**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Biocondicionamento fisiológico de sementes de *Brachiaria
humidicola***

Carina Oliveira e Oliveira

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutora em Ciências. Área de concentração:
Fitotecnia

**Piracicaba
2019**

Carina Oliveira e Oliveira
Engenheira Agrônoma

Biocondicionamento fisiológico de sementes de *Brachiaria humidicola*

Orientador:
Prof. Dr. **JULIO MARCOS FILHO**

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutora em Ciências. Área de concentração:
Fitotecnia

Piracicaba
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Oliveira, Carina Oliveira e

Biocondicionamento fisiológico de sementes de *Brachiaria humidicola* /
Carina Oliveira e Oliveira - - Piracicaba, 2019.

104 p.

Tese (Doutorado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de
Queiroz".

1. Ácido giberélico 2. Brassinosteróides 3. Armazenamento 4. Enzimas
I. Título

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por sempre se fazer presente em minha vida.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (USP/ESALQ) pela oportunidade de realizar Pós-Graduação.

Ao professor Julio Marcos Filho pela orientação, paciência, sugestões e inúmeros conhecimentos transmitidos que muito contribuíram para minha formação profissional e pessoal.

Aos meus pais Marlene e Anivaldo, minhas irmãs Camila e Caroline e Carolina Cipriano, por todo amor, carinho, confiança, incentivo, por serem meus exemplos de fé e determinação, por sempre me ouvirem e torcerem por mim.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudo concedida.

À Empresa Sementes Matsuda – Comércio e Indústria Matsuda Importadora e Exportadora Ltda, pelo fornecimento das sementes, especialmente ao Alberto Takashi, Ronaldo, Cido e Manuel, pela ajuda e paciência durante esse processo.

Aos professores Silvio Moure Cícero e Ana Dionísia da Luz Coelho Novembre, pelos ensinamentos. Ao Eng. Agr. Dr. Francisco Guilhien Gomes Junior pela aprendizagem constante.

À Helena M. C. P. Chamma, pela amizade, carinho, dedicação e apoio nas análises de laboratório. Aos funcionários Cláudio, Adilson, João, Davi e Luciane.

Ao professor Ricardo Alfredo Kluge, e aos alunos do laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-Colheita, especialmente ao Allan Patrick Viera, pela paciência, amizade e ajuda na realização das enzimas. À professora Sandra Helena da Cruz e ao técnico Pedro Dorival do laboratório de Biotecnologia de Alimentos e Bebidas, pela ajuda na metodologia e determinação das enzimas.

À Dra. Salete Gaziola e ao Prof. Dr. Ricardo Azevedo pela ajuda e por ceder o Laboratório de Genética e Bioquímica de Plantas.

Às amigas que me ajudaram e me incentivaram durante todo esse período de doutorado, Aline, Bruno, Clíssia, Gustavo, Haynna, Mayara, Nayara, Natália, Plínio; em especial à Ana Claudia, Bruna, Fábio, Maria Beatriz, Rayssa, Henrique e Maicon, por todos os momentos especiais. À Danielle por diariamente estar ao meu lado. Obrigada por tudo!

SUMÁRIO

RESUMO	5
ABSTRACT	6
1. INTRODUÇÃO	7
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	9
3. MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1. Avaliação inicial das sementes	19
3.1.1. Análise de pureza	19
3.1.2. Teor de água	19
3.1.3. Germinação	19
3.2. Condicionamento fisiológico	20
3.2.1. Marcha de absorção de água e secagem das sementes	20
3.2.2. Condicionamento com biorreguladores	21
3.3. Armazenamento	21
3.4. Testes	22
3.4.1. Germinação	22
3.4.2. Análise computadorizada de imagens de plântulas (SVIS®)	22
3.4.3. Emergência de plântulas em areia	23
3.4.4. Atividade enzimática	23
3.4.4.1. Atividade da enzima α -amilase	23
3.4.4.2. Atividade da enzima polifenoloxidase	24
3.5. Análise Estatística	24
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1. Dados climáticos do local de produção	27
4.2. Avaliação inicial das sementes	28
4.3. Condicionamento fisiológico	31
4.4. Armazenamento	34
4.5. Avaliações das sementes armazenadas	36
4.5.1. Sementes colhidas por varredura	36
4.5.2. Sementes colhidas por varredura e escarificadas	52
4.5.3. Sementes colhidas das inflorescências	66
4.5.4. Sementes colhidas das inflorescências e escarificadas	79
4.6. Considerações gerais	91
5. CONCLUSÕES	93
REFERÊNCIAS	95

RESUMO

Biocondicionamento fisiológico de sementes de *Brachiaria humidicola*

As sementes do gênero *Brachiaria* apresentam desuniformidade de maturação, degrana natural e dormência, causando problemas para a colheita e estabelecimento de estande uniforme de plantas em campo; a desuniformidade de maturação acarreta a produção de sementes com grau de dormência diferenciado. Por outro lado, o condicionamento fisiológico é uma opção interessante para uniformizar o processo germinativo. O objetivo desta pesquisa foi verificar os efeitos do condicionamento fisiológico com bioestimulantes, em sementes de *Brachiaria humidicola* colhidas de diferentes maneiras, armazenadas sob diferentes condições de temperatura e umidade relativa do ar, procurando, também, identificar a possível superação da dormência e verificar a atividade enzimática das sementes durante esse período. As sementes foram obtidas mediante dois procedimentos de colheita: a) sementes colhidas das inflorescências inteiras e b) sementes caídas ao solo. Após a colheita foi realizada a escarificação com H_2SO_4 , obtendo sementes sem escarificação e escarificadas de cada procedimento de colheita. Foram realizados cinco tratamentos nas sementes escarificadas ou não, para os dois procedimentos de colheita: 1- sem condicionamento e papel umedecido com água; 2- sem condicionamento e papel umedecido com KNO_3 ; 3- biocondicionamento com 24-EpiBL, na concentração de 10^{-8} M; 4- biocondicionamento com GA_3 , na concentração de 10^{-4} M e 5- biocondicionamento com 24-EpiBL + GA_3 , nas concentrações de 10^{-8} e 10^{-4} M, respectivamente. Após os tratamentos as sementes foram armazenadas em câmara fria e seca e ambiente natural e realizadas avaliações em quatro épocas (zero, três, seis e nove meses de armazenamento), mediante os testes de germinação e vigor (primeira contagem, velocidade de germinação e, análise computadorizada de imagens de plântulas - SVIS®) e emergência de plântulas, além da determinação da atividade das enzimas α -amilase e polifenoloxidase no início e aos nove meses de armazenamento. Os resultados indicam que o armazenamento das sementes de *Brachiaria humidicola*, em câmara fria e seca reduz a porcentagem de sementes dormentes; o biocondicionamento com ácido giberélico e 24-EpiBL + ácido giberélico, favorece a velocidade de germinação e o crescimento de plântulas; o condicionamento fisiológico com ácido giberélico isolado ou combinado com 24-epibrassinolídeo, é vantajoso para sementes de *Brachiaria humidicola*, armazenadas em câmara fria e seca ou ambiente natural e, a atividade da enzima α -amilase aumenta e da polifenoloxidase diminui à medida que a dormência das sementes de *Brachiaria* é superada durante o armazenamento.

Palavras-chave: Ácido giberélico; Brassinosteróides; Armazenamento; Enzimas

ABSTRACT

Physiological bioconditioning of *Brachiaria humidicola* seeds

Seeds from the genus *Brachiaria* present uneven maturation, natural threshing and dormancy, leading to issues during harvest and in the establishment of a uniform plant stand; the uneven maturation entails to the production of seeds with different degrees of dormancy. On the other hand, physiological priming is an interesting option to uniform the germination process. The aim of this research was to verify the effects of physiological priming with biostimulants, on seeds of *Brachiaria humidicola* harvested by different methods, stored under different conditions of temperature and air relative humidity, also looking to identify the possibility of dormancy breakage and verify seed enzymatic activity during this period. Seeds were obtained through two harvest procedures: a) seeds harvested from whole inflorescences and b) dropped seeds on the ground. After harvest, scarification was performed with H_2SO_4 , obtaining seeds with or without scarification for each harvest procedure. Five treatments were performed on seeds scarified or not, for the two harvest procedures: 1- without priming and paper moistened with water; 2- without priming and paper moistened with KNO_3 ; 3- Bio-priming with 24-EpiBL, in the concentration of 10^{-8} M; 4- Bio-priming with GA_3 , in the concentration of 10^{-4} M and bio-priming with 24-EpiBL + GA_3 , in the concentrations of 10^{-8} and 10^{-4} M, respectively. After treatment seeds were stored in a dry cold chamber and natural environment and evaluations were performed on four periods (zero, three, six and nine months of storage), through germination and vigor tests (first count of germination, speed of germination, computerized image analysis of seedlings - SVIS[®] and seedling emergence), besides the determination of the activity of the α -amylase and polyphenol oxidase enzymes at the beginning and at the ninth month of storage. The results indicate that the storage of *Brachiaria humidicola* seeds, in a dry cold chamber reduces the percentage of dormant seeds; bio-priming with 24-EpiBL + gibberellic acid accelerates germination and favors seedling growth; the physiological priming with gibberellic acid alone or combined with 24- epibrassinolide is advantageous for *Brachiaria humidicola* seeds, stored in dry cold chambers or natural environments and, the activity of the α -amylase enzyme increases and of the polyphenol oxidase decreases as the dormancy of *Brachiaria* seeds is broken during storage.

Keywords: Gibberellic acid; Brassinosteroids; Storage; Enzymes

1. INTRODUÇÃO

As sementes de espécies de *Brachiaria* apresentam germinação lenta e irregular devido a desuniformidade de maturação e dormência das sementes, podendo ocasionar falhas no estande e, conseqüentemente, gasto excessivo de sementes na tentativa de obtenção de estande adequado.

A desuniformidade de maturação está associada à dormência das sementes, pois sementes imaturas apresentam alto teor de ácido abscísico (ABA) e baixos teores de substâncias promotoras da germinação. Para as sementes germinarem, é necessário que a concentração de ABA nas sementes seja inferior a das substâncias promotoras; isso pode ocorrer com o armazenamento, ou com fornecimento de biorreguladores, como giberelina.

O ácido giberélico (GA₃) é um biorregulador conhecido por atuar na síntese de enzimas, promovendo a germinação. Outro biorregulador que estimula a germinação e desenvolvimento de plântulas são os brassinosteróides, como o 24-epibrassinolídeo, que tem atuação similar à das giberelinas. Há relatos na literatura indicando que esses biorreguladores isolados ou combinados com GA₃, podem agir na superação de dormência, principalmente por atuarem como neutralizadores do ABA; entretanto não há estudos em sementes de *Brachiaria* com essa finalidade.

O condicionamento fisiológico é um procedimento que pode envolver a aplicação de biorreguladores em sementes. Esse tratamento ativa o metabolismo das sementes e, em conjunto com os biorreguladores, tem favorecido a velocidade e uniformidade de germinação e sincronismo da emergência de plântulas em campo, principalmente em sementes de hortaliças.

Assim, visando estudar a técnica de condicionamento fisiológico, aliada ao uso de bioestimulantes em sementes com diferentes graus de maturação, o objetivo desta pesquisa foi verificar os efeitos do condicionamento fisiológico com bioestimulantes, em sementes de *Brachiaria humidicola* colhidas de diferentes maneiras e armazenadas sob diferentes condições de temperatura e umidade relativa do ar, procurando, também, identificar a possível superação da dormência e verificar a atividade enzimática das sementes durante esse período.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As sementes de gramíneas forrageiras tropicais têm sido utilizadas principalmente para a formação de pastagens, com objetivo de alimentação animal. O comércio destas sementes gera ao País uma renda superior a 800 milhões de reais/ano, somando venda interna e exportações (TSUHAKO, 2010).

Para a formação de uma pastagem é importante que o lote de sementes apresente alta percentagem de pureza física, alta viabilidade, possibilitando emergência rápida e uniforme de plântulas, resultando na formação de plantas com elevado potencial produtivo. No entanto, a maioria das gramíneas forrageiras tropicais apresentam desuniformidade de maturação, degrana e dormência das sementes, causando problemas para a colheita e afetando o desempenho das sementes.

A desuniformidade de maturação ocorre, com intensidade variável, para todas as espécies, não havendo sincronismo na polinização ou fecundação das flores de uma mesma planta ou da mesma inflorescência. Isso pode causar diferenças no desempenho das sementes, originando desuniformidade na formação da pastagem, como é o caso dos gêneros de *Brachiaria* (binômios sinomizados *Urochloa*).

O longo período de emergência das panículas determina a desuniformidade acentuada de maturação, ocorrendo diferenças dentro de cada inflorescência, de modo que na mesma inflorescência, num determinado momento podem existir sementes maduras, sementes em formação e flores (SOUZA, 2001). Com isto, as sementes de várias gramíneas forrageiras, após atingirem o ponto de maturidade fisiológica se desprendem da planta-mãe caindo ao solo, ocasionando perdas principalmente quando a colheita é feita diretamente do cacho (inflorescência), como ocorre para a *Brachiaria humidicola* (PERES et al., 2012).

A colheita realizada após a queda das sementes ao solo é denominada varredura; a maioria das sementes colhidas por esse procedimento já atingiram o ponto de maturidade fisiológico. Sementes colhidas das inflorescências parte das sementes colhidas é imatura e outra parte é perdida em consequência da degrana ocorrida antes e durante a colheita (MASCHIETTO, NOVENBRE E SILVA, 2003). Entretanto, para ambos procedimentos de colheita, as sementes apresentam dormência, visto que essa geralmente é adquirida durante a maturação, evitando

que as sementes germinem simultaneamente. Assim, quando a colheita é realizada diretamente do cacho algumas sementes, além de não estarem no ponto de maturidade fisiológica, podem apresentar diferentes graus de dormência, dependendo da interação com o ambiente e posição na inflorescência (MARCOS-FILHO, 2015).

A dormência é um mecanismo de adaptação que visa a sobrevivência da espécie e, segundo Finch-Savage e Leubner-Metzger (2006), estabelece exigências específicas ótimas para que ocorra a germinação, ou seja, sementes dormentes de cada espécie germinam apenas quando são atendidas condições de temperatura, luminosidade e água, para que ocorra a superação da dormência; caso a semente encontre condições adequadas, inicia o processo germinativo e o desenvolvimento da plântula.

As sementes dormentes necessitam estímulo especial para desencadear a transcrição da mensagem genética, iniciar os processos hidrolíticos e oxidativos que conduzem à complementação da germinação. Deste modo, as sementes dormentes necessitam superar algum tipo de bloqueio, geralmente adquirido durante a maturação.

Baskin e Baskin (2004) sugeriram uma proposta para classificação de dormência das sementes, considerando, de maneira geral: dormência fisiológica, dormência morfológica, dormência morfofisiológica, dormência física e dormência combinada (física/fisiológica). A dormência para o gênero de *Brachiaria* segundo Renard e Capelle (1976) é determinada porque os envoltórios das sementes (gluma, lema e pálea) constituírem barreira, dificultando a entrada de oxigênio necessário para a germinação; para Carvalho e Nakagawa (2012), a dormência seria causada pela ocorrência de substâncias fixadoras de oxigênio no complexo glumas-pericarpo (compostos fenólicos), o que dificultaria as trocas gasosas semente/ambiente. É, também, provável que a dormência seja causada pela imaturidade fisiológica, determinada pelo desequilíbrio entre promotores e inibidores da germinação. Assim, pela classificação de Baskin e Baskin (2004) as sementes de *Brachiaria* apresentariam dormência morfofisiológica ou combinada.

A superação da dormência de sementes de *Brachiaria* pode ser perdida durante o armazenamento; entretanto esse tempo é variável, podendo ser distinto entre as espécies e do ambiente de armazenamento. Costa, Araújo e Bôas (2011) constataram que o armazenamento por 21 meses, em ambiente não controlado, foi

efetivo para superação da dormência em sementes *B. humidicola*. Segundo Webb et al. (1973), armazenamento em temperaturas mais baixas favorece a superação da dormência causada pelo desequilíbrio hormonal, pois a temperatura é relacionada com alterações no equilíbrio entre hormônios promotores e inibidores do crescimento.

Nas regras para análise de sementes, para as espécies de *Brachiaria*, é recomendado o uso de KNO_3 no umedecimento do papel no teste de germinação (BRASIL, 2009). O KNO_3 é um promotor químico que atua na via pentose-fosfato, estimulando a respiração e fornecendo energia para formação de novos tecidos, principalmente durante o processo de germinação, favorecendo a superação da dormência devido a energia liberada (COPELAND e McDONALD, 1995). Entretanto, o uso desse promotor químico é para análise de sementes, no teste de germinação em laboratório.

Para superação da dormência em sementes dormentes em gramíneas forrageiras tropicais em larga escala e com maior rapidez, o tratamento químico com ácido sulfúrico tem sido um método bastante realizado, pois atua na impermeabilidade da “cobertura” aos gases, removendo inibidores químicos (MARCOS-FILHO, 2015), sendo o mais empregado em empresas produtoras de sementes de *Brachiaria*.

Observou-se, entretanto, que as sementes de algumas espécies de *Brachiaria*, como *B. humidicola*, apresentam respostas distintas ao método de escarificação química; em estudo conduzido por Usberti e Martins (2007) o efeito da utilização de ácido sulfúrico em *Brachiaria brizantha*, *B. humidicola* e *Panicum maximum*, com período de 15, 10 e 5 minutos respectivamente, apresentou resultado desfavorável somente para *B. humidicola*.

Custódio, Damasceno e Machado Neto (2012) verificaram, no entanto, que mesmo com a retirada dos envoltórios das sementes (pela utilização de ácido sulfúrico) ainda restaram sementes vivas que não germinaram, sugerindo a ocorrência de mais de um mecanismo causador de dormência.

Sementes de braquiária, segundo Marcos-Filho (2015), podem apresentar também ação de inibidores químicos na superfície ou no interior das sementes; é possível que o ABA (ácido abscísico) seja translocado pelo floema até atingir as sementes, inibindo a germinação precoce; todavia, se a concentração ou atividade deste hormônio permanecer elevada após a maturidade as sementes permanecem

dormentes (RAJJOU et al., 2012). Assim, as sementes de braquiária mesmo apresentando o envoltório formado, pode apresentar embrião imaturo com elevado teor de ABA.

Câmara e Stacciarini-Seraphin (2002) utilizaram solução de ABA e ácido giberélico (GA_3), separados e combinados, em sementes de *Brachiaria brizantha* sem envoltório armazenadas por cinco meses, e verificaram que a presença de ABA foi desfavorável e a de giberelina (GA_3) beneficiou a germinação, em comparação à testemunha. A combinação dos dois hormônios resultou em decréscimo na germinação, de modo que a presença de ABA predominou em relação ao efeito de GA_3 (RAJJOU et al., 2012).

Hormônios promotores de germinação como giberelinas, etileno, citocininas e auxinas, são amplamente estudados no processo de germinação; contudo, Kucera, Cohn e Leubner-Metzger (2005), em revisão de literatura sobre a ação de hormônios no processo de germinação e dormência de sementes, destacaram que giberelina (GA), etileno e brassinosteróides (BR) agem neutralizando a ação do ABA, promovendo a germinação e superando a dormência. Tem sido sugerido, ainda, que GA e BR agem paralelamente para promover o alongamento das células e neutralizar a ação inibitória da ABA.

A presença da giberelina nas sementes influencia a síntese das enzimas, como a amilase, protease, hidrolises e N-redutases, que promovem a hidrólise e mobilização de reservas armazenadas, além de inativar e remover proteínas inibidoras da germinação, formadas sob influência do ABA (TAIZ et al. 2017).

Uma das funções dos brassinosteróides em sementes é reverter o efeito inibitório do ABA sobre a germinação (RAO et al., 2002), pois agem na rota de sinalização de tradução de ABA; favorecendo o equilíbrio hormonal nas sementes, resultando na superação da dormência e benefícios à germinação (ZHANG, CAI e WANG, 2009; XI e YU, 2010); além disso, esse grupo de hormônios confere resistência a estresses bióticos ou abióticos (YI et al., 1999).

Desses hormônios, somente efeitos da giberelina foi estudada em sementes de *Brachiaria*; Costa, Araújo e Bôas (2011) constataram efetiva a ação de ácido giberélico (GA_3) para superação de dormência em sementes escarificadas de *B. humidicola*.

Não foram encontradas na literatura informações referentes à utilização de brassinosteróides em sementes de gramíneas forrageiras; porém, tem sido estudada

sua aplicação em algumas sementes, como de trigo (HAYAT e AHMAD, 2003), feijão (FARIDUDDIN et al., 2008), soja e trigo (JANECZKO et al., 2009), arroz (LARRÉ, MORAES e LOPES, 2009) e pimentão (SILVA et al., 2015), sendo que nesses trabalhos, a utilização desse hormônio apresentou velocidade de germinação e ao desempenho das plântulas.

Como visto, o uso de hormônios pode trazer benefícios ao processo de germinação e contribuir para superar a dormência. Além da utilização de hormônios, há outras técnicas que visam beneficiar a germinação, como é o caso do condicionamento fisiológico que, segundo Marcos-Filho (2015), tem como objetivo básico favorecer a uniformidade e rápido estabelecimento das plântulas, sincronizando a germinação através da ativação do metabolismo individual de cada semente.

Existem diferentes técnicas de fornecimento de água utilizados no condicionamento fisiológico de sementes, mas independentemente da técnica realizada, o princípio é a hidratação controlada das sementes, estimulando as atividades metabólicas, sem permitir a emissão da raiz primária (MARCOS-FILHO, 2015).

Durante a germinação ocorre o padrão trifásico de absorção de água; na primeira fase, como as sementes estão com baixo potencial hídrico, ocorre uma rápida absorção de água, e nesta fase há mudanças dos constituintes internos das sementes como reparo de mitocôndrias e síntese de proteínas utilizando mRNA e DNA existentes. Na fase II, ocorre síntese de proteínas pela tradução de novos mRNAs e síntese de novas mitocôndrias, ocorrendo lenta absorção de água. A protrusão da raiz primária caracteriza a fase III, com, novamente, rápida absorção de água (BEWLEY e BLACK, 1994).

O condicionamento fisiológico bem-sucedido ocorre quando não se atinge a fase III, pois as sementes podem ser secadas sem provocar danos irreversíveis no embrião, sendo este fato um dos pontos positivos para aplicação desta técnica em escala comercial, necessitando apenas de uma reidratação para que as sementes retornem ao processo de germinação (MARCOS-FILHO, 2015).

Estudos sobre condicionamento fisiológico de sementes do gênero *Brachiaria* foram encontrados somente com a espécie de *B. brizantha* como trabalho de Cardoso et al. (2014) que verificaram efeitos positivos no desempenho de sementes osmocondicionadas com KNO₃. Bonome et al. (2006) verificaram que

sementes de *B. brizantha* cv. Marandu osmocondicionadas em solução de KNO_3 apresentam maior uniformidade de germinação, quando comparado com o hidrocondicionamento.

Em muitos casos, o condicionamento fisiológico acarreta respostas positivas, pois, segundo Varier, Vari e Dadlani (2010), há expressão de genes promotores da germinação devido a alterações nas taxas de síntese e ativação de enzimas e eliminação de radicais livres. Além disso, tem-se estudado o uso de biorreguladores em conjunto a técnica de condicionamento, como os brassinosteróides e o ácido giberélico, resultando em maior tolerância das sementes em condições adversas, ocasionando benefícios à germinação (TIRYAKI e BUYUKCINGIL, 2009; ZHANG et al., 2007), principalmente por aumentar a síntese de enzimas, como a α -amilase (HAYAT e AHMAD, 2003).

Enzimas como α -amilase, começam a atuar com a realização do condicionamento, iniciando a degradação e mobilização das reservas, como amido (BEWLEY et al., 2013), e com isto há produção de açúcares que são transportados para eixo embrionário atuando como principal fornecedor de energia para o crescimento do embrião, culminando na emissão da raiz primária (TAIZ et al., 2017).

Vieira et al. (2008) estudando dormência em sementes de arroz, constataram que a α -amilase e a polifenoloxidase (PPO) são enzimas com relação direta com a dormência das sementes, enquanto a atividade da α -amilase aumenta a da polifenoloxidase diminui à medida que a dormência é superada.

A PPO é uma enzima que catalisa reações que pode ocasionar redução na atividade enzimática, como oxidação de compostos fenólicos (WHITAKER, 1972). Alguns compostos fenólicos são inibidores da germinação, inibindo o alongamento celular ou consumindo oxigênio nos processos de oxidação, restringindo a quantidade que chega ao embrião, ocasionando dormência das sementes (AHMAD et al., 2010). Segundo Zawistowski et al. (1991), a PPO fica localizada na membrana plasmática das sementes, e com a desestruturação das membranas, a enzima entra em contato com os compostos fenólicos catalisando a sua oxidação e reduzindo seu conteúdo nas sementes.

O condicionamento fisiológico, portanto, ao fornecer água para as sementes, faz com que ocorra ativação de eventos metabólicos e bioquímicos, necessários para que ocorra a germinação. Deste modo, a avaliação da atividade de enzimas

como α -amilase e polifenoloxidase, pode contribuir para a identificação de alterações ocorridas durante o condicionamento fisiológico, em relação a dormência.

As enzimas são ativadas pelo condicionamento fisiológico e a utilização de hormônios como brassinosteróides pode induzir a expressão de genes que codificam estas enzimas relacionadas a superação de dormência. Assim o biocondicionamento fisiológico, com uso de bioestimulantes pode favorecer a atividade enzimática e, conseqüentemente a germinação, como foi constatado por Hayat e Ahmad (2003) em sementes de trigo. Esses autores avaliaram efeitos de três doses de 28-homobrassinolide (controle, 10^{-10} , 10^{-8} e 10^{-6} M) e verificaram aumentos significativos na atividade de α -amilase, catalase, peroxidase, açúcares solúveis e proteínas, com reflexos na germinação.

Verificou-se, portanto, que processos metabólicos desencadeados com condicionamento fisiológico em sementes de braquiária ainda são pouco conhecidos, de modo que o biocondicionamento envolvendo promotores da germinação poderá constituir uma ferramenta importante para favorecer o desempenho de sementes de gramíneas forrageiras.

3. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida nos Laboratórios de Análise de Sementes e de Análise de Imagens (Departamento de Produção Vegetal), Biotecnologia de Alimentos e Bebidas (Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição) e de Fisiologia e Bioquímica Pós-Colheita (Departamento de Ciências Biológicas), todos da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (USP/ESALQ), em Piracicaba/SP.

As sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola foram colhidas no mês de fevereiro de 2016, em campo de produção da empresa Sementes Matsuda – Comércio e Industria Matsuda Importadora e Exportadora Ltda. (Álvares Machado/SP), no município de Álvares Machado/SP. A área, com predominância de solo Argissolo Vermelho-Amarelo, é ocupada com 20 ha de *B. humidicola* formados há mais de 10 anos; anualmente, 120 dias antes da colheita das sementes, é realizada a vedação da área, pela retirada dos animais na primeira semana de outubro; em seguida, é efetuada adubação de manutenção, em cobertura, com 50 kg de N e K₂O, nas formas de nitrato de amônio e cloreto de potássio, respectivamente.

As condições climáticas na área, foram monitoradas pela estação meteorológica do Centro de Previsão do Tempo e Estudos Climáticos (CPTEC/INPE), obtendo-se dados diários de temperatura e precipitações pluviais, durante a floração, maturação e colheita.

Foram realizados dois procedimentos de colheita: a) colheita da inflorescência inteira e b) colheita de sementes caídas ao solo (método de varredura).

No primeiro, as inflorescências foram colhidas em 03/02/2016, após a inspeção, quando, no mínimo, cinco sementes se desprendiam de cada inflorescência; foram amostradas 20 inflorescências, ao acaso na área citada. As inflorescências foram colhidas com a utilização de foice, encaminhadas a um galpão e colocadas sobre lonas durante sete dias, para secagem; após este período, praticamente todas as sementes haviam se desprendido das inflorescências e, com utilização de peneira de malha de 10 mm, foram separadas do material vegetal e encaminhadas para o beneficiamento.

Por outro lado, a colheita das sementes por varredura ocorreu 23/02/2016, quando a maior parte das sementes havia se desprendido das inflorescências e caído ao solo. Para facilitar a varredura, as plantas foram cortadas com foices, rente ao solo, e retiradas da área; logo após, realizou-se a varredura com utilização de vassouras de escova de nylon e amontoando-se o material colhido, composto de terra, sementes e restos de plantas. Esse material foi recolhido com auxílio de pá e, as sementes, separadas dos restos de plantas e torrões de terra maiores que 5 mm com utilização de peneira de malha entrelaçada, com crivos de 5 mm, sendo encaminhadas para o beneficiamento.

As sementes obtidas nos dois procedimentos de colheita foram beneficiadas utilizando máquina de ventiladores e peneiras, composta por duas peneiras: a superior, de malha quadrada com abertura de 5,6 mm e, a inferior, de malha quadrada, de 4,0 mm de abertura. Com isso, na peneira superior ficaram retidos restos de plantas e torrões com diâmetro maior que as sementes e, na inferior, as sementes e impurezas de tamanho semelhante das sementes. O material retido na peneira inferior foi conduzido à mesa gravitacional, para separação das sementes vazias e restos mais leves de plantas. Após o beneficiamento, foram obtidos cerca de 1.300 g de sementes para cada procedimento de colheita, colocados em sacos de papel Kraft, identificados e encaminhados para o Laboratório de Análise de Sementes da USP/ESALQ.

Em seguida, foi efetuada a escarificação de 650 g de sementes, para cada procedimento de colheita, mediante a imersão das sementes em ácido sulfúrico concentrado (98%) por 2 minutos. Para tanto, as sementes foram colocadas em recipiente não corrosível, cobertas com quantidade suficiente de ácido e agitadas com bastonete de vidro. Após esse período, as sementes foram colocadas imediatamente em recipiente contendo cal hidratada (CaO) para neutralizar o ácido, durante 1 minuto; em seguida, foram colocadas em becker de vidro contendo água, lavadas em água corrente por 2 minutos e secadas ao sol durante dois dias, sendo, no período noturno, cobertas com papel e guardadas no laboratório.

O período experimental foi dividido em quatro etapas: 1) avaliação inicial das sementes; 2) condicionamento fisiológico; 3) armazenamento das sementes; 4) avaliações com intervalos trimestrais (zero, três, seis e nove meses) durante o armazenamento em dois ambientes.

3.1. Avaliação inicial das sementes

Constou da análise de pureza e teste de germinação das sementes obtidas nos dois procedimentos de colheita, escarificadas ou não.

3.1.1. Análise de pureza

Determinada em uma amostra de 10 g de sementes, pesadas em balança de precisão (0,001g). As separações dos componentes (sementes puras, outras sementes e material inerte) foram realizadas com o auxílio de soprador pneumático (E. L. Erickson Products model B, serie nº 333), abertura de 6 cm, durante 2 minutos; a obtenção do componente sementes puras foi complementada por catação manual, eliminando-se torrões de terra, sementes chochas e de outras espécies. Os resultados de pureza foram expressos em porcentagem (BRASIL, 2009).

3.1.2. Teor de água

Determinado pelo método de estufa, a 105 ± 3 °C, durante 24 horas (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem (base úmida).

3.1.3. Germinação

Quatro repetições de 50 sementes foram distribuídas sobre duas folhas de papel mata-borrão, umedecidas com solução de 0,2% de nitrato de potássio (KNO_3), na quantidade de 2,5 vezes o peso do papel seco e colocadas no interior de caixas de plástico transparente (11 x 11 x 3,5 cm).

As caixas foram mantidas em BOD, sob temperatura alternada 20-35 °C. As avaliações foram efetuadas aos 7 e 21 dias após a semeadura e, a interpretação, efetuada de acordo com os critérios estabelecidos nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Computou-se a porcentagem de plântulas normais, obtendo-se dados médios para cada procedimento de colheita.

Ao final do teste de germinação, as sementes não germinadas foram cortadas longitudinalmente e imersas em solução a 0,075% de cloreto de 2,3,5-

trifenil tetrazólio, durante 2 h, a 40 °C, na ausência de luz (NOVEMBRE, CHAMMA e GOMES, 2006); após este período, as sementes foram lavadas em água corrente e determinou-se a porcentagem de sementes dormentes, que apresentavam regiões vitais do embrião coloridas.

3.2. Condicionamento fisiológico

3.2.1. Marcha de absorção de água e secagem das sementes

Foi avaliada a marcha de absorção de água de sementes escarificadas e não escarificadas, provenientes dos dois procedimentos de colheita, para determinar o teor de água das sementes ao atingir a fase III de germinação (BEWLEY e BLACK, 1994); isso é necessário para estabelecer o procedimento adequado para o condicionamento fisiológico.

Quatro repetições de 1,0 g de sementes foram distribuídas entre duas camadas de papel toalha, cada uma composta por duas folhas, umedecidas com quantidade de água correspondente a 2,5 vezes o peso do papel seco. Os papéis umedecidos foram colocados sobre telas de alumínio em caixas de plástico transparente (11,0 x 11,0 x 3,5 cm) contendo 40 mL de água, para manutenção da atmosfera úmida. As caixas foram tampadas e mantidas em câmara de germinação, a 25 °C (SILVA et al., 2015).

Para monitorar a quantidade de água absorvida, foram realizadas pesagens após 1, 2, 6, 12, 24, 48, 60, 84 e 96 horas, sendo a final efetuada no início da protrusão da raiz primária (comprimento mínimo de 1,0 mm).

O teor de água definido para o condicionamento das sementes escarificadas foi de 28 % e, para sementes não escarificadas, e de 35 %, nos materiais correspondentes aos dois procedimentos de colheita.

Para que as sementes retornassem ao teor de água inicial (8% a 9%) após o condicionamento, foram colocadas em estufa com circulação de ar, a 32 °C, durante, aproximadamente, 24 h (CARDOSO et al., 2014; SERAGUZI et al., 2014).

3.2.2. Condicionamento com biorreguladores

Foram realizados cinco tratamentos nas sementes escarificadas ou não, para os dois procedimentos de colheita: **1-** sem condicionamento e papel umedecido com água; **2-** sem condicionamento e papel umedecido com KNO_3 ; **3-** biocondicionamento com 24-epibrassinolídeo (24-EpiBL), na concentração de 10^{-8} M; **4-** biocondicionamento com ácido giberélico (GA_3), na concentração de 10^{-4} M e **5-** biocondicionamento com 24-epibrassinolídeo + GA_3 , nas concentrações de 10^{-8} e 10^{-4} M, respectivamente.

Para realização dos biocondicionamentos com 24-epibrassinolídeo, GA_3 ou 24-epibrassinolídeo + GA_3 , as sementes foram distribuídas entre duas camadas de papel toalha, cada uma composta por duas folhas, umedecidas com solução do(s) biorregulador(es), na quantidade de 2,5 vezes o peso do papel seco. Os papéis umedecidos foram colocados sobre telas de alumínio em caixas de plástico transparente (11,0 x 11,0 x 3,5 cm) contendo 40 mL de água, para manutenção da atmosfera úmida. As caixas foram tampadas e mantidas em câmara de germinação, a 25 °C, até que as sementes atingissem o teor de água definido (28 % para sementes escarificadas e 35 % para as não escarificadas). Após os biocondicionamentos, as sementes foram submetidas a secagem conforme 2.2.1 e, em seguida, armazenadas.

3.3. Armazenamento

Após os tratamentos e secagem, as sementes foram acondicionadas em sacos de papel Kraft e armazenadas em dois ambientes: a) câmara fria e seca (10 °C e 30 % UR); b) ambiente natural, com monitoramento de temperatura e umidade relativa do ar. Foram realizadas avaliações em quatro épocas (zero, três, seis e nove meses de armazenamento), mediante os testes de germinação e vigor (primeira contagem e velocidade de germinação, análise computadorizada de imagens de plântulas - SVIS®) e emergência de plântulas, além da determinação da atividade das enzimas α -amilase e polifenoloxidase no início e aos nove meses de armazenamento.

3.4. Testes

3.4.1. Germinação

Realizada conforme 2.1.3, efetuando-se contagens diárias das plântulas normais, para determinação da velocidade de germinação (MAGUIRE, 1962); computou-se, também, a porcentagem de plântulas normais aos 7 e 21 dias (BRASIL, 2009). A porcentagem de sementes dormentes por tratamento, foi determinada nas sementes não germinadas ao final do teste, mediante a avaliação da coloração do embrião, pelo teste de tetrazólio (conforme 2.1.3).

3.4.2. Análise computadorizada de imagens de plântulas (SVIS®)

Foram avaliadas oito repetições de 25 sementes, distribuídas em duas fileiras horizontais situadas no terço superior de duas folhas de papel toalha e cobertas com uma terceira folha, umedecidas previamente com quantidade de 0,2% de nitrato de potássio, equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco. Em seguida foram formados rolos, colocados em BOD e mantidos sob temperatura alternada 20-35 °C, sempre iniciando o teste com a temperatura de 35 °C, durante seis dias.

Em seguida, as imagens das plântulas foram captadas em scanner HP Scanjet 2004, montado de maneira invertida no interior de uma caixa de alumínio com 60 cm x 50 cm x 12 cm e operado por software Photosmart, com resolução de 300 dpi. As plântulas de cada repetição foram transferidas do papel toalha para uma folha de cartolina de coloração azul com 30 cm x 22 cm (correspondente ao tamanho da área útil atingida pelo scanner), colocada sobre a plataforma interna da caixa metálica. As imagens obtidas por intermédio de scanner foram salvas em pasta específica do disco rígido e, em seguida, analisadas pelo Seed Vigor Imaging System (SVIS®) instalado em computador Pentium IV, com CPU de 2,0 GHz, 768 MB RAM e HD de 40Gb, operado por sistema Windows XP Profissional. Estabeleceu previamente o comprimento máximo esperado para plântulas com 6 dias de idade, em seguida, as imagens foram processadas e gerados valores médios de uniformidade de desenvolvimento de plântulas, índice de vigor e comprimento de plântulas (expresso em centímetros) por tratamento.

3.4.3. Emergência de plântulas em areia

Foi conduzida com quatro repetições de 50 sementes por tratamento, distribuídas na superfície de uma camada de areia com dois centímetros de espessura, colocada em caixas de plástico (11,0 cm x 11,0 cm x 3,5 cm). O umedecimento inicial do substrato foi efetuado com quantidade de água correspondente a 60% da capacidade de retenção. As caixas foram expostas a temperatura normal de ambiente durante 30 dias, determinando-se a porcentagem média de emergência de plântulas por tratamento.

3.4.4. Atividade enzimática

No início e ao final do período de armazenamento, foram determinadas as atividades das enzimas α -amilase e polifenoloxidase, utilizando a técnica de espectrofotometria, com três repetições. Para tanto, 1 g de sementes de cada tratamento foi colocado em eppendorf, sendo imediatamente congelado em nitrogênio líquido e armazenado em congelador -80 °C, até o início das avaliações.

Nestas, as sementes foram retiradas do congelador e maceradas em recipiente de porcelana contendo nitrogênio líquido e, posteriormente, foram adicionados 10 mL do tampão fosfato 0,1 M, pH 6,0 + PVP a 1%, para extração das proteínas. Este extrato foi agitado durante 5 minutos e centrifugado a 8.000 rpm por 10 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi recolhido e utilizado para determinar a atividade das enzimas α -amilase e polifenoloxidase (PPO).

3.4.4.1. Atividade da enzima α -amilase

Para inativar as outras amilases e permanecer apenas a α -amilase, o sobrenadante foi incubado por 15 minutos à 70 °C e o substrato (amido solúvel a 1%) foi mantido em banho-maria a 35 °C por 5 minutos. Após este período, 0,5 mL do sobrenadante foram adicionados a 1 mL do substrato, e a amostra permaneceu em banho-maria a 35 °C por 20 minutos.

Decorridos os 20 minutos, 500 μ L da amostra foram adicionados a 500 μ L de ácido dinitrosalicílico (DNS), para inibir a reação de hidrólise do amido, sendo mantidos por 5 minutos em banho-maria (100 °C), em seguida, foram adicionados

5,0 mL de água. As leituras da α -amilase foram realizadas em espectrofotômetro a 540 nanômetros e a atividade da amilase foi calculada a partir de uma curva padrão de maltose. Uma unidade de atividade de amido (U) equivale a um micromol de produto formado por minuto nas condições de ensaio. Os resultados foram expressos em unidades de α -amilase por grama de semente ($U \cdot g^{-1}$).

3.4.4.2. Atividade da enzima polifenoloxidase

Para quantificar a polifenoloxidase (PPO), 5,5 mL de tampão fosfato 0,2 M, pH 6,0 + 1,5 mL de substrato fenólico 0,2 M (catecol) foram mantidos em banho-maria a 25 °C por 10 minutos. Após este período, 1,0 mL do sobrenadante foi adicionado ao tampão e agitado por 5 segundos; em seguida, realizaram-se as leituras da PPO com 0 e 8 minutos, em espectrofotômetro a 425 nanômetros. Os resultados foram expressos em unidades de polifenoloxidase por minuto por grama ($U_{ppo} \cdot min^{-1} \cdot g^{-1}$).

3.5. Análise Estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, separadamente para as sementes escarificadas e não escarificadas de cada procedimento de colheita. Os dados obtidos foram submetidos a análise da variância, em esquema fatorial 5 x 2 (cinco tratamentos X dois ambientes de armazenamento), com quatro repetições, com exceção para os dados de atividade enzimática (três repetições) e da análise computadorizada de imagens de plântulas - SVIS® (oito repetições), conforme esquema apresentado na Tabela 1. Para comparação das médias foi utilizado o teste de Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando o *software* SISVAR (FERREIRA, 2003).

Tabela 1. Esquema da análise da variância dos experimentos.

Causas de variação	GL (3 repetições)*	GL (4 repetições)**	GL (8 repetições)***
Tratamentos (T)	4	4	4
Armazenamento (A)	1	1	1
T x A	4	4	4
Resíduo	20	30	70
Total	29	39	79

*atividade enzimática; **germinação, primeira contagem de germinação, velocidade de germinação e emergência de plântulas; ***análise computadorizada de imagens de plântulas (SVIS®)

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Dados climáticos do local de produção

O florescimento de *Brachiaria humidicola* é concentrado e regular, ocorrendo, geralmente, no mês de dezembro (SOUZA et al., 2016). Na área de produção destinada a esta pesquisa, o florescimento teve início na segunda semana de dezembro de 2015, enquanto as colheitas das inflorescências e pelo método de varredura foram realizadas nos dias 3 e 23 de fevereiro de 2016, respectivamente. As condições climáticas entre o período de florescimento e as colheitas são apresentadas na Figura 1.

Durante o florescimento e a maturação das sementes, a disponibilidade hídrica, temperatura e radiação solar são essenciais para a formação das sementes. A falta de água, principalmente durante o florescimento, acarreta prejuízos, como diminuição do número de inflorescências e de sementes por inflorescência, devido à infertilidade de grãos de pólen e falhas na fecundação (TEIXEIRA et al., 2011). Durante a maturação, pode haver sérios prejuízos à transferência de massa seca da planta para as sementes. A distribuição de chuvas durante os períodos de florescimento e maturação, foi regular, não ocorrendo deficiência hídrica durante a formação das sementes (Figura 1).

As gramíneas de forrageiras tropicais são espécies C4 e o crescimento é estimulado quando as temperaturas se situam entre 25 e 35 °C, com limite superior de 40 a 45 °C, havendo redução de atividades metabólicas, quando inferiores a 15 °C; neste caso, pode haver redução de até 15 % na produtividade (ROCHA, 1991; RODRIGUES, 2004). Observou-se que a temperatura se manteve adequada para a cultura, com a mínima de 20 °C e a máxima de 30 °C, desde o florescimento até as colheitas.

A radiação solar excita as moléculas de clorofila das plantas, iniciando o fluxo de energia durante o processo de fotossíntese, estando diretamente ligada à taxa fotossintética e condutância estomática, sendo responsável pelo desenvolvimento e florescimento das gramíneas forrageiras (SILVA JÚNIOR et al., 2010). Durante a fotossíntese ocorre produção de carboidratos e, na fase reprodutiva, as inflorescências e as sementes se tornam os drenos preferenciais

(TAIZ et al., 2017); a falta de luz ocasiona redução no número de inflorescências e de flores férteis (CASTRO e CARVALHO, 2000).

Figura 1. Condições climáticas da área de produção localizada em Álvares Machado/SP, durante a floração, maturação e colheitas da inflorescência (03/02/2016) e por varredura (23/02/2016) de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola.

Carvalho, Freitas e Xavier (2002) estudando o efeito do sombreamento durante o florescimento de *Brachiaria*, constataram que sob 5,50 kWh/m²/dia ocorre floração, resultando em alta produtividade de sementes; no presente trabalho, a radiação solar média no período de florescimento foi de 6,49 kWh/m²/dia, favorecendo a produção das inflorescências e das sementes.

4.2. Avaliação inicial das sementes

Na Tabela 2 são apresentadas as porcentagens de pureza, material inerte e de outras sementes. A menor porcentagem de pureza foi de 90,5 % correspondente às sementes colhidas por varredura. A pureza física é um dos parâmetros incluídos nos padrões para comercialização de sementes de *Brachiaria*, onde o valor mínimo deve ser de 60 % (BRASIL, 2008); deste modo, todas as porcentagens estavam acima das recomendadas.

O material inerte identificado nas amostras colhidas por varredura consistia de restos de plantas (folhas e colmos), pedras e torrões. O componente outras sementes incluiu sementes de *Apium leptophyllum* (aipo-bravo), *Parthenium hysterophorus* (coentro do mato) e *Siegesbeckia orientalis* (botão de ouro); nenhuma dessas espécies é classificada como nociva pela legislação brasileira.

Torrões e restos de plantas (colmos e folhas) pode contribuir para reduzir a sanidade do lote de sementes de *Brachiaria*, principalmente se ocorrerem nematoides associados a estes materiais inertes (FAVORETO et al., 2006). A presença de sementes de outras espécies, além de disseminar e introduzir plantas daninhas em novas áreas ou contribuir para aumentar a infestação da própria área de produção.

Tabela 2. Pureza física, material inerte e outras sementes, presentes em amostras de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, após a colheita por varredura e na inflorescência e submetidas ou não a escarificação.

Colheita	Pureza física	Material inerte	Outras sementes
	-----%-----		
Varredura	90,5	9,4	0,1
Inflorescência	98,8	1,1	0,1
Varredura e escarificada	96,7	3,2	0,1
Inflorescência e escarificada	99,3	0,6	0,1

As sementes colhidas por varredura apresentaram menor porcentagem de pureza em comparação às colhidas das inflorescências, pois a colheita é realizada após a degrana total das sementes; com isto, há maior quantidade de material inerte com dimensões semelhantes às das sementes, com difícil retirada durante o beneficiamento (QUADROS et al., 2012). Já as sementes escarificadas após os dois procedimentos de colheita, apresentaram menor quantidade de material inerte, devido à ação do ácido sulfúrico durante o procedimento de escarificação.

Para comercialização das sementes de *Brachiaria*, além da pureza, a porcentagem de sementes viáveis é decisiva para aprovação do lote; pela legislação vigente, essa porcentagem pode ser determinada pela realização do teste de germinação ou teste de tetrazólio, devendo atingir o valor mínimo de 40 % (BRASIL, 2008).

Observando-se as médias apresentadas na Tabela 3, verificou-se que as sementes provenientes dos dois métodos de colheita estariam aptas para comercialização. Os valores resultantes da soma da porcentagem de germinação e sementes dormentes, provenientes dos dois métodos de colheita, com e sem escarificação, superaram o mínimo exigido para comercialização (40 %), sendo que as escarificadas apresentaram médias superiores às das não escarificadas.

Tabela 3. Teor de água (TA), germinação (G), sementes dormentes (D), primeira contagem de germinação (PC) e germinação + sementes dormentes (G+D), de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, colhidas por varredura e inflorescência, com e sem escarificação.

Colheita	TA (%)	G (%)	D (%)	PC (%)	G+D (%)
Varredura	8,1	31	47	24	78
Inflorescência	8,7	24	49	18	73
Varredura e escarificada	9,5	46	37	31	83
Inflorescência e escarificada	9,8	43	38	26	81

As médias de germinação e primeira contagem da germinação das sementes colhidas por varredura, escarificadas ou não, foram superiores às das colhidas das inflorescências. Segundo Maschietto, Novembre e Silva (2003) sementes provenientes da colheita por varredura apresentam maior potencial fisiológico que as colhidas das inflorescências, devido à maioria das sementes terem atingindo a maturidade fisiológica ao se desprender da planta mãe; já um lote de sementes colhidas das inflorescências apresenta sementes maduras e imaturas devido a desuniformidade de maturação (SOUZA, 2001).

Para porcentagem de sementes dormentes (Tabela 3), observou-se que a escarificação das sementes colhidas das inflorescências reduziu a porcentagem de dormência em 11 p.p.. Esta redução pode estar relacionada à retirada dos envoltórios das sementes (pálea e lema), considerados inibidores da germinação por restringirem trocas gasosas, graças à ação de inibidores; assim, compostos fenólicos presentes na lema e pálea seriam removidos com a escarificação (MESCHÉDE et al., 2004; CARDOSO 2014).

Mesmo com a escarificação química, a porcentagem de sementes dormentes foi relativamente elevada, indicando que, além dos envoltórios, pode haver outro fator determinante da dormência; segundo Usberti (1990), devido a

desuniformidade de maturação, algumas sementes do lote podem apresentar alto teor de inibidor endógeno, como o ABA e, assim, estas sementes permaneceriam dormentes até que houvesse redução do teor de ácido abscísico ao final da maturação.

O lote de sementes colhidas das inflorescências apresentou maior quantidade de sementes imaturas porque a colheita foi realizada antes de iniciar a degrana. Este fato se evidencia na germinação, onde mesmo com a escarificação química, a germinação total e primeira contagem da germinação das sementes colhidas por varredura foram superiores às da inflorescência.

4.3. Condicionamento fisiológico

A escolha do teor de água ideal para condicionamento fisiológico, foi baseada na marcha de absorção das sementes (Figura 2 e 3).

Observando a Figura 2, verificou-se que durante a embebição, as sementes não escarificadas apresentaram teor de água superior ao das sementes não escarificadas. A fase I é caracterizada por rápida absorção de água devido à diferença entre os potenciais hídricos do substrato e das sementes (MARCOS-FILHO, 2015); segundo McDonald, Sullivan e Lauer (1994), nesta fase da embebição, as sementes endospermáticas podem atingir até 35 % de água, ocorrendo absorção de água até pelas sementes dormentes.

Analisando-se as curvas de embebição (Figura 2), nota-se as sementes não escarificadas absorveram água rapidamente durante as primeiras 12 horas; neste período, o teor de água variou de 8,1 % a 33,0 %, caracterizando a fase I de embebição. As sementes escarificadas exibiram a fase I durante as seis primeiras horas de embebição; neste período, o teor de água variou 16,7 p.p., de 9,5 % para 26,2 %.

A redução da velocidade de absorção de água caracteriza a fase II de embebição (MARCOS-FILHO, 2015); nas sementes de *Brachiaria* colhidas por varredura (Figura 2), a duração desta fase foi diferente entre as sementes não escarificadas e escarificadas. Durante a embebição das sementes não escarificadas, a absorção de água foi mais lenta, e prosseguiu até as 96 horas, quando teve início da emissão da raiz primária em sementes com 38,8 % de água; o ganho de água foi de 5,8 p.p. durante a fase II. Para as sementes escarificadas, a fase II ocorreu entre

seis e 48 horas de embebição e a protrusão da raiz primária teve início em sementes com 30,1 % de água; a variação no teor de água para estas sementes na fase II foi de 3,9 p.p..

Figura 2. Teor de água (%) durante a embebição de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, colhidas por varredura, com e sem escarificação, a 25 °C.

Na Figura 3 são apresentadas as curvas de embebição das sementes colhidas das inflorescências, com e sem escarificação.

Observou-se pela curva de embebição das sementes não escarificadas, que a fase I de embebição ocorreu até as 12 horas; durante este período o teor de água aumentou de 8,7 % para 34,9 %. Após as 12 horas, teve início a fase II, com duração até as 84 horas; a emissão da raiz primária ocorreu quando as sementes apresentavam 39,9 % de água. O acréscimo de água durante as fases I e II foi de 26,7 p.p. e 5 p.p. respectivamente, mostrando a rápida transferência de água do substrato para as sementes, característica da fase I e a redução na velocidade de absorção de água durante a fase II.

Para sementes colhidas das inflorescências e escarificadas, a fase I foi mais rápida em comparação com as não escarificadas, ocorrendo nas primeiras seis horas de embebição; o teor de água aumentou de 9,8 % para 25,3 %. A fase II ocorreu a partir das seis horas e prosseguiu até 60 horas de embebição, quando teve início a emissão da raiz primária em sementes com teor de água de 39,9 %.

Figura 3. Teor de água (%) durante a embebição de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, colhidas na inflorescência, com e sem escarificação, a 25 °C.

As sementes não escarificadas absorveram maior quantidade de água que as sementes escarificadas, nos dois procedimentos de colheita; entretanto, a emissão da raiz primária das sementes não escarificadas ocorreu após a das escarificadas e com o teor de água mais elevado; a lema e a pálea restringem a entrada de água, de modo que sua remoção permite fluxo de água mais livre para o interior da semente, conseqüentemente, mais rápida a emissão da raiz primária das sementes escarificadas.

Em função das informações obtidas na marcha de absorção, identificando o teor de água que as sementes atingiram durante a fase II, foram definidos os teores de água para o condicionamento fisiológico, ou seja, de 35,0 % para sementes não escarificadas e de 28,0 % para sementes escarificadas.

Para o armazenamento ser bem sucedido, o teor de água das sementes de *Brachiaria* deve ser inferior a 12 % (SOUZA et al., 2016); com a realização do condicionamento fisiológico, o teor de água das sementes era superior a 28 % e, por isso, houve necessidade de secagem. Deste modo, após as realizações dos condicionamentos, as sementes foram colocadas em estufa regulada a 32 °C, durante 24 h (Tabela 4), para definir o tempo ideal de secagem.

Tabela 4. Teor de água (%) de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, colhidas por varredura e inflorescência, com e sem escarificação, expostas a diferentes períodos de secagem, a 32 °C.

Períodos de secagem (horas)	Teor de água (%)			
	Varredura	Varredura e escarificada	Inflorescência	Inflorescência e escarificada
0	34,8	28,7	35,2	27,9
2	22,6	21,0	22,9	20,8
6	14,7	14,5	14,1	14,7
12	10,1	9,9	10,4	9,5
20	9,0	9,4	9,9	8,8
24	8,7	8,6	9,0	8,2

Verificou-se na Tabela 4 que, após 24 horas de secagem, mesmo as sementes não escarificadas, que apresentavam alto teor de água após o condicionamento fisiológico, atingiram teor de água de 8,7 a 9,0 %, sendo ideal o período de secagem por 24 horas.

Definido o teor de água para o condicionamentos e período a ser utilizado pó-condicionamento, foram realizados os biocondicionamentos com 24-epibrassinolídeo (24-EpiBL), ácido giberélico (GA₃) e com 24-epibrassinolídeo + GA₃.

4.4. Armazenamento

As temperaturas máximas, mínimas e médias e umidade relativa do ar, nos dois ambientes, durante os nove meses de armazenamento, encontram-se na Tabela 5.

Em câmara fria e seca (A1) a temperatura máxima foi de 13,3 °C a 14,0 °C e a mínima, de 9,0 °C a 10,0 °C durante os nove meses de armazenamento, enquanto a temperatura média não foi superior a 11,9 °C, e a umidade relativa do ar foi de 22,0% a 28,0 % nestes meses. O ambiente natural (A2) apresentou maior variação das temperaturas e na umidade relativa do ar em relação ao A1. A temperatura máxima foi de 24,6 °C até 33,0 °C, já a mínima de 14,6 °C a 22,1 °C, a umidade relativa do ar em todos os meses foi superior a 50,8 %, chegando a 74,2 %.

Tabela 5. Temperaturas máximas (T_{máx}), mínimas (T_{mín}) e médias (T_{média}) e umidade relativa do ar (UR) mensais durante o período de armazenamento das sementes de *Brachiaria humidicola* em câmara fria e seca (A1) e ambiente natural (A2).

Meses	Ambientes							
	A1 (câmara fria seca)				A2 (ambiente natural)			
	T _{máx} (°C)	T _{mín} (°C)	T _{média} (°C)	UR (%)	T _{máx} (°C)	T _{mín} (°C)	T _{média} (°C)	UR (%)
Fevereiro	13,3	9,1	11,2	22,0	33,0	22,1	27,3	65,6
Março	13,6	9,0	11,3	22,1	28,8	22,0	25,5	69,4
Abril	13,7	9,3	11,5	22,9	27,8	20,8	24,0	69,2
Maio	14,0	9,6	11,8	26,3	24,6	19,1	22,0	74,2
Junho	13,9	9,9	11,9	27,0	25,2	16,6	20,2	71,1
Julho	13,6	10,0	11,8	27,7	23,3	14,6	19,6	62,3
Agosto	13,8	10,0	11,9	28,0	25,8	15,7	21,1	64,4
Setembro	13,7	9,7	11,7	27,0	30,1	19,3	25,0	50,8
Outubro	13,3	9,5	11,4	25,1	31,5	20,6	25,5	65,2
Novembro	13,3	9,9	11,6	25,8	28,0	20,9	24,3	65,0

Para manutenção do potencial fisiológico das sementes de grandes culturas durante o armazenamento, a soma da umidade relativa do ar (%) e temperatura (°C) não deve ultrapassar 80, para um período de 8 a 10 meses de armazenamento, que corresponderia ao armazenamento em ambiente natural; para o período de 12 a 18 meses a soma desses valores não deve ultrapassar 65, em ambiente controlado (câmara seca); para 3 a 5 anos, a soma deve ser de, no máximo, 55, que corresponderia ao armazenamento das sementes em câmara fria e seca (DELOUCHE et al., 1973).

Segundo essas informações, a soma da temperatura e umidade relativa do ar do ambiente de câmara fria e seca (A1), seria de 37, com isto a manutenção do potencial fisiológico das sementes neste ambiente duraria vários anos. Para o ambiente natural (A2) a temperatura nos nove meses de armazenamento foi de 23,5 °C e umidade relativa do ar média de 65,7 % e, segundo as indicações de Delouche et al. (1973), a manutenção do potencial fisiológico nestas condições seria de 12 a 18 meses.

Dentre os fatores que afetam a conservação de sementes, a umidade relativa do ar e a temperatura são de grande importância, pois caso sejam desfavoráveis, causam redução do potencial fisiológico das sementes. Entretanto, há trabalhos com sementes de *Brachiaria*, em que os autores observaram que no decorrer do período de armazenamento em ambiente natural, a porcentagem de

germinação aumentou; este fato pode estar diretamente relacionado a dormência das sementes deste gênero (VIEIRA; SILVA; BARROS, 1998; CÂMARA; STACCIARINI-SERAPHIN, 2002; COSTA; ARAÚJO; BÔAS, 2011). Segundo estes autores, no decorrer do período de armazenamento, os envoltórios das sementes de *Brachiaria*, considerados inibidores da germinação, vão se deteriorando, ocorrendo superação da dormência; além disto, outra causa provável de dormência nas sementes de *Brachiaria* é o alto teor de ABA no embrião.

Segundo Taiz et al. (2017), há sementes que necessitam permanecer armazenadas em ambiente seco, com temperaturas de 20 °C a 30 °C para superação da dormência; com o decorrer do tempo o teor de ABA vai diminuindo, ocorrendo equilíbrio com a giberelina, resultando na germinação das sementes.

4.5. Avaliações das sementes armazenadas

4.5.1. Sementes colhidas por varredura

Na Tabela 6, são apresentadas as análises da variância dos dados de sementes colhidas por varredura e não escarificadas, antes do armazenamento. Os valores de F foram significativos para ambientes de armazenamento e tratamentos para a germinação, sementes dormentes, primeira contagem de germinação e velocidade de germinação, comprimento de plântulas e emergência de plântulas; para a uniformidade de desenvolvimento de plântulas e índice de vigor não houve efeito significativo.

Os teores de água das sementes foram de 9,2 % a 8,4 %, considerados adequados para o armazenamento, pois segundo Souza et al. (2016) o armazenamento adequado de sementes de *Brachiaria* deve ser inferior a 12 % de água.

Verificou-se para a germinação, porcentagem de sementes dormentes, primeira contagem da germinação e velocidade de germinação, o tratamento com KNO₃ foi estatisticamente semelhante aos biocondicionamentos, diferindo da testemunha (Tabela 6).

Para comercialização, a porcentagem de sementes germinadas deve ser superior a 40 %; os tratamentos com KNO₃ e com os biocondicionamentos com BR, GA₃ e BR + GA₃, proporcionaram médias superiores a 49 % de sementes

germinadas, diferindo estatisticamente das sementes sem tratamento (testemunha), apresentando 29 % de germinação. Isto indica que o uso de KNO_3 e os biocondicionamentos com BR, GA_3 e BR + GA_3 foram capazes de superar a dormência das sementes, atingindo o mínimo necessário para a comercialização das sementes de *Brachiaria humidicola*, além de maior velocidade de germinação.

Tabela 6. Valores médios de germinação, dormência, primeira contagem de germinação (PC), velocidade de germinação, comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas e índice de vigor determinados em análises SVIS® e emergência de plântulas, a partir de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, colhidas por varredura e não escarificadas, antes do armazenamento.

Tratamento	TA (%)	Germinação (%)	Dormência (%)	PC (%)	IVG
Testemunha	8,4	29 B	50 B	20 B	3,71 B
KNO_3	8,4	50 A	24 A	45 A	6,04 A
Cond. BR	8,7	53 A	27 A	49 A	6,30 A
Cond. GA	9,2	52 A	18 A	50 A	6,59 A
Cond. BR+GA	9,0	49 A	26 A	46 A	6,40 A
C.V. (%)	-	16,24	33,89	22,40	22,00
Tratamentos	Comprimento (SVIS®) cm	Uniformidade (SVIS®)	Índice de Vigor (SVIS®)	Emergência de plântulas (%)	
Testemunha	7,91 B	453 A	509 A	15 AB	
KNO_3	5,05 D	533 A	585 A	-	
Cond. BR	5,07 D	505 A	476 A	12 B	
Cond. GA	9,16 A	524 A	437 A	24 A	
Cond. BR+GA	6,69 C	492 A	489 A	17 AB	
C.V. (%)	9,04	11,39	18,49	34,20	

Letras maiúscula: comparação entre médias dentro de cada coluna (Teste de Tukey, $p \leq 0,05\%$). Testemunha: papel umedecido com água; KNO_3 : papel umedecido com KNO_3 ; Cond. BR: condicionadas com 24-epibrassinolídeo; Cond. GA: condicionadas com GA_3 ; Cond. BR+GA: condicionadas com 24-epibrassinolídeo e GA_3 .

O biocondicionamento tem função de sincronizar a germinação, ocorrendo germinação mais rápida e uniformidade de desenvolvimento de plântulas; além disto, há trabalhos como de Usberti e Valio (1997) que verificaram em *Panicum maximum*, que o condicionamento com PEG 6000 superou a dormência das sementes, principalmente das não escarificadas com ácido sulfúrico. Verificou-se que, quando foi utilizado o biocondicionamento, houve superação de dormência e maior velocidade de germinação.

O KNO_3 é um promotor químico, recomendando pelas Regras para Análise de Sementes, que afeta positivamente a germinação, pois atua no processo oxidativo do ciclo da pentose fosfato, sintetizando coenzimas, como acetil Co A, utilizada no ciclo de Krebs, o qual sintetiza ATP que fornece energia para formação de novos tecidos, indispensáveis no processo de germinação (COPELAND e McDONALD, 1995); com maior energia liberada ocorre superação da dormência das sementes, como verificado na Tabela 6.

As sementes biocondicionadas com GA_3 originaram plântulas maiores, diferindo significativamente dos demais tratamentos. Tal fato está ligado à giberelina ser hormônio promotor da germinação, atuando no processo de crescimento das plântulas (TAIZ et al., 2017).

Na primeira época de avaliação de emergência de plântulas, antes do armazenamento das sementes, as temperaturas na casa de vegetação foram máxima de 33,0 °C, mínima de 22,1 °C e média de 27,6 °C, com umidade relativa do ar média de 70,9 %; nestas condições, verificou-se maior emergência de plântulas das sementes biocondicionadas com GA_3 , não diferindo estatisticamente do biocondicionamento com BR + GA_3 e testemunha.

As temperaturas na casa de vegetação, antes das sementes serem armazenadas, estimulam a germinação e desenvolvimento de plântulas de *Brachiaria*; no entanto, observou-se valores significativamente inferiores aos da germinação; tal fato pode estar relacionado à condição ótima de temperatura ao qual o teste de germinação é conduzido, garantindo a máxima germinação das sementes.

Após três meses de armazenamento, Tabela 7, verificou-se pelas análises da variância que a interação ambientes de armazenamento e tratamentos foi significativa para porcentagem de sementes dormentes, primeira contagem de germinação, velocidade de germinação, comprimento de plântulas e índice de vigor; os efeitos de tratamentos e ambientes de armazenamento foi significativo para germinação, uniformidade de desenvolvimento de plântulas e emergência de plântulas.

O teor de água das sementes em câmara fria e seca foi inferior ao das sementes mantidas em ambiente natural, mas para ambos ambientes, o teor de água foi adequando para o armazenamento, pois foi inferior a 12 % de água.

A porcentagem de germinação das sementes armazenadas em câmara fria e seca foi estatisticamente diferente do ambiente natural; indicando que o

armazenamento em condições controladas de temperatura e umidade relativa do ar, foi favorável para manutenção do potencial fisiológico das sementes. Em relação aos tratamentos, os biocondicionamentos não diferiram estatisticamente do tratamento com KNO_3 , apresentando médias superiores a 55 % de sementes germinadas, enquanto a testemunha apresentou média de 24 % de germinação.

Sabe-se que baixa temperatura e umidade relativa do ar, são favoráveis para manutenção do potencial fisiológico das sementes por vários anos, pela diminuição da velocidade de deterioração das sementes (DELOUCHE et al., 1973). Segundo Webb et al. (1973), o emprego de baixa temperatura é relacionado com alterações no equilíbrio entre hormônios promotores e inibidores do crescimento, ocorrendo favorecimento na superação da dormência causada pelo desequilíbrio hormonal.

As sementes armazenadas em câmara fria e seca apresentaram menor porcentagem de dormência, indicando que temperatura de 11,3 °C e umidade relativa do ar de 22,0 % (Tabela 5), foram favoráveis para reduzir a porcentagem de sementes dormentes, em comparação ao ambiente natural.

Na primeira contagem de germinação, verificou-se que sementes tratadas com KNO_3 e biocondicionadas com BR, GA_3 e BR + GA_3 apresentaram maiores médias, diferindo da testemunha; em ambiente natural, as sementes biocondicionadas com GA_3 e BR + GA_3 se destacaram, com as maiores médias, sendo estatisticamente diferentes aos demais tratamentos, mas observou-se que o armazenamento em câmara fria e seca, para todos os tratamentos, apresentou maiores valores de primeira contagem, diferindo do ambiente natural.

Para velocidade de germinação, observou-se a mesma tendência dos dados obtidos na primeira contagem de germinação, com mudança para sementes que permaneceram em ambiente natural (A2), com maior velocidade de germinação para as sementes biocondicionadas com BR, GA_3 e BR + GA_3 , em relação às sementes da testemunha e KNO_3 .

As sementes armazenadas em câmara fria e seca originaram plântulas mais uniformes, em comparação o armazenamento em ambiente natural. Para os tratamentos, após três meses de armazenamento, as plântulas originárias de sementes biocondicionadas com BR, GA_3 e BR + GA_3 foram mais uniformes que as plântulas provenientes das sementes da testemunha e das tratadas com KNO_3 .

Tabela 7. Valores médios de germinação, dormência, primeira contagem de germinação (PC), velocidade de germinação, comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas e índice de vigor determinados em análises SVIS® e emergência de plântulas, a partir de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, **colhidas por varredura e não escarificadas**, armazenadas em câmara fria e seca (A1) e ambiente natural com monitoramento de temperatura e umidade relativa do ar (A2), após três meses de armazenamento.

Tratamentos	TA (%)		Germinação (%)			Dormência (%)			PC (%)			IVG		
	A1	A2	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média
Testemunha	8,2	9,0	30	19	24 B	40 Ba	43 Ba	42	23 Ba	4 Cb	13	2,78 Ba	0,99 Cb	1,88
KNO ₃	8,3	9,1	65	51	58 A	10 Aa	23 Ab	16	59 Aa	14 BCb	36	6,98 Aa	2,47 Bb	4,73
Cond. BR	8,3	8,9	63	60	61 A	13 Aa	15 Aa	14	55 Aa	17 BCb	36	6,38 Aa	3,47 ABb	4,93
Cond. GA	8,5	9,4	57	53	55 A	9 Aa	20 Ab	15	51 Aa	25 ABb	38	6,17 Aa	4,12 Ab	5,14
Cond. BR+GA	8,4	9,1	64	49	57 A	10 Aa	23 Ab	16	56 Aa	34 Ab	45	7,09 Aa	4,25 Ab	5,67
Média	-	-	56 a	46 b	-	16	24	-	49	19	-	5,88	3,06	-
C.V. (%)	-		10,64			22,98			19,39			15,85		

Tratamentos	Comprimento (SVIS®) cm			Uniformidade (SVIS®)			Índice de Vigor (SVIS®)			Emergência de plântulas (%)		
	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média
Testemunha	6,98 Da	6,39 Ca	6,68	449	424	436 B	632 Ba	290 Bb	461	10	12	11 B
KNO ₃	7,46 Da	7,37 Ba	7,42	457	436	446 B	362 Ca	261 Bb	312	-	-	-
Cond. BR	8,97 Ca	8,93 Aa	8,95	602	507	555 A	735 ABa	590 Ab	663	9	11	10 B
Cond. GA	10,01 Ba	9,79 Aa	9,90	526	532	529 A	737 ABa	633 Ab	685	21	16	18 A
Cond. BR+GA	10,99 Aa	9,59 Aa	10,29	568	536	552 A	771 Aa	679 Ab	725	17	20	18 A
Média	8,88	8,41	-	520 a	487 b	-	648	491	-	14 a	14 a	-
C.V. (%)	6,78			10,94			14,48			26,25		

Letras maiúsculas: comparação entre médias dentro de cada coluna; minúsculas: comparação entre médias dentro de cada linha (Teste de Tukey, $p \leq 0,05\%$). Testemunha: papel umedecido com água; KNO₃: papel umedecido com KNO₃; Cond. BR: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo; Cond. GA: Condicionadas com GA₃; Cond. BR+GA: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo e GA₃.

Verificou-se que sementes biocondicionadas com BR + GA₃, em câmara fria e seca, originaram plântulas maiores, diferindo dos demais tratamentos e, em ambiente natural, as sementes biocondicionadas com BR, GA₃ e BR + GA₃ diferiram do tratamento com KNO₃ e testemunha, originando plântulas de maior comprimento. Entretanto, ao contrário dos demais testes, não houve diferença estatística entre os ambientes de armazenamento.

Como visto na Tabela 5, o armazenamento em câmara fria e seca, pela soma da temperatura e umidade relativa do ar, tende a manter o potencial fisiológico das sementes por vários anos (DELOUCHE et al., 1973) e, após três meses de armazenamento, verificou-se tal fato, com maiores médias de germinação, primeira contagem e velocidade de germinação, uniformidade de desenvolvimento de plântulas e índice de vigor das sementes que permaneceram em câmara fria e seca.

Diferentemente do que ocorreu para as avaliações conduzidas inicialmente, após três meses de armazenamento foi possível observar, principalmente nos testes de vigor, que biocondicionamentos foram melhores que o KNO₃ e testemunha, com destaque para o biocondicionamento com BR + GA₃, nos dois ambientes de armazenamento.

De acordo com a teoria do balanço hormonal, a quantidade de GA₃ e ABA é um determinante primário da dormência e da germinação da semente; se a quantidade de ABA nas sementes é maior que a de GA, há dormência nas sementes, pois o ABA inibe a síntese de enzimas hidrolíticas induzidas pelo GA, que são essenciais para a decomposição das reservas armazenadas na sementes, como α -amilase (TAIZ, et al., 2017).

Há constatações que os BRs agem inibindo a ação do ABA, através da rota de sinalização de tradução de ABA, indicando ação favorável ao metabolismo de germinação e superação da dormência pela diminuição do teor de ABA (ZHANG, CAI e WANG, 2009; XI e YU, 2010).

Para emergência de plântulas, assim como ocorreu para os testes de vigor apresentados na Tabela 7, as sementes biocondicionadas com GA₃ e BR + GA₃ apresentaram maior porcentagem de plântulas emergidas, em relação aos demais tratamentos.

Verificou-se que as médias de emergência de plântulas antes das sementes serem armazenadas (Tabela 6) foram superiores às obtidas aos três meses de armazenamento. Durante a condução da emergência de plântulas após três meses

de armazenamento, a temperatura máxima na casa de vegetação foi de 24,9 °C, mínima de 16,6 °C, média de 20,8 °C e umidade relativa média de 81,3 %; segundo Rodrigues (2004), temperaturas inferiores a 20,0 °C são desfavoráveis para o desenvolvimento das plântulas de *Brachiaria* e isto pode explicar a baixa emergência de plântulas nesse período.

As análises da variância dos dados obtidos de sementes colhidas por varredura e não escarificadas, após seis meses de armazenamento, Tabela 8, revelaram que para a germinação, sementes dormentes, primeira contagem de germinação, velocidade de germinação, comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas, índice de vigor e emergência de plântulas, apresentados na Tabela 8, os valores de F foram significativos para interação ambientes de armazenamento e tratamentos.

O teor de água manteve-se adequado para o armazenamento, inferior a 12 %, com maior teor de água para sementes armazenadas em ambiente natural, devido à maior umidade relativa do ar, em comparação com ambiente da câmara fria e seca (Tabela 5).

Após seis meses de armazenamento, a máxima germinação foi das sementes biocondicionadas com BR e armazenadas em câmara fria e seca, sendo estatisticamente semelhante à germinação das sementes tratadas com KNO₃ sendo diferentes dos demais tratamentos. Em ambiente natural, as sementes biocondicionadas com GA₃ apresentaram 62 % de germinação, não diferindo do tratamento com KNO₃ e biocondicionamento com BR + GA₃, com médias respectivamente de 59 % e 56 %.

Dentre os dois ambientes de armazenamento, as sementes que permaneceram em câmara fria e seca apresentaram maiores médias de germinação, indicando que temperatura e umidade relativa do ar mais baixas foram favoráveis para a germinação das sementes, principalmente para a testemunha, que apresentou 47 % de sementes germinadas.

Verificou-se, portanto, que após seis meses de armazenamento em câmara fria e seca, sementes sem tratamento, apresentaram valor superior a 40 %, que é o valor mínimo necessário para comercialização das sementes de *Brachiaria humidicola*, isto é devido a superação de dormência que foi favorecida por este ambiente, com redução de 35 p.p. em relação às sementes armazenadas em ambiente natural.

Tabela 8. Valores médios de germinação, dormência, primeira contagem de germinação (PC), velocidade de germinação, comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas e índice de vigor determinados em análises SVIS® e emergência de plântulas, a partir de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, **colhidas por varredura e não escarificadas**, armazenadas em câmara fria e seca (A1) e ambiente natural com monitoramento de temperatura e umidade relativa do ar (A2), após seis meses de armazenamento.

Tratamentos	TA (%)		Germinação (%)			Dormência (%)			PC (%)			IVG		
	A1	A2	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média
Testemunha	8,4	9,1	47 Ca	14 Cb	31	15 Ba	50 Bb	32	46 Ba	10 Cb	28	5,06 Ba	1,20 Bb	3,13
KNO ₃	8,2	8,9	70 ABa	59 ABb	64	5 Aa	6 Aa	5	64 Aa	33 Bb	48	7,11 Aa	4,03 Ab	5,57
Cond. BR	8,1	8,8	73 Aa	51 Bb	62	3 Aa	10 Ab	6	61 Aa	35 ABb	48	6,87 Aa	4,44 Ab	5,65
Cond. GA	8,0	9,0	62 Ba	62 Aa	62	5 Aa	8 Aa	6	58 Aa	43 Ab	50	6,44 Aa	4,90 Ab	5,67
Cond. BR+GA	8,3	9,1	63 Ba	56 ABb	59	4 Aa	5 Aa	4	59 Aa	40 ABb	50	6,70 Aa	4,61 Ab	5,65
Média	-	-	63	48	-	6	16	-	57	32	-	6,43	3,84	-
C.V. (%)	-		7,57			31,10			11,18			9,91		

Tratamentos	Comprimento (SVIS®) cm			Uniformidade (SVIS®)			Índice de Vigor (SVIS®)			Emergência de plântulas (%)		
	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média
Testemunha	6,75 Aa	5,20 Bb	5,98	546 Ba	398 Cb	472	642 ABa	544 BCb	593	2 Ca	3 Ba	3
KNO ₃	6,42 Aa	5,25 Bb	5,83	656 Aa	479 ABb	567	658 Aa	539 Cb	599	-	-	-
Cond. BR	7,00 Aa	5,20 Bb	6,10	490 BCa	435 BCb	463	642 ABa	482 Cb	562	11 ABa	6 Bb	9
Cond. GA	6,62 Aa	6,11 ABa	6,36	492 BCb	522 Aa	507	579 Ba	610 Aa	595	8 Bb	15 Aa	11
Cond. BR+GA	6,32 Aa	6,52 Aa	6,42	481 Cb	527 Aa	504	586 Ba	607 ABa	597	14 Aa	15 Aa	14
Média	6,62	5,66	-	533	472	-	622	556	-	8	9	-
C.V. (%)	11,03			7,51			7,29			24,12		

Letras maiúsculas: comparação entre médias dentro de cada coluna; minúsculas: comparação entre médias dentro de cada linha (Teste de Tukey, $p \leq 0,05\%$). Testemunha: papel umedecido com água; KNO₃: papel umedecido com KNO₃; Cond. BR: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo; Cond. GA: Condicionadas com GA₃; Cond. BR+GA: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo e GA₃.

As médias da porcentagem de sementes dormentes dos tratamentos com KNO_3 e biocondicionamentos com BR, GA_3 e BR + GA_3 foram estatisticamente semelhantes para os dois ambientes de armazenamento, com médias inferiores às das sementes da testemunha.

Na primeira contagem de germinação, o armazenamento em câmara fria e seca foi melhor em relação ao ambiente natural, apresentando maior porcentagem de sementes germinadas ao sete dias, com destaque para os tratamentos com KNO_3 e biocondicionamentos com BR, GA_3 e BR + GA_3 , que obtiveram maiores médias, diferindo da testemunha.

O armazenamento em ambiente natural apresentou maior oscilação de temperatura e umidade relativa do ar, em relação à câmara fria e seca (Tabela 5); nestas condições, verificou-se pela primeira contagem de germinação, que as sementes biocondicionadas com BR, GA_3 e BR + GA_3 , diferiram das sementes da testemunha e do tratamento com KNO_3 , apresentando maiores médias, indicando que o uso de biorreguladores juntamente com a técnica de condicionamento se destacou quando temperatura e umidade relativa do ar foram mais altas.

Para a velocidade de germinação, as sementes dos tratamentos com KNO_3 e biocondicionamentos com BR, GA_3 e BR + GA_3 , armazenadas em câmara fria e seca, apresentaram maior velocidade de germinação em relação ao ambiente natural e a testemunha.

Pelos dados de comprimento de plântulas, verificou-se que sementes armazenadas em câmara fria e seca, originaram plântulas maiores em comparação com ambiente natural, não havendo diferença entre os tratamentos. Em ambiente natural, verificou-se que os biocondicionamentos com GA_3 e BR + GA_3 apresentaram maiores médias de comprimento, diferindo dos demais tratamentos.

Para a uniformidade de desenvolvimento de plântulas, as sementes armazenadas em câmara fria e seca, do tratamento com KNO_3 , originaram plântulas mais uniformes, sendo estatisticamente diferentes dos demais tratamentos. Em ambiente natural, houve diferença estatística, com destaque para as sementes biocondicionadas com GA_3 e BR + GA_3 que originaram plântulas mais uniformes.

As sementes biocondicionadas com GA_3 e BR + GA_3 , para o índice de vigor, foram estatisticamente semelhantes nos dois ambientes de armazenamento, sendo que em ambiente natural, esses tratamentos apresentaram maiores médias, diferindo da testemunha, KNO_3 e biocondicionamento com BR.

Há trabalhos que relatam que os BRs e ácido giberélico utilizados no condicionamento ocasionam benefícios à germinação em condições adversas, como temperaturas altas (TIRYAKI e BUYUKCINGIL, 2009), e pode-se verificar na primeira contagem de germinação, comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas e índice de vigor, que as sementes armazenadas em ambiente com maior temperatura e umidade relativa do ar (A2), os biocondicionamentos, principalmente com GA₃ e BR + GA₃ foram superiores aos demais tratamentos.

No período de condução da emergência de plântulas aos seis meses, as temperaturas na casa de vegetação foram máxima de 23,1 °C, mínima de 14,4 °C e média de 18,8 °C com umidade relativa média de 68,4 %. O gênero *Brachiaria* são gramíneas forrageiras tropicais, e durante a germinação e emergência de plântula, temperatura média inferior a 20 °C afeta negativamente o desenvolvimento e estabelecimento da plântula (RODRIGUES, 2004).

Durante a condução da emergência em areia, pode-se inferir que a temperatura foi fator limitante da emergência de plântulas, pois a temperatura média foi de 18,8 °C. No entanto, verificou-se que em condições não favoráveis as sementes armazenadas em câmara fria e seca, dos biocondicionamentos com GA₃ e BR + GA₃ se destacara, com maior porcentagem de sementes emergidas.

Zhang et al. (2007) relataram que os condicionamentos com bioestimulantes promoveram maior tolerância das sementes de alfafa ao estresse e, após seis meses de armazenamento, observam-se maiores médias, nos testes de vigor, das sementes biocondicionadas em relação às sem condicionamento, armazenadas em ambiente natural.

Na Tabela 9 são apresentados os dados obtidos nas avaliações do teor de água, germinação, sementes dormentes, primeira contagem de germinação, velocidade de germinação, comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas, índice de vigor e emergência de plântulas, após nove meses de armazenamento. Para todas avaliações análise da variância revelou valores de F significativos para a interação ambientes de armazenamento e tratamentos.

O teor de água, após nove meses de armazenamento, foram inferiores a 12,0 %, considerados adequados em ambos ambientes de armazenamento.

Tabela 9. Valores médios de germinação, dormência, primeira contagem de germinação (PC), velocidade de germinação, comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas e índice de vigor determinados em análises SVIS® e emergência de plântulas, a partir de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, **colhidas por varredura e não escarificadas**, armazenadas em câmara fria e seca (A1) e ambiente natural com monitoramento de temperatura e umidade relativa do ar (A2), após nove meses de armazenamento.

Tratamentos	TA (%)		Germinação (%)			Dormência (%)			PC (%)			IVG		
	A1	A2	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média
Testemunha	8,3	9,0	50 Ba	35 Bb	42	22 Ba	37 Bb	29	45 Ba	32 Cb	38	5,17 Ba	3,43 Cb	4,30
KNO ₃	8,2	9,1	67 Aa	69 Aa	68	6 Aa	7 Aa	6	63 Aa	64 Aa	64	7,20 Aa	6,92 Aa	7,06
Cond. BR	8,4	9,4	73 Aa	65 Ab	69	10 Aa	5 Aa	7	58 Aa	55 ABa	56	7,20 Aa	6,60 Aa	6,90
Cond. GA	8,1	9,2	66 Aa	64 Aa	65	6 Aa	9 Aa	8	63 Aa	50 Bb	56	7,39 Aa	5,40 Bb	6,39
Cond. BR+GA	8,6	9,0	66 Aa	67 Aa	66	6 Aa	10 Aa	8	64 Aa	49 Bb	56	7,58 Aa	5,49 Bb	6,53
Média	-	-	64	60	-	10	14	-	59	50	-	6,91	5,57	-
C.V. (%)	-		6,32			27,22			10,35			8,62		

Tratamentos	Comprimento (SVIS®) cm			Uniformidade (SVIS®)			Índice de Vigor (SVIS®)			Emergência de plântulas (%)		
	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média
Testemunha	8,09 Aa	4,17 Cb	6,13	583 Ba	334 Db	458	739 CDa	251 Db	495	18 Ba	12 Cb	15
KNO ₃	6,64 Ba	6,77 Aa	6,70	614 ABa	498 Bb	556	695 Da	601 Ab	648	-	-	-
Cond. BR	8,24 Aa	5,47 Bb	6,86	586 Ba	399 Cb	492	775 Ba	362 Cb	569	11 Cb	17 Ba	14
Cond. GA	8,15 Aa	7,20 Ab	7,67	659 Aa	555 Ab	607	798 Aa	586 Ab	692	19 Bb	27 Aa	23
Cond. BR+GA	7,95 Aa	5,06 BCb	6,50	586 Ba	436 Cb	511	739 CDa	521 Bb	630	24 Aa	24 Aa	24
Média	7,81	5,73	-	605	444	-	749	464	-	18	20	-
C.V. (%)	9,01			7,05			4,88			12,30		

Letras maiúsculas: comparação entre médias dentro de cada coluna; minúsculas: comparação entre médias dentro de cada linha (Teste de Tukey, $p \leq 0,05\%$). Testemunha: papel umedecido com água; KNO₃: papel umedecido com KNO₃; Cond. BR: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo; Cond. GA: Condicionadas com GA₃; Cond. BR+GA: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo e GA₃.

Para porcentagem de germinação e sementes dormentes, após nove meses de armazenamento nos dois ambientes, o tratamento com KNO_3 foi estatisticamente semelhante aos biocondicionamentos com BR, GA_3 e BR + GA_3 . Para as sementes da testemunha, verificou-se que a porcentagem de dormência foi menor e a de germinação maior, quando as sementes foram armazenadas em câmara fria e seca, sendo significativamente diferente ao ambiente natural.

Na primeira contagem de germinação e velocidade de germinação, não houve diferença dos tratamentos com KNO_3 e biocondicionamentos com BR, GA_3 e BR + GA_3 , ocorrendo maior velocidade de germinação para esses tratamentos em relação à testemunha, em câmara fria e seca. Em ambiente natural, após nove meses de armazenamento, as sementes dos tratamentos com KNO_3 e biocondicionamento com BR apresentaram maior velocidade de germinação, diferindo dos demais tratamentos.

O comprimento das plântulas originadas das sementes tratadas com KNO_3 e armazenadas em câmara fria e seca, apresentaram menores médias, em relação aos demais tratamentos. Entretanto, esse tratamento em ambiente natural, juntamente com o biocondicionamento com GA_3 apresentaram plântulas maiores em relação aos demais tratamentos, indicando que o comprimento de plântulas originárias de sementes que permaneceram em câmara fria e seca, foram superiores as armazenadas em ambiente natural.

Após nove meses de armazenamento (Tabela 9) as médias de uniformidade de desenvolvimento de plântulas e índice de vigor para sementes armazenadas em câmara fria e seca, foram superiores em ao ambiente natural, com destaque para sementes biocondicionadas com GA_3 , com maior média de uniformidade de plântulas e índice de vigor.

Em ambiente natural, as médias foram inferiores em relação ao armazenamento em câmara fria e seca, em todos os testes realizados. As condições adequadas de armazenamento são preferencialmente temperaturas amenas e baixa umidade relativa do ar (MARCOS-FILHO, 2015), mas ao ocorrer maior estresse, como temperatura e umidade relativa do ar elevadas durante os nove meses de armazenamento (A2), sementes biocondicionadas com GA_3 se destacaram em relação aos demais tratamentos, apresentando maiores médias.

Pelos dados de emergência de plântulas aos nove meses de armazenamento, verificam-se valores superiores às demais épocas de

armazenamento; na câmara fria e seca a maior média foi para o biocondicionamento com BR + GA₃ e para ambiente natural, além do BR + GA₃, o biocondicionamento com GA₃ também diferiu estatisticamente dos demais tratamentos.

Após nove meses de armazenamento a instalação do teste de emergência de plântulas, ocorreu na última semana de outubro; durante a condução do teste as temperaturas na casa de vegetação foram máxima de 30,8 °C e mínima de 19,1 °C, com umidade relativa do ar média de 71,9 %. O aumento da temperatura favoreceu a germinação e emergência das plântulas e, segundo Souza et al. (2016), a época ideal de semeadura de *Brachiaria humidicola* é de novembro a fevereiro, devido às chuvas e principalmente às temperaturas favoráveis.

Uma visão geral do comportamento das sementes colhidas por varredura e não escarificadas, em cada ambiente de armazenamento, para germinação e sementes dormentes, encontra-se ilustrada na Figura 4.

No armazenamento em câmara fria e seca, a germinação foi crescente durante os períodos de avaliação, sendo que a partir do sexto mês de armazenamento, as sementes da testemunha apresentaram germinação acima de 40 %.

O armazenamento em ambiente natural, em relação à câmara fria e seca, apresentou maior oscilação das médias de germinação, durante todos os períodos de avaliação; entretanto, para os tratamentos com KNO₃ e com os biocondicionamentos com GA₃ e BR + GA₃, a germinação foi crescente durante os períodos de armazenamento, com maior germinação após nove meses de armazenamento.

A porcentagem de sementes dormentes da testemunha, inicialmente, era superior a 40 %, na câmara fria e seca e, após nove meses de armazenamento, essa porcentagem passou para 22 % e, em ambiente natural foi para 37 % de sementes dormentes. Para os demais tratamentos, o armazenamento em câmara fria e seca apresentou a maior redução na porcentagem de sementes dormentes nos primeiros três meses de armazenamento e, em ambiente natural, foi após o sexto mês.

Verificou-se que a porcentagem de sementes dormentes da testemunha, quando armazenadas em câmara fria e seca, houve redução em 28 p.p. após nove meses de armazenamento; em ambiente natural, essa redução foi de 13 p.p.. A dormência das sementes de *Brachiaria* pode estar relacionada ao desequilíbrio entre

ABA e GA, e o armazenamento em temperaturas baixas altera o equilíbrio hormonal das sementes, favorecendo os hormônios promotores de crescimento, como GA (WEBB et al., 1973).

Figura 4. Porcentagem de germinação e dormência de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola colhidas por **varredura e não escarificadas**, em função dos tratamentos e períodos de armazenamento, em dois ambientes de armazenamento.

O armazenamento adequado visa manter o potencial fisiológico das sementes, reduzindo a deterioração e, além disto, pelos dados obtidos, verificou-se que o armazenamento influenciou também na superação da dormência que as sementes de *Brachiaria humidicola* possuem e, conseqüentemente aumentou a germinação. Deste modo, para sementes colhidas por varredura e não escarificadas o armazenamento em câmara fria e seca destacou-se, principalmente a partir do terceiro mês.

Em sementes de *Brachiaria* é possível que os envoltórios da semente apresentem compostos fenólicos que bloqueiam a germinação ou há imaturidade do embrião da semente, que apresenta alto teor de inibidor endógeno como o ABA; este hormônio inibe a expressão de genes que codificam enzimas envolvidas na mobilização de reservas, como α -amilase (NI e BRADFORD, 1992).

As atividades de α -amilase das sementes (Tabela 10), indicam que os biocondicionamentos, independentemente do período de armazenamento, apresentaram maiores atividades da enzima α -amilase, em comparação com as sementes da testemunha.

Ao realizar o biocondicionamento, as sementes iniciam as fases I e II de embebição, mesmo as sementes dormentes, e durante esse processo ocorrem diversas atividades, como ativação do metabolismo de aminoácidos, início da hidrólise do amido, síntese de enzimas, degradação e mobilização das reservas (BEWLEY et al., 2013), consequentemente sementes submetidas ao condicionamento fisiológico apresentam maior atividade de α -amilase, mesmo realizando a secagem posterior ao condicionamento (BASRA et al., 2005).

Tabela 10. Valores médios de α -amilase provenientes de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, **colhidas por varredura e não escarificadas**, antes do armazenamento e nove meses armazenadas em câmara fria e seca (A1) e ambiente natural com monitoramento de temperatura e umidade relativa do ar (A2).

Tratamentos	zero	9 - A1	9 - A2	Média
Testemunha	0,110 Cc	0,425 Ca	0,232 Cb	0,256
Cond. BR	0,402 Bc	0,579 Bb	0,781 Aa	0,587
Cond. GA	0,503 Ab	0,749 Aa	0,559 Bb	0,604
Cond. BR+GA	0,324 Bc	0,751 Aa	0,545 Bb	0,540
Média	0,335	0,626	0,529	-
CV (%)	8,12			

Letras maiúscula: comparação entre médias dentro de cada coluna; minúsculas: comparação entre médias dentro de cada linha (Teste de Tukey, $p \leq 0,05\%$). Zero: antes do armazenamento; 9 – A1: período de nove meses de armazenamento em câmara fria e seca; 9 – A2: período de nove meses de armazenamento em ambiente natural; Cond. BR: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo; Cond. GA: Condicionadas com GA₃; Cond. BR+GA: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo e GA₃.

No período zero, antes do armazenamento, as sementes biocondicionadas com GA₃ apresentaram maior média de α -amilase, indicando maior atividade da enzima. O ácido giberélico está relacionado α -amilase, pois ativa as proteases que quebram as ligações peptídicas entre os aminoácidos das proteínas, liberando os

aminoácidos que sintetizam a α -amilase, a qual mobiliza o amido que fornece energia para o crescimento do embrião, resultando na germinação (TAIZ et al., 2017) e, observou-se na Figura 4, que as sementes desse biocondicionamento no mesmo período, apresentaram alta porcentagem de germinação e baixa porcentagem de sementes dormentes.

De acordo com a Tabela 10, após nove meses de armazenamento em câmara fria e seca (A1), a atividade da enzima α -amilase foi maior para sementes biocondicionadas com GA₃ e BR + GA₃.

Para o ambiente natural (A2) após nove meses de armazenamento, o biocondicionamento com BR apresentou maior atividade da α -amilase, assim como apresentou menor porcentagem de sementes dormentes (Figura 4); em ambiente natural, a temperatura e umidade relativa do ar foram mais elevadas, em comparação com a câmara fria e seca e, segundo Hayat e Ahmad (2003), o uso de BR no condicionamento de sementes de trigo, apresentou aumentos significativos na síntese de α -amilase, resultando em maior quantidade de energia disponível no metabolismo das sementes, conferindo, as sementes biocondicionadas com BR, maior tolerância ao estresse, como alta temperatura (ZHANG et al., 2014).

Observando as médias de α -amilase dos tratamentos ao longo do armazenamento (Tabela 10), juntamente com os dados da Figura 4, verificou-se quando a atividade de α -amilase foi maior, menores foram as porcentagens de sementes dormentes e maiores as de germinação. Segundo Vieira et al. (2002), a atividade da enzima α -amilase foi um indicador eficiente do grau de dormência nas sementes de arroz, sendo semelhante ao observado nesse trabalho.

A polifenoloxidase é uma enzima que catalisa reações que podem ocasionar redução na atividade enzimática, como oxidação de compostos fenólicos (WHITAKER, 1972). Alguns compostos fenólicos são inibidores da germinação, impedindo o alongamento celular ou consumindo oxigênio nos processos de oxidação, restringindo a quantidade fornecida ao embrião. Segundo Zawistowski et al. (1991), a PPO fica localizada na membrana plasmática das sementes e, com a desestruturação das membranas, a enzima entra em contato com os compostos fenólicos, catalisando a sua oxidação e reduzindo seu conteúdo nas sementes; assim, segundo Vieira et al. (2008), quanto mais intensa a dormência, maior atividade da PPO.

Na Tabela 11 verificou-se que ocorreu diferença para a atividade da enzima polifenoloxidase (PPO) entre os tratamentos e entre os períodos de armazenamento.

A maior atividade de PPO foi das sementes da testemunha, diferindo dos biocondicionamentos e, na Figura 4, verificou-se que as sementes da testemunha, nos dois ambientes e em todas as épocas de avaliação, apresentaram maiores porcentagens de sementes dormentes em relação aos demais tratamentos.

Tabela 11. Valores médios de polifenoloxidase (PPO) proveniente de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, **colhidas por varredura, não escarificadas**, no período zero de armazenamento e nove meses armazenadas em câmara fria e seca (A1) e ambiente natural com monitoramento de temperatura e umidade relativa do ar (A2).

Tratamentos	zero	9 - A1	9 - A2	Média
Testemunha	7,31	5,53	7,08	6,64 B
Cond. BR	5,82	4,79	5,27	5,29 A
Cond. GA	6,17	4,35	5,10	5,20 A
Cond. BR+GA	6,64	5,07	5,44	5,72 A
Média	6,49 c	4,93 a	5,72 b	-
CV (%)	7,35			

Letras maiúscula: comparação entre médias dentro de cada coluna; minúsculas: comparação entre médias dentro de cada linha (Teste de Tukey, $p \leq 0,05\%$). Zero: período zero de armazenamento; 9 – A1: período de nove meses de armazenamento em câmara fria e seca; 9 – A2: período de nove meses de armazenamento em ambiente natural; Cond. BR: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo; Cond. GA: Condicionadas com GA₃; Cond. BR+GA: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo e GA₃.

Para os períodos de armazenamento, que a atividade da PPO foi diminuindo com o armazenamento, sendo que o armazenamento em câmara fria e seca, foi o que apresentou menor atividade da enzima e, verificando a Figura 4, a porcentagem de sementes dormentes foi semelhante ao que ocorreu com a polifenoloxidase; podendo inferir que quanto mais intensa a dormência das sementes maior a atividade da polifenoloxidase, corroborando com Vieira et al. (2008).

4.5.2. Sementes colhidas por varredura e escarificadas

A análise da variância dos dados referentes as sementes colhidas por varredura e escarificadas, antes do armazenamento das sementes, revelaram efeitos significativos dos tratamentos para as médias de germinação, sementes dormentes, primeira contagem de germinação, velocidade de germinação,

comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas, índice de vigor e emergência de plântulas, sendo apresentadas na Tabela 12.

Como destacado para sementes colhidas por varredura sem escarificação, o teor de água adequado para o armazenamento de sementes de *Brachiaria* deve ser inferior a 12 % e, após a realização dos tratamentos, verificou-se que o teor de água das sementes escarificadas ficaram entre 9,8 % a 8,7 %.

Verificou-se as sementes dos tratamentos com KNO₃ e biocondicionamentos com BR, GA₃ e BR + GA₃ diferiram da testemunha, apresentando maiores médias de germinação, sementes dormentes, primeira contagem de germinação e velocidade de germinação.

Tabela 12. Valores médios de germinação, dormência, primeira contagem de germinação (PC), velocidade de germinação, comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas e índice de vigor determinados em análises SVIS® e emergência de plântulas, a partir de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, colhidas por varredura e escarificadas, antes do armazenamento.

Tratamento	TA (%)	Germinação (%)	Dormência (%)	PC (%)	IVG
Testemunha	8,7	22 B	49 B	15 B	2,80 B
KNO ₃	9,6	53 A	23 A	37 A	5,80 A
Cond. BR	9,8	48 A	24 A	35 A	5,58 A
Cond. GA	9,3	45 A	26 A	37 A	5,87 A
Cond. BR+GA	9,1	48 A	23 A	36 A	5,68 A
C.V. (%)	-	14,47	31,21	22,14	21,32
Tratamentos	Comprimento (SVIS®) cm	Uniformidade (SVIS®)	Índice de Vigor (SVIS®)	Emergência de plântulas (%)	
Testemunha	8,67 AB	470 C	455 B	18 B	
KNO ₃	8,08 B	554 AB	532 AB	-	
Cond. BR	8,45 AB	495 BC	460 B	15 B	
Cond. GA	9,21 A	565 A	550 AB	29 AB	
Cond. BR+GA	8,97 AB	573 A	607 A	36 A	
C.V. (%)	6,68	7,48	15,76	35,50	

Letras maiúscula: comparação entre médias dentro de cada coluna (Teste de Tukey, $p \leq 0,05\%$). Testemunha: papel umedecido com água; KNO₃: papel umedecido com KNO₃; Cond. BR: condicionadas com 24-epibrassinolídeo; Cond. GA: condicionadas com GA₃; Cond. BR+GA: condicionadas com 24-epibrassinolídeo e GA₃.

Pode-se constatar que somente a escarificação não foi suficiente para superação de dormência das sementes, visto que, sementes escarificadas e tratadas com KNO₃ ou biocondicionadas apresentaram menores porcentagens de

sementes dormentes, refletindo em germinação superior a 45 %, influenciando também na velocidade de germinação das sementes.

Os benefícios de condicionamento fisiológico foram constatados em vários trabalhos, como de Silva et al. (2015), que condicionou sementes de pimentão com biorreguladores e verificou maior velocidade de germinação e comprimento de plântulas; além disto, o emprego da técnica de condicionamento osmótico com PEG, resultou na redução da porcentagem de sementes dormentes de *Panicum maximum* e, conseqüentemente aumento da germinação (USBERTI e VALIO, 1997).

Sabe-se que ao iniciar o processo de germinação a água é fundamental para reativação do metabolismo e, conseqüentemente, aumento da respiração das sementes (BEWLEY et al., 2013); com a absorção do nitrato de potássio nesse processo, ocorre estímulo da respiração das sementes, pois na redução do nitrato a nitrito e do nitrito a amônia, há liberação da coenzima nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato, na forma oxidada (NADP⁺), estimulando a respiração pela via pentose-fosfato, a qual, segundo Roberts (1974), é a mais importante no início da germinação, superando a dormência pela produção de energia e estímulo à respiração.

Verificou-se que as plântulas de todos os tratamentos apresentaram comprimento superior a 8,00 cm, com destaque para as plântulas oriundas de sementes biocondicionadas com GA₃, que apresentaram a maior média com 9,21 cm, não diferindo estatisticamente dos biocondicionamentos com BR e BR + GA₃ e testemunha.

Para uniformidade de desenvolvimento de plântulas e índice de vigor, as maiores médias foram para os biocondicionamentos com GA₃ e BR + GA₃; no entanto, não houve diferença estatística para o tratamento com KNO₃.

Durante a condução da emergência de plântulas em areia antes das sementes serem armazenadas, a temperatura máxima na casa de vegetação foi de 33,0 °C, a mínima de 22,1 °C e média de 27,6 °C, com umidade relativa do ar média de 70,9 %; essas condições climáticas são consideradas adequadas para germinação e emergência das plântulas de *Brachiaria*. Verificou-se que o biocondicionamento com BR + GA₃ apresentou a maior porcentagem de plântulas emergidas com 36 %, não diferindo estatisticamente do biocondicionamento com GA₃, com 29 % de emergência de plântulas.

Na Tabela 13 verificou-se que as análises da variância dos dados obtidos de sementes colhidas por varredura e escarificadas, após três meses de armazenamento, em ambiente natural e câmara fria e seca, não revelaram diferenças significativas da interação ambientes de armazenamento e tratamentos para a germinação, sementes dormentes, velocidade de germinação e uniformidade de desenvolvimento de plântulas; entretanto, para primeira contagem de germinação, comprimento de plântulas, índice de vigor e emergência de plântulas o efeito da interação foi significativo.

O teor de água das sementes após três meses de armazenamento, mantiveram-se inferiores a 12 %, com as menores médias das sementes que permaneceram em câmara fria e seca, em relação às que estavam em ambiente natural, devido a umidade relativa do ar ser superior em tal ambiente.

Como observado antes do armazenamento, os tratamentos que se destacaram com as menores porcentagens de sementes dormentes, foram os mesmo que apresentaram maiores médias de germinação, sendo os tratamentos com KNO_3 e biocondicionamento com BR, GA_3 e BR + GA_3 .

Observando os ambientes de armazenamento, verificou-se que sementes que permaneceram três meses em câmara fria e seca apresentaram maior porcentagem de germinação e menor de sementes dormentes, além de maior velocidade de germinação.

Para primeira contagem de germinação, as maiores médias, no armazenamento em câmara fria e seca, foram das sementes dos tratamentos com KNO_3 e biocondicionamentos com BR, GA_3 e BR + GA_3 , apresentando valores acima de 42 %. Em ambiente natural, a testemunha e tratamento com KNO_3 , apresentaram menores porcentagens de sementes germinadas em sete dias, diferindo dos biocondicionamentos; os quais, apresentaram médias estatisticamente semelhantes ao armazenamento em câmara fria e seca, indicando que as sementes biocondicionadas, mesmo mantidas em ambiente com temperatura e umidade relativa do ar mais elevadas, apresentaram rápida germinação em comparação as sementes não biocondicionadas.

A rápida germinação das sementes biocondicionadas pode ser verificada pela velocidade de germinação, com maior média do biocondicionamento com BR + GA_3 , não diferindo dos demais biocondicionamentos.

Tabela 13. Valores médios de germinação, dormência, primeira contagem de germinação (PC), velocidade de germinação, comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas e índice de vigor determinados em análises SVIS® e emergência de plântulas, a partir de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, **colhidas por varredura e esscarificadas**, armazenadas em câmara fria e seca (A1) e ambiente natural com monitoramento de temperatura e umidade relativa do ar (A2), após três meses de armazenamento.

Tratamentos	TA (%)		Germinação (%)			Dormência (%)			PC (%)			IVG		
	A1	A2	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média
Testemunha	8,8	9,2	22	15	18 B	48	52	50 B	17 Ba	7 Bb	12	2,09	1,00	1,55 C
KNO ₃	9,5	9,8	60	55	57 A	16	21	19 A	42 Aa	13 Bb	28	5,80	3,10	4,44 B
Cond. BR	9,6	9,9	54	56	55 A	16	18	17 A	44 Aa	34 Aa	39	5,18	4,88	5,03 AB
Cond. GA	9,0	9,5	59	51	55 A	15	21	18 A	42 Aa	35 Aa	39	5,64	4,81	5,23 AB
Cond. BR+GA	8,9	9,3	62	53	58 A	15	24	19 A	49 Aa	46 Aa	47	6,17	5,55	5,86 A
Média	-	-	52 a	46 b	-	22 a	27 b	-	39	27	-	4,97 a	3,87 b	-
C.V. (%)	-		11,07			15,24			20,97			21,40		

Tratamentos	Comprimento (SVIS®) cm			Uniformidade (SVIS®)			Índice de Vigor (SVIS®)			Emergência de plântulas (%)		
	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média
Testemunha	8,67 Ba	8,80 Ba	8,74	527	478	453 C	294 Ea	424 BCb	359	14 Ba	15 Ba	14
KNO ₃	7,83 BCa	6,77 Cb	7,30	512	486	499 BC	418 Da	359 Ca	389	-	-	-
Cond. BR	7,39 Ca	7,00 Ca	7,20	513	488	500 B	622 Ca	432 BCb	527	15 Bb	23 ABa	19
Cond. GA	8,31 Ba	8,90 Ba	8,60	518	519	519 B	727 Ba	500 Bb	613	34 Aa	25 Ab	29
Cond. BR+GA	11,12 Aa	10,15 Ab	10,64	631	591	611 A	832 Aa	735 Ab	784	22 Bb	31 Aa	26
Média	8,66	8,33	-	520 a	512 a	-	579	490	-	23	21	-
C.V. (%)	7,13			8,54			11,96			20,30		

Letras maiúsculas: comparação entre médias dentro de cada coluna; minúsculas: comparação entre médias dentro de cada linha (Teste de Tukey, $p \leq 0,05\%$). Testemunha: papel umedecido com água; KNO₃: papel umedecido com KNO₃; Cond. BR: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo; Cond. GA: Condicionadas com GA₃; Cond. BR+GA: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo e GA₃.

Rossetto et al. (2002) recomendaram reduzir ao máximo a temperatura de armazenamento das sementes condicionadas, pois são mais propensas à deterioração do que sementes não condicionadas, quando o armazenamento é realizado em condições desfavoráveis. Entretanto, segundo Zhang et al. (2007), a utilização de biorreguladores, como BRs e ácido giberélico, no condicionamento fisiológico são favoráveis para maior tolerância dessas sementes em ambientes estressantes, como altas temperaturas.

O biocondicionamento com BR + GA₃ se destacou para o comprimento de plântulas e índice de vigor, apresentando maiores médias em ambos ambientes de armazenamento, porém a permanência das sementes em câmara fria e seca, por três meses, resultou em maior comprimento e índice de vigor, diferindo do ambiente natural. Em relação a uniformidade de desenvolvimento de plântulas o mesmo biocondicionamento diferiu dos demais, apresentando maior média, mas não houve diferença entre os ambientes de armazenamento.

Durante a condução da emergência de plântulas, após três meses de armazenamento das sementes, a temperatura máxima na casa de vegetação foi de 24,9 °C, mínima de 16,6 °C, média de 20,8 °C e umidade relativa média de 81,3 %. Verificou-se diferença significativa entre ambientes de armazenamento e tratamentos, com o biocondicionamento com GA₃ apresentando maior média de emergência de plântulas em ambos ambientes, não diferindo das sementes biocondicionadas com BR e BR + GA₃.

Pelas análises da variância dos dados obtidos de sementes colhidas por varredura e escarificadas após seis meses de armazenamento, Tabela 14, verificou-se que os valores de F para a interação ambientes de armazenamento e tratamentos não foram significativos para a primeira contagem de germinação e uniformidade de desenvolvimento de plântulas; sendo significativos para a germinação, sementes dormentes, velocidade de germinação, comprimento de plântulas, índice de vigor e emergência de plântulas.

Após seis meses de armazenamento, o teor de água das sementes em ambiente natural foi superior ao da câmara fria e seca, com maior média de 10,7 % de água para sementes condicionadas com BR, indicando que todos os tratamentos, em ambos ambientes de armazenamento se mantiveram com teor de água adequando.

Tabela 14. Valores médios de germinação, dormência, primeira contagem de germinação (PC), velocidade de germinação, comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas e índice de vigor determinados em análises SVIS® e emergência de plântulas, a partir de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, **colhidas por varredura e escarificadas**, armazenadas em câmara fria e seca (A1) e ambiente natural com monitoramento de temperatura e umidade relativa do ar (A2), após seis meses de armazenamento.

Tratamentos	TA (%)		Germinação (%)			Dormência (%)			PC (%)			IVG		
	A1	A2	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média
Testemunha	8,6	10,3	36 Ca	28 Bb	27	26 Ba	43 Db	35	34	13	23 C	3,86 Ca	1,56 Cb	2,71
KNO ₃	9,3	10,5	56 ABa	51 Ab	49	7 Aa	16 BCb	11	44	26	35 B	4,92 Ba	3,16 Bb	4,04
Cond. BR	9,2	10,7	55 Ba	54 Aa	55	5 Aa	17 Cb	11	45	35	40 B	5,37 Ba	4,14 Ab	4,75
Cond. GA	8,7	10,6	59 ABa	56 Aa	57	5 Aa	10 ABb	8	55	41	48 A	6,31 Aa	4,77 Ab	5,54
Cond. BR+GA	8,6	10,2	64 Aa	53 Ab	58	5 Aa	7 Aa	6	59	36	48 A	6,86 Aa	4,14 Ab	5,50
Média	-	-	54	44	-	9	19	-	47 a	30 b	-	5,46	3,55	-
C.V. (%)	-	-	7,80	-	-	17,81	-	-	10,41	-	-	8,78	-	-

Tratamentos	Comprimento (SVIS®) cm			Uniformidade (SVIS®)			Índice de Vigor (SVIS®)			Emergência de plântulas (%)		
	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média
Testemunha	7,71 Aa	7,91 Aa	7,81	540	523	532 BC	668 Ba	640 BCb	654	7 Da	4 Ca	6
KNO ₃	6,92 ABa	6,01 Bb	6,46	579	534	557 B	671 Ba	613 Cb	642	-	-	-
Cond. BR	7,06 ABa	5,72 Bb	6,39	541	471	506 C	682 Ba	516 Db	599	17 Ba	8 Bb	13
Cond. GA	6,77 Bb	7,58 Aa	7,18	594	577	585 A	712 Aa	704 Aa	708	24 Ab	30 Aa	27
Cond. BR+GA	6,96 ABa	7,45 Aa	7,21	554	504	529 C	708 Ba	650 BCb	679	12 Cb	23 Aa	17
Média	7,09	6,94	-	562 a	522 b	-	688	625	-	16	15	-
C.V. (%)	7,68	-	-	5,72	-	-	5,91	-	-	12,75	-	-

Letras maiúsculas: comparação entre médias dentro de cada coluna; minúsculas: comparação entre médias dentro de cada linha (Teste de Tukey, $p \leq 0,05\%$). Testemunha: papel umedecido com água; KNO₃: papel umedecido com KNO₃; Cond. BR: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo; Cond. GA: Condicionadas com GA₃; Cond. BR+GA: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo e GA₃.

As porcentagens de sementes dormentes foram menores com o armazenamento em câmara fria e seca, com destaque para as sementes tratadas com KNO_3 e biocondicionadas, resultando em maiores porcentagens de germinação desses tratamentos. Em ambiente natural, a porcentagem de sementes dormentes dos biocondicionamentos com GA_3 e BR + GA_3 foram estatisticamente diferente dos demais tratamentos.

Os biocondicionamentos com GA_3 e BR + GA_3 apresentaram maiores médias de primeira contagem de germinação e, o ambiente de câmara fria e seca apresentou maior média, diferindo do ambiente natural. Mesmo com a interação significativa para velocidade de germinação, pode-se constatar o ocorrido para primeira contagem, com todos os tratamentos apresentando maiores médias em câmara fria e seca e, os biocondicionamentos com GA_3 e BR + GA_3 estatisticamente diferente dos demais.

Na avaliação do comprimento de plântulas, as sementes biocondicionadas com GA_3 e armazenadas em câmara fria e seca, originaram plântulas com menor comprimento, em relação aos demais tratamentos. Em ambiente natural, as sementes da testemunha e biocondicionamentos com GA_3 e BR + GA_3 originaram plântulas maiores, diferindo estatisticamente dos demais.

Para uniformidade de desenvolvimento de plântulas, aos seis meses de armazenamento, as sementes biocondicionadas com GA_3 diferiu dos demais tratamentos com plântulas mais uniformes e, em relação aos ambientes de armazenamento, as sementes em câmara fria e seca originaram plântulas mais uniformes, sendo estatisticamente diferente ao ambiente natural.

O armazenamento em câmara fria e seca resultou em maior índice de vigor das plântulas, com exceção para o biocondicionamento com GA_3 , que foi estatisticamente semelhante em ambos ambientes de armazenamento; além de ser, em ambos os ambientes, o tratamento com maior índice de vigor, diferindo dos demais.

O teste de emergência de plântulas em casa de vegetação, após seis meses, ocorreu em julho de 2017, durante os 30 dias de condução do teste, a temperatura máxima e mínima foram, respectivamente, de 23,1 °C e 14,4 °C e média de 18,8 °C, com umidade relativa média de 68,4 %. Temperatura inferior a 20,0 °C limita a germinação e desenvolvimento das plântulas de *Brachiaria*, mas observando os resultados das sementes colhidas por varredura e não escarificadas

(Tabela 8), verificou-se tendência de maior emergência de plântulas das sementes escarificadas, principalmente para as sementes biocondicionadas com GA₃, independentemente do ambiente que permaneceu armazenada.

Observando as médias de todas as avaliações realizadas após seis meses de armazenamento, verificou-se que biocondicionamento com GA₃ se destacou em todas as avaliações. A giberelina é hormônio que exerce papel chave na germinação de sementes, estando envolvida tanto na superação da dormência, como no controle da hidrólise de reservas (TAIZ et al., 2017); além disso, a técnica de condicionamento com a utilização de GA₃, resultou em aumento de germinação, comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas e velocidade de germinação (LOPES e SOUZA, 2008; AROUCHA et al., 2006).

Na Tabela 15 são apresentados as médias de teor de água, germinação, sementes dormentes, primeira contagem de germinação, velocidade de germinação, comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas, índice de vigor e emergência de plântulas, após nove meses de armazenamento.

Para a germinação, sementes dormentes, primeira contagem de germinação e velocidade de germinação, os valores de F foram significativos para tratamentos e ambientes de armazenamento, não sendo significativo para a interação. Com isso, após nove meses, pode-se destacar entre os tratamentos, os biocondicionamentos com GA₃ e BR + GA₃, que apresentaram para essas avaliações as maiores médias, diferindo dos demais tratamentos e, para os ambientes de armazenamento, as maiores médias foram para sementes que permaneceram em câmara fria e seca.

O teor de água das sementes foi considerado adequado, pois a média variou de 8,5 % a 10,7 %.

As análises da variância dos dados obtidos após nove meses de armazenamento, revelaram diferenças significativas da interação ambientes de armazenamento e tratamentos para comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas, índice de vigor e emergência de plântulas.

Observando as interações após nove meses, pode-se destacar os biocondicionamentos com GA₃ e BR + GA₃, pois em todos ambientes, esses tratamentos apresentaram maior comprimento e uniformidade de desenvolvimento de plântulas e índice de vigor, sendo as maiores médias das sementes que permaneceram em câmara fria e seca.

Tabela 15. Valores médios de germinação, dormência, primeira contagem de germinação (PC), velocidade de germinação, comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas e índice de vigor determinados em análises SVIS® e emergência de plântulas, a partir de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, **colhidas por varredura e escarificadas**, armazenadas em câmara fria e seca (A1) e ambiente natural com monitoramento de temperatura e umidade relativa do ar (A2), após nove meses de armazenamento.

Tratamentos	TA (%)		Germinação (%)			Dormência (%)			PC (%)			IVG		
	A1	A2	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média
Testemunha	8,5	10,2	49	41	44 B	12	31	22 B	44	25	34 C	5,22	3,04	4,13 C
KNO ₃	9,1	10,4	60	56	58 A	5	9	7 A	45	36	40 B	5,55	5,12	5,33 B
Cond. BR	9,2	10,7	57	56	56 A	8	9	9 A	49	36	43 B	5,84	4,74	5,29 B
Cond. GA	8,8	10,4	62	59	61 A	4	7	6 A	55	50	52 A	5,85	6,54	6,20 A
Cond. BR+GA	8,7	9,9	65	55	60 A	5	9	7 A	57	46	51 A	5,47	6,62	6,05 A
Média	-	-	55 a	55 a	-	7 a	13 a		47 a	42 b	-	5,59 a	5,21 b	-
C.V. (%)	-	-	7,11			28,50			6,73			7,60		

Tratamentos	Comprimento (SVIS®) cm			Uniformidade (SVIS®)			Índice de Vigor (SVIS®)			Emergência de plântulas (%)		
	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média
Testemunha	7,32 Ba	6,11 Ab	6,72	551 Ba	400 Bb	476	750 Ba	480 BCb	615	20 Ca	22 Ca	21
KNO ₃	6,71 Ba	4,95 Bb	5,83	576 Ba	415 Bb	506	623 Ca	473 Cb	548	-	-	-
Cond. BR	8,57 Aa	5,92 Ab	7,24	651 Aa	491 Ab	571	811 ABa	476 BCb	644	19 Cb	29 Ba	24
Cond. GA	8,29 Aa	6,84 Ab	7,56	657 Aa	467 Ab	562	830 Aa	651 Ab	740	26 Bb	39 Aa	32
Cond. BR+GA	8,30 Aa	6,29 Ab	7,29	596 ABa	480 Ab	524	799 ABa	523 ABb	646	33 Ab	37 Aa	35
Média	7,84	6,02	-	605	451	-	757	521	-	25	31	-
C.V. (%)	9,07			5,91			5,07			6,52		

Letras maiúsculas: comparação entre médias dentro de cada coluna; minúsculas: comparação entre médias dentro de cada linha (Teste de Tukey, $p \leq 0,05\%$). Testemunha: papel umedecido com água; KNO₃: papel umedecido com KNO₃; Cond. BR: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo; Cond. GA: Condicionadas com GA₃; Cond. BR+GA: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo e GA₃.

Na emergência de plântulas, após nove meses de armazenamento, o armazenamento das sementes biocondicionadas em ambiente natural, resultou em maior porcentagem de plântulas emergidas, em comparação com a câmara fria e seca, destacando-se sementes biocondicionadas com GA₃ e BR + GA₃, que foram significativamente diferentes aos demais tratamentos. Em câmara fria e seca, as sementes biocondicionadas com BR + GA₃, apresentaram maior média diferindo estatisticamente dos demais tratamentos.

Observando a Tabela 14 e 15, verificou-se a influência das condições ambientais para emergência das plântulas de *Brachiaria humidicola*. Após seis meses de armazenamento (Tabela 14), com a baixa temperatura na casa de vegetação, houve menor porcentagem de plântulas emergidas em todos os tratamentos, principalmente da testemunha e, após nove meses, a temperatura máxima na casa de vegetação foi de 30,8 °C e mínima de 19,1 °C, com umidade relativa do ar média de 71,9 % e, nestas condições ambientais, houve maior emergência de plântulas, em relação as seis meses de armazenamento.

A Figura 5 ilustra o comportamento geral das sementes colhidas por varredura e escarificadas, para porcentagem de germinação e sementes dormentes, em cada ambiente de armazenamento, para todos períodos de avaliação.

A germinação das sementes que permaneceram armazenadas em câmara fria e seca (A1) e em ambiente natural (A2), foi crescente em todos os tratamentos, com destaque para os tratamentos com KNO₃ e biocondicionamentos com BR, GA₃ e BR + GA₃, que antes do armazenamento foi superior a 40 %. Para as sementes escarificadas, sem a realização de nenhum tratamento (testemunha), somente após nove meses de armazenamento, nos dois ambientes, a porcentagem de germinação foi superior a 40 %.

As sementes armazenadas em câmara fria e seca apresentaram maior porcentagem de germinação em comparação com as sementes armazenadas em ambiente natural, sendo que as sementes biocondicionadas com BR + GA₃ com três meses de armazenamento em câmara fria e seca apresentavam mais de 60 % de germinação.

A deterioração é um processo contínuo e irreversível, mas as condições de armazenamento das sementes determinam a velocidade da deterioração. O armazenamento em condições de baixa temperatura e umidade relativa do ar

(câmara fria e seca), mantem a atividade metabólica das sementes baixa, consequentemente, mais lenta é a deterioração (DELOUCHE et al., 1973).

A porcentagem de sementes dormentes foi diminuindo com o período de armazenamento, em ambos ambientes. Entretanto, a superação da dormência foi maior em para sementes que permaneceram em câmara fria e seca, principalmente após seis meses de armazenamento. Oliveira et al. (2011), verificaram em sementes de sorgo, que em câmara fria, a porcentagem de sementes dormentes foi reduzindo com o armazenamento.

Test.: testemunha; KNO₃: papel umedecido com KNO₃; Cond. BR: condicionadas com 24-epibrassinolídeo; Cond. GA: condicionadas com GA₃; Cond. BR+GA: condicionadas com 24-epibrassinolídeo e GA₃.

Figura 5. Porcentagem de germinação e dormência de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola colhidas por **varredura e escarificadas**, em função dos tratamentos e períodos de armazenamento, em dois ambientes de armazenamento.

Verificou-se que, mesmo realizando a escarificação, a porcentagem de sementes dormentes foi elevada para as sementes da testemunha, indicando que a escarificação não foi capaz de superar totalmente a dormência das sementes de *Brachiaria humidicola*, sugerindo a possível ocorrência de outro tipo de dormência, como o embrião estar fisiologicamente imaturo, devido a desuniformidade de maturação, apresentando desequilíbrio hormonal de ABA e giberelina (TAIZ et al., 2017).

A utilização do condicionamento fisiológico com os biorreguladores e KNO₃, apresentou redução de 50 % de sementes dormentes, em relação a dormência apresentada pelas sementes da testemunha, indicando que a maior superação de dormência foi pela utilização da técnica de condicionamento e promotor químico, que estimularam o embrião a iniciar o processo de germinação, sendo favorecidos pela baixa temperatura e umidade relativa do ar.

A Tabela 16 apresentam as médias de α -amilase das sementes antes e após nove meses de armazenamento e, pela análise da variância, os valores de F revelaram significativos para interação tratamentos e período de armazenamento.

Antes do armazenamento, as sementes biocondicionadas apresentaram maior atividade da enzima, indicando que com os biocondicionamentos, mesmo com a posterior secagem das sementes, houve degradação e mobilização das reservas das sementes, aumentando a atividade da α -amilase (BEWLEY et al., 2013).

Tabela 16. Valores médios da atividade de α -amilase proveniente de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, **colhidas por varredura e escarificadas**, antes do armazenamento e após nove meses armazenadas em câmara fria e seca (A1) e ambiente natural, com monitoramento de temperatura e umidade relativa do ar (A2).

Tratamentos	zero	9 - A1	9 - A2	Média
Testemunha	0,108 Bc	0,526 Ba	0,273 Cb	0,303
Cond. BR	0,355 Ab	0,551 ABa	0,453 Bab	0,453
Cond. GA	0,272 Ab	0,660 Aa	0,587 Aa	0,507
Cond. BR+GA	0,259 Ac	0,667 Aa	0,496 ABb	0,474
Média	0,249	0,601	0,452	-
CV (%)	11,42			

Letras maiúscula: comparação entre médias dentro de cada coluna; minúsculas: comparação entre médias dentro de cada linha (Teste de Tukey, $p \leq 0,05\%$). Zero: antes do armazenamento; 9 – A1: período de nove meses de armazenamento em câmara fria e seca; 9 – A2: período de nove meses de armazenamento em ambiente natural; Cond. BR: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo; Cond. GA: Condicionadas com GA₃; Cond. BR+GA: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo e GA₃.

Com nove meses de armazenamento, os biocondicionamentos com BR + GA₃ e GA₃ se destacaram, em câmara fria e seca e ambiente natural, os quais apresentaram maior atividade da α -amilase diferindo significativamente aos demais tratamentos. Observou-se que o uso da giberelina, isolada ou combinada com BR, proporcionou maior atividade da enzima, pois o GA₃ induz a síntese de mRNA da α -amilase, aumentando sua produção e consequentemente sua atividade nas sementes, durante o processo de germinação (BECK e ZIEGLER, 1989).

Todos os tratamentos apresentaram maior atividade da enzima α -amilase após nove meses em armazenamento em câmara fria e seca e, observando a Figura 5, a germinação foi superior e a porcentagem de sementes dormentes foi inferior nesse ambiente e período, em relação ao período antes do armazenamento e ao ambiente natural após nove meses.

Para as sementes colhidas por varredura e escarificadas, a enzima polifenoloxidase apresentou atuação semelhante as das sementes não escarificadas, ou seja, as sementes biocondicionadas apresentaram menores médias de PPO (Tabela 17).

Tabela 17. Valores médios da atividade da enzima polifenoloxidase (PPO) provenientes de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, **colhidas por varredura e escarificadas**, no período zero de armazenamento e após nove meses armazenadas em câmara fria e seca (A1) e ambiente natural com monitoramento de temperatura e umidade relativa do ar (A2).

Tratamentos	zero	9 - A1	9 - A2	Média
Testemunha	6,05	5,06	5,76	5,62 B
Cond. BR	5,19	4,05	4,41	4,55 A
Cond. GA	4,79	4,28	4,50	4,52 A
Cond. BR+GA	5,26	3,99	4,35	4,53 A
Média	5,32 c	4,34 a	4,75 b	-
CV (%)		5,72		

Letras maiúscula: comparação entre médias dentro de cada coluna; minúsculas: comparação entre médias dentro de cada linha (Teste de Tukey, $p \leq 0,05\%$). Zero: período zero de armazenamento; 9 – A1: período de nove meses de armazenamento em câmara fria e seca; 9 – A2: período de nove meses de armazenamento em ambiente natural; Cond. BR: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo; Cond. GA: Condicionadas com GA₃; Cond. BR+GA: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo e GA₃.

Observou-se, para as sementes de *Brachiaria humidicola* colhida por varredura e escarificada, que quanto maior porcentagem de dormência das sementes (Figura 5), maior foi a atividade da enzima PPO, confirmando o concluído por Vieira et al. (2008), que durante o período de armazenamento, a dormência das

sementes de arroz foi superada à medida que a atividade da polifenoloxidase foi diminuindo.

Observando as Figuras 4 e 5, verificou-se tendência de maior superação de dormência pelas sementes escarificadas, em relação as não escarificadas e, na Tabela 11 e 17, a atividade da enzima PPO é menor para sementes escarificadas.

4.5.3. Sementes colhidas das inflorescências

As análises da variância dos dados de sementes colhidas das inflorescências, antes do armazenamento, Tabela 18, revelaram valores de F significativos para a germinação, sementes dormentes, primeira contagem de germinação, velocidade de germinação, comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas e índice de vigor; não sendo significativo para a emergência de plântulas.

O teor de água das sementes, antes de serem armazenadas, apresentou valor máximo de 10,3 %; segundo Souza et al. (2016), para prolongar o período para conservação do potencial fisiológico, um dos cuidados é a manutenção do teor de água das sementes de *Brachiaria* inferior a 12 %.

Para a porcentagem de germinação, sementes dormentes, primeira contagem de germinação e velocidade de germinação, verificou-se que as médias das sementes da testemunha diferiram significativamente dos demais tratamentos, apresentando os menores valores; com a realização dos tratamentos com KNO_3 e biocondicionamentos com BR, GA_3 e BR + GA_3 , a média de sementes germinadas foi superior a 40 %.

O nitrato de potássio estimula a via Pentose Fosfato dando início a reações metabólicas que culminam na oxidase citocrômica, no ciclo de Krebs e, portanto, no fornecimento de energia e matéria prima para o crescimento do eixo embrionário (CARVALHO e NAKAGAWA, 2012).

O biocondicionamento envolve a absorção de água pela semente sob condições controladas, incentivando individualmente, o metabolismo da semente durante a fase I e II da embebição, resultando em maior velocidade de germinação e uniformidade de plântulas (BEWLEY e BLACK, 1982).

Na análise computadorizada de imagens de plântulas, realizada pelo SVIS[®], destaque-se o biocondicionamento com BR, que apresentou as maiores médias de comprimento e uniformidade de desenvolvimento de plântulas e índice de vigor.

Tabela 18. Valores médios de germinação, dormência, primeira contagem de germinação (PC), velocidade de germinação, comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas e índice de vigor determinados em análises SVIS[®] e emergência de plântulas, a partir de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, colhidas das inflorescências e não escarificadas, antes do armazenamento.

Tratamento	TA (%)	Germinação (%)	Dormência (%)	PC (%)	IVG
Testemunha	9,7	18 B	52 B	10 B	1,90 B
KNO ₃	10,1	47 A	23 A	36 A	4,36 A
Cond. BR	10,3	40 A	17 A	37 A	4,99 A
Cond. GA	9,9	49 A	22 A	46 A	4,99 A
Cond. BR+GA	10,0	47 A	21 A	35 A	4,29 A
C.V. (%)	-	9,71	29,53	24,80	14,55
Tratamentos	Comprimento (SVIS [®]) cm	Uniformidade (SVIS [®])	Índice de Vigor (SVIS [®])	Emergência de plântulas (%)	
Testemunha	4,32 B	416 B	207 AB	9 A	
KNO ₃	4,92 AB	416 B	186 B	-	
Cond. BR	5,76 A	497 A	280 A	13 A	
Cond. GA	5,49 AB	466 AB	211 AB	15 A	
Cond. BR+GA	4,61 AB	463 AB	233 AB	10 A	
C.V. (%)	15,61	8,15	22,53	33,21	

Letras maiúscula: comparação entre médias dentro de cada coluna (Teste de Tukey, $p \leq 0,05\%$). Testemunha: papel umedecido com água; KNO₃: papel umedecido com KNO₃; Cond. BR: condicionadas com 24-epibrassinolídeo; Cond. GA: condicionadas com GA₃; Cond. BR+GA: condicionadas com 24-epibrassinolídeo e GA₃.

Durante a condução do teste de emergência de plântulas em areia, antes do armazenamento, a temperatura máxima na casa de vegetação foi de 33,0 °C, mínima de 22,1 °C e média de 27,6 °C, com umidade relativa do ar média de 70,9 %. Para sementes colhidas das inflorescências e não escarificadas, não houve diferença dos tratamentos.

As análises da variância dos dados obtidos após três meses de armazenamento, Tabela 19, não revelaram diferenças significativas para os efeitos da interação ambientes de armazenamento e tratamentos para a primeira contagem da germinação, velocidade de germinação, comprimento de plântulas, uniformidade

de desenvolvimento de plântulas, índice de vigor e emergência de plântulas em areia; porém para a germinação e sementes dormentes, a interação foi significativa;

O teor de água das sementes foi mais elevado em ambiente natural, apresentando 10,4 % de água para sementes do tratamento com KNO_3 , e a menor média foi de 9,6 % de água, referente as sementes da testemunha, armazenadas em câmara fria e seca.

Para a germinação os biocondicionamentos com GA_3 e $\text{BR} + \text{GA}_3$, se destacaram nos dois ambientes de armazenamento, apresentando médias acima de 51 % de sementes germinadas. Para a porcentagem de sementes dormentes, as sementes biocondicionadas com BR , GA_3 e $\text{BR} + \text{GA}_3$ apresentaram as menores médias diferindo significativamente do tratamento com KNO_3 e testemunha.

As sementes biocondicionadas com GA_3 apresentaram as maiores médias de primeira contagem de germinação e velocidade de germinação, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Em relação aos ambientes de armazenamento, observou-se que apenas para primeira contagem de germinação houve diferença, com a maior média das sementes armazenadas em câmara fria e seca.

Para o comprimento de plântulas e índice de vigor, as sementes biocondicionadas com BR , GA_3 e $\text{BR} + \text{GA}_3$, diferiram do tratamento com KNO_3 e testemunha, apresentando as maiores médias para as sementes que permaneceram armazenadas em câmara fria e seca. Para a uniformidade de desenvolvimento de plântulas (SVIS®), as sementes biocondicionadas com GA_3 e $\text{BR} + \text{GA}_3$ originaram plântulas mais uniformes, diferindo da testemunha, KNO_3 e biocondicionamento com BR .

A técnica de condicionamento fisiológico tem função de sincronizar a germinação, pela ativação do metabolismo da semente e, associados a essa técnica, vem sendo utilizados biorreguladores que, além de maximizar os efeitos do condicionamento, tem função de beneficiar o desenvolvimento das plântulas, por atuarem em diversos processos metabólicos, influenciando a germinação (HAYAT e AHMAD, 2003), maior velocidade de germinação (ALBUQUERQUE et al., 2009), maior uniformidade de desenvolvimento de plântulas, maior comprimento de plântulas (SILVA et al., 2015).

Tabela 19. Valores médios de germinação, dormência, primeira contagem de germinação (PC), velocidade de germinação, comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas e índice de vigor determinados em análises SVIS® e emergência de plântulas, a partir de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, **colhidas das inflorescências e não escarificadas**, armazenadas em câmara fria e seca (A1) e ambiente natural com monitoramento de temperatura e umidade relativa do ar (A2), após três meses de armazenamento.

Tratamentos	TA (%)		Germinação (%)			Dormência (%)			PC (%)			IVG		
	A1	A2	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média
Testemunha	9,6	9,7	23 Ba	19 Ca	21	45 Ca	51 Cb	48	15	6	11 C	1,87	1,02	1,44 C
KNO ₃	10,1	10,4	48 Aa	45 Ba	47	21 Ba	20 Bb	21	24	8	16 BC	3,29	2,90	3,10 B
Cond. BR	10,3	10,3	49 Aa	42 Ba	46	20 ABa	15 Aa	18	27	25	26 B	3,35	3,26	3,36 AB
Cond. GA	10,0	10,2	52 Aa	56 Aa	54	14 Aa	19 ABa	17	44	31	37 A	4,87	4,13	4,50 A
Cond. BR+GA	9,9	10,0	51 Aa	51 ABa	51	17 ABa	16 Aa	17	27	27	27 AB	3,55	3,59	3,57 AB
Média	-	-	45	43	-	23	24	-	27 a	19 b	-	3,40 a	2,98 a	-
C.V. (%)	-		11,91			14,08			32,64			25,60		

Tratamentos	Comprimento (SVIS®) cm			Uniformidade (SVIS®)			Índice de Vigor (SVIS®)			Emergência de plântulas (%)		
	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média
Testemunha	6,52	6,11	6,31 B	386	406	396 B	283	205	244 B	8	11	9 A
KNO ₃	6,57	5,64	6,11 B	402	418	410 B	429	178	303 B	-	-	-
Cond. BR	7,73	6,45	7,09 A	393	455	424 B	520	328	424 A	6	7	6 A
Cond. GA	7,43	7,44	7,43 A	516	497	507 A	648	390	519 A	12	10	11 A
Cond. BR+GA	8,27	7,31	7,79 A	480	478	479 A	520	393	458 A	5	14	10 A
Média	7,30 a	6,59 b	-	436 a	451 a	-	480 a	299 b	-	8 a	10 a	-
C.V. (%)	9,91			8,74			26,19			35,63		

Letras maiúsculas: comparação entre médias dentro de cada coluna; minúsculas: comparação entre médias dentro de cada linha (Teste de Tukey, $p \leq 0,05\%$). Testemunha: papel umedecido com água; KNO₃: papel umedecido com KNO₃; Cond. BR: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo; Cond. GA: Condicionadas com GA₃; Cond. BR+GA: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo e GA₃.

Após três meses de armazenamento, a temperatura máxima durante a condução do testes de emergência de plântulas foi de 24,9 °C, mínima de 16,6 °C, média de 20,8 °C e umidade relativa média de 81,3 %.

Como observado para a emergência de plântulas provenientes de sementes colhidas por varredura e não escarificadas, após três meses de armazenamento (Tabela 7), estas condições são desfavoráveis para germinação e emergência de plântulas de *Brachiaria*, mas verificou-se que as sementes biocondicionadas, originaram maior média de emergência de plântulas, indicando que em condições não favoráveis, o uso do condicionamento com biorreguladores favoreceu a emergência, em comparação com a testemunha.

Na Tabela 20, são apresentadas as médias obtidas após seis meses de armazenamento das sementes; verificou-se que a interação ambientes de armazenamento e tratamentos foi significativa para porcentagem de sementes dormentes, velocidade de germinação, comprimento e uniformidade de desenvolvimento de plântulas e índice de vigor. Para a germinação, primeira contagem de germinação e emergência de plântulas, houve diferença entre os tratamentos.

Para a porcentagem de germinação e primeira contagem de germinação, os tratamentos com KNO₃ e biocondicionamentos com BR, GA₃ e BR + GA₃, foram significativamente diferentes da testemunha, apresentando maiores médias. A velocidade de germinação foi superior para sementes biocondicionadas com BR, não diferindo estatisticamente do biocondicionamento com BR + GA₃.

A porcentagem de sementes dormentes, assim como ocorreu após três meses de armazenamento (Tabela 19), foi menor para as sementes que permaneceram em câmara fria e seca, com destaque, para os tratamentos com KNO₃ e biocondicionamentos com BR, GA₃ e BR + GA₃, que diferiram estatisticamente da testemunha. Em ambiente natural, os biocondicionamentos com GA₃ e BR + GA₃ diferiram significativamente dos demais tratamentos, apresentando 5 % de sementes dormentes.

Tabela 20. Valores médios de germinação, dormência, primeira contagem de germinação (PC), velocidade de germinação, comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas e índice de vigor determinados em análises SVIS® e emergência de plântulas, a partir de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, **colhidas das inflorescências e não escarificadas**, armazenadas em câmara fria e seca (A1) e ambiente natural com monitoramento de temperatura e umidade relativa do ar (A2), após seis meses de armazenamento.

Tratamentos	TA (%)		Germinação (%)			Dormência (%)			PC (%)			IVG		
	A1	A2	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média
Testemunha	9,7	10,0	21	19	20 B	24 Ba	43 Db	34	15	10	13 B	1,47	1,81	1,64 C
KNO ₃	10,1	10,3	57	47	52 A	6 Aa	10 Bb	8	42	42	42 A	4,52	4,03	4,27 B
Cond. BR	10,2	10,5	60	50	55 A	6 Aa	16 Cb	11	49	47	48 A	5,05	5,02	5,00 A
Cond. GA	9,8	10,3	55	53	54 A	7 Aa	5 Aa	6	44	37	41 A	4,64	3,91	4,27 B
Cond. BR+GA	10,0	10,2	54	52	53 A	6 Aa	5 Aa	6	41	40	41 A	4,57	4,78	4,68 AB
Média	-	-	49 a	45 a	-	10	16	-	38 a	35 a	-	4,05 a	3,91 a	-
C.V. (%)	-	-	8,41	-	-	24,13	-	-	13,59	-	-	10,22	-	-

Tratamentos	Comprimento (SVIS®) cm			Uniformidade (SVIS®)			Índice de Vigor (SVIS®)			Emergência de plântulas (%)		
	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média
Testemunha	4,04 Ba	4,88 BCa	4,46	406 Ba	385 Ca	396	369 Cb	479 Ba	424	3	3	3 B
KNO ₃	5,37 Aa	3,94 Db	4,65	412 ABa	451 Ba	432	467 Ba	363 Cb	415	-	-	-
Cond. BR	5,57 Aa	4,05 CDb	4,81	451 ABa	488 ABa	470	526 Aa	369 Cb	448	5	6	6 A
Cond. GA	5,25 Ab	5,99 Aa	5,62	412 ABb	501 ABa	457	544 Aa	542 Aa	543	6	5	6 A
Cond. BR+GA	5,48 Aa	5,74 ABa	5,61	472 Aa	517 Aa	495	552 Aa	439 Bb	495	7	7	7 A
Média	5,14	4,92	-	431	468	-	492	458	-	5 a	5 a	-
C.V. (%)	12,42	-	-	9,93	-	-	7,36	-	-	28,28	-	-

Letras maiúsculas: comparação entre médias dentro de cada coluna; minúsculas: comparação entre médias dentro de cada linha (Teste de Tukey, $p \leq 0,05\%$). Testemunha: papel umedecido com água; KNO₃: papel umedecido com KNO₃; Cond. BR: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo; Cond. GA: Condicionadas com GA₃; Cond. BR+GA: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo e GA₃.

Destaca-se para o comprimento de plântulas, após seis meses de armazenamento, as sementes biocondicionadas com GA₃ e BR + GA₃, as quais em ambos ambientes de armazenamentos, apresentaram as maiores médias; entretanto, em câmara fria e seca, não houve diferença desses tratamentos para sementes tratadas com KNO₃ e biocondicionadas com BR.

Para uniformidade de desenvolvimento de plântulas, em câmara fria e seca, as sementes biocondicionadas com BR, GA₃ e BR + GA₃ e o tratamento com KNO₃, apresentaram maiores médias, diferindo da testemunha. Em ambiente natural, as sementes biocondicionadas originaram plântulas mais uniformes, diferindo estatisticamente do tratamento com KNO₃ e testemunha.

Em câmara fria e seca os biocondicionamentos com BR, GA₃ e BR + GA₃, diferiram significativamente do tratamento com KNO₃ e testemunha, apresentando maior índice de vigor; em ambiente natural o maior índice de vigor foi das sementes biocondicionadas com GA₃, diferindo significativamente dos demais tratamentos.

A emergência de plântulas, após seis meses de armazenamento, foi realizada em julho, nessa época a temperatura na casa de vegetação foi a menor em comparação com os demais períodos de avaliação, com temperatura máxima de 23,1 °C, mínima de 14,4 °C, média de 18,8 °C e umidade relativa do ar média de 68,4 %.

Na Tabela 20, verificou-se que a baixa temperatura, durante a condução do teste, prejudicou a emergência das plântulas de *Brachiaria humidicola*; no entanto, observou-se a mesma tendência ocorrida após os três meses de armazenamento, com maior porcentagem de emergência de plântulas provenientes das sementes biocondicionadas com BR, GA₃ e BR + GA₃. Isso indica que em condições não favoráveis, como baixa temperatura, as sementes condicionadas com biorreguladores, apresentaram maior tolerância ao estresse, como foi constatado por Bajguz e Hayat (2009) e Eisvand et al. (2010), que verificaram maior tolerância de sementes condicionadas com BR e GA.

Após nove meses de armazenamento, verificou-se pelas análises da variância que a interação ambientes de armazenamento e tratamentos foi significativa para germinação, sementes dormentes, primeira contagem de germinação, velocidade de germinação, comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas, índice de vigor e emergência de plântulas, apresentadas na Tabela 21.

O teor de água das sementes, assim como nos meses anteriores, se manteve dentro do ideal para armazenamento, em ambos os ambientes, com médias variando de 9,5 % a 10,7 %, com maiores valores das sementes armazenadas em ambiente natural.

A germinação das sementes colhidas das inflorescências e não escarificadas, foi superior em câmara fria e seca, com as maiores médias correspondendo as sementes dos tratamentos com KNO_3 e os biocondicionamento com BR, GA_3 e BR + GA_3 , diferindo da testemunha. No armazenamento em ambiente natural, onde as condições de temperatura e umidade relativa do ar foram mais elevadas, as sementes biocondicionadas apresentaram médias superiores ao tratamento com KNO_3 e testemunha, sendo significativamente diferentes.

Para a porcentagem de sementes dormentes, verificou-se que as sementes da testemunha, em armazenamento em câmara fria e seca, diferiu do ambiente natural, apresentando menor porcentagem de sementes dormentes; mas para os demais tratamentos, em ambos ambientes, as sementes biocondicionadas com BR, GA_3 e BR + GA_3 , apresentaram as menores médias, diferindo estatisticamente do tratamento com KNO_3 e testemunha.

Nos testes de vigor de primeira contagem de germinação, velocidade de germinação, comprimento e uniformidade de desenvolvimento de plântulas e índice de vigor (Tabela 21), observou-se tendência de maior vigor para sementes biocondicionadas com GA_3 e BR + GA_3 , sendo que estes tratamentos apresentaram maiores médias nos dois ambientes de armazenamento.

O armazenamento em câmara fria e seca após nove meses, proporcionou melhores condições para manutenção do potencial fisiológico das sementes colhidas das inflorescências e não escarificadas, sendo a condição mais adequada para superação da dormência nas sementes, com destaque para sementes biocondicionadas com GA_3 .

Em ambiente natural, apesar das condições não terem sido mais adequadas para armazenamento, em comparação com câmara fria e seca, verificou-se que o uso de biorreguladores no condicionamento fisiológico, principalmente de GA_3 e BR + GA_3 , mantiveram o vigor das sementes colhidas das inflorescências e não escarificadas, corroborando com Larré, Moraes e Lopes (2011) e Tiriaky e Buyukcingil (2009), que verificaram que sementes tratadas com biorreguladores apresentaram maior tolerância durante períodos de estresse.

Tabela 21. Valores médios de germinação, dormência, primeira contagem de germinação (PC), velocidade de germinação, comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas e índice de vigor determinados em análises SVIS® e emergência de plântulas, a partir de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, **colhidas das inflorescências e não escarificadas**, armazenadas em câmara fria e seca (A1) e ambiente natural com monitoramento de temperatura e umidade relativa do ar (A2), após nove meses de armazenamento.

Tratamentos	TA (%)		Germinação (%)			Dormência (%)			PC (%)			IVG		
	A1	A2	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média
Testemunha	9,5	10,3	26 Ba	25 Ca	26	21 Ca	30 Cb	26	14 Ca	11 Da	13	1,87 Ca	1,57 Da	1,72
KNO ₃	10,0	10,4	55 Aa	42 Bb	49	6 Ba	7 Ba	7	30 Ba	26 Ca	28	3,88 Ba	3,14 Cb	3,51
Cond. BR	9,9	10,7	58 Aa	46 ABb	52	3 Aa	4 Aa	4	31 Ba	36 Ba	34	3,67 Ba	3,92 Ba	3,80
Cond. GA	9,9	10,5	60 Aa	53 Ab	57	4 ABa	3 Aa	4	45 Aa	47 Aa	46	5,13 Aa	4,87 Aa	5,00
Cond. BR+GA	9,8	10,3	53 Aa	54 Aa	54	2 Aa	5 ABa	4	34 Ba	47 Aa	41	4,10 Ba	4,88 Aa	4,49
Média	-	-	50	44	-	7	10	-	31	33	-	3,73	3,68	-
C.V. (%)	-	-	9,12			18,21			15,04			9,42		

Tratamentos	Comprimento (SVIS®) cm			Uniformidade (SVIS®)			Índice de Vigor (SVIS®)			Emergência de plântulas (%)		
	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média
Testemunha	6,30 Aa	4,15 Bb	5,23	359 Ca	214 Cb	287	440 Ba	268 Db	349	5 Cb	17 BCa	11
KNO ₃	5,85 Aa	4,11 Bb	4,98	460 Ba	455 ABa	458	549 Aa	358 Cb	453	-	-	-
Cond. BR	5,00 Ba	4,38 Bb	4,69	450 Ba	418 Bb	434	409 Ba	419 Ba	414	12 Ba	12 Ca	12
Cond. GA	5,59 ABa	4,62 ABb	5,10	548 Aa	486 Ab	517	537 Aa	478 Ab	507	15 ABb	20 ABa	17
Cond. BR+GA	5,72 ABa	5,23 Aa	5,48	528 Aa	461 Ab	495	542 Aa	434 ABb	488	17 Ab	23 Aa	20
Média	5,69	4,50	-	469	407	-	495	389	-	12	18	-
C.V. (%)	10,86			6,57			8,32			16,93		

Letras maiúsculas: comparação entre médias dentro de cada coluna; minúsculas: comparação entre médias dentro de cada linha (Teste de Tukey, $p \leq 0,05\%$).

Testemunha: papel umedecido com água; KNO₃: papel umedecido com KNO₃; Cond. BR: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo; Cond. GA: Condicionadas com GA₃; Cond. BR+GA: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo e GA₃.

Após nove meses de armazenamento, as temperaturas na casa de vegetação foram máxima de 30,8 °C, mínima de 19,1 °C e com umidade relativa do ar média de 71,9 %, sendo superior à registrada após seis meses de armazenamento, refletindo em maior porcentagem de sementes emergidas.

Verificou-se que, assim como ocorreram para os testes de vigor, as sementes biocondicionadas com GA₃ e BR + GA₃, armazenadas em ambos ambientes de armazenamento, apresentaram maior porcentagem de plântulas emergidas em areia, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos.

A Figura 6 apresenta uma visão geral da porcentagem de germinação e sementes dormentes, das sementes colhidas das inflorescências e não escarificadas, durante os nove meses de armazenamento em câmara fria e seca e ambiente natural.

Observando as médias de germinação das sementes armazenadas em câmara fria e seca, verificou-se que os tratamentos com KNO₃ e biocondicionamentos com BR, GA₃ e BR + GA₃, antes do armazenamento, apresentaram médias acima de 40%. Em ambiente natural, a germinação foi superior para as sementes biocondicionadas com GA₃ e BR + GA₃, em todos os períodos de armazenamento.

Para a porcentagem de sementes dormentes, nos dois ambientes houve superação da dormência com o decorrer do tempo, ocorrendo maior redução após seis meses de armazenamento, principalmente em sementes armazenadas em câmara fria e seca.

Em ambos ambientes de armazenamento, a germinação da testemunha não foi superior a 26 % e a porcentagem de sementes dormentes manteve-se superior à 20 %.

Observando a Figura 4 e 6, respectivamente das sementes colhidas por varredura e inflorescências, não escarificadas, verificou-se que em todos os períodos de avaliação, houve tendência para maior germinação das sementes colhidas por varredura, independentemente do tratamento.

Na colheita por varredura, as sementes são colhidas após a degrana natural, com isto, a maioria das sementes já atingiu a maturidade fisiológica. A colheita das sementes das inflorescências é realizada antes do início da degrana e, como as plantas de *Brachiaria* apresentam desuniformidade de maturação, em uma inflorescência há sementes em todos estádios de desenvolvimento; com isso,

existem sementes que não completaram o desenvolvimento do embrião e consequentemente, pode haver maior desequilíbrio entre ABA e GA, influenciando diretamente na dormência e germinação das sementes.

Figura 6. Porcentagem de germinação e dormência de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola **colhidas das inflorescências e não escarificadas**, em função dos tratamentos e períodos de armazenamento, em dois ambientes de armazenamento.

As médias da atividade da enzima α -amilase em sementes colhidas das inflorescências e não escarificadas, antes do armazenamento e após nove meses em armazenamento em câmara fria e seca e ambiente natural, são apresentadas na Tabela 22.

Tabela 22. Valores médios da atividade de α -amilase proveniente de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, **colhidas das inflorescências e não escarificadas**, antes do armazenamento e após nove meses armazenadas em câmara fria e seca (A1) e ambiente natural, com monitoramento de temperatura e umidade relativa do ar (A2).

Tratamentos	zero	9 - A1	9 - A2	Média
Testemunha	0,147 Cb	0,440 Ca	0,204 Bb	0,263
Cond. BR	0,544 Ab	0,719 Ba	0,697 Aa	0,653
Cond. GA	0,426 Bb	0,751 Ba	0,703 Aa	0,627
Cond. BR+GA	0,405 Bc	0,820 Aa	0,660 Ab	0,628
Média	0,380	0,683	0,566	-
CV (%)		7,98		

Letras maiúscula: comparação entre médias dentro de cada coluna; minúsculas: comparação entre médias dentro de cada linha (Teste de Tukey, $p \leq 0,05\%$). Zero: antes do armazenamento; 9 – A1: período de nove meses de armazenamento em câmara fria e seca; 9 – A2: período de nove meses de armazenamento em ambiente natural; Cond. BR: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo; Cond. GA: Condicionadas com GA₃; Cond. BR+GA: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo e GA₃.

Antes do armazenamento, a atividade da α -amilase foi superior nas sementes biocondicionadas com BR, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Observando as médias de germinação e de sementes dormentes antes do armazenamento (Tabela 18), verificou-se que a porcentagem de dormência das sementes desse tratamento apresentou menor média (17 %) e maior germinação (40 %), em relação aos demais tratamentos.

Após nove meses de armazenamento em câmara fria e seca, as sementes biocondicionadas com BR + GA₃ apresentaram maior atividade da α -amilase; em ambiente natural a maior atividade foi das sementes biocondicionadas com BR, GA₃ e BR + GA₃, diferindo significativamente da testemunha. Assim como ocorreu para sementes antes do armazenamento, após nove meses em ambos os ambientes de armazenamento, verificou-se que a maior atividade da enzima α -amilase coincidiu com as maiores porcentagens de germinação e menores porcentagens de sementes dormentes (Tabela 21).

Há trabalhos que verificaram que a utilização de BR e giberelina nas sementes aumentam da atividade de α -amilase, por serem indutores da enzima α -amilase (HAYAT e AHMAD, 2003; VIEIRA et al, 2002).

Verificou-se que a atividade da α -amilase foi inferior antes do armazenamento, para as sementes de todos os tratamentos, indicando que durante o armazenamento a α -amilase continuou atuando, principalmente nas sementes biocondicionadas, ocorrendo maior degradação de reservas, podendo ter influenciado na superação da dormência, resultando em maior germinação.

Compostos fenólicos presentes nas sementes podem ser inibidores da germinação, devido ao consumo do oxigênio durante os processos de oxidação, restringindo a quantidade que atinge o embrião e, à medida que a dormência vai sendo superada, intensifica-se a mobilização das reservas, como o amido, aumentando a atividade da α -amilase e diminuindo a atividade da polifenoloxidase (VIEIRA et al., 2008).

As médias da atividade da enzima polifenoloxidase das sementes colhidas das inflorescências e não escarificadas são apresentadas na Tabela 23, ocorrendo interação dos tratamentos com os períodos de armazenamento.

Antes do armazenamento, as sementes dos biocondicionamentos com BR, GA₃ e BR + GA₃, apresentaram menor atividade da PPO, diferindo da testemunha; após nove meses em ambos ambientes de armazenamento, a atividade dessa enzima foi menor para as sementes biocondicionadas com GA₃, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos.

Tabela 23. Valores médios da atividade da enzima polifenoloxidase (PPO) provenientes de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, **colhidas das inflorescências e não escarificadas**, antes do armazenam no período zero de armazenamento e após nove meses armazenadas em câmara fria e seca (A1) e ambiente natural com monitoramento de temperatura e umidade relativa do ar (A2).

Tratamentos	zero	9 - A1	9 - A2	Média
Testemunha	5,64 Ba	5,40 Ca	5,33 Ca	5,46
Cond. BR	4,76 Ab	4,06 Ba	4,14 ABa	4,32
Cond. GA	4,48 Ab	3,61 Aa	3,90 Aa	4,00
Cond. BR+GA	4,60 Ab	4,02 Ba	4,25 Ba	4,29
Média	4,87	4,27	4,41	-
CV (%)	5,80			

Letras maiúscula: comparação entre médias dentro de cada coluna; minúsculas: comparação entre médias dentro de cada linha (Teste de Tukey, $p \leq 0,05\%$). Zero: período zero de armazenamento; 9 – A1: período de nove meses de armazenamento em câmara fria e seca; 9 – A2: período de nove meses de armazenamento em ambiente natural; Cond. BR: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo; Cond. GA: Condicionadas com GA₃; Cond. BR+GA: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo e GA₃.

As sementes da testemunha não apresentaram diferença entre os períodos de armazenamento e, observando a Figura 6, verificou-se que as porcentagens de germinação nesses períodos foram próximas, com média máxima de 26 % e a de sementes dormentes elevada, superior a 21 %, em todos os períodos de armazenamento.

As sementes biocondicionadas com BR, GA₃ e BR + GA₃ apresentaram a mesma tendência de atividade da enzima polifenoloxidase, com maior atividade antes do armazenamento, diferindo estatisticamente do armazenamento após nove meses, em ambos os ambientes.

Na Figura 6, comparando antes e após nove meses de armazenamento, verificou-se que houve aumentos significativos da germinação e redução da porcentagem de sementes dormentes, para os três biocondicionamentos, indicando que, com a superação de dormência, menor é atividade da enzima polifenoloxidase.

A PPO é associada à oxidação de compostos fenólicos, que podem inibir a germinação, ocasionando dormência das sementes (AHMAD et al., 2010) e, com sua atuação, há diminuição da atividade da PPO nas sementes, ocorrendo a superação da dormência (VIEIRA et al., 2008).

4.5.4. Sementes colhidas das inflorescências e escarificadas

As análises da variância dos dados das sementes colhidas das inflorescências e escarificadas, antes do armazenamento, referentes à germinação, sementes dormentes, primeira contagem de germinação e velocidade de germinação, revelaram valores de F significativos para ambientes de armazenamento e tratamentos; para o comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas, índice de vigor e emergência de plântulas não houve efeito significativo.

Os teores de água das sementes antes do armazenamento foram de 9,3 % à 9,7 %, com as maiores médias para sementes biocondicionadas, considerados adequados para armazenamento, por serem inferiores a 12 %.

A diferença estatística para a porcentagem de germinação e sementes dormentes, foram semelhantes, apresentando os tratamentos com KNO₃ e biocondicionamento com BR, GA₃ e BR + GA₃ as maiores porcentagens de germinação e menores de sementes dormentes, diferindo da testemunha.

Para a primeira contagem de germinação e velocidade de germinação, as sementes biocondicionadas apresentaram maior velocidade de germinação, diferindo do tratamento com KNO₃ e testemunha.

Tabela 24. Valores médios de germinação, dormência, primeira contagem de germinação (PC), velocidade de germinação, comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas e índice de vigor determinados em análises SVIS® e emergência de plântulas, a partir de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, **colhidas das inflorescências e esscarificadas**, antes do armazenamento.

Tratamento	TA (%)	Germinação (%)	Dormência (%)	PC (%)	IVG
Testemunha	9,3	13 B	46 B	6 C	1,95 B
KNO ₃	9,3	29 A	26 A	19 BC	2,95 AB
Cond. BR	9,7	39 A	23 A	28 AB	3,33 A
Cond. GA	9,7	35 A	26 A	29 AB	3,94 A
Cond. BR+GA	9,5	39 A	18 A	37 A	4,22 A
C.V. (%)	-	15,96	31,00	20,18	17,82

Tratamentos	Comprimento (SVIS®) cm	Uniformidade (SVIS®)	Índice de Vigor (SVIS®)	Emergência de plântulas (%)
Testemunha	7,30 A	442 A	282 A	15 A
KNO ₃	6,90 A	427 A	250 A	-
Cond. BR	7,41 A	437 A	256 A	15 A
Cond. GA	7,71 A	456 A	342 A	21 A
Cond. BR+GA	6,55 A	473 A	288 A	24 A
C.V. (%)	12,49	7,63	22,44	29,00

Letras maiúscula: comparação entre médias dentro de cada coluna (Teste de Tukey, $p \leq 0,05\%$). Testemunha: papel umedecido com água; KNO₃: papel umedecido com KNO₃; Cond. BR: condicionadas com 24-epibrassinolídeo; Cond. GA: condicionadas com GA₃; Cond. BR+GA: condicionadas com 24-epibrassinolídeo e GA₃.

A temperatura máxima, durante a condução do teste de emergência de plântulas em areia, antes das sementes serem armazenadas, foi de 33,0 °C, a mínima de 22,1 °C e média de 27,6 °C, com umidade relativa do ar média de 70,9 %. Verificou-se que, assim como ocorreu para sementes não esscarificadas, não houve diferença entre os tratamentos, mas as sementes esscarificadas apresentaram maior porcentagem de plântulas emergidas em relação às não esscarificadas no mesmo período (Tabela 18).

Após três meses de armazenamento das sementes colhidas das inflorescências e esscarificadas, Tabela 25, verificou-se pelas análises da variância que a interação ambientes de armazenamento e tratamentos foi significativa para germinação, primeira contagem de germinação, comprimento de plântulas e índice de vigor; sendo significativo os efeitos dos tratamentos para porcentagem de sementes dormentes, velocidade de germinação, uniformidade de desenvolvimento de plântulas e emergência de plântulas.

O teor de água das sementes, assim como observado para sementes antes do armazenamento, foi adequado, com valores inferiores a 12 %.

Para a germinação, destaca-se as sementes biocondicionadas com GA₃ e BR + GA₃, pois em ambos os ambientes esses tratamentos apresentaram as maiores porcentagens de sementes germinadas. Verificou-se em câmara fria e seca, que esses tratamentos não diferiram estatisticamente dos tratamentos com KNO₃ e biocondicionamento com BR.

Para a porcentagem de sementes dormentes, a testemunha apresentou maior média, diferindo dos tratamentos com KNO₃ e biocondicionamentos com BR, GA₃ e BR + GA₃; além disso, as semente que permaneceram por três meses em câmara fria e seca, apresentaram menor porcentagem de sementes dormentes, em comparação com as armazenadas em ambiente natural.

O armazenamento em câmara fria e seca foi destacado como ideal para conservar o potencial fisiológico de sementes de *Brachiaria decumbens*, durante 20 meses (GONZALEZ, MENDOZA e TORRES, 1993).

Para primeira contagem de germinação, as sementes biocondicionadas com GA₃ e BR + GA₃, que permaneceram em câmara fria e seca, apresentaram as maiores médias, diferindo das sementes da testemunha e biocondicionamento com BR; em ambiente natural, as sementes biocondicionadas com GA₃ apresentaram média superior, sendo estatisticamente diferentes dos demais tratamentos.

As sementes biocondicionadas com GA₃ e BR + GA₃, apresentaram maior velocidade de germinação e maior uniformidade de desenvolvimento de plântulas, diferindo da testemunha e tratamentos com KNO₃ e biocondicionamento com BR.

Sementes armazenadas em câmara fria e seca, originaram plântulas maiores em comparação com as mantidas em ambiente natural. Em ambos os ambientes de armazenamento, a maior média, diferindo das demais, foram para sementes biocondicionadas, sendo em câmara fria e seca o biocondicionamento com GA₃ e, em ambiente natural o biocondicionamento com BR + GA₃.

Tabela 25. Valores médios de germinação, dormência, primeira contagem de germinação (PC), velocidade de germinação, comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas e índice de vigor determinados em análises SVIS® e emergência de plântulas, a partir de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, **colhidas das inflorescências e esscarificadas**, armazenadas em câmara fria e seca (A1) e ambiente natural com monitoramento de temperatura e umidade relativa do ar (A2), após três meses de armazenamento.

Tratamentos	TA (%)		Germinação (%)			Dormência (%)			PC (%)			IVG		
	A1	A2	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média
Testemunha	9,4	9,5	22 Ba	25 Ca	24	42	45	44 B	16 Ca	12 Ca	14	1,94	1,66	1,80 C
KNO ₃	9,3	9,6	43 Aa	37 Ba	40	19	23	21 A	31 ABa	19 BCb	25	4,07	2,73	3,40 B
Cond. BR	9,8	9,9	46 Aa	40 Ba	43	19	21	20 A	24 BCa	28 Ba	26	3,36	3,40	3,38 B
Cond. GA	9,3	9,8	51 Aa	50 Aa	51	22	25	24 A	38 Aa	42 Aa	40	4,52	4,47	4,50 A
Cond. BR+GA	9,5	9,7	45 Aa	45 ABa	45	15	18	17 A	38 Aa	29 Ba	33	4,68	4,09	4,38 AB
Média	-	-	41	39	-	23 a	26 b	-	29	26	-	3,71 a	3,27 a	-
C.V. (%)	-		11,31			18,58			21,60			21,10		

Tratamentos	Comprimento (SVIS®) cm			Uniformidade (SVIS®)			Índice de Vigor (SVIS®)			Emergência de plântulas (%)		
	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média
Testemunha	7,98 BCa	6,10 Bb	7,04	435	433	434 BC	200 Ba	203 Da	201	11	9	10 C
KNO ₃	7,10 Ca	6,27 Bb	6,68	440	393	416 C	528 Aa	241 Db	385	-	-	-
Cond. BR	7,35 Ca	7,02 ABa	7,19	499	441	470 B	622 Aa	361 Cb	492	11	14	12 BC
Cond. GA	9,76 Aa	6,23 Bb	8,00	560	544	552 A	584 Aa	517 Ba	601	19	18	19 A
Cond. BR+GA	8,57 Ba	7,72 Ab	8,14	557	479	518 A	586 Aa	617 Aa	552	13	19	16 AB
Média	8,15	6,67	-	458 a	498 a	-	504	388	-	13 b	15 a	-
C.V. (%)	9,85			8,77			14,76			21,82		

Letras maiúsculas: comparação entre médias dentro de cada coluna; minúsculas: comparação entre médias dentro de cada linha (Teste de Tukey, $p \leq 0,05\%$). Testemunha: papel umedecido com água; KNO₃: papel umedecido com KNO₃; Cond. BR: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo; Cond. GA: Condicionadas com GA₃; Cond. BR+GA: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo e GA₃.

O índice de vigor em câmara fria e seca foi estatisticamente semelhante para sementes tratadas com KNO_3 e biocondicionadas com BR, GA_3 e BR + GA_3 . Em ambiente natural, as sementes biocondicionadas com BR + GA_3 apresentaram maior índice vigor, sendo estatisticamente diferente aos demais tratamentos e, semelhante à média desse tratamento armazenado em câmara fria e seca.

Após três meses de armazenamento, a temperatura da casa de vegetação foi máxima de 24,9 °C, mínima de 16,6 °C, média de 20,8 °C e umidade relativa média de 81,3 %, sendo considerada não favorável para a germinação e emergência das plântulas de *Brachiaria*, pois segundo Souza et al. (2016), a germinação e desenvolvimento das plântulas é prejudicado com temperatura inferior a 20,0 °C.

Verificou-se que após três meses de armazenamento, a porcentagem de plântulas emergidas foi menor em relação as sementes antes do armazenamento, devido as condições na casa de vegetação; mas observou-se que as sementes biocondicionadas com GA_3 , diferiu dos demais tratamentos, com 2 % à menos de plântulas emergidas, em comparação com o mesmo tratamento antes do armazenamento (Tabela 24).

Após seis meses de armazenamento, Tabela 26, verificou-se pelas análises da variância que a interação ambientes de armazenamento e tratamentos foi significativa para primeira contagem de germinação, velocidade de germinação, comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas, índice de vigor e emergência de plântulas; os efeitos de tratamentos e ambientes de armazenamento foi significativo para germinação e porcentagem de sementes dormentes.

Para a germinação e porcentagem de sementes dormentes, as sementes dos tratamentos com KNO_3 e biocondicionamentos com BR, GA_3 e BR + GA_3 apresentaram as maiores médias, diferindo da testemunha. Para o efeito de ambientes de armazenamento, somente a porcentagem de sementes dormentes apresentou diferença estatística, com a menor porcentagem das sementes mantidas em câmara fria e seca.

Na primeira contagem de germinação, destaca-se as sementes biocondicionadas com BR + GA_3 , pois em ambos ambientes de armazenamento apresentou a maior média, não diferindo apenas das sementes biocondicionadas com GA_3 no armazenamento em câmara fria e seca.

Tabela 26. Valores médios de germinação, dormência, primeira contagem de germinação (PC), velocidade de germinação, comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas e índice de vigor determinados em análises SVIS® e emergência de plântulas, a partir de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, **colhidas das inflorescências e esscarificadas**, armazenadas em câmara fria e seca (A1) e ambiente natural com monitoramento de temperatura e umidade relativa do ar (A2), após seis meses de armazenamento.

Tratamentos	TA (%)		Germinação (%)			Dormência (%)			PC (%)			IVG		
	A1	A2	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média
Testemunha	9,3	9,7	24 Ca	26 Ca	25	25	30	28 B	16 Ca	15 Ca	16	1,87 Ca	1,78 Ca	1,82
KNO ₃	9,4	9,6	40 Aa	43 Aa	42	7	14	11 A	29 Bb	36 Ba	32	3,18 Bb	4,19 Ba	3,69
Cond. BR	9,6	9,9	49 Aa	48 Aa	49	6	8	7 A	31 Ba	34 Ba	33	3,98 Aa	3,70 Ba	3,84
Cond. GA	9,6	9,9	49 Aa	49 Aa	49	8	12	10 A	40 Aa	37 Ba	38	4,35 Aa	4,28 Ba	4,32
Cond. BR+GA	9,5	9,8	48 Aa	56 Aa	52	6	7	7 A	42 Ab	48 Aa	45	4,59 Aa	5,08 Aa	4,83
Média	-	-	42	44	-	10 a	14 b	-	34	32	-	3,59	3,80	-
C.V. (%)	-		7,66			17,81			11,83			9,68		

Tratamentos	Comprimento (SVIS®) cm			Uniformidade (SVIS®)			Índice de Vigor (SVIS®)			Emergência de plântulas (%)		
	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média
Testemunha	4,86 Ca	4,40 CDa	4,63	442 Ca	479 Aa	461	471 Ca	431 Bb	451	8 Ba	6 Ca	7
KNO ₃	4,43 Ca	3,99 Da	4,21	449 Ca	429 Aa	439	477 Ca	358 Cb	418	-	-	-
Cond. BR	6,29 Ba	5,01 BCb	5,65	525 Ba	427 Ab	476	595 Ba	460 ABb	528	11 ABa	13 Ba	12
Cond. GA	7,60 Aa	5,77 Ab	6,69	602 Aa	455 Ab	529	705 Aa	486 ABa	596	15 Ab	21 Aa	18
Cond. BR+GA	6,19 Ba	5,29 ABb	5,74	502 BCa	488 Aa	495	550 Ba	490 Ab	520	13 Aa	14 Ba	13
Média	5,87	4,89	-	504	456	-	560	445	-	11	13	-
C.V. (%)	8,50			9,40			7,58			19,57		

Letras maiúsculas: comparação entre médias dentro de cada coluna; minúsculas: comparação entre médias dentro de cada linha (Teste de Tukey, $p \leq 0,05\%$). Testemunha: papel umedecido com água; KNO₃: papel umedecido com KNO₃; Cond. BR: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo; Cond. GA: Condicionadas com GA₃; Cond. BR+GA: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo e GA₃.

A velocidade de germinação das sementes armazenadas em ambiente natural, apresentou a mesma tendência da primeira contagem de germinação, com a maior velocidade para as sementes biocondicionadas com BR + GA₃, diferindo dos demais tratamentos. Para sementes armazenadas por seis meses em câmara fria e seca, as sementes biocondicionadas com BR, GA₃ e BR + GA₃, diferiram da testemunha e tratamento com KNO₃.

Para as avaliações realizadas com auxílio do programa computacional SVIS®, verificou-se que as sementes biocondicionadas com GA₃ e armazenadas em câmara fria e seca, originaram plântulas de maior comprimento e mais uniformes e com maior índice de vigor, diferindo dos demais tratamentos. Em ambiente natural, destaca-se as sementes biocondicionadas com GA₃ e BR + GA₃, as quais originaram plântulas de maior comprimento e maior índice de vigor, não havendo diferença entre os tratamentos para a uniformidade de desenvolvimento de plântulas.

A temperatura máxima na casa de vegetação, durante a emergência em areia, após seis meses de armazenamento foi de 23,1 °C, mínima de 14,4 °C e média de 18,8 °C, com umidade relativa média de 68,4 % e, como discutido para emergência de plântulas após três meses de armazenamento, essas condições são desfavoráveis para germinação e emergência de plântulas de *Brachiaria*; porém com a escarificação das sementes e os biocondicionamentos com GA₃ e BR + GA₃, a porcentagem de sementes emergidas foi superior em comparação com as sementes colhidas das inflorescências e não escarificadas (Tabela 20).

Verificou-se que após três e seis meses de armazenamento, as sementes biocondicionadas com GA₃ e BR + GA₃, se destacaram em todos os testes. Esses biorreguladores tem atuação semelhante nos processos fisiológicos das sementes, como expansão celular, crescimento da plântula, estímulo à síntese e à atividade de enzimas e, a utilização desses em conjunto pode favorecer os processos fisiológicos os quais atuam (TAIZ, et al., 2017), principalmente os relacionados à expansão celular, como a rapidez de germinação e de desenvolvimento da plântula (FRIDMAN e SAVALDI-GOLDSTEIN, 2013).

Vale ressaltar que os brassinosteróides em paralelo com o GA₃ exercem efeito inibitório sobre o ABA (XI e YU, 2010), favorecendo a superação de dormência ocasionada por desequilíbrio hormonal, principalmente pelo fato de algumas

sementes não apresentarem o embrião totalmente formado, auxiliando, portanto, no equilíbrio hormonal.

Na Tabela 27 é apresentado o teor de água e as análises da variância, revelando diferenças significativas para os efeitos da interação de ambientes de armazenamento e tratamentos para os dados de germinação, sementes dormentes, primeira contagem de germinação, velocidade de germinação, comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas, índice de vigor e emergência de plântulas, após nove meses de armazenamento, das sementes colhidas das inflorescências e escarificadas.

O teor de água das sementes foi de 9,2 % a 9,5 % em câmara fria e seca e de 10,3 % a 9,8 % em ambiente natural, sendo que em ambos ambientes o teor de água foi adequado, pois foi inferior a 12 %.

A porcentagem de germinação, o armazenamento em câmara fria e seca e ambiente natural apresentaram as maiores porcentagens para as sementes biocondicionadas com BR, GA₃ e BR + GA₃, diferindo estatisticamente da testemunha e tratamento com KNO₃.

Para a porcentagem de sementes dormentes, as sementes da testemunha apresentando maior média, diferindo dos demais tratamentos; mas verificou-se que o armazenamento das sementes da testemunha em câmara fria e seca, apresentou menor média, diferindo do ambiente natural.

Pelos dados da primeira contagem de germinação e velocidade de germinação, observou-se que nos dois ambientes de armazenamento, as médias foram superiores para as sementes biocondicionadas, destacando-se os três biocondicionamentos em câmara fria e seca e, os biocondicionamentos com GA₃ e BR + GA₃ em ambiente natural, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos.

Verificou-se que as sementes biocondicionadas com GA₃, em câmara fria e seca, se destacaram nas avaliações de comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas e índice de vigor; em ambiente natural, além desse biocondicionamento, as sementes biocondicionadas com BR + GA₃, apresentaram médias superiores, diferindo dos demais tratamentos.

Após nove meses de armazenamento, as sementes biocondicionadas com GA₃ e BR + GA₃, apresentaram maiores porcentagens de plântulas emergidas, sendo estatisticamente diferentes dos demais tratamentos e, não houve diferença entre os ambientes de armazenamento.

Tabela 27. Valores médios de germinação, dormência, primeira contagem de germinação (PC), velocidade de germinação, comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas e índice de vigor determinados em análises SVIS® e emergência de plântulas, a partir de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, **colhidas das inflorescências e esscarificadas**, armazenadas em câmara fria e seca (A1) e ambiente natural com monitoramento de temperatura e umidade relativa do ar (A2), após nove meses de armazenamento.

Tratamentos	TA (%)		Germinação (%)			Dormência (%)			PC (%)			IVG		
	A1	A2	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média
Testemunha	9,2	10,0	38 Ba	27 Cb	33	17 Ba	33 Bb	25	29 Ba	9 Db	19	3,32 Ba	1,25 Db	2,29
KNO ₃	9,2	9,8	45 Ba	46 Ba	46	5 Aa	7 Aa	6	29 Ba	27 Ca	28	3,42 Ba	3,44 Ca	3,43
Cond. BR	9,3	10,3	50 ABa	48 ABa	49	7 Aa	8 Aa	8	38 Aa	31 BCb	34	4,34 Aa	3,90 BCb	4,12
Cond. GA	9,5	10,4	56 Aa	54 Aa	55	5 Aa	9 Aa	7	43 Aa	41 Aa	42	4,77 Aa	4,25 ABa	4,39
Cond. BR+GA	9,4	10,1	56 Aa	57 Aa	57	5 Aa	5 Aa	5	36 ABa	36 ABb	36	4,16 Aa	4,87 Aa	4,52
Média	-	-	49	46	-	8	12	-	35	29	-	3,95	3,54	-
C.V. (%)	-	-	9,06			25,47			12,49			9,33		

Tratamentos	Comprimento (SVIS®) cm			Uniformidade (SVIS®)			Índice de Vigor (SVIS®)			Emergência de plântulas (%)		
	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média	A1	A2	Média
Testemunha	6,13 Ba	6,10 BCa	6,12	476 Ba	360 Cb	418	603 Ba	472 Bb	538	18 Ba	21 Ca	20
KNO ₃	6,12 Ba	5,53 Cb	5,82	469 Ba	424 Bb	447	504 Ca	491 Ba	497	-	-	-
Cond. BR	6,01 Ba	4,12 Db	5,06	510 ABa	454 Bb	482	567 Ba	410 Cb	489	19 Bb	25 BCa	22
Cond. GA	7,50 Aa	7,08 Aa	7,29	534 Aa	544 Aa	539	691 Aa	606 Aa	648	27 Aa	32 Aa	29
Cond. BR+GA	5,93 Ba	6,43 ABa	6,18	511 ABa	568 Aa	540	547 BC	599 Aa	573	30 Aa	28 ABa	29
Média	6,34	5,85	-	500	470	-	582	516	-	23	26	-
C.V. (%)	8,69			6,44			7,29			9,48		

Letras maiúsculas: comparação entre médias dentro de cada coluna; minúsculas: comparação entre médias dentro de cada linha (Teste de Tukey, $p \leq 0,05\%$). Testemunha: papel umedecido com água; KNO₃: papel umedecido com KNO₃; Cond. BR: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo; Cond. GA: Condicionadas com GA₃; Cond. BR+GA: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo e GA₃.

A atividade do BR é sinérgica com a da giberelina (TANAKA et al., 2003), favorecendo o potencial fisiológico das sementes, resultando em aumento comprimento de plântulas, uniformidade de desenvolvimento de plântulas e velocidade de germinação (AROUCHA et al., 2006).

Uma visão geral do comportamento das sementes colhidas das inflorescências e escarificadas, em cada ambiente de armazenamento, para germinação e sementes dormentes, encontra-se ilustrada na Figura 7.

Figura 7. Porcentagem de germinação e dormência de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola **colhidas das inflorescências e escarificadas**, em função dos tratamentos e períodos de armazenamento, em dois ambientes de armazenamento.

Verificou-se que após nove meses de armazenamento em ambos ambientes, todos os tratamentos apresentaram maior germinação e menor porcentagem de sementes dormentes.

A germinação das sementes colhidas das inflorescências e escarificadas, foi superior quando foram biocondicionadas, principalmente com uso de GA₃ e BR + GA₃, sendo que em todos os períodos de avaliação e nos dois ambientes de armazenamento, as sementes desses dois biocondicionamentos apresentaram porcentagem de germinação superiores.

Para as sementes dormentes, verificou-se que ao longo do armazenamento a porcentagem reduz em todos os tratamentos, com maior redução após o sexto mês de armazenamento, principalmente das sementes armazenadas em câmara fria e seca.

Nas Tabelas 28 e 29 são apresentadas, respectivamente, as médias das atividades das enzimas α -amilase e polifenoloxidase e, as análises da variância dos dados obtidos revelaram diferenças significativas para os efeitos da interação ambientes de armazenamento e tratamentos, para as duas enzimas.

Tabela 28. Valores médios da atividade de α -amilase proveniente de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, **colhidas das inflorescências e escarificadas**, antes do armazenam, antes do armazenamento e após nove meses armazenadas em câmara fria e seca (A1) e ambiente natural, com monitoramento de temperatura e umidade relativa do ar (A2).

Tratamentos	zero	9 - A1	9 - A2	Média
Testemunha	0,196 Bb	0,421 Ba	0,261 Cb	0,292
Cond. BR	0,392 Ab	0,618 Aa	0,569 Ba	0,526
Cond. GA	0,367 Ac	0,597 Ab	0,690 Aa	0,551
Cond. BR+GA	0,424 Ab	0,691 Aa	0,672 Aa	0,596
Média	0,345	0,582	0,548	-
CV (%)	9,18			

Letras maiúscula: comparação entre médias dentro de cada coluna; minúsculas: comparação entre médias dentro de cada linha (Teste de Tukey, $p \leq 0,05\%$). Zero: antes do armazenamento; 9 – A1: período de nove meses de armazenamento em câmara fria e seca; 9 – A2: período de nove meses de armazenamento em ambiente natural; Cond. BR: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo; Cond. GA: Condicionadas com GA₃; Cond. BR+GA: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo e GA₃.

Antes e após nove meses de armazenamento em câmara fria e seca, as sementes biocondicionadas apresentaram maiores atividades da α -amilase, diferindo da testemunha. Em ambiente natural, após nove meses de

armazenamento, a atividade da enzima foi superior para as sementes biocondicionadas com GA₃ e BR + GA₃.

A maior atividade da α -amilase para a testemunha, foi após nove meses em câmara fria e seca; para sementes biocondicionadas com BR e BR + GA₃ a maior atividade foi após nove meses de armazenamento, independentemente do local de armazenamento e, para as sementes biocondicionadas com GA₃, foi após nove meses em ambiente natural.

Observando os dados da Tabela 28 e a Figura 7, pode-se inferir que a maior atividade da α -amilase coincidiu com a maior porcentagem de germinação, em todos os tratamentos e, foi superior em sementes biocondicionadas, visto que, ao realizar o biocondicionamento, as sementes são hidratadas até a fase II de embebição, havendo maior atividade da enzima α -amilase para degradar o amido presente no material de reserva da semente (TAIZ et al, 2017).

Pela análise estatística na Tabela 29, verificou-se a menor atividade da polifenoloxidase correspondeu a maior atividade da α -amilase, desse modo, destaca-se as sementes biocondicionadas com BR, GA₃ e BR + GA₃, antes e após nove meses de armazenamento em câmara fria e seca, diferindo da testemunha; em ambiente natural, após nove meses, a menor atividade da PPO foi para as sementes biocondicionadas com GA₃ e BR + GA₃.

Tabela 29. Valores médios da atividade da enzima polifenoloxidase (PPO) provenientes de sementes de *Brachiaria humidicola* cv. Humidicola, **colhidas das inflorescências e escarificadas**, no período zero de armazenamento e após nove meses armazenadas em câmara fria e seca (A1) e ambiente natural com monitoramento de temperatura e umidade relativa do ar (A2).

Tratamentos	zero	9 - A1	9 - A2	Média
Testemunha	5,28 Bb	4,63 Ba	5,11 Cb	5,01
Cond. BR	4,81 Ac	3,76 Aa	4,45 Bb	4,34
Cond. GA	4,81 Ac	3,54 Aa	4,38 ABb	4,24
Cond. BR+GA	4,72 Ab	3,63 Aa	3,95 Aa	4,10
Média	4,91	3,89	4,47	-
CV (%)		4,52		

Letras maiúscula: comparação entre médias dentro de cada coluna; minúsculas: comparação entre médias dentro de cada linha (Teste de Tukey, $p \leq 0,05\%$). Zero: período zero de armazenamento; 9 – A1: período de nove meses de armazenamento em câmara fria e seca; 9 – A2: período de nove meses de armazenamento em ambiente natural; Cond. BR: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo; Cond. GA: Condicionadas com GA₃; Cond. BR+GA: Condicionadas com 24-epibrassinolídeo e GA₃.

Em todos os tratamentos, a menor atividade da enzima polifenoloxidase foi das sementes armazenadas após nove meses em câmara fria e seca e, observando a Figura 7, as menores porcentagens de sementes dormentes correspondem a esse mesmo período.

A atividade da enzima polifenoloxidase está associada à oxidação de compostos fenólicos, como a degradação de H_2O_2 responsável pela sinalização para a superação de dormência (WANG, JIAO E FAUST, 1991); deste modo, a atividade da PPO tem uma relação inversa à concentração de compostos fenólicos, sendo atividade mais alta no período precedente a superação da dormência (VIEIRA et al., 2008).

Em sementes de arroz, Vieira et al. (2008) concluíram que a atividade da α -amilase e polifenoloxidase tem relação direta com a porcentagem de germinação, pelo fato de superar a dormência das sementes, sendo consideradas pelos autores, enzimas indicadoras da intensidade de dormência.

4.6. Considerações gerais

Diante dos resultados obtidos, verificou-se que nos dois ambientes, durante o período de armazenamento, houve redução na porcentagem de sementes dormentes, com destaque para a câmara fria e seca, para as sementes colhidas por varredura ou corte das inflorescências.

A escarificação das sementes, reduziu a porcentagem de dormência, principalmente antes do armazenamento, pois após três meses, nos dois ambientes, a porcentagem de dormência das sementes não escarificadas foi semelhante à das escarificadas.

As sementes tratadas com KNO_3 e biocondicionadas com BR, GA_3 e BR + GA_3 , apresentaram menores porcentagens de sementes dormentes, durante o armazenamento, indicando que esses tratamentos foram capazes de reduzir a porcentagem de sementes dormentes, por atuarem principalmente como promotores da germinação, seja fornecendo energia para o processo de germinação, como o KNO_3 , ou neutralizando a ação do ABA e ativando enzimas, como os biocondicionamentos.

Pelos testes de vigor, verificou-se que as sementes biocondicionadas com GA_3 e BR + GA_3 , apresentaram maior velocidade de germinação, uniformidade de

desenvolvimento de plântulas e crescimento de plântulas, independentemente do procedimento de colheita realizado.

Para atividade enzimática, os biocondicionamentos, principalmente com a giberelina, aumentaram a atividade da α -amilase; verificou-se que após nove meses de armazenamento, a atividade dessa enzima aumentou, especialmente em câmara fria e seca. A atividade da polifenoloxidase foi oposta à da α -amilase, com menor atividade para as sementes biocondicionadas e mantidas em câmara fria e seca, indicando que essas sementes apresentaram menor intensidade de deterioração, pois com a desestruturação das membranas há aumento da atividade da PPO.

De modo geral, para a atividade enzimática, as enzimas α -amilase e polifenoloxidase, podem ser consideradas como marcadores da intensidade de dormência em sementes de *Brachiaria humidicola*.

A combinação do condicionamento fisiológico com os biorreguladores, especialmente o ácido giberélico, demonstrou ser uma técnica viável para utilização em sementes de *Brachiaria*, melhorando o desempenho das plântulas e reduzindo a porcentagem de sementes dormentes, podendo ser empregada em empresas produtoras de sementes de *Brachiaria*. No entanto, é necessário mais trabalhos para adequar a metodologia e as concentrações dos biorreguladores, visto que não há informações na literatura da utilização do condicionamento fisiológico com biorreguladores em sementes de *Brachiaria humidicola*.

Vale ressaltar, que as sementes colhidas por varredura apresentaram tendência de sementes com maior potencial fisiológico, visto que são sementes colhidas após terem atingindo o ponto de maturidade fisiológica e se desprendido da planta-mãe.

5. CONCLUSÕES

A análise dos dados e a interpretação dos resultados da presente pesquisa permitem concluir que:

- O armazenamento das sementes de *Brachiaria humidicola*, em câmara fria e seca reduz a porcentagem de sementes dormentes;
- O biocondicionamento com ácido giberélico e 24-epibrassinolídeo + ácido giberélico, favorece a velocidade de germinação e o crescimento de plântulas;
- O condicionamento fisiológico com ácido giberélico isolado ou combinado com 24-epibrassinolídeo, é vantajoso para sementes de *Brachiaria humidicola*, armazenadas em câmara fria e seca ou ambiente natural;
- A atividade da enzima α -amilase aumenta e da polifenoloxidase diminui à medida que a dormência das sementes de *Brachiaria* é superada durante o armazenamento.

REFERÊNCIAS

- AHMAD, P.; JALEEL, C. A.; SALEM, M. A.; NABI, G.; SHARMA, S. Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. **Critical Reviews in Biotechnology**, Oxon, v. 30, n. 3, p. 161-175, 2010.
- ALBUQUERQUE, K. S.; GUIMARÃES, R. M.; GOMES, L. A. A.; VIEIRA, A. R.; JÁCOME, M. F. Condicionamento osmótico e giberelina na qualidade fisiológica de sementes de pimentão colhidas em diferentes estádios de maturação. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 34, n. 4, p. 100-109, 2009.
- AROUCHA, E. M. M.; SILVA, R. F.; NUNES, G. H. S.; SANTOS, M. C. M. A. Condicionamento osmótico na germinação de sementes de mamão (*Carica papaya* L.). **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 19, n. 3, p. 272-277, 2006.
- BAJGUZ, A.; HAYAT, S. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 47, n. 1, p. 1-8, 2009.
- BASRA, S. M. A.; FAROOQ, M.; TABASSAM, R.; AHMAD, N. Physiological and biochemical aspects of pre-sowing seed treatments in fine rice (*Oryza sativa* L.). **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 33, p. 623-628, 2005.
- BASKIN, J. M.; BASKIN, C. C. A classification system for seed dormancy. **Seed Science Research**, Massachusetts, v. 14, n. 1, p. 1-16, 2004.
- BECK, E.; ZIEGLER, P. Biosynthesis and degradation of starch in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 40, p. 95-117, 1989.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds**: physiology of development and germination. 2nd.ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seed in relation to germination**: viability, dormancy and environmental control. Berlin: Springer-Verlag, 1982. 375 p.

BEWLEY, J. D.; BRADFORD K. J.; HILHORST H. W. M.; NONOGAKI H. **Seeds**: Physiology of development, germination and dormancy, 3rd ed. New York: Springer. 2013. 392p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária, Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009. 395p.

BRASIL. Instrução Normativa no 30, de 21 de maio de 2008. **Estabelecer normas e padrões para produção e comercialização de sementes de espécies forrageiras de clima tropical**. Diário Oficial da União, de 23 de maio de 2008. Seção 1, p. 45.

BONOME, L. T. S.; GUIMARÃES, R. M.; OLIVEIRA, J. A.; ANDRADE, V. C.; CABRAL, P. S. Efeito do condicionamento osmótico em sementes de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 30, n. 3, p. 422-428, 2006.

CÂMARA, H. H. L. L.; STACCIARINI-SERAPHIN, E. Germinação de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu sob diferentes períodos de armazenamento e tratamento hormonal. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 32, n. 1, p. 21-28, 2002.

CARDOSO, E. D., SÁ, M. E., HAGA, K. I., BINOTTI, F. F. S., NOGUEIRA, D. C., VALÉRIO FILHO, W. V. Desempenho fisiológico e superação de dormência em sementes de *Brachiaria brizantha* submetidas a tratamento químico e envelhecimento artificial. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina. v. 35, p. 21-38, 2014.

- CARVALHO, M. M.; FREITAS, V. P.; XAVIER, D. F. Início do florescimento, produção e valor nutritivo de gramíneas forrageiras tropicais sob condição de sombreamento natural. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 5, p. 717-722, 2002.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5.ed. FUNEP: Jaboticabal, 2012. 590p.
- CASTRO, C. R. T.; CARVALHO, M. M. Florescimento de gramíneas forrageiras cultivadas sob luminosidade reduzida. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 1, 2000.
- COPELAND, L. O.; MCDONALD, M. B. **Principle of seed science and technology**. New York: Chapman & Hall, 1995. 409p.
- COSTA, C. J.; ARAÚJO, R. B.; VILLAS BÔAS, H. D. C. Tratamentos para a superação de dormência em sementes de *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 41, n. 4, p. 519-524, 2011.
- CUSTÓDIO, C. C.; DAMASCENO, R. L.; MACHADO NETO, N. B. Imagens digitalizadas na interpretação do teste de tetrazólio em sementes de *Brachiaria brizantha*. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 34, n. 2, p. 334- 341, 2012. (Nota Científica).
- DELOUCHE, J.C.; MATTHES, R.K.; DOUGHERTY, G.M.; BOYD, A.H. Storage of seed in sub-tropical and tropical regions. **Seed Science and Techonology**, Zurich, v. 1, n. 3, p. 671-700, 1973.
- EISVAND, H. R.; TAVAKKOL-AFSHARI, R.; SHARIFZADEH, F.; MADDAAH AREFI, H.; HESAMZADEH HEJAZI, S. M. Effects of hormonal priming and drought stress on activity and isozyme profiles of antioxidant enzymes in deteriorated seed of tal wheatgrass (*Agropyron elongatum* Host). **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 38, n. 2, p. 280-297, 2010.

- FARIDUDDIN, Q.; HASAN, S. A.; ALI, B.; HAYAT, S.; AHMAD, A. Effect of modes of application of 28-homobrassinolide on mung bean. **Turkish Journal of Biology**, Ankara, v. 32, n. 1, p. 17-21, 2008.
- FAVORETO, L.; SANTOS, J.M. dos; BARBOSA, J.C.; CALZAVARA, S.A. Fitonematóides extraídos dos resíduos das fases do beneficiamento e de sementes de *Brachiaria brizantha*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 30, p. 203-209, 2006.
- FERREIRA, D. F. **Programa de análises estatísticas (Statistical Analysis Software) e planejamento de experimentos**. Lavras: Departamento de exatas da Universidade Federal de Lavras, 2003. Software.
- FINCH-SAVAGE, W. E.; LEUBNER-METZGER, G. Seed dormancy and the control of Germination. **New Phytologist**, Oxford, v. 171, p. 501–523, 2006.
- FRIDMAN, Y.; SAVALDI--GOLDSTEIN, S. Brassinosteroids in growth control: How, when and where. **Plant Science**, Limerick, v. 209, n. 1, p. 24-31, 2013.
- GONZALEZ, Y.; MENDOZA, F.; TORRES, R. Efecto del almacenamiento y la variación de temperatura sobre las semillas de *Brachiaria decumbens* cv. "Basilisk". **Pastos y Forrajes**, Matanzas, v. 16, n. 2, p. 155-165, 1993.
- HAYAT, S.; AHMAD, A. 28-homobrassinolide induced changes Favoured germinability of wheat grains. **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, Sofia, v. 29, p. 55-62, 2003.
- JANECZKO, A.; BIESAGA-KOSCIELNIAK, J.; DZIURKA, M. 24-Epibrassinolide modifies seed composition in soybean, oilseed rape and wheat. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.37, n.3, p.625-639, 2009.
- KUCERA, B.; COHN, M. A.; LEUBNER-METZGER G. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. **Seed Science Research**, Massachusetts. v. 15, p. 281–307, 2005.

- LARRÉ, C. F.; MORAES, D. M.; LOPES, N. F. Qualidade fisiológica de sementes de arroz tratadas com solução salina e 24-epibrassinolídeo. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 33, n. 1, p. 86-94, 2011.
- LARRÉ, C. F.; MORAES, D. M.; LOPES, N. F. Potencial fisiológico de dois lotes de sementes de arroz tratadas com 24-epibrassinolídeo. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 31, n. 4, p. 27-35, 2009.
- LOPES, H.M.; SOUZA, C.M. Efeitos da giberelina e da secagem no condicionamento osmótico sobre a viabilidade e o vigor de sementes de mamão (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 30, n. 1, p. 181-189, 2008.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-77, 1962.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2. Ed. Londrina: ABRATES, 2015. 660p.
- MASCHIETTO, R. W.; NOVENBRE, A. D. L. C.; SILVA, W. R. Métodos de colheita e qualidade das sementes de capim colonião cultivar Mombaça. **Bragantia**, Campinas, v. 62, n. 2, p. 291-296, 2003.
- McDONALD, M. B.; SULLIVAN, J.; LAUER, M. J. The pathway of water uptake in maize seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 22, n. 1, p. 79-90, 1994.
- MESCHEDE, D. K.; SALES, J. G. C.; BRACCINI, A. L.; SCAPIM, C. A.; SCHUAB, S. R. P. Tratamentos para superação da dormência das sementes de capim-braquiária cultivar Marandu. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 26, n. 2, p. 76-81, 2004.
- NI, B.R.; BRADFORD, K.J. Quantitative models characterizing seed germination responses to abscísico acid and osmoticum. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 98, p. 1057-1068, 1992.

- NOVEMBRE, A. D. L. C.; CHAMMA, H. M. C. P.; GOMES, R. B. R. Viabilidade das sementes de braquiária pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 28, n. 2, p. 147-151, 2006.
- OLIVEIRA, J. A.; SILVA, T. T. A.; PINHO, E V. R. V.; ABREU, L. A. S. Secagem e armazenamento de sementes de sorgo com alto e baixo teor de tanino. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 33, n. 4, p. 699-710, 2011.
- PERES, R. M.; SOUZA, F. H. D.; JUSTO, C.L.; COUTINHO FILHO, J. L. V. Produção de sementes do capim *Brachiaria humidicola*: uma alternativa para a agricultura familiar. **Pesquisa & Tecnologia**, Campinas, v. 9, n.2, jul-dez, 2012.
- QUADROS, D. G.; ANDRADE, P. A.; OLIVEIRA, G. C.; OLIVEIRA, E. P.; MOSCON, E. S. Componentes da produção e qualidade de sementes dos cultivares marandu e xaraés de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf colhidas por varredura manual ou mecanizada. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 5, p. 2019-2028, 2012.
- RAJJOU, L.; DUVAL, M.; GALLARDO, K.; CATUSSE, J.; BALLY, J.; JOB, C.; JOB, D. Seed germination and vigor. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 63, p. 507–533, 2012.
- RAO, S. S. R.; VARDHINI, B. V.; SUJATHA, E.; ANURADHA, S. Brassinosteroids - A new class of phytohormones. **Current Science**, Bengaluru. v. 82, p. 1239-1245, 2002.
- RENARD, C.; CAPELLE, P. Seed germination in ruzizi grass. **Australian Journal of Botany**, East Melbourne, v. 24, n. 2, p. 437-446, 1976.
- ROBERTS, E.H. **Viability of seeds**. London: Chapman-Hall, p. 14-58, 1974.
- ROCHA, G. L. R. **Ecossistemas de pastagens**. Piracicaba: FEALQ, 1991. 331p.

- RODRIGUES, D. C. **Produção de forragem de cultivares de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf. e modelagem de respostas produtivas em função de variáveis climáticas.** 2004. 94f. Tese de Doutorado - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.
- ROSSETTO, C. A. V.; LIMA, T. M.; NAKAGAWA, J. Qualidade fisiológica e potencial de armazenamento de sementes de tomate submetidas ao condicionamento osmótico. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 4, p. 630-634, 2002.
- SERAGUZI, E. F.; CARDOSO, E. D.; BINOTTI, F. F. S.; ALVEZ, C. Z.; SOUZA, H. M. Condicionamento de sementes de *Brachiaria brizantha* com thiamethoxam. **Journal of Agronomic Sciences**, Umuarama, v. 3, n. 2, p. 186-196, 2014.
- SILVA, C. B.; MARCOS-FILHO, J.; JOURDAN, P.; BENNETT, M. A. Performance of bell pepper seeds in response to drum priming with addition of 24-Epibrassinolide. **HortScience**, Alexandria, v. 50, p. 873-878, 2015.
- SILVA JÚNIOR, L. C.; LUCAS, F. T.; BORGES, B. M. M. N.; SILVA, W. J. Influência da radiação fotossinteticamente ativa no crescimento e desenvolvimento de forrageiras tropicais. **FAZU em Revista**, Uberaba, v. 7, p. 63- 67, 2010.
- SOUZA, F. H. D. **Produção de sementes de gramíneas forrageiras tropicais.** Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, 2001. 43p. (Embrapa Documento, 30).
- SOUZA, F. H. D.; VERZIGNASSI, J. R.; PERES, R. M; COUTINHO FILHO, J. L. V.; JUSTO, C. L. **Produção comercial de sementes de *Brachiaria* (syn. *Urochloa*) *humidicola* no Brasil.** Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, 2016, 43p. (Embrapa Documento, 121).
- TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal.** 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

- TANAKA, K.; NAKAMURA, Y.; ASAMI, T.; YOSHIDA, S.; MATSUO, T.; OKAMOTO, S. Physiological roles of brassinosteroids in early growth of Arabidopsis: brassinosteroids have a synergistic relationship with gibberellin as well as auxin in light-grown hypocotyl elongation. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 22, n. 3, p. 259-271, 2003.
- TEIXEIRA, F. A.; BONOMO, P.; PIRES, A. J. V.; SILVA, F. F.; FRIES, D. D.; HORA, D. S. Produção anual e qualidade de pastagem de *Brachiaria decumbens* diferida e estratégias de adubação nitrogenada. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 33, n. 3, p. 241-248, 2011.
- TIRYAKI, I.; BUYUKCINGIL, Y. Seed priming combined with plant hormones: influence on germination and seedling emergence of sorghum at low temperature. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 37, n. 2, p. 303-315, 2009.
- TSUHAKO, A. T. **Exportação de sementes de forrageiras tropicais**. 2010. Disponível: http://www.matsuda.com.br/Matsuda/upload/artigostecnicos/exportacao_de_sementes_de_forrageiras_tropicais.pdf. Acessado: agosto, 2018.
- USBERTI, R. Determinação do potencial de armazenamento de lotes de sementes de *Brachiaria decumbens* pelo teste de envelhecimento acelerado. **Revista Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 4, p. 691-699, 1990.
- USBERTI, R.; MARTINS, L. Sulphuric acid scarification effects on *Brachiaria brizantha*, *B. humidicola* and *Panicum maximum* seed dormancy release. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 143-147, 2007.
- USBERTI, R.; VALIO, I. F. M. Osmoconditioning effects on germination of guinea grass (*Panicum maximum*) seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 25, n. 2, p. 303-310, 1997.
- VARIER, A.; VARI, A.K.; DADLANI, M. The subcellular basis of seed priming. **Current Science**, India, v. 99, n. 4, p. 450-456, 2010.

- VIEIRA, A.R.; OLIVEIRA, J.A.; GUIMARÃES, R.M.; PINHO, E.V.R.V.; PEREIRA, C.E.; CLEMENTE, A.C.S. Marcador isoenzimático de dormência em sementes de arroz. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 30, n. 1, p. 81-89, 2008.
- VIEIRA, A.R.; OLIVEIRA, J.A.; VIEIRA, M.G.G.C.; FRAGA, A.C.; SANTOS, C.D. Action of gibberellic acid (GA₃) on dormancy and activity of alfa-amylase in rice seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 24, n. 2, p. 43-48, 2002.
- VIEIRA, H.D.; SILVA, R.F.; BARROS, R.S. Efeito de substâncias reguladoras de crescimento sobre a germinação de sementes de Braquiaraõ cv. Marandu. **Revista Brasileira de Fisiologia vegetal**, Brasília, v. 10, n. 2, p. 143-148, 1998.
- WANG, S. Y.; JIAO, H. J.; FAUST, M. Changes in the activities of catalase, peroxidase, and polyphenol oxidase in apple buds during bud break induced by thidiazuron. **Journal of Plant Growth Regulation**, Nova York, v. 10, n. 1-4, p. 33-39, 1991.
- WEBB, D.P.; VAN STADEN, J.; WAREING, P.F. Seed dormancy. **Journal Experimental Botany**, Oxford, v. 24, n. 78, p. 105-116, 1973.
- WHITAKER, H. R. Principles of enzymology for the food sciences. **Marcel Dekker**, New York, p. 571-582, 1972.
- XI, W.; YU, H. MOTHER OF FT AND TFL1 regulates seed germination and fertility relevant to the brassinosteroid signaling pathway. **Plant Signaling & Behavior**, Georgetown, v. 5, p. 1315–1317, 2010.
- YI, H. C.; JOO, S.; NAM, K. ,H.; LEE, J. S.; KANG, B. G.; KIM, W. T. Auxin and brassinosteroid differentially regulate the expression of three members of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene family in mung bean (*Vigna radiata* L.). **Plant Mol Biology**, Zurich, v. 41, p. 443–454, 1999.

ZAWISTOWSKI, J.; BILIADERIS, C.G.; ESKIN, N.A.M. Polyphenoloxidases. In: ROBINSON, D.S.; ESKIN, N.A.M. Oxidative enzymes in foods. **Elsevier Applied Science**, New York, p. 217-274, 1991.

ZHANG, S.; CAI, Z.; WANG, X. The primary signaling outputs of brassinosteroids are regulated by abscisic acid signaling. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 106, p. 4543–4548, 2009.

ZHANG S.; HU J.; ZHANG Y.; XIE X. J.; KNAPP A. Seed priming with brassinolide improves lucerne (*Medicago sativa* L.) seed germination and seedling growth in relation to physiological changes under salinity stress. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 58, p. 811-815, 2007.

ZHANG, Y. P.; HE, J.; YANG, S. J.; CHEN, Y. Y. Exogenous 24-epibrassinolide ameliorates high temperature-induced inhibition of growth and photosynthesis in *Cucumis melo*. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 58, n. 2, p. 311–318, 2014.