

EFFECTO DE ALGUNOS TRATAMIENTOS PARA INTERRUMPIR EL REPOSO EN SEMILLAS DE PASTOS. II. *Brachiaria decumbens*¹

Jorge Herrera *

ABSTRACT

Effect of some treatments for breaking dormancy in pasture seeds. I. *Paspalum notatum*. Two experiments on seeds of *Paspalum notatum* with low germination percentage (3,5%) were carried out. In the first, seeds were deepened in concentrated sulfuric acid for different periods (0, 1, 2, 4 and 8 min), forchlorfenuron (0, 5, 10, 20 and 40 mg/l) for one hour, hydrogen cyanamide (0, 0,5, 1, 2, 4 and 8% of commercial product, 50% a.i.) for one hour and in tap water for 0, 24, 48, 72 and 96 h at 40°C. This same periods and temperature were used in dry conditions. In the last treatment, potassium nitrate (0, 0,15, 0,3, 0,45, 0,6 and 0,75%) was used to wet the paper used as substrate. In the second experiment, the seeds were deepened in H₂SO₄ for 4 min and later deepened in KNO₃ (0, 0,2, 0,4, 0,6 and 0,8%) or hydrogen cyanamide (0, 0,5, 1, 2 and 4%) for 2 h. In the first experiment the best results were obtained with H₂SO₄ (29,5%), hydrogen cyanamide (24,5%) and water at 40°C (22%). Intermediate values were obtained with KNO₃ and forchlorfenuron. No significant differences were detected when the seeds were exposed to 40°C in a dry environment. In the second experiment, deepening the seed in H₂SO₄ produced 33% of germinated seeds. The highest values with hydrogen cyanamide (59% of germinated seeds) were obtained with 4% of commercial product. In the case of KNO₃ the highest value (47,5% of germinated seeds) were obtained when a 0,4% solution was used.

INTRODUCCION

La especie *Paspalum notatum* es utilizada comúnmente en Costa Rica como pasto ornamental y su uso está ampliamente difundido. Sin embargo, al igual que gran cantidad de especies de pastos tropicales presenta dificultades en su germinación debido principalmente, al reposo de la semilla.

El reposo es un fenómeno común en muchas de las semillas de interés agrícola. Ecológicamente es de gran importancia, ya que asegura la perpetuación de la especie, pues permite la germinación escalonada de la semilla. Este fenómeno se puede definir como una condición que evita la germinación de semillas viables aunque éstas se encuentren bajo condiciones adecuadas de luz, agua, temperatura y oxígeno (Bewley y Black, 1982). En pastos es común encontrar esta imposibilidad de germinar inmediatamente después de la cosecha, lo cual es un problema en establecimiento de plantaciones y para el expendedor de semillas por cuanto deberá esperar hasta que el reposo se haya perdido para comercializar su producto. Eira (1983) señala que en la especie *Andropogon gayanus* germina apenas 30% de la semilla después de 5 meses

1/ Recibido para publicación el 7 de setiembre de 1993.

* Centro para Investigaciones en Granos y Semillas, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. El autor es beneficiario del Programa de Apoyo Financiero a Investigadores Científicos del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT) de Costa Rica.

de almacenamiento y el reposo no desaparecerá hasta 9 meses después de la cosecha.

En ocasiones, la germinación no ocurre aunque las semillas parezcan totalmente formadas debido a que el embrión no ha alcanzado un desarrollo completo (Bewley y Black, 1982; Roberts, 1972). En estos casos el embrión se muestra como una estructura poco diferenciada, por lo que la semilla no podrá germinar hasta tanto no termine el proceso de diferenciación. Sin embargo, cuando la organogénesis no es la situación prevalente en la especie en estudio, el reposo puede ser superado. La escogencia del tratamiento que ayude a superar este fenómeno debe realizarse en forma experimental, ya que existen grandes diferencias entre géneros, especies y aún entre cultivares. También se debe tener especial cuidado con la escogencia del estado fisiológico de la semilla. Finalmente, Atwater (1980) menciona como de especial importancia considerar el origen ecológico de la especie.

En muchas ocasiones, el reposo puede ser un efecto de cubiertas impermeables al agua o al oxígeno (Villiers, 1972). En estos casos, tratamientos químicos o físicos de abrasión y perforación pueden ser muy efectivos. Entre éstos, la inmersión en ácidos, especialmente ácido sulfúrico (H_2SO_4) y la escarificación mecánica de la semilla contra superficies abrasivas (Bewley y Black, 1982) han sido utilizadas con buenos resultados.

Entre los tratamientos químicos, se encuentra el uso de reguladores del crecimiento. Este tipo de sustancias se encuentra comúnmente en las semillas y según Amén (1968) es importante la proporción en que estas sustancias se encuentra, ya que el reposo dependerá en muchos casos del balance entre promotores e inhibidores de la germinación, especialmente giberelinas, citoquininas y etileno. El forclorfenurón (N-(2-cloro-4-pyridinyl)-N-fenilurea) es una citoquinina sintética de reciente desarrollo, probada en aplicaciones a las plantas para mejorar la producción de frutos en vid, kiwi, aguacate y manzana (SKW-Trostberg, 1988). Las citoquininas de tipo fenilurea y adenina exhiben algunas propiedades en común, tales como estimular la división y diferenciación celular, la expansión de la hoja y del cotiledón y el retardo de la senescencia de las hojas (Okamoto *et al.*, 1978; Isogi, 1981), aunque también, las citoquininas de tipo fenilurea exhiben algunas propiedades diferentes, tal como la defoliación en algodón (Arndt *et al.*, 1976).

En ocasiones el reposo puede deberse a una insuficiencia respiratoria que impide la activación

del ciclo de las pentosas fosfato, que es considerado un proceso fundamental en el inicio de la germinación (Esashi, 1979). La cianamida hidrogenada (CH_2N_2) es una sustancia usada para estimular el desarrollo de brotes en reposo. Su uso provoca aumentos en la tasa de respiración y al igual que el cianuro, inhibe la actividad de las peroxidases (Amberger, 1986; Shulman, 1983).

Para la superación del reposo, tanto la Association of Official Seed Analysts (AOSA, 1989), como la International Seed Testing Association (ISTA, 1976) han recomendado el uso de nitrato de potasio (KNO_3). Eira (1983), reconociendo, para 4 especies de la gramínea *Andropogon*, realizar un tratamiento con una solución al 0,2% de esta sustancia. También se recomienda que las condiciones de germinación incluyan luz. Herrera (1993) logró 100% de germinación en *Andropogon gayanus* con KNO_3 al 0,6%, humedeciendo el sustrato de germinación con la solución.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar diferentes tratamientos físicos y químicos para interrumpir el período de reposo en semilla de *Paspalum notatum*.

MATERIALES Y METODOS

Experimento 1

Se utilizó semilla de *Paspalum notatum* procesada y secada comercialmente. Se realizó una prueba preliminar en la cual se determinó una germinación inicial de 3,5%, con gran número de semillas duras. A las semillas duras se les hizo una prueba de tetrazolio y se determinó un porcentaje de 74% de semillas viables.

La semilla se trasladó al Centro para Investigaciones en Granos y Semillas (CIGRAS) de la Universidad de Costa Rica, donde se realizaron los trabajos. Antes de iniciar la experimentación, la semilla se almacenó en envases de metal cerrados herméticamente en una cámara a 5°C de temperatura por 2 semanas. Después, se realizó un análisis de pureza y se eliminaron las espiguillas vacías, de manera que los tratamientos se hicieron sobre semilla pura.

Se aplicaron diversos tratamientos físicos y químicos para interrumpir el reposo en la semilla, los cuales se observan en el Cuadro 1. Los tratamientos de inmersión se realizaron sumergiendo la semilla en 100 ml de líquido, de manera que fuera uniforme en todos los tratamientos. Para los tratamientos a 40°C se usó una incubadora Precision

Cuadro 1. Tratamientos físicos y químicos realizados para interrumpir el reposo en semillas de *Paspalum notatum*.

Tratamiento	Tiempo
Acido sulfúrico concentrado	0,1,2,4, 8min.
Forclorfenurón 0, 5, 10, 20, 40 mg/l	120 minutos
Calor en agua (40°C)	0, 24, 48, 72, 96 horas
Calor en seco (40°C)	0, 24, 48, 72, 96 horas
Cianamida hidrogenada 0., 0,5, 1, 2, 4, 8% (50% ia)	120 minutos
Nitrato de potasio 0, 0,15, 0,3, 0,45, 0,6, 0,75%	Sustrato humedecido

Scientific 815. En los tratamientos con H_2SO_4 , después del período de inmersión, la semilla se lavó con abundante agua antes de ser colocada para su germinación. Con la solución los tratamientos con KNO_3 se hicieron humedeciendo el sustrato. Los tratamientos y resultados obtenidos con CH_2N_2 se expresan en porcentaje de producto comercial al 50% de i.a.

Inmediatamente después de realizados los tratamientos, la semilla se puso sobre papel para germinación y se colocó en una cámara a 30°C y 98% de humedad relativa con períodos alternos de luz de 12 h, durante 28 días. Las evaluaciones se hicieron de acuerdo con las normas para el análisis de calidad de semillas de AOSA (1989). Se evaluó el número de semillas germinadas 7, 14 y 28 días después de realizados los tratamientos. Se utilizaron 4 repeticiones de 100 semillas en un arreglo irrestricto al azar para cada sustancia.

Experimento 2

En este experimento se usó semilla del mismo origen que en el experimento 1 y se probó una combinación de los tratamientos que dieron mejor resultado en el experimento anterior. Toda la semilla se sumergió por 4 min en H_2SO_4 . Posteriormente, la mitad se sumergió por 2 h en CH_2N_2 en concentraciones de 0, 0,5, 1, 2 y 4%. La otra mitad se sumergió en KNO_3 en concentraciones de 0, 0,2, 0,4, 0,6 y 0,8% por el mismo tiempo. Como se puede observar, con el KNO_3 la metodología se varió con respecto al primer experimento ya que se encontraron problemas al humedecer el sustrato con la solución. En general, se observó que la

semilla fue más susceptible al ataque de hongos y hubo decoloración de la cubierta.

Posteriormente la semilla se colocó para su germinación bajo las mismas condiciones que en el experimento 1. Las evaluaciones se realizaron a los 7, 14 y 28 días después de iniciada la prueba.

Los procedimientos de análisis estadístico en ambos casos fueron los de rutina: análisis de variancia, pruebas de medias pro Tukey.

RESULTADOS

Experimento 1

La semilla de *Paspalum notatum* usada en este experimento, en general, mostró una baja capacidad de germinación, ya que sin ningún tratamiento tan sólo alcanzó 3,5% (Figura 1). La germinación se vio fuertemente aumentada ($\alpha = 0,01$) por la inmersión en H_2SO_4 . Así, el porcentaje de plántulas aumentó conforme se incrementó el tiempo de exposición. Los valores más altos se alcanzaron al sumergir la semilla por 4 y 8 min (27,5 y 29,5%, respectivamente) entre los cuales no hubo diferencias significativas. Los tiempos de 1 y 2 min de inmersión ocuparon lugares intermedios con valores de 15,5 y 19,5% respectivamente, aunque este último no fue significativamente diferente de la inmersión por 4 min.

La inmersión en forclorfenurón aumentó significativamente la germinación ($\alpha = 0,05$) con respecto al testigo (Figura 2), cuando se utilizó la concentración de 20 mg/L. Cabe señalar que con este tratamiento la máxima cantidad de semillas germinadas fue tan sólo de 11%. Las demás

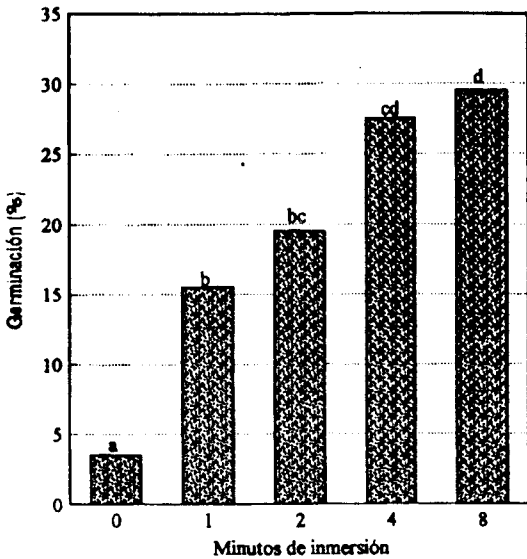


Fig. 1. Efecto de la inmersión en ácido sulfúrico sobre la germinación de *Paspalum notatum*.

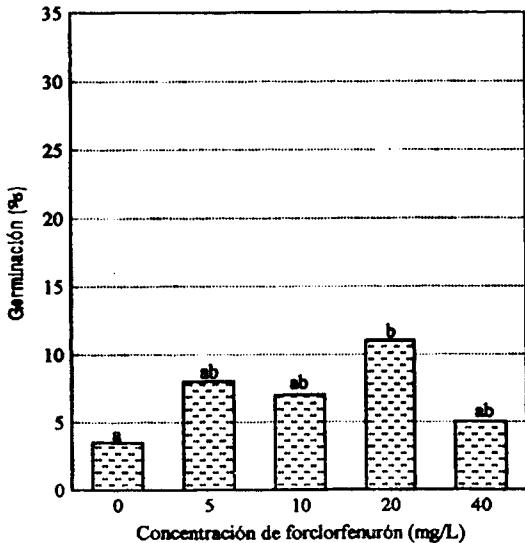


Fig. 2. Efecto de la inmersión en forchlorfenuron sobre la germinación de *Paspalum notatum*.

concentraciones no fueron significativamente diferentes al testigo.

El tratamiento térmico (40°C) en seco a la semilla, no tuvo efecto significativo sobre la

germinación y aunque los resultados no se consiguan, cabe comentar que se obtuvo un ligero aumento en la germinación (de 6 a 7%). Por el contrario, hubo un aumento significativo en la germinación cuando la semilla se sumergió en agua a 40°C por períodos crecientes (Figura 3). Los mayores valores se alcanzaron a las 72 y 96 h (18 y 22%, respectivamente) los cuales fueron significativamente diferentes al testigo. Los períodos de 24 y 48 h fueron estadísticamente similares al testigo. Aunque los porcentajes aumentaron progresivamente con el período de inmersión, no se consideró conveniente continuar esta línea de investigación en el experimento 2, ya que períodos tan largos de inmersión a una temperatura tan elevada presentan serios inconvenientes, tales como procesos de fermentación y ataque de patógenos.

La CH_2N_2 (Figura 4) produjo un aumento significativo en la germinación de *Paspalum notatum* ($\alpha = 0,01$). Los valores menores se obtuvieron con las concentraciones de 0, 0,5 y 8%, entre las cuales no hubo diferencias. Los porcentajes mayores de semillas germinadas se alcanzaron con las concentraciones de 1, 2 y 4% (24,5, 24,5 y 20%), que resultaron estadísticamente iguales entre sí.

En la Figura 5 se observa el efecto del KNO_3 sobre la germinación. Las dosis de 0,3, 0,45 y 0,6 % aumentaron significativamente ($\alpha = 0,01$) la germinación, alcanzando 17, 15 y 10, 5%,

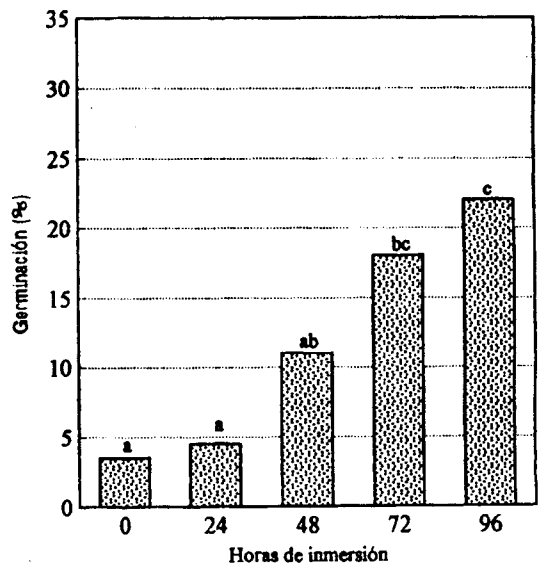


Fig. 3. Efecto de la inmersión en agua a 40°C sobre la germinación de *Paspalum notatum*.

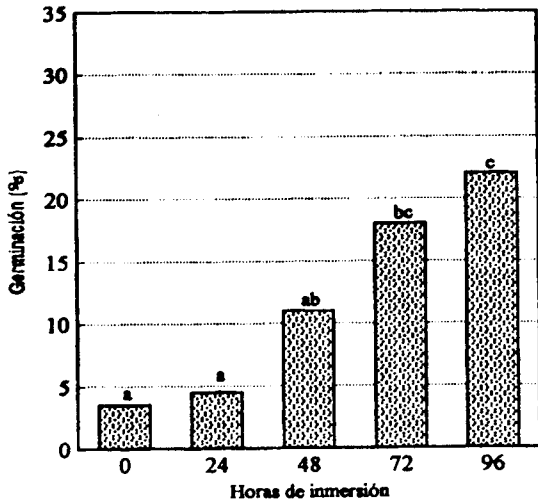


Fig. 4. Efecto de la inmersión en cianamida hidrogenada sobre la germinación de *Paspalum notatum*.

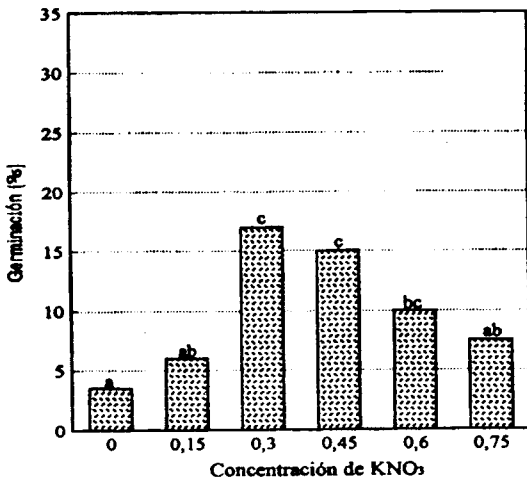


Fig. 5. Efecto de la inmersión en nitrato de potasio sobre la germinación de *Paspalum notatum*.

respectivamente. Las demás concentraciones no fueron significativamente diferentes del testigo.

Experimento 2

El efecto de la inmersión en H₂SO₄ por 4 min y su posterior inmersión en CH₂N₂ se observa en la Figura 6. Todos los tratamientos con CH₂N₂ aumentaron significativamente (a= 0,01) la germinación. Aunque no se detectaron diferencias entre

las diferentes concentraciones, los valores más altos (59,5%) se alcanzaron con la concentración de 4%.

Cuando la semilla se sumergió en KNO₃ después de ser tratada con H₂SO₄, la germinación se aumentó significativamente (a= 0,01) (Figura 7). Los resultados más altos y significativamente diferentes del testigo se obtuvieron con los tratamientos de 0,2, 0,4 y 0,6% (42, 47,5 y 46% de semillas germinadas, respectivamente), entre los que no hubo diferencias estadísticas. Valores intermedios se detectaron con la concentración de 0,8% de KNO₃, que no fue significativamente diferente de las concentraciones de 0 y 0,2%.

DISCUSION

Probablemente el mecanismo inductor de reposo en semillas mejor comprendido es el referente a la impermeabilidad de la cubierta. Cope land (1976) hace una detallada explicación de las estructuras anatómicas y morfológicas que se han desarrollado para que se presente esta situación. Los mecanismos pueden ser tales que impidan el intercambio gaseoso u ocasionen impermeabilidad al agua. En el caso de *Paspalum notatum* y por los resultados obtenidos, se puede inferir que hay una fuerte impermeabilidad al agua, tanto así, que los tratamientos con H₂SO₄ aumentaron significativamente la germinación de 3,5% en semillas sin ningún tratamiento, a valores comprendidos entre 15

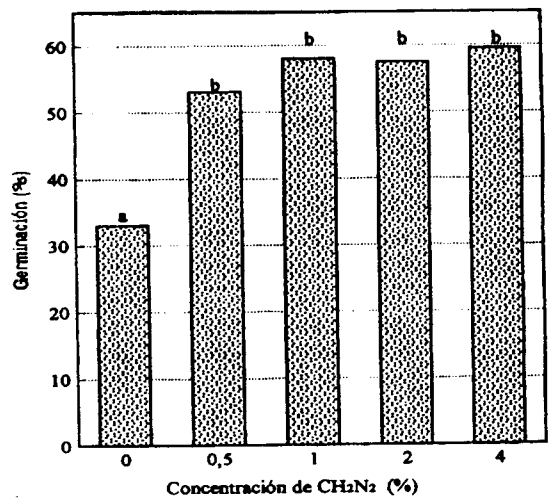


Fig. 6. Efecto de la inmersión en ácido sulfúrico por 4 minutos y posteriormente en cianamida hidrogenada sobre la germinación de *Paspalum notatum*.

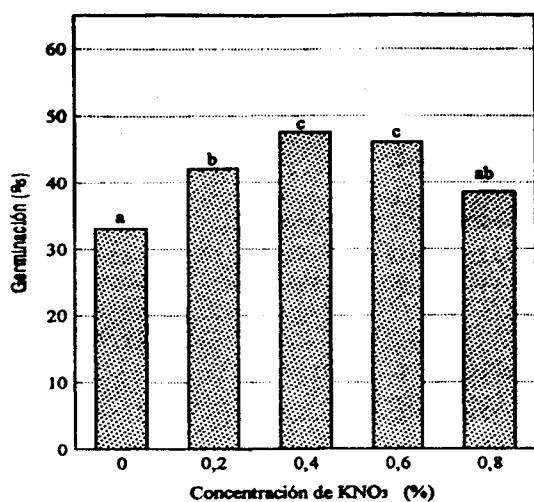


Fig. 7. Efecto de la inmersión en ácido sulfúrico por 4 minutos y posteriormente en nitrato de potasio sobre la germinación de *Paspalum notatum*.

y 30% en el primer experimento y hasta 33% en el segundo, lo que representa un aumento muy grande con respecto a las semillas no tratadas (Figuras 1 y 6). Este mecanismo es muy frecuente en familias tales como Leguminosae, Cannaceae, Chenopodiaceae, Convulvaceae, Geraniaceae, Graminae, Lilaceae, Malvaceae y Solanaceae (Ballard, 1973). El ácido suaviza la cubierta de las semillas duras, ocasionando un aumento permanente en la permeabilidad, lo cual favorece la difusión de los inhibidores de la germinación, en caso de que estos estén presentes en la cubierta (Bewley y Black, 1982). En la familia Leguminosae este es el mecanismo causante de evitar el ingreso del agua dentro de la semilla, como es el caso de *Melilotus alba* (Bewley y Black, 1982) o de *Desmodium ovalifolium* (Rojas y Herrera, 1989).

Este tipo de tratamiento con ácidos tiene el inconveniente de necesitar un manejo cuidadoso, aparte de la necesidad de humedecer la semilla, por lo que se hace necesario personal especializado. Los resultados obtenidos no dan evidencia de que se haya alcanzado el máximo de germinación por este método, por lo que se hace necesario probar mayores tiempos de exposición.

El uso de la citoquinina forclorfenurón resultó beneficioso para aumentar la germinación en esta especie, sin embargo, aunque, si bien los aumentos fueron proporcionalmente importantes, los

valores finales fueron relativamente bajos, ya que no superaron el 12%. Lo anterior parece indicar nuevamente la presencia de inhibidores de la germinación en la cubierta de la semilla. Amen (1968) y Wareing y Saunders (1971) señalan que existe gran evidencia que apoya la idea que este tipo de reposo está controlado por un balance inhibidor/promotor. Bewley y Black (1982) manifiestan que el efecto de las citoquininas en la interrupción del reposo se debe a que permite la acción de un segundo promotor, que podrían ser las giberelinas. La acción independiente del forclorfenurón y del H₂SO₄ permite pensar que en esta especie se da un doble mecanismo para la interrupción del reposo. Por otra parte, Copeland (1976) señala que el cultivar Glory de repollo tiene inhibidores en la cubierta, que son eliminados al sumergir la semilla en H₂SO₄ y luego lavarla con agua por varias horas.

En este experimento no se detectó ningún efecto al someter la semilla a 40°C en seco, sin embargo, esta misma temperatura pero sumergiendo la semilla en agua aumentó significativamente la germinación, alcanzando 24% cuando permaneció 96 h dentro del líquido (Figura 3), lo cual parece indicar que tiempos aún mayores podrían aumentar este valor. Se presenta el inconveniente de que tiempos muy largos de inmersión traerían problemas de anaerobismo con posible pérdida de vigor, además de que la semilla quedaría expuesta al ataque de hongos y bacterias. Estos resultados parecen corroborar que en este caso el agua sirvió para lavar inhibidores. Por otra parte, la alta temperatura posiblemente ayudó a debilitar la cubierta seminal, tal como lo señalan Mott y McKeon (1979).

Con el uso de KNO₃ se obtuvieron aumentos significativos en la germinación (Figura 5). Esta sustancia se ha indicado, tanto por AOSA (1989) como por ISTA (1976) como estimulante de la germinación, Copeland (1976) señala que la mayoría de las semillas sensibles al KNO₃ lo son también a la luz. Durante algún tiempo se pensó que esta sustancia era un sustituto de la luz, aunque ahora se cree que tan sólo aumenta la sensibilidad a la luminosidad. Por su parte, Roberts, citado por Bewley y Black (1982), propone un sistema en el cual la interrupción del reposo con KNO₃ depende de cambios en el metabolismo respiratorio al estimular específicamente el ciclo de las pentosas fosfato.

El KNO₃ puede interactuar con la temperatura en algunas especies e influenciar la germinación, lo cual ha sido comprobado en varias gramíneas

(Toole, 1938.), aunque paradójicamente, se ha encontrado que puede ser detrimental en la germinación de algunas especies. Es sorprendente que con su uso se inhiba la germinación de la semilla de lechuga, debido tanto a que la baja temperatura como la luz son requerimientos de esta especie (AOSA, 1959).

Los resultados obtenidos en el segundo experimento corroboran los observados en el primero y demuestran que hay más de un mecanismo involucrado en el reposo de la semilla de *Paspalum notatum*, ya que además del incremento provocado por el H_2SO_4 la germinación aumentó aún más con la aplicación de KNO_3 y de CH_2N_2 . La efectividad de ambos compuestos está estrechamente relacionada con la luz y su efecto sobre la germinación (Copeland, 1976; Bewley y Black, 1982). Estos últimos señalan que la mayoría de las citoquininas tan sólo actúan en la presencia de niveles bajos de luz, los cuales son incapaces de inducir germinación por sí mismos.

RESUMEN

Se llevaron cabo dos experimentos en semillas de *Paspalum notatum* con bajo porcentaje de germinación (3,5%). En el primero, las semillas se sumergieron en ácido sulfúrico concentrado por 0, 1, 2, 4 y 8 min, en forclorfenurón (0, 5, 10, 20 y 40 mg/l) por 1 h, en cianamida hidrogenada (0, 0,5, 1, 2, 4 y 8% de producto comercial con 50% i.a.) por 1 h y en agua a 40°C por 0, 24, 48, 72 y 96 h. Estos mismos períodos y temperatura se usaron en semillas en seco. En el último tratamiento, las semillas se colocaron sobre papel para germinación humedecido con soluciones de nitrato de potasio (0, 0,15, 0,3, 0,45, 0,6 y 0,75%). En el segundo experimento, las semillas primero se sumergieron en ácido sulfúrico por 4 min y posteriormente en soluciones de nitrato de potasio (0, 0,2, 0,4, 0,6 y 0,8%) o de cianamida hidrogenada (0, 0,5, 1, 2 y 4%) por 2 h. En el primer experimento, los resultados mayores se obtuvieron con ácido sulfúrico (29,5%), cianamida hidrogenada (24,5%) y agua a 40°C (22%). Valores intermedios se obtuvieron con nitrato de potasio y forclorfenurón. No se encontraron aumentos significativos cuando las semillas se expusieron a 40°C en seco. En el segundo experimento, la inmersión de la semilla en ácido sulfúrico produjo 33% de semillas germinadas. Los valores más altos con cianamida hidrogenada (59%) se obtuvieron con 4% de producto

comercial. En el caso del nitrato de potasio, el valor más alto (47,5% de semillas germinadas) se obtuvo cuando se usó una solución al 0,4%.

LITERATURA CITADA

- AMBERGER, A. 1986. Uptake and metabolism of hydrogen cyanamide in plants. Informe Técnico. Trosberg, 8 p.
- AMEN, R.D. 1968. A model of seed dormancy. Botanical Review. 43:1-31.
- ARNDT, F.; RUSCH, R.; STILFRIED, H.V. 1976. SN49537, a new cotton defoliant. Plant Physiology 57:99.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. 1959. Subcommittee Report on Celery and Lettuce Seed Germination. Proceedings of the AOSA. 49:20-24.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. 1989. Rules for Testing Seeds. Journal of Seed Technology 12(3):1:109.
- ATWATER, B.R. 1980. Germination, dormancy and morphology of the seed of herbaceous ornamental plants. Seed Science and Technology 8(4):523-573.
- BALLARD, L.A.T. 1973. Physical barriers to germination. Seed Science and Technology 1:285-303.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. 1982. Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination. Vol. II. Viability, dormancy and environmental control. Berlín, Springer-Verlag. 375 p.
- COPELAND, L.O. 1976. Principles of Seed Science and Technology. Minneapolis, Burgess Publishing Company. 369 p.
- EIRA, M.T.S. 1983. Comparação de métodos de quebra de dormência em sementes de Capim Andropogon. Revista Brasileira de Sementes 5(3):37-49.
- ESASHI, Y. 1979. Control of cocklebur seed germination by nitrogenous compounds: nitrate, hydroxylamine, thiourea, azide and cyanamide. Plant Cell Physiology 20(2):349-361.
- HERRERA, J. 1993. Efecto de algunos tratamientos físicos y químicos sobre el reposo de la semilla del pasto *Andropogon gayanus*. Tecnología en Marcha. En prensa.
- ISOGI, Y. 1981. Cytokinin activities of N-phenyl-N'-(4-pyridyl)-urea. In Metabolism and molecular activities of cytokinins. Ed. by J. Guern and C. Peaud-Lenoel. Berlín, Springer-Verlag. pp. 115-128.
- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. 1976. International Rules for Seed Testing, Rules, 1976. Seed Science and Technology 4(1):1-77.
- MOTT, J.; McKEON, G.M. 1979. Effect of heat treatments on breaking hard seedness in four species of *Strylosanthes*. Seed Science and Technology 7:87-98.

- OKAMOTO, T.; SHUDO, K.; TAKAHASHI, T.; ISOGAI, Y.; YAMADA, K. 1978. Shoot formation of tobacco callus by various cytokinin active ureas and pyrimidines. *Chemical Pharmaceutical Bulletin* 26:3250-3252.
- ROBERTS, E.H. 1972. *Viability of seeds*. London, Chapman and Hall. 448 p.
- ROJAS, S.; HERRERA, J. 1989. Efecto de tratamientos físicos y químicos sobre el reposo de semillas de *Desmodium ovalifolium*. *Agronomía Costarricense* 13(1):11-15.
- SHULMAN, Y. 1983. The effect of cyanamide on the release from dormancy of grapevine buds. *Scientia Horticulturae* 19:97-104.
- SKW-TROSTBERG. 1988. Plant growth regulator SKW 20010. Technical data sheet. SKW-Trostberg Aktiengesellschaft. Agricultural Division. 4 p.
- TOOLE, V.K. 1938. Germination requirements of the seed of some introduced and native range grasses. *Proceedings of AOSA*. pp. 227-243.
- VILLIERS, T.A. 1972. Seed dormancy. *In Seed Biology*. Ed. by T.T. Koslowsky. New York, Academic Press, v.2. p.220-276.
- WAREING, P.F.; SAUNDERS, P.F. 1971. Hormones and dormancy. *Annual Review of Plant Physiology*. 22: