

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE SEMENTES DE *Brachiaria  
brizantha* cv. MG5 AO TRATAMENTO COM ÁCIDO HÚMICO

**MARIÁ MORAES AMORIM**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE

DARCY RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ

FEVEREIRO – 2014

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE SEMENTES DE *Brachiaria  
brizantha* cv. MG5 AO TRATAMENTO COM ÁCIDO HÚMICO

**MARIÁ MORAES AMORIM**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Henrique Duarte Vieira

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
FEVEREIRO – 2014

Aos meus pais, André Luiz e Alair, dedico não só esta, mas todas as conquistas da minha vida.

*“No que diz respeito ao empenho, ao compromisso, ao esforço, à dedicação, não existe meio termo. Ou você faz uma coisa bem feita ou não faz.”*  
*(Ayrton Senna)*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as bençãos;

Aos meus pais, André Luiz e Alair, e aos meus irmãos, Isabela e André Luiz, pelo apoio e amor incondicional;

Ao Prof. Henrique Duarte Vieira, pela orientação, amizade e confiança;

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro;

A Capes e a Faperj pela concessão da bolsa;

Ao Dennis, meu companheiro, pela presença, pelo cuidado e pelo carinho;

Às minhas queridas “sementeiras”, Priscilla, Renata, Tatiana, Francielle, Amanda, Cynthia e Ana, pela amizade e pelo apoio, vocês são as melhores;

Aos amigos, Kariane, Cássio, Daniele, Validoro, Weverton (Negão) e Pablo que fizeram com que essa jornada fosse menos difícil, e especialmente ao Régis, a quem devo gratidão eterna;

Ao Prof. Bruno Borges Deminicis, Prof. Leonardo Barros Dobbss e à Dr.<sup>a</sup> Renata Vianna Lima, por aceitarem fazer parte desta banca e pelas contribuições dadas a este trabalho;

A toda minha família Moraes e Amorim, que está sempre torcendo pelo meu sucesso;

E a todos que de alguma maneira contribuíram para a realização deste sonho.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	iv
ABSTRACT .....	vi
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	3
2.1. <i>Brachiaria brizantha</i> cv. MG5 .....	3
2.2. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes.....	4
2.3. Efeito do ácido húmico na germinação de sementes e no crescimento de plantas.....	7
3. TRABALHOS.....	10
3.1. Efeito do ácido húmico na germinação de sementes de braquiária: doses e métodos de aplicação.....	10
3.2. Efeito do ácido húmico no crescimento inicial de braquiária.....	25
4. RESUMO E CONCLUSÕES.....	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42

## RESUMO

AMORIM, Mariá Moraes; M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Fevereiro de 2014. Respostas fisiológicas de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. MG5 ao tratamento com ácido húmico. Professor Orientador: Henrique Duarte Vieira.

Este trabalho foi dividido em dois capítulos. No capítulo 1 o objetivo foi determinar a melhor dose e o método de aplicação do ácido húmico extraído de vermicomposto para velocidade e porcentagem de germinação de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. MG5. Foram testadas 6 doses de AH [0,0; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0 mM C.L<sup>-1</sup>] e 3 métodos de aplicação [vácuo, imersão e aplicação direta no substrato] com ou sem reaplicação do AH. As sementes foram submetidas ao teste de germinação, no qual se avaliou a porcentagem de germinação, de plântulas normais na primeira contagem e de sementes não-germinadas e o tempo médio de germinação. Os melhores resultados para porcentagem de germinação e de sementes não-germinadas foram observados quando aplicada a dose de 1,0 mM C.L<sup>-1</sup> utilizando vácuo sem reaplicação de AH e para velocidade de germinação (1ª contagem) e tempo médio de germinação quando aplicada a dose de 0,5 mM C.L<sup>-1</sup> utilizando imersão sem reaplicação de AH. No capítulo 2, o objetivo foi avaliar o efeito de diferentes doses de ácido húmico extraído de vermicomposto no crescimento inicial de *Brachiaria brizantha* cv. MG5. Para isso, foram realizados teste de germinação em germinador, teste de emergência em casa de vegetação e teste de crescimento de plântulas em germinador. Para

todos os testes utilizou-se 5 doses de AH [0,0; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0 mM C.L<sup>-1</sup>], com e sem reaplicação do AH. Foram avaliadas as características porcentagem de germinação, porcentagem de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação, porcentagem de plântulas anormais, porcentagem de sementes não germinadas, porcentagem de emergência, índice de velocidade de emergência, massa fresca e seca da parte aérea e das raízes, comprimento da parte aérea e das raízes e número de raízes laterais. O ácido húmico afeta positivamente o crescimento inicial de *Brachiaria brizantha* cv. MG5, sendo o melhor estímulo observado quando aplicada a dose de 2,0 mM C.L<sup>-1</sup>.

## ABSTRACT

AMORIM, Mariá Moraes; M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. February, 2014. Physiological responses of seeds of *Brachiaria brizantha* cv. MG5 to humic acid treatment. Advisor Professor: Henrique Duarte Vieira.

This work was divided in two chapters. In Chapter 1 the objective was to determine the best dose and method of application of humic acid extracted from vermicompost for speed and percentage of germination of *Brachiaria brizantha* cv. MG5. Were tested 6 HA doses [0.0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 and 8.0 mM C.L<sup>-1</sup>] and three application methods [vacuum, immersion, directly on the substrate] with or without reapplication of HA. The seeds were submitted to germination test, in which we evaluated the percentage of germination, percentage of normal seedlings in the first count and percentage of non-germinated seeds and mean time to germination. The best results for percentage of germination and non-germinated seeds were observed when applied dose of 1.0 mM C.L<sup>-1</sup> using vacuum without reapplication of HA and for germination speed (1<sup>st</sup> count) and mean germination time when applied to dose 0.5 mM C.L<sup>-1</sup> using immersion without reapplication of HA. In chapter 2 the objective was to evaluate the effect of different doses of humic acid extracted from vermicompost on the growth of *Brachiaria brizantha* cv. MG5. For this, were performed germination test in germinator, emergency test in a greenhouse and test of seedling growth in germinator. For all tests was used 5 HA doses [0.0, 1.0, 2.0, 4.0 and 8.0 mM C.L<sup>-1</sup>], with or without reapplication of HA.



Were assessed the percentage of germination, percentage of normal seedlings in the first count of germination, percentage of abnormal seedlings, percentage of non-germinated seeds, percentage of emergence, emergence velocity index, fresh and dry weight of shoot and roots, shoot length and roots and the number of lateral roots. The humic acid affects positively the initial growth of *Brachiaria brizantha* cv. MG5, being the best stimulus observed when applied dose of 2.0 mM C.L<sup>-1</sup>.

## 1. INTRODUÇÃO

A maior cultura agrícola produzida no Brasil são as pastagens, estas ocupam mais de 172 milhões de hectares, aproximadamente 20% da área agricultável desse território, sendo que 117 milhões de hectares são de pastagens cultivadas (IBGE, 2007). Estima-se que mais de 70% das pastagens cultivadas nesse país encontra-se em algum estágio de degradação, sendo que destas uma grande parte em estágios avançados de degradação. A proporção de pastagens em condições ótimas ou adequadas não deve ser superior a 20%. Das pastagens cultivadas mais de 70% são do gênero *Brachiaria*, o que permite inferir que no Brasil são cultivados mais de 80 milhões de hectares com essa espécie (Macedo et al., 2014).

O crescente uso de gramíneas forrageiras tem estimulado o desenvolvimento da indústria de sementes no Brasil. Em decorrência disso, o país transformou-se no maior produtor, consumidor e exportador de sementes de gramíneas forrageiras (Silva Filho, 2009). Dentre as espécies utilizadas a que vem obtendo destaque no cenário nacional é a *Brachiaria brizantha* cv. MG-5.

Em espécies forrageiras, a formação de um estande denso no plantio é de fundamental importância para a produtividade da pastagem (Sulc, 1998). E para que isso ocorra é necessário que haja uma emergência rápida e uniforme das plântulas, possibilitando a formação de um dossel fechado logo no início da estação de crescimento, suprimindo as plantas daninhas e maximizando a interceptação de luz.

Vários estudos mostram que os produtos à base de substâncias húmicas (SH) estimulam a absorção de nutrientes minerais pelas plantas, o desenvolvimento radicular, os processos metabólicos, a atividade respiratória e o crescimento celular. Além disso, elas podem ter ação fitormonal e atuar em processos fotossintéticos e no conteúdo e na distribuição de açúcares (Russo e Berlyn, 1990; Sanders et al., 1990; Pinton et al., 1999; Canellas et al., 2002; Chen et al., 2004).

Sabe-se que as SH alteram o desenvolvimento das plantas (Chen e Aviad, 1990; Façanha et al., 2002; Nardi et al., 2002; Zandonadi et al., 2007) e interferem indiretamente no metabolismo vegetal pelos efeitos ocasionados no solo, como complexação de metais, aumento da capacidade de troca catiônica, fornecimento de nutrientes e retenção de umidade (Rocha e Rosa, 2003). Esses efeitos das SH, principalmente da fração bioativa ácidos húmicos (AH), sobre o desenvolvimento vegetal, têm-se demonstrado dependentes da fonte e da dose de materiais húmicos e do genótipo da planta (Vaughan e Malcom, 1985; Rodda et al., 2006a).

De uma maneira geral, frações húmicas demonstram influenciar processos bioquímicos e fisiológicos durante a germinação (Vaughan e Malcom, 1985). Em geral, dentre esses efeitos incluem-se a redução do tempo de germinação das sementes, uma maior porcentagem de germinação e maior comprimento da raiz durante os estágios iniciais de crescimento das plantas (Petrovic et al., 1982; Vaughan e Malcom, 1985; Dell'Amico et al., 1994).

Testando a hipótese de que os ácidos húmicos afetam a germinação e o crescimento inicial de plântulas de braquiária em função da dose e do método de aplicação. O objetivo desse estudo foi identificar o método mais eficiente de aplicação de ácido húmico e determinar a concentração ótima para germinação, emergência e crescimento de plântulas de *Brachiaria brizantha* cv. MG5.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 *Brachiaria brizantha* cv. MG5

As pastagens cultivadas no Brasil cobrem extensas áreas, hoje estimadas em cerca de 120 milhões de hectares, sendo mais de 80 milhões de hectares cultivados com capins do gênero *Brachiaria* (Macedo et al., 2014).

A *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés, também conhecida como MG5 ou Vitória, lançada pela Embrapa Gado de Corte, foi introduzida no mercado em 2003, originária da região africana de Cibitoke, no Burundi. Essa cultivar é uma planta cespitosa, que pode enraizar-se nos nós basais. Atinge altura de 1,50 m e colmos verdes de 6,0 mm de diâmetro. A bainha apresenta pelos claros, rijos e ralos, sendo densos nas bordas; lâmina foliar verde-escura, de até 64,0 cm de comprimento e 3,0 cm de largura, com pilosidade curta na face superior e bordos ásperos. A inflorescência é racemosa, tardia e concentrada nos meses de maio e junho e a produtividade de sementes puras chega a 120 kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup>. Essa cultivar é indicada para solos de média fertilidade, bem drenados e de textura média. Em ensaios em parcelas, apresentou elevada produção de forragem, chegando a 21 Mg MS ha<sup>-1</sup>. É uma planta de estabelecimento rápido e com melhor rebrota do que a cultivar Marandu. (Valle et al., 2003; Jank et al., 2005).

A propagação desta gramínea é feita exclusivamente por sementes, deve-se atentar para que a semeadura seja feita em profundidade adequada em solos

com teores de umidade que propiciem a germinação, a emergência e o crescimento inicial das plântulas.

Em climas com estação chuvosa no verão, como a região Centro-Oeste, a semeadura deverá ser realizada de meados de outubro até fevereiro; cuja época ideal é o período de 15 de novembro a 15 de janeiro. Em regiões onde a estação de chuvas se prolonga, a semeadura pode ser feita até o final de março (Valle et al, 2004).

É fato também que a irregularidade do regime pluvial torna-se restritiva ao desenvolvimento agrícola, pois, mesmo dentro de estações chuvosas, observam-se períodos de déficit hídrico acentuados. Segundo Paulino et al. (2004), a ocorrência de déficit hídrico durante a terceira fase da germinação de *Brachiaria brizantha* cv. MG5, que se dá aproximadamente 8 a 9 dias após a semeadura é decisiva para a diminuição da emergência.

## 2.2 Avaliação da qualidade fisiológica de sementes

A qualidade fisiológica das sementes é influenciada pelas características genéticas herdadas de seus progenitores, além da germinação e do vigor, sendo estes fatores afetados pelas condições ambientais, pelos métodos de colheita, pela secagem, pelo processamento, pelo tratamento, pelo armazenamento e pela embalagem (Andrade et al., 2001). É realizada, geralmente, em laboratórios, principalmente pelo teste de germinação, no entanto, este é conduzido em condições favoráveis de temperatura, umidade e luz, permitindo ao lote expressar o seu potencial máximo, sendo, portanto necessário ter sua avaliação completada por testes de vigor. A queda do vigor precede a da germinação, de modo que lotes com germinação semelhante podem diferir quanto ao nível de deterioração e, portanto, ao vigor e ao potencial de desempenho em campo (Marcos Filho, 1999).

É importante avaliar o vigor das sementes como complemento às informações fornecidas pelo teste de germinação. Os testes de vigor são mais eficientes, que o teste de germinação, para indicar o desempenho das sementes no campo, pois simulam condições adversas. Dentre os testes que podem ser utilizados, existem aqueles realizados em laboratório, como o índice de velocidade de germinação, a primeira contagem do teste de germinação, o

comprimento da plântula, o peso da massa seca da plântula. E os realizados em campo, como a porcentagem de emergência de plântulas, a velocidade de emergência de plântulas, a altura de plântula e o peso da massa fresca da plântula (Oliveira et al., 2009).

O processo germinativo compreende aqueles eventos celulares e metabólicos que têm início com a absorção de água por sementes quiescentes e culminam com o alongamento do eixo embrionário, conforme conceituado por Bewley e Black (1994); Bewley (1997) e Egley (1999). Ou, de outra forma, o mesmo também pode ser entendido como uma sequência de reações bioquímicas em que substâncias de reservas são desdobradas, transportadas e ressintetizadas no eixo embrionário (Höfs et al., 2004). Já em teste de laboratório a germinação de sementes é a emergência e o desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, demonstrando sua aptidão para produzir uma planta normal em condições favoráveis de campo (Brasil, 2009).

O teste de germinação tem como objetivo determinar o potencial máximo de germinação de um lote de sementes, o qual pode ser usado para comparar a qualidade de diferentes lotes e também estimar o valor para semeadura em campo. Tanto as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009) como as Regras Internacionais (ISTA, 2006) indicam o substrato, a temperatura, os limites de tempo, e, no caso de sementes dormentes, tratamentos especiais para a condução do teste. A necessidade de tal padronização advém principalmente do fato de que a intensidade da resposta das sementes ao ambiente é variável entre as espécies (Machado et al., 2002).

Além do teste de germinação são utilizados testes de vigor para avaliar a qualidade fisiológica de sementes. O índice de velocidade de germinação é um teste utilizado para determinar o vigor avaliando a velocidade de germinação das sementes, baseado no princípio de que lotes de sementes que possuem maior velocidade de germinação são mais vigorosos.

A realização deste teste poderá ser feita em conjunto com o teste de germinação, obedecendo às prescrições das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009). Tendo a mesma duração do teste de germinação.

Utilizam-se fórmulas com os dados obtidos no teste para se calcular a velocidade de germinação, como a proposta por Edmond e Drapala (1958):

$$TM = \frac{G_1T_1 + G_2T_2 + \dots + G_iT_i}{G_1 + G_2 + G_3}$$

Onde:

TM é o tempo médio necessário para atingir a germinação máxima (dias);

G1 até Gi é o número de plântulas germinadas ocorrido a cada dia;

T1 até Ti é o tempo (dias).

Esta fórmula corresponde à média ponderada do tempo necessário para a germinação, tendo como fator de ponderação a germinação, ou seja, quanto menor este tempo, maior será a velocidade de germinação.

Em conjunto com o teste de germinação é possível ainda realizar outra avaliação de vigor, que é a avaliação de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação. As sementes das amostras que germinam mais rapidamente, isto é, que apresentam maior porcentagem de plântulas normais nessa contagem, são consideradas mais vigorosas (Marcos Filho et al., 1987).

Indiretamente, tem-se uma avaliação da velocidade de germinação, desde que maior porcentagem de plântulas presentes na primeira contagem signifique que as sementes desta amostra germinaram mais rapidamente que as demais (Nakagawa, 1994), assim os resultados de primeira contagem são um indicativo da velocidade de germinação daquele lote de sementes.

Como testes de vigor são realizados ainda testes que avaliam o crescimento das plântulas. Para isso, pode ser feita a determinação do comprimento médio das plântulas normais ou partes destas, tendo em vista que as amostras que apresentam os maiores valores médios são as mais vigorosas (Nakagawa, 1999).

Assim como a determinação da massa fresca e seca das plântulas, em que a maior massa fresca e/ou seca das plântulas é um indicativo de lotes de sementes mais vigorosos. As sementes vigorosas proporcionam maior transferência de massa seca de seus tecidos de reserva para o eixo embrionário, na fase de germinação, originando plântulas com maior peso, em função do maior acúmulo de matéria (Nakagawa, 1999).

Os testes de vigor podem ser realizados em laboratório e em campo, como é o caso do teste para avaliar a porcentagem de emergência de plântulas e o índice de velocidade de emergência de plântulas. Partindo do princípio que sementes que propiciam maior percentual de emergência, em condições de campo, ou seja, não controladas, são mais vigorosas (Oliveira et al., 2009).

Segundo Nakagawa (1994), este teste, se conduzido na época normal de semeadura da cultura, fornecerá a capacidade do lote em estabelecer-se, dando subsídios necessários ao cálculo da quantidade de sementes a ser utilizada para obtenção de uma população ou estande de plantas desejável. Se conduzido em outra época, defasada da normal de semeadura, poderá gerar resultados não exatamente iguais aos da referida época, mas mesmo assim, poderia fornecer subsídios úteis para comparação entre diferentes lotes.

O teste que emprega a velocidade de emergência de plântulas é análogo ao teste velocidade de germinação de plântulas, por possuírem princípio e objetivos muito semelhantes. Neste o vigor do lote de sementes é determinado avaliando a velocidade de emergência de plântulas em condições de campo, e/ou casa de vegetação, e tanto mais vigoroso será um lote de sementes quanto mais rápida for a sua emergência das plântulas no campo (Oliveira et al., 2009).

Levando-se em conta que este teste é realizado no campo, pode-se comparar o vigor das sementes de lotes semeados na mesma época, porém não podem ser comparados testes realizados em épocas diferentes. Seu procedimento é feito de forma semelhante ao teste para determinação da porcentagem de emergência de plântulas, sendo o mesmo empregado na realização de sua avaliação. Entretanto, as observações são realizadas diariamente, até que o número de plântulas se torne constante, a partir da emergência da primeira plântula (Oliveira et al., 2009).

### 2.3 Efeito dos ácidos húmicos na germinação de sementes e no crescimento de plantas

A presença de SH é importante durante todos os estágios de desenvolvimento das plantas, mas particularmente vital nos estágios iniciais. É por isso que o tratamento pré-plantio das sementes é muito importante. Mesmo



antes de a germinação começar, as forças vitais são despertadas, e o sistema imunológico é estimulado (Levinsky, 2013).

Em geral os efeitos das frações húmicas na germinação incluem redução do tempo de germinação das sementes, maior porcentagem de germinação e aumento do comprimento de raiz durante a fase inicial de crescimento das plantas (Petrovic et al., 1982; Vaughan e Malcom, 1985; Dell'Amico et al., 1994). O tratamento de sementes com AH mostrou incrementar a porcentagem de germinação em algumas espécies como milho, girassol e tomate (Matysiak et al., 2011; Kavitha et al., 2013).

Eyheraguibel et al. (2008) observaram que o percentual ou a taxa de germinação das sementes de plantas de milho não foram influenciados pela presença de SH, mas houve um aumento no alongamento de raízes das sementes que foram tratadas. Efeitos positivos também foram notados na produção de massa seca das plantas cultivadas em solução nutritiva com SH, que ocorreu tanto nas raízes, como nos ramos e nas folhas. Esse incremento de massa seca foi acompanhado por um maior consumo de água e absorção dos nutrientes da solução nutritiva. O uso de SH ainda induziu o florescimento precoce e modificou o desenvolvimento das raízes, aumentando o crescimento de raízes laterais e secundárias que, apesar de menores, eram mais ramificadas.

O AH promove o incremento do peso fresco de raiz em plântulas, sendo esta resposta observada em diferentes métodos de aplicação do AH (Hartwigsen e Evans, 2000; David et al., 1994; Sanders et al., 1990; Malik e Azam, 1985). Entretanto, com relação ao peso fresco de parte aérea há resultados discrepantes, observou-se incremento do peso fresco de parte aérea em resposta ao tratamento com AH quando o estudo foi realizado em solução nutritiva (Tan e Nopamornbodi, 1979; Malik e Azam, 1985; Vaughan e Linehan, 1976). Por outro lado, quando se testou o tratamento com AH em sementes ou no substrato não se observou incremento significativo do peso fresco de parte aérea (Hartwigsen e Evans, 2000).

É comprovada a atividade hormonal da matéria orgânica humificada extraída da vermicompostagem (Muscolo et al., 1999; Canellas et al., 2002). A possível presença de substâncias indutoras de crescimento radicular do tipo auxinas no humato de vermicomposto que promove o desenvolvimento de raízes laterais e de sítios meristemáticos (Rodda et al., 2006b). Sendo que esta resposta

pode ser dependente do padrão natural de crescimento da espécie em estudo e do método de aplicação do AH que foi utilizado (Hartwigsen e Evans, 2000).

### 3. TRABALHOS

#### 3.1 EFEITO DO ÁCIDO HÚMICO NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE BRAQUIÁRIA: DOSES E MÉTODOS DE APLICAÇÃO

##### RESUMO

O ácido húmico estimula a germinação em várias espécies cultivadas, diminuindo o tempo antes da germinação das sementes e aumentando a porcentagem de germinação. O objetivo deste trabalho foi determinar a melhor dose e o método de aplicação do ácido húmico extraído de vermicomposto para velocidade e porcentagem de germinação de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. MG5. Foram testados três diferentes métodos de aplicação de diferentes doses de ácido húmico para o tratamento de sementes: vácuo (V), imersão (I) e aplicação direta no substrato (S), com reaplicação do ácido húmico (CR) ou não (SR), e diferentes doses de AH [0,0; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0 mM C.L<sup>-1</sup>]. Foram avaliadas a porcentagem de germinação, de plântulas normais na primeira contagem e de sementes não-germinadas e o tempo médio de germinação. A aplicação da dose de 1,0 mM C.L<sup>-1</sup> utilizando vácuo sem reaplicação de AH promoveu os melhores resultados para porcentagem de germinação e de sementes não-germinadas. Já

para velocidade de germinação (1ª contagem) e tempo médio de germinação os melhores resultados foram observados quando a dose de 0,5 mM C.L<sup>-1</sup> foi aplicada utilizando imersão sem reaplicação de AH.

## ABSTRACT

Humic acid stimulates germination in several crop species, decreasing the time before seed germination and increase percentage of germination. The objective of this study was to determine the best dose and method of application of humic acid extracted from vermicompost for speed and percentage of germination of *Brachiaria brizantha* cv. MG5. Three different application methods of different doses of humic acid for treatment of seeds were tested: vacuum (V), immersion (I) and direct application to the substrate (S), with reapplication of humic acid (WR) or not (NR) and different doses of HA [0.0; 0.5; 1.0; 2.0; 4.0 and 8.0 mM C.L<sup>-1</sup>]. The percentage of germination, percentage of normal seedlings in the first count and percentage of non-germinated seeds and mean time to germination were evaluated. The best results for percentage of germination and non-germinated seeds were observed when applied dose of 1.0 mM C.L<sup>-1</sup> using vacuum without reapplication of HA and for germination speed (1<sup>st</sup> count) and mean germination time when applied to dose 0.5 mM C.L<sup>-1</sup> using immersion without reapplication of HA.

## INTRODUÇÃO

O crescente uso de gramíneas forrageiras tem estimulado o desenvolvimento da indústria sementeira no Brasil. O que transformou o país no maior produtor, consumidor e exportador de sementes de gramíneas forrageiras (Silva Filho, 2009). Dentre as espécies utilizadas a que vem obtendo destaque no cenário nacional é a *Brachiaria brizantha* cv. MG-5. Em espécies forrageiras, a formação de um estande denso no plantio é de fundamental importância para a

produtividade da pastagem (Sulc, 1998). Para que isso ocorra é necessário usar sementes de qualidade com emergência rápida e uniforme das plântulas.

De acordo com Vaughan e Malcom (1985), as frações húmicas influenciaram processos bioquímicos e fisiológicos durante a germinação. Em geral, esses processos incluem a redução do tempo antes da germinação das sementes, uma maior porcentagem de germinação e um maior comprimento da raiz durante os estágios iniciais de crescimento das plantas (Petrovic et al., 1982; Vaughan e Malcom, 1985; Dell'Amico et al., 1994).

A presença de substâncias húmicas é importante durante todos os estágios de desenvolvimento das plantas, mas particularmente vital nos estágios iniciais. É por isso que o tratamento pré-plantio das sementes é muito importante. Mesmo antes de a germinação começar, as forças vitais são despertadas, e o sistema imunológico é estimulado (Levinsky, 2013). Estudos sobre os efeitos dos ácidos húmicos em milho mostraram acelerar os ciclos de desenvolvimento, ou seja, a germinação, a floração e o início da frutificação (Eyheraguibel, 2008).

Testando a hipótese de que os ácidos húmicos afetam a germinação de sementes em função das doses e dos métodos de aplicação. Objetivou-se com este trabalho determinar a melhor dose e o método de aplicação do ácido húmico para velocidade e porcentagem de germinação de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. MG5.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi realizado como parte da pesquisa desenvolvida no Setor de Tecnologia de Sementes do Laboratório de Fitotecnia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF).

### Materiais

Sementes comerciais de *Brachiaria brizantha* cv. MG5 foram ventiladas em soprador do tipo De Leo com abertura de 4,8 cm a fim de remover impurezas

e sementes vazias, obtendo somente a fração semente pura para a condução dos testes.

Ácido húmico extraído de vermicomposto foi obtido de coleção particular existente no laboratório de Microbiologia e Biotecnologia Ambiental da Universidade de Vila Velha. Para o tratamento das sementes, o ácido húmico liofilizado foi solubilizado com solução 0,1 mM NaOH e diluído em 2,0 mM CaCl<sub>2</sub> para obter as seguintes doses: 0,0; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0 mM C.L<sup>-1</sup>, de acordo com o seu percentual de carbono obtido pela sua caracterização elementar.

### Métodos de Aplicação

Foram testados três métodos diferentes de aplicação de ácido húmico para o tratamento das sementes: vácuo (V), imersão (I) e aplicação direta no substrato (S). Todos os métodos foram testados com reaplicação de ácido húmico (CR) ou não (SR).

Para aplicação de vácuo, as sementes foram colocadas em béqueres contendo 5 ml das soluções nas diferentes concentrações de AH, estes béqueres foram levados para o dessecador acoplado a uma bomba de vácuo, o vácuo foi aplicado intermitentemente, como a seguir: 5 minutos sob vácuo + 5 minutos sem vácuo + 5 minutos sob vácuo, adaptado de Vieira e Barros (1994). O tratamento de imersão foi caracterizado pela imersão das sementes nas soluções de ácido húmico nas diferentes concentrações por 24 horas. E no tratamento com aplicação direta no substrato 5,0 ml das soluções húmicas foram utilizadas para umedecer o substrato para germinação.

Para os tratamentos com reaplicação das soluções, o substrato foi reumedecido diariamente com 1,0 ml das diferentes soluções. Os tratamentos sem reaplicação foram reumedecidos com a mesma quantidade de água destilada.

### Teste de germinação

Este teste foi realizado de acordo com as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009), com 4 repetições de 50 sementes cada, para cada tratamento. As sementes foram uniformemente distribuídas em caixas para

germinação (gerbox) de 11 cm x 11 cm x 3,5 cm, sobre duas folhas de papel germiteste umedecidos com 5 ml de ácido húmico. As gerbox contendo as sementes foram então levadas para germinador com fotoperíodo de 16/8 h (E/L) e temperatura alternada de 20°C e 35°C (16 h para 20°C e 8 h para 35°C, com luz branca). As contagens foram realizadas no sétimo e no 21º dias após o início do teste, para avaliar plântulas normais, plântulas anormais e sementes não-geminadas. Ao longo do teste de germinação foram realizadas contagens diárias para o cálculo do tempo médio de germinação utilizando a fórmula proposta por Edmond e Drapala (1958).

### Análise Estatística

Todos os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias significativas foram comparadas pelo método do teste de alcance múltiplo de Duncan utilizando o programa Assistat.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes ao efeito das doses de AH e dos métodos de aplicação na porcentagem de germinação estão apresentados na Tabela 1. O método de aplicação afetou a porcentagem de germinação apenas quando utilizada a dose de AH de 1,0 mM C.L<sup>-1</sup>, em que a utilização de vácuo sem reaplicação de AH como método de aplicação proporcionou a maior porcentagem de germinação (85%), valor que também foi observado quando aplicada a dose de 4,0 mM C.L<sup>-1</sup> diretamente no substrato com reaplicação de AH. No entanto, o incremento em relação ao controle foi maior na dose de 1,0 mM C.L<sup>-1</sup> utilizando vácuo sem reaplicação de AH (8,28%) do que quando aplicada a dose de 4,0 mM C.L<sup>-1</sup> diretamente no substrato com reaplicação de AH (1,19%). Provavelmente estes resultados são devidos ao fato da aplicação de vácuo forçar a absorção da solução pelas sementes, permitindo que doses menores de AH sejam efetivas.

Quando comparado o efeito das doses no incremento da porcentagem de germinação em relação ao controle, a dose de 8,0 mM C.L<sup>-1</sup> utilizando o método

de imersão por 24 horas com reaplicação de AH promoveu um incremento significativo de 23,25% em relação ao controle. Estes resultados concordam com os apresentados por Matysiak et al. (2011), que observaram um aumento na porcentagem de germinação de sementes de milho imersas por 24 horas na solução de AH quando comparado ao controle. Corroborando com Azam e Malik (1983) quando sugerem que o melhor efeito estimulatório do ácido húmico é obtido por imersão das sementes na solução de ácido húmico por um determinado tempo e então procedida a germinação em água destilada.

A bioatividade dos AH em sementes de braquiária pode ainda ter sido afetada pelo grau de maturação das sementes, já que estas possuem uma maturação desuniforme dentro da panícula (Martins e Silva, 2001). Sendo assim, em um mesmo lote de sementes estão presentes sementes com diferentes graus de maturidade, o que vai influenciar a permeabilidade do tegumento e possivelmente a sensibilidade destas sementes às diferentes doses de AH.



Tabela 1 – Efeito dos ácidos húmicos na porcentagem de germinação.

Doses de AH (mM C.L <sup>-1</sup> )	Germinação (%)											
	Vácuo				Imersão				Substrato			
	SR		CR		SR		CR		SR		CR	
	Médias	PV	Médias	PV	Médias	PV	Médias	PV	Médias	PV	Médias	PV
0,0	78,5 abAB	0	79,3 abAB	0	72,5 abB	0	64,5 bC	0	78,5 aAB	0	84 aA	0
0,5	76,5 bA	-2,55	74,5 abA	-6,05	77,5 abA	6,9	75,5 abA	17,05	80,5 aA	2,55	76,5 aA	-8,93
1,0	85 aA	8,28	71 bB	-10,47	69,5 bB	-4,14	73 abB	13,18	74,5 aB	-5,09	75 aB	-10,71
2,0	76,4 bA	-2,7	79 abA	-0,38	74,5 abA	2,76	73,5 abA	13,95	74 aA	-5,73	78 aA	-7,14
4,0	81 abA	3,18	80,5 aA	1,51	80 aA	10,34	74,5 abA	15,5	78,5 aA	0	85 aA	1,19
8,0	80 abA	1,91	78 abA	1,64	77,3 abA	6,6	79,5 aA	23,25	71,5 aA	-8,92	82,5 aA	-1,78

Médias seguidas por uma mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Duncan ( $p < 0,05$ ).

SR = Sem reaplicação de AH; CR = Com reaplicação de AH; PV = Porcentagem de variação em relação ao controle.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 2, referentes ao efeito das doses de AH e dos métodos de aplicação na porcentagem de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação, o método de aplicação apresentou diferença significativa quando aplicada a dose de  $0,5 \text{ mM C.L}^{-1}$ , sendo o método de aplicação por imersão sem reaplicação de AH o que promoveu a maior porcentagem de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação (63%) e que também apresentou maior incremento em relação ao controle (50%).

Nos tratamentos utilizando aplicação direta no substrato com ou sem reaplicação de AH, observou-se uma redução na porcentagem de plântulas normais em relação ao controle para todas as doses testadas (Tabela 2). O que é um indicativo de que a solução de AH aplicada no substrato reduz a velocidade de germinação das sementes da espécie em estudo, possivelmente por uma diferença de potencial osmótico que retardaria a embebição das sementes, aumentando o tempo necessário para que estas passassem da Fase I para Fase II no processo de germinação (Carvalho e Nakagawa, 2012).

Para porcentagem de sementes não-germinadas não houve efeito significativo do método de aplicação de AH (Tabela 3). A menor porcentagem de sementes não-germinadas (12%) foi observada quando aplicada a dose de  $1,0 \text{ mM C.L}^{-1}$  utilizando vácuo sem reaplicação de AH como método de aplicação. No entanto, a menor redução na porcentagem de sementes não-germinadas em relação ao controle (-47,14%) ocorreu quando aplicada a dose de  $8,0 \text{ mM C.L}^{-1}$  utilizando como método de aplicação imersão por 24 horas com reaplicação de AH.

Sementes de *Brachiaria brizantha* cv. MG5 podem apresentar dormência, que nesta espécie é associada a causas físicas, provavelmente relacionadas a restrições de trocas gasosas impostas pela cobertura da semente, que inclui lema, pálea, pericarpo e tegumento (Cardoso et al., 2014). Sendo esta a possível causa dos resultados para porcentagem de sementes não-germinadas, uma vez que os tratamentos que favorecem a embebição foram os que apresentaram as maiores reduções na porcentagem de sementes não-germinadas.

Tabela 2 – Efeito dos ácidos húmicos na primeira contagem do teste de germinação.

Doses de AH (mM C.L <sup>-1</sup> )	Plântulas normais na 1ª contagem (%)											
	Vácuo				Imersão				Substrato			
	SR		CR		SR		CR		SR		CR	
	Médias	PV	Médias	PV	Médias	PV	Médias	PV	Médias	PV	Médias	PV
0,0	40 aA	0	36,5 aA	0	42 aA	0	43,5 aA	0	52 aA	0	50 aA	0
0,5	35 aB	-12,5	33,5 aB	-8,22	63 aA	50	41 aB	-5,75	45 aB	-13,46	33,5 bB	-33
1,0	42 aA	5	35 aA	-4,11	44,5 aA	5,95	52,5 aA	20,69	39 aA	-25	37 abA	-26
2,0	48,5 aA	21,25	45,5 aA	24,66	55,5 aA	32,14	51 aA	17,24	43,5 aA	-16,35	45 abA	-10
4,0	49 aA	22,5	40 aA	9,59	51,5 aA	22,62	40,5 aA	-6,89	47,5 aA	-8,65	40,5 abA	-19,5
8,0	47,5 aA	18,75	40 aA	9,59	46 aA	9,52	55,5 aA	27,59	45,5 aA	-12,5	34 bA	-32

Médias seguidas por uma mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Duncan ( $p < 0,05$ ).

SR = Sem reaplicação de AH; CR = Com reaplicação de AH; PV = Porcentagem de variação em relação ao controle.

Tabela 3 – Efeito dos ácidos húmicos na porcentagem de sementes não-germinadas.

Doses de AH (mM C.L <sup>-1</sup> )	Sementes não-germinadas (%)											
	Vácuo				Imersão				Substrato			
	SR		CR		SR		CR		SR		CR	
	Médias	PV	Médias	PV	Médias	PV	Médias	PV	Médias	PV	Médias	PV
0,0	16 abBC	0	14,5 aC	0	23,5 aB	0	35 aA	0	17,5 aBC	0	16,5aC	0
0,5	16,5 abA	3,12	19,5 aA	34,48	19,5 aA	-17,02	20,5 bA	-41,42	15 aA	-14,28	18,5aA	12,12
1,0	12 bA	-25	24 aA	65,51	22,5 aA	-4,25	24,5 abA	-30	19,5 aA	11,43	20,5aA	24,24
2,0	21,5 aA	34,37	17,5 aA	20,69	25 aA	6,38	23 bA	-34,28	21 aA	20	19,5aA	18,18
4,0	16 abA	0	17 aA	17,24	18 aA	-23,4	21 bA	-40	19,5 aA	11,43	13,5aA	-30,3
8,0	18,5 abA	15,62	16,5 aA	13,8	19,5 aA	-17,02	18,5 bA	-47,14	23 aA	31,43	15aA	-3,03

Médias seguidas por uma mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Duncan ( $p < 0,05$ ).

SR = Sem reaplicação de AH; CR = Com reaplicação de AH; PV = Porcentagem de variação em relação ao controle.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 4, o tempo médio de germinação foi influenciado pelo método de aplicação apenas quando aplicada a dose de 0,5 mM C.L<sup>-1</sup>, na qual o tratamento de imersão sem reaplicação de AH apresentou o menor tempo médio de germinação (4,18 dias). No entanto, a maior redução significativa (-6,6%) em relação ao controle foi observada na dose de 4,0 mM C.L<sup>-1</sup> utilizando vácuo sem reaplicação de AH como método de aplicação. Esse aumento na velocidade de germinação sem afetar a porcentagem de germinação, que foi observado quando utilizado o tratamento de vácuo provavelmente é devido ao fato de que quando as sementes são submetidas a este tipo de tratamento o processo de embebição ocorre em um período de tempo reduzido, o que conseqüentemente reduz a Fase I da germinação (Carvalho e Nakagawa, 2012).

Nos tratamentos utilizando aplicação direta no substrato como método de aplicação observou-se aumento no tempo médio de germinação em todas as doses testadas. Sendo o maior aumento significativo (16,7%) em relação ao controle quando aplicada a dose de 8,0 mM C.L<sup>-1</sup> diretamente no substrato sem reaplicação de AH.

Tabela 4 – Efeito dos ácidos húmicos no tempo médio de germinação.

Doses de AH (mM C.L <sup>-1</sup> )	Tempo de Médio de Germinação (dias)											
	Vácuo				Imersão				Substrato			
	SR		CR		SR		CR		SR		CR	
	Médias	PV	Médias	PV	Médias	PV	Médias	PV	Médias	PV	Médias	PV
<b>0,0</b>	4,85 aA	0	4,81 aA	0	4,54 aA	0	4,30 aA	0	4,61 bA	0	4,73 aA	0
<b>0,5</b>	5,09 aA	4,95	4,66 aAB	-3,12	4,18 aB	-7,93	4,58 aAB	6,51	4,86 abA	5,42	4,85 aA	2,54
<b>1,0</b>	4,62 abA	-4,75	5,05 aA	5	4,76 aA	4,86	4,37 aA	1,63	5,00 abA	8,46	5,02 aA	6,13
<b>2,0</b>	4,68 abA	-3,5	4,74 aA	-1,45	4,35 aA	-4,18	4,46 aA	3,72	5,02 abA	8,89	4,84 aA	2,32
<b>4,0</b>	4,53 bA	-6,6	4,66 aA	-3,12	4,60 aA	1,32	4,65 aA	8,14	5,16 abA	11,93	5,53 aA	16,91
<b>8,0</b>	4,67 abA	-3,71	4,70 aA	-2,29	4,89 aA	7,71	4,72 aA	9,77	5,38 aA	16,7	5,61 aA	18,6

Médias seguidas por uma mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Duncan ( $p < 0,05$ ).

SR = Sem reaplicação de AH; CR = Com reaplicação de AH; PV = Porcentagem de variação em relação ao controle.

## CONCLUSÕES

Os ácidos húmicos afetam positivamente a germinação de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. MG5, sendo que os melhores resultados para porcentagem de germinação e de sementes não-germinadas foram observados quando aplicada a dose de 1,0 mM C.L<sup>-1</sup> utilizando vácuo sem reaplicação de AH e para velocidade de germinação (1ª contagem) e tempo médio de germinação quando aplicada a dose de 0,5 mM C.L<sup>-1</sup> utilizando imersão sem reaplicação de AH.

## REFERÊNCIAS

- Azam, F., Malik, K. (1983) Effect of humic acid soaking seeds on seedling grown of wheat (*Triticum aestivum* L.) under different conditions. *Pakistan Journal of Botany*, 15(1):31-38.
- Brasil (2009) Ministério da Agricultura. *Regras para análises de sementes*. Brasília, DF: SNAD/DNDV/CLAV, 399p.
- Cardoso, E. D., Sá, M. E., Haga, K. I., Binotti, F. F. S., Nogueira, D. C., Valério Filho, W. V. (2014) Desempenho fisiológico e superação de dormência em sementes de *Brachiaria brizantha* submetidas a tratamento químico e envelhecimento artificial. *Semina: Ciências Agrárias*, 35(1):21-38.
- Carvalho, N. M., Nakagawa, J. (2012) *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. 5.pub. Jaboticabal: FUNEP.
- Dell'Amico, C., Masciandaro, G., Ganni, A., Ceccanti, B., Garcia, C., Hernandez, M. T., Costa, F. (1994) Effects of specific humic fractions on plant growth. In: Senesi, N., Miano, T. M. (eds.) *Humic Substances in the Global Environment and Implications on Human Health*, New York: Elsevier, p.563-566.

- Edmond, J. B., Drapala, W. J. (1958) The effects of temperature, sand and soil, and acetone on germination of okra seeds, *Proceedings of American Society of Horticultural Science*, 71:428-434.
- Eyheraguibel, B., Silvestre, J., Morard P. (2008) Effects of humic substances derived from organic waste enhancement on the growth and mineral nutrition of maize. *Bioresource Technology*, 99:4206-4212.
- Levinsky, B. (2013) All about humates. Focus on form. Disponível em: <http://www.teravita.com/Humates/HumateIntro.htm>. Acesso em janeiro de 2014.
- Martins, L., Silva, W. R. da. (2001). Comportamento da dormência em sementes de braquiária submetidas a tratamentos térmicos e químicos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 36(7), 997-1003.
- Matysiak, K., Kaczmarek, S., Krawczyk, R. (2011) Influence of seaweed extracts and mixture of humic and fulvic acids on germination and growth of *Zea mays* L. *Acta Scientiarum Polonorum, Agricultura*, 10(1):33-45.
- Petrovic, P., Vitorovic, D., Jablanovic, M. (1982) Investigations of biological effects of humic acids. *Acta Biol Med Exp*, 7:21-25.
- Vaughan D., Malcolm, R.E. (1985) Influence of humic substances on growth and physiological process. In: Vaughan, D., Malcolm, R.E. (eds.), *Soil Organic Matter and Biological Activity*. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, p. 37–75.
- Vieira, H. D., Barros, R. S. (1994) Responses of seed of *Stylosanthes humilis* to germination regulators. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, 92:17-20.
- Silva Filho, J. P. (2009) Qualidade de sementes de forrageiras. *Informativo ABRATES*, 19(2):81-82.



Sulc, R. M. (1998) Factors affecting forage stand establishment. *Scientia Agricola*, Piracicaba, 55 (esp.):110-115.

### 3.2 EFEITO DOS ÁCIDOS HÚMICOS EXTRAÍDOS DE VERMICOMPOSTO SOBRE O CRESCIMENTO INICIAL DE BRAQUIÁRIA

#### RESUMO

Os efeitos biológicos das substâncias húmicas sobre os vegetais dependem da fonte de extração e sua concentração utilizada, da espécie vegetal e da idade das plantas. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes doses de ácido húmico extraído de vermicomposto sobre o crescimento inicial de *Brachiaria brizantha* cv. MG5. Para isso, foram realizados teste de germinação em germinador, teste de emergência em casa de vegetação e teste de crescimento de plântulas em germinador. Para todos os testes utilizou-se 5 doses de AH [0,0; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0 mM C.L<sup>-1</sup>], com e sem reaplicação do AH. Foram avaliadas as características porcentagem de germinação, porcentagem de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação, porcentagem de plântulas anormais, porcentagem de sementes não germinadas, porcentagem de emergência, índice de velocidade de emergência, massa fresca e seca da parte aérea e das raízes, comprimento da parte aérea e das raízes e número de raízes laterais. O ácido húmico afeta positivamente o crescimento inicial de *Brachiaria brizantha* cv. MG5, sendo o melhor estímulo observado quando aplicada a dose de 2,0 mM C.L<sup>-1</sup>.

## ABSTRACT

The biological effects of humic substances on plants depend on the source of extraction and concentration used, the plant species and plant age. The objective of this study was to evaluate the effect of different doses of humic acid extracted from vermicompost on the initial growth of *Brachiaria brizantha* cv. MG5. For this, were performed germination test in germinator, emergency test in a greenhouse and test of seedling growth in germinator. For all tests was used 5 HA doses [0.0, 1.0, 2.0, 4.0 and 8.0 mM C.L<sup>-1</sup>], with or without reapplication of HA. Were assessed the percentage of germination, percentage of normal seedlings in the first count of germination, percentage of abnormal seedlings, percentage of non-germinated seeds, percentage of emergence, emergence velocity index, fresh and dry weight of shoot and roots, shoot length and roots and the number of lateral roots. The humic acid affects positively the initial growth of *Brachiaria brizantha* cv. MG5, being the best stimulus observed when applied dose of 2.0 mM C.L<sup>-1</sup>.

## INTRODUÇÃO

A matéria orgânica tanto de solos como de águas e sedimentos tem como componente principal as substâncias húmicas. Estas influenciam as propriedades químicas, físicas e biológicas e exercem efeito direto sobre o crescimento e metabolismo das plantas, especialmente sobre o sistema radicular (Nardi et al., 2002).

Os efeitos fisiológicos das substâncias húmicas mais estudados são sobre a promoção do crescimento radicular (Façanha et al., 2002; Rodda et al., 2006a; Zandonadi et al., 2007). Grande parte dos efeitos bioestimulantes do ácido húmico (AH) tem sido creditada à sua atividade similar a auxinas (Chen e Aviad, 1990; Canellas et al., 2002; Façanha et al., 2002). Sendo que estes efeitos sobre o desenvolvimento vegetal são dependentes do tipo da fonte de onde as substâncias húmicas são isoladas, do tipo e da idade das plantas e da concentração utilizada nos ensaios (Kononova, 1982; Santos e Camargo, 1999).

Testando a hipótese de que os ácidos húmicos afetam o crescimento de plantas de *Brachiaria brizantha* cv. MG5 em função da dose utilizada e da reaplicação da solução objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito de diferentes doses de ácidos húmicos extraídos de vermicomposto sobre o crescimento inicial de *Brachiaria brizantha* cv. MG5.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados separadamente dois experimentos em câmara de germinação do tipo BOD e em casa de vegetação para avaliar o efeito do AH no crescimento inicial de plântulas de braquiária. Todos os testes foram realizados com sementes comerciais de *Brachiaria brizantha* cv. MG5 ventiladas em soprador do tipo DeLeo com abertura de 4,8 cm a fim de remover impurezas e sementes vazias, obtendo a fração semente pura para a condução dos testes.

O ácido húmico utilizado foi extraído de vermicomposto obtido de coleção pessoal existente no Laboratório de Microbiologia Ambiental e Biotecnologia da Universidade de Vila Vella. Para a utilização nos experimentos, o AH liofilizado foi solubilizado com uma solução 0,1 mM NaOH e diluído utilizando uma solução 2 mM CaCl<sub>2</sub>, o pH da solução foi ajustado entre 5,8 e 6,0 e então procedida a diluição para obtenção das doses 0,0; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0 mM de C.L<sup>-1</sup> que foram utilizadas em todos os experimentos.

No primeiro experimento foram realizados testes de germinação em BOD e de emergência em casa de vegetação. As doses de AH foram aplicadas diretamente no substrato, com e sem reaplicação de AH. No tratamento com reaplicação de AH, o substrato foi reumedecido no sétimo e no décimo quarto dia com AH, sendo nos demais dias reumedecido quando necessário com água. E no tratamento sem reaplicação de AH o substrato foi reumedecido apenas com água durante todo o período de condução do teste.

### Teste de Germinação

Este teste foi conduzido de acordo com as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009), seguindo um delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições de 50 sementes cada, por tratamento. As sementes foram uniformemente distribuídas em caixas para germinação do tipo gerbox de 11 cm x 11 cm x 3,5 cm sobre 2 folhas de papel germiteste umedecidas com 5 ml da solução de AH. As gerbox contendo as sementes foram levadas para germinador do tipo BOD com fotoperíodo de 16/8 h (E/L) e com temperatura alternada de 20°C e 35°C, sendo 16 horas para a menor temperatura e 8 horas para a maior temperatura. O tratamento com reaplicação de AH foi reumedecido com 1,0 ml da solução de AH no sétimo e no décimo quarto dia.

As contagens foram realizadas no sétimo e no vigésimo primeiro dia após o início do teste, para avaliação de plântulas normais, plântulas anormais e sementes não germinadas.

### Teste de Emergência em Casa de Vegetação

O teste de emergência de plântulas em casa de vegetação seguiu o delineamento em blocos casualizados, com 4 blocos e foi estabelecido em bandejas plásticas perfuradas no fundo, utilizando como substrato solo classificado como latossolo amarelo distrófico misturado com areia na proporção de 2x1 (2 partes de solo para 1 parte de areia).

O substrato foi umedecido com 500 ml da solução de AH, volume este suficiente para atingir a capacidade de campo, então foram semeadas 50 sementes por bandeja a uma profundidade de 0,5 cm. O tratamento com reaplicação de AH foi reumedecido com 100 ml da solução de AH no sétimo dia.

Foram realizadas contagens diárias do número de plantas emergidas para o cálculo do índice de velocidade de emergência. A avaliação do total de plântulas emergidas foi realizada no 14º dia após a semeadura. No qual as plantas foram cuidadosamente retiradas das bandejas, cortadas separando-se a parte aérea das raízes, ambas foram acondicionadas em sacos de papel e pesadas em balança de precisão para determinação da massa fresca, em seguida, foi

procedida a determinação da massa seca de acordo com a metodologia descrita por Silva e Queiroz (2006).

O segundo experimento realizado em germinador teve como objetivo avaliar o comprimento da parte aérea e da raiz e a emissão de raízes secundárias de plântulas de braquiária tratadas com diferentes doses de AH aplicadas diretamente no substrato uma única vez antes da semeadura, sendo utilizado um volume de solução de 3 vezes o peso do papel. O substrato utilizado foi rolo de papel com 3 folhas de papel germiteste, no qual foi semeado 20 sementes de *Brachiaria brizantha* cv. MG5 por repetição, com 4 repetições por tratamento. Os rolos de papel foram acondicionados em sacos plásticos, que foram dispostos em bandejas plásticas, estas foram levadas para BOD onde foram colocadas de maneira que mantivessem uma inclinação de 45° para garantir a ação do geotropismo no crescimento das raízes. O teste foi conduzido com fotoperíodo de 16/8 h (E/L) e com temperatura alternada de 20°C e 35°C, sendo 16 horas para a menor temperatura e 8 horas para a maior temperatura. Após a germinação foram mantidas apenas 10 plântulas por repetição.

As avaliações foram realizadas no 14º dia após a semeadura. Foram realizadas medições da parte aérea e da raiz de todas as plantas. Em seguida, com o auxílio da lupa, foi contado o número de raízes secundárias por planta.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e a análise de regressão com o auxílio do programa ASSISTAT.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a variável porcentagem de germinação não foi verificado efeito da reaplicação de AH, onde se observou uma redução na porcentagem de germinação com o aumento das doses, sendo observada a maior redução dentro das doses testadas quando se aplicou a dose de 4,0 mM C.L<sup>-1</sup> (Figura 1). No entanto, na dose mais alta houve novamente um estímulo positivo do AH na porcentagem de germinação.

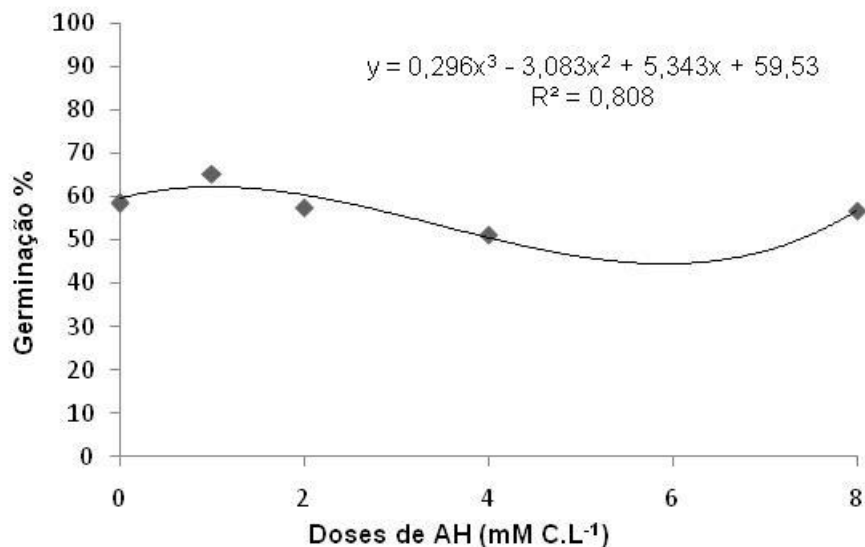


Figura 1 – Porcentagem de germinação de sementes de braquiária tratadas com diferentes doses de AH.

Este comportamento pode ter sido em função da bioatividade dos AH em sementes de braquiária ter sido afetada pelo grau de maturação das sementes, já que estas possuem uma maturação desuniforme dentro da panícula (Martins e Silva, 2001). Tendo presentes em um mesmo lote, sementes com diferentes graus de maturidade, o que vai influenciar a permeabilidade do tegumento e possivelmente a sensibilidade destas sementes às diferentes doses de AH.

Os resultados do presente estudo corroboram com os de Ayuso et al. (1996), que também observaram redução na porcentagem de germinação com o aumento das doses quando sementes de tabaco foram germinadas em substrato de papel umedecido com a solução de AH, sendo que esse efeito foi observado especialmente em sementes com maior sensibilidade a fatores exógenos negativos.

De acordo com Azam e Malik (1983), os melhores efeitos dos materiais húmicos na germinação de sementes ocorrem quando as sementes são imersas na solução antes da germinação e germinadas em água do que quando germinadas na solução de AH. Provavelmente porque as substâncias húmicas penetram nos tecidos das sementes durante a imersão (Ayuso et al., 1996).

Para plântula normal na 1ª contagem também foi observado efeito negativo com o aumento das doses de AH, sugerindo que há uma diminuição do vigor das sementes quando submetidas às doses mais altas de AH (Figura 2). Essa

diminuição de vigor indica uma redução na velocidade de germinação, que pode ser devido ao aumento no tempo de embebição provocado por uma diferença de potencial osmótico da solução de AH.

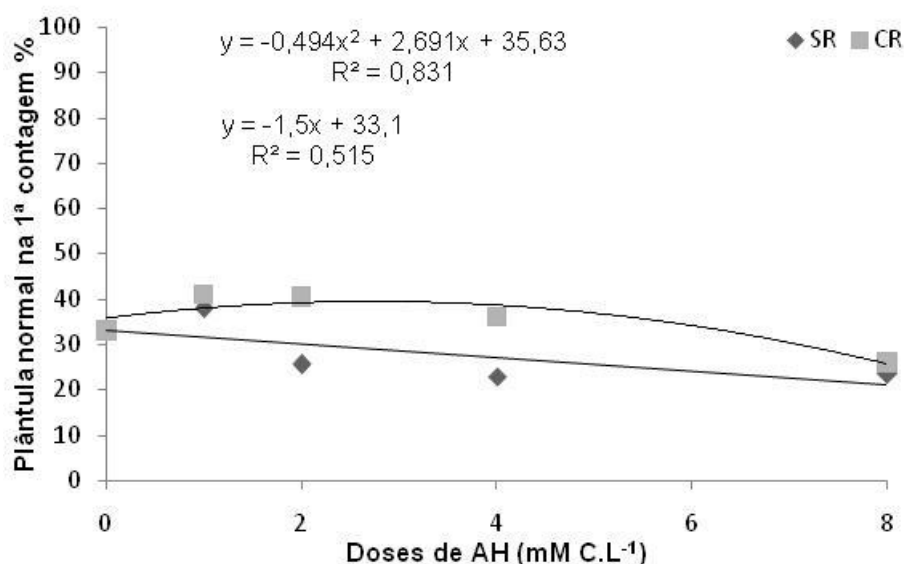


Figura 2 – Porcentagem de plântulas normais na 1ª contagem do teste de germinação de sementes de braquiária tratadas com diferentes doses de AH sem reaplicação (SR) ou com reaplicação (CR) de AH.

Outro fator que pode ter influenciado a resposta às doses de AH seria a sensibilidade das sementes desta espécie a condições externas, já que existem espécies com maior sensibilidade a fatores exógenos negativos, tais como sugeridos por Zucconi et al. (1985) para sementes de agrião e por Ayuso et al. (1996) para sementes de tabaco e agrião.

Observou-se efeito significativo da reaplicação de AH na porcentagem de plântulas anormais (Figura 3). Quando as sementes não foram submetidas à reaplicação de AH observou-se um aumento linear da porcentagem de plântulas anormais com o aumento das doses. No entanto, quando o AH foi reaplicado, observou-se o efeito contrário, tendo uma diminuição da porcentagem de plântulas anormais com o aumento das doses de AH.



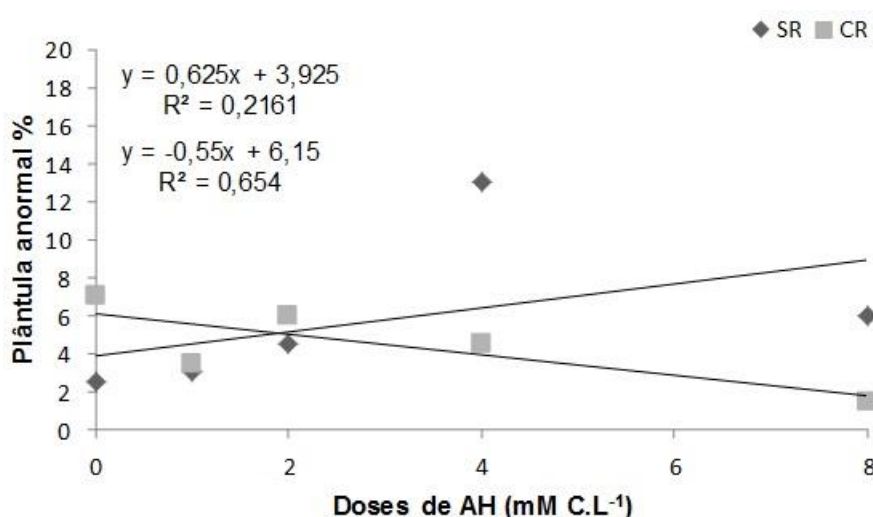


Figura 3 – Porcentagem de plântulas anormais no teste de germinação de sementes de braquiária tratadas com diferentes doses de AH sem reaplicação (SR) ou com reaplicação (CR) de AH.

A redução no percentual de plântulas anormais em função do aumento das doses quando o AH foi reaplicado pode ser explicada pelo fato de a solução de AH retardar a hidratação dos tecidos e as trocas gasosas, permitindo maior tempo para reparação ou reorganização das membranas plasmáticas, permitindo que os tecidos se formem de maneira mais ordenada e reduzindo os riscos de danos ao eixo embrionário (McDonald, 2000; Windauer et al., 2007), diminuindo com isso as chances de gerar plântulas anormais.

Não houve diferença significativa para as características porcentagem de sementes não-germinadas, porcentagem de emergência e índice de velocidade de emergência, nas quais não observou-se efeito de nenhuma das doses testadas em nenhum dos tratamentos.

Na tabela 1 são apresentados os dados de massa fresca e seca de parte aérea e de raiz e a variação percentual em relação ao controle em função das doses de AH e da reaplicação ou não da solução de AH. Os maiores incrementos na massa fresca tanto de parte aérea (19,48%) quanto de raiz (24,58%) foram observados quando aplicada a dose de 4,0 mM C.L<sup>-1</sup> sem reaplicação de AH.

No tratamento com reaplicação de AH observou-se um efeito positivo do AH, sendo que a dose de 8,0 mM C.L<sup>-1</sup> foi a que apresentou melhor resposta, aumentando a massa fresca de parte aérea (5,54%) e de raiz (16,56%) e massa seca de parte aérea (6,77%) e de raiz (12,5%) quando comparadas ao controle.

De uma maneira geral, verifica-se um incremento maior na massa fresca da parte aérea e raiz em relação à massa seca da parte aérea e raiz, indicando que o estímulo verificado no crescimento das plantas poderia ser hipoteticamente atribuído à ação dos ácidos húmicos sobre o alongamento celular por turgescência vacuolar (Rayle e Cleland, 1992).

Tabela 1 – Massa fresca e seca da parte aérea e da raiz de plantas de braquiária em resposta a diferentes doses de AH sem reaplicação ou com reaplicação de AH.

AH (mM C.L <sup>-1</sup> )	Massa fresca aérea (mg/pl)	Massa fresca radicular (mg/pl)	Massa seca aérea (mg/pl)	Massa seca radicular (mg/pl)
<b>Sem reaplicação de AH</b>				
0,0	99,33	64,37	8,06	5,56
1,0	104,46 (5,16)	63,67 (-1,09)	8,54 (5,95)	5,48 (-1,44)
2,0	102,29 (2,98)	52,79 (-17,99)	8,30 (2,98)	3,56 (-35,97)
4,0	118,68 (19,48)	80,19 (24,58)	7,86 (-2,48)	4,97 (-9,17)
8,0	92,52 (-6,85)	66,07 (2,64)	7,41 (-8,06)	4,50 (-19,06)
<b>Com reaplicação de AH</b>				
0,0	104,51	62,36	8,72	4,56
1,0	99,51 (-4,78)	71,94 (15,36)	8,56 (-1,83)	5,00 (9,65)
2,0	99,86 (-4,45)	60,88 (2,37)	8,23 (-5,62)	3,90 (-14,47)
4,0	90,91 (-13,01)	53,37 (-14,42)	8,04 (-7,80)	3,19 (-30,04)
8,0	110,30 (5,54)	72,69 (16,56)	9,31 (6,77)	5,13 (12,5)

Os valores entre parênteses representam a variação percentual em relação ao controle.

Na figura 4 são apresentados os dados de comprimento de parte aérea e de raiz. Não foi verificado efeito significativo de dose para comprimento de raiz. Já com relação ao crescimento de parte aérea foi possível observar dois picos de bioatividade do AH no crescimento das plântulas, sendo estes observados quando foram aplicadas as doses de 2,0 mM C.L<sup>-1</sup> e de 8,0 mM C.L<sup>-1</sup>.

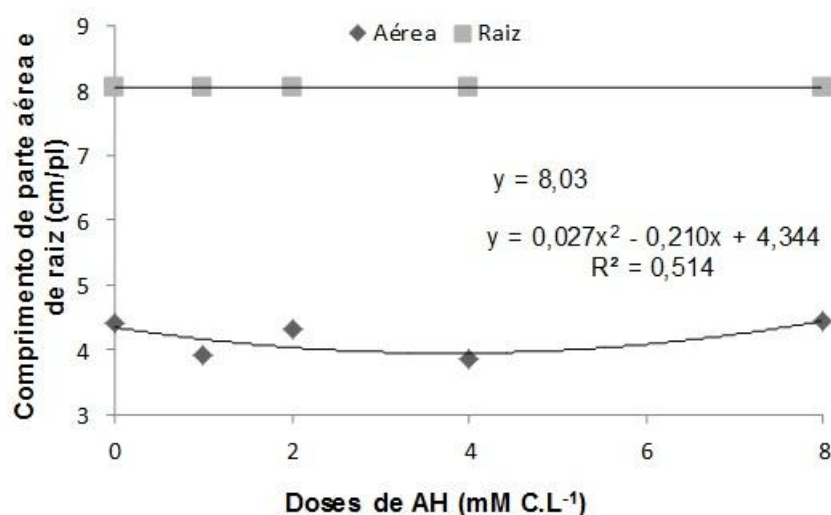


Figura 4 – Comprimento de parte aérea e de raiz de plântulas de braquiária em resposta a diferentes doses de AH.

Observou-se um efeito de dose no número de raízes laterais, no qual houve um aumento no número de raízes laterais com o aumento das doses, atingindo um máximo e diminuindo novamente na dose mais alta (Figura 5).

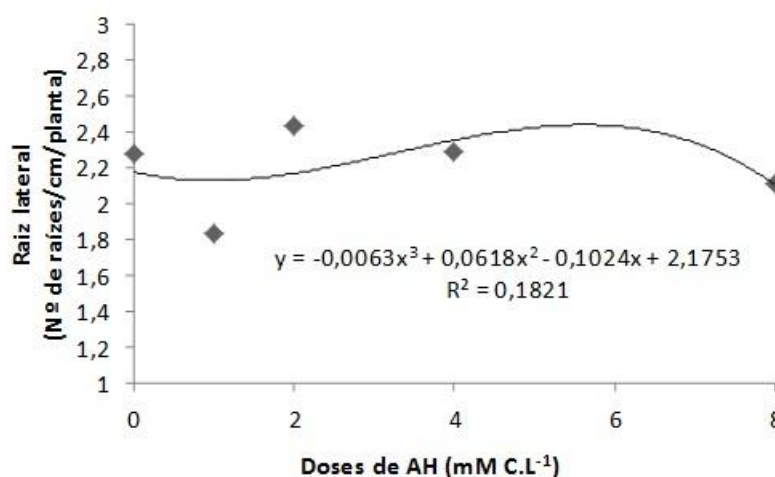


Figura 5 – Número de raízes laterais de plântulas de braquiária em resposta a diferentes doses de AH.

A matéria orgânica humificada extraída da vermicompostagem apresenta uma atividade hormonal comprovada (Muscolo et al., 1999; Canellas et al., 2002). A possível presença de substâncias indutoras de crescimento radicular do tipo auxinas no humato de vermicomposto promove o desenvolvimento de raízes laterais e de sítios meristemáticos (Rodda et al., 2006b).

## CONCLUSÃO

Os ácidos húmicos afetam positivamente o crescimento inicial de *Brachiaria brizantha* cv. MG5, sendo o melhor estímulo observado quando aplicada a dose de 2,0 mM C.L<sup>-1</sup>.

## REFERÊNCIAS

- Ayuso, M., Hernández, T. e García, C. Effect of Humic Fractions from Urban Wastes and Other More Evolved Organic Materials on Seed Germination. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.72, 1996, p.461-468.
- Azam, F. e Malik, K. Effect of humic acid soaking seeds on seedling grown of wheat (*Triticum aestivum* L.) under different conditions. *Pakistan Journal of Botany*, v.15, n.1, p. 31-38, 1983.
- Brasil. Ministério da Agricultura. *Regras para análises de sementes*. Brasília, DF: SNAD/DNDV/CLAV, 399p., 2009.
- Canellas, L P.; Olivares, F.L.; Façanha, A.L.O. e Façanha, A.R. Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity in maize roots. *Plant Physiology*, v.130, p.1951-1957, 2002.
- Chen, Y.; Aviad, T. Effects of humic substances on plant growth. In: Maccarthy, P., Clapp, C.E., Malcom, R.L., Bloom, P.R. (Eds.), *Humic Substances in Soils and Crop Science: Selected Readings*, Madison, *Soil Science Society of America*, p.161-1186, 1990.
- Edmond, J. B.; Drapala, W. J. The effects of temperature, sand and soil, and acetone on germination of okra seeds. *Proceedings of American Society of Horticultural Science*, v.71, p.428-434, 1958.
- Façanha, A.R.; Façanha, A.L.O.; Olivares, F.L.; Guridi, F.; Santos, G.A.; Velloso, A.C.X.; Rumjanek, V.M.; Brasil, F.; Schripsema, J.; Braz-Filho, R.; Oliveira, M.A.; Canellas, L.P. Bioatividade de ácidos húmicos: efeito sobre o desenvolvimento radicular e sobre a bomba de prótons da membrana plasmática. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.37, p.1301-1310, 2002.

- Kononova, M.M. *Materia orgánica del suelo: su naturaleza, propiedades y métodos de investigación*. Barcelona, Oikos-Tau, 364p., 1982.
- Martins, L.; Da Silva, W. R. Comportamento da dormência em sementes de braquiária submetidas a tratamentos térmicos e químicos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 36, n. 7, p. 997-1003, 2001.
- McDonald, M. B. Seed priming. In: Black, M., Bewley, J.D. (Ed.), *Seed Technology and Its Biological Basis*. Sheffield: *Sheffield Academic Press*, p. 287-325, 2000.
- Muscolo, A.; Bovalo, F.; Gionfriddo, F. e Nardi, S. Earthworm humic matter produces auxin-like effects on *Daucus carota* cell growth and nitrate metabolism. *Soil Biology & Biochemistry*, v.31, p.1303-1311, 1999.
- Nardi, S.; Pizzeghello, D.; Muscolo, A.; Vianello, A. Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biology & Biochemistry*, v.34, p. 1527-1536, 2002.
- Rayle, D.L. e Cleland, R.E. The acid growth theory of auxin-induced cell elongation is alive and well. *Plant Physiology*, v.99, p.1271-1274, 1992.
- Rodda, M.R.C.; Canellas, L.P.; Façanha, A.R.; Zandonadi, D.B.; Guerra, J.G.M.; Almeida, D.L.; Santos, G.A. Estímulo no crescimento e na hidrólise de ATP em raízes de alface tratadas com humatos de vermicomposto I. Efeito de doses de humatos. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, v.30, p.649-656, 2006a.
- Rodda, M.R.C.; Canellas, L.P.; Façanha, A.R.; Zandonadi, D.B.; Guerra, J.G.M.; Almeida, D.L.; Santos, G.A. Estímulo no crescimento e na hidrólise de ATP em raízes de alface tratadas com humatos de vermicomposto. I - Efeito da concentração. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, v.30, p.649-656, 2006b.
- Santos, G.A., Camargo, F.A.O. Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais. Santos, G.A., Camargo, F.A.O. (eds). Porto Alegre: *Genesis*, 508p., 1999.

Silva, D.J.; Queiroz, A.C. *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*. 3.ed. Viçosa, MG: UFV, 235p., 2006.

Windauer, L.; Altuna, A.; Benech-Arnold, R. Hydrotime analysis of *Lesquerella fendleri* seed germination responses to priming treatments. *Industrial Crops and Products*, v. 25, n. 01, p. 70-74, 2007.

Zandonadi, D.B.; Canellas, L.P.; Façanha, A.R. Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted plasmalemma and tonoplast H<sup>+</sup> pumps activation. *Planta*, v.225, p.1583-1595, 2007.

Zucconi, F.; Monaco, A.; Forte M. Phytotoxins during the stabilization of organic matter. In: *Composting of Agricultural and Other Wastes*. Ed Gasser JKR. *Elsevier*, London, UK, p. 73-86, 1985.



#### 4.0 RESUMO E CONCLUSÕES

O crescente uso de gramíneas forrageiras tem estimulado o desenvolvimento da indústria de sementes no Brasil, dentre as espécies utilizadas a que vem obtendo destaque é a *Brachiaria brizantha* cv. MG-5.

O tratamento de sementes com ácido húmico tem proporcionado efeitos positivos na germinação, reduzindo o tempo antes da germinação das sementes, promovendo maior porcentagem de germinação e maior comprimento da raiz durante os estágios iniciais de crescimento de plantas.

Assim, o objetivo desse estudo foi identificar o método mais eficiente de aplicação de ácido húmico e determinar a concentração ótima para germinação, emergência e crescimento de plântulas de *Brachiaria brizantha* cv. MG5.

Para tanto, este trabalho foi dividido em dois capítulos. No capítulo 1 o objetivo foi identificar o método mais eficiente de aplicação de ácido húmico (AH) e determinar a concentração ótima para germinação de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. MG5. Foram testadas 6 doses de AH [0,0; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0 mM C.L<sup>-1</sup>] e 3 métodos de aplicação [vácuo, imersão e aplicação direta no substrato] com ou sem reaplicação do AH, com 4 repetições de 50 sementes cada.

As sementes foram submetidas ao teste de germinação em germinador, no qual se avaliou a porcentagem de germinação, de plântulas normais na primeira contagem e de sementes não-germinadas e o tempo médio de germinação.

No capítulo 2, o objetivo foi avaliar o efeito de diferentes doses de ácido húmico extraído de vermicomposto no crescimento inicial de *Brachiaria brizantha* cv. MG5. Para isso, foram realizados teste de germinação em germinador, teste de emergência em casa de vegetação e teste de crescimento de plântulas em germinador. Para todos os testes utilizou-se 5 doses de AH [0,0; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0 mM C.L<sup>-1</sup>], com e sem reaplicação do AH.

Foram avaliadas as características, porcentagem de germinação, porcentagem de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação, porcentagem de plântulas anormais, porcentagem de sementes não-germinadas, porcentagem de emergência, índice de velocidade de emergência, massa fresca e seca da parte aérea e das raízes, comprimento da parte aérea e das raízes e número de raízes laterais.

Em relação ao experimento do capítulo 1 conclui-se que: os ácidos húmicos afetam positivamente a germinação de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. MG5, sendo que os melhores resultados para porcentagem de germinação e de sementes não-germinadas foram observados quando aplicada a dose de 1,0 mM C.L<sup>-1</sup> utilizando vácuo sem reaplicação de AH e para velocidade de germinação (1ª contagem) e tempo médio de germinação quando aplicada a dose de 0,5 mM C.L<sup>-1</sup> utilizando imersão sem reaplicação de AH.

Em relação aos experimentos do capítulo 2 conclui-se que: os ácidos húmicos afetam positivamente o crescimento inicial de *Brachiaria brizantha* cv. MG5, o melhor estímulo foi observado quando aplicada a dose de 2,0 mM C.L<sup>-1</sup>.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrade, R. V., Auzza, S. A. Z., Andreoli, C., Netto, D. A. M., Oliveira, A. C. (2001) Qualidade fisiológica das sementes do milho híbrido simples HS 200 em relação ao tamanho. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, 25(3):576-582.
- Ayuso, M., Hernández, T., García, C. (1996) Effect of Humic Fractions from Urban Wastes and Other More Evolved Organic Materials on Seed Germination. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 72:461-468.
- Azam, F., Malik, K. (1983) Effect of humic acid soaking seeds on seedling grown of wheat (*Triticum aestivum* L.) under different conditions. *Pakistan Journal of Botany*, 15(1):31-38.
- Bewley, J. D. (1997) Seed germination and dormancy. *The Plant Cell*, Horsham, 9(7):1055-1066.
- Bewley, J. D., Black, M. (1994) *Seeds: physiology of development and germination*. New York:Plenum Press, 445p.
- Brasil (2009) Ministério da Agricultura. *Regras para análises de sementes*. Brasília, DF: SNAD/DNDV/CLAV, 399p.

- Canellas, L. P., Olivares, F. L., Façanha, A. L. O., Façanha, A. R. (2002) Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity in maize roots. *Plant Physiology*, 130:1951-1957.
- Cardoso, E. D., Sá, M. E., Haga, K. I., Binotti, F. F. S., Nogueira, D. C., Valério Filho, W. V. (2014) Desempenho fisiológico e superação de dormência em sementes de *Brachiaria brizantha* submetidas a tratamento químico e envelhecimento artificial. *Semina: Ciências Agrárias*, 35(1):21-38.
- Carvalho, N. M., Nakagawa, J. (2012) *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. 5.pub. Jaboticabal: FUNEP, 590p.
- Chen, Y., Aviad, T. (1990) Effects of humic substances on plant growth. In: Maccarthy, P., Clapp, C.E., Malcom, R.L., Bloom, P.R. (Eds.), *Humic Substances in Soils and Crop Science: Selected Readings*, Madison, *Soil Science Society of America*, p.161-1186.
- Chen, Y., Clapp, C. E., Magen, H. (2004) Mechanisms of plant growth stimulation by humic substances: The role of organo-iron complex. *Soil Science Plant Nutrition*, 50:1089-1095.
- David, P. P., Nelson, P. V., Sanders, D. C. (1994) A humic acid improves growth of tomato seedlings in solution culture. *Journal of Plant Nutrition*, 17:173–184.
- Dell'Amico, C., Masciandaro, G., Ganni, A., Ceccanti, B., Garcia, C., Hernandez, M. T., Costa, F. (1994) Effects of specific humic fractions on plant growth. In: Senesi, N., Miano, T. M. (eds.) *Humic Substances in the Global Environment and Implications on Human Health*, New York: Elsevier, p.563-566.
- Edmond, J. B., Drapala, W. J. (1958) The effects of temperature, sand and soil, and acetone on germination of okra seeds, *Proceedings of American Society of Horticultural Science*, 71:428-434.

- Egley, G. H. (1999) Reflections on my career in weed seed germination research. *Seed Science Research*, Cambridge, 9(1):3-12.
- Eyheraguibel, B., Silvestre, J., Morard P. (2008) Effects of humic substances derived from organic waste enhancement on the growth and mineral nutrition of maize. *Bioresource Technology*, 99:4206-4212.
- Façanha, A. R., Façanha, A. L. O., Olivares, F. L., Guridi, F., Santos, G. A., Velloso, A. C. X., Rumjanek, V. M., Brasil, F., Schripsema, J., Braz-Filho, R., Oliveira, M. A., Canellas, L. P. (2002) Bioatividade de ácidos húmicos: efeito sobre o desenvolvimento radicular e sobre a bomba de prótons da membrana plasmática. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 37:1301-1310.
- Hartwigsen, J. A., Evans, M. R. (2000) Humic Acid Seed and Substrate Treatments Promote Seedling Root Development. *HortScience*, 35(7):1231–1233.
- Höfs, A., Schuch, L. O. B., Peske, S. T., Barros, A. C. S. A. (2004) Emergência e crescimento de plântulas de arroz em resposta à qualidade fisiológica de sementes. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, 26(1):92-97.
- IBGE (2007) *Censo Agropecuário 2006: Resultados Preliminares*. IBGE: Rio de Janeiro, p.1-146.
- Islam, K. M. S., Schuhmacher, A., Gropp, J. M. (2005) Humic acid substances in animal agriculture. *Pakistan Journal of Nutrition*, 4(3):126-134.
- ISTA. International Seed Testing Association International (2006) *Rules for Seed Testing*, Basseldorf, Switzerland, 303p.
- Jank, L., Resende, R. M. S., Valle, C. B. (2005) Genética em pastagem. *Revista USP*, São Paulo, 22(1):87-93.

- Kavitha, B., Doraisamy, P., Maheswari, M. (2013) Evaluating the efficiency of Allwin wonder and Allwin top on germination of crop seeds and Vigour index. *IJLSE*, 1(2):57-63.
- Kononova, M. M. (1982) *Materia orgánica del suelo: su naturaleza, propiedades y métodos de investigación*. Barcelona, Oikos-Tau, 364p.
- Levinsky, B. (2013) All about humates. Focus on form. Disponível em: <http://www.teravita.com/Humates/HumateIntro.htm>. Acesso em janeiro de 2014.
- Macedo, M. C. M., Zimmer, A. H., Kichel, A. N., de Almeida, R. G., de Araújo, A. R. (2014). DEGRADAÇÃO DE PASTAGENS, ALTERNATIVAS DE RECUPERAÇÃO E RENOVAÇÃO, E FORMAS DE MITIGAÇÃO. In: *Embrapa Gado de Corte-Artigo em anais de congresso (ALICE)*. In: ENCONTRO DE ADUBAÇÃO DE PASTAGENS DA SCOT CONSULTORIA-TEC-FÉRTIL, 1., 2013, Ribeirão Preto, SP. Anais... Bebedouro: Scot Consultoria, 2013. p. 158-181.
- Machado, C. F., Oliveira, J. A., Davide, A. C., Guimarães, R. M. (2002) Metodologia para a condução do teste de germinação em sementes de ipê-amarelo. *Cerne*, Lavras, 8(2):18-27.
- Malik, K. A., Azam, F. (1985) Effect of humic acid on wheat (*Triticum aestivum* L.) seedling growth. *Environmental and Experimental Botany*, 25:245–252.
- Marcos Filho, J. (1999) Testes de vigor: importância e utilização. In: Krzyzanowski, F. C., Vieira, R. D., França-Neto, J. B. (Ed.) *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: ABRATES, p.1.1-1.21.
- Marcos Filho, J., Cícero, S. M.; Silva, W. R. (1987) *Avaliação da qualidade de sementes*. Piracicaba: FEALQ, 230p.

- Martins, L., Da Silva, W. R. (2001) Comportamento da dormência em sementes de braquiária submetidas a tratamentos térmicos e químicos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 36(7):997-1003.
- Matysiak, K., Kaczmarek, S., Krawczyk, R. (2011) Influence of seaweed extracts and mixture of humic and fulvic acids on germination and growth of *Zea mays* L. *Acta Scientiarum Polonorum, Agricultura*, 10(1):33-45.
- McDonald, M. B. (2000) Seed priming. In: Black, M., Bewley, J. D. (Ed.), *Seed Technology and Its Biological Basis*. Sheffield: *Sheffield Academic Press*, p. 287-325.
- Muscolo, A., Bovalo, F., Gionfriddo, F., Nardi, S. (1999) Earthworm humic matter produces auxin-like effects on *Daucus carota* cell growth and nitrate metabolism. *Soil Biology & Biochemistry*, 31:1303-1311.
- Nakagawa, J. (1999) Testes de vigor baseados na avaliação de plântulas. In: Krzyzanowski, F. C., Vieira, R. D., França-Neto, J. B. (ed.). *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: ABRATES, p.2:1-2:21.
- Nakagawa, J. (1994) Testes de vigor baseados no crescimento de plântulas. In: Vieira, R. D., Carvalho, N. M. de. *Testes de vigor em sementes*. Jaboticabal: FUNEP, 164p.
- Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A., Vianello, A. (2002) Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biology & Biochemistry*, 34:1527-1536.
- Oliveira, A. C. S., Martins, G. N. M., Silva, R. F., Vieira, H. D. (2009) Testes de vigor em sementes baseados no desempenho de plântulas. *Revista Interscience Place* (online), 4:1-21.

- Paulino, T. S., Tshako, A. T., Paulino, V. T. (2004) Efeito do estresse hídrico e da profundidade de semeadura na emergência de *Brachiaria brizantha* cv. MG-5. *Revista Científica Eletrônica de Agronomia*, 5 ed.
- Petrovic, P., Vitorovic, D., Jablanovic, M. (1982) Investigations of biological effects of humic acids. *Acta Biol Med Exp*, 7:21-25.
- Pinton, R., Cesco, S., Santi, S., Agnolon, F., Varanini, Z. (1999) Water extractable humic substances enhance iron deficiency response by Fe deficient cucumber plants. *Plant Soil*, 210:145-157.
- Rayle, D. L., Cleland, R. E. (1992) The acid growth theory of auxin-induced cell elongation is alive and well. *Plant Physiology*, 99:1271-1274.
- Rocha, J. C., Rosa, A. H. (2003) *Substâncias húmicas aquáticas: Interação com espécies metálicas*. São Paulo:UNESP, 120p.
- Rodda, M. R. C., Canellas, L. P., Façanha, A. R., Zandonadi, D. B., Guerra, J. G. M., Almeida, D. L., Santos, G. A. (2006a) Estímulo no crescimento e na hidrólise de ATP em raízes de alface tratadas com humatos de vermicomposto I. Efeito de doses de humatos. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, 30:649-656.
- Rodda, M. R. C., Canellas, L. P., Façanha, A. R., Zandonadi, D. B., Guerra, J. G. M., Almeida, D. L., Santos, G. A. (2006b) Estímulo no crescimento e na hidrólise de ATP em raízes de alface tratadas com humatos de vermicomposto. I - Efeito da concentração. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*, 30:649-656.
- Russo, R. O., Berlyn, G. P. (1990) The use of organic biostimulants to help low input sustainable agriculture. *Agronomy for Sustainable Development*, Versailles, 1(2):19-42.



- Sanders, D. S., Ricotta, J. A., Hodges, L. (1990) Improvement of carrot stands with plant biostimulants and fluid drilling. *Hort Science*, St. Joseph, 25(2):181-183.
- Santos, G. A., Camargo, F. A. O. (1999) Fundamentos da matéria orgânica do solo: ecossistemas tropicais e subtropicais. Santos, G. A., Camargo, F. A. O. (eds). Porto Alegre: Genesis, 508p.
- Silva, D.J., Queiroz, A.C. (2006) *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*. 3.ed. Viçosa, MG: UFV, 235p.
- Silva Filho, J. P. (2009) Qualidade de sementes de forrageiras. *Informativo ABRATES*, 19(2):81-82.
- Sulc, R. M. (1998) Factors affecting forage stand establishment. *Scientia Agricola*, Piracicaba, 55 (esp.):110-115.
- Tan, K. H., Nopamornbodi,V. (1979) Effect of different humic acids on nutrient content and growth of corn. *Plant and Soil*, 51:283–287.
- Valle, C.B., Jank, L., Resende, R.M.S., Bonato, A.L.V. (2003) Lançamentos de cultivares forrageiras: o processo e seus resultados – cvs. Massai, Pojuca, Campo Grande, Xaraés. In: Anais do Simpósio de Forragicultura e Pastagens, 4, Lavras: NEFOR/UFLA, p. 179-225.
- Valle, C.B.; Euclides, V.P.B.; Pereira, J.M.; Valério, J.R.; Pagliarini, M.S.; Macedo, M.C.M.; Leite, G.G.; Lourenço, A.J.; Fernandes, C.D.; Dias Filho, M.B.; Lempp, B.; Pott, A.; Souza, M.A. (2004) *O Capim-Xaraés (Brachiaria brizantha cv. Xaraés) na diversificação das pastagens de braquiária*. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 36p.
- Vaughan D., Malcolm, R.E. (1985) Influence of humic substances on growth and physiological process. In: Vaughan, D., Malcolm, R.E. (eds.), *Soil Organic*

- Matter and Biological Activity*. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, p. 37–75.
- Vaughan, D., Linehan, D. J. (1976) The growth of wheat plants in humic acid solutions under axenic conditions. *Plant and Soil*, 44:445–449.
- Vieira, H. D., Barros, R. S. (1994) Responses of seed of *Stylosanthes humilis* to germination regulators. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, 92:17-20.
- Windauer, L., Altuna, A., Benech-Arnold, R. (2007) Hydrotime analysis of *Lesquerella fendleri* seed germination responses to priming treatments. *Industrial Crops and Products*, 25(01):70-74.
- Zandonadi, D.B., Canellas, L.P., Façanha, A.R. (2007) Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted plasmalemma and tonoplast H<sup>+</sup> pumps activation. *Planta*, 225:1583-1595.
- Zucconi, F., Monaco, A., Forte M. (1985) Phytotoxins during the stabilization of organic matter. In: *Composting of Agricultural and Other Wastes*. Ed Gasser JKR. Elsevier, London, UK, p. 73-86.