

ANÁLISE DO VIGOR E DA ATIVIDADE DA *a*-AMILASE EM SEMENTES DE CULTIVARES DE ARROZ SUBMETIDAS A DIFERENTES TRATAMENTOS COM ÁCIDO ACÉTICO

VIGOUR AND a-AMYLASE ANALYSIS IN SEEDS OF RICE CULTIVARS SUBMITTED TO SEVERAL TREATMENTS WITH ACETIC ACID

Luiz Augusto Salles das Neves¹, Dario Munt de Moraes²

Recebido em: 29/03/2005; aprovado em: 11/10/2005.

RESUMO

Os ácidos orgânicos acumulados, devido a decomposição da matéria orgânica no solo sob irrigação, afetam o desenvolvimento de plântulas em lavouras de arroz. Por isso, a qualidade fisiológica das sementes de arroz, submetidas à ação de ácidos orgânicos, deve ser estudada. Sementes de arroz das cultivares BR IRGA-410 e Epagri 111 foram submetidas a tratamentos com ácido acético nas concentrações zero; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 e 16,0 ml.L⁻¹ para avaliar o teor de amido e a atividade da *a*-amilase na germinação, e a condutividade elétrica. Todos os testes seguiram o delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições e em todos eles o teste F mostrou significância. Verificou-se que a primeira contagem da germinação (PCG) e a germinação (G) foram reduzidas com o aumento nas concentrações de ácido acético em ambas cultivares. O teste da condutividade elétrica (CE) demonstrou que a cultivar Epagri 111 liberou maior quantidade de exsudatos que a BR IRGA-410. A solubilização do amido (Am) decresceu com o incremento da concentração do ácido acético na cultivar Epagri 111 e aumentou na BR IRGA-410, para decrescer após concentração de 4,0 ml.L⁻¹. A atividade total da *a*-amilase foi aumentada com o incremento da concentração do ácido acético, na cultivar BR IRGA-410 e diminuiu na Epagri 111. De forma geral, o ácido acético afetou negativamente ambas as cultivares.

PALAVRAS-CHAVE: *Oryza sativa* L., BR IRGA-410, Epagri 111, germinação das sementes, condutividade elétrica.

SUMMARY

The organic acids accumulated due to the decomposition of organic material in soils under irrigation affect rice seedling development. For this reason, the influence of organic acids action on rice seed physiological quality must be studied. Rice seeds of cultivars BR IRGA-410 and Epagri 111 were submitted to different acetic acid concentrations (zero; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0; and 16,0 ml.L⁻¹) in order to evaluate the starch content and *a*-amylase activity in the germination and the electrical conductivity. All tests followed the completely randomized experimental design with four replications. The F test was significant for all the evaluated variables. The first germination counting (PCG) and germination (G) tests were reduced in both cultivars with the increase in acetic acid concentration. The electrical conductivity test (CE) showed that cultivar Epagri 111 released higher quantity of exsudate than BR IRGA-410. The starch solubilization (Am) decreased with the enhancement of acetic acid concentration for Epagri 111 and increased until the concentration of 4,0 ml.L⁻¹ for BR IRGA-410, decreasing afterwards. The *a*-amylase activity increased with the elevation of acetic acid concentration for BR IRGA-410 and decreased for Epagri 111. The acetic acid usually affected negatively both cultivars.

KEY WORDS: *Oryza sativa* L., BR IRGA-410, Epagri 111, seed germination, electrical conductivity.

¹Engenheiro Agrônomo, Professor Assistente do Departamento de Biologia/CCNE/UFSM. Doutorando em Agronomia/Produção Vegetal/PPGA/UFPEL. E-mail: augusto@smail.ufsm.br

²Engenheiro Agrônomo. Doutor. Professor Adjunto do Departamento de Botânica/IB/ UFPEL

INTRODUÇÃO

Resíduos de plantas de várias fontes constituem importantes componentes no solo. Esses materiais, na forma de tecidos vegetais em decomposição pela ação de agentes bióticos e abióticos, sofrem transformações e sínteses, produzindo vários componentes químicos, que, sem dúvida, têm importantes efeitos em todas as fases do desenvolvimento das plantas.

O plantio direto e o cultivo mínimo são técnicas conservacionistas que visam manter no solo resíduos vegetais do plantio anterior. Esses resíduos aumentam o teor de matéria orgânica, permitindo maior fertilidade.

O cultivo de arroz irrigado tem sido alvo da utilização dessas técnicas conservacionistas, pois permanecem, no solo, a resteva do plantio anterior e os resíduos da pastagem, que é implantada após colheita, para engorda de gado.

Com a irrigação, a degradação da matéria orgânica nesses solos se faz de forma anaeróbica, liberando compostos que afetam, irreversivelmente, a população final de plantas na cultura do arroz (GOMES et al., 2002; SOUSA e BORTOLON, 2002). Entre os compostos estão os ácidos orgânicos, especialmente, os alifáticos de cadeia curta, como o acético, o fórmico, o propiônico, o butírico e o valérico (CAMARGO et al., 1993).

Segundo Lynch (1978) e Gomes et al. (2002), o ácido acético pode alcançar 5 mM em pH 6,5 dependendo da quantidade e qualidade do resíduo orgânico incorporado, podendo se tornar fitotóxico, alterando os processos de germinação e desenvolvimento das plântulas.

Durante o processo de germinação das sementes, após embebição, são mobilizadas as reservas endospermáticas com a finalidade de desenvolvimento do eixo embrionário. Dentre essas reservas está o amido, que é metabolizado pela enzima α -amilase. Essa enzima hidrolisa as ligações alfa-1,4 da molécula de amido produzindo vários oligossacarídeos, e sua atividade é máxima com cerca de dez dias após início da germinação (BEWLEY e BLACK, 1994).

Os testes de qualidade fisiológica, como germinação, condutividade elétrica e análises bioquímicas,

como solubilização, degradação do amido e atividade das enzimas hidrolases, podem fornecer parâmetros do vigor e viabilidade das sementes diante de agentes externos, como os ácidos orgânicos. Na aplicação desses testes às sementes, é possível se entender que efeitos os ácidos podem causar na formação do estande da cultura do arroz.

O objetivo do presente trabalho foi analisar a ação do ácido acético sobre a germinação, a solubilização de amido e a atividade da enzima α -amilase nas cultivares BR IRGA-410 e Epagri 111 que ocupam, respectivamente, 9,6% e 4,0% da área total de cerca de 1,0 milhão de hectares, semeada com esse cereal, no Rio Grande do Sul.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Genética Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria, no período de setembro a janeiro de 2004. Sementes de arroz das cultivares BR IRGA-410 e Epagri 111, da safra 2003/2004, procedentes do Distrito de Arroio Grande, município de Santa Maria (RS), foram imersas em soluções de ácido acético (p.a.) nas concentrações zero; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 e 16,0 mL.L⁻¹ durante 90 minutos, e submetidas aos seguintes testes: teste padrão de germinação, condutividade elétrica, determinação dos teores de amido solúvel e atividade da enzima α -amilase.

Teste Padrão de germinação (TG) - foi conduzido com 200 sementes, com quatro repetições de 50 sementes por tratamento, utilizando como substrato rolos de papel germitest previamente umedecidos com água destilada na quantidade de 2,5 vezes o seu peso inicial. Os rolos foram mantidos em germinador com temperatura constante de 25°C e as contagens foram realizadas no quinto e décimo quarto dia após semeadura (BRASIL, 1992). **A primeira contagem da germinação (PCG)** foi realizada em conjunto com o teste de germinação no quinto dia após semeadura, onde foram contadas apenas as plântulas normais. **O teste da condutividade elétrica (CE)** foi realizado com quatro repetições de 50 sementes por tratamento, sendo as sementes aparentemente isentas de danos mecânicos, as quais foram pesadas e imersas em

água deionizada a 25°C, no volume de 80 mL, segundo metodologia descrita por Vieira e Carvalho (1994). As leituras foram feitas em três e vinte e quatro horas após início do teste, no condutivímetro Digimed CD21, e os resultados foram expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$.

Atividade da α -amilase e determinação do teor de amido:

a) para a determinação da atividade enzimática as extrações foram feitas nos tempos zero (semente); aos cinco dias e aos 14 dias após semeadura. Para tanto foram utilizados 0,5 g de sementes (tempo zero) e o mesmo peso das plântulas (aos cinco e 14 dias). As sementes após serem tratadas com o ácido acético foram maceradas em graal com 20 mL de tampão acetato de potássio com pH 7,0, e a mistura centrifugada a 3.000 rpm por 15 minutos. O sobrenadante foi retirado e colocado em tubos de ensaio mantidos em refrigeração a 4°C para realização das análises. Para a determinação da atividade da α -amilase o extrato obtido foi colocado em banho-maria à 70°C por 20 minutos. Após foram retirados quatro alíquotas de 0,1 mL e colocados em tubos de ensaio juntamente com 1 mL de tampão acetato de potássio, 1,0 mL de solução de amido e incubado por cinco minutos à 30°C. Passado esse tempo foi adicionado 1 mL de solução de lugol e 9 mL de água destilada. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro E - 225D a 620 nm (AOSA, 1983). Os dados das leituras foram transformados pela seguinte fórmula: $A. T. = [(\text{substrato a } 620 \text{ nm} - \text{leitura } 620 \text{ nm})/5 \times x]. (20 / \text{alíquota} \cdot 0,5\text{g})$, onde $x = 1 \mu\text{g}$ de amido. Os valores foram expressos em μg de amido hidrolizado min^{-1}g de semente⁻¹ (CHING, 1973).

b) para a determinação da solubilização do amido foram coletados 0,1mL de extrato de cada tratamento e adicionados 0,9 mL de água destilada e 3,0 mL de antrona. Os tubos permaneceram em banho-maria a 100°C pelo tempo de 3 minutos. As leituras foram realizadas no espectrofotômetro a 620 nm e transformadas pela seguinte fórmula: $A. S. = [(\mu\text{g} \cdot 72 \cdot 0,9)/1000]. [20/(1 \text{ g} \cdot 0,2)]$ e os resultados expressos em μg de amido g de sementes⁻¹ (BRADFORD, 1976).

O delineamento experimental utilizado foi o in-

teiramente casualizado com quatro repetições por tratamento. Os dados percentuais foram transformados em $\text{arc sen } (x/100)^{1/2}$ e as médias foram submetidas a análise de regressão no programa estatístico Statigraf 6.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A primeira contagem da germinação (PCG) e a germinação (G) das cultivares BR IRGA- 410 e Epagri 111 (Figuras 1 e 2) reduziram-se com o aumento da concentração do ácido acético, segundo o modelo de regressão linear. Percebe-se que, em ambos os testes, a cultivar Epagri 111 manteve-se com valores inferiores a BR-IRGA 410.

A PCG e a G de sementes de arroz submetidas a ação de ácidos orgânicos, têm sido pouco descrita. As referências que citam esses testes, utilizam-se de solução aquosas obtidas da incubação anaeróbica de palhada, como o caso de Kimber (1967). Esse autor verificou a redução da germinação de sementes de trigo, da cultivar Gabo, e de sementes de aveia, quando tratadas com solução aquosa de palha de trigo das cultivares Gabo e Kondut. Resultados semelhantes, foram obtidos por Patrick (1971), quando utilizou sementes de *Lactuca sativa* L. colocadas sobre papel germitest umedecido com solução aquosa, derivada da decomposição da palha de centeio em condições anaeróbicas. O autor verificou que a solução extraída no tempo de três horas continha ácido acético em maior quantidade e foi a que mais reduziu a germinação. Dados semelhantes foram descritos por Rao e Mikkelsen (1977) e por Camargo et al. (2001) em cultivares de arroz.

Sementes de arroz da cultivar EMBRAPA 7 TAIM, tiveram redução da PCG e da G com o aumento das concentrações de ácido salicílico (SILVEIRA et al., 2000). Efeitos similares foram encontrados por Moraes e Menezes (2003) ao analisarem o desempenho de sementes de soja, sob diferentes condições de potencial osmótico, tendo encontrado maior redução da germinação no potencial de -0,8 MPa.

A redução da germinação tem sido verificada também quando sementes são tratadas com solução aquosa que possui potencial alelopático. Extratos

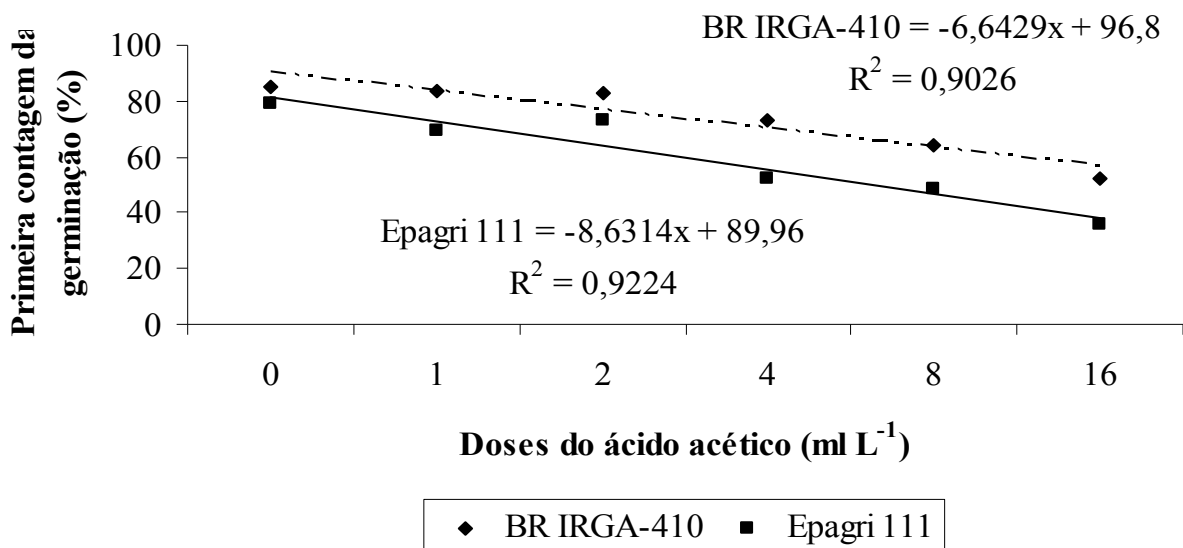


Figura 1- Efeito das concentrações (zero; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 e 16,0 ml.L⁻¹) do ácido acético sobre primeira contagem da germinação (PCG) nas sementes de arroz, cv BR IRGA-410 e Epagri 111.

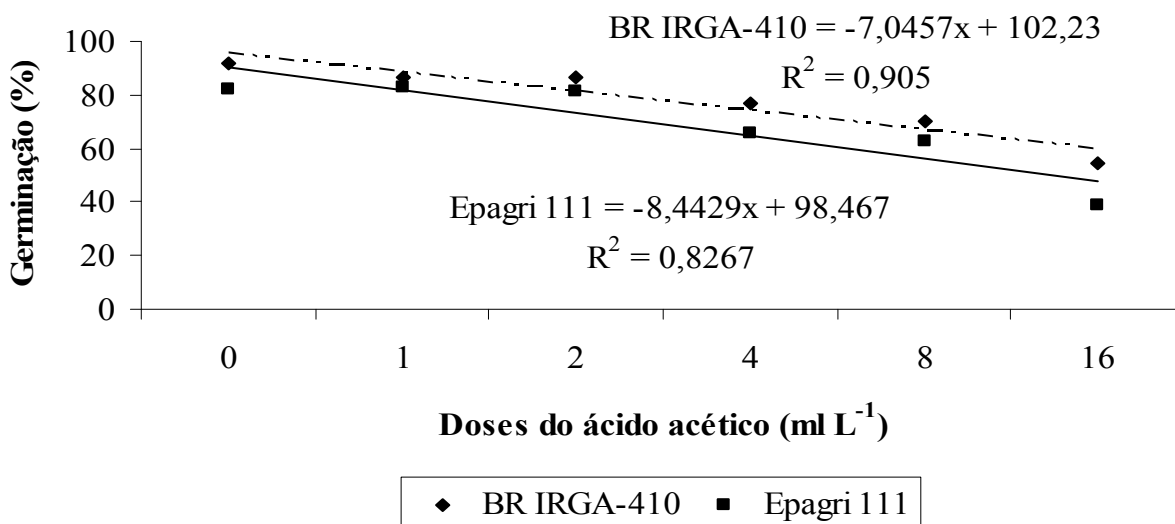


Figura 2 - Efeito das concentrações (zero; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 e 16,0 ml.L⁻¹) do ácido acético sobre a germinação (G) das sementes de arroz, cv BR IRGA-410 e Epagri 111.

aquosos de *Vicia faba* L. aplicados sobre sementes de alface, reduziram a germinação nos períodos de 48 e 96 horas após semeadura (MEDEIROS e LUCHESI, 1993). Resultados semelhantes foram encontrados por Rimando et al. (2001) em alface e milho, usando extratos de folhas de plântulas de arroz.

A condutividade elétrica (CE), medida após 3 horas (Figura 3) e 24 horas (Figura 4) do início do teste, aumentou significativamente, em ambas cultivares analisadas. Isto demonstra aumento de

eletrólitos na água de incubação com o aumento da dose de ácido acético.

Sementes de arroz da cultivar Epagri 111, oriundas da região de Pelotas, da safra 2000/2001, submetidas a ação de ácido acético, nas mesmas concentrações aqui estudadas, mostraram aumento na leitura da CE, tanto as 3 horas com as 24 horas, com o aumento da concentração do ácido (NEVES et al., 2005 a).

Aragão et al., (2002), analisando o comportamento de sementes de feijão em relação a ciclos de

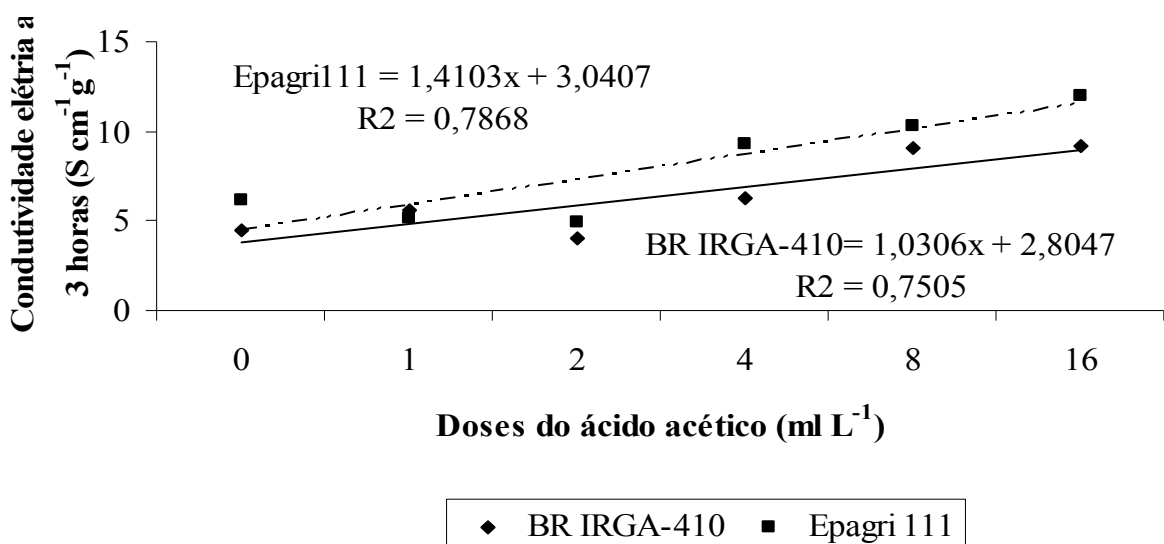


Figura 3 Efeito das concentrações (zero; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 e 16,0 ml.L⁻¹) do ácido acético sobre a condutividade elétrica (CE), as 3 horas após início do teste, das sementes de arroz, cv BR IRGA-410 e Epagri 111.

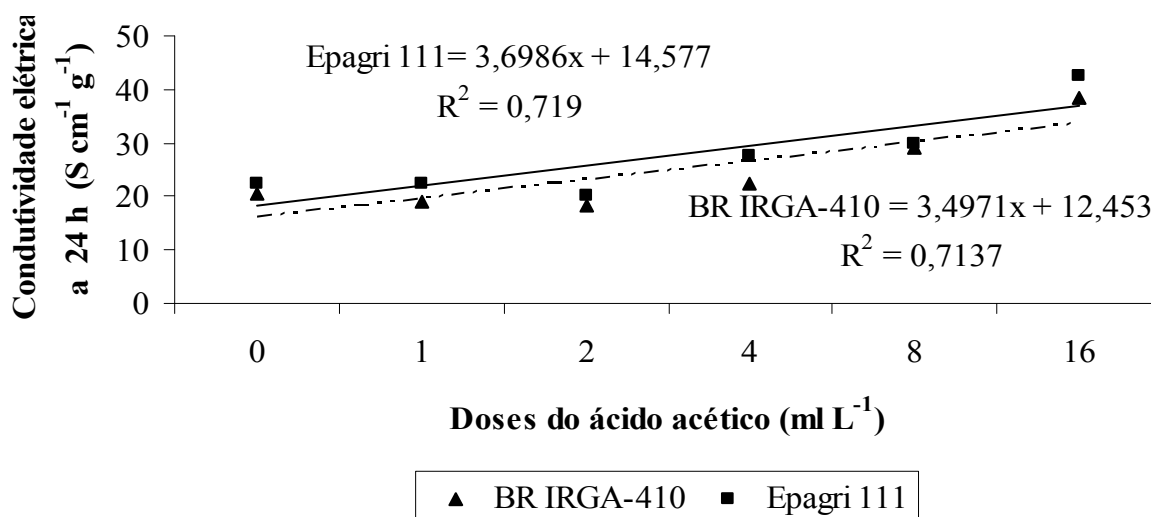


Figura 4 - Efeito das concentrações (zero; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 e 16,0 ml.L⁻¹) do ácido acético sobre a condutividade elétrica (CE), as 3 horas após início do teste, das sementes de arroz, cv BR IRGA-410 e Epagri 111.

hidratação-secagem, verificaram que a lixiviação de íons Mg⁺⁺, Ca⁺⁺ e K⁺ aumenta ao longo do tempo, sendo que no terceiro ciclo os autores perceberam o início de degradação de membranas das sementes, pois a lixiviação aumentou significativamente. Bertagnolli et al. (2004) também verificaram que a CE aumentou significativamente em ambos períodos (3 e 24 horas) ao estudarem a ação de três concentrações de NaCl em sementes de soja.

A integridade das membranas celulares é variável em função do grau de alterações bioquímicas

deteriorativas e/ou danos físicos, podendo ser considerada a causa fundamental de alterações ao nível de vigor das sementes (VIEIRA e KRYZANOWSKI, 1999).

O processo de germinação de sementes leva a desencadeamentos enzimáticos capazes de desdobrarem reservas nutritivas com a finalidade de nutrição do eixo embrionário. Dentre as reservas está o amido e entre as enzimas hidrolíticas a α -amilase (BUCKERIDGE et al., 2004).

A Figura 5 demonstra a solubilidade do amido

nas sementes das cultivares BR IRGA-410 e Epagri 111.

Para a cultivar BR IRGA-410, a solubilidade do amido aumentou com a elevação nas concentrações de ácido acético (Figura 5). A solubilidade do amido, na cultivar Epagri 111, reduziu com a elevação nas concentrações zero; 1,0 e 2,0 ml.L⁻¹ de ácido acético (Figura 5).

As atividades da α -amilase, na semente (zero dia) e em plântulas (5 e 14 dias após semeadura) (Figuras 6, 7 e 8), sob efeito do ácido acético, no processo de degradação do amido, foi maior no cultivar Epagri 111 do que no BR IRGA-410. Essa menor ação deve-se ao teor diferencial de amido nas duas cultivares.

Na cultivar BR IRGA-410, somente na semente (zero dia) e em plântulas com 5 dias após semeadura, a atividade da α -amilase aumentou com o incremento na dose de ácido acético Figuras 6 e 7).

Na cultivar Epagri 111, na semente e em plântulas com 5 e 14 dias após semeadura, a atividade enzimática decresceu com aumento da dose do ácido acético (Figuras 5,6 e 7).

A ação de ácidos orgânicos sobre a atividade enzimática tem sido descrita por Neves et al. (2005 b). Estes autores relatam que a ação da α -amilase não apresentou diferença significativa em três doses (zero, 1,0 e 2,0 ml.L⁻¹) do ácido acético, sobre o cultivar Epagri 111, da região de Pelotas (RS), da safra 2000/2001.

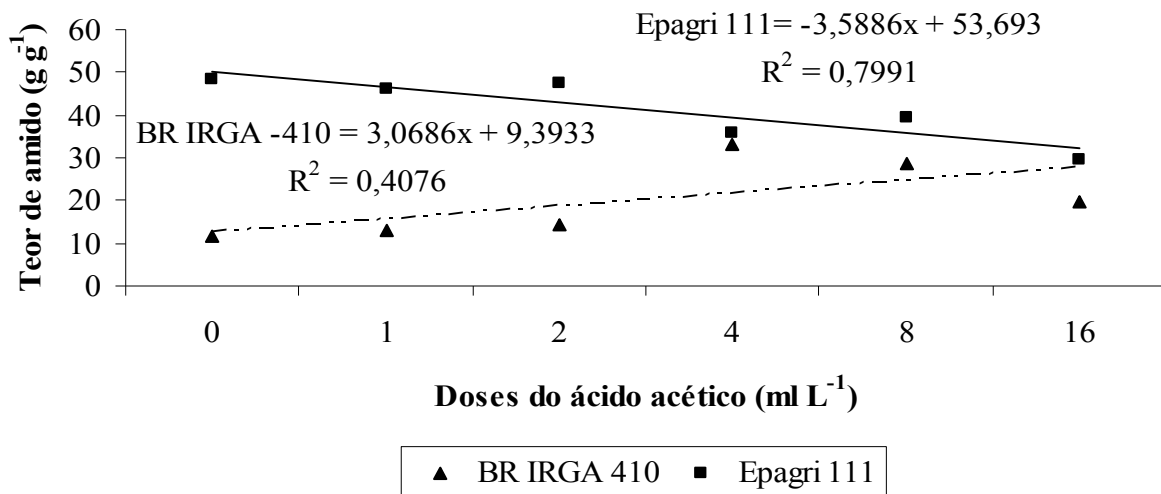


Figura 5 - Efeito das concentrações (zero; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 e 16,0 ml.L⁻¹) do ácido acético sobre a solubilidade do amido nas sementes de arroz, cv BR IRGA-410 e Epagri 111.

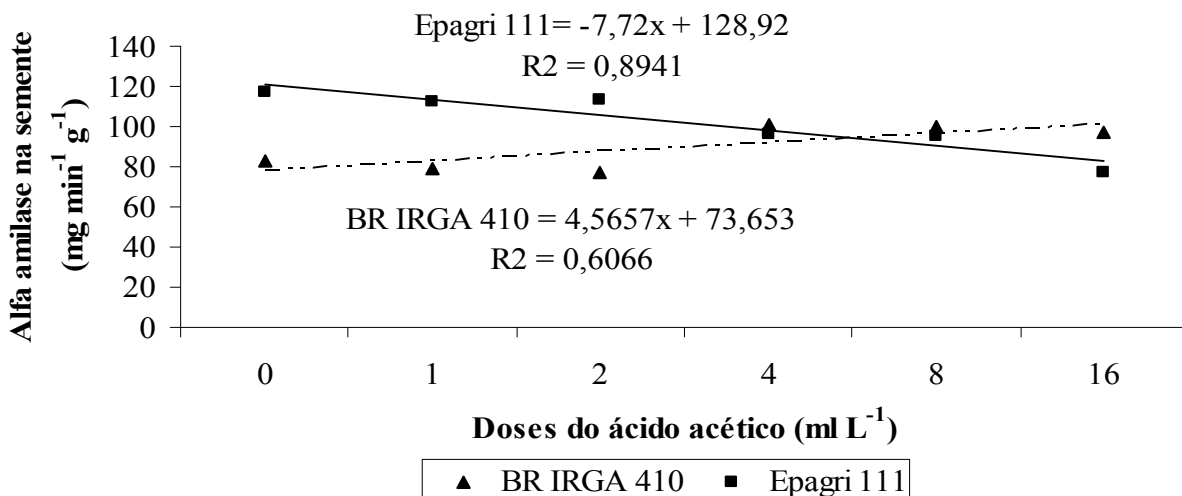


Figura 6 - Efeito das concentrações (zero; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 e 16,0 ml.L⁻¹) do ácido acético sobre a atividade total da α -amilase ao zero dia (sementes), nas sementes de arroz, cv BR IRGA-410 e Epagri 111.

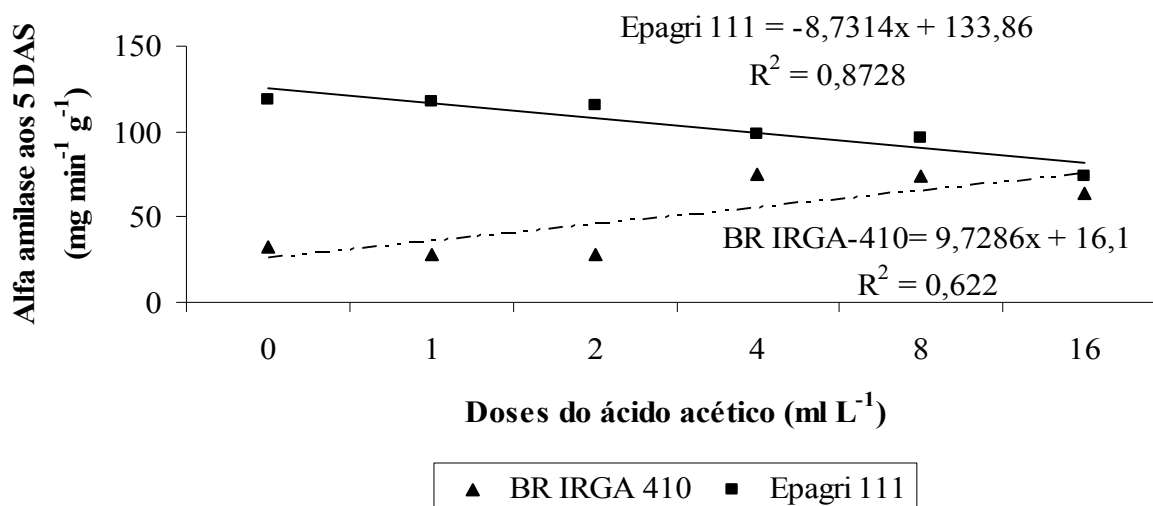


Figura 7- Efeito das concentrações (zero; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 e 16,0 ml.L⁻¹) do ácido acético sobre a atividade total da α -amilase aos cinco dias (plântulas), nas sementes de arroz, cv BR IRGA-410 e Epagri 111.

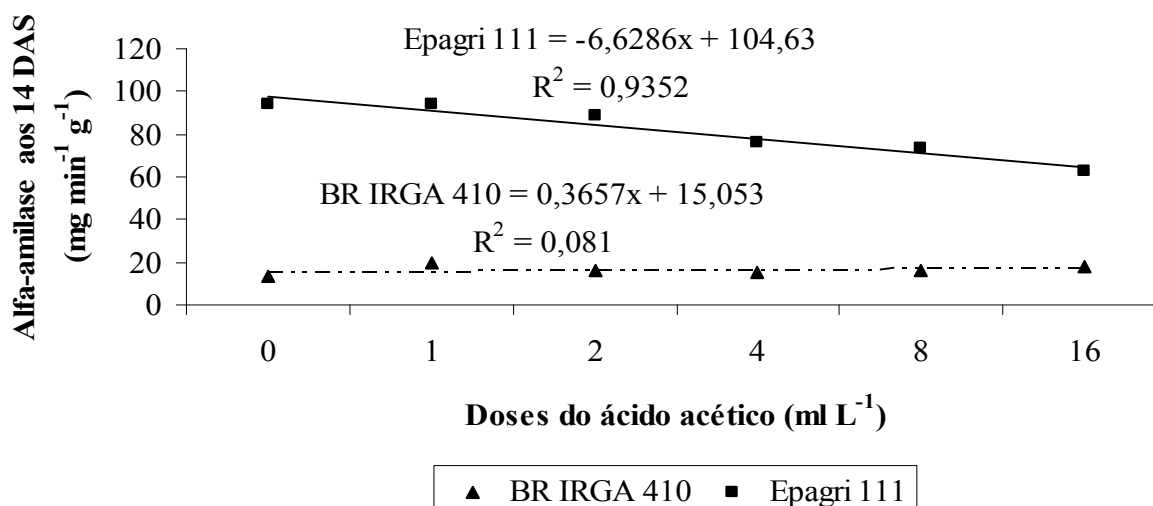


Figura 8- Efeito das concentrações (zero; 1,0; 2,0; 4,0; 8,0 e 16,0 ml L⁻¹) do ácido acético sobre a atividade total da α -amilase aos quatorze dias (plântulas), nas sementes de arroz, cv BR IRGA-410 e Epagri 111.

Esses resultados são semelhantes aos aqui encontrados, apesar de que Neves e Moraes (2003) encontraram diferenças significativas, no período de semente, quando trataram sementes de arroz da cultivar BR IRGA-409 com diferentes doses de ácido acético. Nos demais períodos, os resultados encontrados pelos autores foram semelhantes aos aqui descritos. Nesse caso, a diferença encontrada se deve ao genótipo das sementes.

Em ambas as cultivares, a atividade da enzima decresceu com o avanço do processo da germina-

ção, a não ser nas doses zero, 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0 ml.L⁻¹ em que houve pequeno aumento da atividade média da enzima α -amilase (Figuras 6,7 e 8). A α -amilase possui atividade alta no início do processo de germinação e, com o passar do tempo, reduz-se. Esse comportamento deve-se à redução no teor de amido à medida que a germinação avança (MAYER e POLJAKOFF-MAYBER, 1975; BEWLEY e BLACK, 1994).

A atividade da α -amilase e a solubilização do amido são estudadas em experimento com estresse

salino. Bertagnolli et al. (2004) relatam que não houve diferença significativa quando trataram sementes de soja com três doses de NaCl, e que esse sal comportou-se como ativador moderado para essa enzima. Todavia, Campos e Assunção (1990) verificaram inibição visível na síntese e/ou atividade da α -amilase em sementes de arroz submetidas a estresse salino.

Resultados encontrados por Bialecka e Kepczynski (2003), quando estudaram a atividade da α -amilase na germinação de sementes de *Amaranthus caudatus* tratadas com metil-jasmonato, tendo giberelina adicionada exogenamente, apóiam os resultados aqui encontrados.

CONCLUSÕES

Os resultados mostram que de forma geral, o ácido acético prejudica a qualidade fisiológica das sementes de arroz, cultivares BR IRGA-410 e Epagri 111.

O incremento da concentração de ácido acético prejudica a primeira contagem da germinação e a germinação de ambas cultivares

Os exsudatos aumentaram na água de incubação, em ambas cultivares, com o aumento a concentração de ácido acético, medido pela condutividade elétrica.

A solubilização do amido é crescente na cultivar BR IRGA-410 e decrescente na Epagri 111, com o aumento na concentração de ácido acético.

A atividade total da α -amilase, para cultivar BR IRGA-410, aumentou com a elevação na concentração de ácido acético somente até os 5 dias após germinação. Na cultivar Epagri 111, a atividade de enzima decresceu com o aumento da concentração do ácido nos períodos de semente, e 5 e 14 dias após a germinação.

AGRADECIMENTO

Ao Engenho de David, no Bairro Camobi, Santa Maria, RS, pelo fornecimento das sementes objeto deste estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOSA - ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS (Ed.) **Seed vigor testing handbook**. Contrib. n.32 to the Handbook on seed testing. 1983. 88p.
- ARAGÃO, C. A.; DANTAS, B.F.; ALVES, E. & CORRÊA, M. R. Sementes de feijão submetidas a ciclos de períodos de hidratação-secagem. **Scientia Agrícola**. Piracicaba, v.59, n.1,p.87-92, 2002.
- BERTAGNOLLI, C. M.; CUNHA, C. S. M.; MENEZES, S. M. et al. Qualidade fisiológica e composição química de sementes de soja submetidas ao estresse salino. **Revista Brasileira de Agrociências**. Pelotas, v.10, n.3, p.287-291, 2004.
- BEWLEY, J. D. & BLACK, M. **Seeds. Physiology of development and germination**. New York: Plenum Press. 2.ed. 1994. 445p.
- BIALECKA, B. & KEP CZYNSKI, J. Regulation of α -amylase activity in *Amaranthus caudatus* seeds by metal-jasmonate, gibberelin A3, benzyladenina and ethylene. **Plant Growth Regulation**. Netherlands, v.39, p.51-56, 2003.
- BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília. 1992.365p.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of proteindye binding. **Analytical Biochemistry**. 72: 246-254, 1976.
- BUCKERIDGE, M. S.; SANTOS, H. P.; TINÉ, M. A. S. et al. Mobilização de reservas. In: FERREIRA, A. G. & BORGHETTI, F. (Orgs.) **Germinação: Do básico ao aplicado**. Porto Alegre: ARTMED. 2004. Cap. 11, p. 163-185.
- CAMARGO, F. A. O.; SANTOS, G. A. & ROSSIELLO, R. O. P. Efeito dos ácidos acético e butírico sobre o crescimento de plântulas de arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.28, n.9, p.1011-1018, 1993.
- CAMARGO, F. A. O.; ZONTA, E.; SANTOS, G. A. et al. Aspectos fisiológicos e caracterização da toxidez de ácidos orgânicos voláteis em plantas. **Ciência Rural**. Santa Maria, v.31, n.3, p.523-529, 2001.

- CAMPOS, I. S. e ASSUNÇÃO, M. V. Estresse salino e hídrico na germinação e vigor do arroz. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v.25, n.6, p.857-862, 1990.
- CHING, T. M. Biochemical aspects of seed vigour. **Seed Science & Technology**, Zürich, v 1, n 1, p.73-88, 1973.
- GOMES, A.S.; SOUSA, R. O. & PAULETTO, E. A. Plantio direto e cultivo mínimo em solos de várzea, com ênfase ao arroz irrigado. In: Encontro de Arroz Irrigado - Uso intensivo e sustentável de várzeas. 2002. Santa Maria, **Anais....** p.19-41. 2002.
- KIMBER, R. W. L. Phytotoxicity from plant residues. I. The influence of rotted wheat straw on seedling growth. **Australian Journal Agriculture Research**. Collingwood, v.18, p.361-374, 1967.
- LYNCH, J. M. Production and phytotoxicity of acetic acid in anaerobic soils containing plant residues. **Soil Biology & Biochemistry**, v.10, p.133-135, 1978.
- MAYER, A. M. e POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. Oxford: Pergamon Press. 2.ed. 1975. 192p.
- MEDEIROS, A. R. M. e LUCHESI, A. A. Efeitos alelopáticos da ervilhaca (*Vicia faba* L.) sobre a alface em teste de laboratório. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 28, n.1, p. 9-14, 1993.
- MORAES, G. A. F. e MENEZES, N. L. Desempenho de semente de soja sob condições diferentes de potencial osmótico. **Ciência Rural**. Santa Maria, v.33, n.2, p.219-226, 2003.
- NEVES, L. A. S. & MORAES, D. M. Atividade total da α -amilase em sementes de arroz tratadas com ácido acético. CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E ENCONTRO DO PÓS-GRADUAÇÃO, 12, 2003, Pelotas. **Resumo...** Pelotas: UFPEL, 2003. CD-ROM.
- NEVES, L. A. S.; MORAES, D. M.; ABREU, C. M. et al. A influência do ácido acético na qualidade fisiológica de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) cv Epagri 111. (reenviado aos consultores da **Revista Brasileira de Agrociências**. Pelotas), 2005 a.
- NEVES, L. A. S.; MORAES, D. M.; ABREU, C. M. et al. Análise da ação fisiológica do ácido acético sobre açúcar solúvel, amido e sobre atividade da α -amilase e da fosfatase ácida e na condutividade elétrica em sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) (reenviado aos consultores da **Revista Científica Rural**. Bagé), 2005 b.
- PATRICK, Z. A. Phytotoxic substances associated with the decomposition in soil of plants residues. **Soil Science**. v.3, n.1, p.13-18, 1971.
- RAO, N. e MIKKELSEN, D. S. Effect of acetic, propionic, and butyric acids on young rice seedling growth. **Agronomy Journal**. Madison, v.69, n.4, p. 923-928, 1977.
- RIMANDO, A. M.; OLOFSDOTTER, M. ; DAYAN, F. E. e DUKE, S. O. Searching for rice allelochemicals an example of bioassay-guided isolation. **Agronomy Journal**. Madison, v.93, n.1, p.16-20, 2001.
- SILVEIRA, M. A. M.; MORAES, D. M. & LOPES, N. F. Germinação e vigor de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) tratadas com ácido salicílico. **Revista Brasileira de Sementes**. Londrina, v.22, n.2, p.145-152, 2000.
- SOUSA, R. O. e BORTOLON, L. Crescimento radicular da parte aérea do arroz (*Oryza sativa* L.) e absorção de nutrientes, em solução nutritiva com diferentes concentrações do ácido acético. **Revista Brasileira de Agrociência**. Pelotas, v.8, n.3, p.231-235, 2002.
- VIEIRA, R. D. & CARVALHO, N. M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP. 1994. 55p.
- VIEIRA, R. D.; KRIZANOWSKY, F. C. Teste da condutividade elétrica. In: KRIZANOWSKY, F. C.; VIEIRA, R. D. e NETO, J. B. F. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES. 1999. 218p.