EFÊITOS DO CONDICIONAMENTO FISIOLÓGICO NO
COMPORTAMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO (*Phaseolus*
vulgaris L).

LUIZ DONI FILHO
ENGENHEIRO AGRÔNOMO

Orientador: Prof. Dr. JULIO MARCOS FILHO

TESE APRESENTADA À ESCOLA SUPERIOR
DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIRÓZ",
DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, PARA
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTOR EM
AGRONOMIA. ÁREA DE CONCENTRAÇÃO:
FITOTECNIA.

P I R A C I C A B A
Estado de São Paulo - Brasil
fevereiro 1992

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Livros da
Divisão de Biblioteca e Documentação - PCAP/USP

D683e Doni Filho, Luiz
 Efeitos do condicionamento fisiológico no comportamento de sementes de feijão (Phaseolus vulgaris L.)
Piracicaba, 1992.

100p.

Tese - ESALQ
Bibliografia

1. Feijão - Condicionamento osmótico 2. Feijão -
Semente - Comportamento 3. Semente - Comportamento I.
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz", Piracicaba

CDD 635.652

EFEITOS DO CONDICIONAMENTO FISIOLÓGICO NO COMPORTAMENTO
DAS SEMENTES DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.)

Luiz Doni Filho

Aprovada em: 09.04.1992

Comissão julgadora:

Prof. Dr. Silvio Moure Cícero.....ESALQ/USP

Prof. Dr. Julio Marcos Filho.....ESALQ/USP

Prof. Dr. Massanori Takaki.....UNESP/Rio Claro

Prof. Dr. Roberval Daiton Vieira.....UNESP/Jaboticabal

Prof. Dr. Francisco Amaral Villela.....UFPelotas

Prof Dr. Julio Marcos Filho

Orientador

Às sementes,
"que jogam nos dias
os mudos discursos de amor
e as jamais ouvidas palavras de paz"

L. E. FACHIN

A todos aqueles que contribuíram para a realização deste trabalho apresento meus agradecimentos, de maneira especial às seguintes pessoas e entidades:

-Professor JULIO MARCOS FILHO pela orientação e assistência durante o curso.

Professores Silvio Moure Cícero, Walter Rodrigues da Silva, Paulo Yoshio Kageyama, Jairo Teixeira Mendes Abrahão, José Otávio Machado Menten, Célia Massa Beltrati e Massanori Takaki, pela amizade e apoio.

Universidade Federal do Paraná e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela oportunidade e pela concessão da bolsa de estudo.

Colegas Francisco Amaral Villela, Nilson Lemos de Menezes, Francisco Humberto Dübbern de Souza, Paulo Rogério P. de Oliveira, pela amizade e estímulo.

Engenheira-agrônoma Maria Heloisa Duarte de Moraes pelo auxílio na realização dos testes de sanidade, e amizade.

IAPAR- Instituto de pesquisa do Paraná na pessoa do engenheiro agrônomo Marco Antonio Lollato, pelo fornecimento das sementes e sugestões.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	v
SUMMARY.....	vii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. Histórico, conceito, evolução e classificação dos tratamentos de sementes	4
2.2. Como a semente absorve água.....	6
2.3. Como fornecer água às sementes.....	8
2.3.1. Absorção do vapor de água da atmosfera.....	9
2.3.2. Embebição em substrato úmido.....	10
2.3.3. Controle da embebição por imersão em água pura.	12
2.3.4. Embebição com potencial osmótico limitado.....	12
2.3.5. Embebição em soluções contendo sais.....	14
2.4. Condicionamento fisiológico de sementes.....	14
2.4.1. Fundamentos	14
2.4.2. Associação do vigor com o estado de organização das membranas celulares.....	15
2.4.2. Hipóteses.....	21
2.4.3. Histórico da metodologia.....	27
2.4.4. Fatores que afetam	31
2.4.5. Efeitos do condicionamento:.....	36
2.4.6. Parâmetros utilizados para avaliar os efeitos....	41
a) Diretos.....	41
b) Indiretos:.....	41
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	43
3.1. Caracterização das sementes.....	43
3.2. Primeiro Ensaio.....	46
3.3. Segundo Ensaio.....	51
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
5. CONCLUSÕES.....	86
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	87
APÊNDICE.....	106

EFEITOS DO CONDICIONAMENTO FISIOLÓGICO NO COMPORTAMENTO
DAS SEMENTES DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.)

Autor: LUIZ DONI FILHO

Orientador: JULIO MARCOS FILHO

RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo estudar os efeitos do condicionamento osmótico no comportamento das sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) sob o aspecto fisiológico e de permeabilidade das membranas celulares. Para isso instalaram-se no Laboratório de Análise de Sementes da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - USP e nas dependências da UNESP em Rio Claro, ensaios com dois cultivares.

No primeiro ensaio estudaram-se sementes dos cultivares IAPAR 16 e Carioca, sob três níveis de hidratação (20%, 25% e 30%) e três níveis de pressão osmótica (0, -7 e -14 bars) obtidos através de solução aquosa de polietileno glicol 6.000, durante a embebição das sementes a 25°C. Após a hidratação aos níveis desejados, seguiu-se uma secagem ao teor de água inicial. Testou-se porcentagem de germinação, velocidade e emergência total, teores de açúcares e de potássio e condutividade elétrica no exsudato.

No segundo ensaio, estudou-se o cultivar Carioca, em delineamento fatorial, o tempo de condicionamento (4 e 7 dias), secagem (sim e não) e duas pressões osmóticas (-10 e -20 bars). Testou-se germinação a 25°C e a 17°C, emergência das plântulas, teor de potássio e condutividade elétrica no exsudato.

Os tratamentos foram comparados entre si pelo

teste de Tukey e com a testemunha pelo teste de Dunnett.

A análise dos dados e a interpretação dos resultados, nas condições do presente trabalho, permitiram concluir que:

Os efeitos do condicionamento se manifestam de maneira mais evidente quando avaliados através de parâmetros que refletem a permeabilidade das membranas celulares (condutividade elétrica, teor de açúcares e teor de potássio) do que quando se utilizam parâmetros fisiológicos (germinação, porcentagem e velocidade de emergência).

A secagem efetuada após o condicionamento diminui severamente os benefícios obtidos por esse tratamento.

As respostas dos parâmetros estudados revelam que o desempenho das sementes está mais relacionado ao nível de hidratação que à pressão osmótica adotada durante o condicionamento fisiológico.

EFFECTS OF PRIMING ON THE BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.)
SEEDS PERFORMANCE.

Author: Luiz Doni Filho

Adviser: Prof. DR. Julio Marcos Filho

SUMMARY

In the present work it was studied the effect of priming conditioning on the behavior of bean seeds (*Phaseolus vulgaris* L.) under physiological and cell membrane permeability aspects. For that purpose two cultivars were used in the experiments carried out at Laboratório de Análise de Sementes from Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - USP and Departamento de Botanica, UNESP Campus de Rio Claro, São Paulo State, Brazil.

In the first assay "IAPAR 16" and "Carioca" cultivars were subjected to three levels of hydration (20%, 25% and 30%) and three water potentials (0, -7 and -14 bars) obtained with aqueous solution of polyethylene glycol 6000 during imbibition of seeds at 25°C. Following hydration at desired levels the seeds were dried to the initial moisture content. The physiological and biochemical parameters analysed were final percentage germination, velocity and total seedling emergence, sugar and potassium contents and electric conductivity of exsudate.

In the second assay the "Carioca" cultivars was used in the analysis of time of conditioning (4 and 7 days), drying or not and two water potentials (-10 and -20 bars). The following parameters were analysed: germination at 17

and 25°C, seedling emergence, potassium and electric conductivity in the exsudate.

The results of treatments were compared by Tukey test and Dunnett test to control.

After the analysis of the data and interpretation of the results under conditions of the present work, it can be concluded:

The effect of conditioning was more evident on permeability of cell membrane (electric conductivity, sugar and potassium contents) than physiological parameters (germination, percentage and velocity of seedling emergence).

The drying of seeds to the initial water content after conditioning decreases the useful effect obtained by the former treatment.

The response of parameters studied in the present work showed that the performance of seeds is more related to the level of hydration than the water potential of the priming.

1. INTRODUÇÃO

O período compreendido entre a semeadura e o estabelecimento da planta é uma fase crucial no ciclo de produção de uma cultura. O ambiente do solo freqüentemente não propicia um rápido estabelecimento das plantas, pois estresses físicos, como temperaturas extremas, excesso ou deficiência de água, salinidade ou formação de crostas, além de estresses biológicos, como microrganismos e insetos, podem afetar a emergência das plântulas. Visando minimizar tais problemas, muitos trabalhos sobre tratamentos de pré-semeadura tem sido conduzidos abordando os mais variados aspectos do problema.

Um dos tratamentos considerados promissores é o condicionamento fisiológico, que se baseia na hidratação controlada das sementes até atingir um nível em que a atividade metabólica ainda seja insuficiente para permitir a protrusão da raiz primária. Este condicionamento tem apresentado bons resultados para diversas espécies olerícolas e forrageiras entre outras, porém, geralmente com sementes pequenas. Sementes grandes vem sendo testadas com sucesso na melhoria do processo da germinação e/ou, emergência das plântulas, como milho, *Pinus* e *Larix*. Espécies com sementes semelhantes às do feijoeiro têm sido estudadas com sucesso, como ervilha, soja e amendoim.

A hidratação muito rápida pode causar a morte das células superficiais a perda de substâncias do interior das células que ocasionariam prejuízos ao estabelecimento do

estande, inclusive criando condições propícias ao desenvolvimento de fungos. A embebição controlada poderia impedir tais danos e possibilitar o sincronismo da germinação, com reflexos no estande e até na produtividade.

Estes condicionamentos, empiricamente descobertos há vários anos, têm sido estudados com maiores detalhes a partir dos anos 70 com ênfase à recuperação das membranas celulares. Acredita-se que, durante o período de armazenamento das sementes com baixa umidade, os fosfolipídios que compõem as membranas assumem uma conformação hexagonal ao invés de camada dupla - denominada de mosaico fluido por SINGER e NICHOLSON (1972). A forma hexagonal permite a perda indiscriminada de substâncias do interior das células, o que poderia ser uma das causas do fraco desempenho das sementes.

Há evidências de que as membranas se reorganizam durante a embebição. Se a hidratação for lenta pode haver a recuperação da qualidade fisiológica; se for rápida, existe uma perda daquelas substâncias antes que haja tempo para a recomposição do mosaico fluido, quando a permeabilidade seria seletiva (SIMON & MILLS, 1983).

O teor mínimo de água em que, provavelmente, ocorre o reparo das membranas e o tempo necessário para que esse evento ocorra ainda não foram estabelecidos de maneira conclusiva, tratando-se de um passo importante para a elucidação dos mecanismos dos tratamentos condicionadores.

Desta forma, observa-se que vários aspectos do condicionamento necessitam ser estudados com maior intensidade, envolvendo não só a metodologia e o mecanismo de atuação, como também os efeitos e a viabilidade de execução em sementes de diferentes espécies cultivadas. Neste sentido, poucos estudos tem sido feitos com feijão. No

entanto, resultados promissores já foram encontrados por PANDEY (1988), PANDEY (1989) e SHIOGA (1990).

Este trabalho teve por objetivo estudar o comportamento da semente de feijão submetida ao condicionamento fisiológico e a secagem subsequente. Baseou-se na hipótese de que a velocidade e o nível de hidratação das sementes, variáveis do condicionamento osmótico, interferem no reparo das membranas celulares e, conseqüente, na sua permeabilidade e na qualidade fisiológica das sementes.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Histórico, conceito, evolução e classificação dos tratamentos de sementes.

Os primeiros relatos sobre tratamento de sementes datam de muito tempo. Segundo JEFFS (1986), os romanos (60 DC) já usavam vinho com folhas de cipreste amassadas para tratar sementes contra doenças. O relato histórico mais famoso é o de Remnant¹, que descreve o uso da água do mar para o controle da cárie do trigo (*Tilletia caries*). De certa forma, o conceito de tratamento esteve muito ligado a aplicação de produtos às sementes.

O conceito de tratamento de sementes no entanto, é mais amplo e abrange a aplicação de qualquer substância ou estímulo de natureza química, biológica ou física às sementes, com a finalidade de protegê-las ou modificar seu comportamento, das plântulas ou das plantas delas originadas.

A classificação dos tratamentos pode ser feita utilizando-se critérios muito diferentes, como o tempo, a natureza, os meios, as formas ou os fins, entre tantos com que os tratamentos são realizados. HEYDECKER & COOLBEAR (1977) realizaram uma extensa revisão em que classificaram os tratamentos em: pré-colheita, pós-colheita, seleção de

¹ REMNANT (1637) citado por Horsafall, J.G. (1945). *Fungicides and their action*. Massachusetts: Waltham. Citado por JEFFS (1986).

sementes, métodos para superar dormência, vernalização, químicos, energéticos, técnicas especiais de semeadura e tratamento pré-semeadura envolvendo a iniciação do metabolismo de germinação.

Os tratamentos referidos como "pré-semeadura com a iniciação do metabolismo" envolvem a absorção de água pela semente, sob condições controladas, impedindo que ocorra a protrusão da raiz primária. O remolho é um destes, muito utilizado antes da mecanização da agricultura. Consiste em se imergir as sementes em água corrente ou não, fria ou quente, por um período determinado e depois levá-las ao solo. Tinha como objetivos modificar as características da cobertura protetora das sementes, reduzir o tempo de germinação ou remover inibidores (CHARTMANN & KESTER, 1972).

A água pode ser aplicada às sementes por diversos métodos: equilíbrio com vapor de água da atmosfera, embebição em substrato úmido e imersão em soluções osmóticas (HEYDECKER & COOLBEAR, 1977). Neste último caso é também denominado tratamento osmótico, "priming" ou osmocondicionamento (KHAN *et alii* 1980/81), ou ainda denominado condicionamento fisiológico por MARCOS FILHO (1986).

O termo osmocondicionamento ou condicionamento osmótico ou tratamento osmótico (KHAN *et alii*, 1978) fica restrito aos tratamentos que envolvem o potencial osmótico da célula; assim ter-se-ia de criar o termo condicionamento mátrico quando se controlasse o potencial mátrico. O termo condicionamento fisiológico é mais amplo, subentendendo-se que se refere aos efeitos fisiológicos que o tratamento possa causar; em contrapartida ter-se-ia de criar outros termos como condicionamento físico, condicionamento químico, condicionamento biológico etc. para se referir aos efeitos de outra natureza.

Assim, apesar de se entender que estes termos não são perfeitos, optou-se nesse trabalho, na falta de outro mais adequado, pelo condicionamento fisiológico, entendendo que as manifestações físicas, químicas e outras que por ventura ocorram sejam decorrentes de alterações fisiológicas, ainda que nem sempre isso possa ser verdadeiro.

2.2. Como a semente absorve água

O padrão inicial de embebição para a maioria das sementes, como do feijão, é trifásico. A fase I é caracterizada por uma rápida absorção de água. Tão rápida, que chega a ser descrita como descontrolada (PARRISH & LEOPOLD, 1978; SIMON, 1984). É consequência das forças mátricas (Ψ_m) das paredes da célula e dos constituintes da semente; ocorre indiferentemente de a semente estar morta, dormente, viável ou viva (BEWLEY & BLACK, 1983). A seguir há uma fase linear, em que se constata pouca ou nenhuma absorção de água pela semente; é a chamada fase II ou fase lag, que pode durar de 5 a 10 horas (SIMON, 1984). Ocorre quando o potencial mátrico já é menos negativo, equivalendo ao potencial osmótico. As sementes mortas e dormentes se mantêm neste nível de hidratação e não avançam para a fase seguinte. A fase III é caracterizada pela protrusão da raiz primária, crescimento do eixo embrionário e consequentemente germinação visível, com intensa absorção de água (BEWLEY & BLACK, 1983; BEWLEY & BLACK, 1985).

O potencial hídrico na semente é resultante dos potenciais de suas células. Pode ser expresso pela soma de três componentes: de pressão, osmótico e mátrico (BEWLWY & BLACK, 1982).

$$\psi = \psi_p + \psi_s + \psi_m$$

O potencial de pressão ψ_p numa célula ocorre porque a entrada de água aumenta o conteúdo celular, manifestando uma pressão na parede celular externa, devido à resistência desta à expansão. A componente osmótica (ψ_s) é condicionada pelas ligações entre a água e os solutos, pois a concentração de solutos dissolvidos na célula influencia a absorção de água. O potencial mátrico (ψ_m) resulta das interações interfaciais, tais como forças capilares e de adsorção, entre a água e os constituintes moleculares das células e da semente (BEWLEY & BLACK, 1985).

Os potenciais osmótico e mátrico apresentam valores negativos porque possuem baixo potencial em relação à água pura. Entretanto, a componente de pressão apresenta valores positivos e a soma das três componentes resulta em potenciais negativos ou eventualmente igual a zero (BEWLEY & BLACK, 1982; BEWLEY & BLACK, 1985).

Um sistema hídrico em equilíbrio apresenta potencial total igual a zero e o movimento da água sempre ocorre, espontaneamente, segundo um gradiente decrescente de potencial hídrico (LABOURIAU, 1983; BEWLEY & BLACK, 1985).

A disponibilidade e a velocidade de fluxo de água para a semente são determinados pela diferença de potencial hídrico entre a semente e o substrato, causado pelo elevado potencial mátrico das paredes celulares e constituintes moleculares da semente. Entretanto, com o aumento do teor de água, após a fase inicial de absorção, as matrizes da semente (parede celular, amido e corpos proteicos) tornam-se hidratadas e os potenciais hídricos da semente e do solo tendem a atingir valores muito próximos. A disponibilidade de água para a semente é influenciada pelo potencial hídrico das zonas do substrato imediatamente em redor da semente, condutividade hidráulica e textura, impedância da matriz do

solo e área de contato entre a semente e o solo (BEWLEY & BLACK, 1985).

2.3. Como fornecer água às sementes

Para o condicionamento, a quantidade de água a ser fornecida à semente não deve permitir que ela passe da segunda fase. Isto pode ser alcançado limitando-se o tempo de embebição ou a quantidade de água disponível para a semente, sob determinada temperatura (HEYDECKER & COOLBEAR, 1977).

A embebição não ocorre uniformemente em todas as partes da semente. Caracteriza-se por uma fronteira nítida separando as partes secas e as partes úmidas; essa barreira desloca-se às partes secas e há um aumento contínuo de água nas partes já umedecidas. Por outro lado, regiões como o hilo e a micrópila podem ser mais permeáveis que o restante do tegumento e dependendo do local da superfície da semente em que a água está sendo fornecida, as partes da semente terão teores de água diferentes, além das características e funções de cada tecido (BEWLEY & BLACK, 1983; BEWLEY & BLACK, 1985).

Evidentemente, quando se fornece água às sementes em quantidade limitada, tem-se que considerar se estas serão mantidas úmidas até a semeadura ou se secadas até um nível que seja compatível com o armazenamento pretendido. Este processo envolve risco tanto pela secagem em si, que pode comprometer os eventuais benefícios advindos do tratamento, como pela manutenção da semente úmida (HEYDECKER & COOLBEAR, 1977).

A água pode ser aplicada às sementes basicamente por três meios, que podem influir drasticamente nos resultados obtidos: pelo equilíbrio com o vapor d'água da

atmosfera; por embebição em substrato úmido; por imersão.

2.3.1. Absorção do vapor de água da atmosfera

A semente, por ser higroscópica, possui a propriedade de ganhar ou perder água para o meio em que repousa, até alcançar o ponto de equilíbrio higroscópico (TOLEDO & MARCOS FILHO 1977). Em outras palavras, o teor de água das sementes depende, dentre outros fatores, da pressão de vapor d'água existente na atmosfera. Quando a pressão de vapor de água é maior na semente ou na atmosfera, há a tendência para um equilíbrio. Quanto maior for o gradiente, mais rápida será a troca. Assim sementes secas com umidade adequadas para o armazenamento (pressão de vapor relativamente baixo), se colocadas em ambientes mais úmidos (pressão de vapor elevado), tendem a absorver água muito rapidamente numa fase inicial, diminuindo essa velocidade à medida que a pressão de vapor na semente e na atmosfera se aproximam do equilíbrio. Por outro lado, sementes mais úmidas absorvem menos água, ou mesmo nenhuma, quando colocadas em ambientes úmidos.

Por isso HEGARTY (1978) afirmou que se o potencial de água controla a tomada de água pela semente, podem-se esperar resultados semelhantes se as sementes fossem umedecidas em contato com substrato úmido ou em atmosferas controladas.

HEYDECKER & COOLBEAR (1977) alertaram que o tempo dispendido até que a semente entre em equilíbrio com a umidade relativa do ar (UR ar) é muito grande; há, ainda, outros possíveis problemas: 1) a condensação da água sobre as sementes, ocasionando germinação indesejável, 2) a proliferação de microrganismos nesses ambientes úmidos, 3) a aceleração dos processos de envelhecimento que acompanham o aumento de umidade. Acrescentam ainda que esses problemas

poderiam ser minorados usando-se temperaturas mais baixas, estáveis, monitorando-se a umidade da semente e agitando-se a massa, quando necessário.

HEGARTY (1978) foi mais longe, considerando as dificuldades em se usar a umidade do ar para fornecer água às sementes. É muito difícil a manutenção de condições de temperatura exatamente constantes; esta temperatura influi na URar e o potencial de água varia enormemente em função da URar. Por exemplo, a 15°C

99,9%	URar	equivale a	-0,15 MPa	(-1,5 bar)
98,9%	"	"	" -1,5	" (-15 bars)
89,5%	"	"	" -15,0	" (-150 bars)
33,0%	"	"	" -150,0	" (-1500 bars)

o que significa que no intervalo de apenas 10,4% de URar (89,5 a 99,9), pode-se submeter as sementes a potenciais de água com valores de 100 vezes maior ou menor.

Finalmente, o autor concluiu que podem haver diferenças nas respostas das sementes quando expostas à URar elevadas, devido ao nível absoluto de umidade alcançado pela semente, à velocidade de hidratação e ao grau de controle de temperatura, além dos níveis de O_2 e CO_2 sob os quais as sementes são mantidas.

2.3.2. Embebição em substrato úmido:

Pode-se controlar a quantidade de água absorvida pela semente limitando-se o tempo de contato da semente com o substrato umedecido. Neste caso não limita-se o potencial mátrico nem o potencial osmótico, portanto a absorção inicial pode ser muito rápida.

A outra alternativa seria variar o potencial mátrico do substrato, assumindo assim o tempo, um papel complementar. Pode-se fixar a quantidade de água variando-se

a quantidade de substrato, ou fixando-se a quantidade de substrato variar a quantidade de água.

A absorção de água por parte de uma semente madura e seca (em condições adequadas ao armazenamento) depende de muitos fatores como temperatura, teor de água em que a semente se encontra, natureza do material de reserva e da disponibilidade de água no meio ambiente.

Normalmente, o potencial hídrico de uma semente madura e seca é consideravelmente negativo, podendo exceder a -1000 bars (-100 MPa) devido ao seu enorme potencial mátrico. Com a absorção de água, o potencial hídrico diminui rapidamente de cerca de -4.000 bars como no milho, trigo e beterraba, para cerca de -10 bars, quando há protrusão da raiz primária (BEWLEY & BLACK, 1983).

Ao se trabalhar com a embebição em substrato úmido usando-se água pura, tem-se as vantagens de não se introduzir produtos químicos ao processo e não se interferir na disponibilidade de oxigênio. Deve-se levar em conta que a superfície de contato da semente com o substrato frequentemente não é integral.

Por outro lado, ao se trabalhar com potencial osmótico, pode-se manter as sementes naqueles níveis de umidade em equilíbrio, permitindo-se trabalhar o tempo como variável.

Experimentalmente, os substratos mais utilizados são papel toalha, vermiculita e solo. Quando se usa papel, é comum fixarem-se volumes de água e de sementes e variar-se o número de folhas de papel. TILDEN & WEST (1985), PANDEY (1988) e PANDEY (1989) utilizaram 2 a 5 camadas de papel com diâmetro de 150 mm para 20 ml de água e sobre elas distribuídas as sementes de feijão, cuidando-se para que

estas ficassem orientadas com apenas com uma das faces cotiledonares em contato com o papel.

Evidentemente, pode-se usar uma solução no substrato ao invés da água pura, combinando-se a metodologia.

2.3.3. Controle da embebição por imersão em água pura (potencial osmótico inexpressivo) limitando-se o tempo.

Neste método não há interferência de produtos químicos, porém há o risco dos danos causados pela embebição muito rápida constatados por KIDD & WEST (1918)²; POWELL & MATTHEWS (1978), e WOODSTOCK & TAO (1981), e a distribuição desuniforme da água na semente (BEWLEY & BLACK, 1985).

2.3.4. Embebição com potencial osmótico limitado:

Para se variar o potencial osmótico, tem-se empregado sais ou outras substâncias dissolvidas em água. O manitol, dextrose e sacarose têm sido usados com muita frequência nos trabalhos experimentais. O primeiro mostrando-se mesmo superior às demais substâncias em algumas circunstâncias como demonstrou EIRA (1988). O polietileno glicol é um polímero de elevado peso molecular, não tóxico, não entra nas células, não eletrolítico. É encontrado com peso molecular 4.000, 6.000 e 12.000, sendo 6.000 o mais comum (JACKON, 1962).

A pressão osmótica de uma solução resulta da presença de solutos que afetam as propriedades da água, pelo fato do soluto causar diminuição na energia livre de Gibbs do solvente. Os estudos da termodinâmica das soluções diluídas estabelecem que o potencial osmótico de uma solução

²KIDD, F. & WEST, C. Ann. Appl. Biol. 5:112-142 .1918.

Citado por BEWLEY & BLACK, 1982.

depende essencialmente da temperatura e da concentração (VILLELA *et alii*, s/d).

MICHEL & KAUFMANN (1973) utilizando psicrômetro termopar e osmômetro de pressão de vapor, estudaram os efeitos da concentração de polietileno glicol 6.000 (PEG 6.000) e da temperatura no potencial osmótico de soluções e encontraram uma relação entre a concentração (C) de polietileno glicol, a temperatura (T) e o potencial osmótico (ψ_s) da solução, expressa pela equação:

$$\psi_s = -(1,18 \times 10^{-2})C - (1,18 \times 10^{-4})C^2 + (2,67 \times 10^{-4})CT + (8,39 \times 10^{-7})C^2T$$

Sendo C expresso em g de PEG 6.000/kg de água, T em °C e ψ_s em bar. VILLELA *et alii* (s/d) apresentam as concentrações de PEG 6.000 na faixa de 1 a 40°C, para a obtenção de potenciais de -1 a -40 bars.

HEYDECKER & COOLBEAR (1977) ressaltaram alguns pontos importantes quanto ao uso de PEG: 1) poucas generalizações podem ser feitas a cerca das condições ótimas de tratamentos, 2) o grau de aceleração na germinação difere com a espécie e com o lote de sementes, 3) a secagem comparada com a mera secagem superficial reduz o grau de avanço ou sincronismo mais ou menos drasticamente. 4) Se o tratamento for muito longo, poderá afetar diferentemente os membros da população e causar a maior distribuição da germinação no tempo, ainda que o tempo médio da germinação (expresso por T50) possa ser considerado reduzido 5) Nos melhores resultados, o tempo de germinação pode ser consideravelmente reduzido, 6) há indicações de que o tratamento em temperaturas favoráveis à germinação facilita a germinação em temperaturas subótimas.

2.3.5. embebição em soluções contendo sais:

Os efeitos específicos dos sais quando colocados em solução na embebição de sementes podem ser específico e são diferentes do nutricional e, também, diferentes para a mesma espécie. ROBERTS (1972) apresentou a função de alguns deles na teoria da via pentose fosfato na superação da dormência. Algumas funções de outros são citados por HEYDECKER & COOLBEAR (1977) ou permanecem inexplicados, além do efeito osmótico já citado (LEVITT & HAMM, 1943)

2.4. Condicionamento fisiológico de sementes

2.4.1. Fundamentos

A explicação apresentada por HENCKEL (1964) para o "endurecimento" resultante dos tratamentos é que ocorreria durante a ontogênese, e baseado na história filogenética das plantas. Após a secagem haveria um estágio de "restauração", e que, poderia haver profunda reorganização fisiológica da planta, que levaria não somente à restauração parcial de funções alteradas como também à novas atividades. Sugeriu que as mudanças físico-químicas dentro do citoplasma incluía: (1) maior hidratação de colóides, (2) maior viscosidade e elasticidade do protoplasma; (3) aumento de água presa; (4) aumento dos colóides hidrofílicos e diminuição dos lipofílicos; (5) aumento na exigência de temperatura de coagulação das proteínas.

BEWLEY & BLACK (1982) sugerem que nos ciclos de umedecimento/secagem, os processos metabólicos iniciais da germinação começam durante a embebição e interrompidos, mas não se revertem pela secagem subsequente, de tal maneira que as sementes ao serem recolocadas em ambiente favorável à germinação, concluiriam o processo mais rapidamente.

2.4.2. Associação do vigor com o estado de organização das membranas celulares

A perda da integridade da membrana parece estar intimamente envolvida no processo de deterioração (KOOSTRA & HARRINGTON, 1973) é provavelmente um passo primário na sequência de eventos durante a deterioração (DELOUCHE & BASKIN, 1973).

Após o trabalho de ABDUL-BAKI & BAKER (1973), muitos outros seguiram-se na linha de associar a deterioração e o vigor com a integridade das membranas. Naquele trabalho estes autores abordaram as mudanças que ocorrem durante a formação, a maturação, a quiescência e a germinação:

"(...)Durante o estado quiescente, a perda de vigor ocorre a uma velocidade determinada pela constituição genética e ambiente externo e interno.

"No presente não é possível dizer que os eventos bioquímicos e a ordem sequencial que culminam na perda de vigor são perfeitamente conhecidos, nem se pode atribuir a perda de vigor ao mal funcionamento de uma organela específica. Todavia, muitas mudanças bioquímicas tem lugar nas sementes quando elas se deterioram e algumas delas poderiam estar associadas com mudança nas propriedades das membranas de uma ou mais organelas. Entre elas estão: aumento de açúcares, aminoácidos e sais inorgânicos lixiviados, presumivelmente devido ao aumento de permeabilidade do plasmalema, redução da capacidade fosforilativa dos mitocôndrios em sementes velhas de soja; e reduzida citocromooxidase e desidrogenases málica e álcool em sementes de milho, presumivelmente devido a alterações nas propriedades do mitocôndrio; redução na síntese de proteínas e carboidratos que poderia estar relacionado a mudanças em polissomas e corpúsculos de Golgi e diminuição

em fosfolipídios (presumivelmente do tipo membrana) devido ao envelhecimento acelerado. A quebra dos fosfolipídios tem sido atribuída ao aumento das atividades dos fungos de armazenamento. Esferossomas em sementes infectadas coalescem formando grandes massas irregulares, e o protoplasma afasta-se da parede celular."

Quando as sementes absorvem água, há uma perda (lixiviação) de solutos como açúcares, ácidos orgânicos, íons, aminoácidos e proteínas. Embora alguns componentes sejam perdidos para fora da célula muitos outros podem ser lixiviados dentro da própria célula. É provável que, com a secagem, as membranas do tonoplasto e do plasmalema percam a permeabilidade seletiva e mesmo sua integridade e dessa forma não podem reter os solutos dentro das células, não atuando como barreiras no estágio inicial de embebição (BEWLEY & BLACK, 1985). Este fato foi demonstrado por SIMON & RAJA-HARUM (1972) com embriões de ervilha, associando a rápida lixiviação de solutos com os primeiros estádios de embebição mas, tão logo ocorria a embebição, a lixiviação diminuía rapidamente. Esse processo se repetia se os embriões fossem secos outra vez, tantas vezes quantas se repetissem o ensaio, indicando que esse processo seria mais físico que fisiológico. Por outro lado, embriões previamente umedecidos, ou ainda que não tinham sido submetidos à secagem durante a sua maturação, não perdiam eletrólitos quando imersos em água. Essas membranas presumivelmente tornam-se estáveis de novo dentro de minutos, impedindo a lixiviação de solutos após a hidratação das sementes.

As membranas são constituídas por proteínas, lipídios e hidratos de carbono. As proteínas representam o principal componente. Possuem papel importante não só na estrutura mecânica da membrana mas também como transportadoras ou canais de transporte. Além disso podem estar relacionadas com propriedades reguladoras ou de

reconhecimento. Estão também presentes na membrana plasmática numerosas enzimas, antígenos e diversos tipos de moléculas receptoras como os fitocromos (DE ROBERTIS & DE ROBERTIS JR., 1986, GUARDIA *et alii*, 1987; LOPES & TAKAKI, 1987; KARSSSEN 1980/81).

As teorias sobre a organização das membranas baseiam-se em informações indiretas. Dentre os mais diversos modelos de estrutura da membrana, a do mosaico fluido é uma das mais aceitas. Este modelo postula que (1) o lipídio e as proteínas estão dispostas num arranjo tipo mosaico e (2) as membranas são estruturas quase fluidas, onde tanto os lipídios quanto as proteínas integrais são capazes de executar movimentos de translação em toda a camada dupla (DE ROBERTIS & DE ROBERTIS JR., 1986). Neste modelo, as proteínas das membranas intercalam-se em maior ou menor extensão numa camada lipídica dupla contínua. Este arranjo baseia-se no caráter anfipático destas proteínas, cujas regiões polares afloram na superfície das membranas, enquanto as não polares engastam-se no interior hidrofóbico da membrana (SIMON, 1974; SINGER & NICHOLSON, 1972).

De acordo com o modelo proposto por SINGER & NICHOLSON (1972), os fosfolipídios e as proteínas tanto contribuem com a estrutura da membrana como poderiam impedir a difusão do soluto citoplasmático através da membrana ou de proteínas de um lugar para outro. Segue-se daí que a modificação ou da proteína ou dos fosfolipídios poderia alterar a permeabilidade da membrana; os dois poderiam atuar em paralelo, fornecendo alternativas para o escape de solutos (SIMON, 1974).

A permeabilidade celular é fundamental ao funcionamento da célula viva e à manutenção de condições fisiológicas e intracelulares satisfatórias. Esta função determina quais as substâncias que podem entrar na célula,

sendo que muitas delas podem ser necessárias para manter seus processos vitais e a síntese de substâncias. Ela também regula a excreção de produtos residuais do metabolismo e água (DE ROBERTIS & DE ROBERTIS JR, 1986).

A permeabilidade das membranas é uma expressão da liberdade com que a água e os solutos podem passar através delas. Depende não somente da substância que está penetrando, mas também da membrana em si, pois não são todas iguais em todos os organismos. Há circunstâncias nas quais a permeabilidade a um soluto varia de uma fase para outra fase na vida de uma célula para outra; assim, tanto a senescência como a imposição de um estresse como a desidratação aumenta a permeabilidade (SIMON, 1974).

Quando as sementes são imersas em água ou colocadas em solo umido diversas substâncias são lixiviadas delas. Flentje & Saksena (1964) segundo SIMON (1978) verificaram que, nessas condições, sementes de ervilha perdiam lixiviados que favoreciam o ataque de *Pythium* e prejudicavam a germinação. Tal fato foi comprovado também por MATTHEWS & BRADNOCK (1968) com feijão. Depois disso tentou-se correlacionar a condutividade elétrica da água em que as sementes ficavam previamente imersas, bem como a concentração de carboidratos solúveis, com a qualidade das sementes (SIMON, 1974).

Segundo SIMON (1974), não há evidências de que a facilidade de lixiviação seja um caráter hereditário e deve depender das condições com que se desenvolve na planta mãe. o tempo de colheita e o grau de desidratação alcançado pela semente ou as condições durante a colheita e o armazenamento. Diferenças no desenvolvimento da semente podem influenciar na quantidade de cada soluto que está presente na semente madura e, portanto, o seu potencial de perda.

A origem do material lixiviado não é apenas decorrente de uma lavagem de material depositado superficialmente no embrião. Se assim fosse, o processo não se repetiria nos ciclos de secagem/umedecimento seguintes. Esta afirmativa é confirmada pelos ensaios em que se usa o método de embeber as sementes lentamente sobre papel e depois emergi-las em água (SIMON & RAJA-HARUN, 1972). Os ensaios sugerem que o material lixiviado origina-se dos tecidos propriamente ditos. A grande variedade de pequenas moléculas perdidas sugere uma perda geral, não seletiva, do conteúdo das células. Em *Phaseolus* verificou-se 22 aminoácidos, glicose, frutose, sacarose e maltose (SCHROTH & COOK, 1964). em outras sementes e outros experimentos encontrou-se ácidos orgânicos, ácido giberélico, materiais fluorescentes, fenólicos e fosfatos.

Monitorando-se no tempo a perda de cada substância, verifica-se que todas seguem um mesmo padrão: começam rapidamente e depois diminuem. A diversidade dos produtos perdidos reforça a hipótese de que o transporte é passivo, pois não há seleção das moléculas a não ser pelo tamanho, além do mais, não há diferença de perda a 20°C e a 0°C, o que seria esperado se o processo fosse ativo (SIMON, 1974).

A velocidade de perda dos solutos parece estar relacionada com a posição das células na semente. As mais externas tem o seu material perdido primeiro mas, à medida que absorvem água, regeneram suas membranas e impedem as perdas. Por outro lado, células mais internas ainda não estão úmidas o suficiente e continuam perdendo seus solutos, só que estes tem dificuldade maior em sair para o ambiente devido a sua própria posição, devendo difundir-se por um caminho mais longo, e demorando mais a sair da semente (SIMON, 1974).

Embora diferenças entre espécies de sementes possam ocorrer, a testa serve como barreira à lixiviação (HADAS, 1976); assim, embriões isolados lixiviam mais que as sementes intactas. A presença da cobertura protetora atua como uma barreira, diminuindo a liberação dos solutos para o meio externo e, efetivamente, reduz a perda de solutos do embrião propriamente dito. Em sementes intactas, as substâncias de lixiviação do embrião devem permanecer aprisionadas no pequeno espaço entre o embrião e a testa, alcançando altas concentrações (SIMON, 1974). Quando as sementes são hidratadas total ou parcialmente em atmosfera saturada antes de serem colocadas em contato com água na forma líquida ou quando que não tenham sido submetidas a secagem no seu estado final de maturação, não perdem solutos quando imersas em água (BEWLEY & BLACK, 1985), como já citado.

A perda, tanto na semente como nos embriões isolados, foi maior nos primeiros minutos em que a semente é imersa em água. A velocidade diminuiu rapidamente após 30 ou 60 minutos. No entanto, se os embriões fossem removidos, secados e retornados à água, uma nova perda rápida era restabelecida por poucos minutos, diminuindo outra vez com a embebição (SIMON & RAJA-HARUN, 1972). Em um experimento do tipo ciclos de embebição/secagem/embebição, o ciclo foi repetido nove vezes e a quantidade de material perdido pelos embriões era maior que naqueles que foram mantidos imersos continuamente pelo mesmo tempo. A perda somente era abundante quando as sementes ou embriões secos são originados de sementes maduras. Os embriões de semente imaturas não apresentaram tal comportamento (SIMON & RAJA-HARUN, 1972).

2.4.2. Hipóteses

Existem várias hipóteses para explicar a lixiviação dos solutos durante a embebição das sementes, segundo SIMON (1974) SIMON & MILLS (1983) e SIMON (1984). Três são as principais. Na primeira, afirma-se que os solutos que estariam sendo lixiviados das sementes e embriões em embebição poderiam ser simples depósitos localizados na superfície ou no apoplasto, que se dissolvem durante a embebição. SIMON & MILLS (1983) contestaram esta idéia, ao observarem que as quantidades de eletrólitos e potássio perdidos em 24 horas, eram muito maiores do que as aparentemente existentes extracelularmente. Em segundo lugar, a diversidade dos solutos perdidos sugere a origem citoplasmática. Além disso, a perda de solutos a partir de embriões em embebição é contínua, comprovado pela remoção constante, a cada minuto, da água; o esperado seria interromper a lixiviação após a 2ª ou 3ª lavagem em água. Finalmente, quando os embriões são secos outra vez até o seu peso inicial, após 30 minutos de embebição e então retornados à água, a perda de solutos continua sem diminuição.

A segunda hipótese, da ruptura das membranas, proposta por LARSON (1968) e PERRY & HARRISON (1970) e refere-se ao estresse indiscriminado que forças da entrada da água impõem às membranas pela entrada abrupta durante a embebição. O gradiente de potencial de água é muito elevado no início da embebição e isso poderia romper a organização das membranas da célula, dispersando seus componentes fosfolipídicos e protéicos de suas posições originais. Na ausência de membranas intactas, o conteúdo citoplasmático dessas células poderia ser disperso pelo fluxo turbulento de água, dificilmente qualquer conteúdo original permaneceria nas células. Esta hipótese é sustentada pela ocorrência de camadas superficiais de células mortas, quando a embebição é

rápida, sem considerar o papel regulador da cobertura proterora das sementes. Há vários argumentos, entretanto, que a colocam em dúvida, como o fato de que a lixiviação ocorre, ainda que a embebição seja lenta, ou que a perda de potássio continua por horas após as células terem sido embebidas (SIMON, 1984).

A terceira hipótese, da reorganização das membranas, foi elaborada por SIMON (1974), SIMON (1978) SIMON & MILLS (1983) e SIMON (1984). Supõe que nas sementes muito secas, as membranas estariam desorganizadas, não efetivando uma barreira em volta das organelas e do citoplasma, mas retomariam à sua condição semipermeável com o aumento do teor de água. Desta forma, seria possível haver, por um curto período de tempo, no início da embebição, a perda de solutos para fora das células. Durante o curso da embebição a fronteira de água penetraria lentamente no interior do embrião ou da semente umedecendo cada camada de célula, permitindo a lixiviação de cada célula. A lixiviação continuaria por um período prolongado e abrangendo muitas células a partir da periferia.

Vários trabalhos citados por SIMON (1974) revelaram que 20 % de água na célula representa camadas de água que devem estar presentes na superfície das membranas para criar um ambiente hidrofílico, o que daria estabilidade à organização do lipídios em camada dupla. O valor de 20% é equivalente ao raio de 10 moléculas de água para cada molécula de fosfolípídeo. Sugere-se que este seja o valor limite de teor de água para que uma membrana biológica possa ser seca sem alterar severamente sua estrutura.

Estes resultados foram confirmados e melhor esclarecidos com a técnica de difração de Raio X utilizada por LUZZATI & HUSSON (1962), fornecendo evidências de que a teores menores que 20%, os fosfolipídios arranjam-se de

maneira (fase) hexagonal, com apenas uma camada e existindo espaços que seriam como que canais cheios de água entre os grupos polares das moléculas de fosfolipídios, ao invés de duas camadas, como ilustrado na FIGURA 1.

FIGURA 1: Estrutura das membranas celulares proposta por SIMON (1974), e baseada em LUZZATI & HUSSON (1962). À esquerda os fosfolipídios estão arranjados de forma lamelar e, à direita, de hexagonal.

Por outro lado, esta hipótese foi contestada por McKERSIE & SENARATNA (1983) mediante o uso de modelos matemáticos da hidratação num corpo esférico. Sugeriram que as mudanças da permeabilidade seriam devidas ao rompimento ou inativação da bomba de íons.

Dentre outros sinais, o dano às membranas celulares é uma das consequências do armazenamento prolongado. Sementes velhas, quando colocadas para embeber perdem solutos mais rapidamente que as mais novas. Em outros experimentos, o teor de açúcares não foi claramente relacionados com a perda de viabilidade; isto é compreensível, porque ABDUL-BAKI & ANDERSON (1973)

verificaram que a glicose liberada nas primeiras 4 horas seria reabsorvida nas 8 horas subsequentes (SIMON, 1974).

As membranas, em certo período da vida, perderiam a capacidade de repressão da enzima lipoxidase que, por sua vez, atacaria os lipídios das próprias membranas, alterando-as e tornando-as inoperantes, como primeiro sinal de senescência que levaria à morte (BASU, 1976).

A velocidade de envelhecimento de sementes depende de 3 principais fatores: temperatura, teor de água e pressão de oxigênio. O padrão de deterioração que precede a morte é o mesmo se as sementes sobrevivem por segundos ou décadas. Alguns dos danos são reversíveis se as sementes são hidratadas, provavelmente através de operação de reparo a nível celular; mas danos severos que desenvolvem na última fase que precede a morte são irreversíveis (ROBERTS, 1981). HEGARTY (1977) propôs a FIGURA 2, que representa, sem escalas precisas o comportamento das sementes em função do teor de água.

Em teores muito baixos, a viabilidade fica prejudicada, mas em geral, aumentando-se o nível de umidade, aumenta-se a deterioração. Se suficientemente úmidas, as sementes germinam, mas em um nível intermediário a atividade de ativação e reparo começa a existir e aumentar, superando a própria deterioração no ponto A.

A taxa de deterioração (ROBERTS, 1972) e o metabolismo aumentam com o teor de água. Assim, o teor de água ótimo para o armazenamento a seco representa um balanço entre a minimização da deterioração resultante do nível de umidade das sementes "úmidas" e as causadas pela dessecação excessiva (ANDERSON & BAKER, 1983). BASU (1976) sugeriu o equilíbrio com 30 % de UR como sendo o melhor para muitas sementes, enquanto HARRINGTON (1972) sugere 20-25% UR como ótimo.

FIGURA 2: Representação esquemática das fases de deterioração, ativação e reparo, e germinação de sementes em diferentes níveis de umidade, segundo HEGARTY (1977).

Por outro lado, sementes muito secas estão sujeitas a peroxidação dos lipídios, tanto das membranas como substâncias de reserva, como prevê o modelo proposto por WILSON JR & McDONALD JR (1986).

Os lipídios das membranas apresentam um sítio mais sensível e mais danificável pela reação de peroxidação que os de armazenamento. No entanto, em sementes oleaginosas com grandes quantidades de ácidos graxos insaturados sob condições muito secas, os lipídios estão sujeitos ao ataque autocatalítico pelo oxigênio da atmosfera, exercendo efeito sobre a longevidade da semente. Por outro lado, com elevado

nível de umidade, a atividade da lipoxidase das sementes poderia ocasionar um mecanismo alternativo para o ataque dos lipídios pelo oxigênio, que viria comprometer a capacidade das sementes em manter a compartimentalização dessas enzimas.

Pelo modelo, o parâmetro de maior influência na peroxidação dos lipídios é o tempo. O armazenamento das sementes submete os lipídios a um lento e consistente ataque pelo oxigênio, formando hidroperóxidos, outros ácidos graxos oxigenados e radicais livres. Os radicais livres são instáveis e podem reagir ou danificar as moléculas próximas. Os danos acumulam-se durante o armazenamento, uma vez que não podem ser reparados devido ao baixo teor de água. Esses danos poderiam se manifestar por ocasião da hidratação. A quantidade total de ácidos graxos oxigenados acumulados seria proporcional a idade da semente e a velocidade de formação. Assim, medindo a quantidade de ácidos graxos oxigenados diretamente ou indiretamente via produtos secundários, a idade fisiológica das sementes pode ser determinada.

Quando a semente absorve água no início da germinação, a reação dos lipídios com oxigênio diminui com a hidratação e organização das membranas. A hidroperóxido-liase torna-se ativa e quebra os ácidos graxos oxigenados. Esta reação pode danificar a semente pela produção aumentada de radicais livres e pela formação de produtos tóxicos secundários, que inibem a respiração, síntese de proteína, síntese de DNA e desnaturação de proteínas. O citocromo pode também oxidar hidroperóxidos, catalizando novos ciclos de peroxidação de lipídios que pode iniciar sua própria destruição.

Os tratamentos de hidratação - desidratação podem minorar os efeitos da idade da semente, resultando em maior

germinação e maior resistência ao teste de envelhecimento acelerado. Esses efeitos podem ocorrer em um período curto de tempo (15 minutos de embebição) e não requerem oxigênio (GOLDSWORTHY *et alii*, 1982), isso permite supor que o fenômeno pode resultar da destruição controlada dos ácidos graxos oxigenados nas sementes velhas do que um reparo anabólico das estruturas deterioradas.

2.4.3. Histórico da metodologia

Os tratamentos de pré-semeadura, envolvendo a iniciação do metabolismo de germinação, vem despertando a atenção de muitos pesquisadores, especialmente desde o decêndio de 1970, despertando atenção para os efeitos desse tipo de tratamento pela simples antecipação dos processos de germinação antes da sementeira ou pela modificação desses processos, seguidos pelo impedimento da protrusão da radícula antes da sementeira (HEGARTY, 1978).

O trabalhos nessa linha são relativamente antigos. Em 1919, Kidd e West³, citados por HEGARTY (1978), publicaram uma revisão em que, pelos resultados até então existentes, concluíam que as sementes umedecidas e semeadas germinavam mais rápido que as não tratadas, mesmo aquelas que eram embebidas com uma quantidade mínima de água; porém o efeito dessa embebição era perdido se houvesse uma secagem rápida antes da sementeira. Faziam-se referências a condições dos tratamentos como temperatura, tempo e quantidade de água

³ KIDD, F. & WEST, C. Physiological predetermination: the influence of the physiological condition of the seed upon the course of subsequent growth and upon the yield. IV. Review of the literature. Chapter III. *Annals of Applied Biology*, 5:220-251, 1919.

absorvida. Relataram, também, que os resultados eram variados, sendo benéficos em alguns casos e deletérios em outros.

Um avanço no sentido de um uso mais definido da hidratação foi feito por LEVITT & HAMM (1943) com sementes de *Taraxacum kok-saghyz*. Eles especulavam se era possível aumentar o teor de água na semente o suficiente para permitir mudanças fisiológicas, mas insuficiente para permitir a germinação e, então, secá-las. Testaram sais em diferentes concentrações, KNO_3 e dextrose como agentes osmóticos e a hidratação pela exposição à umidade relativa do ar controlada. Testaram também a influência da temperatura, da luz, e da secagem, além do tempo de armazenamento após o tratamento. Todos os métodos apressaram a germinação. A duração do melhor tratamento (dextrose 1M = -20 bars) foi influenciado pela temperatura. Os efeitos benéficos não se perdiam por 4 semanas após a secagem. Em temperaturas normais (ex. 23°C) não houve efeito dos tratamentos sobre a germinação final, mas isto ocorreu quando a germinação se processou em temperaturas subótimas. Não foi constatado, ou foi mínimo, o efeito da natureza do soluto se lavado da semente após o tratamento, nem da quantidade água corrente utilizada, do pH da solução ou da presença ou não de luz.

Desde o decêndio de 1930, talvez antes mesmo, pesquisadores soviéticos desenvolviam experimentos com o objetivo de aumentar a resistência das plantas à seca. Usavam submeter as sementes a ciclos de umedecimento/secagem sucessivas vezes. A técnica usada especialmente por Henckel denominada de "endurecimento" (*hardening*) consistia em permitir que as sementes absorvessem uma determinada quantidade de água e conservá-las úmidas a $10-25^\circ\text{C}$ por várias horas antes de serem secas outra vez ao ar livre (BEWLEY & BLACK, 1982). Henckel enfatizava que à medida em que a embebição avançava, melhores eram os resultados

obtidos, mas o embrião tornava-se mais sensível à secagem (MAY, 1962). Estudaram temperatura de embebição e de secagem, níveis de umidade mínima e máxima de cada ciclo e número de ciclos. Os ensaios, sempre empíricos, apresentavam resultados variáveis que chegavam a aumentos de produção de 10 a 25%, ou mais, especialmente sob condições adversas. Faziam também o uso de sais na água de embebição (MAY, 1962; HENCKEL, 1964; HEYDECKER & COOLBEAR, 1977).

O número de ciclos, a quantidade de água fornecida, a duração do tratamento, e o teor de água a que se deve secar, variam segundo HENCKEL (1968) citado por HEYDECKER & COOLBEAR (1977) de cultura para cultura. Os efeitos positivos nas culturas de ciclo de vida curto parecem estar mais relacionados com o maior crescimento das raízes, originando melhores resultados em espécies onde o produto comercial é a raiz como a cenoura. No entanto, resultados positivos foram citados por HEYDECKER & COOLBEAR (1977) em diversas forrageiras, tomate, aveia, sorgo, arroz, girassol, pimentão, beterraba, côco e cajú entre outras. HEGARTY (1978) relatou que a divulgação desses trabalhos trouxe um aumento de interesse pelos métodos em que se usava quantidade restrita de água de embebição.

VILLIERS & EDGCUMBE (1975) mostraram que períodos intermitentes de embebição, seguidos de desidratação, podem impedir a deterioração de sementes de alface, e Basu & Das Gupta (1974)⁴ e Das Gupta & Basu (1975)⁵ reportaram que o

⁴ BASU, R.N. & DAS GUPTA, M. Control of deterioration in wheat (*Triticum aestivum* L) *Indian Agric.* 18:285-288, 1974.

⁵ DAS GUPTA, M. & BASU R.N. Prolonging the viability of wheat seed 14th Wheat Workshop. I.C.A.R. Session n.º II, item n.º(11)

tratamento de hidratação/desidratação aumentou a vida no armazenamento subsequente de uma ampla variedade de sementes, sob condições de ambiente ou durante o envelhecimento, sob diferentes regimes de temperatura e umidade (HEYDECKER & COOLBEAR, 1977).

É uma observação geral que após o início da emergência da raiz primária e replicação do DNA, as sementes não podem ser secas de novo sem a ocorrência de danos (MILTHORPE, 1950).

HEYDECKER *et alii* (1973) e HEYDECKER (1973/4) refletindo em parte o pensamento de 30 anos expresso por LEVITT & HAMM (1943), retomaram essa idéia, dando-lhe a aparência iconoclasta, o que chamou a atenção da comunidade científica: "invigoration of seeds?". A deterioração das sementes era tida como uma perda irreversível e, indiretamente, também o vigor seria impossível de ser aumentado ou recuperado em uma semente individualmente (ROBERTS, 1972). Eles questionaram ainda se haveria ou não vantagens em secar a semente outra vez após o tratamento. Segundo HEGARTY (1977), esses autores reconheceram que as soluções salinas nos tratamentos de embebição para "alimentar" as sementes poderiam ter simplesmente um efeito osmótico; descreveu o método como "priming", usando soluções de polietileno glicol (PEG), com potenciais de -10, -12,5 e -15 bars, o que traria as sementes "à beira" da germinação aparentemente deixando o embrião desenvolver mas sem a protrusão da radícula. O PEG foi selecionado porque pareceu ser verdadeiramente osmótico, livre das complicações da absorção de íons e moléculas (como no caso dos açúcares) ou dos efeitos específicos dos íons demonstrados por UHVITS (1946) com cloreto de sódio e manitol (STEUTER *et alii*, 1981).

Apesar do condicionamento estar sendo pesquisado há

muitos anos, ainda não é possível usá-lo comercialmente, embora tentativas nesse sentido tenham sido feitas. Isso deve-se a problemas inesperados frequentemente relacionados à metodologia, mesmo em escala experimental.

Quanto à metodologia, HEYDECKER & COOLBEAR (1977), KHAN *et alii* (1980/81) e BEWLEY & BLACK (1985) fazem recomendações:

1. É necessário o controle preciso do suprimento de água para cada semente.
2. Deve haver adequado fornecimento de oxigênio.
3. A temperatura deve ser mantida estável. Não se sabe o grau de variação permitido sem que haja alteração dos resultados.
4. As sementes devem ser protegidas contra patógenos. A ocorrência de microflora não patogênica poderia diminuir a disponibilidade de oxigênio para as sementes.
5. O potencial osmótico normalmente situa-se entre -5 bars e -20 bars.
6. A temperatura durante o tratamento deve estar na faixa de 10°C a 20°C.
7. A duração do tratamento normalmente é de 4 a 35 dias.
8. As sementes que estão sujeitas à ação de fitocromo devem ser irradiadas durante o tratamento para terem melhores resultados.
9. Num potencial osmótico qualquer, para tratamentos mais longos, são necessárias temperaturas mais baixas.
10. Em uma dada temperatura, aumentando-se a concentração da solução osmótica, até um certo limite, encurta-se o tempo de tratamento.

2.4.4. Fatores que afetam

Os efeitos obtidos pelo condicionamento dependem de muitos fatores. Os que mais afetam são: genoma, estado de

deterioração, tempo e temperatura do tratamento, tamanho das sementes, velocidade de absorção de água (associada ao potencial mátrico e potencial osmótico do meio em que as sementes absorvem água), aplicação de elementos nutritivos, tóxicos ou estimulantes às sementes; grau de hidratação alcançado pelas sementes e suas partes; aeração; densidade da massa de sementes; secagem após o tratamento; número de ciclos de secagem/umedecimento, (HEGARTY, 1978; MAY & MILTHORPE, 1962; KHAN *et alii*, 1980/81).

Há evidências de que a carga genética determina o nível de resposta ao condicionamento (SEONG *et alii*, 1988). Assim, há espécies cujas respostas positivas são frequentes, como as olerícolas e algumas grandes culturas, ou seja, espécies de ciclo curto (baseado nos dados tabelados por BRADFORD, 1986) e em alguma de ciclo longo como *Pinus* e *Picea* (HUANG, 1989). Há de se considerar, entretanto, que os resultados atribuídos ao vigor das sementes são proporcionalmente menores com o passar do tempo, restando apenas uma vantagem "residual" para aquelas inicialmente mais vigorosas. No entanto essa vantagem pode não existir e, além de tudo, depende do órgão da planta e da época que se vai explorar. Se o órgão é de origem vegetativa, há maior probabilidade de que o vigor da semente exerça uma influência significativa sobre a produção. Por outro lado, quando se exploram órgãos de origem sexuada, como as sementes, os efeitos não são tão claros a ponto de se arriscar uma hipótese (CARVALHO, 1986)

O teor de água em que o reparo é possível deve variar com a composição química das sementes, uma vez que o primeiro é dependente desta, como citam TOLEDO & MARCOS FILHO (1977) e CARVALHO & NAKAGAWA (1988), bem como da distribuição da água nas diferentes partes da própria semente. /As citações são genéricas quanto ao teor, como citam VILLIERS & EDGCUMBE (1975) "...o sistema de reparo e

manutenção genética estão habilitados para operar nas sementes que são armazenadas hidratadas, mas em condições que impedem a germinação" ou OSBORNE *et alii* (1980/81) que obtiveram evidências no reparo do DNA no início da embebição; ou mais específicas, como IBRAHIM & ROBERTS (1983) que afirmaram haver atividade de reparo acima de 15% de teor de água em sementes de alface. A perda de lixiviados é insignificante acima de 20% de água nos eixos de sementes de *Phaseolus aurens* (POLLOCK, 1989). SIMON (1974) afirmou que as membranas assumem a conformidade de bicamada fosfolipídica com teor de água acima de 20%.

O tempo necessário para que ocorra o reparo das membranas, manifestado principalmente pela presença de exsudatos na água de embebição, é curto. GOLDSWORTHY *et alii* (1982) confirmaram que havia revigoramento de sementes velhas de trigo mediante uma embebição tão rápida como 5 minutos; menos de 5 minutos para soja (BRAMLAGE *et alii*, 1981). Apesar de haver evidências do reparo em período tão curto, os melhores tratamentos de condicionamento de sementes são mais longos, segundo o que revisam KHAN *et alii* (1980/81); os melhores tratamentos tem a duração de 4 a 35 dias. Para feijão PANDEY (1988 e 1989) encontrou bons resultados em 48 horas, e SHIOGHA (1990) superioridade geral nos períodos de 1 a 5 dias.

A temperatura baixa aumenta o período em que as sementes perdem lixiviados quando imersas em água. Como demonstraram SWAMY & NARASIMHA REDDY (1977), com sementes de amendoim a 10°C, 20°C, 30°C e 40°C. Fato semelhante foi interpretado por BRAMLAGE *et alii* (1981) como sendo devido à demora ou falha na reorganização dos fosfolipídios das membranas, o que seria a causa básica dos danos da embebição em baixa temperatura. A maior resistência dos embriões de soja ao frio, quando tinham maiores teores de água seria devida, ao menos em parte, à reorganização das membranas. Já

OBENDORF & HOBBS (1970) obtiveram resultados semelhantes, também com soja, mas atribuíram a maior exsudação ao maior rompimento das membranas, danificando a estrutura funcional das proteínas.

A melhor temperatura para o condicionamento varia com a espécie, 15°C para soja (KNIPL & KHAN, 1981); 25°C para *Impatiens wallerana* (FRETT & PILL, 1989); 20° a 25°C para amendoim (FU *et alii*, 1988); 15° a 25°C para alface (GUEDES & CANTLIFFE, 1980) e assim por diante. Para feijão, PANDEY (1988 e 1989) encontrou bons resultados a 25°C.

Temperaturas mais elevadas tem apresentado resultados surpreendentes, como os de KHAN *et alii* (1973) decorrentes da aplicação de estresses em sementes de algodão a 50°C, 60°C, 70°C, 80°C e 90°C por 24 e 48 horas. Não só a germinação e a emergência, a velocidade de emergência, número de flores, de maçãs por planta foi maior, como nos tratamentos de 60°C e 70°C a produção por planta aumentou em mais de 100%.

O estado de deterioração determinado pelo tempo de armazenamento pode ser recuperado pelo condicionamento. PANDEY (1988) embebeu sementes de feijão com 0, 1, 2, 3 e 4 anos, sobre papel, limitando o potencial mátrico e secando-as posteriormente. As evidências de regeneração das membranas, manifestadas pela exsudação de substâncias absorventes à luz ultravioleta (264nm), condutividade elétrica, germinação e crescimento das plântulas, indicaram recuperação progressiva, atingindo o máximo nas sementes com 2 anos, diminuindo com 3 anos. Não houve recuperação daquelas com 4 anos, pois estavam mortas. A recuperação atingia níveis de qualidade semelhantes às sementes novas; pondera o autor que há um estado crítico de deterioração para o qual o reparo é possível e diminui progressivamente até a morte das sementes; portanto o reparo depende do

estado de deterioração das sementes e a possibilidade de recuperação diminui quando a semente passa de um estado crítico, possivelmente devido à perda de integridade das membranas, a um ponto tal que não suporte mais um reparo metabólico. Neste sentido concordam diversos autores (PERL & FEDER, 1981; GOLDWORTHY *et alii*, 1982; WOODSTOCK & TAYLORSON, 1983; BURGASS & POWELL, 1984; SAVINO *et alii*, 1987; CHOUDHURI & BASU, 1988; EIRA, 1988; HUANG, 1989; PANDEY, 1989), que encontraram melhores respostas nas sementes mais deterioradas, evidentemente não testaram o extremo como fez PANDEY (1988). Estes resultados concordam com o proposto por HEGARTY (1977). MATTHEWS & POWELL (1986), no entanto, afirmam que não há retôrno econômico em sementes de baixo vigor, são inviáveis porque tem poucos benefícios. PASSAM *et alii* (1989) concluíram que o condicionamento de sementes para uso comercial é limitado aos seus efeitos na germinação e no crescimento inicial da plântula.

Nessa mesma linha de raciocínio, a recuperação tem sido obtida anulando os efeitos do envelhecimento acelerado (HUANG, 1989; PANDEY, 1989).

A hidratação, quando muito rápida, causa prejuízos à semente, ocasionando morte das células superficiais e maior perda de eletrólitos e de outras substâncias, conforme inúmeros autores, entre eles POWELL & MATHEWS (1978) e WOODSTOCK & TAO (1981). A explicação para este fato encontra-se nas hipóteses abordadas no item 2.4.3. O período de minutos de imersão já é suficiente para causar danos e morte das células superficiais nas sementes (WOODSTOCK & TAO, 1981). A velocidade de embebição depende da temperatura e do potencial osmótico (TADMOR *et alii*, 1969). TILDEN & WEST (1985) demonstraram que diminuído-se a taxa de embebição pelo potencial mátrico evitavam-se os danos na germinação e impedia-se também a perda de eletrólitos. Resultados semelhantes foram obtidos por exemplo, com o uso de soluções

osmóticas com polietileno, glicol, com sementes de soja (WOODSTOCK & TAYLORSON 1981) e com embriões excisados de soja (WOODSTOCK & TAO, 1981).

2.4.5. Efeitos do condicionamento:

Os efeitos dos tratamentos não são muito diferentes dos citados por KIDD & WEST em 1919 e por MAY & MILTHORPE (1962), mas agora sabe-se mais dos efeitos dos sais no meio de embebição (HEGARTY, 1978), discutem-se hipóteses relacionadas a membranas e há maior relação de espécies testadas.

Nas revisões realizadas por KHAN *et alii* (1980/81) e por BRADFORD (1986), os efeitos mais frequentes encontrados como resultado do condicionamento de sementes foram: maior uniformidade e sincronização na germinação e desenvolvimento das plântulas, maior produção, melhor emergência de plântulas em solos com baixa umidade, aumento do peso da matéria seca das plântulas em condições de baixa temperatura, maior emergência em casa de vegetação, aumento do peso da matéria verde, aceleração da emergência decorrente de sementes danificadas pelo calor, melhor germinação em campo com baixa temperatura, melhor estande, melhor germinação em alta temperatura, melhor taxa de crescimento da parte aérea e raízes, maior rapidez no amadurecimento, aumento do retorno financeiro devido à maior rotatividade em casas de vegetação e viveiros e melhores chances de sobrevivência das plântulas em condições de deficiência de água.

Alguns resultados na literatura chamam a atenção, seja pela frequência com que se repetem, seja pela originalidade, seja pela magnitude dos resultados, outros pela confirmação com outras espécies e variações na metodologia.

PALEVITCH *et alii* (1980/81) obtiveram melhoria de emergência com duas espécies medicinais com o condicionamento apenas com alta umidade relativa do ar. PERL & FEDER (1987) também usaram a umidade do ar para hidratar sementes de pimenta e obtiveram melhoria no vigor; e mais, essa melhoria não era perdida pelo menos num prazo de 2 meses quando secadas outra vez ao nível inicial.

SILVA (1989) trabalhou com sementes de milho variando pressão osmótica e tempo de 1 a 5 dias e concluiu que há alguma vantagem no condicionamento. SHIOGA (1990), trabalhando com sementes de feijão em potenciais osmóticos de -4 a -16 bars, também encontrou essa vantagem. Verificou que a velocidade de hidratação das sementes é inversamente proporcional ao potencial osmótico da solução de embebição e que o teor mínimo de água para a emergência da raiz primária é 45 a 50%.

Embora se saiba que as sementes ortodoxas conservam-se melhor quando armazenadas em ambiente frio e seco (CHIN, 1988), este fato foi contestado por VILLIERS & EDGEUMBE (1975). Um breve umedecimento consegue atrasar a deterioração natural decorrente do armazenamento. Consiste em uma breve imersão em água ou em solução de sais ou outro meio que poderia anular o envelhecimento decorrente do armazenamento em condições normais (SAHA & BASU, 1981). Tal fato tem sido atribuído à recuperação das membranas celulares (BROCKLENHURST *et alii*, 1987). Já foi testado com trigo, cebola, arroz, juta, alface e cenoura (BASU & DAS GUPTA, 1974; DAS GUPTA & BASU, 1975; HEYDECKER & COOLBEAR, 1977; WARD & POWELL, 1983; PAN & BASU, 1985; CHOUDHURI & BASU, 1988).

Dependendo da variável que é avaliada, o condicionamento apresenta resultados positivos menos ou mais

frequentes. O aumento da velocidade média de germinação aparece citada por HEYDECKER (1973/74). GEORGIU *et alii*, 1982; BURGASS & POWELL, 1984; ALBERNETHY, 1987; BROCKLENHURST *et alii*, 1987; VALDES & BRADFORD, 1987; ALVARADO & BRADFORD, 1988; PANDEY, 1988; TAYLOR, 1988; HUANG & ZOU, 1989; BRADFORD *et alii*, 1990; DELL'AQUILA & TRITTO, 1990; WEGES & KARSSSEN, 1990; A velocidade de emergência das plântulas também é muito relatada (BURGASS & POWELL, 1984; BROCKLENHRUST *et alii*, 1987; PANDEY *et alii*, 1988; PASSAM *et alii*, 1989. HUANG & ZOU, 1989; MUHYADDIN & WIEBE, 1989; BRADFORD *et alii*, 1990).

O aumento da produção, manifestada pelo peso da matéria seca das plântulas, foi citado por SAXENA & SING (1987), TAYLOR & SING (1987), TAYLOR *et alii* (1988); o aumento do peso da matéria verde e comprimento do hipocótilo também por SAXENA & SING, (1987); o aumento da porcentagem total de germinação por SAXENA & SING (1987), HUANG & ZOU (1989) e HUANG, (1989).

O aumento do nível de tolerância a estresses foi encontrado por KNYPL & KARSSSEN (1981), BODSWORTH & BEWLEY (1981), ADEGBUYI *et alii* (1981), RAO *et alii* (1987); com germinação mais rápida em temperaturas mais baixas que a ótima. O aumento da germinação total (LEVITT & HAMM, 1943; RAO *et alii*, 1987) e melhor estande nessas temperaturas (RAO *et alii*, 1987 e HUANG 1989); melhores respostas em estresses de déficit hídrico (HUANG & ZOU, 1989); germinação mais rápida em temperaturas desfavoráveis - acima do ótimo (GUEDES & CANTLIFFE, 1980); e melhor produtividade, melhores respostas em estresse salino e melhor produtividade (MUYADDIN & WIEBE, 1989); e aumento do peso da planta (BROCKLENHURST *et alii*, 1987).

Por outro lado, vários pesquisadores não encontraram respostas quanto a germinação total (ADEGBUYI *et*

alii, 1981; ALVARADO & BRADFORD, 1988; BRADFORD *et alii*, 1990; DELL'AQUILA & TRITTO, 1990) ou na produção total (PASSAM *et alii*, 1989).

As respostas ao condicionamento foram consideradas melhores em sementes pequenas ou com embriões pequenos por MUCHENA & GROGAM (1977) e MUHYIADDIN & WIEBBE (1989).

É visível que a dessecação natural ou imposta desempenha um importante papel no "desligamento" das sementes do seu modo de desenvolvimento para outro que é essencial para promover a germinação. A secagem redireciona o metabolismo do programa de desenvolvimento para o programa de germinação. Este desligamento é permanente e irreversível, mas não pode ocorrer em qualquer fase da maturação, a semente tem que primeiro adquirir a competência para resistir ao tratamento de secagem (KERMODE *et alii*, 1986).

As sementes suportam a secagem posterior ao condicionamento como constataram KNYPL & KHAN (1981), PERL & FEDER (1981), GEORGIOU *et alii* (1982), BROCKLENHURST & DEARMAN (1983) BURGASS & POWELL (1984) BROCKLENHURST *et alii* (1987), VALDES & BRADFORD (1987); e com papel importante no endurecimento (A-AS-SAQI & CORLETO, 1978). ALVARADO & BRADFORD (1988) e ALGERICH *et alii* (1989) encontraram resultados semelhantes quando as sementes de tomate foram condicionadas, secas e armazenadas a 18°C, mas quando armazenadas a 30°C deterioraram-se mais rapidamente. A secagem posterior ao condicionamento apresentou-se como prejudicial para WEGES & KARSSSEN (1990) HUANG & ZOU (1989), CHOWDHURY & CHOUDHURI (1987), BODSWORTH & BEWLEY (1984) BROCKLENHURST & DEARMAN (1983). Em outros casos, no entanto, a secagem causou melhores resultados: SAVINO *et alii* (1979), HEPPELY & SINCLAIR (1977), GUEDES & CANTLIFFE (1980). ELLIS *et alii* (1990) constataram que a porcentagem

de germinação das sementes de ervilha diminuiu de 94% para 50% quando foram secas de 14,8% para 3,7%, mas o dano da secagem era evitado se o teor de água fosse aumentado por umidificação antes do teste de laboratório.

O tratamento osmótico altera o padrão de respostas de algumas espécies ou variedades à luz, como alface (KARSSSEN & WEGES, 1987) e tomate (GEORGHIOU *et alii* 1982); feijão (LOPES & TAKAKI, 1987) e *Pinus halepensis* e *Pinus brutia* (THANOS & SKORDILIS, 1987) quando condicionadas com polietileno glicol, tornando-se fotossensíveis. Esta sensibilidade induzida pelo tratamento osmótico é dependente da temperatura (GUARDIA *et alii*, 1987). Sementes de alface, quando pré-embebidas, superam a termodormência (VALDES & BRADFORD, 1987), ou elevam o limite superior de temperatura em que germinam (WEGES & KARSSSEN, 1987; TAYLOR *et alii* 1988), desde que sejam de alta qualidade (PERKINS-VEAZIE & CANTLIFFE, 1984). A necessidade de temperaturas alternadas para *Dactylis glomerata* L. também pode ser removida pelo tratamento de pre-hidratação (CHAIGHT & GRABE, 1972). A membrana é provavelmente a sede do fitocromo (KARSSSEN, 1980/81; THANOS & SKORDILIS, 1987) ou está envolvida com sua ação (EVENARI, 1980/81).

O uso de sais não tem sido frequente como agente osmótico, revelando efeito tóxico para UVITHS (1946); BAL & CHATTOPADHYAY (1985) e CAMPOS & ASSUNÇÃO (1990). SALIM & TODD (1968) testaram 9 produtos diferentes em trigo e cevada e concluíram que na maioria dos tratamentos, ou não causou o efeito do "endurecimento" esperado, ou foram indesejáveis. Os tratamentos não podem ser generalizados pois dependem do tratamento em si e do genótipo utilizado. Para LEVITT & HAMM (1943) houve influência da temperatura, mas não houve do pH da solução, da natureza do soluto (se lavado antes), nem da presença ou ausência de luz.

2.4.6. Parâmetros utilizados para avaliar os efeitos.

a) Diretos: Os parâmetros utilizados diretamente para avaliar os efeitos do condicionamento podem ser óticos e fisiológicos. Os óticos são restritos aos limites da microscopia, objetivando obter evidências nas estruturas das organelas e membranas celulares, como foi utilizado por WEBSTER & LEOPOLD (1977), por exemplo.

Outra maneira de se avaliar os efeitos do condicionamento é se mensurar o parâmetro em que objetiva melhorias. Neste sentido tem-se acompanhado a viabilidade das sementes expressa pela porcentagem de germinação, o vigor expresso pela velocidade de germinação, velocidade de emergência, resistência ao envelhecimento acelerado, a estresses de temperatura, umidade, soluções ou solos salinos, acidez, ao armazenamento; pelo monitoramento de enzimas associadas ao vigor, pela maior ou mais rápido crescimento das plântulas ou de suas partes, pela maior ou melhor produção das plantas (KHAN *et alii*, 1976; HEYDECKER *et alii*, 1973; HEYDECKER & COOLBEAR, 1977; MAY & MILTHORPE, 1962; HEGARTY, 1978; ABDUL-BAKI & BAKER, 1973).

b) Indiretos: Os parâmetros indiretos mais utilizados para avaliar os resultados do condicionamento das sementes estão associados com a permeabilidade total ou seletiva das membranas. O método mais frequente é a dosagem de substâncias exsudadas ou lixiviadas das células nas primeiras horas de embebição. Dosa-se na água em que as sementes são imersas, após períodos variáveis, a condutividade elétrica (eletrólitos), o teor de potássio, de açúcares, aminoácidos, sódio e cálcio (HENDRICKS & TAYLORSON, 1976; SAXENA & SING, 1987; DEY(PATHAK) & MUKHRJEE, 1988; GRANQUIST, 1987; SAHA *et alii*, 1990).

Tem-se monitorado a ação de enzimas como

deshidrogenases, amilasse α e β e também a peroxidação dos lipídios indiretamente pela quantificação de aldeídos (SAHA *et alii*, 1990; OLIVEIRA, 1990).

Assim, embora venha sendo muito pesquisado tanto o condicionamento de sementes, como as membranas celulares, só nos anos mais recentes têm-se feito a associação entre o condicionamento e a permeabilidade das membranas e seus efeitos fisiológicos em espécies de ciclo curto e sementes grandes como *Phaseolus vulgaris* L.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho que teve por objetivo estudar o comportamento das sementes de feijão submetidas ao condicionamento fisiológico e secagem subsequente, compôs-se de dois ensaios; o primeiro, no período de agosto a novembro de 1990 e, o segundo em janeiro a fevereiro de 1991, os quais foram conduzidos no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Agricultura e no Laboratório de Fitopatologia, da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" em Piracicaba, e nas dependências do Departamento de Botânica da Universidade Estadual Paulista - Campus de Rio Claro - São Paulo - Brasil.

3.1. Caracterização das sementes

Amostras de 20 quilogramas de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L) das cultivares Carioca (lote A) e IAPAR 16 (lote B), foram fornecidas pelo Instituto de Pesquisa Agropecuária do Paraná (IAPAR), da classe sementes básicas para utilização neste trabalho. Colhidas em fevereiro de 1988, foram armazenados em câmara fria e seca (10°C e 30% de UR ar) até serem transferidos para o local dos ensaios em agosto de 1990. Desta data até o final da fase experimental, foram mantidas em câmara seca com umidade relativa do ar em torno de 45 a 50%.

As amostras dos lotes foram peneiradas removendo-se pedras, fragmentos de sementes, sementes muito danificadas e excesso de inseticida (malathion), após o que foram homogeneizadas em aparelho elétrico, centrífugo modelo Gamet. Com esse mesmo aparelho, obtiveram-se as amostras para o condicionamento e as destinadas aos testes de caracterização, quanto à pureza física, teor de água, danos mecânicos, sanidade, viabilidade pelo teste de tetrazólio, germinação e emergência das plântulas.

Os resultados dos testes de caracterização das sementes das Cultivares Carioca e IAPAR 16, constam da TABELA 1.

A determinação da pureza física foi feita de acordo com o que consta nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1980).

O teor de água foi calculado na base úmida, mediante 4 repetições, usando-se o método da estufa por 24 horas a $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$, baseado na Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1980).

A determinação dos danos mecânicos foi feita em 4 repetições de 100 sementes separando-se as sementes danificadas por exame a olho desarmado (dano visível). As demais sementes foram imersas em hipoclorito de sódio com 2% de cloro ativo por 5 minutos, baseado em MARCOS FILHO *et alii* (1987). Após esse tempo de imersão, a solução de hipoclorito foi drenada e as sementes examinadas, separando-se e contando-se as danificadas, não percebidas pelo método anterior. O total de danos mecânicos representa a soma dos danos visíveis mais os danos detectados com auxílio do hipoclorito. O resultado expressa a porcentagem média das quatro repetições estudadas.

TABELA 1: Caracterização das sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L) das cultivares Carioca (lote A) e IAPAR 16 (lote B), da classe de sementes básicas, fornecidas pelo IAPAR.

	Lote A (Carioca)	Lote B (IAPAR 16)
Pureza física	99,9%	99,8%
Teor de água	11,8%	11,9%
Danos mecânicos:		
visíveis	3,5%	0,75%
hipoclorito	11,0%	5,25%
total	14,5%	6,0%
Sanidade:		
<i>Penicillium</i> spp	28,5%	39,0%
<i>Aspergillus</i> spp	9,0%	23,0%
<i>Alternaria</i> sp	0,5%	0,0%
<i>Fusarium</i> spp	2,0%	0,5%
Teste de tetrazólio: ⁽¹⁾		
vigorosas (1-3):	59,5% (0)	54,0% (0)
viáveis (4-5):	23,0% (6,5%)	30,0% (13,5%)
total de viáveis	82,5% (6,5%)	84,0% (13,5%)
não viáveis	17,5% (17,0)	17,0 (12,5%)
Germinação	68%	75%
Emergência	84%	83%

⁽¹⁾ Os números entre parêntesis no teste de tetrazólio referem-se a porcentagem de sementes com danos mecânicos.

A sanidade das sementes de ambos os lotes foi determinada segundo MENTEN (1988), pelo teste de papel de filtro, a 20°C por 7 dias sem congelamento. Usaram-se 20 repetições de 10 sementes. Os resultados foram expressos em porcentagem média das sementes com ocorrência de patógenos.

O teste de tetrazólio foi feito mediante 4 repetições de 100 sementes de cada lote. As sementes foram colocadas para embeber por 16 horas a 20°C em papel úmedecido e depois imersas por 3 horas a 30°C em solução 0,2% de 2,3,5, trifenilcloreto de tetrazólio. As sementes foram classificadas de acordo com os critérios de extensão, localização e intensidade da coloração em 8 classes, sendo de 1 a 5 viáveis, e de 6 a 8 não viáveis. Para efeito de vigor consideraram-se aquelas das classes 1 a 3, identificando-se os danos mecânicos em cada grupo de classes.

A determinação da porcentagem de germinação foi feita seguindo-se o estabelecido nas Regras para Análise de Sementes, a 25°C com 4 repetições.

A porcentagem de emergência foi feita simultaneamente com os tratamentos, em caixas plásticas de 42 x 28 x 7 cm, tendo como substrato uma mistura de solo/areia, na proporção de 1:3, em 4 repetições de 2 x 100 sementes. As contagens foram feitas no 3.º e 14.º dias.

3.2. Primeiro ensaio.

No primeiro ensaio foi estudado o comportamento das sementes de feijão cultivares Carioca e IAPAR 16 submetidas a três níveis de hidratação e três níveis de pressão osmótica.

Seiscentas sementes de cada lote, de cada tratamento, por repetição, foram colocadas em caixas plásticas medindo 25 x 20 x 8 cm, entre folhas de papel toalha (germitest) embebidas com as soluções de polietileno glicol, com diferentes concentrações, em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso das sementes. As diferentes

velocidades de embebição em solução de pressão osmótica de 0,0 bar (água destilada), -7,0 bars e -14,0 bars, foram obtidas mediante a dissolução de Polietileno glicol (peso molecular aproximado 6.000 - PEG 6.000) em água segundo indicações de MICHEL & KAUFMANN (1973) e de VILLELA *et alii* (s/d). As sementes foram mantidas a 25°C por períodos de tempo variáveis até atingirem os graus de umidade de 20, 25 e 30%.

Após a pesagem inicial das 600 sementes por caixa, o monitoramento da embebição foi feito pela pesagem periódica do conjunto, com reposição proporcional das soluções à medida em que as sementes atingiam 20 e 25% de água.

As sementes, ao atingirem os níveis de umidade previstos em cada pressão osmótica, foram espalhadas sobre bandejas plásticas, em camada única, e colocadas para secar em câmara com umidade relativa do ar de 45- 50%, até o término do ensaio.

Os tratamentos no primeiro ensaio, por lote, estão discriminados em seguida.

Pressão osmótica	nível de hidratação
0 bar	20%
0 bar	25%
0 bar	30%
-7 bar	20%
-7 bar	25%
-7 bar	30%
-14 bar	20%
-14 bar	25%
-14 bar	30%
testemunha (sem nenhum condicionamento).	

Após a secagem, as sementes foram submetidas às

seguintes determinações:

a) Condutividade elétrica - duas repetições de 25 sementes por tratamento foram imersas em água destilada e levadas a um germinador regulado a temperatura de 20°C por 24 horas, conforme MARCOS FILHO *et alii* (1987). A seguir, as amostras foram agitadas suavemente e a condutividade da solução medida em um condutivímetro da marca Digimed CD-20. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mhos/g/cm}$.

b) Teor de Potássio: foi determinado na água de embebição usada no teste anterior, ou seja, após imersão por 24 horas a 20°C, e, da mesma forma, 2 leituras para cada repetição de tratamento. A leitura foi feita em fotômetro de chama Digimed NK 2004 e os resultados foram expressos em ppm da solução.

c) Teor de açúcares totais: foi determinado na água de embebição usada nos dois testes anteriores, igualmente com duas repetições. Uma alíquota da solução foi retirada e aplicou-se o método conhecido como fenol-sulfúrico, descrito por DUBOIS *et alii* (1956), que consiste basicamente na quantificação dos açúcares com fenol, auxiliada pela adição de ácido sulfúrico e comparação da coloração obtida nas amostras com uma curva padrão de glicose. A leitura da absorbância foi feita com o auxílio de um espectofotômetro atuando na faixa de 490 nm. Os resultados, após corrigidos por uma curva padrão de glicose, foram expressos em microgramas de açúcar por mililitro.

d) Germinação: Conduzida com 50 sementes por rolo de papel toalha, a temperatura constante de 25°C, sendo que 4 rolos representavam uma repetição de tratamento. A avaliação foi feita segundo as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1980).

e) Emergência das plântulas: Obtida em ambiente de

laboratório, usando-se como substrato uma mistura de areia e solo na proporção de 3:1. Esta mistura foi colocada em caixas plásticas com dimensões de 42 x 28 x 7 cm, com duas divisões iguais até a altura de 5 cm onde foram colocadas as sementes. Após a distribuição de 100 sementes em cada divisão, as mesmas foram cobertas com uma camada de 2 cm de substrato e, a seguir, adicionou-se água até atingir 60% da capacidade de campo. A partir de 3 dias foi feita a contagem e a retirada das plântulas normais emergidas até o 14º dia. A soma diária de todas as plântulas representou a emergência total. Cada repetição de tratamento foi resultante da porcentagem média das duas repetições em cada caixa.

f) Velocidade de emergência: determinada através da contagem diária do número de plântulas normais emergidas. O índice de velocidade de emergência foi determinado pelo somatório da razão entre o número de plântulas normais retiradas a cada dia e o número de dias correspondente após o início do teste.

$$VG = \sum (G_t / t)$$

onde: VG= velocidade de emergência

G_t = Número de plântulas emergidas no intervalo t

t= tempo após a instalação do teste

A análise estatística dos dados foi realizada no Sistema de Análise Estatística para Microcomputadores - SANEST (ZONTA *et alii*, 1984), separadamente para cada parâmetro (germinação a 25°C, , porcentagem e velocidade de emergência, condutividade elétrica, teor de potássio, teor de açúcares), para cada lote (lote A e lote B).

Os dados dos testes de germinação, de porcentagem e de velocidade de emergência, condutividade elétrica, teor

de potássio e teor de açúcares foram analisados segundo delineamento experimental fatorial 3x3, em blocos casualizados, com 4 repetições. Os dados de germinação e porcentagem de emergência foram transformados em $\arcsen \sqrt{\text{porcentagem}/100}$. A análise de variância foi realizada segundo o esquema mostrado a TABELA 2.

TABELA 2: Esquema da análise da variância dos dados de germinação, porcentagem e velocidade de emergência, condutividade elétrica, teor de potássio e teor de açúcares no 1.º ENSAIO.

Causas da variação	GL
Pressão osmótica (P)	2
Teor de água(T)	2
PxT	4
Blocos	3
Resíduo	24
Total	35

A comparação de médias foi feita pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

A testemunha foi comparada com os tratamentos pelo Teste de Dunnett em esquema inteiramente casualizado, com 10 tratamentos e 4 repetições.

3.3. Segundo Ensaio

No segundo ensaio foi estudado o comportamento de sementes de feijão da cultivar Carioca submetidas a dois níveis de pressão osmótica (-10 e -20 bars) e dois tempos de condicionamento (4 e 7 dias) com e sem secagem subsequente, conforme esquema apresentado a seguir.

PRESSÃO OSMÓTICA	DURAÇÃO	SECAGEM
-10 bars	4 dias	seca
-10 bars	4 dias	não seca
-10 bars	7 dias	seca
-10 bars	7 dias	não seca
-20 bars	4 dias	seca
-20 bars	4 dias	não seca
-20 bars	7 dias	seca
-20 bars	7 dias	não seca
testemunha (sem nenhum condicionamento)		

A preparação das sementes constou de peneiração e seleção, tal como no primeiro ensaio, porém foram tratadas com Thiram 0,2%, (pó seco). O lote de sementes foi homogeneizado e dividido, num divisor de amostras cônico, tipo Boerner, em 36 frações de 650 sementes.

Prepararam-se soluções de polietileno glicol com pressões osmóticas de -10 e -20 bars, seguindo-se as mesmas referências do primeiro ensaio. As sementes foram colocadas em contato com a solução entre papel, em caixas plásticas, a temperatura de 20°C por dois períodos distintos: 4 e 7 dias. Após este tempo metade dos tratamentos foram submetidos à secagem em bandejas metálicas, em camada única, a 45-50 % de

umidade relativa do ar por 7 dias e, a outra metade foi submetida de imediato às determinações. As amostras após a secagem apresentavam umidade semelhante ao teor inicial, anterior ao condicionamento.

Após o condicionamento, as amostras de sementes, secas ou não, foram submetidas às seguintes determinações:

- a) Condutividade elétrica. Utilizou-se a mesma metodologia do primeiro ensaio.
- b) Teor de potássio no exsudato. Utilizou-se a mesma metodologia do primeiro ensaio.
- c) Germinação a 25°C constante. Cada repetição estatística constou de 4 rolos de papel toalha com 50 sementes cada. As leituras e interpretações foram feitas segundo as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1980).
- d) Germinação a temperatura subótima (17°C). Cada repetição estatística constou de 4 rolos de papel toalha com 50 sementes cada. As leituras e interpretações foram feitas segundo as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1980).
- e) Emergência total. Utilizou-se procedimento idêntico ao do primeiro ensaio.

No segundo ensaio, a análise estatística dos dados seguiu, em geral, o descrito para o primeiro ensaio. O delineamento experimental foi blocos ao acaso, em esquema fatorial $2 \times 2 \times 2$, com 4 repetições. A análise de variância foi realizada segundo o esquema constante da TABELA 3.

TABELA 3: Esquema da análise da variância dos dados dos testes de germinação, germinação em temperatura subótima (17°C), porcentagem de emergência, condutividade elétrica e teor de potássio, do segundo ensaio.

Causas da variação	GL
Pressão osmótica (P)	1
Duração (T)	1
Secagem(S)	1
P x T	1
P x S	1
T x S	1
P x T x S	1
Blocos	3
Resíduo	21
Total	31

Os dados dos testes de germinação, germinação em temperatura subótima e emergência total, foram transformados em $\text{arc sen } \sqrt{\text{porcentagem}/100}$.

A comparação de médias foi feita pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. A testemunha foi comparada com os tratamentos pelo Teste de Dunnett em esquema inteiramente casualizado, com 9 tratamentos e 4 repetições.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Embora os dados obtidos nos testes de germinação e de emergência tenham sido transformados para a realização da análise estatística, os resultados foram apresentados por meio de médias dos dados originais, com a finalidade de facilitar a visualização e a interpretação dos parâmetros avaliados.

PRIMEIRO ENSAIO

Na TABELA 4 encontram-se os resultados da análise de variância representados pelos valores do Teste F, de todas as variáveis utilizadas para avaliar o desempenho das sementes de feijão estudados no primeiro ensaio. Nota-se que aqueles que refletem a qualidade fisiológica como germinação, porcentagem e velocidade de emergência foram menos sensíveis ou não detectaram diferenças entre os tratamentos e suas interações. Os parâmetros que refletem a permeabilidade das membranas - condutividade elétrica, teor de açúcares e teor de potássio mostraram maior sensibilidade aos tratamentos, sendo a variável umidade a que determinou maior influência. Embora com a mesma tendência, o comportamento dos dois lotes foram diferentes nos vários parâmetros.

TABELA 4: Primeiro ensaio - Resumo da análise da variância (Teste F) referente as determinações para a avaliação do desempenho de sementes de feijão cultivar Carioca (lote A) e IAPAR 16 (lote B).

Causas da variação	Germinação	Emergência total	Velocidade de emergência	Condutividade elétrica	Teor de potássio	Teor de açúcares
LOTE A						
Pressão	0,6208	2,7277	3,3196*	0,9984	1,2154	1,6628
Umidade	2,8743	0,6660	0,6677	9,5765**	3,4426*	6,9551**
Pressão x Umidade	2,2354	1,5978	1,5480	0,1725	0,8944	0,2705
LOTE B						
Pressão	1,1779	0,2422	0,3294	0,2804	1,1187	1,1602
Umidade	2,0406	0,1302	0,0360	13,888**	2,8700	2,1576
Pressão x Umidade	2,8109	1,3144	1,1818	0,2857	0,6909	0,2258

* = significativo ao nível de 5% de probabilidade

** = significativo ao nível de 1% de probabilidade

Na TABELA 5 encontra-se a comparação das médias obtidas nos testes de germinação, porcentagem e velocidade de emergência, condutividade elétrica, teor de potássio e concentração de açúcares na solução de exsudato de sementes de feijão, dos tratamentos resultantes de três níveis de hidratação (20%, 25% e 30%) e três pressões osmóticas (0, -7 e -14 bars) com a testemunha pelo teste de Dunnett, para os lotes A e B.

Tabela 5: Primeiro Ensaio - Teste de Dunnett: Comparação entre as médias referentes aos tratamentos resultantes de três níveis de hidratação (20%, 25% e 30%) e três pressões osmóticas (0, -7 e -14 bars) com a testemunha para os lotes A e B.

GERMINAÇÃO (%)			
Tratamentos	lote A	Tratamentos	lote B
testemunha	67,75	testemunha	75,21
-14 bars, 25%	79,69		
-7 bars, 25%	67,93	-7 bars, 25%	74,25
		-7 bars, 20%	73,49
-7 bars, 30%	67,58	0 bar, 30%	69,69
-7 bars, 20%	67,35	-14 bars, 20%	69,31
0 bar, 20%	66,27	0 bars, 25%	68,64
0 bar, 25%	65,54	-14 bars, 25%	66,77
-14 bars, 20%	64,51	-14 bars, 30%	65,76
0 bars, 30%	63,27	0 bar, 20%	65,56
-14 bars, 30%	60,31	-7 bars, 30%	62,80**

PORCENTAGEM DE EMERGÊNCIA			
Tratamentos	lote A	Tratamentos	lote B
testemunha	84,70	testemunha	83,24
-7 bars, 30%	86,53	-14 bars, 20%	84,68
		-7 bars, 30%	83,53
-14 bars, 25%	82,82	0 bar, 30%	82,60
-14 bars, 20%	82,72	0 bar, 25%	82,43
-7 bars, 20%	82,56	-7 bars, 25%	82,14
0 bar, 30%	80,74	-7 bars, 20%	80,79
-7 bars, 25%	80,40	-14 bars, 25%	80,46
-14 bars, 30%	80,06	-14 bars, 30%	79,36
0 bar, 20%	79,16	0 bar, 20%	76,55
0 bar, 25%	79,00		

continua

* = difere da testemunha ao nível de 5% de probabilidade.

continuação

VELOCIDADE DE EMERGÊNCIA (índice)

Tratamentos	lote A	Tratamentos	lote B
testemunha	19,849	testemunha	19,212
-7 bars, 30%	20,378	-14 bars, 20%	19,797
-14 bars, 20%	19,407	-7 bars, 30%	19,534
-14 bars, 25%	19,348	0 bar, 30%	19,333
-7 bars, 20%	19,112	-7 bars, 25%	19,194
-7 bars, 25%	18,899	-7 bars, 20%	18,860
0 bar, 30%	18,685	-14 bars, 25%	18,849
-14 bars, 30%	18,632	0 bar, 25%	18,750
-0 bar, 20%	18,570	-14 bars, 30%	18,329
0 bar, 25%	18,033*	0 bar, 20%	18,243

CONDUTIVIDADE ELÉTRICA ($\mu\text{mh}\ddot{o}s/\text{g}/\text{cm}$)

Tratamentos	lote A	Tratamentos	lote B
testemunha	1.662	testemunha	1.860
-14bars, 25%	1.657	-14bars, 25%	1.847
-7 bars, 25%	1.624	-7 bars, 20%	1.824
-7 bars, 20%	1.622	-7 bars, 25%	1.822
-14bars, 20%	1.615	0 bar, 20%	1.806
0 bar, 20%	1.605	0 bar, 25%	1.800
0 bar, 25%	1.593	-14bars, 20%	1.763
-14bars, 30%	1.534*	-7 bars, 30%	1.654*
-7 bars, 30%	1.509*	-14bars, 30%	1.617*
0 bar, 30%	1.484*	0 bar, 30%	1.613*

continua

* = difere da testemunha ao nível de 5% de probabilidade.

continuação

TEOR DE POTASSIO (ppm)

Tratamentos	lote A	Tratamentos	lote B
testemunha	705,50	testemunha	835,00
-14 bars, 20%	722,50	-14 bars, 25%	846,25
-7 bars, 25%	683,75	-7 bars, 20%	836,25
0 bar, 25%	675,00	0 bar, 20%	835,00
-14 bars, 25%	675,00	-14 bars, 20%	831,25
-7 bars, 20%	667,50	-7 bars, 25%	812,50
-7 bars, 30%	663,75	-7 bars, 30%	763,75
0 bar, 20%	647,50	-14 bars, 30%	732,50
-14 bars, 30%	603,75	0 bar, 30%	715,50
0 bar, 30%	566,25	0 bar, 25%	703,75

TEOR DE AÇUCARES (equivalente mg de glicose por alíquota)

Tratamentos	lote A	Tratamentos	lote B
testemunha	4819,39	testemunha	6275,39
0 bar, 20%	5571,39	0 bar, 20%	5939,39
0 bar, 25%	5374,39	-14 bars, 20%	5689,39
-7 bars, 20%	5128,39	0 bar, 25%	5675,39
-14 bars, 20%	5119,39	-14 bars, 25%	5563,39
-7 bars, 25%	4886,39	0 bar, 30%	5517,89
-14 bars, 25%	4884,89	-7 bars, 20%	5481,64
0 bar, 30%	4432,39	-7 bars, 25%	5219,39
-7 bars, 30%	4189,39	-14 bars, 30%	4468,39
-14 bars, 30%	3411,39	-7 bars, 30%	4302,39

* = difere da testemunha ao nível de 5% de probabilidade.

Na TABELA 6 encontram-se as médias originais de germinação, lotes A e B submetidas a hidratação em três ambientes de pressão osmótica e três níveis de teor de água (20% 25% e 30%) comparadas pelo teste Tukey. Esses resultados revelam que este parâmetro não foi sistematicamente afetado pelos tratamentos, não se notando qualquer tendência que se repita em ambos os lotes tanto para as variações de níveis de umidade alcançados no condicionamento ou para as variações das pressões osmóticas praticadas. Na germinação (Lote A), as sementes do tratamento -14 bar e 25% apresentaram maior desempenho (79,7%) do que a testemunha (67,8%) apesar de não diferirem pelo teste de Dunnett.

A interação pressão osmótica x níveis de umidade, apesar de não significativa pelo teste F, mostra significância pelo teste Tukey no lote B tratamento -7 bar, 30% de umidade. As sementes com 30% de umidade, apresentaram menor germinação do que a 20% e a 25% (TABELA 5). Apresentou ainda menor média de germinação que a zero e -14 bars dentro de 30%. Sendo um caso isolado, sem lógica aparente, o bom senso indica que deva ser considerado como casual. Não houve diferenças desses tratamentos com a testemunha quando comparados pelo teste de Dunnett (TABELA 5) no lote A, e cabe destacar que no lote B todos os tratamentos foram piores que a testemunha.

TABELA 6: Primeiro Ensaio - Médias originais de germinação (%) das sementes de feijão, lotes A e B, a 25°C, hidratadas em três ambientes de pressão osmótica (0, -7 e -14 bars) e três teores de umidade (20%, 25% e 30%).

Pressão osmótica (bars)	níveis de umidade			médias
	20%	25%	30%	
LOTE A				
0	66,27aA	65,54aA	63,27aA	65,03a
-7	67,35aA	67,93aA	67,58aA	67,62a
-14	64,51aA	79,69aA	60,31aA	68,52a
médias	66,75A	71,28A	63,75A	

Coeficiente de variação 8,79%

LOTE B				
0	65,56aA	68,64aA	69,69aA	67,98a
-7	73,49aA	74,25aA	62,80bA	70,30a
-14	69,31aA	66,77aAB	65,76aB	67,29a
médias	69,50A	69,94A	66,11A	

Coeficiente de variação = 5,58%

As médias seguidas da mesma letra - maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas - não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 7: Primeiro Ensaio - Médias originais da porcentagem de emergência das plântulas de feijão, em solo/areia, lotes A e B, a 25°C, hidratadas em três ambientes de pressão osmótica (0, -7 e -14 bars) e três níveis de teor de água (20%, 25% e 30%).

Pressão osmótica (bars)	níveis de umidade			médias
	20%	25%	30%	
LOTE A				
0	79,16aA	79,00aA	80,74aA	79,64a
-7	82,56aA	80,40aA	86,53aA	83,24a
-14	82,72aA	82,82aA	80,06aA	81,89a
médias	81,51A	80,77A	82,55A	
Coeficiente de variação = 4,35%				
LOTE B				
0	76,55aA	82,43aA	82,60aA	80,60a
-7	80,79aA	82,14aA	83,53aA	82,17a
-14	84,68aA	80,46aA	79,36aA	81,56a
médias	80,78A	81,69A	81,87A	
Coeficiente de variação 6,33%				

As médias seguidas da mesma letra - maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas - não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

As médias originais de emergência total em solo/areia, decorrentes da hidratação em três ambientes de pressão osmótica e três níveis de umidade, expressos em porcentagem, e comparadas pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade estão representadas na TABELA 7. Tal como a germinação, não foi afetada significativamente pelos tratamentos em ambos os lotes testados. A comparação das médias dos tratamentos com a média da testemunha também não apresentou diferença significativa (TABELA 5).

A velocidade de emergência (TABELA 8), não acusou diferença alguma no lote B. No lote A, as médias dos níveis de umidade não diferiram estatisticamente, mas houve diferença quanto a pressão osmótica. Quando as sementes do lote A foram hidratadas a -7 bars e -14 bars, originaram plântulas com maior rapidez do que a zero bar, embora as sementes hidratadas a -14 bars não diferissem das hidratadas a -7 bars e a zero bars.

TABELA 8: Primeiro Ensaio - Médias originais do índice de velocidade de emergência das plântulas de feijão, em solo/areia, lotes A e B, a 25°C, hidratadas em três ambientes de pressão osmótica (0, -7 e -14 bars) e três níveis de umidade (20%, 25% e 30%).

Pressão osmótica (bars)	níveis de umidade			médias
	20%	25%	30%	
LOTE A				
0	18,570aA	18,033aA	18,685aA	18,429b
-7	19,112aA	18,899aA	20,378aA	19,463a
-14	19,407aA	19,348aA	18,632aA	19,129ab
médias	19,030A	18,760A	19,231A	
Coeficiente de variação 5,27%				
LOTE B				
0	18,243aA	18,750aA	19,333aA	18,775a
-7	19,196aA	19,194aA	19,534aA	19,196a
-14	18,992aA	18,849aA	18,329aA	18,992a
médias	18,967A	18,931A	19,065A	
Coeficiente de variação 6,68%				

As médias seguidas da mesma letra - maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas - não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Quando se comparam os tratamentos com a testemunha (TABELA 5) no lote A e se for observada a ordenação decrescente das médias, nota-se que os tratamentos que combinavam 0 bar de pressão osmótica, foram os que apresentavam os menores valores.

O desempenho inesperadamente baixo do tratamento -14 bars e 30% de teor de água no lote A pode ser explicado pela ocorrência de fungos de armazenamento, favorecida pelo maior tempo em condições favoráveis ao seu desenvolvimento, uma vez que nessa etapa não houve tratamento preventivo às sementes com fungicida.

A diferença de desempenho entre os 2 lotes (A e B) talvez possa encontrar explicação na maior espessura de tegumento da variedade IAPAR 16 que constituiu o lote B, uma vez que possuem um histórico semelhante. Esse estudo no entanto não foi aprofundado nesse sentido.

Na TABELA 9 encontram-se as médias da condutividade elétrica do exsudato das sementes submetidas a hidratação em três níveis de umidade e três ambientes de pressão osmótica. Este parâmetro foi o mais sensível ao efeito dos tratamentos, apresentando os maiores valores de F, tanto no lote A como no lote B (TABELA 4).

TABELA 9: Primeiro Ensaio Médias originais de condutividade elétrica em $\mu\text{mh}\Omega$ por grama por cm, na solução de matéria seca, na solução de exsudato das sementes de feijão, lotes A e B, a 25 C, hidratadas em três ambientes de pressão osmótica (0, -7 e -14 bars) e três níveis de umidade (20%, 25% e 30%).

Pressão osmótica (bars)	níveis de umidade			médias
	20%	25%	30%	
LOTE A				
0	1.605aB	1.593aB	1.484aA	1.561a
-7	1.622aB	1.624aB	1.509aA	1.585a
-14	1.615aB	1.657aB	1.534aA	1.602a
médias	1.614B	1.624B	1.509A	
Coeficiente de variação 4,52%				
LOTE B				
0	1.806aB	1.800aB	1.613aA	1.739a
-7	1.824aB	1.822aB	1.654aA	1.767a
-14	1.763aB	1.847aB	1.617aA	1.743a
médias	1.798B	1.823B	1.628A	
Coeficiente de variação 5,62%				

As médias seguidas da mesma letra - maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas - não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

É interessante notar na TABELA 4 que o parâmetro velocidade de emergência - que deve refletir o desempenho fisiológico das sementes - apresenta significância quanto a variável pressão osmótica e os parâmetros condutividade elétrica (lotes A e B), teor de potássio e teor de açúcares (lote A) - que estariam associadas à permeabilidade das membranas apresentam significância apenas para níveis de hidratação. Se essa tendência for generalizada, pode-se pensar que o fator que determina a maior permeabilidade de membrana não é o mesmo que determina a maior velocidade de emergência. Em outras palavras, o nível de hidratação, seguido de secagem determina o comportamento das membranas quanto a sua permeabilidade e não interfere na velocidade de emergência; por outro lado, o nível de hidratação interfere na permeabilidade de membrana, mas não interfere na velocidade de emergência.

A significativa menor permeabilidade das membranas a 30% que a 25 e 20% pode ser analisado sob dois aspectos. Primeiro, como sendo o nível mínimo em que o reparo possa ocorrer efetivamente ou então ocorrer a um ponto tal que suporte a secagem praticada posteriormente. Este nível é maior que o encontrado por vários autores como 15% para alface (IBRAHIM & ROBERTS, 1983) 16% para alface (ROBERTS, 1981) e 20 % para feijão de lima (POLLOCK, 1969) e mesmo acima do nível teórico geral de 20% defendido por SIMON (1974).

Em segundo lugar poderia ter sido influenciado pelo tempo que a semente permaneceu em embebição acima de um teor mínimo. No presente trabalho as sementes para alcançarem teor de água de 20% exigiram um período de aproximadamente 5 a 7 horas; para alcançarem 25% precisaram de 8 a 12 horas e, para atingirem 30% de água, 14:30 horas. Isto significa que as sementes com 30% estiveram mais tempo hidratadas acima de um nível mínimo, que poderia ser 20%.

conferindo com a literatura, verifica-se que o tempo de hidratação necessário para a recuperação das membranas é pequeno, como poucos minutos, para sementes de trigo (GOLDSWORTH *et alii*, 1982) e soja (BRAMLAGE *et alii*, 1981). No entanto para o condicionamento são recomendados períodos mais longos como 4 dias para alface (EIRA, 1988) ou ainda como recomendação geral um período de 4 a 35 dias (KHAN *et alii*, 1980/81). BRAMLAGE (1986) afirma que o teor de água necessário ao condicionamento osmótico está situado no limiar da Fase III de embebição, ou seja da germinação visível, mas a duração é importante, o condicionamento em alface foi efetivo na faixa de 60 a 70% de teor de água em relação ao máximo turgor mas em períodos maiores. O máximo turgor seria alcançado em feijão a 48-50% segundo os dados de SHIOGA (1990). Nestes lotes A e B, constatou-se, nos testes preliminares, a germinação em teores de água mais baixos como 45%. Segundo BRAMLAGE (1986), portanto, os teores - se semelhantes a alface - seriam de 28,7% a 33,6% considerando-se os dados de SHIOGA (1990) e 27 a 31% considerando os dados dos testes preliminares.

Quando os resultados dos tratamentos são comparados com a testemunha pelo teste de Dunnett (TABELA 5) nota-se muito claramente a influência do nível de hidratação. Em ambos os lotes, os 3 tratamentos que tiveram menor condutividade foram os de nível 30%. A testemunha que não sofreu nenhuma hidratação apresentou os valores mais elevados, o que significa que o efeito da hidratação sobre as membranas é benéfico se avaliado por esse parâmetro, e permanece após a secagem.

As médias do teor de potássio na solução de exsudato das sementes submetidas aos tratamentos de hidratação em três ambientes de pressão osmótica e três níveis de umidade constam da TABELA 10. Este parâmetro, embora tenha apresentado significância pelo teste F para o

TABELA 10: Primeiro Ensaio - Médias originais de teor de potássio (ppm) na solução de exsudato de sementes de feijão após embebição por 24 horas a 25°C, lotes A e B, submetidas à tratamentos de hidratação e em três ambientes de pressão osmótica (0, -7 e -14 bars) e três níveis de umidade (20%, 25% e 30%).

Pressão osmótica (bars)	níveis de umidade			médias
	20%	25%	30%	
LOTE A				
0	647,50aA	675,00aA	566,25aA	629,58a
-7	667,50aA	683,75aA	663,75aA	671,66a
-14	722,50aA	675,00aA	603,75aA	667,08a
médias	679,16A	677,91A	611,25A	
Coeficiente de variação 11,05%				
LOTE B				
0	835,00aA	703,75aA	715,00aA	751,25a
-7	836,25aA	812,50aA	763,75aA	804,16a
-14	831,25aA	846,25aA	732,50aA	803,33a
médias	834,16A	787,08A	737,08A	
Coeficiente de variação 12,62%				

As médias seguidas da mesma letra - maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas - não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

lote A não mostrou diferenças significativas na comparação de médias pelo teste Tukey. Apesar disso, pode-se observar que na média as respostas aos tratamentos foram consistentes, apresentando valores progressivamente menores à medida em que se elevou o nível de umidade na hidratação, de tal forma que tanto nas médias dos níveis de umidade, como dentro da mesma pressão osmótica, as médias a 30% de água foram sempre as menores. Isto pode ser entendido como uma evidência da menor permeabilidade das membranas.

Por outro lado, observando-se as médias de pressão osmótica, nota-se a tendência dos tratamentos -7 e -14 bars assumirem valores médios muito próximos, à semelhança do que ocorreu com o parâmetro condutividade elétrica. A variação devida à pressão osmótica foi de menor intensidade que a de níveis de umidade, para ambos os lotes.

A comparação desses tratamentos com a testemunha (TABELA 5) revela que os tratamentos, de maneira geral, diminuíram a exsudação de potássio das sementes, mas essas diferenças não foram estatisticamente significativas.

Na TABELA 11 encontram-se as médias dos teores de açúcares totais na solução de exsudato das sementes submetidas aos tratamentos de hidratação em três ambientes de pressão osmótica e três níveis de hidratação. Vê-se repetir, basicamente, a mesma tendência nos dois lotes, ou seja, menores valores à medida em que se elevou nível de hidratação, mas estatisticamente significativos apenas no Lote A.

À medida que se aumentou a pressão osmótica durante a hidratação, diminuiu-se a perda de açúcares, mas essas diferenças não foram estatisticamente significativas, evidenciando que há menor permeabilidade à medida que se aumenta a pressão osmótica e os níveis de hidratação. O fato

TABELA 11: Primeiro Ensaio - Médias originais de teor de açúcares totais (equivalente miligrama de glicose por alíquota) em solução de exsudato de sementes de feijão após embebição por 24 horas a 25°C lotes A e B, submetidas à tratamentos de hidratação em três ambientes de pressão osmótica (0, -7 e -14 bars) e três níveis de umidade (20%, 25% e 30%).

Pressão osmótica , (bars)	níveis de umidade			médias
	20%	25%	30%	
LOTE A				
0	5571,41aB	5374,39aB	4432,39aA	5126,06a
-7	5128,39aB	4886,39aB	4189,39aA	4734,72a
-14	5119,39aB	4884,89aB	3411,39aA	4471,89a
médias	5273,06A	5048,56A	4011,06B	

Coeficiente de variação 18,51%

LOTE B

0	5939,39aA	5675,39aA	5517,89aA	5710,89a
-7	5481,64aA	5219,39aA	4302,45aA	5240,39a
-14	5689,39aA	5563,39aA	4468,39aA	5001,16a
médias	5703,48A	5486,06A	4762,91A	

Coeficiente de variação 21,83%

As médias seguidas da mesma letra - maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas - não diferem entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

de não ser significativo deve-se, provavelmente, ao elevado coeficiente de variação .

Cabe ressaltar que embora nenhum tratamento difira da testemunha , o teor de açúcares foi menor nas sementes que alcançaram teor de água de 30%, nas três pressões osmóticas utilizadas (lote A) e nas pressões de -7 e -14 bars (lote B).

Finalmente, ao se compararem as médias dos tratamentos com as médias da testemunha (TABELA 5) nota-se um fato curioso. O comportamento entre lotes foi bem diferente, ainda que estatisticamente não significativo . No lote B - que confere com RUDRAPAL & NAKAMURA (1988), a testemunha foi o pior dentre todos os tratamentos, mas no lote A, a testemunha apresentou valor intermediário, sendo pior apenas que os três melhores tratamentos, - aqueles hidratados até 30% de teor de água.

CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE O PRIMEIRO ENSAIO

A qualidade fisiológica, representada pelos parâmetros germinação, porcentagem e velocidade de emergência, não foi grandemente afetada pelos níveis de hidratação durante a fase de embebição, mas foi afetada pela pressão osmótica, mesmo assim a níveis discretos, porque não se dá em todos os parâmetros, nem em ambos os lotes ao mesmo tempo.

A permeabilidade das membranas, representada pelos parâmetros condutividade elétrica, teor de potássio e teor

de açúcares na solução de exsudato, não apresentou respostas significativas aos tratamentos de pressão osmótica, mas respostas muito mais nítidas aos tratamentos de níveis de umidade.

Assim a hipótese de que a velocidade de hidratação, determinada por pressões osmóticas diferentes na água de embebição, não influi na qualidade fisiológica, pode ser rejeitada para o parâmetro velocidade de emergência, mas aceita para a emergência total, condutividade elétrica, teor de potássio e de açúcares, ainda que neste último haja a tendência clara de que o teor de açúcares no exsudato das sementes é inverso à pressão osmótica de embebição, independentemente do nível de hidratação.

A segunda parte da hipótese de que o nível de hidratação, seguido de secagem, não interfere na permeabilidade da membrana - representada pela condutividade elétrica, lixiviação de potássio e de açúcares, pode ser rejeitada. Os dados demonstram que com o aumento do nível de hidratação há maior regeneração das membranas. Não se constataram divergências muito grandes no comportamento dos dois lotes de sementes que, aliás, apresentaram qualidade semelhante nos testes preliminares destinados à sua caracterização (TABELA 1).

Ao término do primeiro ensaio, ficou a dúvida sobre a influência da secagem sobre as respostas, uma vez que as diferenças foram muitas vezes discretas; e PANDEY (1988 e 1989) é enfático na afirmação de que o "priming" em sementes velhas com secagem subsequente tem efeitos deletérios sobre a germinação e crescimento das plântulas comparadas com germinação e crescimento de plântulas a partir de sementes novas (pouco deterioradas).

Outra dúvida que permaneceu foi quanto ao tempo de

duração do condicionamento. Teria sido a interferência do tempo em que as sementes permaneciam hidratadas ou efetivamente o nível de hidratação, a responsável pelas respostas?

Assim, no segundo ensaio foram introduzidas algumas modificações como se segue:

- 1- fez-se tratamento com fungicida para ser possível aumentar o tempo de condicionamento sem a ocorrência de fungos.
- 2- diminuiu-se a temperatura dos tratamentos de 25 para 20°C
- 3- utilizaram-se dois níveis de pressão osmótica, diferentes do primeiro ensaio: -10 bars motivado pelo fato que a -8 bars SHIOGA (1990) encontrou sementes germinando a partir do 4.º dia; e -20 bars porque, dentro do limite recomendado por KHAN *et alii* (1980/81) seria o nível em que a semente estaria hidratada acima de 20% - aceito teoricamente como suficiente para ocorrer a regeneração das membranas celulares.
- 4- eliminaram-se os parâmetros teor de açúcares - devido a dificuldades operacionais e, velocidade de emergência, porque resultados de porcentagem e velocidade de emergência obtidos com a mesma amostra, num mesmo teste, apresentou informações muito semelhantes; assim o trabalho adicional não foi acompanhado por vantagens proporcionais quanto a precisão.
5. introduziu-se germinação sob condições desfavoráveis por considerar mais um parâmetro confiável associado ao vigor das sementes.
6. eliminou-se um lote, optando-se apenas pelo lote A que proporcionou respostas mais nítidas no primeiro ensaio, racionando-se os tratamentos e o volume de trabalho.

SEGUNDO ENSAIO

Os resultados da análise de variância (médias

originais) dos dados referentes a germinação a 17°C, germinação a 25°C, emergência total, condutividade elétrica, teor de potássio e suas interações, de sementes de feijão cultivar Carioca, submetidas aos tratamentos de hidratação sob pressão osmótica (-10 e -20 bars), em dois períodos de duração (4 e 7 dias) e secas ou não após a hidratação, encontram-se reunidos na TABELA 12.

Nesta fase, com tratamentos diferentes, já não é visível a menor sensibilidade dos parâmetros fisiológicos como ocorreu no PRIMEIRO ENSAIO, possivelmente mascarada pelos efeitos da secagem. Novamente, verificou-se menor sensibilidade do parâmetro teor de potássio (levando a crer na sua inadequação como critério único de avaliação). WEGES & KARSEN (1990) estudando o condicionamento de sementes de alface, sugeriram que o potássio lixiviado originava-se da cobertura protetora da semente e, provavelmente, do endosperma; e que havia uma barreira - resistente à secagem - que impedia ao íon sair do embrião. Para feijão, cuja anatomia e morfologia são bastante diferentes das sementes de alface, não se pode aceitar ou recusar tal fato, sem estudos específicos. PANDEY (1989) encontrou diferenças nítidas quanto ao teor de potássio apenas em sementes de feijão muito deterioradas. Mesmo assim não seriam conclusivos se analisados isoladamente pois estão muito próximos do limite de confiança nas sementes menos deterioradas.

Observa-se ainda pela TABELA 12, que o parâmetro menos sensível foi o teor de potássio e, o mais sensível, a condutividade elétrica. É interessante notar também que nem sempre a significância ocorreu para a mesma variável, confirmando o conceito (PERRY, 1978) de que o vigor não pode ser avaliado por um único parâmetro.

TABELA 12: Segundo Ensaio - resumo da análise da variância (Teste F) para os parâmetros germinação, germinação a 17°C, emergência, condutividade elétrica e teor de potássio de sementes de feijão, submetidas aos tratamentos de hidratação.

Causas da variação	Germinação (1)	Germinação 17°C (1)	Emergência (1)	Condutiv. elétr.(2)	teor de potássio(2)
Pressão (P)	1,8477	7,7138*	7,3564*	232,5654**	0,5385
Tempo (T)	5,7412*	1,5859	8,7587**	0,7221	0,4311
Secagem (S)	0,5722	6,3857*	31,7812**	543,5428**	7,1024*
P x T	0,5901	0,1410	1,4748	7,8850*	0,2521
P x S	4,2998*	2,9444	1,0372	11,5771**	3,0209
T x S	0,7176	3,0045	0,6250	14,8234**	4,1905
P x T x S	0,2685	0,0116	0,0008	2,8057	0,5385

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

(1) dados transformados em arco seno $\sqrt{x/100}$

(2) dados originais não transformados

Na TABELA 13 pode-se observar a comparação das médias dos tratamentos sem interação, decorrentes da hidratação sob pressão osmótica diferenciada (-10 e -20 bars), dois períodos de duração e secas ou não após a hidratação, para todos os parâmetros testados nesta fase.

TABELA 13: Segundo Ensaio Comparação das médias dos tratamentos de hidratação e secagem, com interação simples, dos parâmetros germinação a 17° e a 25°C, emergência total, condutividade elétrica e teor de potássio.

T R A T A M E N T O S	P A R A M E T R O S				
	Germinação 25°C	Germinação 17°C	Emergência	Condutiv. elétrica	teor de potássio
PRESSÃO					
-10 bars	78,79a	82,02a	83,21a	767,62a	109,68a
-20 bars	77,24a	79,11b	79,77b	1040,18b	115,62a
TEMPO					
4 dias	79,38a	81,24a	83,36a	911,50a	115,31a
7 dias	76,64b	79,92a	79,61b	896,31a	110,00a
SECAGEM					
seca	78,45a	79,24b	77,81b	1112,25b	123,43b
não seca	77,59a	81,24a	84,96a	695,56a	101,87a
C. V.	3,607%	3,361%	4,107%	5,593%	20,314%

Médias da mesma variável, seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Observa-se que as médias de germinação a 25°C não apresentaram diferenças significativas quanto a pressão nem quanto a secagem, mas quanto ao tempo de condicionamento, o tratamento de 4 dias foi superior ao de 7 dias. Este fato talvez possa ser interpretado como sendo um avanço no processo de deterioração das sementes durante o condicionamento, assumindo-se o período de 7 dias como exagerado. O período de 4 dias também foi adequado para EIRA (1989).

As médias do parâmetro germinação à temperatura subótima (17°C) mostraram diferenças significativas distintas do parâmetro germinação a 25°C. Não houve diferença significativa para tempo, mas quanto a pressão, o tratamento -10 bars foi melhor que a -20 bars e a seca foi pior que a não seca. Todas as diferenças entre médias no entanto foram discretas na faixa de 2 a 3%.

A emergência total em solo/areia apresentou diferenças entre médias para as três variáveis, aparecendo -10 bars melhor que -20 bars, 4 dias melhor que 7 dias e seca pior que não seca, seguindo a mesma tendência do parâmetro germinação a 17°C.

Quando se compararam no primeiro ensaio, as pressões osmóticas de -7 e -14 bars, as médias foram muito semelhantes. Neste ensaio, em que se utilizou uma pressão intermediária entre -7 e -14 bars, que foi a -10 bars, e outra ainda mais negativa, percebe-se que esta (a -20 bars) causou efeito depressivo em comparação a -10 bars, podendo-se supor que o ótimo para feijão em se tratando de pressão osmótica seja em torno de -10 a -14 bars. Estes dados estão de acordo os encontrados por SHIOGA (1990) para a mesma espécie, constatando que as sementes com -4 bars e -8 bars também germinavam ainda que nas soluções osmóticas, emitindo raiz primária no 2.º e 4.º dias respectivamente. A -10 bars as sementes atingiram em média 29,22% de água no 4.º dia, e 29,56% no 7.º dia. A -20bars o teor de água era de 24,97% e 25,77% no 4.º e 7.º dias respectivamente, o que vem a confirmar a hipótese de que o reparo das membranas em sementes de feijão ocorre em níveis mais elevados, próximos a 30%, conforme verificado no ensaio anterior.

O tempo de 7 dias, como já discutido, parece estar ligado ao avanço da deterioração nas condições do

condicionamento. A ausência de diferenças no desempenho das sementes quando as condições ambientais são favoráveis (teste de germinação a 25°C), em decorrência da secagem em seguida ao condicionamento, e o pior desempenho sob condições desfavoráveis como na germinação em temperatura subótima ou emergência em solo/areia contradiz o princípio do endurecimento proposto por HENCKEL (1964), mas concorda com os resultados encontrados por EIRA (1988) para diversos tratamentos com sementes de alface.

As médias de condutividade elétrica foram diferentes estatisticamente quanto à pressão e quanto à secagem. A pressão negativa de 20 bars durante a embebição determinou maior condutividade elétrica na solução de exsudato das sementes, evidenciando que houve maior permeabilidade do sistema de membranas.

A secagem das sementes após a embebição evidenciado na comparação seca/não seca da TABELA 13, causa a perda de eletrólitos na solução de exsudato. O efeito da secagem pode ser explicado pela teoria apresentada por LUZZATI & HUSSON (1962) e SIMON (1974) do arranjo hexagonal das membranas quando secas. Cada vez que se reidratam, assumem a conformação trilamelar com permeabilidade seletiva. Não houve, no entanto, efeito marcante do tempo do tratamento quando comparados 4 e 7 dias. O não efeito do tempo de tratamento pode agora ser entendido como o período de 4 dias como sendo o suficiente para que as membranas atingissem seu estado máximo de organização, sendo que o tempo adicional a um tempo - que pode ser menor que 4 dias não acrescentaria melhorias na permeabilidade das membranas.

O parâmetro teor de potássio (TABELA 13) não mostrou resposta à pressão osmótica nem ao tempo. Nessas duas variáveis nota-se que, embora não significativos, os

resultados, tal como para condutividade elétrica, revelaram que a concentração foi menor na menor pressão osmótica (-10 bars) e no maior tempo (7 dias), assumindo que havia maior integridade das membranas nesses tratamentos.

A secagem por sua vez apresentou efeito significativo, ainda que não tão pronunciado como em condutividade elétrica, evidenciando que sua prática implica em aumento da perda de potássio no exsudato, podendo-se aplicar o mesmo raciocínio que explicaria a condutividade elétrica.

Ao se examinar os resultados da TABELA 13 como um todo, nota-se que as respostas às variáveis PRESSÃO e SECAGEM têm a mesma tendência tanto para os parâmetros fisiológicos como nos parâmetros de permeabilidade das membranas. Assim, o tratamento -20 bars foi inferior para todos os parâmetros, significativos estatisticamente ou não. O mesmo aconteceu com a secagem, em que a sua prática foi prejudicial em todos os parâmetros, salvo para germinação, quando os resultados foram muito próximos. O TEMPO, no entanto, apresenta efeitos distintos, revelando que 4 dias de condicionamento é melhor que 7 dias para os parâmetros fisiológicos, mas esta tendência se inverte quando se trata dos parâmetros de permeabilidade das membranas (condutividade elétrica e teor de potássio). Este fato - a ser melhor estudado - pode ser interpretado como um alerta de que o desempenho das sementes pode não estar necessariamente vinculado à permeabilidade das membranas das suas células.

Na TABELA 14 pode-se observar as médias originais comparadas pelo teste Tukey das interações simples das três variáveis e cinco parâmetros estudados. É nítida a ausência de interação significativa entre elas no que se refere aos

TABELA 14: Segundo Ensaio - Comparação das interações dos tratamentos das sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidas ao condicionamento osmótico a -10 e -20 bars de pressão osmótica por 4 e 7 dias e submetidas ou não à secagem posterior.

causas da variação	P A R A M E T R O S				
	Germinação	Germinação	Emergência	Condutiv. elétrica	teor de potássio
interações	17°C				
Pressão x Tempo:					
4 dias -10 bars	80,55a	82,46a	84,27a	785,12a	114,37a
-20 bars	78,17a	79,98a	82,44a	1007,50b	116,25a
7 dias -10 bars	76,98a	81,57a	82,13a	750,87a	105,00a
-20 bars	76,29a	78,22a	76,96a	1072,12b	115,00a
Tempo x Pressão:					
-10 bars 4 dias	80,55a	82,46a	84,27a	785,12b	114,37a
7 dias	76,98a	81,57a	82,13a	750,12a	105,00a
-20 bars 4 dias	78,17a	79,98a	82,44a	1007,50a	116,25a
7 dias	76,29a	78,22a	76,96a	1072,87b	115,00a
Secagem x Pressão osmótica:					
seca -10 bars	80,37a	81,60a	80,30a	1006,37a	127,50a
-20 bars	76,47b	76,78a	75,23a	1218,12b	119,37a
não seca -10 bars	77,17a	82,43a	85,94a	528,87a	91,87a
-20 bars	78,00a	81,35a	83,96a	862,25b	111,87a
Pressão osmótica x Secagem:					
-10 bars seca	80,37a	81,60a	80,30a	1006,37b	127,50a
não seca	77,17a	82,43a	85,94a	528,87a	91,87a
-20 bars seca	76,47a	76,78a	75,23a	1218,12b	119,37a
não seca	78,00a	81,35a	83,96a	862,25a	111,87a

continua

As médias nas colunas, pertencentes à mesma interação, seguidas de letras diferentes, diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

continuação

Secagem x Tempo:					
seca 4 dias	79,33a	78,99a	79,27a	1070,25a	134,37a
7 dias	77,57a	79,50a	76,32a	1154,25b	112,50a
não seca					
4 dias	79,43a	83,39a	87,09a	722,37a	96,25a
7 dias	75,69a	80,34a	82,70a	668,75b	107,50a
Tempo x Secagem:					
4 dias seca	79,33a	78,99a	79,27a	1070,25a	134,37a
não seca	79,43a	83,39a	87,09a	722,37b	96,25a
7 dias seca	77,57a	79,50a	76,32a	1154,25a	112,50a
não seca	75,69a	80,37a	82,70a	668,75b	107,50a

As médias nas colunas, pertencentes à mesma interação, seguidas de letras diferentes, diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

parâmetros associados ao desempenho fisiológico. Houve apenas uma exceção: pressão dentro de secagem quanto a germinação. Neste caso a diferença entre -20 bars e -10 bars foi significativa quando as sementes foram secas após a embebição.

A interação pressão osmótica x tempo para os parâmetros fisiológicos mostrou a tendência de que a pressão -20 bars determina pior desempenho, tanto em 4 dias como em 7 dias de duração, bem como 7 dias determina piores resultados que 4 dias.

A interação secagem x pressão osmótica apresentou a única significância estatística revelando que o tratamento -20 bars dentro da opção seca foi pior que -10 bars no que se refere a germinação. Na opção não seca, embora a

tendência se repita, não houve significância estatística para os demais parâmetros fisiológicos.

A interação tempo x secagem confirma a superioridade do tratamento 4 dias em relação a 7 dias mas não há significância estatística.

Quanto aos parâmetros relacionados à permeabilidade das membranas celulares nota-se ainda pelos dados da TABELA 13 que os resultados do teor de potássio acompanham os resultados de condutividade elétrica de maneira geral mas não apresentam significância estatística. Esta constatação reforça a idéia de que o teste em si não é muito preciso, resultando em elevado coeficiente de variação.

A condutividade elétrica, por sua vez, foi muito mais sensível para detectar diferenças entre os tratamentos; mostrando que a pressão osmótica de -20 bars é pior que a de -10 bars tanto quando combinado com 4 dias como com 7 dias, sendo a semente seca ou não seca. Este fato é interessante, uma vez que após 4 dias as sementes tinham alcançado um nível de hidratação já próximo do seu equilíbrio.

O período de tratamento de 4 dias foi superior a 7 dias discretamente quando combinados com -20 bars e com secagem. Não houve diferença significativa do período de duração a -10 bars. Quando a semente não sofreu secagem, o período de 7 dias é o que aparece como o melhor. Tal fato aparentemente sem lógica, está no limite da significância estatística e pode ser visto como casual.

A secagem determina maior perda de eletrólitos em todas as combinações de pressão osmótica e de período de duração de tratamento. Este fato é facilmente entendido pela aceitação da teoria da conformação hexagonal proposta por LUZZATI & HUSSON (1962) e SIMON (1974), já abordada

anteriormente.

Na TABELA 15 compara-se as médias originais dos tratamentos deste SEGUNDO ENSAIO, com a testemunha pelo teste de Dunnett. Podendo-se assim verificar a vantagem ou desvantagem dos tratamentos em si.

Quanto à germinação em condições favoráveis pode-se constatar que apenas um tratamento foi significativamente diferente da testemunha, ainda assim para pior, ou seja, não há vantagem para a germinação em se realizar o condicionamento fisiológico das sementes.

TABELA 15: Segundo Ensaio - Comparação das médias originais dos tratamentos em relação à testemunha pelo teste de Dunnett; dados referentes a germinação a 15°C e 25°C, emergência, condutividade elétrica e teor de potássio, de sementes de feijão cultivar Carioca, submetidas aos tratamentos de hidratação e secagem.

germinação		germinação 17°C		emergência	
tratam.	médias	tratam.	médias	tratam.	médias
testemunha	81,43	testemunha	80,65	testemunha	80,67
-10,4d, S	81,90	-10,4d, NS	83,67	-10,4d, NS	87,33*
-20,4d, NS	79,69	-20,4d, NS	83,10	-20,4d, NS	86,84*
-10,4d, NS	79,17	-10,7d, S	81,98	-10,7d, NS	84,48
-10,7d, S	78,79	-10,4d, S	81,22	-10,4d, S	80,93
-20,4d- S	76,63	-10,7d, NS	81,15	-20,7d, NS	80,85
-20,7d, S	76,32	-20,7d, NS	79,64	-10,7d, S	79,65
-20,7d, NS	76,26	-20,7d, S	76,89	-20,4d, S	77,56
-10,7d, NS	75,12*	-20,4d, S	76,66	-20,7d, S	72,82*

Condutiv. elétrica		teor de potássio	
tratam.	médias	tratam.	médias
testemunha	1105,50	testemunha	121,25
-20,7d, S	1270,25**	-10,4d, S	137,50
-20,4d, S	1166,00	-20,4d, S	131,25
		-20,7d, NS	122,50
-10,7d, S	1038,25NS	-10,7d, S	117,50
-10,4d, S	974,50**	-20,7d, S	107,50
-20,7d, NS	875,50**	-20,4d, NS	101,25
-20,4d, NS	849,00**	-10,7d, NS	92,50
-10,4d, NS	595,75**	-10,4d, NS	91,25
-10,7d, NS	462,00**		

* - tratamentos que diferem da testemunha ao nível de 5% de probabilidade

** - tratamentos que diferem da testemunha ao nível de 1% de probabilidade.

Quando a germinação foi conduzida em condições sub ótimas, embora não tenha havido diferença significativa entre a testemunha e os tratamentos percebe-se que ela assumiu um valor intermediário entre os tratamentos.

Esta posição intermediária da testemunha dentre os tratamentos é ainda mais clara, a níveis significativos, mostrado pelo parâmetro de emergência, sendo que dois tratamentos (-10 bars, 4 dias, não seca, e -20 bars, 4 dias, não seca) foram superiores a ela. Um tratamento foi pior. O que chama a atenção é que os três melhores tratamentos não sofreram secagem e, nos três piores tratamentos, as sementes foram secas. Evidencia-se por esse parâmetro que é possível melhorar a emergência das plântulas pelo tratamento das sementes.

Quando se examina a permeabilidade das membranas, reafirma-se a pouca sensibilidade do teste de teor de potássio e a posição intermediária da testemunha.

No mesmo sentido, quando se examinam os valores de condutividade elétrica, há apenas 2 tratamentos piores que a testemunha e 6 melhores. A influência da secagem e não secagem é que determina basicamente o ordenamento das médias. Pode-se afirmar, com segurança por esse parâmetro, que é perfeitamente possível diminuir a condutividade elétrica do exsudato pelo condicionamento das sementes, ou em outras palavras, que é possível promover a reorganização das membranas pelo condicionamento das sementes.

5. CONCLUSÕES

A análise dos dados e interpretação dos resultados, considerando o condicionamento fisiológico de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L) em solução aquosa de polietileno glicol, permitem concluir que:

a) Os efeitos do condicionamento se manifestam de maneira mais evidente quando avaliados através de parâmetros que refletem a permeabilidade das membranas celulares. A associação entre o estado de organização das membranas e a respectiva manifestação fisiológica merece estudos mais detalhados.

b) A secagem efetuada após o condicionamento diminui severamente os benefícios obtidos por esse tratamento.

c) As respostas dos parâmetros estudados revela que o desempenho das sementes está mais relacionado ao nível de hidratação que à pressão osmótica adotada durante o condicionamento fisiológico.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A-AS-SAQI, M. & CORLETO, A. Effect of presowing hardening on seedling emergence of four forage species. *Seed Science and Technology*, Wageningen, 6:701-709, 1973.
- ABDUL-BAKI, A. A. & ANDERSON, J. D. Viability and leaching of sugars from germinating barley. *Crop Science*, Madison, 10:31-35, 1970.
- ABDUL-BAKI, A. A. & BAKER, J. Are changes in cellular organelles or membranes related to vigour loss in seeds? *Seed Science and Technology*, Wageningen, 1:89-125, 1973.
- ADEGBUYI, E.; COOPER, S. R.; DON, R. osmotic priming of some herbage grass seed using polyethylene glycol (PEG). *Seed Science and Technology*, Wageningen, 9(3):867-78, 1981.
- ALBERNETHY, R. H. Response of *Cicer Milkvetch* seed to osmoconditioning. *Crop Science*, Madison, 27:117-121, 1987.
- ALGERICH, C. A.; BRADFORD, K. J. & TARQUIS, A. M. The effects of priming and ageing on resistance to deterioration of tomato seeds. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, 40(214): 593-598; 1989.
- ALVARADO, A. D. & BRADFORD, K. J. Priming and storage of tomato (*Lycopersicon lycopersicum*) seeds. II Influence

on a second treatment after storage on germination and field emergence. *Seed Science and Technology*, Wageningen, 16(3): 613-623, 1988.

ANDERSON, J. D. & BAKER, J. E. Deterioration of seeds during ageing. Symposium: Deterioration Mechanisms in Seeds. *Phytopathology* St Paul - Minn., 73(2):321-325, 1983.

BAL, A. R. & CHATTOPADHYAY, N. C. Effect of NaCl and PEG 6000 on germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.). *Biologia Plantarum*, Praga, 27(1):65-69, 1985.

BASRA, A. S.; BEDI, S & MALIK, C.P. Presowing hydration of maize seeds for stimulation of low temperature germination and its effects on phospholipid change in the embryos. *Current Science*, 57(24): 1340-1342, 1988.

BASU, R.N. Physico-chemical control of seed deterioration. *Seed Research*, New Delhi, 4:15-23, 1976

BEKENDAM, J.; van PIJLEN, J.G. & KRAAK, H. L. The effect of priming on the rate and uniformity of germination of endive seed. *Acta Horticulturae*, The Hague, 215:209-218, 1987.

BEWLEY, J.D. & BLACK, M. Environmental Control of germination, in: *Physiology and Biochemistry of Seeds in Relation to Germination* 2.^o vol p. 276-339, Springer-Verlag New York 375 p. 1982.

BEWLEY, J. D. & BLACK, M. Imbibition, germination, and growth in: *Physiology and Biochemistry of Seeds in Relation to Germination* 1.^o vol p. 106-131, Springer-Verlag New York 305 p., 1983.

- BEWLEY, J.D. & BLACK, M. Biochemistry of germination and growth in: *Physiology and Biochemistry of Seeds in Relation to Germination* 1.^o vol p. 132-176, Springer-Verlag New York 305 p., 1982.
- BEWLEY, J.D. & BLACK, M. *Seeds physiology of development and germination*. Plenum Press, New York London, 367 p. 1985.
- BINIEK, A. & TYLKOWSKA, K. Germination and mycoflora of carrot seeds treated with thiram and conditioned in polyethylene glycol (peg 6000) *Acta Horticulturae*. The Hague, 215:225-230, 1987.
- BODSWORTH, S. & J.D. BEWLEY. Osmotic priming of seeds of crop species with polyethylene glycol as a means of enhancing early synchronous germination at cool temperatures. *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, 59:672-676, 1981.
- BRADFORD K.J. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. *HortScience*, Alexandria, 21(5): 1105-12, 1986.
- BRADFORD K.J. STEINER, J.J. & TRAWATHA, S.E. Seed priming influence on germination and emergence of pepper seed lots. *Crop Science*, Madison, 30:718-721, 1990.
- BRAMLAGE, W.J., LEOPOLD, A.C. & PARRISH, D.H. Chilling stress to soybeans during imbibition. *Plant Physiology*, Lancaster, 61: 525-529. 1981.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, *Regras para Análise de Sementes*. Brasília, LANARV/SNAD/MA, 1980, 188p.

- BROCKLEHURST, P. A. & DEARMAN, J. Interactions between seed priming and nine seed lots of carrot, celery and onion. I. Laboratory germination. *Ann. Appl. Biol.* England, **102**: 577-584. 1983.
- BROCKLEHURST, P. A.; DEARMAN, J. & DREW, R. L. K. Recent developments in osmotic treatment of vegetable seeds. *Acta Horticulturae*, The Hague, **215**: 193-200. 1987.
- BURGASS, R. W. & POWELL, A. A. Evidence for repair process in the invigoration of seeds by hydration. *Annals of Botany*, London, **53**: 753-757, 1984.
- CAMPOS, I. S. & ASSUNÇÃO, M. V. Estresse salino e hídrico germinação e vigor do arroz. *Pesq. Agropec. Brasil*. Brasília, **25**(6): 857-862, 1990.
- CARVALHO, N. M. & NAKAGAWA, J. Sementes; ciência, tecnologia e produção. 2.^a ed, Campinas, Fundação Cargill, 1983 429 p.
- CARVALHO, N. M. Vigor de sementes, 207-223 in: 1.^a *Semana de Atualização em Produção de Sementes*, Piracicaba, Fundação Cargill, Campinas, 1986.
- CHIN, D.E. Storage and vigour. *Seed Science and Technology*, Wageningen, **16**: 1-4. 1988.
- CHOUDHURI, N. & BASU, R. N. Maintenance of seed vigour and viability of onion (*Allium cepa* L.) *Seed Science and Technology*, Wageningen, **16**: 51-61, 1988.
- CHOWDHURY, S. R. & CHOUDHURI, M. A. Effects of presoaking and dehydration on germination and early seedling

- growth performance of two jute species under water stress condition. *Seed Science and Technology*, Wageningen, 15:23-33, 1987.
- DELL'AQUILA, A. & TRITTO, V. Ageing and osmotic priming in wheat seeds: Effects upon certain components of seed quality. *Annals of Botany*, London, 65:21-26 1990.
- DELOUCHE, J. BASKIM, C. C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. *Seed Science and Technology*, Wageningen, 1:427-52, 1973.
- DEY(PATHAK) & MUKHERJEE, R. K. Invigoration of dry seed with physiologically active chemicals in organic solvents. *Seed Science and Technology*, Wageningen, 16: 145-153, 1988.
- DUBOIS M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A. & SMITH, F. Calorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, Washington, 28:350, 1956
- EIRA, M. T. S. *Germinação x déficit hídrico*. Piracicaba, ESALQ, mimeografado, 1987, 35 p.
- EIRA, M. T. S. *Condicionamento osmótico de sementes de alface (Lactuca sativa L); efeitos sobre a germinação e desempenho sob estresse hídrico, salino e térmico*. Piracicaba, 1988. 90 p. (Mestrado - ESALQ/USP).
- ELLIS, R. H. & ROBERTS, E. H. Desiccation, rehydration, germination, imbibition injury and longevity of pea seeds (*Pisum sativum*). *Seed Science and Technology*, Wageningen, 10(3):501-508, 1982.
- ELLIS, R. H.; HONG, T. D. & ROBERTS, E. H. Effect of

- moisture content and method of rehydration on the susceptibility of pea seeds to imbibition damage. *Seed Science and Technology*, Wageningen, **18**: 131-137. 1990.
- EVENARI, M. The history of germination research and the lesson it contains for today. *Israel Journal of Botany*, Jerusalém, **29**:4-21, 1980/81.
- FACHIN, L. E. *Abaixo assinado*. FACHIN, L. E. & BOSQUO, J. (ed.), Curitiba, 1977. 32p.
- FRETT, J. J. & PILL, W. G. Germination characteristics of osmotically primed and stored *Impatiens* seeds. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, **40**(2):171-179, 1989.
- FU, J. R.; LU, X. H.; CHEN, R. Z.; ZHANG, B. Z.; LIU, Z. S. & CAI, D. Y. Osmoconditioning of peanut (*Arachis hypogea* L) seeds with PEG to improve vigour and some biochemical activities. *Seed Science and Technology*, Wageningen, **16**:197-212, 1988.
- GEORGHIOU, K.; THANOS, C. A.; TAFAS, T. P. & MITRAKOS, K. Tomato seed germination. Osmotic pretreatment and far red inhibition. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, **33**(136):1068-1075, 1982.
- GOLDSWORTHY, A.; FIELDING, J. L. & DOVER, M. B. J. Flash imbibition: a method for the re-invigoration of aged wheat seeds. *Seed Science and Technology*, Wageningen, **10**:55-65 1982.
- GRANQVIST, G. A. Leakage of cations from a carrot seed lot. *Acta horticulture*, The Hague, **215**: 219-224, 1987.
- GUARDIA, M. C.; CARAMELLO, K. A & TAKAKI, M. Osmotically induced light sensitivity in seeds of *Raphanus*

- sativus* L.. *Arq. Biol. Tecnol.* Curitiba, 30(4):665-670, 1987.
- GUEDES, A. C. & CANTLIFE, D. J. Germination of lettuce seeds at high temperature after seed priming. *Journal the American Society for Horticulturac Science*, St. Joseph, 105:777-81, 1980.
- HAIGHT, J. C. & GRABE, D. F. Wetting and drying treatments to improve the performance of orchard grass seed. *Proc. Assoc. of Off. seed analysts*, 62: 135-148. 1972.
- HADAS, A. Water uptake and germination of leguminous seeds under changing external water potential in osmotic solutions. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, 27: 480-9, 1976.
- HARRINGTON, J. F. Seed Storage and longevity. in: *Seed Biology*, T.T. Koslowstki (ed), vol III Academic Press, New York and London. 1972, p. 145-245.
- HARTMANN, H. T. & KESTER, D. E. *Propagación de plantas - principios y prácticas*. Cia Continental, México, 1972, 810 p.
- HEGARTY, T. W. Seed activation and seed germination under moisture stress. *New Phytologist*, Cambridge, 78: 349-59 1977.
- HEGARTY, T. W. The physiology of seed hydratation and dehydration between water stress and the control of germination: a review. *Plant, Cell and Enviroment* New York - London, 1:101-119, 1978.
- HEGARTY, T. W. & ROSS, H. A. Investigations of control mechanisms of germination under water stress. *Israel*

- Journal of Botany*, Jerusalm, 29(1/4): 83-92, 1980/81.
- HENDRICKS, S. B. & TAYLORSON, R. B. Variation in the germination and aminoacid leakage of seeds with temperature related to membrane phase change. *Plant Physiol.*, Rockville, 58: 7-11, 1976.
- HENCKEL, P. A. Physiology of plants under drought *A. Rev. Plant Physiology*. Rockville, 15: 363-386, 1964.
- HEPPERLY, P. R. & SINCLIR, J. B. Aqueous polyethylene glycol solutions for treating soybean seeds with antibiotics. *Seed Science and Technology*, Wageningen, 5(4):727-733. 1977.
- HEYDECKER, W. Germination of an idea: The priming of seeds. *University of Nottingham School of Agriculture Report*, England, 1973/74, 50-67.
- HEYDECKER, W. Stress and seed germination: an agronomic view. in: KHAN, A. A., ed. *The physiology and biochemistry of dormancy and germination* Elsevier/North -Holland Biomedical Press. Amsterdam, 1980. p 237-282.
- HEYDECKER, W. & COOLBEAR, P. Seed treatmens for improved performance - survey and attempted prognosis. *Seed Science & Technology*, Wageningen, 5(2): 353-425, 1977.
- HEYDECKER, W.; HIGGINS, J.; GUILLIVER, R. I. Acelerated germination by osmotic seed treatment. *Nature*, London, 246:42-4, 1973.
- HEYDECKER, W.; HIGGINS, J.; TURNER, Y. J. Invigoration of seeds? *Seed Science & Technology* Wageningen, 3(3/4): 881-8, 1975.

- HUANG, Y. G. Enhancing tolerance of lodgepole pine and white spruce seeds to thermo-hygro-stresses by osmoconditioning, *Seed Science and Technology* Wageningen, 17: 341-353, 1989.
- HUANG, Y. & ZOU, Q. Effects of osmoconditioning and drying on germination of *Pinus sylvestris* var *mongolica* and *Larix gmelinii* seeds. *Seed Science and Technology*, Wageningen, 17: 235-242, 1989.
- IBRAHIM, A. E. & ROBERTS, E. H. Viability of Seeds. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, 34(132): 620-630, Oxford, 1983.
- JACKSON, W. T. Use of carbowaxes (polyethylene glycols) as osmotic agents. *Plant Physiology*, Rockville, 37(4): 513-9, 1962.
- JEFFS, K. A. *Seed Treatment*. K. A. JEFFS (ed.), British Crop Protection Council, England, 1986, 332p.
- KARSSSEN, C. M. Environmental conditions and endogenous mechanisms involved in secondary dormancy of seeds, *Israel Jour. of Botany*, Jerusalem, 29: 45-64, 1980/81.
- KARSSSEN, C. M. & WEGES, R. Osmoconditioning of lettuce seeds and induction of secondary dormancy. *Acta Horticulturae*, The Hague, 215: 165-171, 1987.
- KERMODE, A. R.; BEWLEY, J. D.; DASGUPTA, J. & MISRA, S. The transition from seed development to germination: A key role for desiccation? *HortScience*, Alexandria, 21(5): 1113-1118, 1986.

- KERSIE B. D. & TOMES, D. T. Effects of dehydration treatments on germination, seedling vigour, and cytoplasmic leakage in wild oats and birdfoot trefoil, *Can. J. Bot.*, Ottawa, 58:471-476, 1980.
- KHAN, A. A.; BRAUN, J.W. ; TAO, K. L.; MILLIER, W. F.; BENSIN, R. F. New methods for maintaining seed vigor and improving performance. *Journal of Seed Technology*, Lansing, 1(2): 33-57, 1976.
- KHAN, A. A.; PECK, N. H.; SAMIMY, C. Seed osmoconditioning; physiological and biochemical changes. *Israel Journal of Botany*, Jerusalém, 29: 133-44, 1980/81.
- KHAN, A. A.; TAO, K. L.; KNYPL, J. S.; BORKÓWSKA, B.; POWELL, L. E. Osmotic conditioning of seeds; physiological and biochemical changes. *Acta Horticulturae*, The Hague, 83: 267-78, 1978.
- KHAN, R. A; AHMAD, S. & HUSSAIN, S. Effects of pre-sowing high temperature stress on seedling emergence and yield of seed cotton, *Expl. Agric.*, Great Britain, 9:9-14, 1973.
- KOOSTRA, P & HARRINGTON, J. Biochemical effects of age on membranal lipids of *Cucumis sativus* L. *Seed. Proc. Int. Test. Assoc.*, 34: 329-340, 1973.
- KNYPL, J. S. & KHAN, A. A. Osmoconditioning of soybean seeds to improve performance at suboptimal temperatures. *Agron. J.*, Madison, 73:112-116, 1981
- LABOURIAU, L. G. *A germinação das sementes*. Washington, OEA, Coleção de monografias científicas - Biológicas n.º 24, Washington, 1983.

- LARSON, L. A. The effect soaking peas with ou whitouth seedcoats has on seedling growth. *Plant Physiology*, Lancaster, 43: 255-35. 1968.
- LEVITT, J. & HAMM, P. C. A method of increasing the rate of seed germination of *Taraxacum kok-saghyz*, *Plant Physiol.* Lancaster, 18:288-293, 1943.
- LOPES, V. B. & TAKAKI, M. Seed germination in *Phaseolus vulgaris* L. I. Osmotic effect on light sensitivity *Arq. Biol. Tecnol. Curitiba*, 30(4): 641-647, 1987.
- LUZZATI, V. & HUSSON, F. The structure of the liquid-cristalline phases of lipid-ater systems. *The Jounarl of Cell Biology*, New York, 12:207-219 1962.
- MARCOS FILHO, J. Germinação das sementes. in: *Semana de atualização em produção de sementes*, 1. Piracicaba, 1986. Campinas, Fund. Cargill, 1986. p 11-39.
- MARCOS FILHO, J.; CÍCERO, S. M.; & SILVA, W. R. *Avaliação da Qualidade das Sementes*. 1987, FEALQ Piracicaba, 230 p.
- MAY, L. H. & MILTHORPE, F. L. Pre-sowing hardening of plants to drought - an appraisal of the contributions by P.A. Genkel. *Field Crop Abstracts*, Commonwealth Agricultural Bureaux - England, may 15(2):93-98, 1962
- MATHEWS, S. & BRADNOCK, W. T. Relationship between seed exudation and field emergence in peas and French beans. *Hort. Res.* 8: 89-93, 1968.
- MATTHEWS, S. & POWELL, A. A. Ensayo de condutividade elétrica in: *Manual de metodos de ensayos de vigor*. Instituto Nacional de Semillas Y Plantas de vivero, Madri, PERRY,

D. A. (ed.), p 13, 1981, 55p.

MATTHEWS, S. & POWELL, A. A. Environmental and physiological constraints on field performance of seeds. *HortScience*, Alexandria, 21(5): 1125-8, 1986.

McKERSIE B. D. & SENARATNA, T. Membrane Structure in germinating seeds, in: *Mobilization of Reserves in Germination - recent advances in phytochemistry*. vol 17, Cap. 3, p. 29-52, Nozzolillo, C.; Lea, P. J. & Loewus, F. L. (ed). Plenum Press, New York - London, 1983.

MICHEL, B. E. & KAUFMANN, M. R. 1973. The osmotic potential of PEG 6000. *Plant Physiology*, Lancaster, 51(5): 914-6.

MILTHORPE, F. Changes in the drought resistance of wheat seedlings during germination. *Ann. Botany*, 14: 79-89, 1950.

MUCHENA, S. C. & GROGAN, C. O. Effects of seed size on germination of corn (*Zea mays*) under simulated water stress conditions. *Canadian Journal of Plant Science* Ottawa, 57: 921-3, 1977.

MUHYADDIN, T. & WIEBE, H. J. Effects of seed treatments with polyethylene glycol (PEG) on emergence of vegetable crops. *Seed Science and Technology*, Wageningen, 17(1): 49-56, 1989.

MENTEN, J. O. M. *1 semana de Atualização em Patologia de Sementes*, 25 a 28 julho de 1988. Piracicaba/SP mimeografado, 76p.

OBENDORF, R. L. & HOBBS, P. R. Effect of seed moisture on temperature sensitivity during imbibition of soybean. *Crop Sci*, Madison, 10: 563-566. 1970

- OLIVEIRA, J. O. de, Correlação entre a evolução de hexanal e de aldeídos totais, a lixiviação de íons e o potencial de germinação de sementes de soja (*Glicyne max* (L.) Merrill). Viosa, UFV 1990, 79p. tese MS.
- OSBORNE, D. J.; SHARON, R. & BEN-ISHAI, R. Studies on DNA integrity and DNA repair in germinating embryos of rye (*Secale cereale*). *Israel Jour. of Botany*, Jerusalém, 29:259-272, 1980/81.
- ORPHANOS, P. I. & HEYDECKER, W. On the nature of soaking injury of *Phaseolus vulgaris* seeds. *Jour. Exp. Bot.*, Oxford, 19: 770-784, 1968.
- PALEVITCH D.; LEVY, A. & PERL, M. Invigoration of seeds the medicinal plants *Solanum laciniatum*, *Solum khasianum* Clarke and *Catharanthus roseus*(L) G.Dom.. *Israel Jour. of Botany*, Jerusalém, 29:74-82, 1980/81.
- PAN, D. & BASU, R. N. Mid-storage and pre-sowing seed treatments for lettuce and carrot. *Scientia Horticulturæ*, Amsterdam, 25(1): 11-19, 1985.
- PANDEY, D.K. Priming induced repair in French bean seeds, *Seed Science and Technology*. Wageningen, 16:527-532, 1988.
- PANDEY, D. K. Priming induced alleviation of the effects of natural ageing derived selective leakage of constituents in French bean seeds. *Seed Science and Technology*, Wageningen, 17: 391-397, 1989.
- PARRISH, D. J. & LEOPOLD, A. C. On the mechanism of aging in soybean seeds. *Plant Physiol.* Rockville, 61: 365-368, 1978.

- PASSAN, H. C.; KARAVITES, P. I.; PAPANDREOU, A. A.; THANOS, R. A. & GEROGHIOU, K. Osmoconditioning of seeds in relation to growth and fruit yield of aubergine, pepper, cucumber and melon in a unheated greenhouse cultivation. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, 38 (3-4):207-216, 1989.
- PERKINS-VEAZIE, P. & CANTLIFFE, D. J. Need for high-quality seed for effective priming to overcome thermodormancy in lettuce. *Journal of the American Society for Horticulture Science*, St. Joseph, 109(3): 368-72, 1984.
- PERL, M. Recent developments in seed physiology and biochemistry. *Seed Science and Technology*, Wageningen 16: 135-138, 1988.
- PERL, M. YANIV, Z. & FEDER, Z. The effect of natural and accelerated aging on the lipid content and the fatty acid composition of seeds, *Acta Horticulturae*, The Hague, 215:61-67, 1987.
- PERRY, D. A. Report of the vigour test committee 1974-1977. *Seed Science and Technology*, Wageningen, 6(1): 159-81, 1978.
- PERRY, D. A. & HARRISON, J. G. The deleterious effect of water and low temperature on germination of pea seed. *J. Exp. Bot.* Oxford, 21:504-514. 1970.
- POLLOCK, B. M. Imbibition temperature sensitivity of lima beans seed controlled by initial seed moisture. *Plant Physiology* Rockville, 44:907-911, 1969
- POWELL, A. A. & MATTHEWS, S. The damaging effect of water on dry pea embryos during imbibition. *Journal of*

- Experimental Botany*, Oxford 29(112): 1215-1229. 1978
- RAO, S. C. ; AKERS, S. W. & AHRING R. M. Priming brassica seed to improve emergence under different temperatures and soil moisture conditions. *Crop Science*, Madison, 27:1050-1053, 1987.
- De ROBERTIS, E. D. P. & De ROBERTIS JR, E. M . F. *Bases da Biologia Celular e Molecular*. Ed. Guanabara, Rio de Janeiro 1981, 332p.
- ROBERTS, E. H. Oxidative processes and the control of seed germination, in: *Seed Ecology*, cap. 11, 189-218, 1972, Heydecker, W. (ed) England, Butterworths.
- ROBERTS, E. H. Physiology of ageing and its application to drying and storage. *Seed Science and Technology* Wageningen 9:359-372, 1981.
- RUDRAPAL, D. & NAKAMURA, S. The effect of hydration - dehydration pretreatments on eggplant and radish seed viability and vigour, *Seed Science and Technology*, Wageningen, 16: 123-130, 1988.
- SAHA, R. & BASU, R. N. Maintenance of soybean seed viability by hydration - dehydration treatments. *Indian Agric.*, Calcutta, 25(4): 275-8, 1981.
- SAHA, R. ; MANDAL, A. K. & BASU, R. N. Physiology of seed invigoration treatments in soybean (*Glycine max* L) *Seed Science and Technology*, Wageningen, 18:269-276, 1990.
- SALIM, M. H. & TODD, G. W. Seed soaking as a pre-sowing, drought-hardening treatment in wheat and barley seedlings. *Agronomy Journal*, Madison, 60: 179-182,

1968.

- SAVINO, G. HAIG, P. M. & De LEO, P. Effects of presoaking upon seed vigour and viability during storage. *Seed Science and Technology*, Wageningen 7:57- 64, 1979.
- SAXENA O. P. & SINGH, G. Osmotic priming studies in some vegetable seeds. *Acta Horticulturae*, The Hague, 215: 201-207, 1987.
- SCHROTH M. N & COOK, R. J. Seed exudation and its influence on pre-emergence damping-off of bean. *Phytopathology*, St. Paul, 54:670-77, 1964.
- SEONG, R. C.; CHUNG, H. J. & HONG E. H. Varietal responses of soybean germination and seedling elongation to temperature and polyethylene glycol solution. *Korean Journal of Crop Science*, Korea Republic 33(1): 31-37 1988. in: *Seed Abstracts* 13(3): ref 819, 1990.
- SHIOGA, P. S. *Controle da hidratação e desempenho das sementes de feijão (Phaseolus vulgaris L.)* Piracicaba, 1990, dissertação mestrado, 106p.
- SILVA, W. R. da *Relações entre disponibilidade de água, tratamento fungicida e germinação de sementes de milho (Zea mays L.)*, Piracicaba, 1989. Tese doutorado, 113p.
- SIMON, E. W. Phospholipids and plant membrane permeability. *New Phytologist*. Cambridge, 73:377-420, 1974.
- SIMON, E. W. Membranes in dry and imbibing seeds. in: *Dry Biological Systems*, GROWE, J.H.; CLEGG, J.S. (ed). Academic Press, New York, p.205-224. 1978.
- SIMON, E. W. Early events in germination, in: *Seed Physiology*,

- vol 2 p 77-115. MURRAY, D.R.(ed) Academic Press, London, 1984.
- SIMON, E. W., & RAJA HARUN, R. M., 1972 Leakage during imbibition. *Journal of Experimental Botany* Oxford, 23 (77): 1076-1085, 1972.
- SIMON, E. W. & MILLS, L. K. Imbibition, leakage and membranes. in: *Mobilization of reserves in germination. Recent advances in phytochemistry* vol 17, cap.2, p.9-27, NOZZOLILLO, C.; LEA, P. J. LOEWUS, F. A. (ed) Plenum Press, New York - London, 1983.
- SINGER, S. J. & NICHOLSON, G. L. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*, New York 175: 720, New York, 1972.
- STEUTER, A. A.; MOZAFAR, A.; GOODIN, J. R. Water potential of aqueous polyethylene glycol. *Plant physiology*, Rockville, 67: 64-7, 1981.
- SWAMY, P. M. & NARASIMHA REDDY, S. B. Changes in the leakage of electrolytes from groundnuts seeds (*Arachis hypogea*) during after-ripening. *Seed Science and Technology* Wageningen, 5(4):645-648. 1977.
- TADMOR, N. H.; COHEN, Y., HARPAZ, Y. Interactive effects of temperature and osmotic potential on the germination of range plants. *Crop. Sci.*, Madison 9: 771-4, 1969.
- TAYLOR, A. G. Comparative performance of pregerminated, high moisture content and dry vegetable seed in greenhouse and field studies. *Journal of Seed Technology*, Lansing 2(1):52-61, 1977.
- TAYLOR, A. G.; KLEIN, D. E. & WHITLOW, T. H. SMP: solid

- matrix priming of seeds. *Scientia Horticulturae* Amsterdam, 37(1-2):1-11, 1988.
- THANOS C. A. & SKORDILIS A. The effects of light, temperature and osmotic stress on the germination of *Pinus halepensis* and *P. brutia* seeds. *Seed Science and Technology*, Wageningen, 15: 163-174, 1987.
- TILDEN, R. L. & WEST, S. H. Reversal of the effects of ageing in soybean seeds. *Plant physiol.* Rockville, 77: 584-6, 1985.
- TOLEDO, F. F. & MARCOS FILHO, J. *Manual das Sementes; tecnologia da produção*. São Paulo, Ed. Agronômica Ceres, 1977, 224p.
- UHVITS, R. Effect of osmotic pressure on water absorption germination of alfalfa seeds. *Am. Jour. of Bot.* New York, 33(4): 278-285, 1946.
- VALDES, V. M. & BRADFORD, K. J. Effects of seed coating and osmotic priming on the germination of lettuce seeds. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, London, 112(1): 153-156, 1987.
- VILLIERS, T. A. & EDGCUMBE, D. J. On the cause of seed deterioration in dry storage. *Seed Science and Technology*, Wageningen, 3:761-774, 1975.
- VILLELA, F. A., DONI FILHO, L. & SEQUEIRA, E. L. Potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6.000 e da temperatura. No prelo. Enviado para publicação Pesquisa Agropecuária Brasileira em 1990, arquivo PAB 220/90.
- WARD, F. H. & POWELL, A. A. Evidence for repair processes in

- onion seeds during storage at high seed moisture contents. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, 34:277-82, 1983.
- WEBSTER, B. D. & LEOPOLD, A. C. The ultrastructure of dry and imbibed cotyledons of soybean. *American Journal Botany* 64(10):1286-1293, october, 1977.
- WEGES, R. & KARSSSEN, C. M. The influence of desiccation following pretreatment on germination of lettuce seeds *Acta Horticulturae*, The Hague, 215: 173-179, 1987.
- WEGES, R. & KARSSSEN, C. M. The influence of redesication on dormancy and K^+ leakage of primed lettuce seeds. *Israel Journal of Botany*, Jerusalem, 39: 327-336. 1990.
- WILSON, D. O. Jr. & McDONALD, M. B. Jr. The lipid peroxidation model of seed ageing. *Seed Science and Technology*, Wageningen, 14:269-300, 1986.
- WOODSTOCK, L. W. & TAO, K.-L. J. Prevention of imbibitional injury in low vigor soybean embrionic axes by osmotic control of water uptake. *Physiol. Plant.* Kobenhavn, 51: 133-139, 1981.
- WOODSTOCK, L. W. & TAYLORSON, R. B. Soaking injury and its reversal with polyethylene glycol in relation to respiration metabolism in high and low vigor soybean seeds. *Physiol. Plant.* Kobenhavn, 53: 263-8, 1981.
- ZONTA, E. P.; MACHADO, A. D. & SILVEIRA JUNIOR, P. *Sistema de Análise Estatística para Microcomputadores - SANEST*. Pelotas, 1984.

APENDICE

Tabela de concentrações de polietileno glicol 6.000 para valores de potencial osmótico e temperatura (Vilela et alii s/d)

TEMP \ PO	-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9	-10
1	55.461	90.399	118.198	141.997	163.146	182.372	200.119	216.685	232.277	247.050
2	56.178	91.355	119.311	143.231	164.481	183.794	201.620	218.257	233.915	248.750
3	56.911	92.330	120.443	144.485	165.836	185.238	203.143	219.852	235.577	250.473
4	57.662	93.323	121.595	145.760	167.213	186.704	204.688	221.470	237.262	252.222
5	58.430	94.336	122.767	147.055	168.612	188.193	206.258	223.113	238.972	253.995
6	59.216	95.368	123.960	148.373	170.033	189.704	207.851	224.779	240.708	255.794
7	60.021	96.421	125.175	149.713	171.478	191.240	209.468	226.471	242.468	257.619
8	60.845	97.495	126.411	151.075	172.946	192.800	211.110	228.189	244.255	259.471
9	61.689	98.590	127.670	152.461	174.438	194.385	212.778	229.933	246.069	261.350
10	62.553	99.707	128.952	153.871	175.955	195.995	214.472	231.703	247.910	263.257
11	63.439	100.846	130.258	155.305	177.497	197.631	216.193	233.501	249.780	265.193
12	64.346	102.009	131.588	156.765	179.065	199.294	217.941	235.327	251.677	267.159
13	65.276	103.196	132.942	158.250	180.660	200.985	219.717	237.181	253.605	269.154
14	66.229	104.407	134.323	159.762	182.281	202.703	221.522	239.065	255.562	271.180
15	67.206	105.644	135.729	161.300	183.931	204.450	223.356	240.979	257.550	273.237
16	68.208	106.907	137.162	162.867	185.609	206.226	225.220	242.924	259.570	275.326
17	69.236	108.196	138.623	164.462	187.317	208.032	227.116	244.901	261.622	277.449
18	70.290	109.513	140.113	166.086	189.055	209.870	229.042	246.910	263.706	279.605
19	71.372	110.858	141.631	167.740	190.823	211.739	231.002	248.952	265.825	281.795
20	72.482	112.232	143.180	169.425	192.624	213.640	232.994	251.028	267.979	284.021
21	73.621	113.637	144.759	171.142	194.456	215.575	235.021	253.138	270.167	286.283
22	74.790	115.072	146.370	172.891	196.322	217.543	237.082	255.285	272.393	288.583
23	75.991	116.539	148.014	174.674	198.223	219.547	239.179	257.468	274.656	290.920
24	77.224	118.038	149.691	176.491	200.158	221.587	241.314	259.688	276.957	293.297
25	78.490	119.571	151.402	178.343	202.130	223.664	243.485	261.948	279.297	295.713
26	79.791	121.139	153.149	180.231	204.138	225.778	245.696	264.246	281.678	298.171
27	81.128	122.743	154.932	182.157	206.185	227.932	247.946	266.586	284.100	300.670
28	82.501	124.384	156.753	184.121	208.271	230.126	250.237	268.966	286.564	303.213
29	83.913	126.062	158.612	186.124	210.397	232.360	252.571	271.390	289.072	305.801
30	85.365	127.780	160.511	188.168	212.564	234.637	254.947	273.858	291.625	308.434
31	86.858	129.539	162.451	190.253	214.774	236.958	257.367	276.371	294.224	311.113
32	88.393	131.339	164.434	192.382	217.028	239.323	259.833	278.930	296.870	313.841
33	89.972	133.182	166.459	194.554	219.327	241.734	262.346	281.537	299.565	316.618
34	91.596	135.069	168.530	196.773	221.672	244.192	264.907	284.193	302.309	319.446
35	93.268	137.003	170.646	199.038	224.065	246.699	267.518	286.899	305.105	322.327
36	94.988	138.984	172.810	201.351	226.507	249.256	270.180	289.638	307.954	325.261
37	96.759	141.013	175.024	203.714	228.999	251.864	272.894	292.470	310.857	328.250
38	98.583	143.093	177.288	206.128	231.544	254.526	275.662	295.336	313.816	331.296
39	100.460	145.226	179.604	208.596	234.143	257.242	278.485	298.260	316.833	334.400
40	102.394	147.412	181.974	211.118	236.797	260.015	281.366	301.241	319.908	337.565

(continua)

TEMP : TEMPERATURA EM GRAUS CELSIUS

PO : POTENCIAL OSMOTICO EM BAR

CONCENTRACAO EM GRAMAS DE PEG-6000 POR QUILOGRAMA DE AGUA

(continuação)

TEMP \ PD	-11	-12	-13	-14	-15	-16	-17	-18	-19	-20
1	261.121	274.580	287.502	299.946	311.962	323.591	334.867	345.822	356.481	366.868
2	262.878	276.392	289.367	301.861	313.924	325.599	336.920	347.917	358.618	369.045
3	264.660	278.230	291.257	303.801	315.912	327.633	338.999	350.040	360.783	371.250
4	266.467	280.093	293.173	305.768	317.928	329.696	341.106	352.191	362.976	373.484
5	268.300	281.982	295.115	307.761	319.971	331.786	343.242	354.371	365.199	375.749
6	270.159	283.898	297.085	309.783	322.042	333.905	345.407	356.581	367.451	378.043
7	272.045	285.841	299.083	311.833	324.142	336.053	347.602	358.820	369.735	380.369
8	273.958	287.811	301.109	313.911	326.271	338.231	349.827	361.090	372.049	382.726
9	275.899	289.811	303.164	316.020	328.430	340.439	352.082	363.392	374.395	385.115
10	277.868	291.839	305.248	318.158	330.620	342.679	354.370	365.726	376.774	387.537
11	279.867	293.898	307.363	320.327	332.841	344.950	356.690	368.092	379.186	389.993
12	281.896	295.986	309.509	322.528	335.095	347.254	359.042	370.492	381.631	392.484
13	283.955	298.106	311.687	324.761	337.381	349.591	361.429	372.927	384.112	395.009
14	286.045	300.258	313.897	327.027	339.701	351.962	363.850	375.396	386.628	397.571
15	288.168	302.442	316.141	329.327	342.054	354.368	366.307	377.901	389.181	400.169
16	290.323	304.660	318.418	331.661	344.443	356.810	368.799	380.443	391.770	402.805
17	292.512	306.912	320.730	334.031	346.868	359.288	371.329	383.023	394.398	405.480
18	294.735	309.199	323.077	336.436	349.330	361.804	373.896	385.640	397.065	408.194
19	296.993	311.522	325.462	338.879	351.829	364.357	376.502	388.297	399.771	410.948
20	299.288	313.881	327.883	341.360	354.367	366.950	379.148	390.994	402.518	413.744
21	301.619	316.278	330.342	343.879	356.944	369.583	381.834	393.733	405.307	416.581
22	303.988	318.713	332.841	346.439	359.562	372.256	384.562	396.513	408.138	419.462
23	306.396	321.188	335.380	349.039	362.220	374.972	387.333	399.337	411.013	422.387
24	308.844	323.704	337.960	351.681	364.922	377.731	390.147	402.205	413.933	425.358
25	311.332	326.261	340.582	354.365	367.667	380.533	393.006	405.118	416.899	428.375
26	313.863	328.860	343.247	357.094	370.456	383.381	395.910	408.077	419.912	431.440
27	316.436	331.503	345.957	359.867	373.291	386.276	398.862	411.084	422.973	434.553
28	319.053	334.190	348.712	362.687	376.173	389.217	401.862	414.140	426.083	437.716
29	321.715	336.924	351.514	365.554	379.102	392.208	404.911	417.246	429.244	440.931
30	324.424	339.705	354.363	368.469	382.082	395.248	408.010	420.403	432.457	444.198
31	327.180	342.534	357.262	371.435	385.111	398.340	411.162	423.613	435.723	447.520
32	329.985	345.413	360.211	374.452	388.193	401.484	414.367	426.877	439.045	450.896
33	332.841	348.342	363.212	377.521	391.328	404.683	417.627	430.197	442.422	454.330
34	335.748	351.325	366.266	380.644	394.518	407.937	420.943	433.573	445.857	457.822
35	338.708	354.361	369.375	383.823	397.764	411.248	424.317	437.008	449.351	461.373
36	341.722	357.452	372.540	387.059	401.068	414.618	427.751	440.503	452.906	464.987
37	344.793	360.601	375.763	390.353	404.431	418.048	431.245	444.060	456.523	468.663
38	347.922	363.808	379.046	393.708	407.856	421.539	434.802	447.680	460.205	472.405
39	351.109	367.075	382.389	397.125	411.343	425.095	438.423	451.365	463.953	476.213
40	354.358	370.405	385.796	400.605	414.895	428.716	442.111	455.118	467.769	480.090

(continua)

TEMP : TEMPERATURA EM GRAUS CELSIUS

PD : POTENCIAL OSMOTICO EM BAR

CONCENTRACAO EM GRAMAS DE PEG-6000 POR QUILOGRAMA DE AGUA

(continuacao)

TEMP \ PO	-21	-22	-23	-24	-25	-26	-27	-28	-29	-30
1	377.001	386.899	396.577	406.049	415.329	424.426	433.352	442.116	450.727	459.191
2	379.217	389.153	398.868	408.377	417.692	426.824	435.784	444.581	453.224	461.721
3	381.462	391.436	401.189	410.735	420.085	429.253	438.247	447.078	455.754	464.283
4	383.736	393.750	403.541	413.123	422.510	431.713	440.742	449.606	458.316	466.877
5	386.041	396.094	405.923	415.543	424.966	434.204	443.268	452.168	460.911	469.505
6	388.376	398.468	408.336	417.994	427.454	436.729	445.828	454.762	463.539	472.167
7	390.743	400.875	410.782	420.478	429.975	439.287	448.422	457.391	466.202	474.864
8	393.141	403.314	413.261	422.995	432.530	441.878	451.049	460.054	468.900	477.596
9	395.573	405.786	415.773	425.546	435.119	444.505	453.712	462.752	471.633	480.364
10	398.037	408.292	418.319	428.132	437.744	447.166	456.411	465.487	474.404	483.169
11	400.536	410.833	420.900	430.753	440.403	449.864	459.146	468.259	477.211	486.011
12	403.070	413.409	423.517	433.410	443.100	452.599	461.919	471.068	480.057	488.893
13	405.639	416.021	426.171	436.104	445.834	455.372	464.730	473.916	482.942	491.813
14	408.245	418.670	428.862	438.836	448.606	458.183	467.579	476.804	485.866	494.774
15	410.888	421.357	431.591	441.607	451.417	461.034	470.469	479.732	488.831	497.776
16	413.569	424.082	434.359	444.417	454.268	463.926	473.400	482.701	491.838	500.820
17	416.290	426.847	437.167	447.267	457.160	466.858	476.372	485.712	494.888	503.907
18	419.050	429.652	440.016	450.159	460.094	469.833	479.387	488.766	497.981	507.038
19	421.851	432.498	442.907	453.093	463.070	472.851	482.445	491.865	501.118	510.214
20	424.693	435.386	445.840	456.070	466.090	475.913	485.548	495.008	504.301	513.435
21	427.579	438.318	448.818	459.092	469.155	479.020	488.697	498.198	507.531	516.704
22	430.508	441.294	451.840	462.159	472.266	482.173	491.893	501.435	510.808	520.021
23	433.482	444.316	454.907	465.272	475.423	485.374	495.136	504.720	514.134	523.387
24	436.502	447.384	458.022	468.433	478.629	488.624	498.429	508.054	517.510	526.804
25	439.568	450.499	461.185	471.642	481.884	491.923	501.771	511.440	520.937	530.272
26	442.683	453.664	464.397	474.901	485.189	495.273	505.165	514.877	524.417	533.794
27	445.848	456.878	467.660	478.211	488.545	498.675	508.612	518.367	527.950	537.369
28	449.063	460.143	470.975	481.574	491.955	502.131	512.113	521.912	531.538	541.000
29	452.330	463.461	474.342	484.990	495.419	505.641	515.669	525.513	535.183	544.688
30	455.650	466.833	477.764	488.461	498.938	509.208	519.282	529.171	538.886	548.434
31	459.025	470.260	481.242	491.989	502.514	512.832	522.953	532.888	542.648	552.241
32	462.456	473.743	484.778	495.575	506.149	516.515	526.683	536.665	546.470	556.108
33	465.944	477.285	488.372	499.220	509.844	520.259	530.475	540.504	550.355	560.038
34	469.491	480.887	492.026	502.926	513.601	524.065	534.330	544.406	554.304	564.033
35	473.099	484.549	495.742	506.694	517.421	527.935	538.249	548.374	558.319	568.095
36	476.769	488.275	499.522	510.527	521.305	531.870	542.234	552.408	562.401	572.224
37	480.504	492.065	503.367	514.426	525.257	535.873	546.288	556.511	566.553	576.424
38	484.303	495.922	507.280	518.393	529.277	539.945	550.411	560.684	570.776	580.695
39	488.171	499.847	511.261	522.429	533.367	544.089	554.606	564.930	575.071	585.040
40	492.108	503.842	515.313	526.537	537.530	548.305	558.875	569.250	579.442	589.460

(continua)

TEMP : TEMPERATURA EM GRAUS CELSIUS

PO : POTENCIAL OSMOTICO EM BAR

CONCENTRACAO EM GRAMAS DE PEG-6000 POR QUILOGRAMA DE AGUA

(continuacao)

TEMP \ PD	-31	-32	-33	-34	-35	-36	-37	-38	-39	-40
1	467.517	475.711	483.779	491.726	499.559	507.281	514.898	522.413	529.830	537.154
2	470.078	478.303	486.401	494.379	502.241	509.992	517.637	525.181	532.626	539.977
3	472.672	480.928	489.057	497.065	504.957	512.737	520.411	527.983	535.456	542.835
4	475.299	483.586	491.746	499.785	507.706	515.517	523.220	530.820	538.322	545.729
5	477.959	486.278	494.470	502.539	510.491	518.331	526.064	533.693	541.224	548.659
6	480.654	489.005	497.228	505.329	513.311	521.182	528.944	536.603	544.162	551.626
7	483.383	491.767	500.023	508.154	516.168	524.069	531.861	539.550	547.138	554.631
8	486.149	494.566	502.853	511.017	519.062	526.993	534.816	542.535	550.153	557.674
9	488.951	497.401	505.721	513.917	521.993	529.956	537.810	545.559	553.206	560.757
10	491.790	500.274	508.627	516.855	524.964	532.958	540.843	548.622	556.300	563.881
11	494.667	503.185	511.571	519.832	527.974	536.000	543.916	551.726	559.435	567.045
12	497.583	506.135	514.556	522.850	531.024	539.082	547.030	554.871	562.611	570.252
13	500.539	509.126	517.580	525.908	534.115	542.206	550.186	558.059	565.829	573.501
14	503.536	512.157	520.646	529.008	537.248	545.372	553.384	561.289	569.092	576.795
15	506.574	515.231	523.755	532.151	540.425	548.582	556.627	564.564	572.398	580.133
16	509.654	518.347	526.906	535.337	543.645	551.836	559.914	567.884	575.750	583.517
17	512.778	521.507	530.102	538.568	546.910	555.135	563.247	571.250	579.149	586.948
18	515.946	524.712	533.343	541.844	550.222	558.481	566.627	574.663	582.595	590.426
19	519.160	527.963	536.630	545.167	553.580	561.874	570.054	578.124	586.090	593.954
20	522.419	531.260	539.964	548.538	556.986	565.316	573.530	581.635	589.634	597.531
21	525.727	534.605	543.347	551.957	560.442	568.807	577.056	585.196	593.229	601.160
22	529.083	538.000	546.779	555.426	563.948	572.349	580.634	588.808	596.876	604.841
23	532.489	541.444	550.262	558.947	567.505	575.942	584.264	592.473	600.576	608.576
24	535.945	544.940	553.796	562.519	571.115	579.589	587.947	596.193	604.331	612.365
25	539.454	548.489	557.384	566.145	574.779	583.291	591.685	599.967	608.141	616.211
26	543.016	552.091	561.026	569.826	578.498	587.048	595.480	603.798	612.008	620.114
27	546.633	555.749	564.723	573.563	582.274	590.862	599.331	607.687	615.934	624.076
28	550.306	559.463	568.478	577.358	586.108	594.735	603.242	611.636	619.920	628.098
29	554.036	563.235	572.291	581.211	590.002	598.667	607.214	615.645	623.967	632.182
30	557.825	567.066	576.164	585.125	593.956	602.661	611.247	619.717	628.077	636.330
31	561.675	570.959	580.099	589.101	597.973	606.718	615.343	623.853	632.251	640.542
32	565.587	574.914	584.096	593.141	602.053	610.840	619.505	628.054	636.491	644.821
33	569.562	578.933	588.158	597.245	606.200	615.027	623.733	632.322	640.799	649.168
34	573.602	583.017	592.287	601.417	610.414	619.283	628.030	636.660	645.177	653.585
35	577.709	587.169	596.483	605.657	614.697	623.608	632.397	641.068	649.626	658.074
36	581.885	591.391	600.749	609.967	619.051	628.005	636.836	645.549	654.148	662.637
37	586.131	595.683	605.087	614.350	623.478	632.476	641.350	650.105	658.745	667.275
38	590.450	600.049	609.499	618.807	627.979	637.021	645.939	654.737	663.419	671.991
39	594.843	604.489	613.986	623.340	632.558	641.645	650.606	659.447	668.173	676.787
40	599.312	609.007	618.551	627.952	637.215	646.348	655.354	664.239	673.008	681.665

TEMP : TEMPERATURA EM GRAUS CELSIUS

PD : POTENCIAL OSMOTICO EM BAR

CONCENTRACAO EM GRAMAS DE PEG-6000 POR QUILOGRAMA DE AGUA