* sob as doses 0,0; 5,0; 10,0; 15,0 e 20 mL
 262 kg⁻¹ de dois produtos biológicos compostos por *Trichoderma harzianum* com concentrações
 263 de 2x10⁹ e 5x10⁹ UFC mL⁻¹ no tratamento das sementes.

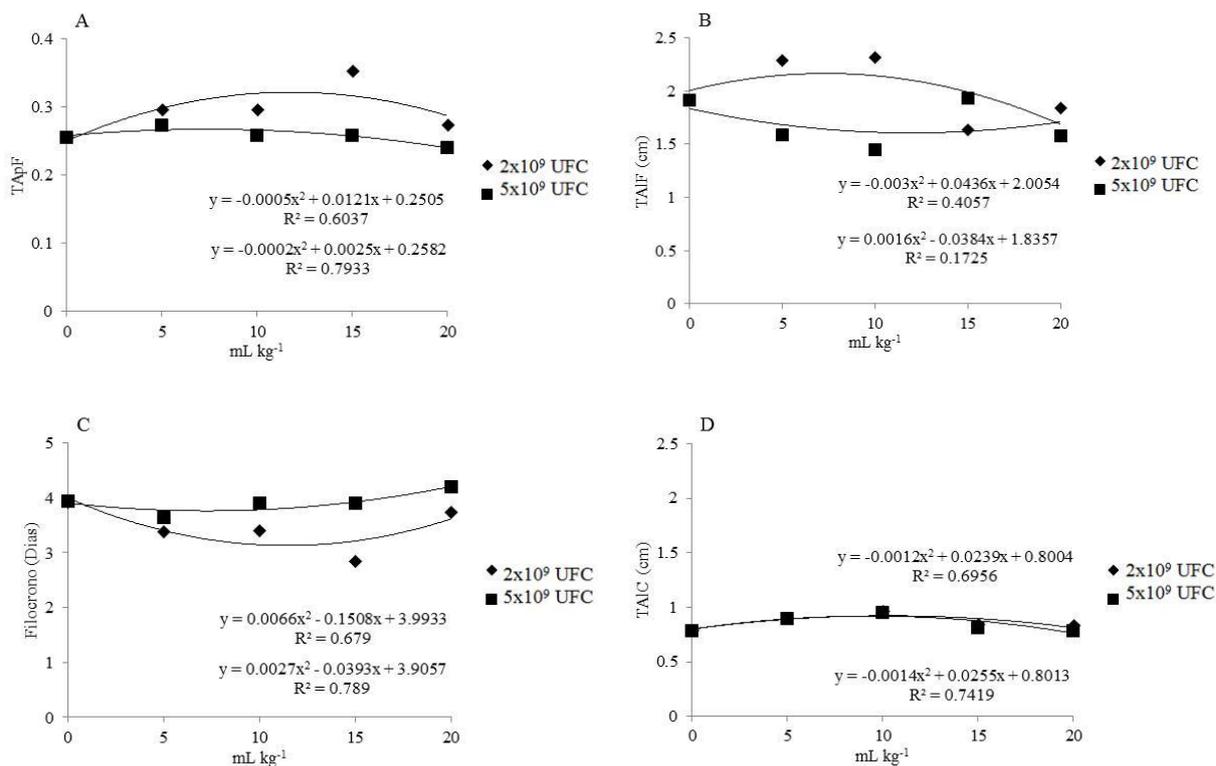
264

265 De acordo com Benítez et al. (2004), a promoção do desenvolvimento do sistema
 266 radicular pelo tratamento das sementes com trichoderma ocorre devido a capacidade do fungo
 267 trichoderma em aumentar a superfície total do sistema radicular, possibilitando um maior
 268 acesso aos elementos minerais. É possível verificar também na Figura 3 que as doses dos
 269 produtos biológicos avaliados promoveram um incremento crescente na expansão do sistema
 270 radicular, tendo as variáveis comprimento total (Figura 3A) e comprimento de raízes finas
 271 (Figura 3D) uma resposta quadrática para os dois produtos biológicos na análise de regressão.

272 Concordando com os valores obtidos neste trabalho, Mishra & Sinha (2000),
273 concluíram que o tratamento das sementes de arroz com *Trichoderma virens* e *T. harzianum*
274 promoveu um aumento considerável no comprimento de raiz, altura e peso seco de plantas.
275 Em concordância com estes resultados, Aguiar et al. (2015) verificaram através do teste de
276 *allium cepa* que metabólitos produzidos por trichoderma estimularam a divisão celular em
277 pontas de raízes de cebola. A promoção do desenvolvimento radicular por trichoderma
278 também foi constatada no trabalho de Contreras-Cornejo (2009), onde estes autores
279 observaram que sementes de *Arabidopsis thaliana* inoculadas com *T. virens* e *Trichoderma*
280 *atroviride* promoveram uma maior concentração de auxina em plantas, inferindo em aumento
281 da produção de biomassa e estimulação do desenvolvimento das raízes laterais de menor
282 diâmetro. Avaliada como um hormônio de grande importância para o desenvolvimento
283 radicular da planta, a auxina teve produção observada por Hoyos-Carvajal et al. (2009) em
284 60% das cepas de um total de 101 isolados de *Trichoderma* spp.

285 As características morfogênicas de plantas de *P. regnellii* (Figura 4) avaliadas na
286 segunda etapa do experimento mostram a partir dos resultados obtidos que as doses crescentes
287 dos dois produtos biológicos incrementaram o desenvolvimento das plantas de *P. regnellii* de
288 uma forma semelhante à encontrada na primeira etapa do experimento, tendo a análise de
289 regressão uma resposta quadrática para todas as variáveis morfogênicas avaliadas. Pode-se
290 destacar que, o produto biológico composto pela concentração de 2×10^9 UFC mL⁻¹
291 proporcionou um aumento crescente das taxas de aparecimento de folhas (Figura 4A) e
292 também uma redução no valor da taxa de filocrono (Figura 4B) em doses até 15 mL para cada
293 kg de semente, sendo que doses superiores a esta promoveram a estabilização do
294 desenvolvimento das plantas de *P. regnellii*, resultando em valores semelhantes aos
295 encontrados para o tratamento testemunha.

296



297 Figura 4: Valores de taxas de aparecimento de folhas (TApF, folhas/perfilho.dia),
 298 alongamento de folhas (TAIF, cm/perfilho.dia), filocrono e taxa de alongamento do colmo
 299 (TAIC, cm/perfilho.dia) de plantas de *Paspalum regnellii* aos 70 dias após a emergência sob
 300 as doses 0,0; 5,0; 10,0; 15,0 e 20 mL kg⁻¹ de dois produtos biológicos compostos por
 301 *Trichoderma harzianum* com concentrações de 2×10^9 e 5×10^9 UFC mL⁻¹ no tratamento das
 302 sementes.

303

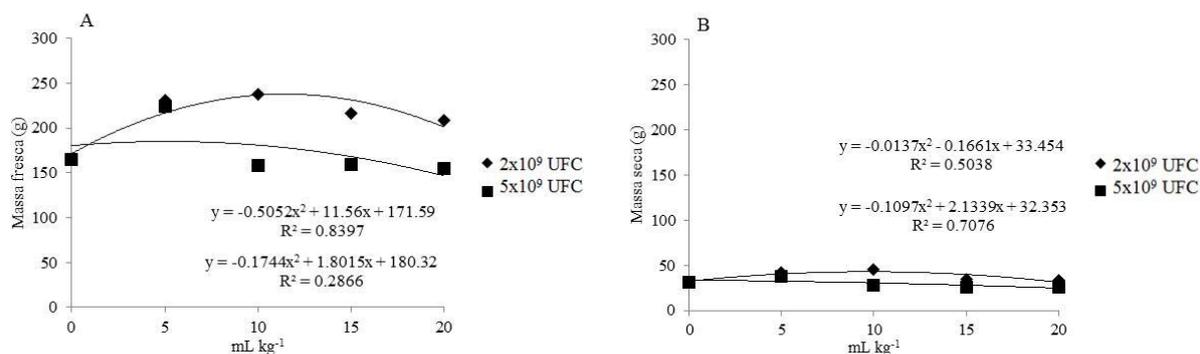
304 Resultados semelhantes envolvendo a promoção do desenvolvimento de plantas por
 305 trichoderma foram obtidos por Salas-Marina et al. (2011), onde estes autores verificaram que
 306 a aplicação de *T. atroviride* em raiz de *Arabidopsis* promoveu um incremento nos valores de
 307 área foliar e conseqüentemente um maior desenvolvimento da planta. Em trabalho realizado
 308 por Inbar et al. (1994), o isolado T203 de *T. harzianum* proporcionou um aumento de 96% de
 309 área foliar em plântulas de pepino cultivadas em substrato tratado. A promoção do
 310 desenvolvimento das plantas pela inoculação com o fungo trichoderma encontra-se

311 relacionada com as modificações no padrão de expressão de proteínas do metabolismo vegetal
312 durante o processo de interação. Em análise do proteoma da interação pepino e *Trichoderma*
313 *asperellum*, Shores & Harman (2008) observaram que genes e proteínas envolvidas no
314 metabolismo energético e fotossíntese tiveram aumento de expressão, sugerindo o aumento do
315 crescimento da planta.

316 Observa-se também na Figura 4 que os produtos biológicos promoveram um
317 incremento na taxa de alongamento do colmo (Figura 4 D) em plantas de *P. regnellii*
318 provenientes de sementes tratadas com doses de até 10 mL kg⁻¹. Segundo Gravel et al. (2007)
319 o crescimento por alongamento de caules jovens em plantas que apresentam interação com
320 trichoderma ocorre principalmente pela produção de ácido indolacético. Ao avaliar o efeito do
321 tratamento de sementes de feijão caupi tratadas com *T. harzianum*, Braga et al. (2003)
322 observaram a ocorrência de maior estatura e maior taxa de crescimento de plantas
323 provenientes de sementes tratadas em comparação a testemunha.

324 Corroborando com os valores observados através das características morfológicas, é
325 possível constatar que as variáveis massa seca e fresca (Figura 5) de parte aérea de plantas de
326 *P. regnellii* aos 70 dias foram influenciadas pelas crescentes doses dos produtos biológicos de
327 forma semelhante aos resultados obtidos aos 40 dias após a emergência, tendo a análise de
328 regressão uma resposta quadrática para estas variáveis. É possível verificar que o produto
329 composto pela concentração 2x10⁹ UFC mL⁻¹ proporcionou um incremento na produção de
330 massa fresca e seca de *P. regnellii* com doses de até 10 mL para cada kg de semente.
331 Entretanto, observa-se para estas mesmas variáveis que doses superiores não promoveram
332 acréscimo no desenvolvimento das plantas, resultando em valores semelhantes aos obtidos no
333 tratamento testemunha.

334



335
 336 Figura 5: Valores de massa fresca (A) e seca (B) de plantas de *Paspalum regnellii* aos 70 dias
 337 após a emergência sob as doses 0,0; 5,0; 10,0; 15,0 e 20 ml kg⁻¹ de dois produtos biológicos
 338 compostos por *Trichoderma harzianum* com concentrações de 2x10⁹ e 5x10⁹ UFC/ml⁻¹ no
 339 tratamento das sementes.

340
 341 Estudando os benefícios à planta gerados por trichoderma, Harman et al. (2012)
 342 afirmam que esta interação causa alterações na arquitetura do sistema radicular, possibilitando
 343 uma aumento da sua área superficial, alterando em consequência a fisiologia da planta e
 344 resultando em um conjunto de benefícios como a resistência à patógenos e eficiência
 345 fotossintética. Resultados semelhantes aos observados neste trabalho foram encontrados por
 346 Datnoff & Pernezny (2001), onde estes autores constataram que o trichoderma promoveu o
 347 aumento do percentual de crescimento, espessura do caule, área foliar, massa fresca e seca de
 348 plantas de tomate em casa de vegetação.

349 Embora o produto composto pela concentração de 5x10⁹ UFC mL⁻¹ (Figura 5) tenha
 350 promovido o desenvolvimento de plantas através da dose de 5 mL para cada kg de semente,
 351 observa-se que doses superiores à esta ocasionaram uma redução dos valores de massa seca e
 352 fresca em comparação ao tratamento testemunha. De acordo com Vinale et al. (2008),
 353 isolados de trichoderma podem vir a produzir substâncias que possuem efeito inibidor no
 354 processo de germinação de sementes e também no desenvolvimento de plantas em elevadas
 355 concentrações. Resultados obtidos por Hajieghrari (2010) mostraram que isolados de

356 trichoderma reduziram a porcentagem de emergência de plântulas e uma diminuição do
357 comprimento de raízes de milho em comparação com o tratamento testemunha. Da mesma
358 forma, Wiethan (2015) constatou que doses com concentrações de 10^{11} de trichoderma
359 promoveram uma redução da porcentagem de emergência, bem como um menor
360 desenvolvimento do sistema aéreo e radicular de plantas de alface.

361

362 CONCLUSÃO

363 Doses crescentes até 20 mL kg^{-1} dos produtos biológicos com concentrações 2×10^9 e
364 5×10^9 UFC mL^{-1} compostos pelo fungo *Trichoderma harzianum* não influenciaram o
365 processo de porcentagem e emergência de plântulas de *P. regnellii*.

366 Os produtos biológicos avaliados promoveram um maior desenvolvimento de *P.*
367 *regnellii* nas duas etapas de avaliação (aos 40 e 70 dias), sendo que os maiores benefícios
368 foram observados nas doses de até 15 mL kg^{-1} para o produto com concentração 2×10^9 e 5 mL
369 kg^{-1} para o produto com concentração 5×10^9 .

370

371 LITERATURA CITADA

372 AGUIAR, A. R. et al. Efeito de metabólitos produzidos por *Trichoderma* spp. sobre o índice
373 mitótico em células das pontas de raízes de *Allium cepa*. *Bioscience Journal*, v. 31, n. 3, p.
374 934-940, 2015.

375 ALMANÇA, M. A. K. *Trichoderma* sp. no controle de doenças e na promoção do
376 crescimento de plantas de arroz. 2005. 81 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade
377 Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

378 ALISCIONI, S. S. Contribucion a la filogenia del género *Paspalum* (Poaceae: Panicoideae:
379 Paniceae). In: ANNALS OF THE MISSOURI BOTANICAL GARDEN, 4, 2002, Londres.
380 Proceedings... Londres: p. 504-532, 2002.

- 381 ARAÚJO, A. A. *Principais Gramíneas do Rio Grande do Sul*. Porto Alegre: Editora Sulina,
382 1971.
- 383 AYRES M; et al. *BioEstat 4.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e*
384 *médicas*. Belém: Sociedade Civil Mamirauá. 2005.
- 385 BATISTA, L. A. R.; GODOY, R. Efeito do manejo intensivo na produção de biomassa de
386 *Paspalum regnellii* mez em três idades de corte. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE
387 BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41, 2004, Campo Grande. Anais... SBZ, CD Rom.
- 388 BRAGA, N. A. et al. Tratamento químico e biológico de sementes de caupi, *Vigna*
389 *unguiculata* (L.) Walp., visando o controle de *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid.
390 Revista Ciência Agronômica, v. 34, n.2, p. 193–199, 2003.
- 391 BENÍTEZ T, et al. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International*
392 *Microbiology*, v. 7, p. 249-260, 2004.
- 393 CARVAJAL, L. H. et al. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*.
394 *Biological Control*, v. 51, p. 409-416, 2009.
- 395 CHACÓN, M. R. et al. Microscopic and transcriptome analyses of early colonization of
396 tomato roots by *Trichoderma harzianum*. *International Microbiology*, v. 10, n.1, p. 19-27,
397 2007.
- 398 CONTRERAS-CORNEJO, H. A. et al (2009). *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus,
399 enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent
400 mechanism in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, v. 149, n. 3, p. 1579-1592, 2009.
- 401 DATNOFF, L. E.; PERNEZNY, K. L. *Paenibacillus macerans* and *Trichoderma harzianum*
402 enhance transplant growth and suppress fusarium crown and root rot in Florida tomato
403 production. In: KARIBBEAN DIVISION MEETING, La Habana, Cuba. Publication p. 2002–
404 2025, 2001.

- 405 ETHUR, L. Z. et al. Presença dos gêneros *Trichoderma* e *Fusarium* em solo rizosférico e não
406 rizosférico cultivado com tomateiro e pepineiro, em horta e estufa. *Ciência rural*, v. 38, n. 1,
407 p. 19-26, 2008.
- 408 GRAVEL, V. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants
409 by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: possible role of indole
410 acetic acid (IAA). *Soil Biology and Biochemistry*, v. 39, n. 8, p. 1968-1977, 2007.
- 411 HARMAN, G. E. et al. *Trichoderma* species. Opportunistic, a virulent plant
412 symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, v. 2, n. 1, p.43-56, 2004.
- 413 HARMAN, G. E. et al. Special issue: *Trichoderma*—from basic biology to biotechnology.
414 *Microbiology*, v. 158, n. 1, p. 1-2, 2012.
- 415 HASSAN M. M. et al. Effects of fungal strains on seeds germination of millet and *Striga*
416 *hermonthica*. *Universal Journal of Agricultural Research*, v. 2, p. 83-88, 2013.
- 417 HAJIEGHRARI B. Effects of some Iranian *Trichoderma* isolates on maize seed germination
418 and seedling vigor. *African Journal of Biotechnology* 9: 4342-4347, 2010.
- 419 HJELJORD, L. G.; TRONSMO, A. Effect of germination initiation on competitive capacity
420 of *Trichoderma atroviride* P1 conidia. *Phytopathology*, v. 93, p. 1593-1598, 2003.
- 421 HOYOS-CARVAJAL, L. et al. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by
422 *Trichoderma*. *Biological control*, v. 51, n. 3, p. 409-416, 2009.
- 423 INBAR, J. et al. Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma harzianum* in
424 vegetable seedlings grown under commercial conditions. *European Journal of Plant*
425 *Pathology*, v. 100, n. 5, p. 337-346, 1994.
- 426 KLEIFELD, O.; CHET, I. *Trichoderma harzianum* – interaction with plants and effect on
427 growth response. *Plant and Soil*, v. 144, p. 267-272. 1992.
- 428 KÖNIG, F. et al. Bioma Pampa: Interações entre micro-organismos e espécies vegetais
429 nativas. *Revista de Ciências Agrárias*, v. 37, n. 1, p. 03-09, 2014.

- 430 MACHADO, D. F. M. et al. *Trichoderma* no Brasil: O fungo e o bioagente. *Revista de*
431 *Ciências Agrárias*, v. 35, n. 1, p. 274-278, 2012.
- 432 MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling
433 emergence and vigor. *Crop Science*, v. 2, p. 176-177, 1962.
- 434 MARASCHIN, G. E. Premissas e perspectivas da avaliação de pastagens. In: REUNIÃO DA
435 SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36, 1999, Porto Alegre, RS. Anais... Porto
436 Alegre : SBZ., p. 279-181, 1999.
- 437 MARTINI, L. B. et al. Influência de metabólitos secundários de *Trichoderma spp.* no
438 desenvolvimento de fungos veiculados pelas sementes e na germinação de sementes de
439 arroz. *Ciência e Natura*, v. 36, n. 2, p. 86-91, 2014.
- 440 MEIRELLES, P. R. L. et al. Avaliação de germoplasma do gênero *Paspalum* com potencial
441 para produção de forragem. In: ZOOTEC, 9, 2006, Pernambuco. Anais..., São Paulo:
442 Associação Brasileira de Zootecistas, 2006, CD-ROM.
- 443 MELO, I.S. *Trichoderma* e *Gliocladium* como bioprotetores de plantas. *Revisão Anual de*
444 *Patologia de Plantas*, v. 4, p. 261–295, 1996.
- 445 MELO, I. S. de. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I. S. de;
446 AZEVEDO, J. L. (Eds.). *Controle biológico*. Jaguariúna: Embrapa, 1998. p. 17-60.
- 447 MENEZES, M. Avaliação de espécies de *Trichoderma* no tratamento de feijão e do solo,
448 visando o controle de *Macrophomina phaseolina*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE
449 FITOPATOLOGIA, 25, 1992, Gramado. Resumos... Brasília: SBS, 1992. p. 159.
- 450 MISHRA, D. S.; SINHA, A. P. Plant growth-promoting activity of some fungal and bacterial
451 agents on rice seed germination and seedling growth. *Tropical agriculture*, v. 77, n. 3, p. 188-
452 191, 2000.
- 453 NUNES, J. C. *Tratamento de semente* – qualidade e fatores que podem afetar a sua
454 performance em laboratório. Syngenta Proteção de Cultivos Ltda. 16p, 2005.

- 455 OSIEWACZ, H. D. *Molecular biology of fungal development*. New York: Marcel Dekker,
456 2002.
- 457 RESENDE, M. L. et al. Inoculação de sementes de milho utilizando o *Trichoderma*
458 *harzianum* como promotor de crescimento. *Ciencia Agrotécnica*, v. 28, n. 4, p. 793-798,
459 2004.
- 460 SALAS-MARINA, M. A. et al. Colonization of *Arabidopsis* roots by *Trichoderma atroviride*
461 promotes growth and enhances systemic disease resistance through jasmonic acid/ethylene
462 and salicylic acid pathways. *European Journal of Plant Pathology*, v. 131, n. 1, p. 15-26,
463 2011.
- 464 SHORESH, M. HARMAN, G. E. The molecular basis of shoot responses of maize seedlings
465 to *Trichoderma harzianum* T22 inoculation of the root: a proteomic approach. *Plant*
466 *Physiology*, v. 147, n. 4, p. 2147-2163, 2008.
- 467 VALLS, J. F. M.; POZZOBON, M. T. Variação apresentada pelos principais grupos
468 taxonômicos de *Paspalum* com interesse forrageiro no Brasil. In: ENCONTRO
469 INTERNACIONAL SOBRE MELHORAMENTO GENÉTICO DE *Paspalum*, 1987, Nova
470 Odessa. Anais... Nova Odessa: IZ, 1987. p.15-21.
- 471 VINALE, F. et al. A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with
472 plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v. 72, p. 80-86, 2008.
- 473 VITERBO, A. et al. *Trichoderma* mitogen-activated protein kinase signaling is involved in
474 induction of plant systemic resistance. *Applied and environmental microbiology*, v. 71, n. 10,
475 p. 6241-6246, 2005.
- 476 VERMA M. Antagonistic fungi *Trichoderma* spp: Panoply of biological control. *Biochemical*
477 *Engineering Journal*, v. 37, p. 1-20, 2007.

478 WIETHAN, M. M. S. *Vermicompostagem e desenvolvimento inicial de alface em doses*
479 *superiores de Trichoderma*. 2015. 53 f. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) -
480 Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2015.

CONCLUSÃO

O armazenamento das sementes de *P. regnellii* por um período prolongado promoveu a superação da dormência das sementes. A densidade das sementes influenciou na porcentagem de germinação e no vigor das sementes de *P. regnellii*, uma vez que, sementes de maior densidade apresentaram um maior vigor quando comparadas as sementes mais leves.

A partir dos tratamentos de superação de dormência, observou-se que o nitrato de potássio e o biostimulante promoveram significativamente o aumento na porcentagem de germinação, índice de velocidade e o número de plântulas na primeira contagem, e podem ser utilizados em tratamento para a quebra de dormência de sementes em *P. regnellii*.

Doses crescentes dos produtos compostos por *Trichoderma harzianum* nas concentrações 2×10^9 e 5×10^9 UFC/ml não influenciaram no processo de porcentagem e emergência de plântulas de *P. regnellii*. Porém, pode-se observar que os produtos biológicos testados proporcionaram acréscimo no crescimento de plantas de *P. regnellii* avaliadas aos 40 e aos 70 dias após a semeadura. Ambos os produtos proporcionaram o maior crescimento do sistema aéreo e radicular de *P. regnellii* em comparação ao tratamento testemunha.