



ANA MARIA OLIVEIRA FERREIRA

**MECANISMO DE SUPERÇÃO DA DORMÊNCIA EM
SEMENTES DE *Urochloa* (Syn. *Brachiaria*)**

**LAVRAS - MG
2023**

ANA MARIA OLIVEIRA FERREIRA

MECANISMO DE SUPERAÇÃO DA DORMÊNCIA EM SEMENTES DE
Urochloa (Syn. Brachiaria)

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de Doutor.

Dra. Elisa Monteze Bicalho
Orientadora

Dr. Diego de Sousa Pereira
Coorientador

LAVRAS - MG
2023

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Ferreira, Ana Maria Oliveira.

Mecanismo de superação da dormência em sementes de
Urochloa (Syn. *Brachiaria*) / Ana Maria Oliveira Ferreira. - 2023.
77 p. : il.

Orientador(a): Elisa Monteze Bicalho.

Coorientador(a): Diego de Sousa Pereira.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2023.

Bibliografia.

1. Ácido abscísico. 2. Armazenamento. 3. Banco de sementes.
I. Bicalho, Elisa Monteze. II. Pereira, Diego de Sousa. III. Título.

ANA MARIA OLIVEIRA FERREIRA

**MECANISMO DE SUPERAÇÃO DA DORMÊNCIA EM SEMENTES DE
Urochloa (Syn. *Brachiaria*)**

**MECHANISM OF OVERCOMING DORMANCY IN SEEDS OF *Urochloa*
(Syn. *Brachiaria*)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para obtenção de título de Doutor.

APROVADA em 28 de fevereiro de 2023.

Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho - UFLA

Dra. Mychelle Carvalho - IFTM

Dr. Rodrigo de Góes Esperon Reis - UNEMAT

Dr. Diego de Sousa Pereira – BARENBRUG

Dra. Elisa Monteze Bicalho
Orientadora

Dr. Diego de Sousa Pereira
Coorientador

**LAVRAS - MG
2023**

Dedico a Deus pela vida, saúde, proteção,
discernimento em todos os momentos que precisei e
por todas as oportunidades que tive.
Ao meu pai João (*in memoriam*) que mesmo
não estando presente, sei que lá de cima ora
por mim.
Ao meu namorado Luiz Fernando, pelo
amor, paciência e companheirismo de
sempre.

AGRADECIMENTOS

À minha Mãe, Das Dores, pela oportunidade oferecida que sem ela jamais teria continuado os estudos.

À família do meu namorado que me recebeu de braços abertos, obrigada por todos os momentos.

Aos meus familiares, em especial, meu padrinho Ivo, prima Magna Roque e Tia Evane.

Aos meus queridos familiares de coração, que, mesmo distantes, sei que sempre estarão torcendo por mim.

À minha orientadora, Prof. Dra. Elisa Bicalho, pelo seu amor à ciência que me inspira todos os dias a ser uma profissional melhor, confiança no meu trabalho, paciência, incentivo e, principalmente, por todo o conhecimento passado fundamental à minha formação profissional. Serei sempre grata por tudo.

Ao meu coorientador, Diego de Sousa Pereira, por todo apoio, companheirismo, amizade e ‘puxões de orelha’ muito obrigada.

Aos membros da banca examinadora, professora Édila Vilela de Resende Von Pinho, Mychelle Carvalho e ao professor Rodrigo de Góes Esperon Reis por aceitarem o convite em participar desse momento tão importante para mim, desde já agradeço as contribuições para melhoria desse trabalho.

À Barenbrug do Brasil Sementes Ltda por fornecer as sementes e reagente utilizadas nesta pesquisa.

Em especial, aos meus amigos, Josyelem (Josy), Geovane (Dodane), Marina, Alex (Coisinha), Daniela (Dani), Valdelice (Val), Hélio (migles) e Paulo Cassio (Paulio) parceiros de vida, obrigada pelo apoio, carinho, amor, paciência, pelas vezes que me ajudaram a entender a vida. Vocês foram essenciais para esta conquista.

Aos Guanaxos e Diiva, Ludmilla, Matheus, Thais, Victor e Isadora pelo apoio, incentivo e momentos compartilhados.

Ao Laboratório de Crescimento e Desenvolvimento de Plantas pelas contribuições para o meu amadurecimento profissional.

À Universidade Federal de Lavras, UFLA, pela oportunidade de realização deste trabalho, e aos seus professores pela contribuição à minha formação profissional.

À Pós-Graduação em Agronomia/Fisiologia Vegetal, por toda contribuição na minha formação.

À Fundação de Amparo à Pesquisado Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de doutorado.

À todos os funcionários e estagiários, pelas amizades adquiridas ao longo dessa trajetória.

A todos que de alguma forma contribuíram para conclusão desta etapa.

Meu muiiito obrigada!

RESUMO GERAL

A comercialização das sementes de forrageiras tropicais tem crescido no Brasil, o que requer o desenvolvimento de tecnologias que aprimorem a germinação das sementes. A dormência em sementes de *Urochloa* spp. não é foco dos programas de melhoramento e existem poucas pesquisas na área que evidenciem qual o mecanismo de superação da dormência fisiológica dessas sementes. Assim, neste trabalho foi proposto investigar a sensibilidade das sementes do gênero *Urochloa* recém-colhidas e armazenadas de cultivares híbridas, Cayana e Sabiá, e da *U. brizantha* cv. Marandu ao ácido abscísico (ABA) e a giberelina (GA), bem como a participação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) na sinalização para a germinação das sementes. No capítulo I foram realizados dois experimentos. No primeiro, sementes recém-colhidas de três cultivares do gênero *Urochloa* foram embebidas durante 14 h em soluções de ABA, GA e seus respectivos inibidores biossintéticos, fluridone (FLU) e paclobutrazol (PBZ), nas concentrações de 0, 25, 50, 100, 150 e 200 μ M. No segundo experimento, parte das sementes das cultivares do gênero *Urochloa* foi armazenada em sacos de papel Kraft em ambiente de laboratório e outra parte enterradas no solo. Após 0, 107, 131, 168 e 257 dias de armazenamento foram retiradas amostras e realizadas a pré-embebição das sementes aos tratamentos de ABA, GA, FLU, PBZ, GA+FLU, composto comercial Pro-Gibb®. Em sementes recém-colhidas das cultivares foram observados diferentes níveis de sensibilidade aos reguladores e inibidores exógenos, sendo que dependendo do tratamento e da concentração utilizada, as características germinativas foram influenciadas. No armazenamento em ambiente de laboratório, em sementes das cultivares híbridas houve sensibilidade ao ABA até 131 dias, ao passo que para cultivar Marandu isso não ocorreu. Para o vigor das plântulas, foi observado que FLU aplicados nas sementes afeta negativamente o conteúdo dos pigmentos, independente das cultivares e do período analisado. Constatou-se que as cultivares não adquirem dormência secundária no banco de sementes no solo. No capítulo II, sementes escarificadas manualmente de três cultivares do gênero *Urochloa* foram pré-embebidas em água deionizada, H_2O_2 , ácido ascórbico e em cloreto de difenilenoiodônio (DPI) nas concentrações de 0, 70, 200 mM e 70 μ M. O DPI influenciou negativamente as características germinativas e reduziu o acúmulo de ânion superóxido (O_2^-) nos embriões. Concluiu-se que a dormência fisiológica das sementes das cultivares de *Urochloa* avaliadas é mantida pela sensibilidade das sementes ao ABA, essa sensibilidade é o principal impedimento à germinação. Tratamentos com GA, FLU e Pro-Gibb® não promovem a germinação das sementes armazenadas em ambiente de laboratório, sendo que este armazenamento reduziu a sensibilidade das sementes ao ABA, promovendo assim a germinação. FLU influencia negativamente o conteúdo de pigmentos fotossintéticos das plântulas do gênero *Urochloa* e a dormência das sementes nas cultivares estudadas é inata. EROs sinalizam a germinação dessas sementes, sendo que as sementes da cultivar Cayana são mais sensíveis a redução das EROS e a atividade das NADPH oxidases de membrana são os principais geradores de EROs de sinalização para germinação dessas sementes, sendo o O_2^- a principal EROs envolvida nesse processo.

Palavras-chave: Ácido abscísico. Armazenamento. Banco de sementes. Cayana. Marandu. Sabiá. Sinalização oxidativa.

ABSTRACT

The commercialization of tropical forage seeds has grown in Brazil, which requires the development of technologies that improve seed germination. The dormancy in seeds of *Urochloa* spp. it is not the focus of breeding programs and there is little research in the area that shows the mechanism for overcoming the physiological dormancy of these seeds. Thus, in this work it was proposed to investigate the sensitivity of newly harvested and stored seeds of the genus *Urochloa* of hybrid cultivars, Cayana and Sabiá, and of *U. brizantha* cv. Marandu to abscisic acid (ABA) and gibberellin (GA), as well as the participation of hydrogen peroxide (H_2O_2) in signaling for seed germination. In Chapter I, two experiments were carried out. In the first, freshly harvested seeds of three cultivars of the genus *Urochloa* were soaked for 14 h in solutions of ABA, GA and their respective biosynthetic inhibitors, fluridone (FLU) and paclobutrazol (PBZ), at concentrations of 0, 25, 50, 100, 150 and 200 μ M. In the second experiment, part of the seeds of cultivars of the genus *Urochloa* were stored in Kraft paper bags in a laboratory environment and the other part buried in the soil. After 0, 107, 131, 168 and 257 days of storage, samples were taken and the seeds were pre-soaked with ABA, GA, FLU, PBZ, GA+FLU, commercial compound Pro-Gibb[®]. In newly harvested seeds of cultivars, different levels of sensitivity to exogenous regulators and inhibitors were observed, and depending on the treatment and concentration used, the germination characteristics were influenced. When stored in a laboratory environment, seeds of hybrid cultivars showed sensitivity to ABA for up to 131 days, whereas for cultivar Marandu this did not occur. For seedling vigor, it was observed that FLU applied to seeds negatively affects pigment content, regardless of cultivars and period analyzed. It was found that the cultivars do not acquire secondary dormancy in the seed bank in the soil. In chapter II, manually scarified seeds of three cultivars of the genus *Urochloa* were pre-soaked in deionized water, H_2O_2 , ascorbic acid and diphenyleneiodonium chloride (DPI) at concentrations of 0, 70, 200 mM and 70 μ M. The DPI negatively influenced the germination characteristics and reduced the accumulation of superoxide anion (O_2^-) in the embryos. It was concluded that the physiological dormancy of the seeds of the evaluated *Urochloa* cultivars is maintained by the sensitivity of the seeds to ABA, this sensitivity being the main impediment to germination. Treatments with GA, FLU and Pro-Gibb[®] did not promote the germination of seeds stored in a laboratory environment, and this storage reduced the sensitivity of seeds to ABA, thus promoting germination. FLU negatively influences the photosynthetic pigment content of seedlings of the genus *Urochloa* and seed dormancy in the studied cultivars is innate. ROS signal the germination of these seeds, and the seeds of the Cayana cultivar are more sensitive to the reduction of ROS and the activity of membrane NADPH oxidases are the main generators of signaling ROS for germination of these seeds, with O_2^- being the main EROs involved in that process.

Keywords: Abscisic acid. After-ripening. Cayana. Marandu. Oxidative signaling. Sabiá. Soil seed bank.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE.....	11
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	12
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	13
2.1 Importância das gramíneas forrageiras tropicais	13
2.2 Germinação e dormência de sementes.....	15
2.3 Sinalização durante a superação de dormência e germinação	17
2.4 Banco de sementes: longevidade, persistência e ciclos de dormência .	18
REFERÊNCIAS	20
SEGUNDA PARTE.....	26
CAPÍTULO I	27
1. INTRODUÇÃO.....	30
2. MATERIAL E MÉTODOS	31
3. RESULTADOS	35
4. DISCUSSÃO	45
5. CONCLUSÕES	48
REFERÊNCIAS	49
ANEXOS	52
CAPÍTULO II.....	55
1. INTRODUÇÃO.....	58
2. MATERIAL E MÉTODOS	59
3. RESULTADOS	62
4. DISCUSSÃO	66
5. CONCLUSÕES	67
REFERÊNCIAS	68
ANEXOS	72
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	74

PRIMEIRA PARTE

1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é o maior produtor, consumidor e exportador mundial de sementes de gramíneas forrageiras tropicais (TSUHAKO, 2020; FERREIRA; TSUHAKO, 2020; DA SILVA et al., 2017). No entanto, a maioria das sementes dessas gramíneas, como as do gênero *Urochloa*, incluindo cultivares híbridas, possui dormência (LIU et al., 2022; RIBEIRO et al., 2019), ou seja, sementes viáveis que não germinam mesmo sob condições favoráveis (*sensu* BEWLEY et al., 2013). Além disso, a dormência nestas sementes pode ser imposta por fatores físicos e fisiológicos, que podem variar com outros aspectos, como a espécie vegetal, o que dificulta a generalização de suas causas, podendo esta ocorrer de maneira isolada ou combinada (LIBÓRIO et al., 2018; RIBEIRO et al., 2019).

De forma geral, as sementes do gênero *Urochloa* ao serem dispersadas da planta-mãe possuem dormência fisiológica e podem formar banco de sementes no solo. No solo, as sementes possuem diferentes níveis de dormência em resposta aos diversos sinais ambientais, como flutuações de temperatura e umidade do solo (LONG et al., 2015; FINCH-SAVAGE; FOOTITT, 2017). A dormência secundária, é comumente uma característica de sementes com dormência fisiológica, que ocorre após a dispersão, podendo estar associada aos ciclos anuais de superação e indução da dormência (FINCH-SAVAGE; FOOTITT, 2017).

A superação da dormência nas sementes é um passo essencial para a germinação, que inicia com a embebição, impulsionando a ativação do metabolismo das sementes e finalizando com a protrusão da radícula através dos tecidos circundantes (BEWLEY et al., 2013). Estes processos podem ser influenciados diretamente por fatores endógenos, como os fitormônios ácido abscísico (ABA) e a giberelina (GA), principais atuantes na regulação da dormência e germinação de sementes (SHU et al., 2016; TUAN et al., 2018).

Além disso, em estudos tem sido observado que diversas moléculas podem sinalizar para a superação da dormência de sementes. Entre essas, as espécies reativas de oxigênio (EROs) como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (MA et al., 2016). As interações entre EROs, dormência e germinação de sementes foram relatadas para diferentes espécies vegetais, incluindo *Hordeum vulgare* L. ‘Himalaya’ e ‘Harrington’ (ISHIBASHI et al., 2015; MA et al., 2016), *Helianthus annuus* L. (EL-MAAROUF-BOUTEAU et al., 2015) e em *Oryza sativa* (LI et al., 2017). Porém, estudos que evidenciem essa interação em sementes de gramíneas forrageiras tropicais e o mecanismo fisiológico para superação da dormência ainda não estão bem compreendidos para as sementes do gênero *Urochloa*. Assim, alterações tanto do equilíbrio dos níveis de ABA/GA quanto da sensibilidade das sementes a esses fitormônios (SHU et al., 2016; FINCH-SAVAGE; FOOTITT, 2017), bem como das EROs, podem

estabelecer um sistema que regula a manutenção ou superação da dormência de sementes (MA et al., 2016).

Em decorrência da importância das cultivares do gênero *Urochloa*, torna-se relevante compreender o mecanismo fisiológico de superação da dormência destas sementes para aprimorar o sistema de produção das pastagens brasileiras, garantindo uma resposta rápida aos investimentos realizados pelos produtores. Dessa forma, hipotetiza-se que a dormência das sementes de cultivares do gênero *Urochloa* está relacionada à sensibilidade das sementes ao ABA, sendo que esta sensibilidade é perdida durante o período de armazenamento. Além disso, acredita-se que os baixos níveis de EROs mantém a dormência destas sementes. Nesta perspectiva, propõe-se elucidar a sensibilidade das sementes, recém-colhidas e armazenadas, ao ABA e a GA, bem como a participação do H₂O₂ e outras EROs na sinalização para a germinação das sementes das cultivares híbridas, Cayana e Sabiá, e a cv. Marandu de *Urochloa*.

Para tanto, esta tese foi dividida em dois capítulos, nos quais experimentos de armazenamento e sinalização para a germinação e superação de dormência foram conduzidos. No capítulo 1, os objetivos foram investigar as respostas germinativas de sementes de cultivares do gênero de *Urochloa* quando submetidas a aplicação de diferentes concentrações de ABA, GA e seus respectivos inibidores biossintéticos, fluridone (FLU) e paclobutrazol (PBZ); avaliar se a sensibilidade das sementes e o crescimento inicial das plântulas das cultivares de *Urochloa* submetidas a reguladores, inibidores e a combinação destes se alteram durante o armazenamento em ambiente de laboratório e verificar se as sementes das cultivares do gênero *Urochloa* armazenadas no banco de sementes do solo adquirem dormência secundária formando ciclos de dormência em resposta às variações de temperatura e umidade. No capítulo 2, o objetivo foi avaliar se as NADPH oxidases são importantes fontes de EROs, bem como se aplicação de H₂O₂ induz o aumento da germinação das sementes de três cultivares do gênero *Urochloa*.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Importância das gramíneas forrageiras tropicais

No Brasil, as pastagens constituem a base alimentar de alguns animais, sendo essencial para a produção destes. De acordo com Mapeamento Anual de Cobertura e Uso da Terra do Brasil (2021), as pastagens plantadas compreendem área de aproximadamente 154 milhões de hectares e alimentam um rebanho estimado em mais de 196,5 milhões de cabeças de gado, colocando o país como principal produtor e maior exportador de carne bovina do mundo

(ABIEC, 2022). Em decorrência das características climáticas e da extensão territorial do Brasil, a criação de bovinos em pastagens tem alto potencial produtivo. Dentre as gramíneas forrageiras tropicais cultivadas no Brasil, segundo Simeão et al (2015), 90% das áreas de pastagens são compostas por *U. brizantha*, *U. decumbens* e *Megathyrsus maximum* (Syn. de *Panicum maximum*). Porém o *M. maximum* possui um número limitado de cultivares comercializadas, podendo assim favorecer a utilização do gênero *Urochloa* no país.

Esse gênero de plantas pertence à família *Poaceae*, da tribo *Paniceae* e possuem aproximadamente, cem espécies que ocorrem em regiões tropicais e subtropicais dos continentes Africano, Americano, Asiático e Oceania (KELLER-GREIN; MAAS; HANSON, 1996). A prevalência desse gênero nos cultivos está relacionada, principalmente, à sua rusticidade, que possibilita aclimatação às mais variadas condições edafoclimáticas (CARDOSO et al., 2014). Além disso, as espécies desse gênero são largamente difundidas e aceitas pelos produtores rurais (BERNARDES, 2003), o que simplifica a utilização das suas sementes para a formação das pastagens.

Em consequência, a alta demanda por sementes de forrageiras tropicais e a eficiência dos produtores, o setor industrial de produção dessas sementes foi largamente desenvolvido no Brasil (CUSTÓDIO; DAMASCENO; MACHADO NETO, 2012; FERREIRA; TSUHAKO, 2020) e nos dias atuais, o país ocupa a posição de maior produtor, consumidor e exportador mundial de sementes forrageiras tropicais (FERREIRA; TSUHAKO, 2020). Entretanto, apesar de sua relevância, a qualidade das sementes dessas espécies, em especial as do gênero *Urochloa*, que corresponde com cerca de 80% de sementes de forrageiras tropicais comercializadas em todo o mundo (FLORINDO et al., 2014), ainda é pouco compreendida (ALVES et al., 2017). No mesmo sentido, as pesquisas para produção de sementes dessas espécies são escassas devido à complexidade e investimentos necessários, quando comparadas às culturas como soja e milho (SOUZA et al., 2018; MATIAS et al., 2019).

Apesar de recente, o melhoramento genético de forrageiras tropicais obteve avanços pertinentes no desenvolvimento de cultivares (EUCLIDES et al., 2010; JANK et al., 2011). Novos candidatos a cultivares, inúmeros híbridos e populações melhoradas, foram desenvolvidas com intuito de atender às principais dificuldades do setor agropecuário (BARRIOS et al., 2013; FIGUEIREDO et al., 2013; VALLE et al., 2013).

Para as espécies forrageiras, a utilização de sementes de alta qualidade e poder germinativo são indispensáveis para o estabelecimento uniforme e perenidade (ALVES et al., 2017). Contudo, um dos principais obstáculos das sementes do gênero *Urochloa* é a dormência (LIU et al., 2022; RIBEIRO et al., 2019) que permanece mesmo com os avanços

dos programas de melhoramento, como é o caso das cultivares híbridas Cayana e Sabiá, e mesmo para espécies bem estabelecidas no mercado como a *U. brizantha* cv. Marandu. Todavia, se faz necessário conhecer o mecanismo fisiológico que induz ou mantém a dormência nessas sementes.

2.2 Germinação e dormência de sementes

Na fase final de formação, as sementes ortodoxas reduzem drasticamente o teor de água e a atividade metabólica, o que resulta na interrupção parcial do crescimento embrionário. Dessa maneira, as sementes atingem o estado de repouso fisiológico ou quiescência, mas quando submetidas às condições favoráveis, como por exemplo umidade e temperatura, prosseguem a germinação de sementes (BEWLEY et al., 2013).

Na literatura, diversos autores caracterizam a germinação de sementes como difícil de ser compreendida, uma vez que, envolvem vários eventos metabólicos tendo início com a absorção de água pelas sementes secas e culmina com o surgimento da radícula através dos tecidos circundantes (NONOGAKI; BASSEL; BEWLEY, 2010; RAJJOU et al., 2012; BEWLEY et al., 2013). O processo germinativo das sementes apresenta um padrão trifásico, em que na fase I ocorre a absorção rápida de água, seguida por uma fase de platô (fase II), e novamente por um aumento adicional na absorção de água (fase III), em decorrência do alongamento do eixo embrionário que rompe as camadas do revestimento da semente, conclusão da germinação propriamente dita (KUCERA; COHN; LEUBNER-METZGER, 2005; FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006).

Enquanto, a dormência das sementes é uma imposição na qual uma semente viável é incapaz de germinar mesmo sob condições adequadas (BEWLEY et al., 2013). Com base nesse mecanismo, pode-se definir cinco classes de dormência de sementes: a dormência fisiológica, morfológica, morfofisiológica, física e a combinada (BASKIN; BASKIN, 2020). Dessas classes, as sementes de gramíneas forrageiras tropicais, de modo geral, expressam a dormência fisiológica, a física ou a combinada. A dormência física possivelmente está relacionada com o revestimento das sementes que restringe a difusão de oxigênio ao embrião (LIMA et al., 2015). A dormência fisiológica está presente em sementes recém-colhidas, sendo gradualmente superada durante o armazenamento, período de armazenamento ao ar seco e temperatura ambiente (BASKIN; BASKIN, 2020).

Em sementes com dormência fisiológica, sabe-se que o ABA é o principal fitormônio na indução e manutenção da dormência. Em contrapartida, as GAs são ditas promotoras da germinação de sementes. Assim, estes fitormônios atuam de forma antagônica (SHU et al.,

2016; TUAN et al., 2018). A razão entre esses fitormônios (ABA/GA) é relevante para regular a indução, a manutenção e a superação da dormência (BICALHO et al., 2015; VIEIRA et al., 2017), sendo que, para ocorrer a superação da dormência são necessárias baixas razões entre ABA/GA. Em contrapartida, a manutenção da dormência está associada ao aumento nessa razão (FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006). Além disso, a superação da dormência pode ser determinada pela redução da sensibilidade ao ABA e aumento da sensibilidade às GAs (LINKIES; LEUBNER-METZGER, 2012) e não necessariamente à síntese *de novo* de ambos.

Desse modo, em pesquisas tem sido evidenciado que modificações no balanço hormonal entre ABA/GA, bem como na sensibilidade das sementes estabelecem um sistema que regulam a manutenção e a superação da dormência de sementes (SHU et al., 2016; FINCH-SAVAGE; FOOTITT, 2017). Essas alterações nos conteúdos de ABA e GA podem ser observadas com o uso de seus inibidores biossintéticos, FLU e PBZ. Huarte e Benech-Arnold (2010) ao estudarem o desempenho germinativo de sementes de *Cynara cardunculus* L. com temperaturas constantes e alternadas, verificaram alterações na razão ABA/GA, por meio da aplicação exógena de ABA, GA e seus inibidores biossintéticos, FLU e PBZ. De posse dos resultados, os autores sugeriram que temperatura alternada pode modificar a razão ABA/GA apenas reduzindo o nível e a sensibilidade do ABA sem modificar a biossíntese e a sensibilidade à GA.

O papel desses fitormônios e seus inibidores biossintéticos também foram investigados por Vieira et al. (2017) em sementes de três espécies de *Vellozia* na presença e ausência de luz e submetidas a diferentes temperaturas. Os autores concluíram que a germinação de sementes das espécies de *Vellozia* quando tratadas com GAs e FLU foi favorecida, enquanto nos tratamentos com ABA e PBZ a germinação foi inibida. Em sementes submetidas a 40 °C no escuro houve redução dos níveis endógenos de ABA durante a embebição, enquanto os níveis de GA diminuíram ou permaneceram constantes e concluíram que o ABA tem um papel importante na regulação da germinação de sementes de *Vellozia* spp. em resposta à temperatura.

Para as espécies vegetais, como *Trichocline catharinensis*, Asteraceae (LANDO et al., 2019), *Triticosecale wittm*, Poaceae (FIDLER et al., 2018), *Vellozia* spp., Velloziaceae (VIEIRA et al., 2017), *Leymus chinensis*, Poaceae (HU; HUANG; WANG, 2012), por meio de pesquisas tem sido observado que ABA e GA estão diretamente relacionados à indução e/ou manutenção da dormência e germinação de sementes. No entanto, este mecanismo ainda

não foi compreendido para as sementes de gramíneas forrageiras tropicais, em particular para as do gênero *Urochloa*.

2.3 Sinalização durante a superação de dormência e germinação

As EROs são inevitavelmente produzidas logo após a embebição das sementes, uma vez que ocorre a reativação do metabolismo (WOJTYLA et al., 2016; KUMAR et al., 2021). EROs são moléculas originadas do oxigênio molecular que incluem o ânion superóxido (O_2^-), radical hidroxila ($\cdot OH$), oxigênio singlete (1O_2) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (BAILLY, 2019). De acordo com Bailly (2019), os sítios de geração dessas moléculas são todos os compartimentos metabolicamente ativos, inclusive o apoplasto, no qual há atividade da enzima NADPH oxidase.

As NADPH oxidases, também são conhecidas como homólogos de oxidase da explosão respiratória, são proteínas transmembrana que transportam elétrons por meio da membrana plasmática para reduzir o oxigênio ao O_2^- , que logo em seguida é dismutado em H_2O_2 , neutralizado em seguida pela catalase e O_2 (HU et al., 2020). Essas proteínas têm sido consideradas peças importantes no contexto da dormência e germinação de sementes (BAILLY, 2019; SAKAI et al., 2022). No entanto, o balanço entre o acúmulo e produção de EROs e a atividade do sistema antioxidante celular, que inclui enzimas [superóxido dismutase (SOD)], catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), dentre outras e antioxidantes não enzimáticos (ácido ascórbico, glutatona, tocoferóis) são primordiais para atingir o equilíbrio entre a sinalização oxidativa e o dano oxidativo (WOJTYLA et al., 2016; BAILLY, 2019). Conforme discutido por Bailly et al. (2008), os níveis de EROs devem estar dentro da “janela oxidativa” para garantir a sinalização eficiente da germinação. Conforme essa hipótese, níveis acima ou abaixo de EROs prejudicam a germinação das sementes, o que só é possível dentro de níveis que possibilitam a sinalização de EROs, mas não danos por essas moléculas.

O papel do H_2O_2 na superação da dormência de sementes pode ser observado com a inibição das NADPH oxidases da membrana plasmática por meio da utilização do Cloreto de difenilenoiodônio – DPI, uma vez que durante a germinação das sementes essas moléculas acumulam-se e são formadas principalmente pela via apoplástica (LI et al., 2017; MA; BYKOVA; IGAMBERDIEV, 2017). Dessa forma, EROs, principalmente H_2O_2 , são consideradas elementos chave na rede de sinalização celular e podem interagir com as vias de sinalização hormonal do ABA e da GA para regular a dormência e a germinação das sementes (SHU et al., 2016). Estudos sobre a dinâmica da dormência de sementes do gênero *Urochloa*, em especial, sobre as cultivares híbridas Cayana e Sabiá que foram lançadas em 2020 no

mercado de sementes brasileiro, são inexistentes na literatura e algumas lacunas não estão bem esclarecidas.

2.4 Banco de sementes: longevidade, persistência e ciclos de dormência

Como em outras espécies, as sementes do gênero *Urochloa* quando são dispersas exibem dormência primária (RIBEIRO et al., 2019), que é adquirida durante a formação da semente e pode ser superada por condições ambientais, como o armazenamento (FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006). Estas não germinam em seguida da dispersão e podem formar banco de sementes no solo, que é um tipo de armazenamento natural das sementes após a dispersão (LONG et al., 2015), podendo persistir nesse ambiente por períodos transitórios, quando estas ficam viáveis por menos de um ano, ou persistentes, quando uma parte das sementes permanece por mais de um ano no banco de sementes no solo (THOMPSON; GRIME, 1979).

As sementes saem naturalmente do banco de sementes no solo por germinação ou morte, sendo este último ocasionado por envelhecimento, predação ou deterioração (LONG et al., 2015; GARCIA; BARRETO; BICALHO, 2020). E os atributos físicos e fisiológicos das sementes como a dormência inata influenciam a longevidade delas no banco de sementes no solo (LONG et al., 2015). No entanto, as sementes dormentes não são necessariamente mais persistentes que as sementes quiescentes (GARCIA; BARRETO; BICALHO, 2020), mas a dormência contribui para a persistência das sementes no banco de sementes no solo (SANO et al., 2016; LONG et al., 2015). A persistência das sementes é avaliada por um conjunto de atributos, incluindo a dormência inata, longevidade, defesa, bem como essas características são influenciadas pelo ambiente de pré e pós-dispersão. Então, quando sementes são submetidas aos fatores bióticos e abióticos ocorrem alterações nos seus atributos para determinar a longevidade das sementes que irão persistir no solo, sendo que estas modificações variam conforme a espécie e a população de sementes (LONG et al., 2015).

Dentre os fatores abióticos, sabe-se que a temperatura é o principal fator que regula a indução e superação da dormência das sementes (BATLLA; BENECH-ARNOLD, 2010). No entanto, em regiões tropicais há indícios na literatura que o efeito desse fator interage com as condições de umidade do solo para sinalizar a dormência secundária nas sementes, sendo um aspecto adicional para ser avaliado em ambientes naturais (DUARTE; GARCIA, 2015). Sob essas circunstâncias, as sementes modificam seu nível de dormência, em consequência a sua sensibilidade aos sinais ambientais o que determina o tempo ideal para germinação e as

condições favoráveis ao estabelecimento das plântulas (FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006).

Dessa maneira, a dormência primária das sementes pode ser superada e a germinação favorecida, o que ocasiona a saída das sementes do banco de sementes no solo por germinação. Porém, se as condições ambientais forem desfavoráveis para o processo germinativo, a dormência pode ser re-induzida nessas sementes. Este novo *status* de dormência é chamado de dormência secundária, e pode estar relacionada a ciclos anuais de dormência no BSS (FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006; BASKIN; BASKIN, 2014), uma vez que, pode ser superada e induzida repetidamente, à medida que as estações mudam, favorecendo a germinação (FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006).

Assim, os ciclos de dormência são estratégias importantes que impedem a germinação das sementes em épocas desfavoráveis para o estabelecimento das plântulas (OLIVEIRA; DIAMANTINO; GARCIA, 2017). Nos últimos anos, algumas espécies tropicais vêm sendo estudadas com intuito de melhorar o conhecimento sobre essa estratégia quando expostas a condições naturais. Dentre esses estudos, pode-se citar alguns com as espécies de *Xyridaceae* (GARCIA et al., 2012; OLIVEIRA; DIAMANTINO; GARCIA, 2017; OLIVEIRA; GARCIA, 2019) e *Eriocaulaceae* (GARCIA et al., 2014; DUARTE; GARCIA, 2015; BARRETO et al., 2020), ambas dos *campos rupestres*. Contudo, na literatura pesquisas com forrageiras tropicais, principalmente com as do gênero *Urochloa*, são limitadas e pouco se sabe sobre a influência da temperatura e da umidade do solo na ocorrência de ciclos de dormência da espécie em estudo. A verificação da persistência ou capacidade de realizar ciclos de dormência em forrageiras tropicais em bancos de sementes oferecem subsídios para a compreensão dos mecanismos que levam à sinalização para a germinação em sementes do gênero *Urochloa*. Ademais, esse conhecimento pode auxiliar na previsão de emergência dessas espécies em campo após a dispersão.

REFERÊNCIAS

ABIEC - Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. Beef Report: Perfil da pecuária no Brasil, 2022. Disponível em: <https://www.abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2022/>. Acessado em: janeiro de 2023.

ALVES, B. A.; MEDEIROS, L. T.; DE FÁTIMA SALES, J.; DE CÁSSIA BRANQUINHO, A.; DA SILVA, J. W.; DE SOUZA, R. G. Germinação de sementes de forrageiras do gênero *Brachiaria* em função dos ambientes e tempos de armazenamento. **Global Science and Technology**, Rio Verde, v.10, n.01, p.11 – 19, jan/abr. 2017.

BAILLY, C. The signalling role of ROS in the regulation of seed germination and dormancy. **Biochemical Journal** **476**, 3019–3032, 2019.

BAILLY, C.; EL-MAAROUF-BOUATEAU, H.; CORBINEAU, F. From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology. **Comptes rendus biologiques**, v. 331, n. 10, p. 806-814, 2008.

BARRETO, L. C.; HERKEN, D. M. D.; SILVA, B. K. R.; MUNNÉ-BOSCH, S.; GARCIA, Q. S. ABA and GA₄ dynamic modulates secondary dormancy and germination in *Syngonanthus verticillatus* seeds. **Planta**, v.251, n.86, p.86, 2020.

BARRIOS, S. C. L.; VALLE, C. B. DO; ALVES, G. F.; SIMEÃO, R. M.; JANK, L. Reciprocal recurrent selection in the breeding of *Brachiaria decumbens*. **Tropical Grasslands/Pasturas Tropicales**, v. 1, n. 1, p.52-54, 2013.

BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. Breaking seed dormancy during dry storage: a useful tool or major problem for successful restoration via direct seeding?. **Plants**, v. 9, n. 5, p. 636, 2020.

BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. Seeds: Ecology, biogeography, and Evolution of dormancy and germination. **Academic Press**, San Diego, 2014.

BATLLA, D.; BENECH-ARNOLD, R. L. Predicting changes in dormancy level in natural seed soil banks. **Plant molecular biology**, v. 73, n. 1-2, p. 3-13, 2010.

BERNARDES, L.F. Semeadura de capim-braquiária em pós-emergência da cultura do milho para obtenção de cobertura morta em sistema de plantio direto. 2003. 42p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

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.

BICALHO, E. M.; PINTÓ-MARIJUAN, M.; MORALES, M.; MÜLLER, M.; MUNNÉ-BOSCH, S.; GARCIA, Q. S. Control of macaw palm seed germination by the gibberellin/abscisic acid balance. **Plant Biology**, v. 17, n. 5, p. 990-996, 2015.

CARDOSO, E. D.; DE SÁ, M. E.; HAGA, K. I.; DA SILVA BINOTTI, F. F.; NOGUEIRA, D. C.; VALÉRIO FILHO, W. V. Physiological and performance in overcoming dormancy in seeds *Brachiaria brizantha* under artificial chemical treatment and aging. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 1, p. 21-38, 2014.

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**, v. 34, n. 2, p. 334-341, 2012.

DA SILVA, G. Z.; MARTINS, C. C.; DE OLIVEIRA C. J.; JEROMINI, T. S.; BRUNO, R. D. L. A. Evaluation the physiological quality of *Brachiaria brizantha* cv. BRS 'Piatã' seeds. **Bioscience Journal**, v. 33, n. 3, 2017.

DUARTE, D. M.; GARCIA, Q. S. Interactions between substrate temperature and humidity in signalling cyclical dormancy in seeds of two perennial tropical species. **Seed Science Research**, v. 25, n. 2, p. 170-178, 2015.

EL-MAAROUF-BOUTEAU, H. A. Y. A. T.; SAJJAD, Y.; BAZIN, J.; LANGLADE, N.; CRISTESCU, S. M.; BALZERGUE, S.; BAILLY, C. Reactive oxygen species, abscisic acid and ethylene interact to regulate sunflower seed germination. **Plant, cell & environment**, v. 38, n. 2, p. 364-374, 2015.

EUCLIDES, V. P. B.; VALLE, C. B. DO; MACEDO, M. C. M.; ALMEIDA, R. G. DE; MONTAGNER, D. B.; BARBOSA, R. A. Brazilian scientific progress in pasture research during the first decade of XXI century. **R. Bras. Zootec.**, v.39, p.151-168, 2010 (supl. especial).

FERREIRA, S. R. D; TSUHAKO, A. T. Mercado de sementes forrageiras: Expansão do comércio de forrageiras. Anuário 2019/20: Semente é tecnologia. ABRASEM, 2020. p. 9-18.

FIDLER, J.; GRABOWSKA, A.; PRABUCKA, B.; WIĘSYK, A.; GÓRA-OCHACKA, A.; BIELAWSKI, W.; ZDUNEK-ZASTOCKA, E. The varied ability of grains to synthesize and catabolize ABA is one of the factors affecting dormancy and its release by after-ripening in imbibed triticale grains of cultivars with different pre-harvest sprouting susceptibilities. **Journal of plant physiology**, v. 226, p. 48-55, 2018.

FIGUEIREDO, U. J. DE; NUNES, J. A. R.; VALLE, C. B. DO; BARRIOS, S. C. L.; ALVES, G. F. Effects of season and year of evaluation in the selection of *Brachiaria humidicola* hybrids. **Tropical Grasslands/Pasturas Tropicales**, v. 1, n. 1, p.76-77, 2013.

FINCH-SAVAGE, W. E.; FOOTITT, S. Seed dormancy cycling and the regulation of dormancy mechanisms to time germination in variable field environments. **Journal of experimental botany**, v. 68, n. 4, p. 843-856, 2017.

FINCH-SAVAGE, W. E.; FOOTITT, S. To germinate or not to germinate: a question of dormancy relief not germination stimulation. **Seed Science Research**, v. 22, n. 4, p. 243-248, 2012.

FINCH-SAVAGE, W. E; LEUBNER-METZGER, G. Seed dormancy and the control of germination. **New Phytol**, 171, 501-23, 2006.

FLORINDO, J. B.; DA SILVA, N. R.; ROMUALDO, L. M.; DA SILVA, F. D. F.; DE CERQUEIRA LUZ, P. H.; HERLING, V. R.; BRUNO, O. M. *Brachiaria* species identification using imaging techniques based on fractal descriptors. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 103, p. 48-54, 2014.

GARCIA, Q. S.; BARRETO, L. C.; BICALHO, E. M. Environmental factors driving seed dormancy and germination in tropical ecosystems: A perspective from campo rupestre species. **Environmental and Experimental Botany**, v. 178, p. 104164, 2020.

GARCIA, Q. S.; GIORNI, V. T.; MÜLLER, M.; MUNNÉ-BOSCH, S. Common and distinct responses in phytohormone and vitamin E changes during seed burial and dormancy in *Xyris bialata* and *X. peregrina*. **Plant Biol**, 14:347–353, 2012.

GARCIA, Q. S.; OLIVEIRA, P. G.; DUARTE, D. M. Seasonal changes in germination and dormancy of buried seeds of endemic Brazilian Eriocaulaceae. **Seed Sci Res**, 24:113–117, 2014.

HU, C. H.; WANG, P. Q.; ZHANG, P. P.; NIE, X. M.; LI, B. B.; TAI, L.; CHEN, K. M. NADPH oxidases: the vital performers and center hubs during plant growth and signaling. **Cells**, v. 9, n. 2, p. 437, 2020.

HU, X. W.; HUANG, X. H.; WANG, Y. R. Hormonal and temperature regulation of seed dormancy and germination in *Leymus chinensis*. **Plant Growth Regulation**, v. 67, n. 2, p. 199-207, 2012.

HUARTE, H. R.; BENECH-ARNOLD, R. L. Hormonal nature of seed responses to fluctuating temperatures in *Cynara cardunculus* (L.). **Seed Science Research**, v. 20, n. 1, p. 39-45, 2010.

ISHIBASHI, Y.; KASA, S.; SAKAMOTO, M.; AOKI, N.; KAI, K.; YUASA, T.; IWAYA-INOUE, M. A role for reactive oxygen species produced by NADPH oxidases in the embryo and aleurone cells in barley seed germination. **PLoS One**, 10 (11), e0143173, 2015.

JANK, L.; VALLE, C. B. DO; RESENDE, R. M. S. Breeding tropical forages. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 11, p. 27–34, 2011.

KELLER-GREIN, G.; MAAS, B. L.; HANSON, J. Natural variation in *Brachiaria* and existing germplasm collections. In: Miles JW, Maas BL, Valle CB. (Ed.). *Brachiaria: biology, agronomy, and improvement*. Cali: CIAT, p.16-42, 1996.

KUCERA, B.; COHN, M. A.; LEUBNER-METZGER, G. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. **Seed Science Research**, v. 15, n. 4, p.281-307, 2005.

KUMAR, S. J.; CHINTAGUNTA, A. D.; REDDY, Y. M.; RAJJOU, L.; KUMAR, G. V.; AGARWAL, D. K.; SIMAL-GANDARA, J. Implications of reactive oxygen and nitrogen species in seed physiology for sustainable crop productivity under changing climate conditions. **Current Plant Biology**, 100197, 2021.

LANDO, A. P.; VIANA, W. G.; DA SILVA, R. A.; COSTA, C. D. D.; FRAGA, H. P.; SANTOS, M.; STEINER, N. The physiological relationship between abscisic acid and gibberellin during seed germination of *Trichocline catharinensis* (Asteraceae) is associated with polyamine and antioxidant enzymes. **Journal of Plant Growth Regulation**, 1-16, 2019.

LEE, H. G.; LEE, K.; SEO, P. J. The Arabidopsis MYB96 transcription factor plays a role in seed dormancy. **Plant Mol Biol**, v. 87, n.4-5, p.371-381, 2015.

LI, W. Y.; CHEN, B. X.; CHEN, Z. J.; GAO, Y. T.; CHEN, Z.; LIU, J. Reactive oxygen species generated by NADPH oxidases promote radicle protrusion and root elongation during rice seed germination. **International journal of molecular sciences**, v. 18, n. 1, p. 110, 2017.

LIBÓRIO, C. B. de; VERZIGNASSI, J. R.; FERNANDES, C. D.; LIMA, N. D. Superação da dormência em sementes de *Brachiaria humidicola* cv. BRS Tupi pelo uso de ácido giberélico. **Rev. Cienc. Agrar.**, v. 61, 2018.

LIMA, K. N.; TEODORO, P. E.; PINHEIRO, G. D. S.; PEREIRA, A. C.; TORRES, F. E. Superação de dormência em cultivares de capim-braquiária. **Nucleus**, v. 12, n. 2, p. 167-173, 2015.

LINKIES, A.; LEUBNER-METZGER, G. Beyond gibberellins and abscisic acid: How ethylene and jasmonates control seed germination. **Plant cell reports**, v. 31, n. 2, p. 253-270, 2012.

LIU, J.; WANG, H.; LUO, F.; WANG, Y.; XU, C.; JIANG, J. The influence of seed structures on dormancy in seeds of *Urochloa* hybrid cultivar ‘Mulato II’. **Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales**, v. 10, n. 3, p. 156-163, 2022.

LONG, R. L.; MARTA, J. G.; MICHAEL, R.; JOHN, K.; SCOTT, L. C.; DANICA, E. G.; LUCY, E.; COMMANDER, D. A.; WESTCOTT, H. C.; WILLIAM, E. FINCH-SAVAGE. The ecophysiology of seed persistence: a mechanistic view of the journey to germination or demise. **Biological Reviews** **90**, no. 1, p. 31-59, 2015.

MA, Z.; BYKOVA, N. V.; IGAMBERDIEV, A. U. Cell signaling mechanisms and metabolic regulation of germination and dormancy in barley seeds. **The Crop Journal**, v. 5, n. 6, p. 459-477, 2017.

MA, Z.; MARSOLAIS, F.; BYKOVA, N. V.; IGAMBERDIEV, A. U. Nitric oxide and reactive oxygen species mediate metabolic changes in barley seed embryo during germination. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 138, 2016.

MAPEAMENTO ANUAL DE COBERTURA E USO DA TERRA DO BRASIL – Coleção 6, 2021. Disponível em: <https://mapbiomas.org/pastagens-brasileiras-ocupam-area-equivalente-a-todo-o-estado-do-amazonas#:~:text=Pastagens%20brasileiras%20ocupam%20%C3%A1rea%20equivalente%20a%20todo%20o%20estado%20do%20Amazonas&text=O%20principal%20uso%20dado%20ao,tem%20156%20mil%C3%B5es%20de%20hectares>. Acesso em: janeiro de 2023.

MATIAS, F. I.; MEIRELES, X.; GUIMARÃES, K.; NAGAMATSU, S. T.; LIMA BARRIOS, S. C.; BORGES DO VALLE, C.; ENDELMAN, J. B. Expected genotype quality and diploidized marker data from genotyping-by-sequencing of *Urochloa* spp. tetraploids. **The Plant Genome**, v. 12, n. 3, 2019.

NONOGAKI, H.; BASSEL, G. W.; BEWLEY, J. D. Germination—still a mystery. **Plant Science**, v. 179, n. 6, p. 574-581, 2010.

- OLIVEIRA, T. G. S.; DIAMANTINO, I. P.; GARCIA, Q. S. Dormancy cycles in buried seeds of three perennial *Xyris* (Xyridaceae) species from the Brazilian campo rupestre. **Plant Biology**, v.19, n.5, p.818-823, 2017.
- OLIVEIRA, T. G.; GARCIA, Q. S. Germination ecology of the perennial herb *Xyris longiscapa*: Inter - annual variation in seed germination and seasonal dormancy cycles. **Seed Science Research**, 29.3, 179-183, 2019.
- RAJJOU, L.; DUVAL, M.; GALLARDO, K.; CATUSSE, J.; BALLY, J.; JOB, C.; JOB, D. Seed germination and vigor. **Annual review of plant biology**, v. 63, p. 507-533, 2012.
- RIBEIRO, S. DE O.; AMARAL, M. C. A.; BARROS, W. T.; DA SILVA BANDEIRA, A.; CARDOSO, A. D.; DE VASCONCELOS, R. C. Quality of Top, Middle and Bottom Buffelgrass Seeds from Different Collecting Sites. **Journal of Agricultural Science**, v. 11, n. 9, 2019.
- SAKAI, Y.; SURIYASAK, C.; INOUE, M.; HAMAOKA, N.; ISHIBASHI, Y. Heat stress during grain filling regulates seed germination through alterations of DNA methylation in barley (*Hordeum vulgare* L.). **Plant Molecular Biology**, v. 110, n. 4-5, p. 325-332, 2022.
- SANO, N.; RAJJOU, L. NORTH, H. M.; DEBEAUJON, I.; MARION-POLL, A.; SEO, M. Staying alive: molecular aspects of seed longevity. **Plant and Cell Physiology**, 57.4, 660-674, 2016.
- SHU, K., LIU, X. D., XIE, Q., & HE, Z. H. Two faces of one seed: hormonal regulation of dormancy and germination. **Molecular plant**, v. 9, n. 1, p. 34-45, 2016.
- SIMEÃO, R. M.; JANK, L.; VALLE, C. B.; BARRIOS, S. C. L.; SANTOS, M. F. Melhoramento de forrageiras tropicais. In: Simpósio de Pastagem e Forragicultura do Campo das Vertentes, 2015, São João del Rei. Anais... São João del Rei: UFSJ, 2015. p. 114-130.
- SOUZA, J. S.; CHIARI, L.; SIMEÃO, R.M.; DE MENDONÇA VILELA, M.; SALGADO, L.R. Development, Validation and Characterization of Genic Microsatellite Markers in *Urochloa* Species. **American Journal of Plant Sciences**, v. 9, n. 02, p. 281, 2018.
- THOMPSON, K.; GRIME, J. P. Seasonal variation in the seed banks of herbaceous species in ten contrasting habitats. **The Journal of Ecology**, p. 893-921, 1979.
- TSUHAK, ALBERTO TAKASHI. O impacto dos acordos comerciais no equilíbrio do agronegócio. **Revista SEEDnews**, edição XXIV, 02/03, 2020. Disponível em: <https://www.seednews.com.br/artigos/3201-as-sementes-de-forrageiras-do-brasil-edicao-marco-2020>. Acesso em: 02/04/2020.
- TUAN, P. A.; KUMAR, R.; REHAL, P. K.; TOORA, P. K.; AYELE, B. T. Molecular mechanisms underlying abscisic acid/gibberellin balance in the control of seed dormancy and germination in cereals. **Frontiers in Plant Science**, v.9, 668, 2018.
- VALLE, C. B. DO; EUCLIDES, V. P. B.; MONTAGNER, D. B.; VALÉRIO, J. R.; FERNANDES, C. D.; MACEDO, M. C. M.; VERZIGNASSI, J. R.; MACHADO, L. A. Z. BRS Paiaguás: A new *Brachiaria* (*Urochloa*) cultivar for tropical pastures in Brazil. **Tropical Grasslands/Pasturas Tropicales**, v. 1, n. 1, p.121-122, 2013.

VIEIRA, B. C.; BICALHO, E. M.; MUNNÉ-BOSCH, S.; GARCIA, Q. S. Abscisic acid regulates seed germination of *Vellozia* species in response to temperature. **Plant Biology**, v. 19, n. 2, p. 211-216, 2017.

WOJTYLA, Ł.; LECHOWSKA, K.; KUBALA, S.; GARNCZARSKA, M. Different modes of hydrogen peroxide action during seed germination. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 66, 2016.

SEGUNDA PARTE

CAPÍTULO I

SENSILIDADE DE SEMENTES A REGULADORES E INIBIDORES BIOSSINTÉTICOS E SEUS EFEITOS EM PLÂNTULAS DO GÊNERO *UROCHLOA* DURANTE O ARMAZENAMENTO

Elaborado de acordo com a NBR 6022 (ABNT, 2018)

RESUMO

A dormência fisiológica das sementes do gênero *Urochloa* dificulta sua comercialização. Neste estudo foi avaliado se sementes recém-colhidas de cultivares do gênero *Urochloa* com diferentes níveis de dormência são sensíveis ao ácido abscísico (ABA), giberelinas (GA) e seus respectivos inibidores biossintéticos [fluridone (FLU) e paclobutrazol] e se essa sensibilidade é superada durante o armazenamento em ambiente de laboratório e no banco de sementes no solo. Em sementes das cultivares houve diferentes níveis de sensibilidade aos reguladores e inibidores exógenos, dependendo do tratamento e da concentração utilizada as características germinativas foram influenciadas. Além disso, durante o armazenamento em ambiente de laboratório, as sementes das cultivares Cayana e Sabiá continuaram sensíveis ao ABA até 131 dias, ao passo que para cultivar Marandu isso ocorreu apenas no período 0 de armazenamento. Para o vigor das plântulas, foi observado que FLU aplicado nas sementes afeta negativamente o conteúdo dos pigmentos, independente das cultivares e do período analisado. Constatou-se que as cultivares não adquirem dormência secundária no banco de sementes no solo. Conclui-se que a dormência fisiológica das sementes das cultivares testadas de *Urochloa* é mantida pela sensibilidade das sementes ao ABA, logo essa sensibilidade é o principal impedimento à germinação. Tratamentos com GA, FLU e Pro-Gibb® não promovem a germinação das sementes armazenadas em ambiente de laboratório, sendo que esse armazenamento reduziu a sensibilidade das sementes ao ABA, promovendo assim a germinação. FLU influencia negativamente o conteúdo de pigmentos fotossintéticos das plântulas do gênero *Urochloa* e a dormência das sementes nas cultivares estudadas é inata.

Palavras-chave: Ácido abscísico. Armazenamento. Cayana. Dormência fisiológica. Marandu. Sabiá.

ABSTRACT

The physiological dormancy of seeds of the genus *Urochloa* makes their commercialization difficult. In this study, it was evaluated whether freshly harvested seeds of cultivars of the genus *Urochloa* with different levels of dormancy are sensitive to abscisic acid (ABA), gibberellins (GA) and their respective biosynthetic inhibitors [fluridone (FLU) and paclobutrazol] and whether this sensitivity is overcome during after-ripening in the laboratory environment and in the seed bank in the soil. In seeds of cultivars there were different levels of sensitivity to exogenous regulators and inhibitors, depending on the treatment and concentration used, germinative characteristics were influenced. In addition, during after-ripening in a laboratory environment, the seeds of the Cayana and Sabiá cultivars remained sensitive to ABA up to 131 days, whereas for the Marandu cultivar this occurred only in period 0 of after-ripening. For seedling vigor, it was observed that FLU applied to seeds negatively affects pigment content, regardless of cultivars and period analyzed. It was found that the cultivars do not acquire secondary dormancy in the seed bank in the soil. It was concluded that the physiological dormancy of the seeds of the tested cultivars is maintained by the sensitivity of seeds to ABA for the tested cultivars, so this sensitivity is the main impediment to germination. Treatments with GA, FLU and Pro-Gibb[®] did not promote the germination of seeds stored in a laboratory environment, and this after-ripening reduced the sensitivity of seeds to ABA, thus promoting germination. FLU negatively influences the photosynthetic pigment content of seedlings of the genus *Urochloa* and seed dormancy in the studied cultivars is innate.

Keywords: Abscisic acid. After-ripening. Cayana. Marandu. Physiological dormancy. Sabiá.

1. INTRODUÇÃO

As plantas do gênero *Urochloa* tem demonstrado potencial de uso, seja pela elevada produção, valor nutricional (SANTIAGO-HERNÁNDEZ et al., 2017), utilização como fonte de bioenergia (AHMAD et al., 2017) ou na agricultura de conservação, uma vez que, melhora a estabilidade do solo, matéria orgânica e ciclagem de nutrientes (FAVILLA et al., 2020; SILVA et al., 2022). Porém, produzem sementes com dormência sendo este um dos principais gargalos para sua comercialização (RIBEIRO et al., 2019), inclusive as *U. brizantha* cv. Marandu lançada em 1984 e as cultivares híbridas Cayana e Sabiá, lançadas em 2020 no mercado brasileiro de forrageiras. A dormência ocorre quando sementes viáveis não germinam mesmo sob condições favoráveis (BEWLEY et al., 2013). Em diferentes espécies de Poaceae a dormência fisiológica tem sido relacionada à impermeabilidade das estruturas das sementes ao oxigênio (LV et al., 2017; ABRANTES; MACHADO-NETO; CUSTÓDIO, 2020). A dormência imposta pelo embrião pode ser classificada em não profunda, intermediária e profunda. Sementes do gênero *Urochloa* exibem a dormência fisiológica não profunda e uma característica marcante desse tipo de condição é que a superação pode ocorrer durante o armazenamento (BASKIN; BASKIN, 2020). Assim, o armazenamento é importante para espécies de *Urochloa*, como observado para *U. humidicola* (Rendle) Morrone & Zuloaga (AJALA-LUCCAS et al., 2018).

As sementes de *Urochloa* spp. podem ser armazenadas no solo, uma vez que apresentam dormência fisiológica não profunda após serem dispersas, formando bancos de sementes no solo. No banco, essas sementes de maneira gradual variam seu nível de dormência em resposta aos diversos sinais ambientais, como flutuações de temperatura e umidade do solo (LONG et al., 2015; FINCH-SAVAGE; FOOTITT, 2017). A dormência secundária é adquirida depois da dispersão e superação da dormência fisiológica nas sementes; e pode estar associada aos ciclos anuais, quando a dormência é continuamente superada e induzida nas sementes nos bancos de sementes no solo (FINCH-SAVAGE; FOOTITT, 2017). Estudos sobre a dormência secundária e os ciclos de dormência em sementes de cultivares de *Urochloa* spp. são reduzidos na literatura, o que tem dificultado o entendimento sobre a persistência das sementes do gênero *Urochloa* em bancos de sementes no solo.

Superada a dormência, a germinação se inicia com a embebição, impulsionando a ativação do metabolismo das sementes e finaliza com a protrusão da radícula através dos tecidos circundantes (BEWLEY et al., 2013). Os principais fitormônios envolvidos na dormência e na germinação das sementes são o ácido abscísico (ABA) e as giberelinas (GAs),

esses atuam em funções cruciais desses processos fisiológicos, mas de maneiras antagônicas (SHU et al., 2016; TUAN et al., 2018). Assim, modificações no balanço hormonal entre ABA/GA e na sensibilidade das sementes a esses fitormônios podem estabelecer um sistema de regulação para a manutenção ou superação da dormência de sementes (SHU et al., 2016). Em estudo anterior foi demonstrado que, em vez de alterações no balanço entre ABA/GA, a sensibilidade das sementes a eles são melhores determinantes para a germinação de sementes (FINCH-SAVAGE; FOOTITT, 2017). Inibidores da biossíntese de ABA e GA, como fluridone (FLU) e paclobutrazol (PBZ), são largamente utilizados por alterar a síntese *de novo* desses fitormônios (CHEN et al., 2016; VIEIRA et al., 2017; LANDO et al., 2020). Ambos, inibem a atividade de enzimas, fitoeno dessaturase I e ent-caureno oxidase, importantes na via biossintética de ABA e GA, ao passo que, FLU favorece a germinação das sementes e o PBZ inibe este processo fisiológico (JIANG; ASAMI, 2018).

Visando elucidar os mecanismos envolvidos na dormência das sementes das plantas do gênero *Urochloa*, o presente estudo traz as seguintes hipóteses: (1) sementes recém-colhidas de cultivares do gênero *Urochloa* com diferentes níveis de dormência são sensíveis ao ABA; (2) a sensibilidade ao ABA é superada durante o armazenamento em ambiente de laboratório; (3) as sementes permanecem viáveis no banco de sementes do solo, porém não realizam ciclos de dormência.

Dessa forma, foram investigadas as respostas germinativas de sementes de cultivares do gênero *Urochloa* quando submetidas à aplicação de diferentes concentrações de ABA, GA e seus respectivos inibidores biossintéticos, FLU e PBZ; avaliou-se a sensibilidade das sementes e o crescimento inicial das plântulas de cultivares do gênero *Urochloa* submetidas a reguladores, inibidores e a combinação destes se alteram durante o armazenamento em ambiente de laboratório e verificou-se *in situ* se as sementes das cultivares de *Urochloa* spp. enterradas no solo formam banco de sementes e adquirem dormência secundária.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal e caracterização inicial das sementes

Foram utilizadas sementes puras e recém-colhidas, sem escarificação mecânica (intactas), de três cultivares do gênero *Urochloa*, as cultivares híbridas [*Urochloa brizantha* (Hochst ex A. Rich) Staf x *U. ruziziensis* R. Germ. & C. M. Evrard] Cayana e Sabiá e a *U. brizantha* cv. Marandu, produzidas no município de Tesouro, Mato Grosso, Brasil em 2019/2020 e fornecidas pela empresa Barenbrug do Brasil Sementes Ltda.

Inicialmente, foi realizada a caracterização da qualidade inicial das sementes. O grau de umidade inicial foram 6,48, 7,82 e de 7,71% pelo método de estufa (BRASIL, 2009), 76, 84 e 93 % de viabilidade inicial pelo teste de tetrazólio, 17, 31 e 52% de porcentual de germinação, 0,45, 0,76 e 1,95 de índice de velocidade de germinação e 73,66; 59,24 e 36,07 $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$ de condutividade elétrica para as sementes das cultivares Cayana, Sabiá e Marandu, respectivamente. Antes dos testes germinativos e da curva de embebição, as sementes foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio 2,5% e detergente, por dez minutos, e em seguida lavadas três vezes em água deionizada. As sementes foram utilizadas nos experimentos subsequentes durante os meses de setembro/2020 – junho/2021.

Experimento 1: Sensibilidade de sementes do gênero *Urochloa* a reguladores vegetais e inibidores biossintéticos exógenos

Obtenção da curva de embebição: Foram utilizadas cinco repetições com 25 sementes para cada cultivar. Inicialmente, as sementes foram pesadas, acondicionadas em placas de Petri, contendo duas folhas de papel filtro, previamente esterilizados, e umedecidas 2,5 vezes a massa seca dos papéis com água deionizada. As placas foram mantidas em temperatura ambiente e as pesagens foram realizadas após 1, 2, 3, 6, 9, 12, 16, 20, 24, 36, 48, 72, 96 e 120 h do início da embebição. Com os valores dos pesos foi calculada a porcentagem de ganho de água em relação ao peso inicial das sementes, para estabelecer a curva de embebição destas sementes.

Aplicação dos reguladores e seus inibidores biossintéticos. Reguladores e inibidores foram diluídos primeiramente em solventes específicos. PBZ e GA₃ foram diluídos em etanol, ABA em hidróxido de potássio (KOH) e FLU em acetona. Posteriormente todas as soluções foram diluídas em água deionizada até as concentrações desejadas, sendo a concentração final dos solventes 0,2% (v/v) de etanol e 0,01% (v/v) de KOH e acetona (VIEIRA et al., 2017). Não houve efeito dos solventes na germinação das sementes, conforme pré-teste sem os reguladores e inibidores. Foram utilizadas as concentrações 0, 25, 50, 100, 150 e 200 μM de ABA, GA₃, FLU e PBZ (HUARTE; BENECH-ARNOLD, 2010), que foram obtidas a partir das soluções padrões de 1 mM de cada regulador ou inibidor. As placas de Petri contendo uma camada de papel de germinação foram umedecidas em 5 mL de solução na qual as sementes foram embebidas no escuro à temperatura de 25 °C durante 14 h (fase II), conforme determinada pela curva de embebição. Após as aplicações em cada tratamento, as sementes foram transferidas para placas de Petri contendo dupla camada de papel de germinação, e

umedecidos 2,5 vezes a massa seca dos papéis com uma solução aquosa de nistatina (0,5%) para evitar contaminação fúngica (VIEIRA et al., 2017) e submetidas ao teste de germinação.

Para o teste de Germinação, as sementes foram semeadas em placas de petri contendo dupla camada de papel de germinação, esterilizados em estufa a 105 °C por 2 h, e umedecidos com solução aquosa de nistatina (0,5%) para evitar contaminação fúngica (VIEIRA et al., 2017) equivalente a 2,5 vezes a massa seca dos papéis. As placas foram transferidas para câmara de germinação com temperatura alternada de 35-20 °C luz/escuro (BRASIL, 2009), sob fotoperíodo de 8 h de luz e 40 μM fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A germinação foi avaliada diariamente durante 21 dias e a protrusão da raiz primária, > 2 mm, foi considerada como critério para a germinação das sementes. A viabilidade das sementes remanescentes foi avaliada por meio do teste de tetrazólio (BRASIL, 2009). A partir dos dados de germinação, pôde-se determinar a Germinação final - %GF, Índice de Velocidade de Germinação - IVG (MAGUIRE, 1962) e o Tempo necessário para 50% das sementes germinarem - T_{50} (FAROOQ et al., 2005).

Experimento 2: Sensibilidade aos reguladores e inibidores exógenos das sementes do gênero *Urochloa* durante o armazenamento

Concomitantemente à determinação da qualidade inicial das sementes, parte das sementes foi armazenadas em sacos de papel Kraft em ambiente de laboratório e outra parte em sacos confeccionados em malha de fios de polietileno de alta densidade, permeáveis à água e enterrados a 5 cm de profundidade (LECK, 2012) em solo do tipo Latossolo. Os dados de temperatura média e precipitação foram registrados em estação meteorológica localizada na UFLA. Para o armazenamento em ambiente de laboratório, após 0, 107, 131, 168 e 257 dias de armazenamento foram retiradas amostras para as avaliações do grau de umidade (%U), viabilidade inicial (%VI), características germinativas e testes de vigor. Para o armazenamento no solo, a primeira avaliação ocorreu 20 dias após a simulação do banco de sementes no solo.

Embebição das sementes: Amostras de 75 sementes, por repetição, foram colocadas para embeber em soluções de reguladores ou inibidores ou da combinação destes, conforme condições experimentais descrita no experimento 1. As concentrações de 100 μM (todas as cultivares) para ABA, 25 (Sabiá), 100 (Marandu) e 200 μM (Cayana) para GA, 50 (Sabiá e Marandu) e 100 μM (Cayana) para FLU, 50 (Cayana e Sabiá) e 100 μM (Marandu) para PBZ foram escolhidas, conforme resultados do experimento 1. Foi incluído o composto comercial Pro-Gibb® (400 g/Kg GA_3) e uma combinação de GA+FLU, conforme a concentração indicada para cada cultivar. No total, sete tratamentos foram avaliados: Controle (água

destilada), ABA, GA, FLU, PBZ, Pro-Gibb[®] e GA+FLU. Após a aplicação, conforme os tratamentos, as sementes, conforme descrito no experimento 1, foram distribuídas em placas de Petri para o teste de germinação.

Testes de vigor: As sementes foram dispostas para germinar sobre substrato em forma de rolos, esterilizados em estufa a 105 °C por 2 h, umedecidos com solução de nistatina (0,5%) equivalente a 2,5 vezes a massa seca dos papéis. Para conservar a umidade nos rolos, estes foram acondicionados em recipientes (500 ml) envoltos por sacos plásticos. Os rolos foram mantidos em câmaras de germinação com temperatura alternada e fotoperíodo conforme descrito para o teste de germinação. Após sete dias, 10% das plântulas normais de cada tratamento foram tomadas para aferição dos comprimentos da parte aérea (CPA) e da raiz (CR) com o auxílio de uma régua graduada. Aos 14 dias, foi realizada a quantificação de clorofila a, b e carotenoides dos tecidos foliares. Para isso, foram pesados 0,1 g de tecidos foliar, por repetição e imersos em 10 ml de acetona 80% em frascos âmbar. Em seguida, os frascos foram acondicionados em geladeira até a total descoloração dos tecidos. As leituras foram realizadas a 663,2 nm (clorofila a), 646,8 nm (clorofila b) e 470 nm (carotenoides) em espectrofotômetro e os teores dos pigmentos foram calculados de acordo com Lichtenthaler e Buschmann, 2001. Aos 14 dias, também foi avaliada a biomassa seca total das plântulas inteiras (BSTP), as plântulas consideradas normais, de cada tratamento, foram acondicionadas em sacos de papel Kraft, identificados e colocados em estufa de circulação de ar forçada à temperatura de 70 °C por 72 horas. Ao final deste período, as amostras foram retiradas da estufa, colocadas em dessecador e posteriormente pesadas.

Delineamento experimental e análise estatística

Foram realizados experimentos independentes para cada cultivar. No experimento 1, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado e seis concentrações (0, 25, 50, 100, 150 e 200 µM) para cada tratamento (ABA, GA, FLU e PBZ). Foi realizado teste de normalidade e homogeneidade das variâncias por meio dos testes Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente, e, quando necessário, os dados foram transformados em porcentagem de raiz quadrada de arco seno. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, considerando $p < 0,05$. A análise dos dados foi realizada com auxílio do pacote ExpDes.pt (FERREIRA *et al.* 2021) do software estatístico R, versão 4.2.2 (R CORE TEAM, 2021).

No experimento 2, a normalidade dos dados foi verificada por meio do teste Shapiro-Wilk e quando necessário, os dados foram transformados em porcentagem de raiz quadrada

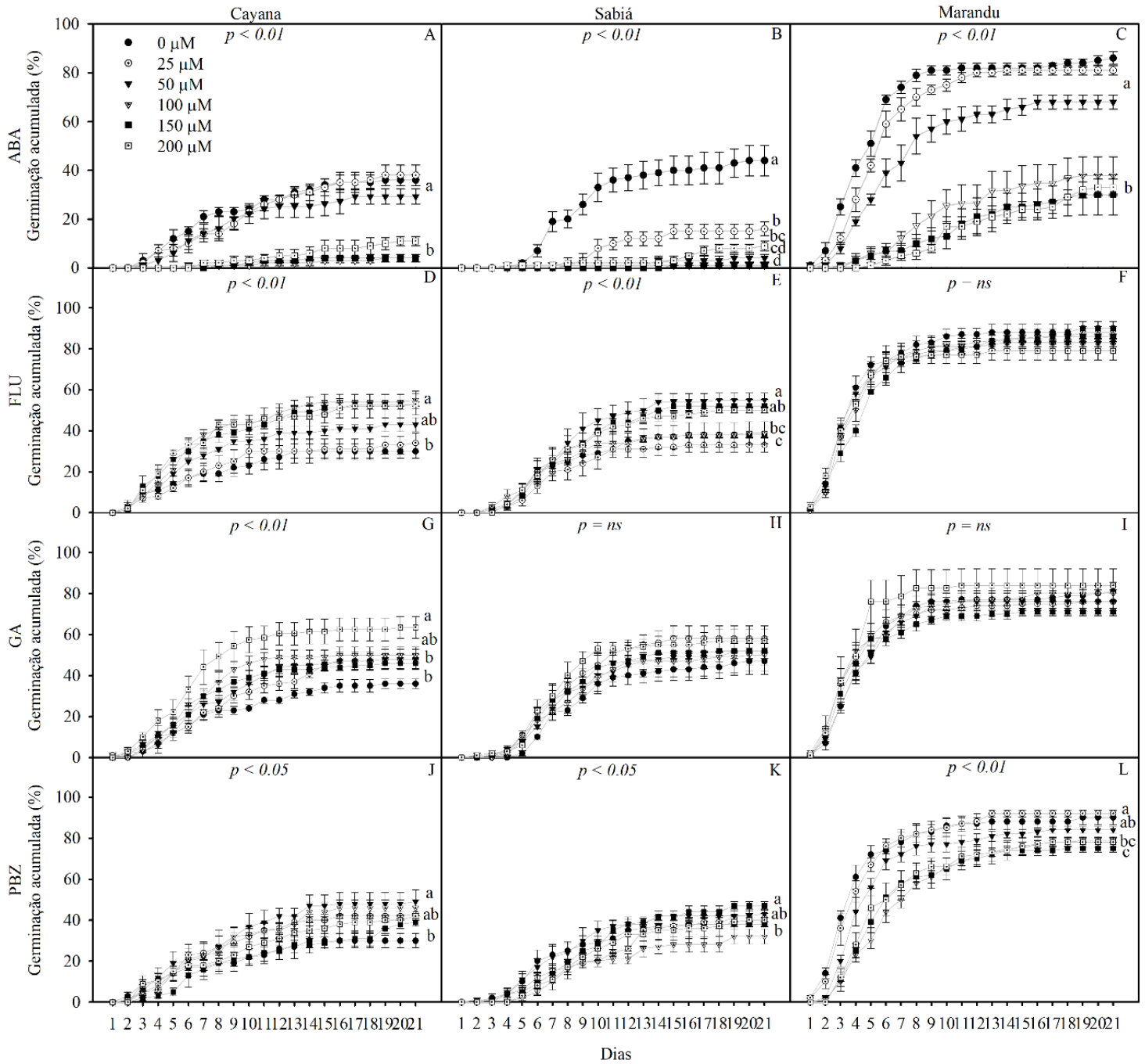
de arco seno e raiz quadrada. As características germinativas foram avaliadas em cada período de armazenamento (0, 107, 131, 168 e 257 dias) usando ANOVA em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial, com sete tratamentos (Controle - água deionizada, ABA, GA, FLU, PBZ, Pro-Gibb[®] e GA+FLU) e cinco períodos de armazenamento (0, 107, 131, 168 e 257 dias). Quando diferenças significativas foram encontradas entre os fatores, comparações pelo teste de Tukey foram realizadas, considerando $p < 0,05$. Análise hierárquica de agrupamentos e mapa de cores foram realizados nos dados de vigor. A análise dos dados foi realizada com auxílio do pacote ExpDes.pt (FERREIRA *et al.* 2021) e o MultivariateAnalysis (AZEVEDO, 2021) do software estatístico R, versão 4.2.2 (R CORE TEAM, 2021).

3. RESULTADOS

Efeitos dos reguladores e inibidores na germinação de sementes recém-colhidas de cultivares do gênero *Urochloa*.

Em sementes recém-colhidas dos três cultivares do gênero *Urochloa* foram observados diferentes níveis de sensibilidade aos reguladores e inibidores exógenos. A aplicação de ABA nas maiores concentrações (100-200 μM) reduziu a germinação das sementes das cultivares Cayana e Marandu, diferindo das demais concentrações. Para a cultivar Sabiá, isso foi verificado a partir da concentração de 25 μM diferindo do tratamento controle. Além disso, houve atraso para o início do processo germinativo das sementes em todas as cultivares nas concentrações citadas (Fig. 1A-C).

Figura 1 - Germinação acumulada de sementes recém-colhidas de cultivares do gênero *Urochloa* submetidas a diferentes concentrações de ABA, GA, FLU e PBZ.



As barras são médias \pm erro padrão. Médias seguidas de mesma letra são iguais entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os dados de germinação de ABA da cultivar Sabiá foram transformados pelo arco-seno raiz da porcentagem. Fonte: Do autor (2023).

Pelos dados de viabilidade das sementes remanescentes foi verificado que as diferentes concentrações dos reguladores e inibidores não afetaram negativamente a viabilidade das sementes para as cultivares avaliados (ANEXO A).

Em relação ao IVG, em sementes das cultivares Cayana e Marandu nas maiores concentrações (100-200 μM) de ABA houve redução dos valores diferindo do tratamento

controle, enquanto para as sementes da cultivar Sabiá isso ocorreu a partir da concentração de 25 μM . Quanto ao parâmetro T_{50} , apenas a concentração de 200 μM para as sementes da cultivar Cayana houve aumento desta variável e para as sementes da cultivar Marandu isso foi observado nas maiores concentrações (100-200 μM) (Tab. 1).

Tabela 1 - Índice de velocidade de germinação (IVG) e o tempo necessário para 50% das sementes germinarem (T_{50}) de cultivares do gênero *Urochloa* submetidas a diferentes concentrações de ABA, GA, FLU e PBZ.

Cayana								
[μ M]	IVG				T_{50} (dias)			
	ABA	GA	FLU	PBZ	ABA	GA	FLU	PBZ
0	1,41 \pm 0,11a	1,41 \pm 0,11b	1,60 \pm 0,32 a	1,60 \pm 0,32a	6,58 \pm 0,86b	6,58 \pm 0,86a	5,13 \pm 0,26ab	5,89 \pm 1,13a
25	1,26 \pm 0,10a	1,98 \pm 0,27ab	1,62 \pm 0,16a	1,72 \pm 0,16a	8,29 \pm 0,63ab	7,14 \pm 0,27a	6,29 \pm 0,42a	6,64 \pm 1,30a
50	1,03 \pm 0,19a	1,88 \pm 0,33ab	2,12 \pm 0,17a	2,02 \pm 0,40a	7,58 \pm 0,40ab	6,83 \pm 0,24a	4,94 \pm 0,26ab	7,10 \pm 0,93a
100	0,09 \pm 0,05b	2,11 \pm 0,13ab	2,55 \pm 0,27a	1,83 \pm 0,20a	11,08 \pm 1,50ab	6,33 \pm 0,12a	4,62 \pm 0,43b	6,58 \pm 0,98a
150	0,10 \pm 0,01b	2,10 \pm 0,20ab	2,59 \pm 0,22a	1,22 \pm 0,18a	9,25 \pm 0,63ab	5,94 \pm 0,47a	4,75 \pm 0,25b	9,21 \pm 1,94a
200	0,23 \pm 0,07b	2,99 \pm 0,43a	2,66 \pm 0,25a	1,70 \pm 0,22a	12,88 \pm 2,13a	5,36 \pm 0,35a	4,70 \pm 0,12b	8,68 \pm 1,23a
Sabiá								
[μ M]	IVG				T_{50} (dias)			
	ABA	GA	FLU	PBZ	ABA	GA	FLU	PBZ
0	1,31 \pm 0,19a	1,31 \pm 0,19a	1,47 \pm 0,17a	1,47 \pm 0,17a	8,53 \pm 0,44abc	7,93 \pm 0,47a	6,57 \pm 1,15a	6,58 \pm 1,15ab
25	0,36 \pm 0,08b	2,03 \pm 0,20a	1,21 \pm 0,20a	1,27 \pm 0,07a	10,85 \pm 0,43ab	7,28 \pm 0,50a	7,22 \pm 0,82a	9,81 \pm 0,98a
50	0,10 \pm 0,04bc	1,82 \pm 0,11a	1,97 \pm 0,17a	1,59 \pm 0,24a	13,87 \pm 1,60a	6,86 \pm 0,17a	7,27 \pm 0,60a	6,46 \pm 0,93b
100	0,05 \pm 0,05c	1,65 \pm 0,14a	1,59 \pm 0,15a	0,91 \pm 0,11a	1,12 \pm 1,13c	7,56 \pm 0,44a	5,53 \pm 0,65a	8,09 \pm 0,69ab
150	0,02 \pm 0,02c	1,68 \pm 0,14a	1,78 \pm 0,06a	1,40 \pm 0,19a	3,37 \pm 3,38bc	7,56 \pm 0,24a	7,19 \pm 0,26a	8,54 \pm 0,98ab
200	0,20 \pm 0,06bc	1,85 \pm 0,21a	1,75 \pm 0,16a	1,15 \pm 0,12a	13,69 \pm 2,76a	7,09 \pm 0,17a	7,50 \pm 0,86a	8,90 \pm 0,45ab
Marandu								
[μ M]	IVG				T_{50} (dias)			
	ABA	GA	FLU	PBZ	ABA	GA	FLU	PBZ
0	5,19 \pm 0,39a	5,19 \pm 0,39a	6,55 \pm 0,20a	6,55 \pm 0,20a	3,93 \pm 0,20c	3,93 \pm 0,20a	3,33 \pm 0,21a	3,06 \pm 0,16d
25	4,14 \pm 0,23ab	5,87 \pm 0,72a	5,87 \pm 0,14a	6,24 \pm 0,47a	4,9 \pm 0,306c	3,33 \pm 0,38a	3,28 \pm 0,13a	3,43 \pm 0,24cd
50	3,12 \pm 0,16b	5,00 \pm 0,26a	6,15 \pm 0,20a	4,78 \pm 0,23b	5,56 \pm 0,22bc	3,76 \pm 0,16a	3,15 \pm 0,20a	3,81 \pm 0,23cd
100	1,10 \pm 0,25c	5,86 \pm 0,21a	5,92 \pm 0,23a	3,54 \pm 0,20b	7,64 \pm 0,66b	3,13 \pm 0,19a	3,65 \pm 0,23a	6,24 \pm 0,27a
150	0,84 \pm 0,32c	5,58 \pm 0,38a	5,73 \pm 0,26a	3,57 \pm 0,25b	10,00 \pm 0,37a	3,92 \pm 0,33a	4,03 \pm 0,15a	4,63 \pm 0,10bc
200	0,79 \pm 0,11c	5,80 \pm 0,71a	6,40 \pm 0,50a	3,82 \pm 0,40b	10,28 \pm 0,77a	3,84 \pm 0,31a	3,20 \pm 0,36a	5,64 \pm 0,49ab

Médias \pm erro. Médias seguidas de mesma letra nas colunas são iguais entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os dados de IVG de ABA da cultivar Sabiá foram transformados pelo arco-seno raiz da porcentagem. Fonte: Do autor (2023).

Nas maiores concentrações (100 e 200 μM) e em 50 μM de FLU a germinação das sementes de Cayana e Sabiá foram promovidas e não houve efeito significativo dessa variável para Marandu (Fig. 1D-F). O T_{50} para as sementes da cultivar Cayana foi observado que as maiores concentrações de FLU (100-200 μM) reduziram esse parâmetro, diferindo da menor concentração (25 μM), enquanto para as sementes das cultivares Sabiá e Marandu não houve efeito significativo para essa variável. Não foram observadas diferenças significativas para o IVG nas sementes das cultivares estudadas (Tab. 1).

A aplicação de GA na maior concentração (200 μM) aumentou cerca de 78% a germinação das sementes da cultivar Cayana, quando comparadas ao tratamento controle, porém para as demais cultivares não houve efeito significativo na germinação das sementes com aplicação de GA (Fig. 1G-I). Em relação ao IVG, as sementes da cultivar Cayana na maior concentração (200 μM) de GA aumentou significativamente esse parâmetro, diferindo do tratamento controle, enquanto para as outras cultivares não houve efeito significativo. Para o T_{50} não foi observado efeito significativo para as cultivares quando as sementes foram tratadas com GA (Tab. 1).

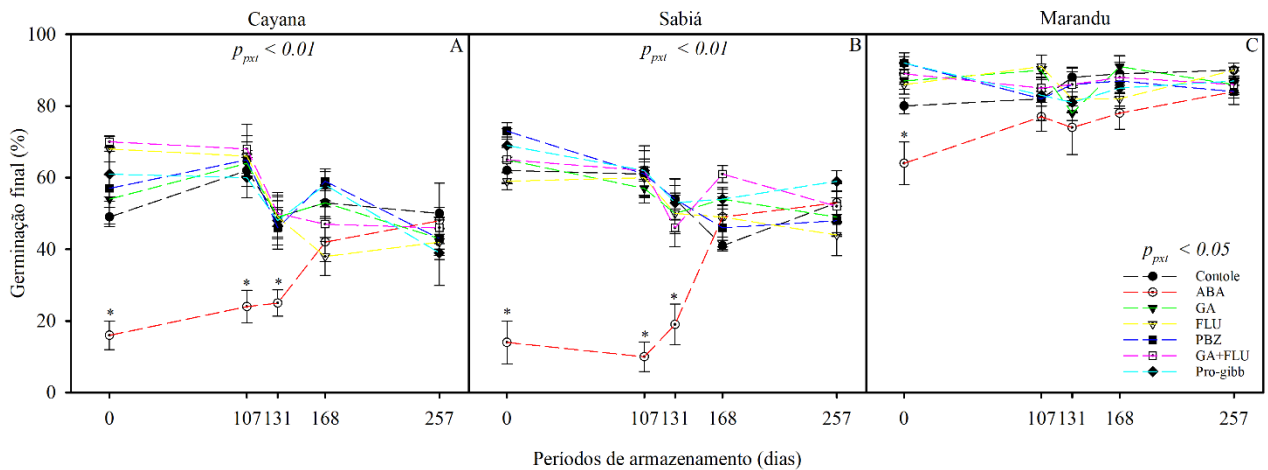
PBZ promoveu a germinação das sementes da cultivar Cayana nas concentrações de 50 e 100 μM havendo diferenças significativas com o tratamento controle, enquanto nas sementes da cultivar Marandu este parâmetro foi reduzido na concentração de 150 μM , diferindo do tratamento controle, mas não das concentrações de 100 e 200 μM . Para as sementes da cultivar Sabiá, a redução e promoção da germinação das sementes ocorreu nas concentrações de 100 e 150 μM , diferindo entre si (Fig. 1J-L). Para os dados de IVG e T_{50} das sementes da cultivar Marandu houve diferenças significativas com aplicação do PBZ, sendo que a partir da concentração de 50 μM houve redução do IVG, enquanto, a concentração de 100 μM desse inibidor aumentou o T_{50} das sementes dessa cultivar diferindo do tratamento controle (Tab. 1).

Efeitos dos reguladores, inibidores e combinações destes na germinação de sementes de cultivares do gênero *Urochloa* durante o armazenamento em laboratório

Em sementes das cultivares foram observados 7,3, 7,7 e 7,7% de grau inicial de umidade e aumento de aproximadamente 13, 18 e 15% no período de 168 dias de armazenamento para as cultivares Cayana, Sabiá e Marandu, respectivamente (ANEXO B). Em relação a viabilidade inicial das sementes, não houve diferenças significativas ao longo dos períodos de armazenamento (ANEXO B).

As sementes das cultivares híbridas Cayana e Sabiá continuaram sensíveis ao ABA exógeno até o período de 131 dias de armazenamento, ao passo que para as sementes da cultivar Marandu essa sensibilidade foi observada apenas no período 0 de armazenamento, sendo observado redução na porcentagem de germinação final (Fig. 2A-C). Por outro lado, foi observado que os tratamentos não reduziram a viabilidade das sementes remanescentes em nenhuma das cultivares estudadas (ANEXO C-D).

Figura 2 – Germinação final (%) das sementes de cultivares do gênero *Urochloa* submetidas aos diferentes tratamentos durante o armazenamento em laboratório.



As barras são médias \pm erro padrão. * Médias são iguais entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os dados de germinação da cultivar Marandu foram transformados pelo arco-seno raiz da porcentagem
Fonte: Do autor (2023).

Foi verificado que ABA exógeno reduziu o IVG até o período de 131 (Marandu) e 168 (Cayana e Sabiá) dias de armazenamento. Para as sementes da cultivar Cayana, no período de 107 dias de armazenamento, foi verificado que FLU exógeno aumentou o IVG dessas sementes diferindo do controle e ABA, sendo iguais aos demais tratamentos. Em sementes da cultivar Sabiá, submetidas a GA+FLU observou-se aumento no IVG no período de 168 dias de armazenamento, sendo iguais a GA e Pro-Gibb[®], diferindo dos demais tratamentos. Já em sementes da cultivar Marandu, houve aumento do IVG quando foram submetidas ao tratamento com Pro-Gibb[®] antes do armazenamento (tempo 0), diferindo do controle. No período de 168 dias de armazenamento foi verificado que a aplicação de GA aumentou o IVG das sementes, sendo diferente do controle (Tab. 2).

Tabela 2 - Índice de velocidade de germinação (IVG) e o tempo necessário para 50% das sementes germinarem (T_{50}) de cultivares do gênero *Urochloa* submetidas aos diferentes tratamentos durante o armazenamento em laboratório.

Cayana					
Trat.	IVG - Período de Armazenamento - dias				
	0	107	131	168	257
Controle	2,34±0,17Ba	2,73±0,10Ba	2,20±0,30Aa	2,62±0,27ABCa	2,01±0,63Aa
ABA	0,33±0,08Cb	0,86±0,20Cab	0,51±0,14Bb	1,17±0,25Dab	1,68±0,23Aa
GA	2,48±0,29Bb	3,93±0,19Aa	2,28±0,47Ab	2,35±0,15BCb	2,17±0,07Ab
FLU	3,02±0,26ABb	4,28±0,31Aa	2,85±0,31Abc	2,14±0,18Cc	2,25±0,04Abc
PBZ	2,98±0,26ABa	3,58±0,27ABa	2,04±0,12Ab	3,12±0,18ABa	1,55±0,08Ab
GA+FLU	3,76±0,21Aa	3,60±0,28ABa	2,35±0,15Ab	2,53±0,38ABCb	2,05±0,15Ab
Pro-Gibb®	2,72±0,29Babc	3,48±0,36ABa	2,60±0,42Abc	3,37±0,27Aab	2,41±0,10Ac
Trat.	T_{50} (dias) - Período de Armazenamento - dias				
	0	107	131	168	257
Controle	6,30±0,27Ba	5,64±0,33Bab	4,49±0,29Bb	5,62±0,42Bab	4,48±0,26Cb
ABA	8,44±0,16Acd	8,83±0,54Abc	10,59±0,72Aa	10,10±0,53Aab	7,31±0,47Ad
GA	4,98±0,61Ba	4,94±0,24Ba	5,04±0,70Ba	4,23±0,32BCa	5,23±0,20BCa
FLU	5,49±0,15Ba	4,38±0,32Bab	3,94±0,36Bb	4,10±0,25BCab	4,88±0,38Cab
PBZ	5,68±0,06Ba	4,19±0,44Bb	5,00±0,23Bb	3,86±0,35Cb	6,50±0,58ABa
GA+FLU	5,55±0,28Ba	4,66±0,16Bab	3,69±0,12Bab	3,82±0,46Cb	5,00±0,14BCab
Pro-Gibb®	5,59±0,18Ba	5,38±0,11Ba	4,49±0,29Bb	4,29±0,38BCab	5,72±0,41BCa
Sabiá					
Trat.	IVG - Período de Armazenamento - dias				
	0	107	131	168	257
Controle	2,06±0,13Aa	2,1±0,25Aa	1,91±0,26Aa	1,4±0,08Ba	1,7±0,15Aa
ABA	0,31±0,15Bb	0,2±0,08Bb	0,43±0,14Bb	1,2±0,08Ba	1,3±0,20Aa
GA	2,81±0,16Aa	2,4±0,14Aab	1,78±0,20Abc	1,9±0,13ABbc	1,5±0,34Ac
FLU	2,45±0,26Aa	2,2±0,23Aab	1,93±0,26Aab	1,6±0,35Bb	1,5±0,22Ab
PBZ	2,46±0,07Aa	2,1±0,19Aab	1,60±0,18Abc	1,6±0,30Bbc	1,2±0,09Ac
GA+FLU	2,65±0,29Aa	2,7±0,12Aa	1,65±0,29Ab	2,6±0,23Aa	2,0±0,19Aab
Pro-Gibb®	2,59±0,15Aa	2,5±0,24Aa	2,01±0,18Aa	2,0±0,16ABa	2,0±0,09Aa
Trat.	T_{50} (dias) - Período de Armazenamento - dias				
	0	107	131	168	257
Controle	8,10±0,38Ba	7,50±0,20BCa	7,40±0,46Ba	6,94±0,30BCa	7,45±0,48Ca

ABA	12,88±0,69Aa	12,67±0,66Aa	12,00±0,87Aa	9,47±0,27Ab	10,48± 0,19Ab
GA	6,32±0,34Ca	6,87±0,44Ca	7,53±0,39Ba	7,67±0,32Ba	7,60±0,14BCa
FLU	7,53±0,12BCa	6,90±0,33BCa	6,01±0,10Ba	7,30±0,34BCa	7,09±0,29Ca
PBZ	5,96±0,08BCb	8,46±0,69Bab	6,99±0,34Bb	7,36±0,26BCb	9,16±0,24ABa
GA+FLU	6,33±0,18Cab	5,16±0,26Db	6,13±0,35Ba	5,84±0,49Cab	6,16±0,24Cab
Pro-Gibb®	8,10±0,38Ca	5,96±0,22CDa	7,40±0,46Ba	6,46±0,11BCa	7,01±0,15Ca
Marandu					
IVG - Período de Armazenamento - dias					
Trat.	0	107	131	168	257
Controle	5,35±0,34Bb	7,44±0,54Aa	6,71±0,46Aab	5,6±0,26BCab	6,6±0,26ABab
ABA	2,27± 0,37Cc	3,36±0,33Babc	3,31±0,47Bbc	4,7±0,48Cab	5,2±0,62Ba
GA	6,64±0,34ABab	7,78±0,36Aa	5,88±0,57Ab	7,9±0,32Aa	7,2±0,65ABab
FLU	6,59±0,53ABa	7,02±0,55Aa	5,80±0,37Aa	6,3±0,35ABCa	7,2±0,31ABa
PBZ	6,45±0,46ABa	5,98±0,82Aa	5,46±0,39Aa	6,4±0,58ABCa	6,3±0,40ABa
GA+FLU	7,04±0,34ABa	7,49±0,73Aa	7,13±0,54Aa	6,8±0,37ABa	6,8±0,76ABa
Pro-Gibb®	7,92±0,69Aa	7,89±0,46Aa	7,19±0,43Aa	6,8±0,31ABa	8,3±0,42Aa
T₅₀ (dias) - Período de Armazenamento - dias					
Trat.	0	107	131	168	257
Controle	3,67±0,14Ba	2,25±0,17Dc	3,34±0,07BCab	3,46±0,17Bab	3,00±0,11BCb
ABA	7,88±0,07Aa	5,57±0,13Ac	6,27±0,17Ab	4,33±0,17Ad	3,59±0,18Ae
GA	2,75±0,06Ca	2,65±0,02CDab	2,82±0,17Ba	2,57±0,10Cab	2,14±0,17Db
FLU	3,06±0,08Ca	2,77±0,06BCDa	3,00±0,14BCa	3,02±0,17BCa	2,83±0,05BCa
PBZ	3,06±0,18Cab	3,28±0,15Bab	3,51±0,14Ba	2,95±0,11BCb	3,13±0,15ABab
GA+FLU	2,90±0,20Cab	3,08±0,15BCa	2,22±0,09Ec	2,92±0,07BCab	2,52±0,14CDbc
Pro-Gibb®	2,85±0,19Ca	2,48±0,12Da	2,36±0,09DEa	2,62±0,03Ca	2,50±0,06CDa

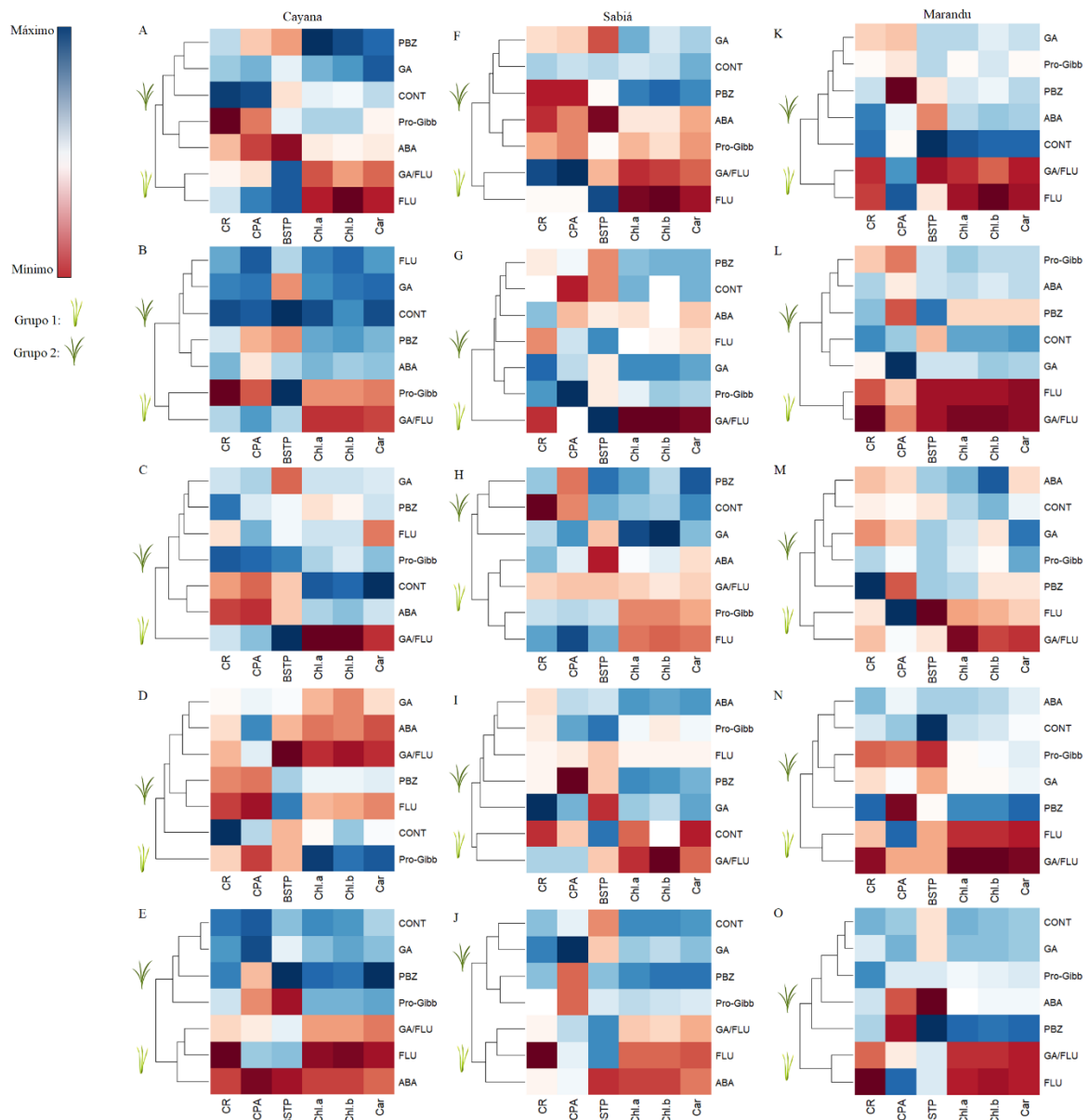
Médias ± erro. Médias seguidas de mesma letra, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, em cada período de armazenamento são iguais entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Fonte: Do autor (2023).

Foi verificado em sementes das cultivares estudadas aumento do T_{50} em todos os períodos avaliados, quando essas foram tratadas com ABA, sendo que aos 257 dias de armazenamento esse tratamento não diferiu estatisticamente do PBZ exógeno (Tab. 2).

Efeitos dos reguladores, inibidores e combinações destes nas plântulas de cultivares do gênero *Urochloa* durante o armazenamento em laboratório

Na Figura 3, pode-se observar o agrupamento hierárquico e um mapa de coloração relativos aos tratamentos, em cada período de armazenamento, para cada cultivar. Em todas as cultivares observou-se a formação de dois grupos em todos os períodos de armazenamento e a contribuição de cada variável avaliada para a formação destes. Sendo que, quanto mais azul maior o valor da variável em relação ao tratamento e, quanto mais vermelho menor o valor da variável em relação ao tratamento (Fig. 3A-O).

Figura 3 – Agrupamento hierárquico das plântulas de cultivares do gênero *Urochloa* com mapa de cores detalhando a contribuição de cada variável aos diferentes tratamentos durante o armazenamento em laboratório.



Legenda: A – E: Cayana - 0, 107, 131, 168 e 257 dias de armazenamento; F – J: Sabiá - 0, 107, 131, 168 e 257 dias e k – o: Marandu - 0, 107, 131, 168 e 257 dias de armazenamento; CR – comprimento da raiz; CPA – comprimento da parte aérea; BSTP – biomassa seca total da plântula inteira; Chl.a – clorofila a; Chl.b – clorofila b e Car – carotenoides. Os dados de carotenoides da cultivar Sabiá foram transformados pela raiz quadrada. Fonte: Do autor (2023).

Em plântulas da cultivar Cayana, observou-se que nos períodos de 0 os tratamentos GA+FLU e FLU, no 107 os tratamentos GA+FLU e Pro-Gibb®, no 131 os tratamentos GA+FLU, no 168 o tratamento Pro-Gibb® e, nos 257 dias de armazenamento os tratamentos GA+FLU, FLU e ABA diferiram dos demais tratamentos pois foi verificado menores valores de pigmentos (Chl.a, Chl.b e carotenoides) (Fig. 3A-C e E). Enquanto, que no período de 168

dias de armazenamento, pôde-se verificar que Pro-Gibb[®] diferiu dos demais tratamentos pois foi observado maiores valores dos pigmentos fotossintéticos (Fig. 3D).

Em plântulas da cultivar Sabiá, observou-se que nos períodos de 0 os tratamentos GA+FLU e FLU, no 107 o tratamento GA+FLU, no 131 os tratamentos FLU e Pro-Gibb[®], no 168 os tratamentos Controle e GA+FLU e nos 257 dias de armazenamento os tratamentos GA+FLU, FLU e ABA diferiram dos demais tratamentos por apresentarem os menores valores dos pigmentos (Fig. 3F- J). Para as plântulas da cultivar Marandu, foi observado que em todos os períodos avaliados os tratamentos GA+FLU e FLU diferiram dos demais tratamentos por apresentar os menores valores dos pigmentos (Fig. 3K-O).

Efeito do armazenamento das sementes de cultivares do gênero *Urochloa* no solo

A precipitação total no período do experimento foi de 209,1 mm e a temperatura média de 22 °C. Após a instalação do experimento, em torno de 15 dias, pode-se verificar a emergência de aproximadamente 90% das plântulas para as cultivares estudadas (Fig. 4).

Figura 4 – Emergência de plântulas de cultivares do gênero *Urochloa* armazenadas no banco de sementes no solo. Cada imagem representa uma repetição de cada cultivar.



Fonte: Do autor (2023).

4. DISCUSSÃO

Neste estudo, em sementes das cultivares avaliados foram observados diferentes níveis de dormência, sendo a cultivar Cayana o com nível maior, seguida pelas cultivares Sabiá e Marandu. Devido a isso, observou-se que a superação da dormência dessas sementes ocorre gradualmente, pois a aplicação de GA e FLU promoveu menos de 60% da germinação das sementes das cultivares híbridas Cayana e Sabiá. Sabe-se que a principal função fisiológica do ABA em sementes é manter a dormência, garantindo que as sementes não germinem em condições inadequadas para sobrevivência da planta (SHU et al., 2016). Embora os efeitos

inibitórios do ABA na germinação das sementes e/ou na manutenção da dormência tenham sido largamente estudados, seus efeitos na sensibilidade de sementes de cultivares do gênero *Urochloa* ainda não foram totalmente explicados. Na presente pesquisa foi observado, que as cultivares estudadas foram sensíveis ao ABA exógeno nas maiores concentrações (100 - 200 μM) para as cultivares Cayana e Marandu e a partir da menor concentração (25 μM) para a cultivar Sabiá. Assim, Sabiá foi a cultivar mais sensível ao ABA seguida de Cayana e Marandu.

Nas sementes secas, a dormência geralmente não é mantida devido aos altos níveis residuais de ABA sintetizado durante o processo de maturação, mas sim pela síntese *de novo* desse fitormônio ou devido à sensibilidade das sementes (AWAN et al., 2017; FINCH-SAVAGE; FOOTITT, 2017). Nesse sentido, os resultados do presente trabalho apontam que a manutenção da dormência nas sementes recém-colhidas de todas as cultivares ocorreu em razão da sensibilidade dessas sementes ao ABA, uma vez que apresentaram pequena variação da germinação com as concentrações testadas de FLU, da mesma forma como foi observado para *Lolium rigidum* Gaud. (GOGGIN et al., 2009).

Em sementes da cultivar Cayana foi observado baixa sensibilidade à aplicação exógena de GA do que nas demais cultivares. Esse regulador promoveu parcialmente a germinação das sementes dessa cultivar somente na maior concentração (200 μM) testada. Além disso, essa cultivar foi insensível ao PBZ, o que sugere que suas sementes independem da síntese *de novo* de GA para ocorrer a germinação. Por outro lado, as sementes das cultivares Sabiá e Marandu, nas concentrações avaliadas, dependem da síntese *de novo* de GA para germinarem. Isso se assemelha aos resultados encontrados para *Urochloa humidicola* cv. Llanero, que possuía nível de dormência similar às sementes da cultivar Cayana neste estudo (SORIGOTTI et al., 2016). Isto sugere que sementes de *Urochloa* com nível alto de dormência são sensíveis à aplicação exógena de GA, porém requerem concentrações elevadas desse regulador para germinarem. Enquanto sementes com menores níveis de dormência, como as cultivares Sabiá e Marandu, são insensíveis a GA exógena, e por isso dependem da síntese *de novo* de GA no embrião para aumentarem a porcentagem de germinação de suas sementes.

Assim, a dormência das sementes das cultivares do gênero *Urochloa* com nível maior de dormência, será superada com a redução de sua sensibilidade ao ABA, que ocorre durante o pós-amadurecimento. Pôde-se observar que a dormência das sementes das cultivares Sabiá e Marandu no período 0 de armazenamento foi superada. Essas apresentaram 62 e 80% de porcentagem de germinação final, respectivamente, podendo ser comercializadas por estarem

acima dos limites estabelecidos pelas Normas oficiais para comercialização de sementes de *Urochloa* que é de 60% (BRASIL, 2008). Porém, a dormência das sementes da cultivar Cayana somente superada aos 107 dias de armazenamento. Estes resultados confirmam que as sementes das cultivares investigadas, necessitam do armazenamento para superar sua dormência, por meio da redução da sensibilidade de suas sementes ao ABA. O armazenamento também foi indicado por Ajala-Luccas et al. (2018) para sementes recém-colhidas de *Urochloa humidicola* (Rendle) Morrone & Zuloaga a fim de reduzir a dormência.

Além disso, até 131 dias de armazenamento as sementes das cultivares híbridas continuaram sensíveis ao ABA exógeno e não houve incremento na porcentagem de germinação de suas sementes com a aplicação de GA e Pro-Gibb[®]. Com isso, acredita-se que as GAs endógenas são suficientes para promover a germinação dessas sementes, dependendo apenas da redução da sensibilidade ao ABA promovido pelo armazenamento. Para a cultivar Marandu a sensibilidade das sementes foi observada apenas no período inicial de armazenamento, porém a velocidade e o tempo de germinação foram afetados negativamente pelo ABA exógeno durante todo os períodos avaliados.

Diante dos resultados, sugere-se que a aplicação de reguladores, nas concentrações testadas, em sementes recém-colhidas das cultivares Cayana e Sabiá que possuem nível maior de dormência são insuficientes para superar a dormência. Porém o armazenamento é indispensável para redução da sensibilidade das sementes ao ABA. Além disso, a aplicação de GA e de Pro-Gibb[®] não aumentam a germinação das sementes após o armazenamento, nas concentrações utilizadas. Esses resultados divergiram dos encontrados para sementes armazenadas de *Brachiaria humidicola* cv BRS Tupi tratadas com GA (LIBÓRIO et al., 2018).

De maneira geral, independente dos períodos de armazenamento os tratamentos GA+FLU e/ou FLU aplicados via semente nas cultivares investigados afetaram negativamente os teores dos pigmentos nas folhas das plântulas. Isso ocorreu devido ao uso do FLU, que inibiu a síntese de carotenoides (JIANG; ASAMI, 2018) e posteriormente, impossibilitou a manutenção do complexo fotossintético, uma vez que a redução resultante dos carotenoides leva à oxidação das clorofilas e, portanto, ao branqueamento nas folhas (AWAN et al., 2017). Em estudo anterior, foi verificado que os níveis de transcrição de genes envolvidos no anabolismo/catabolismo de carotenoides e clorofilas diminuíram com aplicação foliar de FLU em plântulas de arroz (*Oryza sativa* L.) (ZOU et al., 2018). Por meio dos resultados da presente pesquisa, sugere-se que FLU é um tratamento eficaz para promover a germinação das sementes recém-colhidas das cultivares híbridas, com maior nível de

dormência, porém seus efeitos nas plântulas ocasionam danos em perdas de funções vitais no crescimento e desenvolvimento. Assim, estudos futuros devem investigar se esse efeito pode ser revertido, para que o uso desse inibidor possa substituir o armazenamento dessas sementes.

Outro aspecto importante observado foi que as sementes das cultivares de *Urochloa* não formam banco de sementes persistentes no solo. Assim, logo após serem dispersas as sementes das cultivares não realizam ciclos de dormência no solo, ou seja, não adquirem dormência secundária quando são enterradas ou expostas a condições ambientais. Em sementes de *Brachiaria humidicola* cv BRS Tupi, sementes com nível alto de dormência, a permanência dessas sementes no banco de sementes no solo por 108 dias, não proporcionou aumento considerável da germinação (VERZIGNASSI et al., 2013). Esses resultados colocam em discussão a necessidade, e papel, da luz para germinação dessas espécies, uma vez que enterradas, as sementes possuíam alta emergência de plântulas.

5. CONCLUSÕES

A dormência fisiológica das sementes nas cultivares do gênero *Urochloa* testadas é mantida pela sensibilidade das sementes ao ABA, logo essa sensibilidade é o principal impedimento à germinação;

Tratamentos com GA, FLU e Pro-Gibb® não promovem a germinação das sementes armazenadas em ambiente de laboratório, sendo que este tipo de armazenamento reduz a sensibilidade das sementes ao ABA, o que, assim, promove a germinação;

O uso de FLU influencia negativamente o conteúdo de pigmentos fotossintéticos nas plântulas de cultivares do gênero *Urochloa* e

A dormência das sementes nas cultivares estudadas é primária, inata e não há indícios de formação de bancos de sementes persistentes ou ciclos de dormência no solo.

REFERÊNCIAS

- ABRANTES, F. L.; MACHADO-NETO, N. B.; CUSTÓDIO, C. C. Seed moisture content can be used to accelerate dormancy release during after-ripening of *Urochloa humidicola* cv. Llanero spikelets. **Ciência Rural**, v. 51, 2020.
- AHMAD, M. S.; MEHMOOD, M. A.; AL AYED, O. S.; YE, G.; LUO, H.; IBRAHIM, M.; QADIR, G. Kinetic analyses and pyrolytic behavior of Para grass (*Urochloa mutica*) for its bioenergy potential. **Bioresource technology**, v. 224, p.708-713, 2017.
- AJALA-LUCCAS, D.; RIBEIRO-OLIVEIRA, J. P.; DUARTE SILVEIRA, L. E.; DA SILVA, E. A. A. An integrative insight on dormancy alleviation in diaspores of *Urochloa humidicola* (Rendle) Morrone & Zuloaga, a tropical grass with great economic and ecological impact. **Plant Biology**, v. 20, n. 2, p. 252-262, 2018.
- AWAN, S. Z., CHANDLER, J. O., HARRISON, P. J., SERGEANT, M. J., BUGG, T. D., & THOMPSON, A. J. Promotion of germination using hydroxamic acid inhibitors of 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 357, 2017.
- AZEVEDO, A (2021). *_MultivariateAnalysis: Pacote Para Analise Multivariada_*. R package version 0.4.4, <<https://CRAN.R-project.org/package=MultivariateAnalysis>>.
- BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. Breaking seed dormancy during dry storage: a useful tool or major problem for successful restoration via direct seeding?. **Plants**, v. 9, n. 5, p. 636, 2020.
- 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.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. 2009. Disponível em: chrome-extension://efaidnbmnnnibpajpcglclefindmkaj/viewer.html?pdfurl=https%3A%2F%2Fwww.gov.br%2Fagricultura%2Fpt-br%2Fassuntos%2Finsumos-agropecuarios%2Farquivos-publicacoes-insumos%2F2946_regras_analise__sementes.pdf&clen=6500496&chunk=true. Acesso em: 20 abr. 2022.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa nº 30, de 21 de maio de 2008. **Diário Oficial [da] União**, 23 maio 2008, Seção 1, p. 45.
- CHEN, Q. L.; GUO, Y.; JIANG, Y.; TU, P. Mechanism of fluridone-induced seed germination of *Cistanche tubulosa*. **Pakistan journal of Botany**, v. 48, n. 3, p. 971-976, 2016.
- FAROOQ, M.; BASRA, S. M. A.; AHMAD, N.; HAFEEZ, K. Thermal hardening: a new seed vigor enhancement tool in rice. **Journal of Integrative Plant Biology**, v.47, n.2, p.187-193, 2005.
- FAVILLA, H. S; TORMENA, C. A.; CHERUBIN, M. R. Detecting near-surface *Urochloa ruziziensis* (Braquiaria grass) effects on soil physical quality through capacity and intensity indicators. **Soil Research**, v. 59, n. 2, p. 214-224, 2020.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. 2021. ExpDes.pt: Pacote Experimental Designs (Portugues)_ R package version 1.2.2, <<https://CRAN.R-project.org/package=ExpDes.pt>>.

FINCH-SAVAGE, W. E.; FOOTITT, S. Seed dormancy cycling and the regulation of dormancy mechanisms to time germination in variable field environments. **Journal of experimental botany**, v. 68, n. 4, p. 843-856, 2017.

GOGGIN, D. E.; STEADMAN, K. J.; EMERY, R. N.; FARROW, S. C.; BENECH-ARNOLD, R. L.; POWLES, S. B. ABA inhibits germination but not dormancy release in mature imbibed seeds of *Lolium rigidum* Gaud. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 12, p. 3387-3396, 2009.

HUARTE, H. R.; BENECH-ARNOLD, R. L. Hormonal nature of seed responses to fluctuating temperatures in *Cynara cardunculus* (L.). **Seed Science Research**, v. 20, n. 1, p. 39-45, 2010.

JIANG, K.; ASAMI, T. Chemical regulators of plant hormones and their applications in basic research and agriculture. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 82, n. 8, p. 1265-1300, 2018.

LANDO, A. P.; VIANA, W. G.; DA SILVA, R. A.; COSTA, C. D. D.; FRAGA, H. P.; SANTOS, M.; STEINER, N. The physiological relationship between abscisic acid and gibberellin during seed germination of *Trichoclina catharinensis* (Asteraceae) is associated with polyamine and antioxidant enzymes. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 39, n. 1, p. 395-410, 2020.

LECK, M. Ecology of soil seed banks. Elsevier, San Diego, California, 2012.

LIBÓRIO, C. B. DE; VERZIGNASSI, J. R.; FERNANDES, C. D.; LIMA, N. D. Superação da dormência em sementes de *Brachiaria humidicola* cv. BRS Tupi pelo uso de ácido giberélico. **Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 61, n.1, p.1-9, 2018.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. **Current protocols in food analytical chemistry**, v. 1, n. 1, p. F4. 3.1-F4. 3.8, 2001.

LONG, R. L.; MARTA, J. G.; MICHAEL, R.; JOHN, K.; SCOTT, L. C.; DANICA, E. G.; LUCY, E.; COMMANDER, D. A.; WESTCOTT, H. C.; WILLIAM, E. FINCH-SAVAGE. The ecophysiology of seed persistence: a mechanistic view of the journey to germination or demise. **Biological Reviews** 90, no. 1, p. 31-59, 2015.

LV, Y. Y., HE, X. Q., HU, X. W., & WANG, Y. R. The seed semipermeable layer and its relation to seed quality assessment in four grass species. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. 1175, 2017.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid selection and evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

R CORE TEAM (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

RIBEIRO, S. DE O.; AMARAL, M. C. A.; BARROS, W. T.; DA SILVA BANDEIRA, A.; CARDOSO, A. D; DE VASCONCELOS, R. C. Quality of Top, Middle and Bottom Buffelgrass Seeds from Different Collecting Sites. **Journal of Agricultural Science**, v. 11, n. 9, 2019.

SANTIAGO-HERNÁNDEZ, F.; LÓPEZ-ORTIZ, S.; ÁVILA-RESÉNDIZ, C.; JARILLO-RODRÍGUEZ, J.; PÉREZ-HERNÁNDEZ, P.; DE DIOS GUERRERO-RODRÍGUEZ, J. Physiological and production responses of four grasses from the genera *Urochloa* and *Megathyrsus* to shade from *Melia azedarach* L. **Agroforestry systems**, v.90, n.2, p.339-349, 2017.

SHU, K.; LIU, X. D.; XIE, Q.; HE, Z. H. Two faces of one seed: hormonal regulation of dormancy and germination. **Molecular plant**, v. 9, n. 1, p. 34-45, 2016.

SILVA, J. F. D.; GONTIJO NETO, M. M.; SILVA, G. F. D.; BORGHI, E.; CALONEGO, J. C. Soil Organic Matter and Aggregate Stability in Soybean, Maize and *Urochloa* Production Systems in a Very Clayey Soil of the Brazilian Savanna. **Agronomy**, v. 12, n. 7, p. 1652, 2022.

SORIGOTTI, L. C. B.; GARCIA, D. M. M.; CUSTÓDIO, C. C.; ABRANTES, F. L. Avaliação da dormência de *Urochloa humidicola* CV. Llanero sob diferentes doses de ácido giberélico e paclobutrazol. In: **Colloquium Agrariae**, 2016. p. 15-22.

TUAN, P. A.; KUMAR, R.; REHAL, P. K.; TOORA, P. K.; AYELE, B. T. Molecular mechanisms underlying abscisic acid/gibberellin balance in the control of seed dormancy and germination in cereals. **Frontiers in Plant Science**, v.9, 668, 2018.

VERZIGNASSI, J.R.; SILVA, J.I.; FERNANDES, C.D.; JESUS, L.; CORADO, H.S.; LIBÓRIO, C.B.; SILVA, M.R.; MONTEIRO, L. C.; BENTEIO, G.L.; PUTRICK, T.C. In: XVIII Congresso Brasileiro de Sementes, 18., 2013, Florianópolis. **Informativo ABRATES**, v. 23, n. 2, 2013.

VIEIRA, B. C.; BICALHO, E. M.; MUNNÉ-BOSCH, S.; GARCIA, Q. S. Abscisic acid regulates seed germination of *Vellozia* species in response to temperature. **Plant Biology**, v. 19, n. 2, p. 211-216, 2017.

ZOU, Z.; ZOU, X.; ZHAO, S.; XIA, C.; QIAN, K.; WANG, P.; YIN, C. Fluridone induces leaf bleaching by inhibiting pigment biosynthesis via downregulated transcription levels of pigment biosynthetic genes in rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 37, n. 4, p. 1385-1395, 2018.

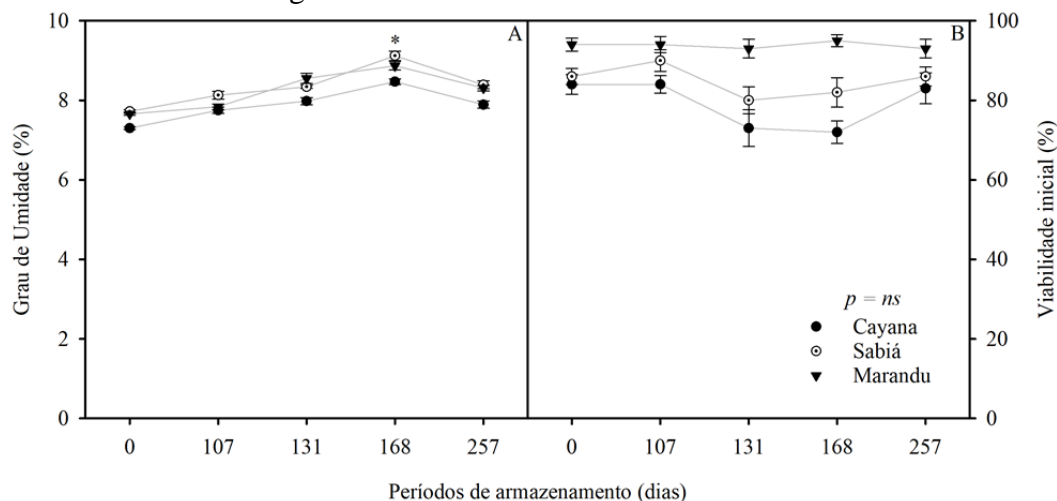
ANEXOS

ANEXO A - Viabilidade das sementes remanescentes de cultivares do gênero *Urochloa* submetidas a diferentes concentrações de ABA, GA, FLU e PBZ.

Cayana								
Viabilidade das sementes remanescentes (%)								
[μ M]	ABA	Erro	GA	Erro	FLU	Erro	PBZ	Erro
0	31 a	$\pm 2,83$	32 a	$\pm 2,83$	16 a	$\pm 4,76$	16 a	$\pm 4,76$
25	47 a	$\pm 5,97$	21 a	$\pm 3,42$	19 a	$\pm 5,81$	46 a	$\pm 4,84$
50	48 a	$\pm 6,27$	20 a	$\pm 1,15$	24 a	$\pm 3,45$	41 a	$\pm 5,26$
100	53 a	$\pm 2,52$	14 a	$\pm 1,91$	28 a	$\pm 5,35$	37 a	$\pm 8,85$
150	62 a	$\pm 5,00$	22 a	$\pm 2,31$	21 a	$\pm 5,23$	39 a	$\pm 8,60$
200	62 a	$\pm 7,19$	23 a	$\pm 1,74$	26 a	$\pm 6,87$	36 a	$\pm 10,11$
Sabiá								
Viabilidade das sementes remanescentes (%)								
[μ M]	ABA	Erro	GA	Erro	FLU	Erro	PBZ	Erro
0	40 b	$\pm 5,00$	40 a	$\pm 5,00$	32 a	$\pm 5,72$	33 a	$\pm 5,72$
25	65 ab	$\pm 8,31$	38 a	$\pm 3,52$	24 a	$\pm 4,23$	50 a	$\pm 10,57$
50	68 a	$\pm 7,09$	22 a	$\pm 8,36$	41 a	$\pm 6,41$	51 a	$\pm 5,23$
100	64 ab	$\pm 2,55$	26 a	$\pm 4,29$	35 a	$\pm 5,12$	40 a	$\pm 5,62$
150	70 a	$\pm 6,53$	18 a	$\pm 3,76$	33 a	$\pm 2,93$	40 a	$\pm 5,35$
200	50 ab	$\pm 4,91$	34 a	$\pm 5,47$	24 a	$\pm 5,31$	35 a	$\pm 9,76$
Marandú								
Viabilidade das sementes remanescentes (%)								
[μ M]	ABA	Erro	GA	Erro	FLU	Erro	PBZ	Erro
0	37 a	$\pm 15,37$	37 a	$\pm 15,37$	46 a	$\pm 15,77$	46 a	$\pm 15,77$
25	60 a	$\pm 13,54$	41 a	$\pm 9,32$	14 a	$\pm 9,46$	46 a	$\pm 20,83$
50	66 a	$\pm 7,55$	25 a	$\pm 8,56$	38 a	$\pm 14,24$	31 a	$\pm 10,83$
100	81 a	$\pm 2,88$	27 a	$\pm 16,33$	34 a	$\pm 14,93$	58 a	$\pm 14,36$
150	64 a	$\pm 10,83$	70 a	$\pm 14,01$	46 a	$\pm 12,03$	45 a	$\pm 5,55$
200	84 a	$\pm 4,58$	27 a	$\pm 10,42$	28 a	$\pm 14,57$	59 a	$\pm 8,83$

Médias seguidas de mesma letra são iguais entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$ %). Fonte: Do autor (2023).

ANEXO B - Grau de umidade (% - A) e viabilidade inicial (% - B) das sementes das cultivares do gênero *Urochloa* durante o armazenamento em laboratório.



As barras são médias \pm erro padrão. Fonte: Do autor (2023).

ANEXO C - Viabilidade das sementes remanescentes do teste de germinação da cultivar híbrida Cayana submetidas a diferentes tratamentos durante o armazenamento em laboratório.

Tratamentos	Período de Armazenamento - dias				
	0	107	131	168	257
Controle	25 \pm 2,91Ba	30 \pm 7,94BCa	24 \pm 6,62ABa	16 \pm 6,69Aa	22 \pm 12,74Aa
ABA	68 \pm 3,34Aa	71 \pm 7,31Aa	52 \pm 6,58Aab	34 \pm 5,87Ab	28 \pm 5,32Ab
GA	14 \pm 5,84Ba	18 \pm 3,83Ca	18 \pm 5,95ABa	22 \pm 6,57Aa	23 \pm 3,51Aa
FLU	25 \pm 11,90Ba	33 \pm 11,31BCa	23 \pm 5,42Ba	16 \pm 2,91Aa	17 \pm 3,71Aa
PBZ	16 \pm 3,89Ba	17 \pm 6,18 Ca	29 \pm 4,63ABa	28 \pm 10,39Aa	17 \pm 4,22Aa
GA+FLU	13 \pm 7,22 Ba	41 \pm 7,18ABCa	21 \pm 6,66ABa	22 \pm 11,50Aa	30 \pm 8,69Aa
Pro-Gibb	23 \pm 2,86Bb	52 \pm 11,10ABa	24 \pm 6,62Bb	21 \pm 5,50Ab	25 \pm 5,18Aab

Médias \pm erro padrão. Médias seguidas de mesma letra, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, em cada período de armazenamento são iguais entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$ %). Fonte: Do autor (2023).

ANEXO D - Viabilidade das sementes remanescentes (VR%) das cultivares híbrida Sabiá e da *U. brizantha* cv. Marandu submetidas a diferentes tratamentos durante o armazenamento em laboratório.

Sabiá		
Tratamentos	VR%	Erro
Controle	35 b	± 2,12
ABA	62 a	± 2,83
GA	30 b	± 2,65
FLU	32 b	± 2,39
PBZ	33 b	± 2,95
GA+FLU	33 b	± 2,14
Pro-Gibb	30 b	± 2,92
Período de Armazenamento - dias	VR%	Erro
0	36 ab	± 3,94
107	43 a	± 3,18
131	37 ab	± 2,78
168	30 b	± 2,89
257	37 ab	± 2,44
Marandu		
Tratamentos	VR%	Erro
Controle	44 ab	± 4,36
ABA	63 a	± 4,24
GA	40 b	± 5,66
FLU	26 b	± 4,11
PBZ	39 b	± 5,56
GA+FLU	39 b	± 5,40
Pro-Gibb	32 b	± 4,91
Período de Armazenamento - dias	VR%	Erro
0	52 a	± 5,57
107	48 a	± 5,27
131	51 a	± 4,44
168	24 b	± 4,11
257	28 b	± 4,53

Médias seguidas de mesma letra são iguais entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$ %). Fonte: Do autor (2023).

CAPÍTULO II

ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO SINALIZAM PARA A GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE CULTIVARES DO GÊNERO *UROCHLOA*.

Elaborado de acordo com a NBR 6022 (ABNT, 2018)

RESUMO

Durante a germinação das sementes, espécies reativas de oxigênio (EROs) são produzidas por diferentes vias por meio do *burst* oxidativo durante a embebição, gerando sinalização para diversas vias que culminam na finalização do processo germinativo. No entanto, em sementes de cultivares do gênero *Urochloa* ainda não é compreendido como as EROs atuam na sinalização para a germinação e nem se a produção destas pelas NADPH oxidases são importantes neste processo, como tem sido relatado para outras espécies vegetais. Assim, neste trabalho foi testada a eficiência na geração de sinalização de uma das fontes de produção de EROs para a germinação de sementes e, averiguação da capacidade do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em favorecer a germinação das sementes de três cultivares de *Urochloa*. As sementes foram pré-embebidas em água deionizada, H_2O_2 , ácido ascórbico nas concentrações de 0, 70, 200 mM e em cloreto de difenilenoiodônio (DPI) na concentração de 70 μ M. As características avaliadas foram: germinação final, índice de velocidade de germinação, tempo necessário para 50% das sementes germinarem, histolocalização do ânion superóxido O_2^- , níveis de H_2O_2 e atividade das enzimas do sistema antioxidante, os dois últimos foram analisados em sementes secas e embebidas. A aplicação de DPI influenciou negativamente as características germinativas e reduziu o acúmulo de O_2^- nos embriões. Em sementes secas das cultivares houve maiores níveis de H_2O_2 . As enzimas do sistema antioxidante mantiveram as EROs em níveis que possibilitaram a sinalização para a germinação das sementes. Conclui-se que a germinação das sementes de cultivares do gênero *Urochloa* estudadas dependem das EROs para a sinalização da germinação, sendo que as sementes da cultivar Cayana são mais sensíveis à redução dessas espécies e a atividade das NADPH oxidases de membrana são os principais geradores de EROs de sinalização para germinação, sendo o O_2^- a principal EROs envolvida nesse processo.

Palavras-chave: Cayana. Sabiá. Marandu. NADPH oxidase. Ânion superóxido. Dormência fisiológica.

ABSTRACT

During seed germination, reactive oxygen species (ROS) are produced by different pathways through the oxidative burst during imbibition, generating signals for several pathways that culminate in the completion of the germination process. However, in seeds of cultivars of the genus *Urochloa*, it is still not understood how ROS act in signaling for germination, nor if their production by NADPH oxidases are important in this process, as has been reported for other plant species. Thus, in this work, the efficiency in the generation of signaling of one of the sources of production of ROS for the germination of seeds was tested, and, the investigation of the capacity of hydrogen peroxide (H_2O_2) in favoring the germination of the seeds of three cultivars of *Urochloa*. The seeds were pre-soaked in deionized water, H_2O_2 , ascorbic acid at concentrations of 0, 70, 200 mM and in diphenyleneiodonium chloride (DPI) at a concentration of 70 μ M. The evaluated characteristics were: final germination, germination speed index, time required for 50% of the seeds to germinate, histolocalization of the superoxide anion (O_2^-), H_2O_2 levels and activity of the enzymes of the antioxidant system, the last two were analyzed in dry seeds and soaked. The application of DPI negatively influenced the germination characteristics and reduced the accumulation of O_2^- in the embryos. In dry seeds of cultivars there were higher levels of H_2O_2 . The enzymes of the antioxidant system maintained the ROS at levels that enabled the signaling for seed germination. It is concluded that the germination of seeds of cultivars of the genus *Urochloa* studied depend on ROS for germination signaling, and the seeds of the cultivar Cayana are more sensitive to the reduction of these species and the activity of membrane NADPH oxidases are the main generators of Signaling ROS for germination, with O_2^- being the main ROS involved in this process.

Keywords: Cayana. Sabiá. Marandu. NADPH oxidase. Superoxide anion. Physiological dormancy.

1. INTRODUÇÃO

A germinação das sementes é um processo complexo que se inicia com a absorção de água e culmina com o surgimento do eixo embrionário, geralmente a radícula (BEWLEY et al., 2013). A retomada do metabolismo durante a embebição de sementes produz espécies reativas de oxigênio (EROs), como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ânion superóxido (O_2^-) e o radical hidroxila (*OH) (RAJJOU et al., 2012). Isso inclui a geração de EROs via NADPH oxidases, catabolismo lipídico e β -oxidação nos glioxissomos, e respiração mitocondrial (WOJTYLA et al., 2016; ISHIBASHI et al., 2017) como os principais sítios de geração de EROs durante a retomada do metabolismo em sementes ortodoxas. Dessa forma, os níveis de EROs aumentam controladamente em sementes embebidas. Na biologia de sementes, as EROs têm sido sugeridas como moléculas sinalizadoras para a germinação de várias espécies de plantas (EL MAAROUF-BOUATEAU et al., 2015; MA et al., 2016; LI et al., 2017). Apesar de inúmeros estudos sobre esse tema, o papel das EROs na sinalização para a germinação de sementes de gramíneas tropicais, principalmente de forrageiras como as do gênero *Urochloa*, ainda são insipientes nas pesquisas, o que dificulta a compreensão e o manejo dos plantios.

As NADPH oxidases, também são conhecidas como homólogos de oxidase da explosão respiratória, são enzimas transmembranares que transportam elétrons por meio da membrana plasmática para reduzir o oxigênio ao O_2^- , que logo é dismutado em H_2O_2 e O_2 (HU et al., 2020). Essas proteínas têm sido consideradas peças importantes na geração de EROs durante a germinação de sementes (SARATH et al., 2007; KAI et al., 2016; ISHIBASHI et al., 2017). Os níveis de EROs podem ser alterados com aplicação de cloreto de difenileniodônio (DPI), bloqueador da atividade de NADPH oxidase de membrana (HU et al., 2020) ou ácido ascórbico (ASA), antioxidante de amplo espectro e utilização em células vegetais, capaz de promover limpeza de EROs (BILSKA et al., 2019).

A geração controlada de EROs para a sinalização da germinação necessita da atuação de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos como as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), glutatona redutase (GR) e componentes não enzimáticos como o ácido ascórbico (ASA), glutatona (GRH) e fenóis, que são primordiais para alcançar o equilíbrio entre a sinalização oxidativa e o dano oxidativo (WOJTYLA et al., 2016; BAILLY, 2019; KUMAR et al., 2021). Conforme discutido por Bailly et al. (2008), os níveis de EROs devem estar dentro da “janela oxidativa” para garantir a sinalização eficiente da germinação.

A maioria das espécies de gramíneas forrageiras produz sementes com dormência (RIBEIRO et al., 2019), como é o caso de *U. brizantha* cv. Marandu e das cultivares híbridas

Cayana e Sabiá, lançadas no ano de 2020 no mercado brasileiro de forrageiras. A presença da dormência fisiológica, além da física (FERREIRA, cap. 1), é um dos principais impedimentos para a germinação dessas sementes, além de dificultar sua comercialização. Em diferentes espécies de Poaceae a dormência fisiológica tem sido relacionada à impermeabilidade das estruturas das sementes ao oxigênio (ABRANTES; MACHADO-NETO; CUSTÓDIO, 2020; LV et al., 2017). Em estudos anteriores (FERREIRA, cap. 1) foi verificado que sementes recém-colhidas de cultivares do gênero *Urochloa* exibem dormência fisiológica em diferentes níveis e que para superá-la é necessária redução da sensibilidade das sementes ao ABA, que é proporcionado pelo armazenamento para as cultivares Cayana e Sabiá. Por outro lado, a germinação das sementes armazenadas não aumentou com a aplicação exógena de giberelina ou inibidor de biossíntese de ácido abscísico. Todavia, não foi possível investigar que fator impulsiona a sinalização para a germinação dessas sementes.

Assim, neste trabalho foi avaliado o envolvimento das NADPH oxidases de membrana, uma das fontes de produção de EROs, na sinalização para a germinação de sementes e averiguação da capacidade do H₂O₂ em favorecer a germinação das sementes de três cultivares de *Urochloa*. Portanto, a hipótese é que: (i) ASA e/ou DPI podem inibir a germinação e H₂O₂ pode promovê-la ou aumentá-la; (ii) as enzimas do sistema antioxidante mantêm o equilíbrio das EROs o que possibilita a sinalização para a germinação pelos níveis de H₂O₂ endógenos e (III) as NADPH oxidases alimentam a geração de EROs para sinalização da germinação das sementes de cultivares do gênero *Urochloa*. Essas informações irão promover melhor entendimento sobre a sinalização da germinação das cultivares do gênero *Urochloa* e contribuir para geração de tecnologias de melhorias no setor dessas sementes.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal e caracterização inicial das sementes

Foram utilizadas sementes puras e recém-colhidas, com escarificação manual (removidas a pálea, lema, gluma e tegumentos) de três cultivares do gênero *Urochloa*, as cultivares híbridas Cayana e Sabiá [*Urochloa brizantha* (Hochst ex A. Rich) Staf x *U. ruziziensis* R. Germ. & C. M. Evrard] e a *U. brizantha* cv. Marandu, produzidas no município de Tesouro, Mato Grosso, Brasil em 2022/2023 e fornecidas pela empresa Barenbrug do Brasil.

Inicialmente, foi realizada a caracterização da qualidade inicial das sementes, sem escarificação manual. Nestas foram observados o grau de umidade inicial de 9,5, 9,7 e 10,1%

pelo método de estufa (BRASIL, 2009), 70, 86 e 94 % de viabilidade pelo teste de tetrazólio (BRASIL, 2009), 57, 48 e 61% de germinação final para as cultivares Cayana, Sabiá e Marandu, respectivamente. Antes dos testes germinativos e da curva de embebição, as sementes foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio 2,5% e detergente, por dez minutos, e em seguida lavadas três vezes em água deionizada. As sementes foram utilizadas no experimento subsequente durante os meses de setembro – outubro/2022.

Curva de embebição e determinação do tempo para aplicação dos tratamentos

Foram utilizadas quatro repetições com 25 sementes para cada cultivar. Inicialmente, as sementes foram pesadas em balança analítica de precisão, acondicionadas em placas de Petri, contendo duas folhas de papel de germinação esterilizados em estufa a 105 °C por 2 h e umedecidos com solução aquosa de nistatina (0,5%) equivalente a 2,5 vezes a massa seca dos papéis (VIEIRA et al., 2017). As placas foram mantidas em temperatura ambiente e as pesagens foram realizadas após 1, 2, 3, 6, 9, 12, 16, 20, 24, 36, 48 h do início da embebição. A curva resultante foi utilizada como parâmetro para a identificação da fase II. Pela caracterização da curva de embebição das sementes foi selecionado o tempo de 12 h para a aplicação dos tratamentos (ANEXO A).

Aplicação de exógena de H₂O₂, Ácido ascórbico (ASA) e Cloreto de difenilenoiodônio (DPI)

A solução de DPI foi preparada de acordo com Müller et al (2009), sendo o reagente dissolvido em dimetilsulfóxido (10 mM), previamente diluído em água deionizada. Este solvente não influenciou negativamente a germinação, de acordo com pré-testes realizados. Um experimento foi instalado para cada cultivar e os tratamentos foram: água deionizada (Controle), H₂O₂ (70 mM), ASA (200 mM) e DPI (70 µM). Essas concentrações foram previamente testadas e as mais eficientes na promoção ou inibição da germinação das sementes estudadas foram utilizadas. As sementes foram colocadas em placas de Petri contendo uma camada de papel de germinação, umedecidas em 5 mL dos tratamentos e mantidas no escuro à temperatura de 25 °C durante 12 h. Após a aplicação dos tratamentos as sementes foram transferidas para placas de Petri contendo dupla camada de papel de germinação e submetidas ao teste de germinação.

Teste de germinação

As placas foram mantidas em câmara de germinação com temperatura alternada de 35-20 °C luz/escuro (BRASIL, 2009), sob fotoperíodo de 8 h de luz e 40 μM fótons $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A germinação foi avaliada diariamente até não ser observada protrusão da radícula ($> 2 \text{ mm}$) por três dias consecutivos (10 dias). A partir dos dados de germinação, pôde-se determinar a germinação acumulada, porcentagem de germinação final - %GF, índice de velocidade de germinação - IVG (MAGUIRE, 1962), tempo necessário para 50% das sementes germinarem - T_{50} (FAROOQ et al., 2005). A viabilidade das sementes remanescentes foi avaliada por meio do teste de tetrazólio (BRASIL, 2009).

Análises bioquímicas das sementes secas e embebidas

Sementes secas (antes da aplicação dos tratamentos) e embebidas (após aplicação dos tratamentos) foram acondicionadas em microtubos, congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ até a realização das análises.

A extração das enzimas do sistema antioxidante foi realizada utilizando 0,1g de material fresco congelado de acordo com Biemelt; Keetman; Albrecht (1998), com modificações, em que o macerado foi homogeneizado com 1,5 mL de tampão de extração (pH 7,8) contendo 100 mM de fosfato de potássio, 0,1 mM de ácido etilenodiaminatetracético (EDTA), 10 mM de ácido ascórbico e 5% de polivinil pirrolidona (m/v), centrifugado duas vezes a 13000 g por 10 min à $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e o sobrenadante coletado foi utilizado nas análises enzimáticas de superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e de glutathione redutase (GR). Os teores de proteínas de cada amostra foram determinados pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976).

A atividade da SOD foi determinada pela quantidade de enzima capaz de inibir a fotorredução do azul de nitrotetrazólio (NBT) em 50%. O meio reacional continha fosfato de potássio (50 mM; pH 7,8), L-metionina (14 mM), EDTA (0,1 μM), riboflavina (2 μM) e NBT (75 μM), conforme descrito por Giannopolitis e Ries (1977). A reação foi conduzida em luz fluorescente (15 W) por sete minutos. O meio de reação sem amostras também foi submetido à iluminação. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 560 nm.

A atividade de APX foi medida em meio composto de fosfato de potássio (100 mM; pH 7,0), ácido ascórbico (0,5 mM), H_2O_2 (0,2 mM) e o extrato enzimático. A oxidação do ascorbato foi realizada na leitura de 290 nm, seguindo o método de Nakano e Asada (1981). O coeficiente de extinção molar foi de $2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

A atividade da GR foi determinada em meio contendo fosfato de potássio (50 mM; pH 7,8), glutathione oxidada (1 mM), NADPH (0,075 mM) e o extrato enzimático, com a oxidação

do NADPH sendo monitorada a 340 nm. O coeficiente de extinção molar foi de $6,22 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (CAKMAK, STRBAC, MARSCHNER, 1993).

Os níveis de H_2O_2 foram determinados conforme Velikova, Yordanov e Edreva (2000), com modificações, em que 0,1 g de sementes secas e embebidas foram homogeneizadas com 1,5 mL de Ácido tricloroacético (0,1%). O extrato foi centrifugado a 12.000 g por 15 min a 4 °C e o sobrenadante foi utilizado para a reação com tampão fosfato de potássio (2,5 mM; pH 7,0) e iodeto de potássio (0,5 M). As amostras foram analisadas em espectrofotômetro com leitura de absorbância em 390 nm e os níveis de H_2O_2 foram quantificados por meio de uma curva padrão.

Histolocalização do ânion superóxido (O_2^-)

A histolocalização do ânion superóxido foi realizada ao final da embebição das sementes nos tratamentos metodologia descrita por Oracz et al (2012), com modificações. Dez sementes por cultivar foram cortadas longitudinalmente com auxílio de pinça e bisturi e imersas em tampão TRIS-NaOH (10 mM; pH 7,0) com solução de azul de nitrotetrazólio (1 mM) por 30 minutos no escuro. As sementes foram então lavadas na solução tampão TRIS-NaOH e o ânion superóxido foi visualizado como depósitos de coloração azul escuro, em seguida fotografadas.

Análise estatística

Foram realizados experimentos independentes para cada cultivar. A normalidade dos dados foi verificada por meio do teste Shapiro-Wilk e quando necessário os dados foram transformados. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey, considerando $p < 0.05$. A análise dos dados foi realizada com auxílio do pacote ExpDes.pt (FERREIRA *et al.* 2021) do software estatístico R, versão 4.2.2 (R CORE TEAM, 2021).

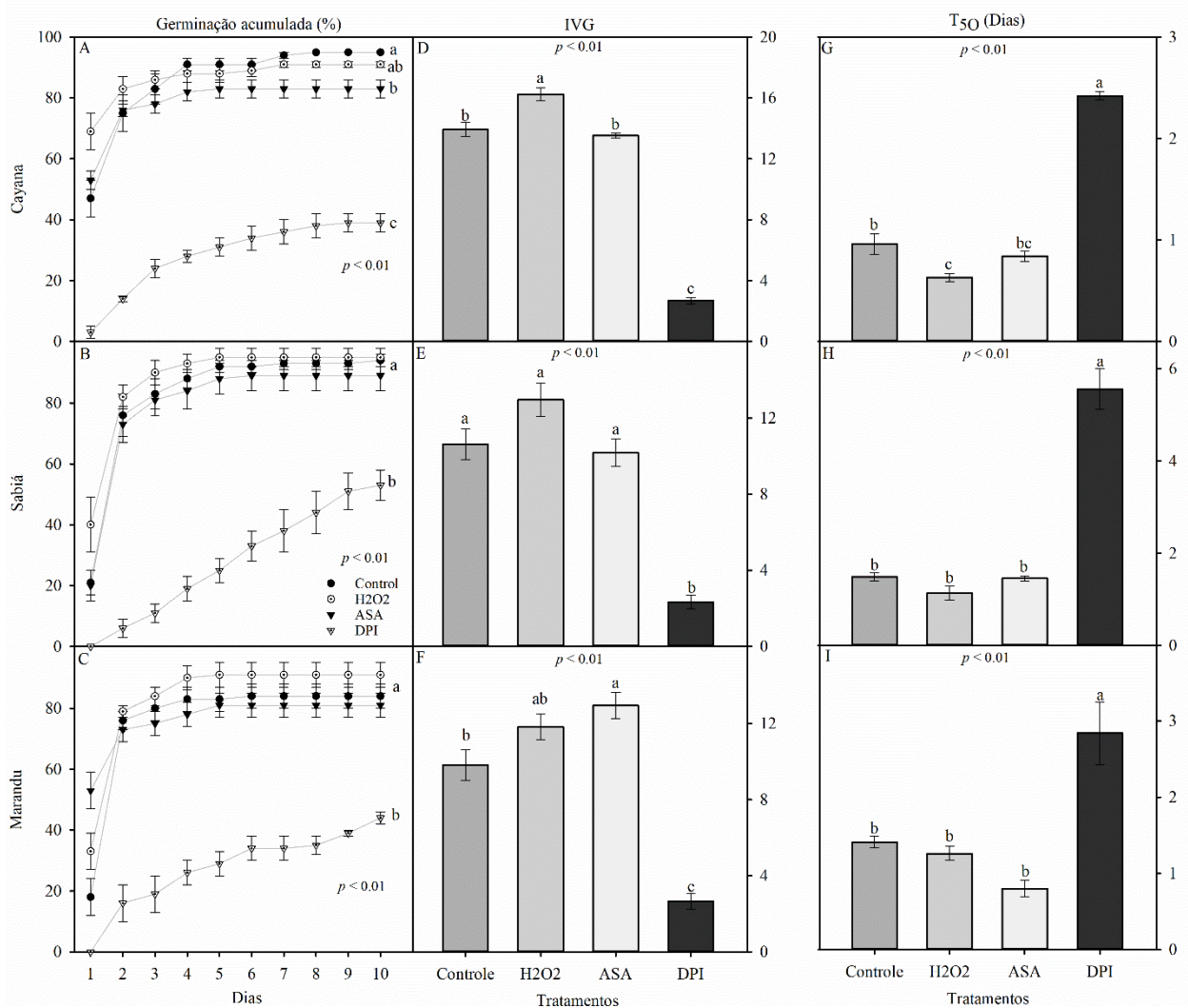
3. RESULTADOS

Efeitos dos tratamentos nas características germinativas

O percentual de germinação das sementes de *Urochloa* foi reduzido em 59, 44 e 48 % para as cultivares Cayana, Sabiá e Marandu quando tratadas com DPI (Fig. 2A-C). O tratamento com ASA reduziu em 13% a germinação final das sementes da cultivar Cayana, em relação ao controle (Fig. 2A). Quanto à viabilidade das sementes remanescentes, foi

observado que os tratamentos avaliados não influenciaram a morte das mesmas, para todas as cultivares avaliadas (ANEXO B).

Figura 2 - Porcentagem de germinação acumulada (A-C), índice de velocidade de germinação (IVG: D-F) e tempo necessário para 50% das sementes germinarem (T_{50} : G-I) das sementes de três cultivares do gênero *Urochloa* embebidas em água deionizada (Controle), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), cloreto de difenilenoiodônio (DPI) e Ácido ascórbico (ASA).



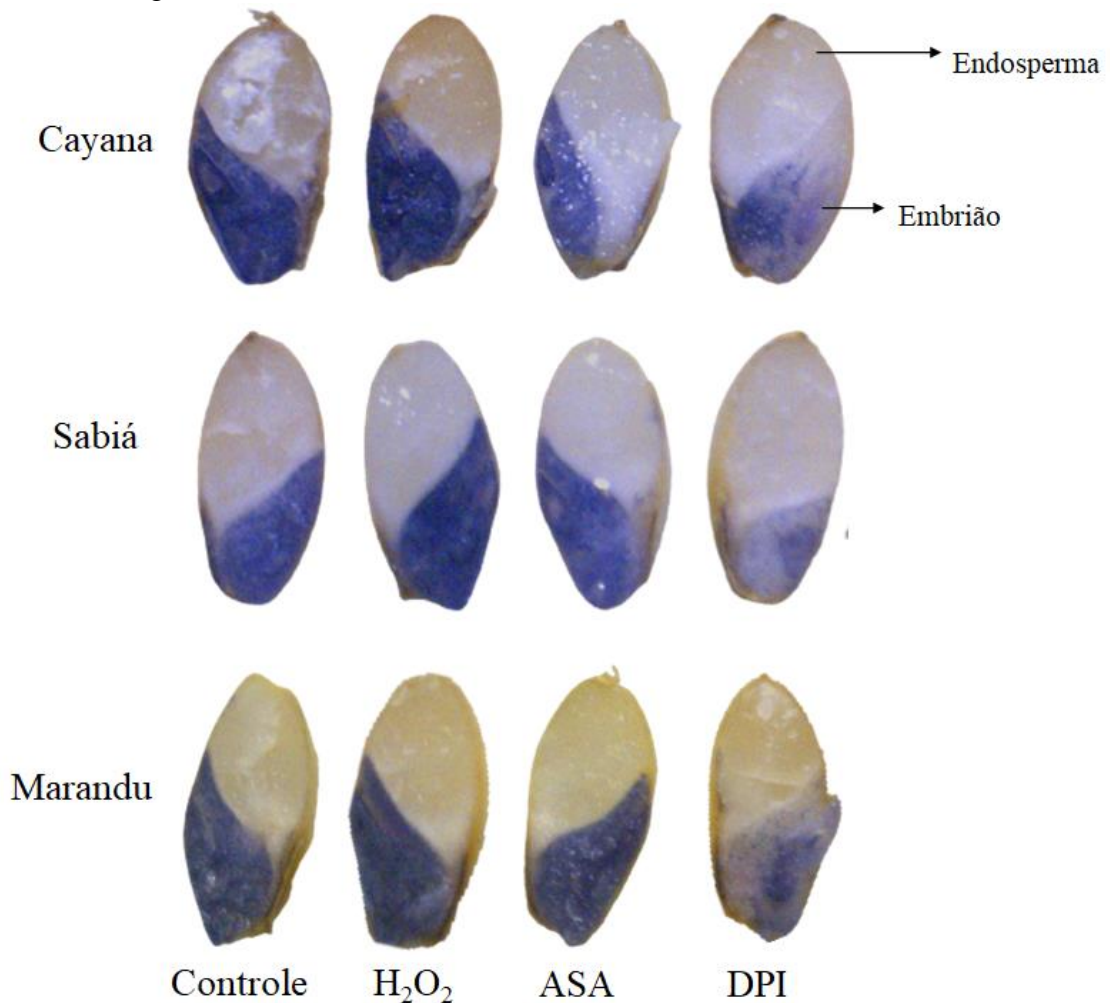
Cayana – A, D e G; Sabiá – B, E e H e Marandu – C, F e I. As barras são médias \pm erro padrão. Médias seguidas de mesma letra são iguais entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Fonte: Do autor (2023).

Em relação ao IVG, observou-se que quando as sementes foram tratadas com DPI houve redução drástica na velocidade de germinação em sementes de todas as cultivares do gênero *Urochloa* avaliadas, porém quando as sementes foram tratadas com H_2O_2 e ASA houve aumento na velocidade de germinação em sementes das cultivares Cayana e Marandu, diferindo do tratamento controle (Fig. 2D-F). Quanto ao T_{50} , foi observado aumento desta

variável quando as sementes das cultivares foram tratadas com DPI, diferiu do tratamento controle.

Conforme mostrado na figura 3A-C, em sementes de todos as cultivares tratadas com DPI houve menores acúmulos de O_2^- no embrião, quando comparadas com as sementes embebidas nos demais tratamentos, observado pela coloração azul escuro.

Figura 3 – Histolocalização de ânion superóxido (O_2^-) de sementes de três cultivares do gênero *Urochloa* embebidas em água deionizada (Controle), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), cloreto de difenilenoiodônio (DPI) e Ácido ascórbico (ASA).

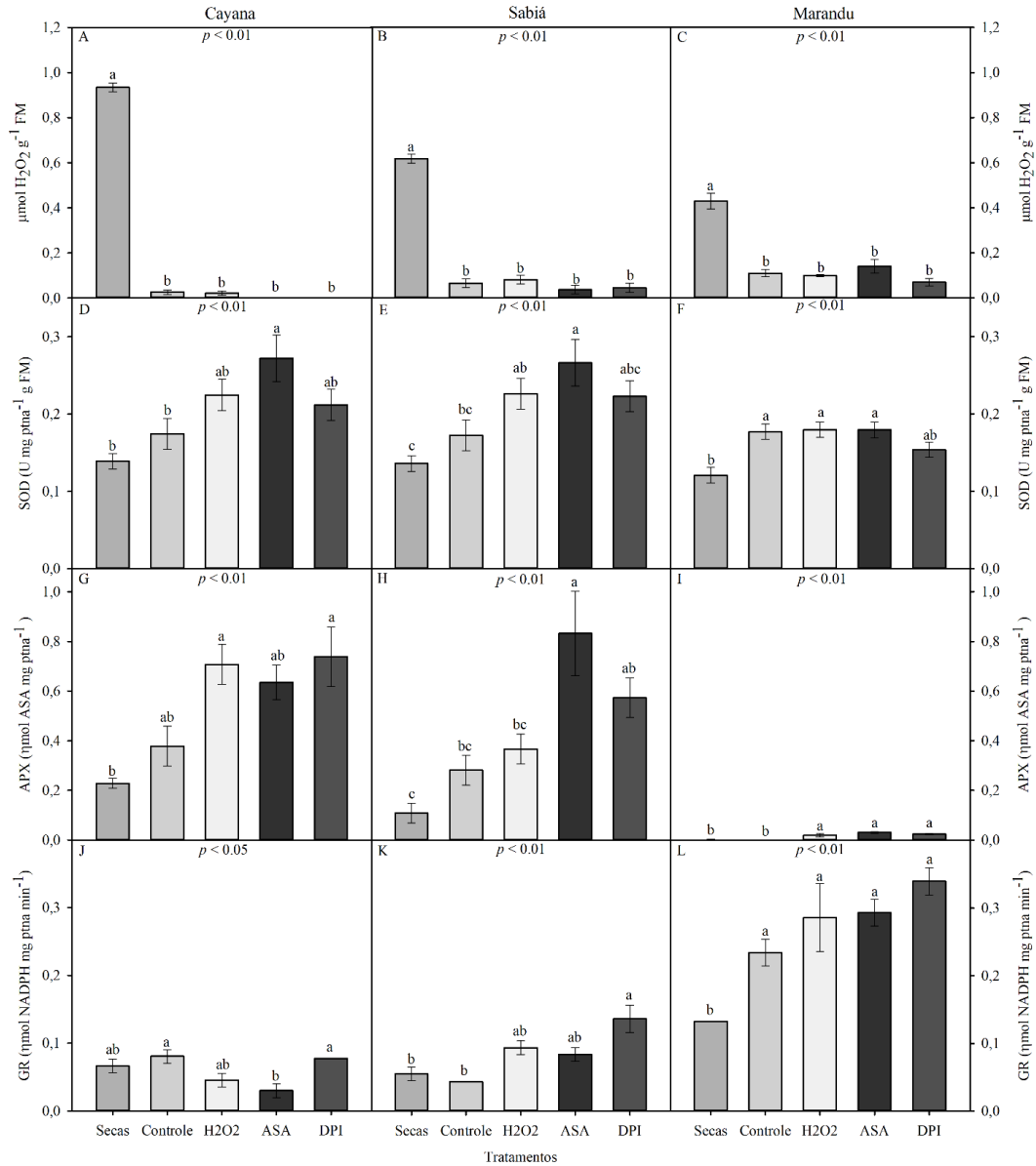


Fonte: Do autor (2023).

Efeitos dos tratamentos nos níveis de peróxido de hidrogênio, proteínas solúveis totais e na atividade das enzimas do sistema antioxidante

Em sementes secas foram observados maiores teores de proteínas solúveis totais em relação às embebidas (ANEXO C). Os níveis de H_2O_2 foram menores quando as sementes foram embebidas, diferindo das secas para todos as cultivares do gênero *Urochloa* avaliadas. (Fig. 4A-C).

Figura 4 – Níveis de H_2O_2 (A-C) e atividade enzimática da SOD (D-E), APX (G-I) e GR (J-L) de sementes de três cultivares do gênero *Urochloa* secas e embebidas em água deionizada (Controle), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), cloreto de difenilenoiodônio (DPI) e Ácido ascórbico (ASA).



As barras são médias \pm erro padrão. Médias seguidas de mesma letra são iguais entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os dados das enzimas APX e GR da cultivar Marandu foram transformados pela raiz quadrada. Fonte: Do autor (2023).

Para as sementes das cultivares Cayana e Sabiá houve maiores atividades da SOD (Fig. 4D-E) quando essas foram tratadas com ASA, diferindo das sementes secas. Já para a cultivar Marandu, em sementes embebidas em água deionizada, H_2O_2 e ASA houve aumento na atividade da SOD, diferindo das sementes secas (Fig. 4F). Houve aumento da atividade da APX nas sementes da cultivar Cayana embebidas em H_2O_2 e DPI (Fig. 4G). Foi também verificado aumento da atividade da APX nas sementes da cultivar Sabiá quando estas foram embebidas em ASA, não sendo observada diferença significativa com DPI (Fig. 4H). Já em

sementes da cultivar Marandu houve maior atividade da APX quando as sementes foram embebidas em H₂O₂, ASA e DPI, diferindo das sementes secas e das embebidas em água deionizada (Fig. 4I).

Em sementes da cultivar Cayana foram observadas menores atividades da GR quando as sementes foram embebidas em ASA, diferindo dos tratamentos controle e DPI (Fig. 4J). Já em sementes da cultivar Sabiá houve aumento da atividade da GR quando foram embebidas com DPI, não diferindo do H₂O₂ e ASA (Fig. 4K). A atividade da GR também aumentou em sementes da cultivar Marandu quando estas foram embebidas, diferindo das sementes secas (Fig. 4L).

4. DISCUSSÃO

As EROs têm sido relatadas por estarem envolvidas na sinalização da germinação de sementes (BAILLY, 2019). Os resultados observados nesta pesquisa sugerem que as EROs, principalmente O₂⁻ e o H₂O₂, podem regular a germinação das sementes das cultivares analisadas de forma dependente de NADPH oxidase. As NADPH oxidases da membrana plasmática são enzimas importantes para a produção de EROs, pois estas reduzem o oxigênio molecular a O₂⁻ pela oxidação do NADPH (SAGI; FLUHR, 2006). Assim, a aplicação do DPI nas sementes influenciou negativamente as características germinativas das três cultivares do gênero *Urochloa* estudadas, provavelmente devido à redução da geração de ânion superóxido no embrião, especialmente no escutelo, necessários para sinalização da germinação. Isso está de acordo com a redução do acúmulo do O₂⁻ nos embriões das sementes nas cultivares estudadas (Fig. 3A-C) e semelhante ao que foi relatado em sementes de outras monocotiledôneas, como cevada, arroz e milho quando tratadas com DPI (ISHIBASHI et al., 2015; LI et al., 2017; GUO et al., 2021).

Sementes secas produzem EROs de maneira contínua e espontânea a partir de reações não enzimáticas (BAILLY, 2019). De forma contrária, quando estas são embebidas, a geração das EROs muda do sistema não enzimático para o enzimático, estando relacionada, principalmente com NADPH oxidases, glioxissomos e mitocôndria (KUMAR et al., 2021; LI et al., 2022). Dessa forma, os resultados elevados de H₂O₂ nas sementes secas das cultivares estudadas sugerem que a produção de EROs tem início logo após a dispersão dessas sementes, e que a remoção das estruturas não esteve relacionada com este acúmulo, conforme foi observado em sementes recém-colhidas de *U. humidicola* cv. Llanero, nas quais a remoção das estruturas também não acarretou aumento nos níveis de H₂O₂ (ABRANTES; MACHADO-NETO; CUSTÓDIO, 2020).

A redução dos níveis de H_2O_2 nas sementes embebidas, ocorreu em consequência da eficiência dos sistemas enzimático e não enzimático em manter as EROs em níveis basais, o que possibilitou a sinalização para a germinação das sementes. Além disso, os dados de germinação das sementes da cultivar Cayana, tratadas com ASA e DPI, sugerem que essa cultivar seja mais sensível ao H_2O_2 para germinar.

Como mencionado, as NADPH oxidases não são as únicas vias de produção de EROs em sementes embebidas. Portanto, sugerimos que o aumento nas atividades das enzimas nas sementes das cultivares estudadas, quando tratadas com DPI, ocorreu devido a geração de EROs por outras vias de produção como a mitocôndria e os glioxissomos. Enquanto o ASA, por ser um antioxidante não enzimático, pode ter neutralizado diretamente as EROs (BILSKA et al., 2019), e assim ter diminuído as EROs necessárias para sinalização da germinação das sementes da cultivar Cayana.

Em contraste com as cultivares híbridas, os dados de atividade da GR aumentaram durante a germinação das sementes da cultivar Marandu ao passo que a atividade da APX reduziu drasticamente. Isso sugere que as sementes dessa cultivar possuem respostas bioquímicas diferentes das cultivares híbridas quando são embebidas, o que pode favorecer a germinação.

De acordo com os dados da caracterização inicial das sementes, parte da população das sementes das cultivares Cayana e Sabiá tinha superado a dormência fisiológica. Assim, a retirada das estruturas das sementes auxiliou na liberação da dormência, aumentando de maneira considerável a germinabilidade. Isso é consistente com outras pesquisas realizadas em sementes de espécies do gênero *Urochloa* (AJALA-LUCCAS et al., 2018; ABRANTES; MACHADO-NETO; CUSTÓDIO, 2020; LIU et al., 2022). Dessa forma, acreditamos que as estruturas que envolvem as sementes das cultivares investigadas é uma barreira física à germinação das sementes além da dormência fisiológica.

5. CONCLUSÕES

As sementes das cultivares do gênero *Urochloa* estudadas dependem das EROs para a sinalização da germinação, sendo que as sementes da cultivar híbrida Cayana são mais sensíveis à redução dessas EROS.

A atividade das NADPH oxidases de membrana são as principais geradoras de EROs de sinalização para germinação das sementes de *Urochloa* avaliadas, sendo o O_2^- a principal EROs envolvida nesse processo.

REFERENCIAS

- ABRANTES, F. L.; MACHADO-NETO, N. B.; CUSTÓDIO, C. C. Seed moisture content can be used to accelerate dormancy release during after-ripening of *Urochloa humidicola* cv. Llanero spikelets. **Ciência Rural**, v. 51, 2020.
- AJALA-LUCCAS, D.; RIBEIRO-OLIVEIRA, J. P.; DUARTE SILVEIRA, L. E.; DA SILVA, E. A. A. An integrative insight on dormancy alleviation in diaspores of *Urochloa humidicola* (Rendle) Morrone & Zuloaga, a tropical grass with great economic and ecological impact. **Plant Biology**, v. 20, n. 2, p. 252-262, 2018.
- BAILLY, C. The signalling role of ROS in the regulation of seed germination and dormancy. **Biochemical Journal** 476, 3019–3032, 2019.
- BAILLY, C.; EL-MAAROUF-BOUATEAU, H.; CORBINEAU, F. From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology. **Comptes rendus biologiques**, v. 331, n. 10, p. 806-814, 2008.
- 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.
- BIEMELT, S.; KEETMAN, U.; ALBRECHT, G. Re-aeration following hypoxia or anoxia leads to activation of the antioxidative defense system in roots of wheat seedlings. **Plant Physiology**, v. 116, n. 2, p. 651-658, 1998.
- BILSKA, K., WOJCIECHOWSKA, N., ALIPOUR, S., KALEMBA, E. M. Ascorbic acid—The little-known antioxidant in woody plants. **Antioxidants**, v. 8, n. 12, p. 645, 2019.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Brasília, 2009. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/images/MAPA/arquivos_portal/ACS/sementes_web.pdf>. Acesso em: 06 nov. 2018.
- CAKMAK, I.; STRBAC, D.; MARSCHNER, H. Activities of hydrogen peroxide-scavenging enzymes in germinating wheat seeds. **Journal of experimental botany**, v. 44, n. 1, p. 127-132, 1993.
- EL-MAAROUF-BOUATEAU, H.; SAJJAD, Y.; BAZIN, J.; LANGLADE, N.; CRISTESCU, S. M.; BALZERGUE, S.; BAILLY, C. Reactive oxygen species, abscisic acid and ethylene interact to regulate sunflower seed germination. **Plant, cell & environment**, v. 38, n. 2, p. 364-374, 2015.
- FAROOQ, M.; BASRA, S. M. A.; AHMAD, N.; HAFEEZ, K. Thermal hardening: a new seed vigor enhancement tool in rice. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 47, n. 2, p. 187-193, 2005.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. (2021). ExpDes.pt: Pacote Experimental Designs (Portugues)_ . R package version 1.2.2, <<https://CRAN.R-project.org/package=ExpDes.pt>>.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, n. 2, p. 309–314, 1977.

GUO, Z.; ZHAO, J.; WANG, M.; SONG, S.; XIA, Z. SULFUR. Dioxide promotes seed germination by modulating reactive oxygen species production in maize. **Plant Science**, v. 312, p. 111027, 2021.

HU, C. H.; WANG, P. Q.; ZHANG, P. P.; NIE, X. M.; LI, B. B.; TAI, L.; CHEN, K. M. NADPH oxidases: the vital performers and center hubs during plant growth and signaling. **Cells**, v. 9, n. 2, p. 437, 2020.

ISHIBASHI, Y., KASA, S., SAKAMOTO, M., AOKI, N., KAI, K., YUASA, T., IWAYA-INOUE, M. A role for reactive oxygen species produced by NADPH oxidases in the embryo and aleurone cells in barley seed germination. *PLoS One*, 10(11), e0143173, 2015.

ISHIBASHI, Y.; AOKI, N.; KASA, S.; SAKAMOTO, M.; KAI, K.; TOMOKIYO, R.; IWAYA-INOUE, M. The interrelationship between abscisic acid and reactive oxygen species plays a key role in barley seed dormancy and germination. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 275, 2017.

KAI, K.; KASA, S.; SAKAMOTO, M.; AOKI, N.; WATABE, G.; YUASA, T.; ISHIBASHI, Y. Role of reactive oxygen species produced by NADPH oxidase in gibberellin biosynthesis during barley seed germination. **Plant signaling & behavior**, v. 11, n. 5, p. e1180492, 2016.

KUMAR, S. J., CHINTAGUNTA, A. D., REDDY, Y. M., RAJJOU, L., GARLAPATI, V. K., AGARWAL, D. K., SIMAL-GANDARA, J. Implications of reactive oxygen and nitrogen species in seed physiology for sustainable crop productivity under changing climate conditions. **Current Plant Biology**, v. 26, p. 100197, 2021.

LI, W. Y., CHEN, B. X., CHEN, Z. J., GAO, Y. T., CHEN, Z., LIU, J. Reactive oxygen species generated by NADPH oxidases promote radicle protrusion and root elongation during rice seed germination. **International journal of molecular sciences**, v. 18, n. 1, p. 110, 2017.

LI, W.; NIU, Y.; ZHENG, Y.; WANG, Z. Advances in the understanding of reactive oxygen species-dependent regulation on seed dormancy, germination, and deterioration in crops. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, 2022.

LIU, J.; WANG, H.; LUO, F.; WANG, Y.; XU, C.; JIANG, J. The influence of seed structures on dormancy in seeds of *Urochloa* hybrid cultivar ‘Mulato II’. **Tropical Grasslands-Forrajés Tropicales**, v. 10, n. 3, p. 156-163, 2022.

LV, Y. Y.; HE, X. Q.; HU, X. W.; WANG, Y. R. The seed semipermeable layer and its relation to seed quality assessment in four grass species. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1175, 2017.

MA, Z.; MARSOLAIS, F.; BYKOVA, N. V.; IGAMBERDIEV, A. U. Nitric oxide and reactive oxygen species mediate metabolic changes in barley seed embryo during germination. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 138, 2016.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid selection and evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

MÜLLER, K.; CARSTENS, A. C.; LINKIES, A.; TORRES, M. A.; LEUBNER-METZGER, G. The NADPH-oxidase AtrbohB plays a role in Arabidopsis seed after-ripening. **New Phytologist**, v. 184, n. 4, p. 885-897, 2009.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen Peroxide is Scavenged by Ascorbate-specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, v. 22, n. May, p. 867-880, 1981.

ORACZ, K.; VOEGELE, A.; TARKOWSKÁ, D.; JACQUEMOUD, D.; TUREČKOVÁ, V.; URBANOVÁ, T.; LEUBNER-METZGER, G. MYRIGALONE. A inhibits *Lepidium sativum* seed germination by interference with gibberellin metabolism and apoplastic superoxide production required for embryo extension growth and endosperm rupture. **Plant and Cell Physiology**, v. 53, n. 1, p. 81-95, 2012.

R CORE TEAM (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

RAJJOU, L., DUVAL, M., GALLARDO, K., CATUSSE, J., BALLY, J., JOB, C., JOB, D. Seed germination and vigor. **Annual review of plant biology**, v. 63, n. 507, p. 2012, 2012.

RIBEIRO, S. DE O.; AMARAL, M. C. A.; BARROS, W. T.; DA SILVA BANDEIRA, A.; CARDOSO, A. D; DE VASCONCELOS, R. C. Quality of Top, Middle and Bottom Buffelgrass Seeds from Different Collecting Sites. **Journal of Agricultural Science**, v. 11, n. 9, 2019.

SAGI, M.; FLUHR, R. Production of reactive oxygen species by plant NADPH oxidases. **Plant physiology**, v. 141, n. 2, p. 336-340, 2006.

SARATH, G.; HOU, G.; BAIRD, L. M.; MITCHELL, R. B. Reactive oxygen species, ABA and nitric oxide interactions on the germination of warm-season C4-grasses. **Planta**, v. 226, n. 3, p. 697-708, 2007.

VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants protective role of exogenous polyamines. **Plant Science**, v. 151, n. 1, p. 59-66, 2000.

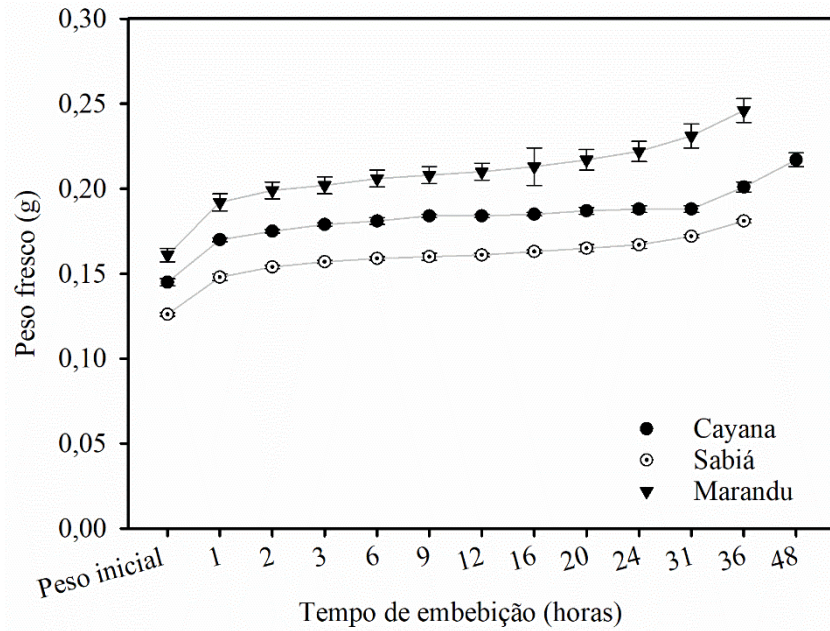
VIEIRA, B. C.; BICALHO, E. M.; MUNNÉ-BOSCH, S.; GARCIA, Q. S. Abscisic acid regulates seed germination of *Vellozia* species in response to temperature. **Plant Biology**, v. 19, n. 2, p. 211-216, 2017.

VIEIRA, R. D.; KRZYŻANOWSKI, F. C. T. Teste de Condutividade Elétrica. In: KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; NETO, J. B. F.; Eds., Vigor de Sementes: Conceitos e Testes, ABRATES, Londrina, 1-26, 1999.

WOJTYLA, Ł., LECHOWSKA, K., KUBALA, S.; GARNCZARSKA, M. Different modes of hydrogen peroxide action during seed germination. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 66, 2016.

ANEXOS

ANEXO A - Curva de embebição de sementes de cultivares do gênero *Urochloa*.



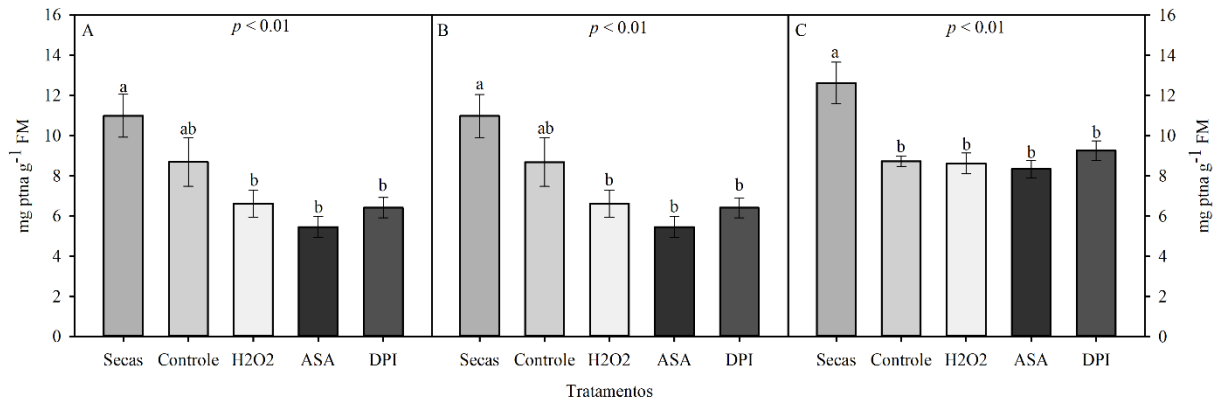
As barras são médias \pm erro padrão. Fonte: Do autor (2023).

ANEXO B - Viabilidade das sementes remanescentes de cultivares do gênero *Urochloa* embebidas em água deionizada (Controle), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), cloreto de difenilenoiodônio (DPI) e Ácido ascórbico (ASA).

Viabilidade das sementes remanescentes (%)			
Tratamentos	Cayana	Sabiá	Marandu
Controle	0	92	67
H_2O_2	75	0	50
ASA	65	88	60
DPI	86	63	60

Fonte: Do autor (2023).

ANEXO C - Proteínas solúveis totais de sementes de cultivares do gênero *Urochloa* embebidas em água deionizada (Controle), peróxido de hidrogênio (H₂O₂), cloreto de difenilenoiodônio (DPI) e Ácido ascórbico (ASA).



As barras são médias \pm erro padrão. Médias seguidas de mesma letra são iguais entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Fonte: Do autor (2023).

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

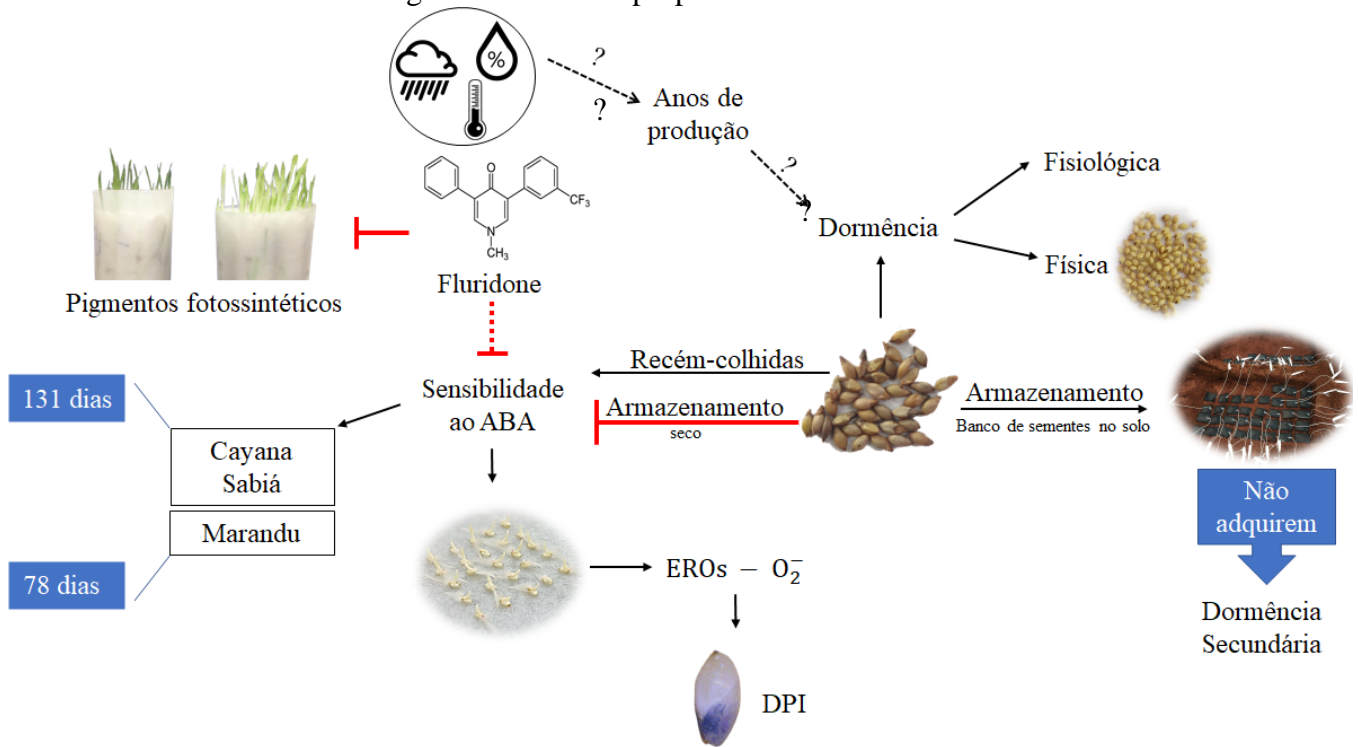
A manutenção da dormência das sementes recém-colhidas das cultivares investigadas de *Urochloa* depende da sensibilidade das sementes ao ABA, pois a utilização de GA exógeno não aumentou a germinação dessas sementes. Os resultados obtidos ao longo do armazenamento revelaram que a sensibilidade ao ABA foi superada após 131 dias para as cultivares Cayana e Sabiá e após 78 dias para a cultivar Marandu.

Observou-se que fluridone pode ser uma alternativa para a superação da dormência nas sementes recém-colhidas, porém seu efeito tardio nas plântulas pode inviabilizar seu uso para este fim, sendo necessários outros estudos que visem investigar se plântulas provenientes de sementes tratadas com FLU são capazes de produzir plantas bem desenvolvidas em condições ambientais.

As sementes das cultivares estudadas não adquiriram dormência secundária no banco de semente no solo. Dessa forma, se faz necessário que em pesquisas futuras seja investigado esse tipo de armazenamento afim de avaliar se sementes de diferentes cultivares do gênero *Urochloa* adquirem ou não dormência secundária frente a influência de fatores ambientais. Estudos sobre esse assunto ainda são incipientes na literatura para essas espécies vegetais, especialmente para cultivares híbridas. Acrescenta-se aqui estudos sobre a influência da luz para a germinação das sementes das cultivares estudadas, uma vez que a emergência de plântulas ocorreu após enterramento das sementes para a simulação do banco de sementes.

A sinalização para a germinação das sementes investigadas foi promovida pelas EROs, especialmente o O_2^- , uma vez que a redução dos níveis dessa espécie reativa, ocasionada pelo DPI, reduziu a germinação das sementes. Além disso, reafirmamos com esta pesquisa que as sementes das cultivares do gênero *Urochloa* apresentam dormência combinada (fisiológica e física), visto que os dados de germinação das sementes escarificadas e armazenadas foram maiores do que as sementes intactas. Assim, a germinação máxima em sementes armazenadas (sem dormência fisiológica) é obtida quando as estruturas que as recobrem são removidas (dormência física) (Fig. 1).

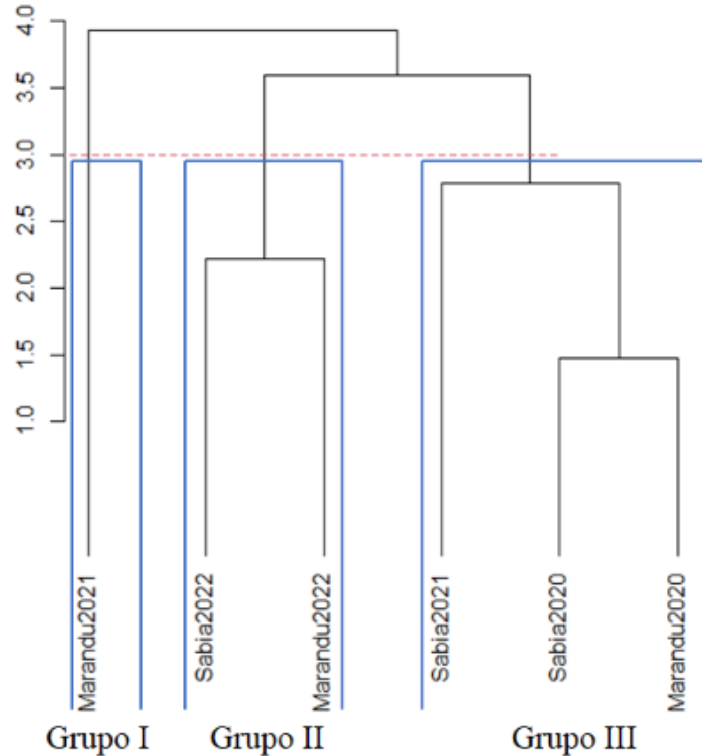
Figura 1 – Resumo gráfico do mecanismo de superação da dormência de sementes de três cultivares do gênero *Urochloa* proposto neste estudo.



Legenda: Inibe: suposições: comprovadas: inibidor do ABA. Fonte: Do autor (2023).

Neste estudo, ao serem avaliados lotes produzidos em diferentes anos, observou-se que os anos de produção interferiram no nível de dormência e na sinalização para a germinação. Os níveis de dormência em sementes das cultivares variaram com os anos de produção e conforme o agrupamento hierárquico houve formação de três grupos: Grupo 1 – Marandu 2021; Grupo 2 – Sabiá e Marandu 2022 e o Grupo 3 – Sabiá 2020/2021 e Marandu 2020. Em que, os grupos se diferem entre si, conforme o comportamento das variáveis (Fig. 2). Nos primeiros anos de produção avaliados, as cultivares híbridas Cayana e Sabiá apresentaram dormência mais profunda que nos últimos anos, assemelhando-se às respostas germinativas de Marandu, a cultivar com menor nível de dormência. Dessa forma, é necessário investigar a influência dos fatores ambientais durante a formação das sementes e dispersão nos atributos germinativos dessas. A compreensão deste fenômeno oferecerá subsídios para o manejo das espécies em campo.

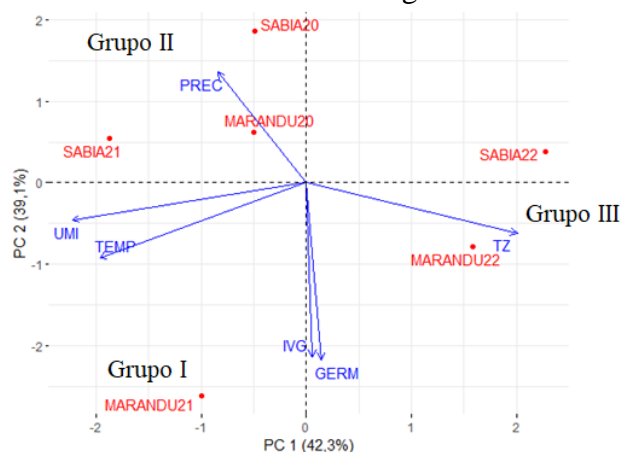
Figura 2 - Análise de agrupamento hierárquico com a formação de grupos com base nos dados de precipitação (mm – PREC), temperatura média (°C - TEMP), umidade média do ar (% - UMI), porcentagem final de germinação (% - GERM), índice de velocidade de germinação (IVG) e de viabilidade ao final do teste de germinação (% - TZ) de sementes de duas cultivares do gênero *Urochloa*.



Fonte: Do autor (2023).

Para a análise de componentes principais das cultivares Sabiá e Marandu, avaliadas durante os anos de 2020, 2021 e 2022, foram necessários dois componentes principais (PC1 e PC2), para discriminar aproximadamente 84% da variância total em que o PC1 foi responsável por 42,3% e o segundo, PC2, por 39,1% das variações dos dados (Fig. 3).

Figura 3 – Autovetores, gráfico biplot por meio da análise de componentes principais dos dados de precipitação (mm – PREC), temperatura média (°C - TEMP), umidade média do ar (% - UMI), porcentagem final de germinação (% - GERM), índice de velocidade de germinação (IVG) e de viabilidade ao final do teste de germinação (% - TZ) de sementes de duas cultivares do gênero *Urochloa*.



Fonte: Do autor (2023).

Os dados climáticos e as características germinativas (%GF, IVG e de viabilidade ao final do teste de germinação) das sementes para o grupo III apontaram que quanto maior a temperatura e umidade média do ar menor a viabilidade das sementes ao final do teste de germinação (menor dormência), enquanto para o grupo II quanto maior a precipitação menor a germinação e o IVG (maior dormência). Logo, há indícios que durante a produção das sementes dessas cultivares esses fatores ambientais influenciam no nível de dormência. No entanto, são necessários outros estudos para confirmarem essa hipótese.

De forma prática e aplicável, os resultados aqui apresentados evidenciaram que o armazenamento é indispensável para a superação da dormência fisiológica nas sementes das cultivares investigados. Uma alternativa para as empresas de sementes de cultivares do gênero *Urochloa* para armazená-las e dispor destas sementes durante o ano todo, para atender o mercado consumidor, seria instalar diversas câmaras frias com diferentes temperaturas e umidade.