

DORMÊNCIA EM SEMENTES DE MARIA-PRETINHA¹

ÂNGELA MARIA LADEIRA²

RESUMO - Maria-pretinha (*Solanum americanum* Mill.) é uma planta invasora que produz nos campos grande quantidade de sementes com alta porcentagem de germinação e viabilidade. Entretanto, suas sementes apresentam dormência quando recém-coletadas e colocadas para germinar em temperaturas constantes de 25°C. O objetivo do presente trabalho foi determinar os fatores responsáveis pela quebra dessa dormência. Os resultados mostraram que: sob temperaturas constantes as sementes são fotoblásticas positivas, germinando bem a 15° e 30°C, mas não nas temperaturas intermediárias analisadas. O armazenamento levou a uma perda de dormência. Temperaturas alternadas representaram o fator principal para que as sementes apresentassem alta porcentagem de germinação, tanto na luz como no escuro. As sementes recém-coletadas sofreram também a ação de inibidores presentes nos frutos, substâncias, essas, que, pelas análises feitas, não corresponderam a compostos fenólicos, a alcalóides ou a ácido abscísico. Os extratos inibiram também a germinação de sementes de alface, o que indica que as substâncias presentes nos frutos também podem prejudicar a adaptação de outras espécies.

Termos para indexação: *Solanum americanum*, germinação, temperatura, inibidores de germinação.

SEED DORMANCY IN NIGHTSHADE

ABSTRACT - Nightshade (*Solanum americanum* Mill.) is a weed with high percentage of germination and viability under natural conditions. Freshly collected seeds, submitted to a constant temperature of 25°C, show a state of dormancy. This study aims at identifying the factors responsible for breaking this dormancy. Under constant temperatures, the seeds are positively photoblastic and germinate well at temperatures of 15 and 30°C - though not at the intermediate temperatures tested. Storage leads to a loss of dormancy, and alternate temperatures are the main factor in the seeds to display a high percentage of germination in both darkness and light. Freshly collected seeds also suffer the effects of inhibitors in the fruits; analysis shows that these inhibitors do not correspond to phenolic compounds, alkaloids or abscisic acid. As germination of lettuce seed was also inhibited, the compounds present in the nightshade fruits could also be affecting the adaptation of other species.

Index terms: *Solanum americanum*, germination, temperature, germination inhibitors.

INTRODUÇÃO

Solanum americanum Mill. é uma planta cosmopolita invasora de culturas, conhecida popularmente como "maria-pretinha" (Lorenzi, 1991).

Sementes de *Solanum americanum* e de outras solanáceas nativas, sejam elas invasoras, medicinais ou utilizadas na alimentação, mostram dormência

quando recém-coletadas e submetidas a temperaturas constantes (Engelhardt et al., 1961).

O processo de dormência e suas mudanças sazonais estão relacionadas à persistência de sementes no solo, e, conseqüentemente, aos problemas observados de contaminação de culturas (Reisman-Berman et al., 1991).

Sementes de ervas anuais enterradas passam por ciclos anuais de maior ou menor dormência. Essas mudanças são atribuídas à variação sazonal na temperatura, mas a germinação depende também da pre-

¹ Aceito para publicação em 29 de julho de 1997.

² Bióloga, Dr^a, Instituto de Botânica, Seção de Fisiologia e Bioquímica, Caixa Postal 4005, CEP 01061-970 São Paulo, SP.

sença de luz, da umidade do solo, do regime de precipitação, de práticas culturais, e da profundidade de enterramento das sementes.

O manejo de plantas invasoras está relacionado ao conhecimento da ocorrência de dormência em sementes enterradas, aos padrões sazonais dessa dormência, e às relações entre a emergência e as condições ambientais no campo.

Temperaturas alternadas e armazenamento quebram a dormência em *Solanum nigrum* L., *Solanum ciliatum* Lam., *S. chloranthum* DC, *S. dulcamara* L. e *Datura ferox*. Outras espécies, tais como *Solanum mauritianum* e *Datura stramonium*, necessitam de pós-maturação (Engelhardt et al., 1961; Vicente et al., 1970; Vicente, 1972; Roberts & Lockett, 1977; Villar, 1982; Campbell & Staden, 1983; Scopel et al., 1991).

Givelberg et al. (1984) mostraram que sementes de *Solanum nigrum* originadas em Israel não possuíam dormência quando recém-coletadas, eram fotoblásticas positivas sob temperaturas constantes, e que o armazenamento levava à perda de viabilidade.

Tendo em vista a alta frequência de *S. americanum* em campos cultivados (Felippe & Polo, 1983) e o pequeno número de informações sobre sua germinação (Engelhardt et al., 1961; Vicente et al., 1970), torna-se necessário a realização de estudos mais detalhados para subsidiar o seu manejo.

Outro aspecto a ser considerado é a comprovação da presença de inibidores em suas sementes e frutos (Engelhardt et al., 1961). Além de estarem relacionadas com a dormência de algumas sementes, substâncias inibidoras podem prejudicar a germinação e o crescimento de outras espécies.

Entre os inibidores de germinação e crescimento, a substância mais estudada é o ácido abscísico (ABA); entretanto, grande variedade de compostos químicos podem agir como inibidores, como os fenóis e seus derivados, alcalóides, terpenóides, saponinas e outros (Mayer & Poljakoff-Mayer, 1975; Harborne, 1978, 1988).

Para que o efeito alelopático ocorra, as substâncias têm de estar acumuladas no solo numa quantidade suficiente, e ter estabilidade por tempo necessário para exercer sua ação. Esse é o motivo da dificuldade do estudo da alelopatia (Swain, 1977).

O presente trabalho teve o objetivo de determinar os fatores responsáveis pela quebra da dormência de sementes de *Solanum americanum*.

MATERIAL E MÉTODOS

Fatores exógenos que determinam a germinação

Sementes e frutos de *Solanum americanum* Mill. foram coletados anualmente, de 1983 a 1990, de plantas existentes no Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP.

Os ensaios de germinação foram realizados com sementes lavadas (durante 24 e 48 horas em água corrente e depois secadas a 25°C) e não lavadas, recém-coletadas e armazenadas em frascos de vidro por quatro, oito e doze meses.

Foram utilizadas placas-de-Petri (9 cm) com duas folhas de papel de filtro, 50 sementes por placa e 7 mL de água destilada, no início do experimento. Cada tratamento foi feito com cinco repetições. Os ensaios foram realizados em câmaras B.O.D. da Fanem, mod. FG 347. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado.

Estudaram-se os efeitos: 1) da luz fluorescente branca de 437 $\mu\text{w cm}^{-2}$ e dos fotoperíodos de 8, 12 e 16 horas; 2) de temperaturas constantes (15, 20, 25 e 30°C) e alternadas (15/25; 10/25; 10/15 e 20/30°C); 3) do número de ciclos de temperaturas alternadas, e 4) da escarificação mecânica em moinho de bola com areia 1:5, por 20 minutos.

Para determinar a embebição das sementes, estas foram pesadas em balança analítica Mettler Type 415, no início da embebição e após 30 minutos, uma, duas, três, quatro, cinco, seis, dezoito, vinte e quatro, trinta e cinquenta horas.

Também foi observada a emergência de 100 sementes em solo.

Lotes de sementes que se mostraram dormentes foram submetidos ao teste de tetrazólio 0,5% a 30°C no escuro, por 24 horas, de acordo com Delouche et al. (1962).

Deteção de inibidores de germinação

Foram obtidos extratos aquosos e metanólicos de frutos (1 g/mL), para deteção de inibidores de germinação. A atividade dos extratos de frutos foi analisada no ensaio de germinação de sementes de maria-pretinha e no bioensaio da germinação de sementes de alfaca "grand rapids", realizado com cinco lotes de cinco placas-de-Petri (5 cm), com 50 sementes por placa a 25°C, e luz constante durante 24 horas. Foram testados extratos concentrados e diluídos a 1:5 e 1:10.

Foi determinado o teor de fenóis nos extratos segundo Swain & Hillis (1959) e Bate-Smith (1972). Os extratos

aqueos dos frutos após filtração e concentração foram submetidos à partição, com acetato de etila. A fração orgânica obtida foi submetida à análise qualitativa, por cromatografia em papel Whatman nº 1 de 19 x 20 cm. A fração aquosa foi descartada. Os cromatogramas foram desenvolvidos em n-butanol:ácido acético:água (4:1:5); clorofórmio:ácido acético:água (13:6:1), e em isopropanol:amônia:água (8:1:1) (Harborne, 1989). O material aplicado foi equivalente a 30 mg de fenol. A revelação foi feita com o reagente de Folin-Denis para detecção de fenóis, com etanol:ácido sulfúrico 10% e observação na luz ultra-violeta, para alcalóides; e pelo bioensaio de germinação de alface, para detecção da atividade biológica. Neste caso, o cromatograma era dividido em faixas de 1 cm, nas quais as sementes de alface eram colocadas.

Os extratos metanólicos foram submetidos a fracionamento para detecção de substâncias endógenas segundo Válio & Schwabe (1970). As frações ácida, básica e neutra obtidas foram submetidas a cromatografia descendente em papel Whatman nº 1 em isopropanol:amônia:água (10:1:1). Usou-se o bioensaio do hipocótilo de alface descrito em Frankland & Wareing (1960).

Foi feita a análise de variância após a transformação dos dados em arco seno raiz da porcentagem (Snedecor & Cochran, 1967).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fatores exógenos que determinam a germinação

Sementes não lavadas não germinaram; as recém-coletadas, lavadas por 24 e 48 horas, mostram, respectivamente, 12 e 10% de germinação sob luz a 25°C. No escuro, nenhuma semente germinou. No solo, as sementes, lavadas ou não, apresentaram 94% de germinação após nove dias. No caso das sementes não lavadas, a troca de papel de dois em dois, ou de cinco em cinco dias permitiu o início da germinação no sexto dia, atingindo um máximo de 12% no décimo dia. Esses dados indicam que as sementes possuem algum inibidor, que é, em parte, retirado pela lavagem. Entretanto, tendo em vista a baixa germinação observada no laboratório e o dado obtido em solo, tornou-se evidente que outros meios precisam ser utilizados para a quebra de dormência.

Sementes intactas embeberam rapidamente, chegando a 55% do peso seco inicial em seis horas,

mantendo esse nível após 24 horas, com pequeno aumento entre 30 e 50 horas. A escarificação mecânica não alterou a porcentagem de germinação. Esses dois fatos indicam que apesar da relativa dureza do tegumento não há problemas para absorção da água. Dados semelhantes foram mostrados por Givelberg et al. (1984), que analisaram inclusive o efeito da temperatura na absorção da água, mostrando que temperaturas mais altas aumentam a porcentagem da embebição.

O armazenamento das sementes do lote de 1986 levou a um aumento na porcentagem de germinação a 25°C, sob luz constante (Fig. 1); não houve germinação no escuro. A perda de dormência após o armazenamento já havia sido mostrada em *Solanum dulcamara*, armazenada a 4°C, com uni-

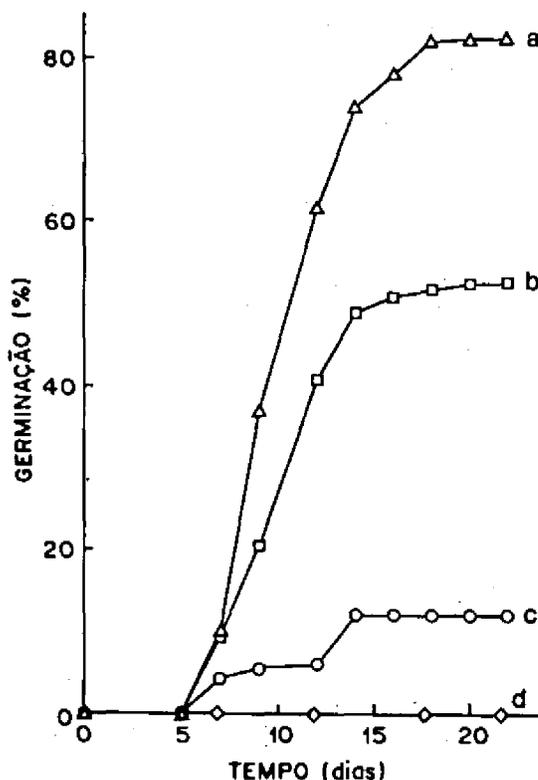


FIG. 1. Germinação de sementes de *Solanum americanum* Mill. recém-coletadas (o), armazenadas por 4 meses (□), por 8 meses (Δ) e por 12 meses (◇), a 25°C sob luz constante. Letras diferentes mostram diferenças significativas a 5%, pelo teste de Tukey.

dade, e em *Solanum ciliatum*, com armazenamento em condições ambientais (Engelhardt et al., 1961; Roberts & Lockett, 1977). Entretanto, as sementes do lote de 1986 voltaram a apresentar dormência nove meses após a coleta, e o lote de 1987 testado mensalmente a 25°C não mostrou quebra de dormência, durante doze meses. O teste de tetrazólio indicou que as sementes eram viáveis.

Temperaturas constantes de 15 e 30°C promoveram melhor germinação em relação às de 20 e 25°C nas sementes recém-coletadas do lote de 1986. A 15°C, as sementes demoraram um pouco mais para iniciar o processo, mas atingiram a mesma porcentagem final que as de 30°C, equivalente a 90% (Fig.2). Sementes do lote de 1983 após armazenamento de doze meses mostraram no máximo 50% de germinação nas três temperaturas ensaiadas (20, 25 e 30°C). Baixa germinação sob tempera-

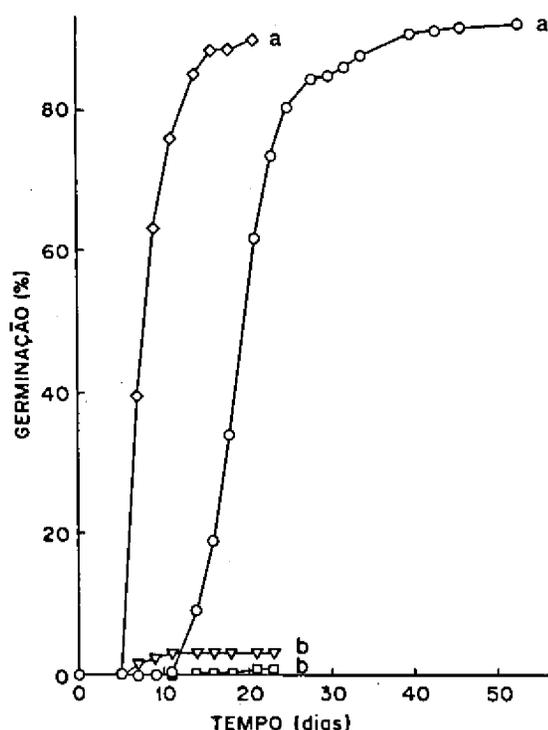


FIG. 2. Germinação de sementes de *Solanum americanum* Mill. a 15°C (o), 20°C (□), 25°C (∇) e 30°C (◇) sob luz constante. Letras diferentes mostram diferenças significativas a 5%, pelo teste de Tukey.

tura constante tem sido comum a outras solanáceas, que necessitam de temperaturas alternadas (Vicente, 1972; Roberts & Lockett, 1977; Villar, 1982). A temperatura de 10°C promoveu a germinação de sementes recém-coletadas do lote de 1988, tanto na luz (90%) como no escuro (60%).

De modo geral, pode-se dizer que em sementes recém-colhidas, lavadas ou não, coletadas de 1983 a 1990, nunca ocorreu germinação a 25°C, na luz ou no escuro. Com o armazenamento, passou a haver germinação a 25°C sob luz branca constante, mas não no escuro. É importante, ao descrever a germinação em relação à luz, indicar a temperatura utilizada (Kendrick, 1976).

A dormência de sementes recém-colhidas (lote 1988) foi totalmente quebrada pela alternância de temperaturas. A velocidade foi mais alta com 15-25°C. As temperaturas alternadas também promoveram a germinação de sementes armazenadas ou recém-coletadas do lote de 1987. As temperaturas alternadas causaram germinação no escuro (Fig. 3). Já foi mostrado que temperaturas alternadas causaram a germinação, sob luz branca, das sementes fotoblásticas negativas de *Cucumis anguria* L., e sob escuro, das sementes fotoblásticas positivas de *Rumex obtusifolius* L. (Felippe, 1980). Um único ciclo de alternância de temperatura de 15-25°C já causa aumento da germinação em relação a 25°C e luz constante (lote 1990). Sementes fotoblásticas positivas não germinaram quando enterradas, por falta de luz (Wesson & Wareing, 1967; Bannister, 1976). Todavia, a temperatura também precisa ser considerada, pois no solo, temperatura constante de 25°C não é comum, mas em diferentes níveis de profundidade é comum a alternância, que irá causar a germinação de *S. americanum*, como já foi mostrado por Felippe (1980) quanto ao *Rumex obtusifolius*.

No lote de 1986, os fotoperíodos de oito e doze horas também quebraram a dormência de sementes a 25°C, porém não foi de forma tão eficiente quanto a alternância de temperaturas.

Deteção de inibidores de germinação

Os extratos de frutos de maria-pretinha dos lotes de 1986 e 1987 mostraram, respectivamente,

0,96 mg/g e 2,18 mg/g de fenol. O fracionamento dos extratos por cromatografia em papel para fenóis mostrou que a substância ativa inibidora não é um fenol (Tabela 1).

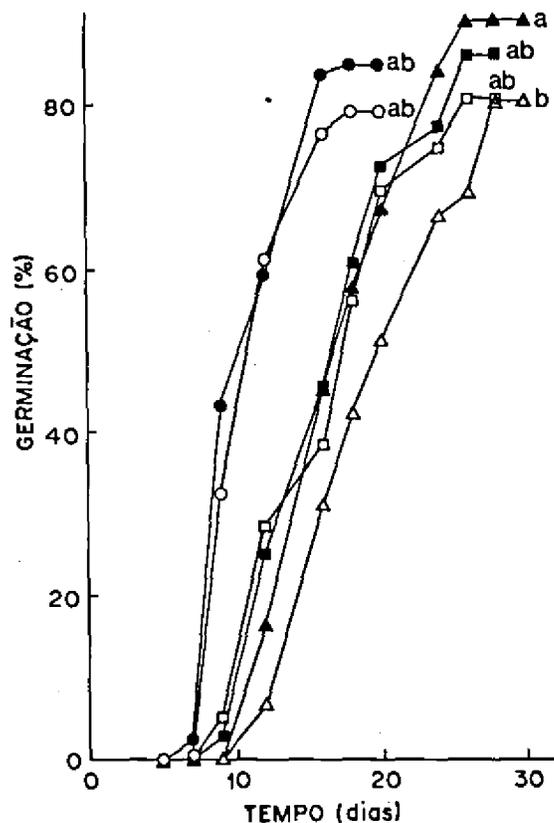


FIG.3. Germinação de sementes de *Solanum americanum* Mill. nas temperaturas alternadas de 15-25°C (o), 10-25°C (□) e 10-15°C (Δ), sob luz constante (símbolos claros) e escuro constante (símbolos cheios). Letras diferentes mostram diferenças significativas a 5%, pelo teste de Tukey.

TABELA 1. Relação entre o deslocamento do composto e o deslocamento da frente do solvente Rf's das substâncias, obtidas no fracionamento dos extratos dos frutos maduros, por cromatografia em papel.

Solvente	Revelação biológica (com alface)	Revelação com Folin-Denis (para fenóis)	Revelação com etanol/ác. sulfúrico (para alcalóides)
Butanol:ácido acético:água (4:1:5)	0,46 e 1,0	Rastro	0,6
Clorofórmio:ácido acético:água (13:6:1)	0,4 e 1,0	0,13	Rastro
Isopropanol:amônia:água (8:1:1)	0,8	Rastro	Rastro

A presença de alcalóides ou glico-alcalóides em folhas e frutos de solanáceas é citada na literatura por Mothes (1955), Motidome et al., (1970) e Roddick (1976). Efeitos autotóxicos em plantações de café são consequência da cafeína, alcalóide presente nas folhas e frutos desse vegetal (Rice, 1979). Entretanto, no presente caso, as frações ativas inibidoras não reagiram a reveladores de alcalóides. Convém salientar que a extração não foi feita com método para alcalóides, e sim, para fenóis. Entretanto, o extrato obtido poderia conter contaminantes, e daí se ter analisado a presença desses compostos.

Os extratos de frutos de *Solanum americanum* inibiram totalmente a germinação de alface e da própria maria-pretinha (concentração de 0,82 g/mL). Com extrato diluído 1:5, a germinação de alface foi de 28% e diluído 1:10, foi de 46%.

Utilizando técnica de extração de substâncias endógenas (Válio & Schwabe 1970), procurou-se também detectar a presença do ácido abscísico. Ao contrário do esperado, as frações ácida e básica inibiram o crescimento do hipocótilo de alface, o que mostra que o composto inibidor não foi separado em um único pH e afastou a possibilidade de a inibição ser causada pelo ácido abscísico. Substâncias promotoras de crescimento só foram observadas nos RFs (relação entre o deslocamento do composto e o deslocamento da frente do solvente) 0, 1 e 0,8 do cromatograma da fração básica. A fração neutra não inibiu e nem promoveu crescimento do hipocótilo de alface.

Assim, as substâncias responsáveis pela inibição da germinação e crescimento devem ter natureza química diversa das pesquisadas.

CONCLUSÃO

A alternância da temperatura ambiente e a rápida embebição das sementes são os fatores responsáveis pela quebra da dormência das sementes de *Solanum americanum*.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo-FAPESP (Proc. n° 85/3709-9), pelo auxílio prestado; à Srta. Marie Sugiyama, pela identificação da espécie analisada; e ao Sr. Alasdair G. Burman, pela redação do *Abstract*.

REFERÊNCIAS

- BANNISTER, P. *Introduction to physiological plant ecology*. London: Blackwell Scientific Publ., 1976. 273p.
- BATE-SMITH, E.C. Detection and determination of ellagitannins. *Phytochemistry*, v.11, p.1153-1156, 1972.
- CAMPBELL, P.L.; STADEN, J. van. Germination of seeds of *Solanum mauritianum*. *South African Journal of Botany*, v.2, p.301-304, 1983.
- DELOUCHE, J.C.; STILL, T.W.; RASPET, M.; LIENHARD, M. The tetrazolium test for seed viability. *Missouri Agricultural Experimental Station Technical Bulletin*, v.51, p.1-64, 1962.
- ENGELHARDT, M.; VICENTE, M.; ILBERSCHMIDT, K. Observações sobre a germinação de sementes de algumas espécies de Solanáceas brasileiras. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v.33, p.55-68, 1961.
- FELIPPE, G.M. Germination of the light sensitive seeds of *Cucumis anguria* and *Rumex obtusifolius*: effects of temperature. *New Phytologist*, v.84, p.439-448, 1980.
- FELIPPE, G.M.; POLO, M. Germinação de ervas invasoras: efeito de luz e escarificação. *Revista Brasileira de Botânica*, v.83, p.41-48, 1983.
- FRANKLAND, B.; WAREING, P.F. Effect of gibberellic acid on hypocotyl growth of lettuce seedlings. *Nature*, London, v.185, p.255-256, 1960.
- GIVELBERG, A.; HOROWITZ, M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. Germination behaviour of *Solanum nigrum* seeds. *Journal of Experimental Botany*, v.35, p.588-598, 1984.
- HARBORNE, J.B. *Biochemical aspects of plant and animal coevolution*. [S.l.]: Academic Press, 1978. 435p.
- HARBORNE, J.B. General procedures and measurement of total phenolics. In: DEY, P.M.; HARBORNE, J.B. (Eds.). *Methods in Plant Biochemistry*. London: Academic Press, 1989. p.29-73.
- KENDRICK, R.E. Photocontrol of seed germination. *Science Progress, Ford*, v.63, p.347-367, 1976.
- LORENZI, H. *Plantas daninhas do Brasil*. Nova Odessa: Ed. Plantarum Ltda, 1991. 440p.
- MAYER, A.M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. The germination of seeds. Oxford: Pergamon Press Ltd., 1975. 192p.
- MOTHES, K. Physiology of alkaloids. *Annual Review of Plant Physiology*, v.6, p.393-432, 1955.
- MOTIDOME, M.; LEEKNING, M.E.; GOTTLIEB, O.R. A química de Solanáceas brasileiras. I. A presença de solamargina e de solasodina no juá e na lobeira. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v.42, p.375-376, 1970. Supl.
- REISMAN-BERMAN, O.; KIGEL, J.; RUBIN, B. Dormancy patterns in buried seeds of *Datura ferox* and *D. stramonium*. *Canadian Journal of Botany*, v.69, n.1, p.173-179, 1991.
- RICE, E.L. Allelopathy - an update. *The Botanical Review*, v.45, p.17-109, 1979.
- ROBERTS, H.A.; LOCKETT, P.M. Temperature requirements for germination of Dry-stored, cold-stored and buried seeds of *Solanum dulcamara* L. *New Phytologist*, v.79, p.505-510, 1977.
- RODDICK, J.G. Response of tissues and organs of tomato to exogenous - Tomatine. *Journal of Experimental Botany*, v.27, p.341-346, 1976.
- SCOPEL, A.L.; BALLARÉ, C.L.; SANCHEZ, R.A. Induction of extreme light sensitivity in buried weed seeds and its role in the perception of soil cultivations. *Plant, Cell and Environment*, v.14, p.501-508, 1991.

- SNEDECOR, C.W.; COCHRAN, W.G. *Statistical Methods*. Ames, Iowa: The Iowa State Univ. Press, 1967. 534p.
- SWAIN, T. Secondary compounds as protective agents. *Annual Review of Plant Physiology*, v.28, p.479-501, 1977.
- SWAIN, T.; HILLIS, W.E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.10, p.63-68, 1959.
- VALIO, I.F.M.; SCHWABE, W.W. Growth and dormancy in *Lunularia cruciata* (L.) Dum. *Journal of Experimental Botany*, v.21, p.138-150, 1970.
- VICENTE, M. Germination of seeds of *Solanum viarum* Dum. *Revista Brasileira de Biologia*, v.32, p.351-360, 1972.
- VICENTE, M.; NORONHA, A.; SILBERSCHMIDT, K. Estudos sobre a germinação de solanáceas silvestres do Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.37, p.8-9, 1970. Supl. 1.
- VILLAR, M.L.D. *Germinação de Datura stramonium* L. Campinas: Instituto de Biologia, UNICAMP, 1982. 95p. Tese de Mestrado.
- WESSON, G.; WAREING, P.F. Light requirements of buried seeds. *Nature*, London, v.213, p.600-601, 1967.