

FOL
2203

IMPORTÂNCIA DOS TESTES DE GERMINAÇÃO COM ALTAS PRESSÕES OSMÓTICAS EM
ESTUDOS SOBRE A RESISTÊNCIA À SECA DAS CULTURAS .

1º SEMINÁRIO DE TREINAMENTO

30 DE NOVEMBRO/1979.

16:00 hs.

Pierre Michel Saint-Clair
Consultor CPATSA/EMBRAPA
PETROLINA-PE.

Embrapa

Importância dos testes de
1979 FL - 02754



34367-1

INTRODUÇÃO

Os testes de germinação com altas pressões osmóticas representam uma das técnicas usadas nos estudos sobre a tolerância à seca. Outro tipo de pesquisa que se realiza com sementes no campo da tolerância à seca, consiste em induzir esta propriedade as sementes, por meio de ciclos de hidratação-desidratação. Se estende também o uso desta técnica, ou uma variante da mesma, em trabalhos relacionados a tolerância à salinidade (MAY and MILTHORPE and MILTHORPE, 1962; HENCKEL, 1964; STROGO NOV in MAY and MILTHORPE and MILTHORPE, 1959; LYLES and FANNING, 1964).

Falando de testes de germinação com altas pressões osmóticas, se poderia incluir trabalhos usando sais. Efetivamente vários pesquisadores criaram condições de seca por meio de soluções salinas paralelamente com outros produtos como, sucrosa, manitol, polietilene glicol de peso molecular variável. Germinação xérica (gr. xeros = seca) tem sido efetuada com NaCl e manitol (UHVITS, 1964; MACHADO et al, 1976), NaCl, manitol e PEG (Polietilene Glicol ou Carbowax) 6.000 ou 20.000 (PARMAR and MOORE, 1968; SHARMA, 1973). No caso das soluções salinas entram em conta não só o valor da pressão osmótica criada por sais, NaCl no caso destes exemplos, mas também a toxicidade causada pelos mesmos. Se consegue então não só a "seca fisiológica" causada por sais, mas também outra condição adversa ou seja toxicidade.

O presente seminário protagoniza testes de germinação visando a criar unicamente condições de seca. Se dá preferência ao PEG, sobre os outros "osmótica" como sucrose e manitol, refletindo assim as opiniões de ORDIM et al ... (1956), THIMANN et al (1960), MANOHAR (1966), SHARMA (1973), SAINT-CLAIR (1976) e THILL et al (1979). A complicação fisiológica que mais se atribui a estes dois últimos produtos é a entrada dos mesmos nas sementes, resultando um problema de toxicidade. Além disso, se pode incluir outros problemas (possibilidade de contaminação microbiana, simulação infiel das condições naturais).

Protagoniza-se aqui, também o uso do PEG de peso molecular baixo, suspeitando que os PEG's de peso alto podem ser tóxicos (LAGERWERFF et al, 1961; LAWLOR, 1970 In SLAVIK, 1973). Cabe dizer porém que a literatura não é unânime em reconhecer esta opinião.

Como a eficiência dos testes de germinação sob altas pressões osmóticas, ao ponto de vista da resistência à seca, tem uma grande importância no presente contexto, é necessário discuti-la em detalhe.

I. Comentários sobre as relações entre germinação xérica e resistência à seca

1. Resultados com "osmótica", outros que PEG.

GAUTREAU (1966) usando sucrosa selecionou cultivares de amendoim resistentes à seca. Ele escolheu como padrão o cultivar 47-16, o qual é muito resistente à seca, MANOHAR et al (1968) tem revistado a "germinabilidade" sob stress osmótico e a resistência à seca das plantas. Ele mencionou sucesso com seguido com arroz germinado numa solução de clorato de potássio e com sorgo granífero submetido a soluções de vários sais.

Todos esses autores porém, puseram ênfases sobre a controvérsia existente no tocante à eficiência dos testes de germinação. GAUTREAU (1966) discutiu os resultados contraditórios encontrados por certos autores trabalhando com cereais. MANOHAR et al (1968) mencionaram a falta de correlação entre os resultados da germinação "xérica" (com manitol) de alfafa e a resistência à seca.

2. Resultados com PEG.

A literatura sobre as relações entre testes de germinação com PEG e resistência à seca, é modesta. Certos autores se preocupam de preferência em criar com o produto, condições de seca ou pressões osmóticas "sem perigo para os processos metabólicos normais", citando LAGERWERFF et al (1961). THILL et al (1979) por exemplo acharam que PEG 20.000 é melhor que manitol para estimular condições de solo. Outros, enquanto que reconhecem o acordo entre os resultados obtidos com os testes de germinação e a germinação no campo, não estendem esta relação até o comportamento das plantas maduras (SHARMA, 1973; HADAS, 1977).

A possibilidade de uma estreita relação entre testes de germinação e resistência à seca, existe para o sorgo. Antes de detalhar esta opinião, cabe dizer que se precisa saber numa região dada a que mecanismos está ligada a resistência à seca das espécies ou cultivares. No caso do sorgo e do Senegal o teste de germinação com PEG 400 tal como descrito em SAINT-CLAIR (1976,1979), reflete bem a reputação dos cultivares no campo. No primeiro trabalho o autor observou que os cultivares que germinaram melhor sob a pressão osmótica de 11 bars (aproximadamente) eram os mais resistentes à seca. O segundo trabalho confirmou esta tendência. Existe uma forte possibilidade de que a técnica sirva também para o milhete (SAINT-CLAIR, 1975, não publicado). Os quadros 1 e 2 são extraídos dos dois trabalhos com PEG 400, acima mencionados.

QUADRO 1.

Germinação de sorgo granífero sob 5 concentrações (em peso) de carbowax 400; as observações entre parenteses representando as porcentagens médias de sementes que têm germinado durante os dois testes. (Saint-Clair, 1979).

Concentração de Carbowax (% em peso)	pressão osmótica (bars.)	Cultivares de Sorgo Granífero								
		CE-90	7410 KHONE	7531 V15	51-69AT	6820	NK 300	MN 1056	954063	promedio
0	0,86	100 a* (96)	100 a (72)	100 a (97)	100 a (89)	100 a (79)	100 a (83)	100 a (58)	100 a (98)	100 a (84)
6	4,8	86 b	27 b	85 b	77 b	44 b	84 b	75 b	81 b	69,8 b
8	6,58	72 c	13 c	72 b	64 c	20 c	70 c	57 c	60 c	53,5 c
10	8,70	56 d	3 d	47 c	43 d	15 cd	48 d	36 cd	44 d	42,5 c
12	10,88	36 eB**	0 dA	27 dB	23 eB	8 dA	26 eB	24 eB	25 eB	21,1 d

* - Os valores seguidos da mesma letra minúscula numa coluna, não são significativamente diferentes (P = 0,05 teste multiplo de Duncan).

** - Os valores seguidos da mesma letra maiúscula numa fileira, não são significativamente diferentes (P = 0,05 teste multiplo de Duncan).

QUADRO 2.

Germinação de 11 cultivares de sorgo granífero sob 6 concentrações (em peso) de carbowax 400; as observações entre parenteses representando as porcentagens médias de sementes que têm germinado durante os dois testes. (Saint-Clair, 1976)

Concentração de Carbowax (% em peso)	pressão osmótica (bars.)	cultivares											
		CE-90	69-4	RS626	NK 300	C-42Y	X4027	RS610	NB9776K	G393	M35-1	Meloland	promedio
0	0,86	100 a* (94)	100 a (84)	100 a (87)	100 a (77)	100 a (78)	100 a (92)	100 a (57)	100 a (74)	100 a (88)	100 a (71)	100 a (53)	100 a (77,7)
4	3,22	98 a	97 ab	96 b	88 b	87 b	90 b	76 b	90 b	71 b	88 b	69 b	86,3
6	4,80	97 a	90 bc	89 b	79 b	75 b	83 b	68 b	86 b	55 bc	61 c	43 c	75,0
8	6,58	84 b	75 c	64 c	60 c	57 c	56 c	46 c	51 c	39 c	42 d	21 d	54,0
10	8,70	62 c	46 d	41 d	43 c	32 d	29 d	27 d	32 d	21 d	22 e	13 d	33,4
12	10,88	38 dA**	25 eAB	23 eAB	21 dAB	21 dAB	14 eBC	12 eBC	11 eBC	6 eCD	5 fCD	1 eD	16,0

* - Os valores seguidos da mesma letra minúscula, não são significativamente diferentes (P = 0,05 teste multiplo de Duncan).

** - Os valores seguidos da mesma letra maiúscula, não são significativamente diferentes (P = 0,05 teste multiplo de Duncan).

II. METODOLOGIA UTILIZANDO PEG.

1. Com sorgo

Em SAINT-CLAIR (1976,1979) se descreve a metodologia usada no Canadá , com cultivares de sorgo, por quais o Centro Nacional de Pesquisas Agropecuárias - CNRA, de Bambey, Senegal, mostrou grande interesse.

A unidade experimental é uma placa de Petri contendo 50 sementes colocadas sobre uma dupla camada de discos de papel-filtro (Whatman 1; 9,0 cm) e cobertas com um terceiro disco antes da tampa da placa. O papel foi molhado com água destilada (testemunha) e com diferentes concentrações em peso de Carbowax 400.0, 4, 6, 8, 10 e 12%. Com uma câmara Wescor C-51, se mediu as pressões osmóticas correspondentes. 0,86; 3,22; 4,80; 6,58; 8,70 e 10,88 bars respectivamente.

O arranjo dos discos se fez numa câmara de crescimento (Modelo 1733 RS Hotpack-Canadá) mantido na obscuridade e na temperatura de 28°C. O delineamento experimental utilizado foi do tipo parcelas subdivididas com 4 repetições por cultivar e por tratamento. Se registrou os resultados, 18.00 hs. depois do início do tratamento. Se expressou os mesmos em porcentagens da germinação dos controles, devido a diferenças na viabilidade das sementes dos diferentes cultivares. Se transformou finalmente os dados $\arcsin \sqrt{\text{porcentagens}}$ (SNEDECOR, 1965) antes de submetê-los na análise de variação. Médias de dois testes foram utilizadas nessa operação.

É necessário mencionar aqui que, os pesquisadores têm toda a liberdade de trocar o número de repetições, o tipo de delineamento experimental e até o regime de temperatura.

As grandes vantagens desta metodologia são a simplicidade e a rapidez na execução. A desvantagem fica no feito que se deve tomar cuidado extendê-lo às culturas grandes. Neste último caso seria preferível respeitar integralmente as leis internacionais de germinação ou variantes das mesmas (ANONIMO, 1966, 1975) no tocante a existência de todos os órgãos essenciais nas sementes antes de considerá-las mesmas como germinadas. Mesmo com o sorgo, é talvez preferível seguir essas leis. Cabe dizer no entanto que, nas comparações varietais se deve usar o mesmo critério para observar as diferenças dentro do material vegetal. MACHADO et al (1976), por exemplo, usaram como critério de germinação para o feijão, a presença de primórdios de raízes secundárias.

Os trabalhos executados com alguns cultivares de sorgo germinados : no CPATSA seguem as leis mencionadas precedentemente. Porém refletem outras' modificações como se indica abaixo.

- Se usou caixas de germinação (plástico transparente) com tampa 11 x 11 x 4 cm, marca ELO'S em vez de placas de Petri.
- Se trocou o papel-filtro Whatman por papel tipo mata-borrão, 10,5 x 10,5 cm marca GERMIBOX (2 camadas sobre as quais se colocou as sementes e mais uma camada acima delas).
- Se usou PEG 1.500 em vez de PEG 400, para molhar o papel, sendo o PEG 400 muito caro e difícil de conseguir.
- se aplicou um regime de temperatura 20 - 30°C (16.00 hs à 20°C e 8:00 hs.a 30°C).

2. Com milho e Feijão.

Se usou quase as mesmas condições experimentais descritas pelo sorgo ' no CPATSA. As diferenças específicas abrangem o uso de duas folhas (38 x 38 cm) de papel-toalha especial, marca GERMITEST, acima dos quais se colocou as sementes e 2 papel-toalhas em cima delas. Além disso se envolve tudo em duas folhas de papel polietileno, separadas pelas 4 de papel-toalha, Se usou' ligas de borracha para guardar fechadas as folhas de polietileno.

III. RESULTADOS OBTIDOS COM CULTIVARES DE SORCO, MILHO E FEIJÃO NO CPATSA.

1. Sorgo (Resultados incompletos)

Dados experimentais são apresentados no Quadro 3.

QUADRO 3.

Germinação relativa de cultivares de milho sob sete pressões osmóticas* com PEG 1500. A germinação das testemunhas corresponde a 100% e os valores entre parenteses, às porcentagens reais de germinação. Os dados são médias de quatro repetições e constituem uma informação bruta e parcial*.

Pressão osmótica. (bars.)	Período de computagem (dias)	cultivares		
		Icapal	Serena	NK 300
0,8	9	100 (85,5)	100 (67,0)	100 (77,0)
	10+	100 (85,5)	100 (67,0)	100 (77,0)
2,0	9	98.4	97.8	89.3
	10	98.4	97.8	89.3
3,0	9	98.9	99.4	87.1
	10	98.9	99.4	87.1
4,0	9	14.5	79.8	83.2
	10	14.5	79.8	83.2
5,0	9	22.0	5,0	81.7
	10	22.0	5.0	81.7
6,0	9	9.7	7.2	36.3
	10	9.7	7.2	36.3
7,0	9	12.6	1.3	33.07
	10	12.6=	1.3	33.07

* Realizadas a partir de dados apresentados por SIAVIK (1973); uso de osmometro desejado.

** Por razões técnicas e falta de tempo a informação ainda não é completa.

+ Última computagem segundo as leis internacionais (ANONIMO, 1966).

2. Milho

Os resultados de um experimento conduzido nas mesmas condições que as do Quadro 3., são indicados abaixo.

QUADRO 4.

Germinação relativa de cultivares de milho sob quatro pressões osmóticas* criadas com PEG 1.500. A germinação das testemunhas corresponde a 100% e os valores entre parenteses, às porcentagens reais de germinação. Os dados são médias de quatro repetições e constituem uma informação bruta**.

Pressão osmótica. (bars.)	Período de computagem (dias)	cultivares				
		Dentado	Flint	Tuxpeno	Centralmex	Azteca
0,3	7+	100.0 (81.5)	100.0 (92.0)	100.0 (76.0)	100.0 (87.5)	100.0 (85.5)
	10	100.0 (90.0)	100.0 (97.5)	100.0 (87.0)	100.0 (94.0)	100.0 (95.0)
2,0	7	12.2	20.8	8.4	4.5	23.2
	10	68.1	75.7	48.2	44.1	75.2
3,0	7	1.2	3.7	-	-	10.9
	10	45.5	35.3	15.5	26.5	57.2
4,0	7	-	-	-	-	3.9
	10	17.2	8.1	11.4	4.2	20.4

* Realizadas a partir de dados apresentados por SLAVIK(1974)

** Por razões técnicas e falta de tempo, os dados não têm sido analisados estatisticamente.

+ Última computagem segundo as leis internacionais (ANONIMO, 1966).

3. Feijão

Se apresenta abaixo os dados obtidos com um experimento envolvendo cinco cultivares.

QUADRO 5.

Germinação de cultivares de feijão sob tres pressões osmóticas* criadas com PEG 1.500. A germinação das testemunhas corresponde a 100% e os valores entre parenteses; às porcentagens reais de germinação. Os dados são médias de quatro repetições e constituem uma informação bruta**.

Pressão osmótica (bars)	Período de computagem (dias)	cultivares				
		Mulatinho	Rim de Porco	Vagem Roxa	IPA-1	IPA-7419
0,8	9+	100.0 (96,0)	100.0 (96.0)	100.0 (90.0)	100.0 (90.5)	100.0 (91.5)
	10	100.0 (96.0)	100.0 (96.0)	100.0 (90.5)	100.0 (90.5)	100.0 (92.5)
2,0	9	4.1	1.0	54.9	3.8	2.8
	10	4.1	1.0	55.7	3.8	2.8
3,0	9	0.0	0.0	4.4	0.0	0.0
	10	0.0	0.0	4.4	0.0	0.0

* e ** Vide Quadros 3 e 4 respectivamente.

+ Última computagem segundo as leis internacionais (ANONIMO, 1966).

IV DISCUSSÕES E CONCLUSÕES

A informação apresentada nos Quadros 3, 4 e 5, indica que o sorgo tem em geral maior capacidade de germinar sob condições de stress que o milho, sendo o comportamento deste último melhor que o do feijão. Comparando os valores desses tres Quadros para o tratamento de 3 bars, se ve claramente as diferenças.

Se sabe que a literatura considera o sorgo como mais resistente que o milho (VAN DEN ABEELE, M. et VANDENPUT, 1956; SANCHEZ and KRAMER, 1971; etc) Se sabe também que o sorgo se cultiva muito nas regiões semi-áridas (na Zona Sahelo - Sudanese por exemplo). Cabe então dizer que os presentes resultados experimentais concordam com a informação da literatura.

No tocante aos cultivares de sorgo, se pode afirmar primeiro que o comportamento de NK-300 reflete as opiniões expressadas em precedentes circunstanciais (SAINT-CLAIR, 1976, 1977). Os dados obtidos por este cultivar nestes últimos trabalhos, correspondem com os do Quadro 3, ao menos até a pressão de 5 bars. É necessário fazer lembrar que os testes de germinação referidos em SAINT-CLAIR (1976 e 1979), Quadros 1 e a) duraram só 18:00 hs e se terminaram com a presença da radícula. Como mencionado previamente o que é importante em comparações varietais é o uso do mesmo critério no mesmo experimento. É necessário mencionar porém que no caso das observações do Quadro 3, a germinação foi afetada por fungi com os tratamentos 6 e 7 bars, embora que as sementes fossem tratadas com fungicidas.

Com respeito aos cultivares Icapal e Serena o problema de fungi começou com o tratamento 4 bars, sendo a pudrição das sementes mais importante nos tratamentos 5, 6 e 7 bars. Comparando-se os resultados obtidos com os dois cultivares na pressão de quatro bars, observa-se que Serena se comportou melhor que Icapal e praticamente igual a NK-300. Nas pressões mais altas desaparece esta vantagem. Embora seja prematuro emitir opiniões definitivas, pode-se dizer que Serena é bem adaptada às áreas semi-áridas do Nordeste do Brasil (FARIS et al. 1976). Icapal tem sido utilizado como controle, mesmo Serena em ensaios de produção sob condições irrigadas na Bahia (AGUIAR, 1977). Isso reflete aparentemente certas potencialidades de adaptação de Icapal. Na última reunião dos Coordenadores de Sorgo, organizada no CPATSA, se comentou um caso de fraco comportamento deste cultivar em condições naturais.

Com respeito ao milho e ao feijão os resultados apresentados nos Quadros 4 e 5 tendem a refletir bastante fielmente as opiniões de pesquisadores, extensionistas e também a explicar as preferências tradicionais.

Azteca é reconhecido por sua grande adaptação as condições de seca do Nordeste. A ordem de tolerância que se observa sob pressão osmótica de 3 bars (Quadro 4) corresponde razoavelmente com as previsões dos melhoristas de milho do CPATSA (XAVIER DOS SANTOS e DE OLIVEIRA LOPES, 1979, Comunicação Pessoal). Dos resultados obtidos nos campos de agricultores em Rajada, durante o período 1978/79, se destacou uma superioridade de Dentado (CV. Br 5026) sobre Flint (CV. Br 5030), sendo o Centralmex o mais débil sob as condições da região (Comunicação Pessoal dos Extensionistas da EMATER-PE, 1979). O cultivar de feijão Vagem Roxa que tem o melhor comportamento no Quadro 5 é particularmente popular na Bahia, o estado considera o maior produtor (de feijão) do Nordeste (MENEZES ASSIS, 1979), Comunicação Pessoal).

De uma maneira geral, os dados apresentados no presente contexto, contribuirão para facilitar os trabalhos de pesquisa no campo da resistência à seca sobre os seguintes pontos:

1. escolha da pressão osmótica mais prática para discriminar os cultivares.
Por exemplo: se pode usar (com a metodologia correspondente) 6 ou 7 bars para o sorgo, 3 para o milho e 2 para o feijão, e naturalmente o tratamento testemunha; avaliar a germinação do milho ao 10º dia sendo aconselhável.
2. Pertinencia de indagar sobre as possibilidades de relações entre outras propriedades como resistência ao calor, resistência ao dessecamento, etc. e o comportamento geral (em termos de reputação ou rendimento) sob condições de seca.

As perguntas pertinentes podem ser: Será a capacidade de germinar sob pressões osmóticas adequadas, um indicador bastante seguro ou universal da tolerância à seca, por cada uma das culturas discutidas no presente contexto? Podem outras propriedades dos cultivares, ter uma importância, maior, igual, menor ou desprezível que aquela capacidade de germinar? Qualquer que seja, a presença de testes de germinação no programa de pesquisas do CPATSA, oferece potencialidades muito interessantes para identificar os mecanismos responsáveis da tolerância à seca das culturas.

V DEMONSTRAÇÕES DE TESTES DE GERMINAÇÃO COM SEMENTES, CAIXAS, PAPEIS ADEQUADOS, PEG 1.500, ETC.

REFERÊNCIAS

1. AGUIAR, P.A. Estudo do Potencial de Sorgo (Sorghum bicolor) graníferos sob condições do médio São Francisco. 1977. Turrialba 27(4): 420-422.
2. ANONIMO, 1966. Règles internationales pour les essais de semences. Comptes rendus de l'Association internationale d'essais de semences. 31(3) , 519 p.
3. ANONIMO, 1975. Interpretação de testes de germinação. Laboratório de tecnologia de sementes. Universidade do Estado de Mississipi. Tradução de Flávio Farias Rocha. Ministério da Agricultura. AGIPLAN, Brasília. 35 p.
4. FARIS, M.A.; R.G. MAFRA; C.A. VENTURA e M.R. ARAUJO. 1976. Estudos preliminares de consórcio de milho e sorgo, com duas leguminosas do Nordeste do Brasil Boletim IPA/P.S.M. Recife (3): 153-167.
5. GAUTREAU, J. 1966 Recherches variétales sur la résistance de l'arachide à la sécheresse. I Les tests de germination à pression osmotique élevée . Oleagineux 7: 441-444.
6. HADAS, A. 1977. A simple laboratory approach to test and estimate seed germination performance under field conditions. Agr. J. 69(4):582-589.
7. HENCKEL, P.A. 1964. Physiology of plant under drought. Ann. Rev. of Pl. Physiol. 15:363-386.
8. LAGERWERFF, J.V. et al 1961. Control of osmotic pressure of culture solutions with polyethylene glycol, Science 133: 1486-1487.
9. LAWLOR, D.W. 1970 Absorption of polyethylene glycols by plants and their effects on plant growth. New phytol. 69: 501-513. In B. SLAVIK. 1974 Methods of studying plant-water relations, New York. Springer - Verlag 449 p.
10. LYLES, L. and C.D. FANNING. 1964. Effects of presoaking, moisture tension and soil salinity on the emergence of grain sorghum. Agr. J. 56 (5) 518-522.
11. MACHADO, R. et al. 1976 Efeito da desidratação osmótica na germinação de sementes de vinte cultivares de feijão (Phaseolus vulgaris, L.) Cereales 23 (128): 310-320.

12. MANOHAR, M.S. 1966 Effects of osmotic systems on germination of peas. *Plan*
ta 71. 81-86.
13. MANOHAR, M.S. et al. 1968 Germination in lower osmotic potential as an in-
dex of drought resistance in crop plants. A review. *Ann. Arid Zone*
7: 82-92.
14. MAY, L.H. and E.J. MILTHORPE and F.L. MILTHORPE. 1962. Presowing hardening
of plants to drought. An appraisal of the contributions by P. A.
Genkel, *Field Crop Abstracts* 15(2). 92-98.
15. ORDIN, K.; T.H. APPLEWHITE and J. BONNER. 1956. Auzin-induced water uptake
by *Avena* Coleoptile sections. *Plant Physiology*. 31: 44-53.
16. PARMAR, M.T. and R.P. MOORE. 1968. Carbowax 6000, mannitol and sodium
chloride for simulating drought conditions in germination studies
of corn (*Zea mays* L.) of strong and weak vigor. *Agr. J.* 60: 192-195.
17. SAINT-CLAIR, P.M. 1976. Germination of *Sorghum bicolor* L. Moench under
polyethylene glycol-induced stress. *Canadian Journal of Plant Science*
56: 21-24.
18. SAINT-CLAIR, P.M. 1979 Etude de quelques aspects de la résistance à la
sécheresse du sorgho grain. *Turrialba* 29(2): 139-146
19. SANCHEZ-DIAZ, M. and P. KRAMER, 1971. Behavior of corn and sorghum under
water stress and during recovery. *Plant Physiol.* 48: 613-616
20. SHARMA, M.L. 1973. Simulation of drought and its effect on germination of
five pasture species. *Agron. J.* 65(6): 982-987
21. SLAVIK, B. 1974. Methods of studying plant-water relations. New York.
Springer-Verlag. 449 p.
22. STROGONOV, B.P. 1959. The water regime of plant on saline soils. In L. H.
MAY and E.J. MILTHORPE and F.L. MILTHORPE, 1962. *Field Crop abstracts*
15(2): 93-98.
23. THILL, D.C., R.D. SCHIRMAN and A.P. APPLEBY. 1979. Osmotic of mannitol and
polyethylene glycol 20.000 solutions used as seed germination media.
Agr. J. 71(1): 105-108.
24. THIMANN, K.V.; G.M. LOOS and E.W. SAMUEL. 1960 Penetration of mannitol
into potato discs. *Plant. Physiol.* 35: 848-853.
25. UHVITS, R. 1964 Effect of osmotic pressure on water absorption and
germination of alfalfa seeds. *Amer. Jour. Bot.* 33: 278-285.
26. VANDEN ABEELE, M. et R. VANDENPUT, 1956. Les principales cultures du
Congo Belge. Royaume de Belgique. Ministère des Colonies. Bruxelles,
pp. 173-178.