

ANA MARIA MAPELI

EFEITO DOS ÍONS ALUMÍNIO E FÉRRICO SOBRE A QUEBRA DA
DORMÊNCIA DE SEMENTES DE *Stylosanthes humilis* H.B.K.

Tese apresentada à Universidade Federal de
Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Fisiologia
Vegetal, para obtenção do título de *Magister
Scientiae*

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2005

ANA MARIA MAPELI

**EFEITO DOS ÍONS ALUMÍNIO E FÉRRICO SOBRE
A QUEBRA DA DORMÊNCIA DE SEMENTES DE
Stylosanthes humilis H.B.K.**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*

Aprovada: 17 de fevereiro de 2005

Prof. Luiz Edson Mota de Oliveira

Prof. Eduardo Euclides de L. e Borges

Prof. Marco Aurélio Pedron e Silva

Prof^a. Denise Cunha F. dos Santos Dias

**Prof. Raimundo Santos Barros
(Orientador)**

Aos meus queridos pais Devanil e Idalina e
à minha irmã Nilbe Carla.

AGRADECIMENTOS

À Deus, nosso Pai, pela sua infinita graça e constante proteção para o desenvolvimento deste trabalho.

À toda a minha família pelo carinho, compreensão e apoio em todos os momentos.

À Universidade Federal de Viçosa, em particular ao curso de Fisiologia Vegetal, pela acolhida e por me proporcionar valiosas amizades, e à Capes, pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Professor Raimundo Santos Barros, pela amizade, orientação e confiança.

Ao Professor Fábio Murilo DaMatta, pela amizade e ensinamentos.

A todos os professores relacionados ao curso de Fisiologia Vegetal – UFV, e em especial, Fernando L. Finger e Rolf Puschmann, pelos conhecimentos transmitidos, pela colaboração e pelas sugestões, que muito aperfeiçoaram este trabalho.

Aos amigos do Curso de Pós-Graduação, Franciscleudo Bezerra, Agnaldo Chaves, Viviane Oliveira, Leonardo Zebral, Roberto Lisboa, Daniel Martins, Breno, Ângela, Renius, Cláudio Ronchi, Adriano Simões e Alan Costa, em especial Gustavo Resque, Leonardo Garcia, pela valiosa amizade e cooperação.

À Elaine Cabrini e Aline Rocha, que foram mais do que amigas, pois sem as quais seria muito difícil a realização deste trabalho, pela constante paciência, ajuda e auxílio.

Aos amigos Marize T. L. P. Peres, Luciana Barboza, Caroline Muller, Milsom Serafim, pela constante amizade e ajuda nos momentos difíceis.

Às amigas Heglene, Eulene e Silvana, pelo companheirismo e convívio.

Aos colegas de laboratório, Frank James Araújo Pinheiro, Dimas Mendes Ribeiro e Tales Graciano Coelho, pelo valioso auxílio.

Aos servidores do Departamento de Biologia Vegetal da UFV e, em especial, Reginaldo Custódio dos Santos, José Maria Soares, José Antônio das Graças Cornélio, Oswaldo dos Santos Filho, Elizabeth Alves Pena, Geraldo João da Silva, Carlos Raimundo Alves de Souza, Maria Mercês de Souza Gomes, Antônio Teixeira Cordeiro e Rita de Cássia da Silva, pela ajuda e disposição durante os experimentos desta pesquisa.

O meu sincero reconhecimento e a minha gratidão a todos que, direta ou indiretamente, deram a sua contribuição para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA DA AUTORA

Ana Maria Mapeli, filha de Devanil Mapeli e Idalina Maria da Silva Mapeli, nasceu em São Paulo, Estado de São Paulo, no dia 07 de junho de 1981. Em abril de 2003, graduou-se em Licenciatura Plena em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campus de Dourados. Em março de 2003, iniciou o curso de Mestrado em Fisiologia Vegetal na Universidade Federal de Viçosa.

RESUMO

MAPELI, Ana Maria. M.S., Universidade Federal de Viçosa, Fevereiro de 2005. **Efeito dos íons alumínio e férrico sobre a quebra da dormência de sementes de *Stylosanthes humilis* H.B.K.** Orientador: Raimundo Santos Barros. Conselheiros: Fernando Luíz Finger e Rolf Puschmann

A quebra da dormência fisiológica de sementes de estilosante (*Stylosanthes humilis* H.B.K.), leguminosa forrageira de ciclo anual, foi quebrada pelos sais de alumínio, sob pH 3,0, e pelos sais férricos, sob pH 2,5. Sob pH 2,0, ocorreu a quebra da dormência sem o concurso dos sais. O tempo mínimo de exposição das sementes aos sais de alumínio e férricos que proporcionou as maiores porcentagens de germinação foi 6 h para o $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$, 18 h para o $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ e 24 h para o AlCl_3 e $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$. O $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$, em pH 2,5, e o $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$, em pH 3,0, anteciparam o início da germinação em relação ao efeito do pH puro, enquanto os outros sais causaram um atraso no início da germinação. Em placas de Petri, não houve diferença entre as taxas máximas de germinação promovidas pelo pH 2,5 puro e pelos sais de alumínio e férrico. Sob pH(s) 3,0 e 4,0, os sais de alumínio promoveram uma taxa de germinação e um tempo de ocorrência de taxa máxima maiores que os promovidos pelos pH(s) puros, indicando efeito próprio dos sais. A germinação estimulada pelos íons trivalentes foi inibida pelos inibidores da biossíntese de etileno Co^{2+} , ácido abscísico e ácido acetil-salicílico, exceto sob pH 2,0. Os efeitos inibitórios dos bloqueadores da biossíntese de etileno foram revertidos pelo ácido 2-cloroetilfosfônico, sugerindo a participação do etileno na germinação. Sementes embebidas em soluções de sais de alumínio, sob pH 3,0 apresentaram um aumento na produção de etileno, em comparação às expostas ao pH puro. Já sob pH 2,5, não houve diferença entre os efeitos causados pelo nitrato férrico e o pH puro, indicando que o efeito foi causado pela condição acídica.

ABSTRACT

MAPELI, Ana Maria. M.S., Universidade Federal de Viçosa, February 2005. **Effect of aluminum and ferric ions on dormancy breakage in seeds of *Stylosanthes humilis* H.B.K.** Adviser: Raimundo Santos Barros. Advisory Committee: Fernando Luíz Finger and Rolf Puschmann

Dormancy of seeds of Townsville stylo (*Stylosanthes humilis* H.B.K.), an annual tropical forage legume, was broken by the aluminum salts, under pH 3,0, and ferric salts, under pH 2,5. Dormancy was also broken by pH 2,0 solution with no salt, highlighting the role of low pH in the process. Minimum exposure time of seeds to the aluminum and ferric salts to promote the highest germination was 6 h for $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$, 18 h for $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ and 24 h for AlCl_3 and $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$. Ferric nitrate, in pH 2,5, and aluminum nitrate, in pH 3,0, anticipated the onset of germination as compared to pure pH; however, the other salts promoted a delay of germination. Under pH 2,5, the acidic condition sufficed for dormancy breakage of Townsville seeds in Petri dish. In pH(s) 3,0 and 4,0, aluminum salts promoted a germination rate greater than that caused by pure pH(s), indicating an effect of the ion. Germination as stimulated by the trivalent ions was inhibited by the inhibitors of ethylene biosynthesis Co^{2+} , abscisic acid and acetyl-salicylic acid, except under pH 2,0. The inhibitory effects of ethylene biosynthesis inhibitors were reverted by 2-chloroethylphosphonic acid. Aluminum salts in pH 3,0 induced a large increase in ethylene production, in comparison to seeds exposed to pure pH 3,0. Under pH 2,5, there was no difference among effects caused by ferric nitrate and pure pH, indicating that the effect was caused solely by acidic condition. In pH 2,5, the dormancy breakage seemed associated to pH, whereas in pH 3,0 the effect seemed caused by aluminum ions.

CONTEÚDO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	4
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	5
3.1 Material vegetal e condições de cultivo	5
3.2 Condução dos experimentos.....	5
3.3 Quebra de dormência por sais de alumínio e férricos	6
3.4 Tempo mínimo de exposição às soluções de sais de alumínio e férricos.....	7
3.5 Cinética da germinação das sementes	7
3.6 Inibição da síntese do etileno	7
3.7 Cinética de produção de etileno em relação à germinação estimulada por íons alumínio e férrico.....	8
3.8 Quantificação do etileno.....	9
3.9 Delineamento experimental.....	9
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	11
4.1 Efeito dos sais de alumínio e férricos na quebra de dormência	11
4.2 Efeito do tempo de exposição das sementes aos sais de alumínio e férricos	27
4.3 Cinética de germinação das sementes	27
4.4 Efeito dos inibidores da biossíntese de etileno em relação aos sais de alumínio e férricos	34
4.5 Produção de etileno por sementes de estilosante.....	39
4.6 Cinética de produção de etileno em relação à germinação estimulada por íons alumínio e férrico.....	42
5 CONCLUSÕES.....	52
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

1 INTRODUÇÃO

Stylosanthes humilis H.B.K. (estilosante) é uma leguminosa forrageira, de ciclo anual, que se distribui pelo Brasil, Venezuela, Caribe, Costa Rica e Panamá. É muito encontrada nos trópicos, tendo como características principais a capacidade de se desenvolver, satisfatoriamente, em solos arenosos e franco-arenosos, ligeiramente ácidos e com baixa fertilidade. É reconhecida ainda por sua eficácia em extrair cálcio e fósforo do solo e por ser tolerante ao manganês e alumínio, além de apresentar tolerância regular à salinidade (Sherman 1991). Esses pontos fazem do estilosante uma importante espécie na formação de pastagens (Mott e McKeon 1979), principalmente no Brasil, sendo encontrada em suas regiões central e nordeste (Lovato *et al* 1994).

A germinação das sementes de estilosante é regulada por dois mecanismos, um de natureza tegumentar e outro de dormência fisiológica (Cameron 1967). A impermeabilidade do tegumento da semente é uma característica importante, de valor adaptativo para muitas espécies, garantindo a sua manutenção em condições de adversidade climática. Reis e Martins (1989), a partir de um estudo comparativo entre diferentes espécies do gênero *Stylosanthes*, observaram que a população de *S. humilis* apresentou, em relação às demais espécies, um maior grau de adaptabilidade às condições de adversidade ambiente, tanto no espaço como no tempo, devido ao grau de impermeabilidade das sementes. No caso de população de leguminosas forrageiras anuais, uma alta porcentagem de sementes com tegumento rijo possibilita o atraso da germinação durante o período de inverno seco, até ocorrerem condições de umidade favoráveis ao posterior desenvolvimento das plântulas, garantindo, dessa forma, a sobrevivência da próxima geração. A barreira tegumentar em estilosante parece associada à presença de uma ou mais camadas de células contendo substâncias impermeáveis à água, como calose e lipídeos hidrofóbicos (Serrato-Valenti *et al* 1993). Em condições de laboratório, a barreira física é quebrada por escarificação mecânica (Burin *et al* 1987) ou química (Araújo *et al* 2000, DM Ribeiro, dados não publicados).

Outro mecanismo que regula a germinação de sementes do estilosante é a endodormência ou dormência fisiológica, a qual é muito acentuada logo após sua maturação, e perdida gradualmente, até tornarem-se completamente germináveis, aos 12-15

meses de idade pós-colheita (Vieira e Barros 1994). A dormência fisiológica é superada por condições de estresse, tais como, altas temperaturas (Holm 1973), tiouréia em altas concentrações (Delatorre *et al* 2000), metais pesados (Delatorre e Barros 1996) e baixo pH do meio de germinação (Frigeri 1998, Pelacani 2001). Além disso, em sementes recém-colhidas, a endodormência pode ser completa ou parcialmente quebrada com ácido 2-cloroetilfosfônico (CEPA, composto liberador de etileno), benziladenina (Burin *et al* 1987) e ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano (ACC), precursor imediato do etileno em sua rota biossintética (Vieira e Barros 1994). O etileno, portanto, seria um dos princípios requeridos para a germinação daquelas sementes.

O etileno desempenha função essencial na quebra de dormência e germinação de sementes de várias espécies, como *Chenopodium album* L. (Saini *et al* 1986, Machabée e Saini 1991), *Xanthium pennsylvanicum* Wallr (Kato e Esashi 1975), *Amaranthus retroflexus* L. (Kpczy ski *et al* 2003) e *A. caudatus* L. (Kpczy ski e Karssen 1985). As sementes dessas espécies germinam quando adquirem a capacidade de sintetizar etileno ou quando se tornam sensíveis a esse regulador, já que este é um fator importante para que exerça suas funções (Whitehead e Sutcliffe 1995). Desde que muitas espécies produzem etileno durante a germinação e alguns fatores que quebram a dormência também estimulam a síntese de etileno, tem-se proposto que a produção desse gás durante os processos de embebição pode contribuir para quebrar a dormência de algumas espécies (Matilla 2000), além de, também, antagonizar a inibição da germinação por ácido abscísico (AAB) e estresse osmótico (Kpczy ski e Karssen 1985). O etileno, além de desempenhar um efeito promotor na germinação, também é produzido em quantidades elevadas durante esse processo (Gallardo *et al* 1991), o que torna difícil inferir-se se o etileno é utilizado pela semente para regular a germinação (Fu e Yang 1983) ou se é meramente um produto do embrião em crescimento (Kpczy ski e Karssen 1985).

Compostos que atuam na quebra da dormência de sementes podem servir como indicadores moleculares dos mecanismos envolvidos no desenvolvimento vegetal (Cohn 1996). Dentre os diversos agentes, alguns íons inorgânicos têm sido utilizados para promover a quebra de dormência de sementes de algumas espécies. Roberts (1963) observou que, em arroz, a germinação de sementes dormentes era estimulada por nitrato, nitrito e hidroxilamina. Outros íons como Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Co^{2+} , Ni^{2+} e Zn^{2+} não

apresentaram efeito significativo na germinação daquelas sementes. Sementes dormentes de arroz-vermelho (*Oryza sativa* L.) apresentaram germinação superior a 90%, quando submetidas aos tratamentos com ácidos monocarboxílicos, sendo a atividade de tais compostos dependente do pH. As maiores taxas de germinação ocorreram em meios que favoreceram a ocorrência de formas protonadas, isto é, sob baixos pH (s) (Cohn *et al* 1987). Nesse caso, no entanto, a relação entre pH e atividade fisiológica foi atribuída ao equilíbrio das formas carregadas e não-carregadas dos compostos, mais do que à influência do pH ácido em si mesmo (Cohn 1989). Adkins *et al* (1984 a) observaram que apenas compostos nitrogenados que podem atuar como aceptores de elétrons (nitrato de sódio e nitrito de sódio) e aqueles que atuam como inibidores da ação dos citocromos foram eficazes em induzir a germinação de sementes maduras de aveia-selvagem (*Avena fatua* L.). Compostos nitrogenados reduzidos, como cloreto de amônio, mostraram-se incapazes de induzir a germinação. Nitrito e nitrato podem estimular a germinação de aveia-selvagem por promover o fluxo de oxigênio, em virtude de atuarem como aceptores de elétrons, mais do que por serem fontes de nitrogênio (Adkins *et al* 1984 b). Os ácidos cítrico, succínico, fumárico, málico, pirúvico e lático induziram a germinação de sementes de duas linhagens dormentes, geneticamente puras, de aveia-selvagem, provavelmente por sua capacidade de atuar como ácidos fracos, reduzindo o pH do meio. O modo de ação dos ácidos orgânicos foi indicado por observações de que outros ácidos fracos não-metabólicos poderiam quebrar a dormência, enquanto soluções salinas dos respectivos ácidos, sob pH neutro, mostraram-se inativas (Adkins *et al* 1985). Footitt e Cohn (1992) verificaram que sementes dormentes de arroz-vermelho exibiram acidificação do embrião, quando expostas ao nitrito de sódio, ácido propiônico, metil propionato, propionaldeído e propanol, sendo tal fato observado antes da ocorrência da germinação.

Íons divalentes como cádmio, cobre e zinco, em altas concentrações, promoveram a quebra de dormência fisiológica de sementes escarificadas de estilósante, via indução da produção de etileno (Delatorre e Barros 1996). Em condições de laboratório, têm-se indicações de que íons alumínio promovem a quebra de dormência das sementes de estilósante (MAG Carnellosi, CA Delatorre, dados não publicados), possivelmente, por promoverem uma condição de estresse. Entretanto, o mecanismo pelo qual tal fenômeno ocorre e se há alguma relação com a rota biossintética do etileno são hipóteses ainda não

examinadas. Se alguns íons têm-se mostrado eficazes na quebra da dormência de sementes de algumas espécies, seria importante investigar-se, também, se íons trivalentes como alumínio e férrico desempenhariam um papel ecológico na distribuição de espécies de estilosante.

Em solos ácidos, a toxicidade do alumínio é o principal fator limitante do crescimento vegetal, sendo inicialmente expresso como uma redução do crescimento radicular, seguida por várias respostas secundárias (Foy 1988, Kochian 1995, Rengel 1996). Existem muitas informações sobre os efeitos do alumínio na germinação de sementes (Souza-Filho e Dutra 1998, Szymanska e Molas 1996, Marin *et al* 2004), mas, quando se consideram os efeitos sobre a quebra de dormência, tais informações não são encontradas, não se sabendo, conseqüentemente, qual o mecanismo e qual o local de ação daquele íon. Neste trabalho, utilizaram-se sementes de estilosante para definirem-se as condições nas quais íons trivalentes como o Al^{3+} e Fe^{3+} quebram a dormência, os mecanismos envolvidos nessa ação, bem como o envolvimento do etileno naquele processo.

2 OBJETIVOS

Este trabalho objetiva investigar os possíveis efeitos dos íons alumínio e férrico na quebra da endodormência de sementes de *Stylosanthes humilis*, examinando-se também suas inter-relações com a rota biossintética do etileno.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material vegetal e condições de cultivo

As plantas de estilante foram cultivadas, continuamente, em casa de vegetação, na Universidade Federal de Viçosa, Viçosa (20° 45' S e 42° 52' W, 648 m de altitude), Minas Gerais, Brasil, em vasos plásticos com capacidade de 3,0 dm³, contendo duas partes de solo tipo latossolo vermelho-amarelo e uma parte de esterco bovino curtido. A adubação foi de, aproximadamente, 0,5 g por vaso com NPK (25-5-20), aplicados por cobertura, em três parcelas, durante o estado vegetativo das plantas. A irrigação foi feita diariamente, de maneira a manter-se a umidade do solo dos vasos próxima à capacidade de campo. Por ser o estilante uma espécie de dia curto (Cameron e 'tMannetje 1977), nos meses de dezembro a março, as plantas foram cobertas com empanada preta, reduzindo-se, assim, o fotoperíodo para 8 h diárias, visando-se promover a indução floral. Os frutos, quando maduros, foram coletados periodicamente, levados para o laboratório e armazenados em sacos de papel em local seco, até a execução dos ensaios. Dessa forma, sementes de diferentes idades, isto é, com diferentes graus de endodormência, estavam disponíveis a qualquer momento.

3.2 Condução dos experimentos

Para realização dos experimentos, os frutos foram previamente debulhados, por fricção entre duas superfícies emborrachadas e, em seguida, as sementes foram escarificadas, por leve fricção entre duas lixas d'água n° 150, e esterilizadas com hipoclorito de sódio 0,5%, por 10 min, sendo, após, lavadas com água destilada (Burin *et al* 1987). Em seguida, as sementes foram infiltradas com as soluções-teste, por aplicação de vácuo, por um período de 4 min, seguido de um intervalo de 3 min sem vácuo, e de vácuo, por mais 3 min (Vieira e Barros 1994), sendo transferidas para placas de Petri de vidro de 90 mm de diâmetro ou para frascos Erlenmeyer de 50 cm³ de capacidade, ambos, contendo, ao fundo, duas camadas de papel filtro Whatman n° 1. As placas e os frascos, juntamente com o papel filtro, foram previamente semi-esterilizados em estufa, a 105 °C, por 4 h. As placas de Petri e os frascos Erlenmeyer receberam 50 sementes e, respectivamente, 10 e 3,0 cm³ das soluções-teste, contendo Tween 80 0,05%. Os frascos Erlenmeyer foram vedados

com seladores de borracha para possibilitar o acúmulo de etileno.

As placas de Petri e os frascos Erlenmeyer, contendo as sementes e as respectivas soluções-teste, foram mantidos no escuro, em câmara de crescimento noite/dia (Forma Scientific, Inc, Ohio, USA), a 30°C. A germinação foi registrada, diariamente, por um período de cinco dias, sendo a protusão radicular (~3,0 mm) o critério estabelecido para considerarem-se as sementes germinadas.

3.3 Quebra de dormência por sais de alumínio e férricos

Tentativas de quebra da dormência por sais de alumínio e férricos foram realizadas expondo-se as sementes a soluções dos seguintes compostos: $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$, $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ e $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, sob concentrações variáveis entre 0 e $10^{-2} \text{ mol m}^{-3}$. A concentração considerada ótima foi a que promoveu a mais alta taxa de germinação, sem causar efeitos tóxicos aparentes às sementes. Nos ensaios iniciais, a toxicidade dos íons sobre a germinação foi avaliada por meio da adição de tiouréia (100 mol m^{-3}) (Delatorre *et al* 2000), após o terceiro dia de incubação, quando se removeu a solução inicial e acrescentou-se tiouréia, possibilitando assim, selecionar-se a concentração ótima para os ensaios subsequentes.

Para avaliar-se o efeito da renovação da solução-teste sobre a germinação, realizaram-se experimentos com e sem troca de solução, já que as sementes modificam o pH do meio de germinação (Frigeri 1998, Pelacani 2001). A troca de solução foi realizada após 12 h de incubação, para garantir um melhor controle do pH.

Alguns ensaios iniciais foram realizados sem ajuste de pH, visando-se determinar um possível efeito dos íons trivalentes na quebra da dormência de sementes de estilosante, quando também os pH (s) do meio de germinação foram determinados. A partir desses valores, selecionaram-se alguns pH (s), considerando-se a dissolução completa dos compostos, podendo variar de 2,0 a 4,0, dependendo do tipo do sal considerado. Os compostos utilizados apresentavam-se completamente insolúveis sob pH (s) mais elevados. A reatividade do alumínio impediu também a utilização de base ou qualquer outro tipo de tampão para promover o aumento de pH, já que ocorria precipitação dos compostos.

Para determinar-se um possível efeito das sementes de estilosante sobre o meio de germinação, o pH da solução externa foi acompanhado em períodos de 24 a 120 h, durante

a exposição das sementes dormentes aos sais de alumínio e férricos.

3.4 Tempo mínimo de exposição às soluções de sais de alumínio e férricos

Visto que o alumínio e o ferro podem ser tóxicos e, portanto, levar a uma diminuição da germinação, estimou-se o tempo mínimo de exposição das sementes necessário para promover a quebra de dormência. As sementes dormentes foram expostas às soluções-teste dos compostos de alumínio e férricos, por períodos de 2 até 72 h. Após cada exposição, as sementes foram lavadas com água destilada, transferidas para água (pH 7,0), reinfiltradas e colocadas em outra placa de Petri. Em seguida, foram novamente acondicionadas em câmara de germinação, até o quinto dia.

3.5 Cinética da germinação das sementes

A germinação de sementes dormentes, expostas aos sais de alumínio e férricos, foi determinada nos períodos de 2 a 96 h de incubação. A partir de tais resultados ajustaram-se curvas, por meio de programa computacional (Calbo *et al* 1989), o que permitiu descrever a germinação acumulada ao longo do tempo. Com a derivada primeira, estimaram-se as taxas de germinação, sob cada tratamento e, com a derivada segunda, determinou-se o tempo de taxa máxima. O tempo inicial de germinação foi determinado a partir de extrapolação da parte ascendente da curva de germinação acumulada até o eixo do x.

3.6 Inibição da síntese do etileno

Para avaliar-se se os sais de alumínio e férricos promoviam a quebra da dormência pelo estímulo à biossíntese de etileno, sementes dormentes foram expostas a soluções daqueles compostos, contendo também alguns inibidores da biossíntese de etileno, como íons cobalto ($1,0 \text{ mol m}^{-3}$) (Gallardo *et al* 1994) e ácido acetil-salicílico (AAS $1,0 \text{ mol m}^{-3}$) (Leslie e Romani 1988), ambos inibidores da atividade da oxidase do ACC, e também o ácido abscísico (AAB $0,01 \text{ mol m}^{-3}$) (K pczy ski 1986), possível inibidor da rota biossintética do etileno. As sementes foram expostas às soluções puras dos inibidores (pH 7,0), por 24 h, sendo transferidas para soluções dos respectivos inibidores contendo também sais de alumínio ou férricos mais o inibidor. Tentativas de reverterem-se os efeitos dos inibidores da biossíntese de etileno foram efetuadas tratando-se as sementes dormentes,

por 24 h, com soluções puras dos inibidores (pH 7,0). Ao final desse período, as sementes foram transferidas para novas soluções dos inibidores contendo ainda os sais de alumínio ou férricos e o respectivo reverter, CEPA ($0,1 \text{ mol m}^{-3}$). A germinação foi registrada até o quinto dia.

Para avaliar-se o efeito do bloqueio da biossíntese do etileno, em atmosfera livre do gás, na germinação e na produção de etileno, 60 sementes dormentes de estilósante foram incubadas, em placas de Petri, por 24 h, em solução de ácido aminooxiacético (AOA, inibidor da sintase do ACC) mais Co^{2+} (inibidor da oxidase do ACC), pH 7,0. Após esse período, 50 sementes foram transferidas para frascos Erlenmeyer de 50 cm^3 . Para produzir-se uma atmosfera livre de etileno no interior dos frascos Erlenmeyer, uma tampa de polipropileno invertida (26 mm de diâmetro e 6,0 mm de altura), forrada com duas camadas de papel-filtro, foi inserida sobre o forro de papel dos frascos e recebeu $0,2 \text{ cm}^3$ de solução de perclorato de mercúrio 250 mol m^{-3} . Cinquenta sementes dormentes foram distribuídas ao redor das tampas e embebidas nas soluções de inibidores contendo sais de alumínio (pH 3,0) e férricos (pH 2,5) (Fig 1). No terceiro dia de ensaio, o etileno fixado pela solução de perclorato foi liberado, injetando-se solução de cloreto de potássio ($\text{KCl } 1,0 \text{ kmol m}^{-3}$) sobre a solução de perclorato de mercúrio (Ribeiro 2003). O etileno por ventura acumulado na atmosfera dos frascos foi quantificado antes e 24 h após a adição de solução de KCl. A germinação foi acompanhada por 96 h.

3.7 Cinética de produção de etileno em relação à germinação estimulada por íons alumínio e férrico

A germinação das sementes expostas aos sais de alumínio e férricos, bem como a produção de etileno, foi determinada nos períodos de 2 a 72 h de incubação. Para descrever-se o comportamento da germinação, ajustaram-se as funções Gompertz que melhor descreveram a cinética de germinação (Calbo *et al* 1989). Das curvas de germinação integradas ao longo do tempo, foram estimadas as derivadas primeiras para a obtenção das taxas de germinação (Causton 1983). Igualando-se a derivada segunda a zero, obtiveram-se os tempos correspondentes às taxas máximas e, quando houve estabilização da germinação, determinou-se o limiar de saturação da germinação. O tempo inicial da germinação e produção do etileno foi determinado por meio de extrapolação da parte

ascendente da curva de acumulação até o eixo do x.

3.8 Quantificação do etileno

Considerando-se que, possivelmente, sais de alumínio e férricos estimulariam a germinação de sementes dormentes de estilosante, via produção de etileno, as sementes foram expostas àqueles sais e o etileno emanado foi quantificado, seguindo-se a técnica de Saltveit e Yang (1987). Amostras de 1,0 cm³ foram coletadas da atmosfera dos frascos Erlenmeyer, utilizando-se de seringas descartáveis *ultra-fine* (agulhas 29 G1/2"). Injeção de igual volume de ar foi realizada para equilibrar-se a pressão no interior dos recipientes. As amostras foram injetadas em um cromatógrafo a gás Hewlett-Packard 5890, série II (USA), equipado com um detetor de ionização de chama e uma coluna de aço inoxidável (1,0 m x 6,0 mm), empacotada com Porapak-N (80-100 mesh). O gás de arraste foi o dinitrogênio, em fluxo de 30 cm³ min⁻¹; os fluxos do hidrogênio e do ar foram mantidos em 30 e 320 cm³ min⁻¹, respectivamente. As temperaturas da coluna, do injetor e do detetor foram mantidas em 60, 110 e 150 °C, respectivamente. A determinação do etileno foi feita comparando-se as áreas das amostras obtidas em integrador HP 3395 A com áreas de picos de uma mistura padrão de etileno de concentração conhecida.

Nos experimentos de produção de etileno, foram utilizados um sistema com e outro sem exaustão de ar. No sistema sem exaustão, os frascos Erlenmeyer permaneceram selados ao longo de todo ensaio, permitindo-se o acúmulo total do etileno. Já no sistema com exaustão, os frascos eram abertos, tinham o ar exaurido por ventilação e exaustão forçadas em capela, por 10 min, quando, então, eram novamente selados e reconduzidos à câmara de germinação, sendo a exaustão realizada a cada tempo de medição.

3.9 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado em todos os experimentos foi inteiramente casualizado. Os experimentos de germinação de sementes tiveram a unidade experimental composta por 50 sementes por placa de Petri ou frascos Erlenmeyer, com cinco repetições por tratamento. Os resultados de porcentagem de germinação foram transformados em arco-seno (% G/100)^{1/2}, para que seguissem uma distribuição normal. As diferenças entre médias de germinação foram avaliadas pelo teste de Scott e Knott (1974), em nível de 5%

de significância.

Os experimentos sobre quantificação do etileno tiveram a unidade experimental constituída de um frasco Erlenmeyer de 50 cm³ selado, com 50 sementes e cinco repetições por tratamento. As diferenças de médias entre os tratamentos desses experimentos foram avaliadas pelo teste Tukey, em nível de 5% de significância.

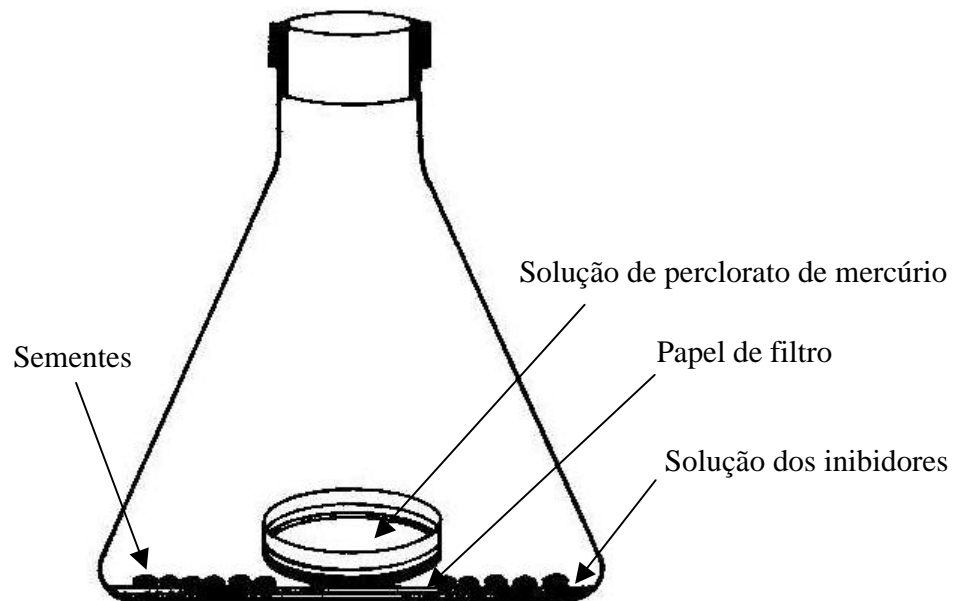


Figura 1 – Sistema usado para inibir-se a biossíntese de etileno em atmosfera livre do gás. As sementes distribuídas ao redor da tampa de polipropileno invertida, contendo solução de perclorato de mercúrio, foram embebidas em solução de inibidores da biossíntese de etileno (AOA + Co²⁺) mais sais de alumínio e férricos, pH 3,0 e 2,5, respectivamente

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Efeito dos sais de alumínio e férricos na quebra de dormência

Todos os sais de alumínio e férricos empregados, com exposição continuada das sementes durante cinco dias, foram eficientes na quebra da dormência (Fig 2). As sementes apresentaram uma germinação elevada quando expostas à maior concentração dos sais de alumínio (100 mol m^{-3}), que também apresentavam o menor pH no início do experimento (Tab 1). Quando se aplicou tiouréia (TU) para avaliar-se a viabilidade das sementes (Delatorre *et al* 2000), observou-se que aquela concentração foi tóxica, após cinco dias de exposição aos compostos. Os sais férricos foram mais eficazes a 10 mol m^{-3} , uma vez que a concentração 100 mol m^{-3} promoveu germinação inferior a 1 % (nitrato férrico), 17 % (sulfato férrico) e 30% (cloreto férrico). Percebe-se, ainda, que os sais que apresentaram o cloreto como íon acompanhante foram os que melhor promoveram a quebra de dormência, levando a uma germinação de 59 e 83 % para o sal de alumínio e férrico, respectivamente. Delatorre (1994), estudando os efeitos do AlCl_3 , observou que havia uma linearidade entre concentração do sal e germinação, pois o aumento das concentrações do íon até 50 mol m^{-3} fazia aumentar também a germinação. Acima desse nível, ocorreu inibição do processo, provavelmente em decorrência de toxicidez.

O alumínio ocorre em diferentes formas no solo e parte da dificuldade em estudarem-se os processos decorrentes da ação desse metal pode ser atribuída à complexidade química do mesmo (Echart e Cavalli-Molina 2001). Assim, a toxicidade do alumínio é um fator muito explorado na literatura. Entretanto, não há relatos de que esse íon afete a dormência de sementes. Aborda-se, apenas, que o alumínio limita o crescimento das plantas, afetando o rendimento da colheita, principalmente em solos ácidos.

As concentrações mais elevadas e com menor pH (Tab 1 e Fig 2) foram as que promoveram os resultados mais expressivos, porém com certa toxicidade, a qual pode ser causada por uma série de fatores, como, alterações na capacidade troca-cátions da parede celular (Horst 1996), mudanças no potencial de membrana da célula, interferência direta no transporte de Ca^{2+} e Mg^{2+} , indução da peroxidação de lipídeos, substituição do Mg^{2+} e Fe^{3+} nas reações celulares e interferência na transdução de sinais (Jones e Kochian 1995). O alumínio pode, também, comprometer determinados processos do metabolismo

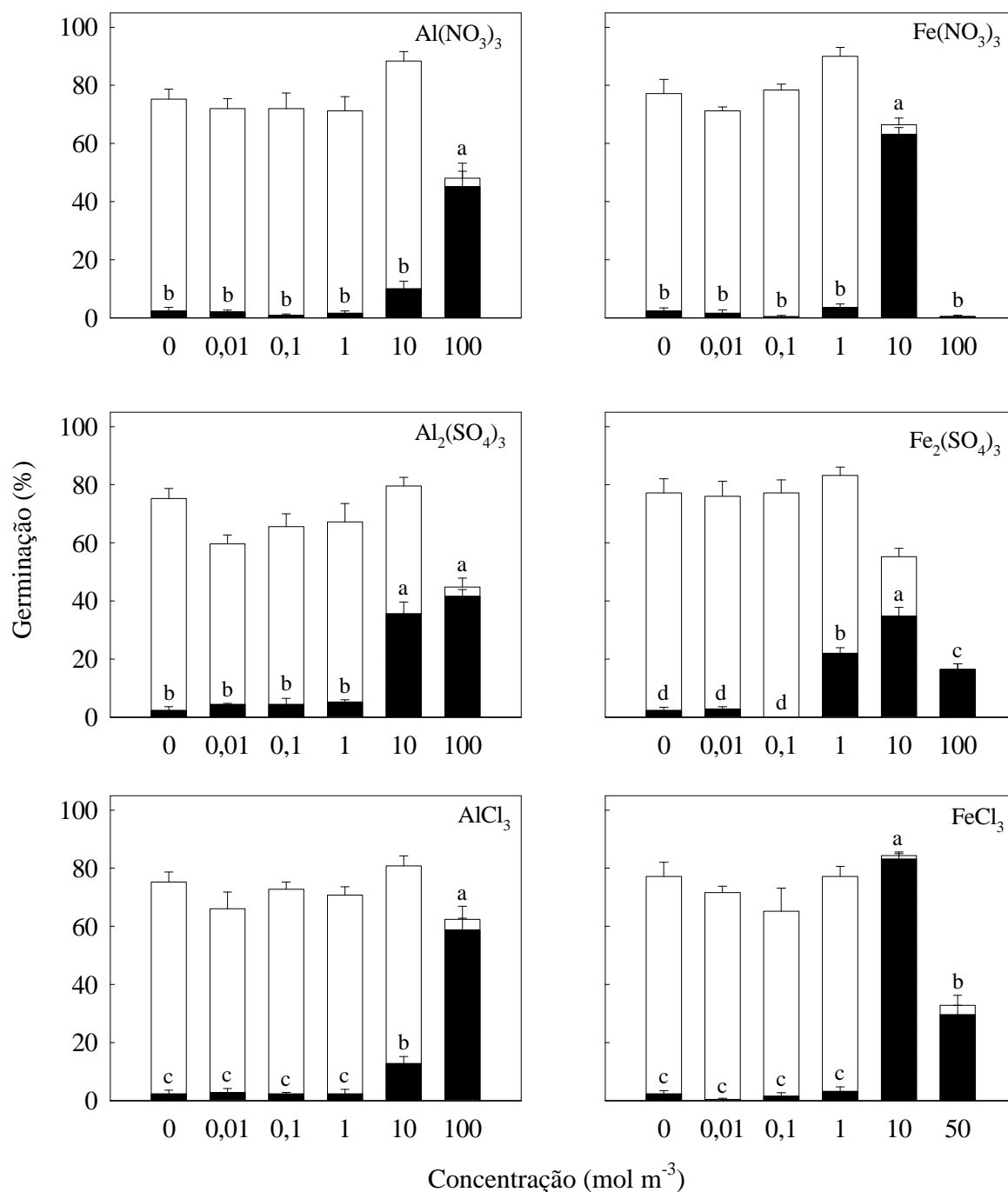


Figura 2 – Efeito de íons alumínio e férrico sobre sementes dormentes de estilosante, de 24 dias de idade pós-colheita, sem troca de solução e sem ajuste de pH. Germinação sob a solução-teste (■) e sob posterior tratamento com TU (□). A germinação sob pH 7,0 foi de 2,4 % e, após adição de TU 75,2 %. Média de cinco repetições ± erro da média. Médias seguidas de mesma letra, dentro de um mesmo tratamento, não diferem estatisticamente entre si, em nível de 5 % de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott

celular, como aqueles relacionados à síntese protéica, permeabilidade à água, mobilização de lipídeos, divisão celular e síntese de parede celular (Roy *et al* 1988), indicando que os íons alumínio têm potencial para afetar negativamente a germinação de sementes.

Tabela 1 –pH (s) do meio de germinação constituído por soluções de sais de alumínio e férricos, em diferentes concentrações

Composto	pH inicial do meio de germinação						
	0 mol m ⁻³	0,01 mol m ⁻³	0,1 mol m ⁻³	1 mol m ⁻³	10 mol m ⁻³	50 mol m ⁻³	100 mol m ⁻³
Al(NO ₃) ₃	5,56	5,05	4,66	4,32	4,01	-	3,49
Al ₂ (SO ₄) ₃	5,56	5,03	4,69	4,30	3,80	-	3,02
AlCl ₃	5,56	5,08	4,64	4,46	4,30	-	3,69
Fe(NO ₃) ₃	5,56	4,48	3,56	3,33	2,72	-	2,06
Fe ₂ (SO ₄) ₃	5,56	4,43	3,71	3,03	2,62	-	2,14
FeCl ₃	5,56	4,05	3,67	3,31	2,72	2,23	-

- 50 mol m⁻³: foi utilizada apenas quando o sal apresentava dificuldade de dissolução em nível de 100 mol m⁻³, como no caso do FeCl₃

O ferro, embora seja requerido em muitas reações enzimáticas e processos biológicos (Bauer *et al* 2004), pode ser tóxico quando em excesso (Green e Rogers 2004), como foi observado ao utilizar-se esse íon em nível de 100 mol m⁻³ (Fig 2).

Em um segundo experimento, ajustou-se o pH das soluções em 3,0; 4,0 e 5,0 para os sais de alumínio e 2,0; 2,5 e 3,0 para os sais férricos, pois os compostos empregados apresentam-se completamente insolúveis sob pH (s) mais elevados. Diferenças significativas foram observadas na promoção da germinação devido à variação de pH, sendo os pH (s) 2,0 e 3,0 para os sais férricos e de alumínio, respectivamente, os que provocaram maior porcentagem de germinação (Fig 3). A partir disso, pode-se inferir sobre um possível efeito dos íons alumínio, em pH 3,0, uma vez que a germinação das sementes expostas a tais compostos foi maior que a promovida pelo pH puro. Os sais de alumínio promoveram maior germinação em nível de 10 mol m⁻³ nos pH (s) 3,0 e 4,0, exceto o cloreto de alumínio, no pH 3,0, que causou maior germinação sob 100 mol m⁻³. Os íons férricos causaram quebra de dormência quando em menor concentração, provavelmente devido ao baixo pH empregado (Fig 3). A atividade de alguns íons como agentes de quebra

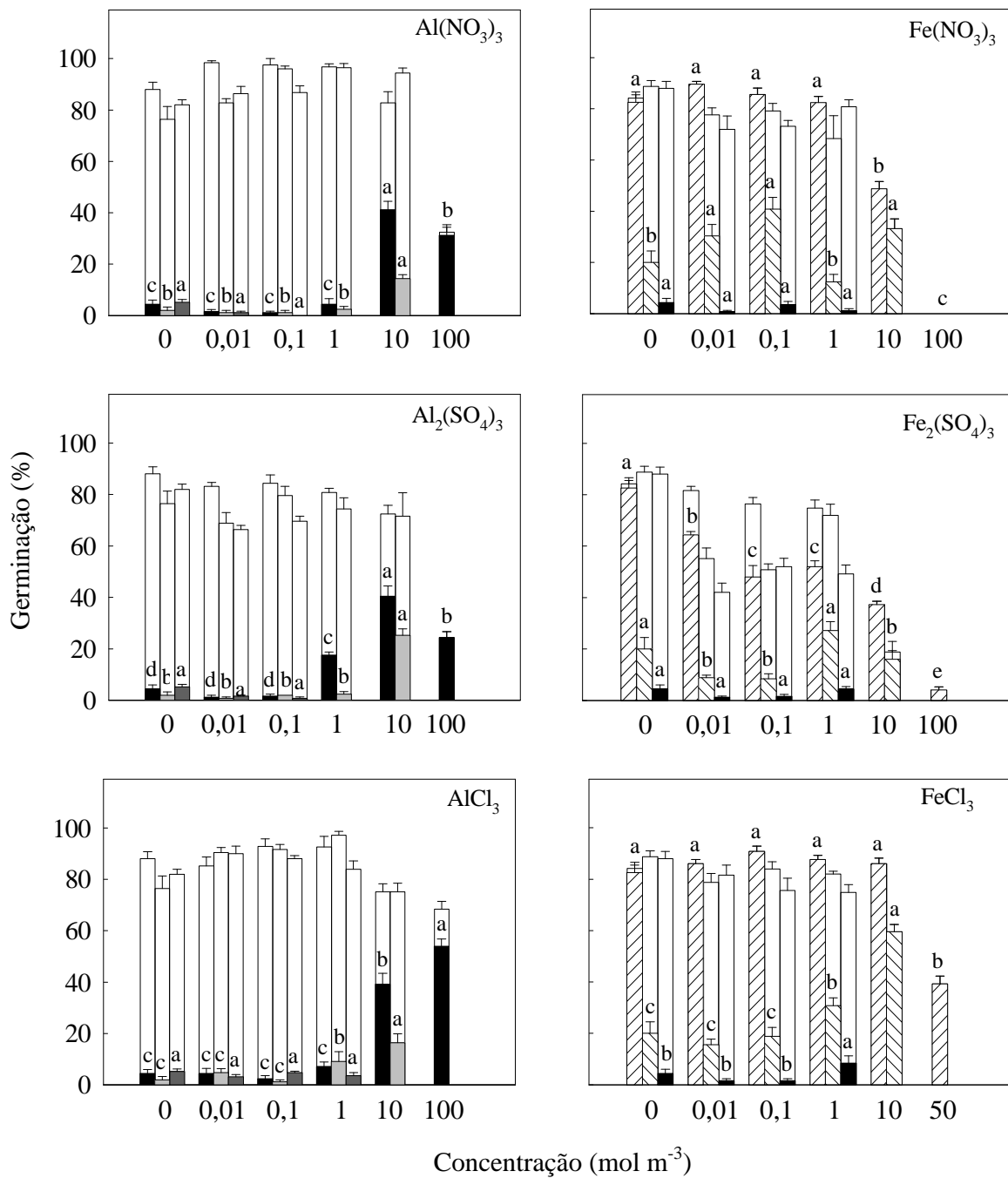


Figura 3 – Efeito de íons alumínio e férrico em sementes dormentes de estilosante de 87 dias de idade pós-colheita, sem troca de solução. Germinação sob a solução-teste com pH 3,0 (■), pH 4,0 (□), pH 5,0 (▒) para os sais de alumínio e pH 2,0 (▨), pH 2,5 (▩), pH 3,0 (■) para os sais férricos e posterior tratamento com TU (□). A germinação sob pH 7,0 foi de 3,6 % e, após a adição de TU, 79,6 %. Média de cinco repetições ± erro da média. Médias seguidas de mesma letra, dentro de um mesmo pH e de um mesmo sal, não diferem estatisticamente entre si, em nível de 5 % de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott

de dormência de sementes pareceu depender do pH do meio, pois quando os íons encontravam-se sob pH mais altos não se observou diferença significativa em relação ao controle. Resultados semelhantes foram obtidos por Pelacani (2001), quando testou ácidos orgânicos e inorgânicos sob pH 3,0, pois verificou que os ácidos promoviam a germinação de sementes de estilosante, sendo seus sais neutros (pH 7,0) pouco eficazes. A autora constatou, também, que a quebra da dormência de sementes de estilosante foi grandemente estimulada quando foram incubadas em soluções de ácidos inorgânicos sob pH 2,0.

Tendo em vista que as sementes modificam o pH da solução (Frigeri 1998, Pelacani 2001), foram realizados experimentos nos quais se renovou a solução-teste, com a solução de mesma composição, após 12 h da incubação inicial e mediu-se, diariamente, o pH do meio de germinação (Tab 2, Figs 4 e 5). Houve diferenças de germinação (Figs 2 e 4), quando se considerou a renovação das soluções, uma vez que a porcentagem de germinação foi maior quando houve substituição da solução. Isso indica a necessidade de renovação da solução de germinação e, conseqüentemente, do baixo pH (Fig 4).

Tabela 2 – pH (s) do meio de germinação constituído por soluções de sais de alumínio e férricos, em diferentes concentrações. As soluções-teste foram renovadas após 12 h de incubação

Composto	pH inicial do meio de germinação						
	0 mol m ⁻³	0,01 mol m ⁻³	0,1 mol m ⁻³	1 mol m ⁻³	10 mol m ⁻³	50 mol m ⁻³	100 mol m ⁻³
Al(NO ₃) ₃	7,00	4,94	4,48	4,15	3,88	-	3,43
Al ₂ (SO ₄) ₃	7,00	5,05	4,40	3,98	3,47	-	2,88
AlCl ₃	7,00	5,95	4,53	4,21	3,91	-	3,56
Fe(NO ₃) ₃	7,00	5,09	3,49	3,14	2,77	-	2,19
Fe ₂ (SO ₄) ₃	7,00	4,57	3,57	3,00	2,77	-	2,28
FeCl ₃	7,00	4,83	3,79	3,40	2,88	2,55	-

- 50 mol m⁻³: foi utilizada apenas quando o sal apresentava dificuldade de dissolução em nível de 100 mol m⁻³, como no caso do FeCl₃

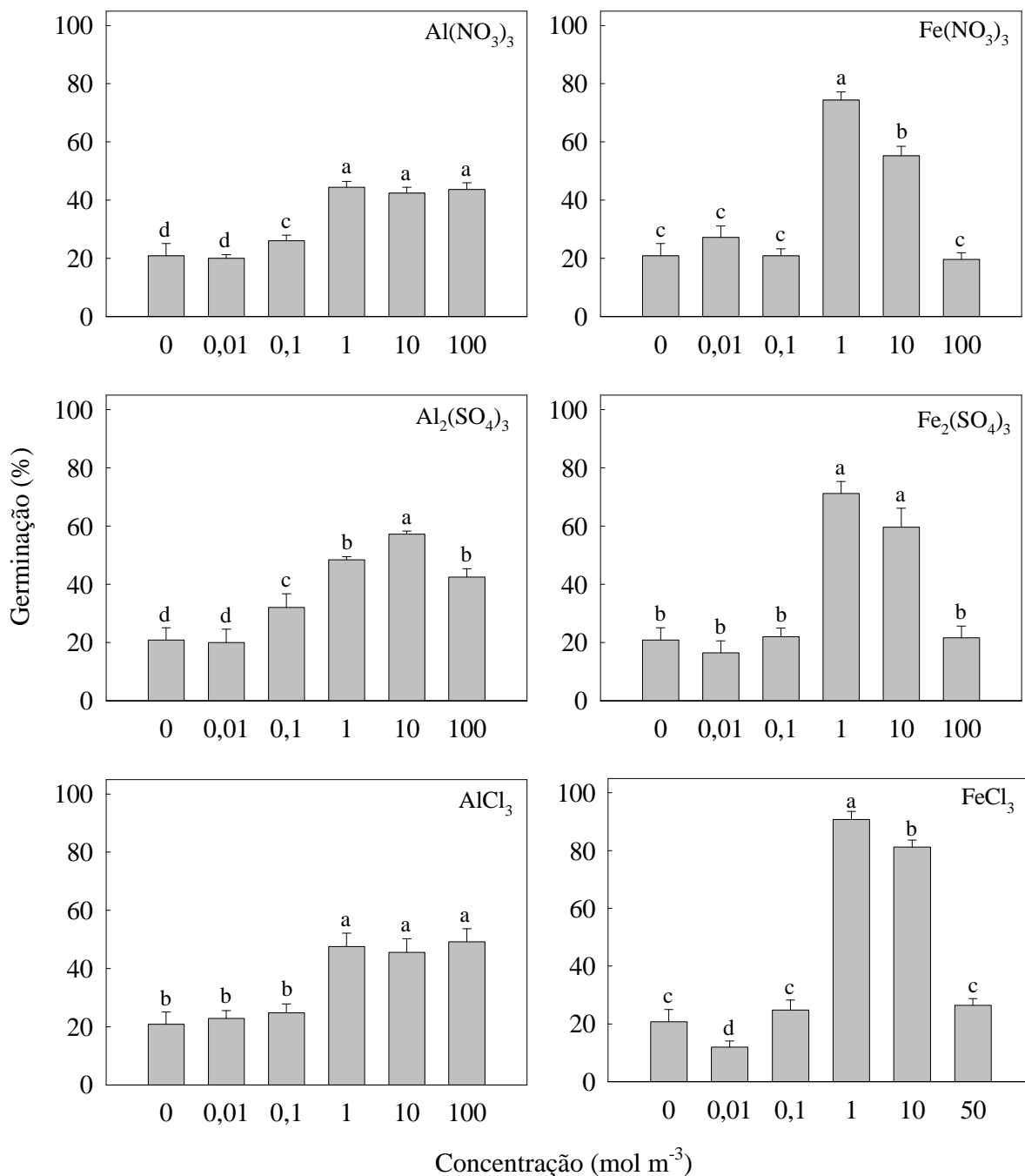


Figura 4 – Efeito de íons alumínio e férrico sobre a germinação de sementes dormentes de estilosate, de 83 dias de idade pós-colheita, com troca de solução e sem ajuste de pH. Média de cinco repetições \pm erro da média. Médias seguidas de mesma letra, dentro de um mesmo tratamento, não diferem estatisticamente entre si, em nível de 5 % de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott

Quanto à variação diária de pH (Fig 5), observou-se que quanto maior a concentração utilizada dos sais de alumínio e férricos, menor foi a variação, indicando que os íons alumínio e férrico mantêm o baixo pH. Sob as menores concentrações, houve um aumento do pH no primeiro dia, seguido por uma certa estabilização (Fig 5). A pequena variação de pH coincidiu com a maior germinação, indicando que o efeito de tais compostos pode ter-se dado em decorrência da manutenção do baixo pH sob altas concentrações dos íons (Figs 4 e 5).

Para avaliar-se o efeito dos íons alumínio e férrico, em diferentes pH (s), com renovação das soluções após 12 h de incubação, realizaram-se ensaios, nos quais os pH (s) foram ajustados em 2,5; 3,0 e 4,0 para os íons alumínio e em 2,0 e 2,5 para os íons férricos (Fig 6). Observou-se uma germinação superior à obtida no experimento sem troca de solução (Fig 3), confirmando os dados de Pelacani (2001), que verificou uma maior germinação de sementes dormentes de estilosante, quando as soluções-tampão de baixo pH de ftalato, McIlvaine e solução de HCl-KOH foram renovadas a cada 24 h. Sob o pH 2,5, não houve diferença significativa promovida pelos sais de alumínio; todavia, sob os demais pH (s), o cloreto de alumínio foi o sal que promoveu maior germinação, superior a 80%. Isso pode ser explicado pelo fato da ação dos compostos de alumínio e férricos depender também dos seus íons opostos (Taylor 1991, Delhaize e Ryan 1995).

A variação do pH mostrou um aumento inversamente proporcional à concentração (Tabs 3 - 8), pois quando as soluções estavam em menor concentração, o pH sofreu considerável aumento e se situou bem acima do pH observado no início do experimento e requerido para a quebra da dormência das sementes. Comparando-se a variação de pH das soluções renovadas (Fig 5) e não-renovadas (Tabs 3-8), percebe-se que a troca de solução reduziu a variação de pH do meio. Desse modo, a menor taxa de germinação de sementes dormentes, quando as soluções-teste não foram renovadas, pode ser explicada pela alcalinização do meio de germinação, que seria menos eficaz na quebra da dormência fisiológica das sementes.

Quando se utilizou o pH 2,5 (alumínio) e 2,0 (ferro-férrico), os resultados obtidos deveram-se, provavelmente, mais a um efeito do pH do que dos próprios íons, uma vez que o baixo pH tendeu a quebrar a dormência de sementes devido aos prótons H^+ disponíveis. Esses podem causar a acidificação das paredes celulares, com conseqüente rompimento de

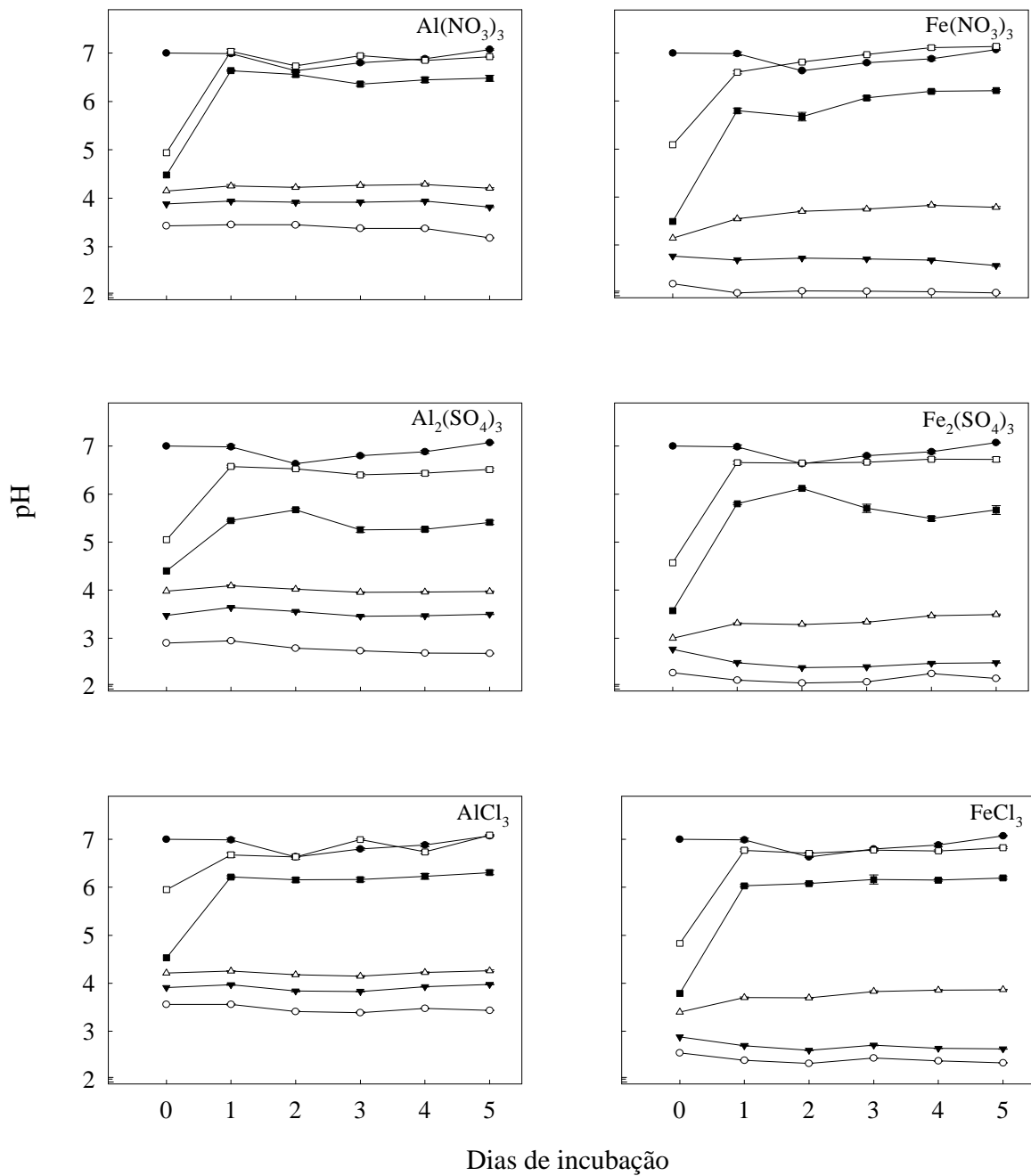


Figura 5 - Efeito de íons alumínio e férrico sobre a variação do pH do meio de germinação promovida por sementes dormentes de estilosante, de 83 dias de idade pós-colheita, com troca de solução e sem ajuste de pH. Variação de pH da solução-teste à concentração de 0 (●); 0,01 (□), 0,1 (■), 1 (∇), 10 (▼) e 100 mol m⁻³ (○). Média de cinco repetições ± erro da média

pontes de hidrogênio entre as cadeias adjacentes de carboidratos constituintes, levando a uma redução da rigidez e favorecendo o crescimento radicular (Bewley e Black 1994). Os resultados relacionados ao baixo pH foram semelhantes aos encontrados por Pelacani (2001), quando estudou o mesmo material vegetal e constatou a quebra da dormência com a redução do pH da solução de germinação.

A partir dos resultados das Figs 3 e 6, selecionou-se a concentração ótima de cada íon alumínio e férrico para germinação em cada pH, tendo como critério a concentração mínima causando a maior germinação e sem que produzisse efeito tóxico. Os seguintes níveis ótimos para estudo da quebra da dormência das sementes foram selecionados: $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ - $0,01 \text{ mol m}^{-3}$; $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ - 1 mol m^{-3} ; AlCl_3 - 10 mol m^{-3} , todos sob pH 3,0 e $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ - $0,01 \text{ mol m}^{-3}$ (pH 2,5). No que se refere aos três sais férricos, não houve diferença quanto à porcentagem de germinação (Fig 6); assim, selecionou-se o nitrato férrico, que apresentou maior facilidade de dissolução e, portanto, de trabalho.

Na literatura existem evidências de restrições à germinação de sementes causadas pelo alumínio. Brassard *et al* (1988) observaram que o alumínio, em nível de $0,5 \text{ mol m}^{-3}$, inibiu a germinação de sementes de coníferas. Já com sementes de arroz, Cate e Sukai (1964) não obtiveram efeitos sob uma concentração de $0,03 \text{ mol m}^{-3}$. Silva *et al* (2000) observaram que quanto maior a concentração de alumínio, menor foi o crescimento radicular de plântulas de soja. O calopogônio (*Calopogonium mucunoides* Desv.) é uma leguminosa forrageira que apresenta flexibilidade adaptativa que lhe permite não só vegetar, mas também, se multiplicar via sementes, em condições ambientais nas quais a concentração de alumínio seja de até $6,6 \text{ mol m}^{-3}$ (Souza Filho e Dutra 1989). Esses resultados mostram que o fator espécie é, também, determinante nas respostas ao alumínio.

A faixa de concentração compreendendo os efeitos benéficos e tóxicos dos íons alumínio e férrico é muito estreita, pois podem ser tóxicos para as plantas mesmo em concentrações muito baixas (Kinraide *et al* 1985). O efeito do pH também deve ser considerado, uma vez que em pH 2,5 a quebra da dormência ocorre devido a esse único fator. Entretanto, em pH 3,0, o alumínio parece exercer um efeito próprio.

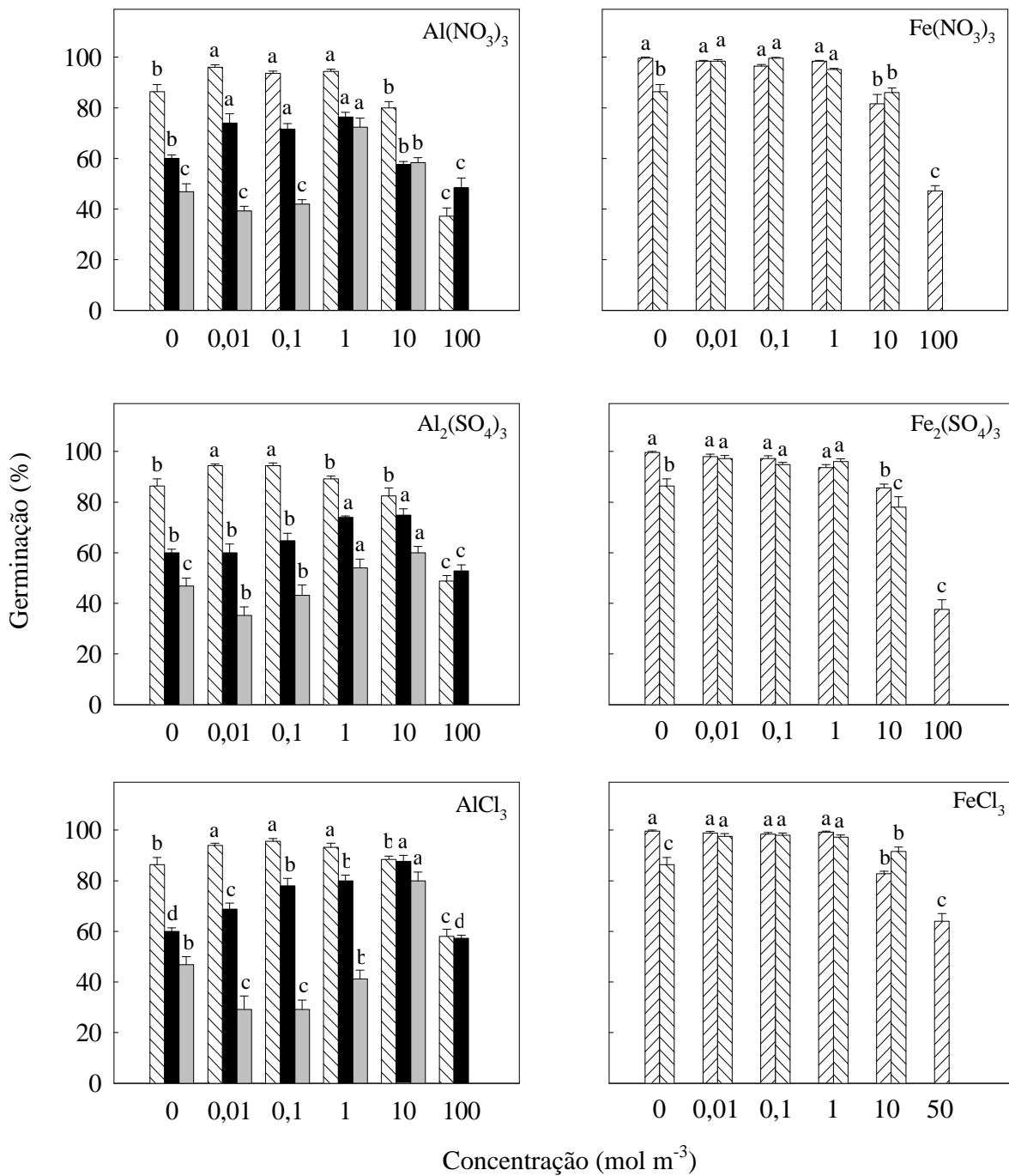


Figura 6 – Efeito de íons alumínio e férrico em sementes dormentes de estilante, de 106 dias de idade pós-colheita, com troca de solução. Germinação sob as soluções-teste com pH 2,5 (▨), pH 3,0 (■), pH 4,0 (□) para os sais de alumínio e pH 2,0 (▩) e pH 2,5 (■) para os sais férricos. A germinação sob pH 7,0 foi de 30,4 %. Média de cinco repetições ± erro da média. Médias seguidas de mesma letra, dentro de um mesmo pH, não diferem estatisticamente entre si, em nível de 5 % de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott

Tabela 3 – Variação do pH da solução de nitrato de alumínio promovida por sementes dormentes de 106 dias de idade pós-colheita, com troca de solução e com ajuste de pH. Média de cinco repetições \pm erro da média

pH inicial	Horas	Al(NO ₃) ₃ (mol m ⁻³)					
		0	0,01	0,1	1	10	100
2,5	24	3,23 \pm 0,01a	2,47 \pm 0,00 c	2,48 \pm 0,01c	2,47 \pm 0,01c	2,63 \pm 0,00 b	2,75 \pm 0,01b
	48	3,20 \pm 0,02 a	2,44 \pm 0,01c	2,43 \pm 0,01c	2,42 \pm 0,01c	2,56 \pm 0,01b	2,60 \pm 0,01b
	72	3,20 \pm 0,02 a	2,47 \pm 0,00 d	2,45 \pm 0,01d	2,45 \pm 0,01d	2,60 \pm 0,01c	2,66 \pm 0,01b
	96	3,37 \pm 0,03 a	2,44 \pm 0,01c	2,42 \pm 0,01c	2,42 \pm 0,01c	2,57 \pm 0,01b	2,60 \pm 0,02 b
	120	3,48 \pm 0,01a	2,42 \pm 0,01c	2,41 \pm 0,01c	2,41 \pm 0,01c	2,54 \pm 0,01b	2,56 \pm 0,02 b
3,0	24	5,64 \pm 0,04 a	3,66 \pm 0,02 b	3,70 \pm 0,02 b	3,50 \pm 0,02 c	3,52 \pm 0,02 c	3,19 \pm 0,02 d
	48	5,71 \pm 0,02 a	3,72 \pm 0,02 b	3,76 \pm 0,02 b	3,56 \pm 0,03 c	3,51 \pm 0,02 c	3,19 \pm 0,02 d
	72	5,88 \pm 0,08 a	3,78 \pm 0,02 b	3,84 \pm 0,02 b	3,59 \pm 0,02 c	3,54 \pm 0,02 c	3,18 \pm 0,02 d
	96	6,31 \pm 0,07 a	3,78 \pm 0,01b	3,87 \pm 0,03 b	3,67 \pm 0,02 c	3,57 \pm 0,02 d	3,13 \pm 0,01e
	120	6,13 \pm 0,09 a	3,63 \pm 0,01b	3,63 \pm 0,02 b	3,44 \pm 0,04 c	3,63 \pm 0,04 b	3,14 \pm 0,02 d
4,0	24	7,10 \pm 0,03 a	6,96 \pm 0,01b	6,52 \pm 0,03 c	4,27 \pm 0,02 d	3,94 \pm 0,02 e	-
	48	7,10 \pm 0,03 a	6,86 \pm 0,00 b	6,96 \pm 0,06 b	4,31 \pm 0,03 c	3,97 \pm 0,01d	-
	72	7,04 \pm 0,03 a	6,46 \pm 0,04 b	6,12 \pm 0,07 c	4,35 \pm 0,02 d	3,97 \pm 0,01e	-
	96	7,22 \pm 0,04 a	6,71 \pm 0,06 b	6,23 \pm 0,09 c	4,34 \pm 0,01d	3,95 \pm 0,01e	-
	120	7,11 \pm 0,03 a	6,52 \pm 0,03 b	6,43 \pm 0,14 b	4,21 \pm 0,02 c	3,84 \pm 0,01d	-

Médias seguidas de mesma letra, dentro de uma mesma linha, não diferem estatisticamente entre si, em nível de 5 % de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott - avaliação não efetuada, pois os sais se precipitavam a esta concentração

Tabela 4 – Variação do pH da solução de sulfato de alumínio promovida por sementes dormentes de 106 dias de idade pós-colheita, com troca de solução e com ajuste de pH. Média de cinco repetições ± erro da média

pH inicial	Horas	$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ (mol m ⁻³)					
		0	0,01	0,1	1	10	100
2,5	24	3,23 ± 0,01a	2,65 ± 0,01c	2,67 ± 0,01c	2,73 ± 0,01b	2,75 ± 0,01b	2,66 ± 0,02 c
	48	3,20 ± 0,02 a	2,62 ± 0,01c	2,71 ± 0,01b	2,73 ± 0,01b	2,75 ± 0,01b	2,63 ± 0,01c
	72	3,30 ± 0,02 a	2,58 ± 0,00 c	2,62 ± 0,01c	2,68 ± 0,01b	2,70 ± 0,01b	2,60 ± 0,01c
	96	3,37 ± 0,03 a	2,60 ± 0,00 d	2,64 ± 0,01c	2,70 ± 0,01b	2,71 ± 0,01b	2,59 ± 0,01d
	120	3,48 ± 0,01a	2,50 ± 0,01c	2,53 ± 0,01c	2,61 ± 0,01b	2,59 ± 0,01b	2,46 ± 0,02 d
3,0	24	5,64 ± 0,04 a	4,11 ± 0,03 b	3,89 ± 0,03 c	3,66 ± 0,02 d	3,45 ± 0,01e	3,04 ± 0,02 f
	48	5,71 ± 0,02 a	4,15 ± 0,01b	3,95 ± 0,03 c	3,55 ± 0,03 d	3,51 ± 0,01d	3,06 ± 0,01e
	72	5,88 ± 0,08 a	4,13 ± 0,02 c	3,90 ± 0,03 c	3,70 ± 0,01b	3,45 ± 0,01b	2,99 ± 0,01c
	96	6,31 ± 0,07 a	4,18 ± 0,02 b	3,92 ± 0,03 c	3,77 ± 0,01d	3,51 ± 0,02 e	2,99 ± 0,00 f
	120	6,13 ± 0,09 a	4,19 ± 0,01b	3,93 ± 0,03 c	3,74 ± 0,01d	3,41 ± 0,02 e	2,91 ± 0,01f
4,0	24	7,10 ± 0,03 a	6,57 ± 0,04 b	5,28 ± 0,03 c	4,22 ± 0,02 d	3,90 ± 0,02 e	-
	48	7,10 ± 0,03 a	6,43 ± 0,06 b	5,60 ± 0,10 c	4,23 ± 0,01d	3,96 ± 0,01e	-
	72	7,04 ± 0,03 a	6,39 ± 0,06 b	5,45 ± 0,07 c	4,17 ± 0,01d	3,88 ± 0,01e	-
	96	7,22 ± 0,04 a	6,38 ± 0,02 b	5,52 ± 0,06 c	4,19 ± 0,00 d	3,91 ± 0,01e	-
	120	7,11 ± 0,03 a	6,37 ± 0,02 b	5,47 ± 0,06 c	4,19 ± 0,01d	3,93 ± 0,01e	-

Médias seguidas de mesma letra, dentro de uma mesma linha, não diferem estatisticamente entre si, em nível de 5 % de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott - avaliação não efetuada, pois os sais se precipitavam a esta concentração

Tabela 5 – Variação do pH da solução de cloreto de alumínio promovida por sementes dormentes de 106 dias de idade pós-colheita, com troca de solução e com ajuste de pH. Média de cinco repetições \pm erro da média

pH inicial	Horas	AlCl ₃ (mol m ⁻³)					
		0	0,01	0,1	1	10	100
2,5	24	3,23 \pm 0,01a	2,47 \pm 0,01d	2,49 \pm 0,01d	2,50 \pm 0,00 d	2,58 \pm 0,01c	2,76 \pm 0,01b
	48	3,20 \pm 0,02 a	2,47 \pm 0,01d	2,50 \pm 0,01d	2,50 \pm 0,01d	2,61 \pm 0,02 c	2,82 \pm 0,01b
	72	3,30 \pm 0,02 a	2,43 \pm 0,01d	2,45 \pm 0,00 d	2,44 \pm 0,01d	2,55 \pm 0,01c	2,75 \pm 0,01b
	96	3,37 \pm 0,03 a	2,43 \pm 0,01d	2,46 \pm 0,01d	2,49 \pm 0,01d	2,59 \pm 0,01c	2,81 \pm 0,01b
	120	3,48 \pm 0,01 a	2,48 \pm 0,01d	2,51 \pm 0,00 d	2,53 \pm 0,01d	2,61 \pm 0,03 c	2,88 \pm 0,02 b
3,0	24	5,64 \pm 0,04 a	3,94 \pm 0,02 b	3,79 \pm 0,03 c	3,60 \pm 0,02 d	3,47 \pm 0,01e	3,21 \pm 0,01f
	48	5,71 \pm 0,02 a	3,98 \pm 0,01b	3,81 \pm 0,01c	3,68 \pm 0,02 d	3,55 \pm 0,01e	3,31 \pm 0,01f
	72	5,88 \pm 0,08 a	3,97 \pm 0,02 b	3,76 \pm 0,01c	3,65 \pm 0,02 d	3,50 \pm 0,01e	3,22 \pm 0,01f
	96	6,31 \pm 0,07 a	4,00 \pm 0,01b	3,81 \pm 0,01c	3,66 \pm 0,01d	3,54 \pm 0,01e	3,23 \pm 0,01f
	120	6,13 \pm 0,09 a	4,03 \pm 0,01b	3,83 \pm 0,01c	3,71 \pm 0,02 d	3,57 \pm 0,01e	3,29 \pm 0,00 f
4,0	24	7,10 \pm 0,03 a	6,13 \pm 0,12 b	5,75 \pm 0,01c	4,29 \pm 0,03 d	3,89 \pm 0,01e	-
	48	7,10 \pm 0,03 a	6,69 \pm 0,07 b	5,86 \pm 0,04 c	4,31 \pm 0,01d	4,01 \pm 0,02 e	-
	72	7,04 \pm 0,03 a	6,37 \pm 0,02 b	5,94 \pm 0,08 c	4,28 \pm 0,02 d	3,95 \pm 0,01e	-
	96	7,22 \pm 0,04 a	6,53 \pm 0,02 b	5,96 \pm 0,07 c	4,33 \pm 0,01d	3,99 \pm 0,00 e	-
	120	7,11 \pm 0,03 a	6,38 \pm 0,04 b	5,86 \pm 0,08 c	4,33 \pm 0,01d	4,02 \pm 0,01e	-

Médias seguidas de mesma letra, dentro de uma mesma linha, não diferem estatisticamente entre si, em nível de 5 % de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott - avaliação não efetuada, pois os sais se precipitavam a esta concentração

Tabela 6 – Variação do pH da solução de nitrato férrico promovida por sementes dormentes de 106 dias de idade pós-colheita, com troca de solução e com ajuste de pH. Média de cinco repetições \pm erro da média

pH inicial	Horas	Fe(NO ₃) ₃ (mol m ⁻³)					
		0	0,01	0,1	1	10	100
2,0	24	2,25 \pm 0,01a	2,04 \pm 0,00 b	2,02 \pm 0,00 b	1,99 \pm 0,01c	1,96 \pm 0,01d	1,87 \pm 0,00 e
	48	2,23 \pm 0,00 a	2,03 \pm 0,00 b	1,83 \pm 0,15 b	1,96 \pm 0,01b	1,94 \pm 0,01b	1,80 \pm 0,01 b
	72	2,31 \pm 0,04 a	2,16 \pm 0,01b	2,14 \pm 0,01b	2,12 \pm 0,01b	2,09 \pm 0,01b	1,82 \pm 0,02 c
	96	2,30 \pm 0,03 a	2,19 \pm 0,01b	2,16 \pm 0,01b	2,13 \pm 0,00 b	2,05 \pm 0,01c	1,78 \pm 0,01d
	120	2,31 \pm 0,03 a	2,19 \pm 0,00 b	2,17 \pm 0,01b	2,17 \pm 0,01b	2,05 \pm 0,01c	1,77 \pm 0,01d
2,5	24	3,23 \pm 0,01a	2,83 \pm 0,01b	2,84 \pm 0,01b	2,64 \pm 0,01c	2,48 \pm 0,01d	-
	48	3,20 \pm 0,02 a	2,83 \pm 0,01b	2,81 \pm 0,01b	2,63 \pm 0,01c	2,42 \pm 0,01d	-
	72	3,30 \pm 0,03 a	3,02 \pm 0,02 b	2,90 \pm 0,05 c	2,79 \pm 0,01d	2,56 \pm 0,01e	-
	96	3,37 \pm 0,03 a	3,02 \pm 0,01b	2,89 \pm 0,05 c	2,78 \pm 0,01d	2,55 \pm 0,01e	-
	120	3,48 \pm 0,01 a	3,02 \pm 0,01b	2,88 \pm 0,04 c	2,77 \pm 0,00 d	2,56 \pm 0,01e	-

Médias seguidas de mesma letra, dentro de uma mesma linha, não diferem estatisticamente entre si, em nível de 5 % de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott - avaliação não efetuada, pois os sais se precipitavam a esta concentração

Tabela 7 – Variação do pH da solução de sulfato férrico promovida por sementes dormentes de 106 dias de idade pós-colheita, com troca de solução e com ajuste de pH. Média de cinco repetições \pm erro da média

pH inicial	Horas	$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ (mol m^{-3})					
		0	0,01	0,1	1	10	100
2,0	24	2,25 \pm 0,01 a	2,16 \pm 0,01 b	2,17 \pm 0,00 b	2,14 \pm 0,01 b	2,11 \pm 0,00 c	2,08 \pm 0,01d
	48	2,23 \pm 0,00 a	2,17 \pm 0,01 b	2,16 \pm 0,01 b	2,14 \pm 0,01 c	2,11 \pm 0,01 d	2,05 \pm 0,00 e
	72	2,31 \pm 0,04 a	2,26 \pm 0,04 a	2,30 \pm 0,03 a	2,32 \pm 0,01 a	2,29 \pm 0,01 a	1,86 \pm 0,01 b
	96	2,30 \pm 0,03 a	2,24 \pm 0,03 a	2,26 \pm 0,02 a	2,27 \pm 0,00 a	2,20 \pm 0,01 a	1,72 \pm 0,01 b
	120	2,31 \pm 0,03 a	2,26 \pm 0,04 a	2,28 \pm 0,03 a	2,31 \pm 0,01 a	2,28 \pm 0,01 a	1,70 \pm 0,00 b
2,5	24	3,23 \pm 0,01 a	3,06 \pm 0,03 b	3,05 \pm 0,01 b	2,72 \pm 0,01 c	2,21 \pm 0,01 d	-
	48	3,20 \pm 0,02 a	3,09 \pm 0,02 b	3,13 \pm 0,02 b	2,74 \pm 0,01 c	2,21 \pm 0,00 d	-
	72	3,30 \pm 0,03 a	3,29 \pm 0,02 a	3,32 \pm 0,02 a	2,93 \pm 0,01 b	2,37 \pm 0,00 c	-
	96	3,37 \pm 0,03 a	3,26 \pm 0,02 b	3,30 \pm 0,03 b	2,92 \pm 0,01 c	2,35 \pm 0,01 d	-
	120	3,48 \pm 0,01 a	3,32 \pm 0,03 b	3,35 \pm 0,05 b	2,97 \pm 0,01 c	2,37 \pm 0,01 d	-

Médias seguidas de mesma letra, dentro de uma mesma linha, não diferem estatisticamente entre si, em nível de 5 % de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott - avaliação não efetuada, pois os sais se precipitavam a esta concentração

Tabela 8 – Variação do pH da solução de cloreto férrico promovida por sementes dormentes de 106 dias de idade pós-colheita, com troca de solução e com ajuste de pH. Média de cinco repetições \pm erro da média

pH inicial	Horas	FeCl ₃ (mol m ⁻³)					
		0	0,01	0,1	1	10	50
2,0	24	2,25 \pm 0,01 a	2,13 \pm 0,00 b	2,11 \pm 0,01 b	2,04 \pm 0,00 c	1,94 \pm 0,01 d	1,92 \pm 0,01 d
	48	2,23 \pm 0,00 a	2,12 \pm 0,00 b	2,10 \pm 0,01 c	2,02 \pm 0,01 d	1,95 \pm 0,00 e	1,89 \pm 0,01 f
	72	2,31 \pm 0,04 b	2,22 \pm 0,03 b	2,24 \pm 0,02 b	2,13 \pm 0,04 c	2,58 \pm 0,01 a	2,05 \pm 0,01 c
	96	2,30 \pm 0,03 a	2,22 \pm 0,03 b	2,23 \pm 0,02 b	2,11 \pm 0,03 c	2,09 \pm 0,00 c	2,03 \pm 0,01 c
	120	2,31 \pm 0,03 a	2,20 \pm 0,03 b	2,23 \pm 0,02 b	2,11 \pm 0,03 c	2,08 \pm 0,01 c	2,03 \pm 0,01 c
2,5	24	3,23 \pm 0,01 a	2,91 \pm 0,00 c	2,98 \pm 0,00 b	2,69 \pm 0,01 d	2,45 \pm 0,01 e	-
	48	3,20 \pm 0,02 a	2,92 \pm 0,00 c	2,99 \pm 0,00 b	2,71 \pm 0,01 d	2,44 \pm 0,01 e	-
	72	3,30 \pm 0,03 a	3,07 \pm 0,03 b	3,12 \pm 0,03 b	2,82 \pm 0,02 c	2,09 \pm 0,01 d	-
	96	3,37 \pm 0,03 a	3,04 \pm 0,03 c	3,13 \pm 0,03 b	2,83 \pm 0,02 d	2,56 \pm 0,01 e	-
	120	3,48 \pm 0,01 a	3,05 \pm 0,03 b	3,11 \pm 0,03 b	2,85 \pm 0,03 c	2,55 \pm 0,01 d	-

Médias seguidas de mesma letra, dentro de uma mesma linha, não diferem estatisticamente entre si, em nível de 5 % de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott - avaliação não efetuada, pois os sais se precipitavam a esta concentração

4.2 Efeito do tempo de exposição das sementes aos sais de alumínio e férricos

Considerando-se que os íons alumínio e férrico podem ser tóxicos e, portanto, podem levar a uma redução na germinação, ou mesmo morte das sementes, estimou-se o efeito do tempo de exposição àqueles compostos. O tempo de exposição das sementes aos sais de alumínio e férricos que proporcionou os melhores resultados na germinação variou, sendo 6 h para o $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$, de 18 h para o $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ e de 24 h para o AlCl_3 e $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ (Fig 7). Pinheiro (2004) verificou que a exposição de sementes dormentes escarificadas de estilosante aos compostos selênicos em solução, por 18 h, foi suficiente para a promoção de germinação ótima. As porcentagens máximas de germinação, ao fim de cinco dias foram superiores a 60%, para os sais de alumínio, e a 45%, para o sal férrico, sendo o cloreto de alumínio o que promoveu maior germinação, o que corrobora os experimentos anteriores (Fig 6). Pelacani (2001) constatou que o tempo mínimo de exposição das sementes de estilosante a soluções de baixo pH de ftalato e HCl-KOH requerido para estimular a quebra da dormência foi, respectivamente, 4 e 6 h. Esses resultados diferem dos aqui obtidos, exceto no que se refere ao nitrato de alumínio, uma vez que o estímulo para quebrar a dormência ocorreu nos momentos iniciais de exposição ao agente estimulante, no caso íons alumínio.

Pode-se observar que o nitrato férrico antecipou o início da germinação em relação ao pH 2,5 puro; o mesmo ocorreu com o nitrato de alumínio, em comparação com o pH 3,0. Já os demais sais atrasaram o início da germinação. Assim, o efeito do íon oposto pode ter influenciado o tempo mínimo de exposição das sementes aos sais de alumínio e férricos. Delatorre (1994) constatou que a manutenção de sementes de estilosante em solução de AlCl_3 , por até 6 h, pode promover cerca de 58 % de germinação, em relação à manutenção por 120 h, em concordância com os resultados aqui obtidos, sendo o aumento da germinação acompanhado pelo aumento do tempo de exposição (Fig 7).

4.3 Cinética de germinação das sementes

Para descrever-se o comportamento da germinação de sementes dormentes de estilosante expostas aos sais de alumínio e férricos, ajustaram-se as funções Gompertz que melhor descreveram a cinética de germinação (Calbo *et al* 1989), em placa de Petri (Figs 8.2 - 8.5). Isso possibilitou fazerem-se comparações entre germinação estimulada por

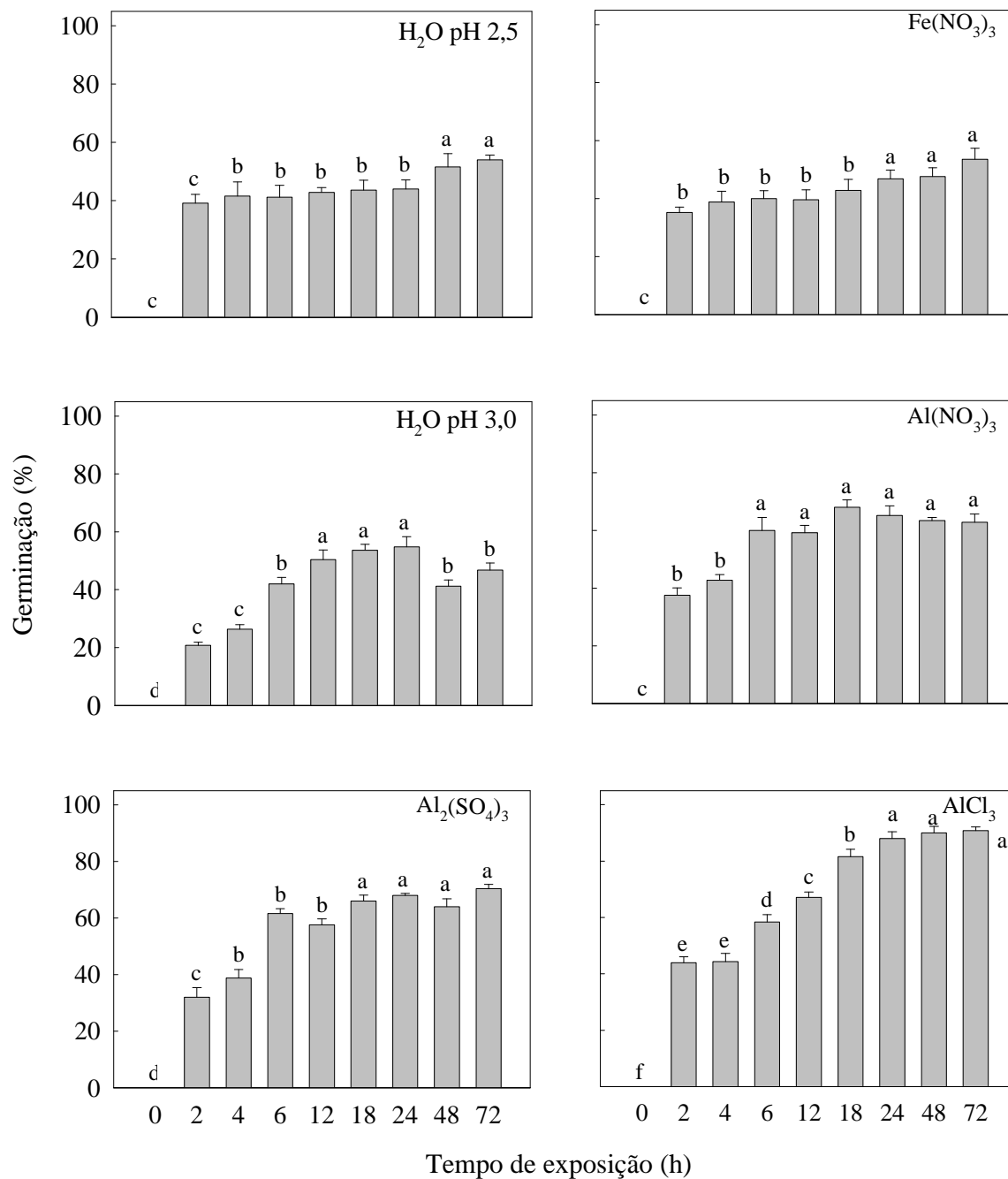


Figura 7 – Efeito do tempo de exposição ao nitrato de alumínio ($0,01 \text{ mol m}^{-3}$), sulfato de alumínio ($1,0 \text{ mol m}^{-3}$), cloreto de alumínio (10 mol m^{-3}), todos sob pH 3,0, e nitrato férrico ($0,01 \text{ mol m}^{-3}$, pH 2,5) sobre a germinação de sementes dormentes de estilossante, de 140 dias de idade pós-colheita, com troca de solução e ajuste de pH. Média de cinco repetições \pm erro da média. Médias seguidas de mesma letra, dentro de um mesmo tratamento, não diferem estatisticamente entre si, em nível de 5 % de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott

sais de alumínio e férricos com sementes tratadas com CEPA (Fig 8.1). Das curvas de germinação integradas ao longo do tempo, foram estimadas as derivadas primeiras para a obtenção das taxas de germinação (Causton 1983) (Figs 8.1 - 8.5). Igualando-se a derivada segunda a zero, obtiveram-se os tempos correspondentes às taxas máximas, e quando houve estabilização da germinação, determinou-se o seu limiar de saturação. O tempo inicial de germinação foi determinado a partir de extrapolação da parte ascendente da curva de germinação até o eixo do x. A partir desses resultados construiu-se a Tab 9.

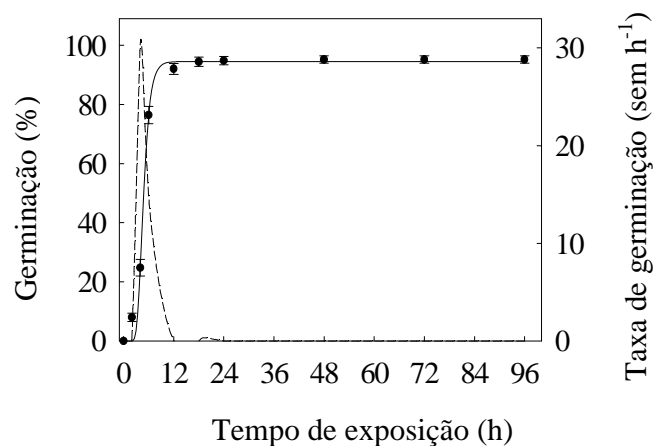


Figura 8.1 – Germinação acumulada (—) e taxa de germinação (---), em placa de Petri, de sementes dormentes de estilosante, com idade pós-colheita de 134 dias, tratadas com CEPA, em pH 7,0. A germinação acumulada e taxa de germinação máxima sob pH 7,0 foi de 23 % e 1,38 sem h⁻¹, respectivamente. Média de 5 repetições ± erro da média

A germinação promovida por íons alumínio e férrico ocorreu de forma sigmoidal, apresentando uma característica de germinação normal, e positivamente inclinada, em que a maioria das sementes germina na primeira metade do período de germinação (Bewley e Black 1994). Sob todos os sais de alumínio e férricos, a germinação iniciou-se antes das 12 h de incubação, tendo o tempo de taxa máxima ocorrido antes desse período, no caso das sementes tratadas com solução pH 2,5 (Tab 9).

Observando-se a Tab 9, percebe-se que quanto mais elevado o pH, maior foi o tempo inicial de germinação. Sob pH 2,5, não houve diferença entre os efeitos dos sais de alumínio e o pH puro; entretanto, os sais férricos promoveram uma antecipação em relação ao pH 2,5. Os sais de alumínio causaram uma antecipação do início da germinação em

relação à causada pelo pH 3,0 puro. Sob pH 4,0, apenas as sementes expostas ao AlCl_3 iniciaram a germinação antes da germinação sob o pH puro. Sob pH 2,5 verificou-se, também, uma antecipação em relação ao CEPA, confirmando os resultados obtidos anteriormente (Efeito dos sais de alumínio e férricos na quebra de dormência) de que, em baixo pH, o efeito não estaria relacionado à produção de etileno, como será visto a seguir. Todavia, sob pH mais elevado, as sementes expostas aos sais de alumínio e ao pH puro iniciaram a germinação depois das sementes expostas ao CEPA, provavelmente pelo fato de que este penetra mais rapidamente, enquanto os sais devem haver requerido um processamento antes de induzirem a produção de etileno.

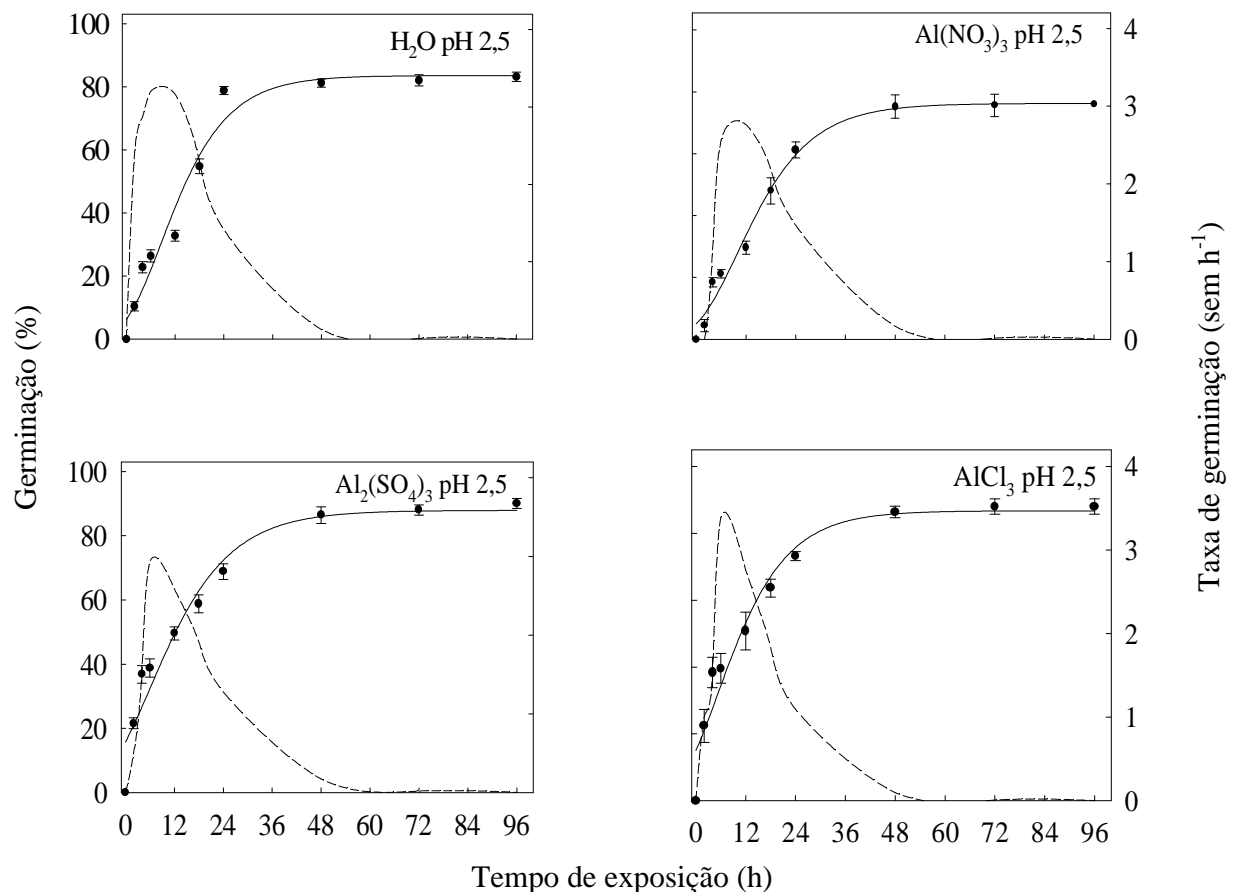


Figura 8.2 – Germinação acumulada (—) e taxa de germinação (---), em placa de Petri, de sementes dormentes de estilosante, com idade pós-colheita de 134 dias, tratadas com sais de alumínio, sob pH 2,5. Média de 5 repetições \pm erro da média

Comparando-se a germinação acumulada de sementes tratadas com sais de alumínio e férricos e sob pH 2,5 puro, não se observou diferença significativa, uma vez que todos os tratamentos causaram alta germinação, a qual se iniciou nas primeiras horas de incubação e atingiu o limiar de saturação entre 30 e 48 h, dependendo do sal considerado. Sob pH 3,0, verificou-se uma menor germinação acumulada em relação ao pH 2,5, observando-se uma diferença entre os sais de alumínio e o pH 3,0. A germinação iniciou-se nas primeiras horas, principalmente nas sementes embebidas com solução de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ e AlCl_3 , atingindo estabilização após 48 h, mostrando um atraso em relação à promovida pelo pH 2,5. Em pH 4,0, observa-se que as sementes necessitaram de um tempo maior para atingir a taxa máxima de germinação, mas menor para alcançar o limiar de

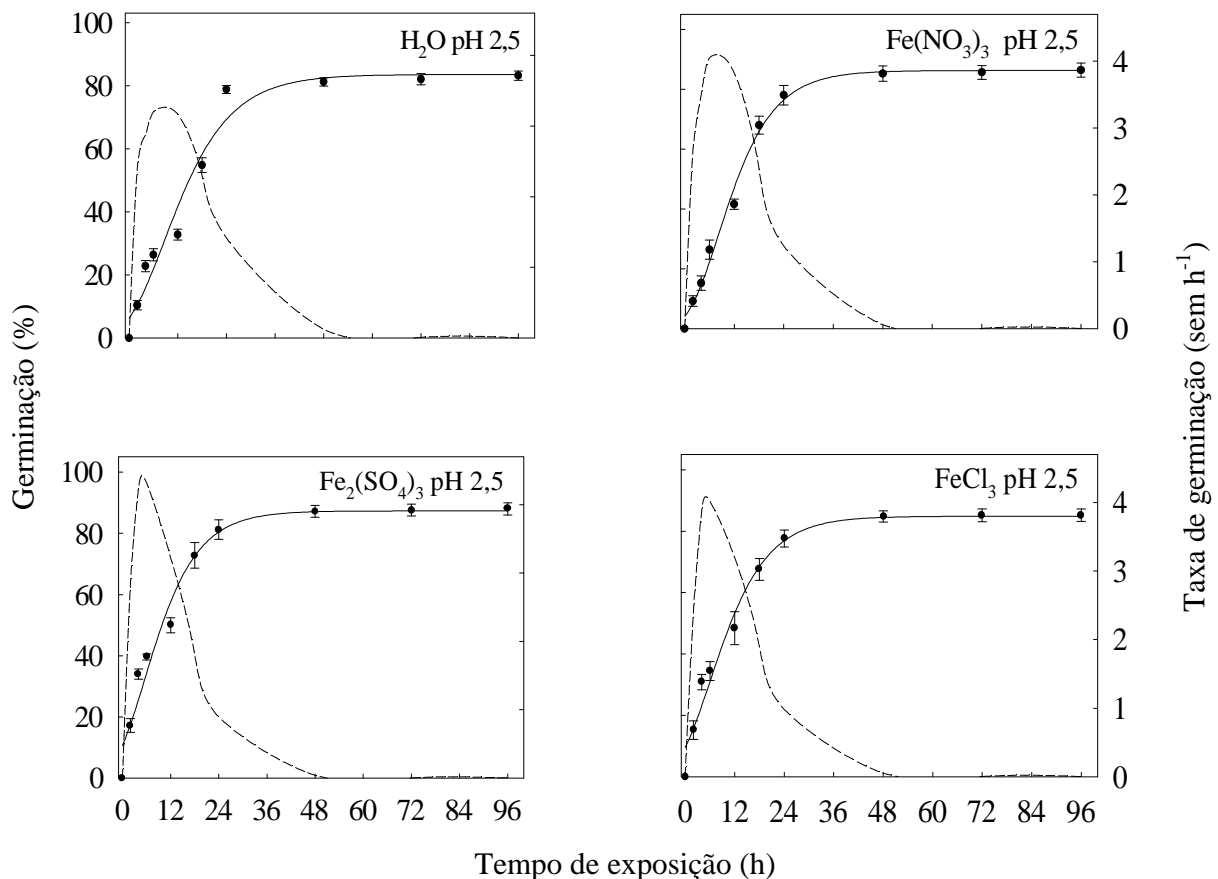


Figura 8.3 – Germinação acumulada (—) e taxa de germinação (---), em placa de Petri, de sementes dormentes de estilosante, com idade pós-colheita de 134 dias, tratadas com sais férricos sob pH 2,5. Média de 5 repetições \pm erro da média

saturação, em relação aos demais tratamentos.

Não houve diferença quanto à taxa máxima de germinação promovida pelo pH 2,5 puro e pelos sais de alumínio, já que promoveram uma taxa máxima de 3 sem h⁻¹. Todavia, os sais férricos promoveram uma taxa maior que a causada pelo pH puro, 4 sem h⁻¹. Pode-se verificar, ainda, que as sementes expostas ao cloreto de alumínio e sulfato férrico necessitaram de um menor tempo de exposição para promover as taxas máximas, confirmando resultados de outros experimentos (Fig 6), de que o íon acompanhante influenciaria a ação do sal. Já sob pH 3,0, o nitrato de alumínio foi o que promoveu taxa máxima de germinação superior em um tempo de incubação maior, em comparação aos

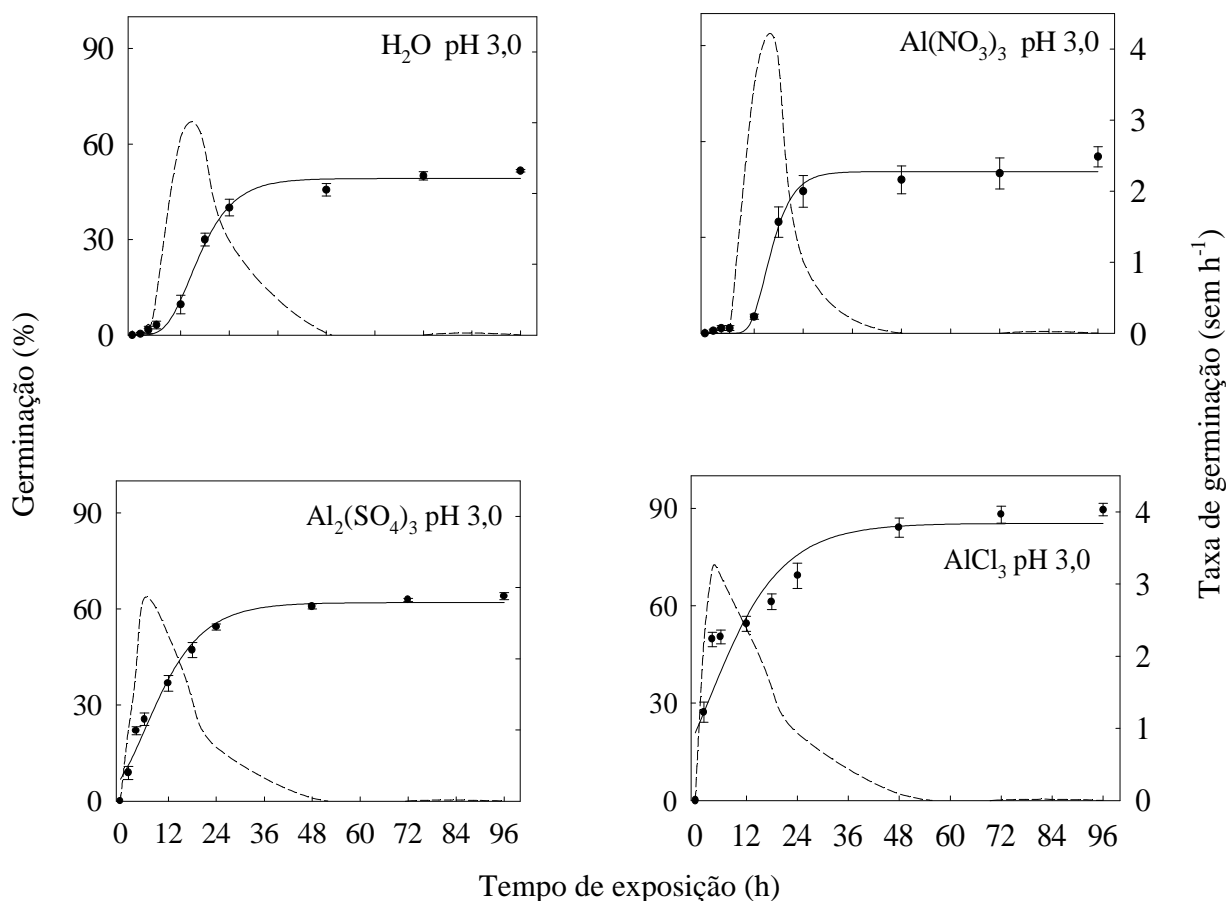


Figura 8.4 – Germinação acumulada (—) e taxa de germinação (---), em placa de Petri, de sementes dormentes de estilosante, com idade pós-colheita de 134 dias, tratadas com sais de alumínio sob pH 3,0. Média de 5 repetições ± erro da média

demais compostos e ao pH 3,0 puro. Sob pH 4,0, o nitrato de alumínio, também, foi o composto que produziu maior taxa máxima de germinação, tanto em relação ao pH puro quanto aos demais sais. Todos os tratamentos promoveram uma taxa de germinação inferior à causada pelo CEPA, maior, entretanto, que aquela das sementes dormentes expostas à água destilada, pH 7,0 (Tab 9).

Confirmando o que foi verificado na secção ‘Efeito dos sais de alumínio e férricos na quebra de dormência’, verifica-se que sob baixos pH (s), a quebra da dormência foi promovida pelo pH, devido à condição acídica, pois a taxa máxima de germinação causada pelos sais não diferiu da causada pela solução de pH 2,5 puro. Além disso, o tempo de taxa máxima promovida pelos íons foi menor que o encontrado quando se utilizou CEPA, o qual poderia ter maior poder de penetração. Contudo, sob pH (s) mais elevados, os sais de alumínio promoveram uma taxa de germinação maior que a promovida pelos pH (s) puros, e o tempo de taxa máxima causada pelos sais foi semelhante ao causado pelo CEPA, indicando que o efeito parece promovido pelo íon, via biossíntese de etileno.

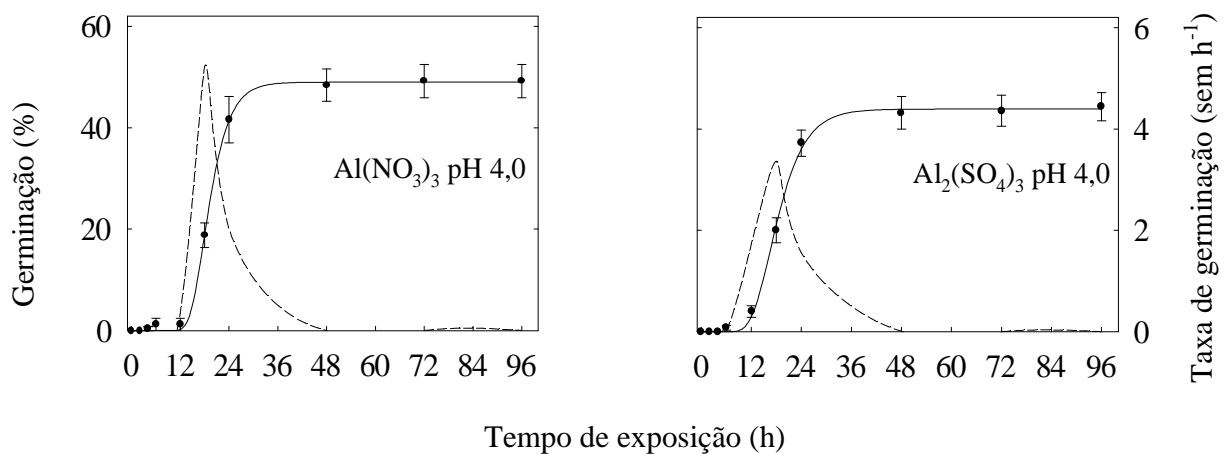


Figura 8.5 – Germinação acumulada (—) e taxa de germinação (---), em placa de Petri, de sementes dormentes de estilosante, com idade pós-colheita de 134 dias, tratadas com sais de alumínio sob pH 4,0. A germinação acumulada e taxa máxima de germinação sob pH 4,0 puro foi de 42 % e 2,5 sem h⁻¹. Média de 5 repetições ± erro da média

Tabela 9 – Alguns parâmetros da cinética de germinação, em placas de Petri, de sementes dormentes de estilosante tratadas com sais de alumínio e férricos, com 134 de idade pós-colheita

Tratamento	Início da germinação (h)	Taxa máxima (sem h ⁻¹)	Tempo de taxa máxima (h)	Limiar de saturação (h)
H ₂ O pH 7,0	9	1	16	36
CEPA pH 7,0	3	32	4	14
pH 2,5				
H ₂ O	2	3	9	36
Al(NO ₃) ₃	2	3	14	47
Al ₂ (SO ₄) ₃	2	3	6	48
AlCl ₃	2	3	5	36
Fe(NO ₃) ₃	1	4	8	30
Fe ₂ (SO ₄) ₃	1	4	5	30
FeCl ₃	1	4	6	30
pH 3,0				
H ₂ O	7	3	14	60
Al(NO ₃) ₃	5	5	15	48
Al ₂ (SO ₄) ₃	1	3	6	47
AlCl ₃	1	3	3	42
pH 4,0				
H ₂ O	10	2	17	36
Al(NO ₃) ₃	12	5	18	34
Al ₂ (SO ₄) ₃	11	3	17	34
AlCl ₃	1	2	10	39

4.4 Efeito dos inibidores da biossíntese de etileno em relação aos sais de alumínio e férricos

Numa tentativa de investigarem-se se os efeitos dos íons alumínio e férrico se processavam via biossíntese de etileno, foram utilizados inibidores da biossíntese desse gás para inibir a germinação. Independentemente do sal utilizado neste experimento, observou-se que os íons cobalto, o AAB e o AAS promoveram uma inibição da germinação de sementes dormentes estimuladas pelos sais e pelo pH puro (Figs 6 e 9), exceto no caso do Co²⁺, quando fornecido juntamente com íons férrico, em pH 2,0. Quando se compara com o efeito causado pelo pH puro, observa-se que o Co²⁺ inibiu a germinação apenas sob pH 3,0 e 4,0; já o AAS inibiu a germinação em quase todos os pHs, exceto sob pH 2,0. O mesmo

efeito foi promovido pelo AAB, porém não houve significância sob pH 4,0. Esses resultados suportam a idéia de que em pH 2,5, a quebra da dormência ocorre devido à condição acídica; já sob pH (s) 3,0 e 4,0, o efeito poderia ser estimulado pela biossíntese de etileno.

Sabe-se que o etileno está envolvido na promoção da germinação de sementes de muitas espécies e, em amendoim, observou-se que rápida exposição das sementes aos ácidos orgânicos de cadeia curta acarretou aumento na taxa de germinação, provavelmente devido à maior sensibilidade dos tecidos da semente ao etileno, em virtude das mudanças nas propriedades das membranas (Whitehead e Nelson 1992). Ademais, o nível de exigência da semente por etileno pode ser muito baixo, como foi sugerido para sementes de *Amaranthus caudatus* (Kpczy ski e Karssen 1985), *Cicer arietinum* L. (Gallardo *et al* 1994) e *Chenopodium album* (Machabée e Saini 1991).

Em sementes expostas ao pH 2,0, visto que não houve inibição da germinação na presença dos inibidores, pode-se inferir que a quebra da dormência ocorreu, provavelmente, devido à acidificação do embrião, como foi observado por Footitt e Cohn (1992), em sementes de arroz-vermelho. Já em pH mais elevado, possivelmente, há ativação da rota metabólica do etileno por condições de estresse, em resposta aos sais de alumínio e férricos, como tem sido descrito para outros materiais vegetais (Morgan e Drew 1997), já que houve inibição quando as sementes foram embebidas nas soluções de inibidores. Prusinski e Khan (1990) verificaram que sementes de alface germinavam mais quando submetidas ao estresse, devido a uma maior capacidade de produção de etileno, podendo-se inferir que ocorreu o mesmo com as sementes de estilote.

De acordo com Richards *et al* (1998), o efeito do alumínio pode corresponder a uma forma de estresse oxidativo, uma vez que um dos mecanismos sugeridos para a toxicidade desse íon é a peroxidação de lipídeos (Gutteridge *et al* 1985, Kochian 1995). Estudos *in vivo* mostraram que tratamentos com alumínio aumentaram a atividade de várias enzimas de estresse oxidativo (Cakmak e Horst 1991).

Analisando-se os efeitos de cada inibidor, verificou-se que o Co^{2+} causou inibição da germinação das sementes expostas a todos os compostos em quase todos os pHs, exceto sob pH 2,0 (Figs 6 e 9). Com o AAS, a germinação também foi inibida, sendo pouco significativa no caso de sementes expostas aos íons férricos, já que a germinação foi maior

que 80%, possivelmente devido ao pH da solução ser baixo. Com o AAB, pôde-se observar uma maior inibição; entretanto, não houve efeito quando fornecido juntamente com íons férricos em pH 2,0. O AAB é um inibidor de processos de crescimento em geral e, na germinação de sementes, agiria, provavelmente, impedindo a absorção de água e a emergência da radícula, além de sua ação estar relacionada à biossíntese de etileno ou à alteração de sensibilidade dos tecidos ao regulador (K pczy ski 1986).

Quando se avaliou o efeito dos inibidores da biossíntese de etileno, sob atmosfera livre do gás, observou-se que a germinação das sementes foi baixa, principalmente em pH 3,0. No terceiro dia de experimento, o etileno fixado pela solução de perclorato foi liberado, pela aplicação de KCl $1,0 \text{ kmol m}^{-3}$, ocorrendo um aumento na germinação, mostrando-se superior a 60%, exceto sob pH 7,0 (Tab 10). Assim, o etileno fixado pela solução de perclorato de mercúrio e posteriormente liberado foi capaz de estimular a germinação posterior das sementes. O etileno acumulado na atmosfera dos frascos também aumentou significativamente. Ao final do experimento não houve diferença significativa entre o efeito dos sais em relação ao efeito do pH puro, no que se refere à germinação e ao etileno acumulado. Entretanto, o cloreto de alumínio foi o composto que promoveu a maior germinação, confirmando os dados obtidos anteriormente.

Os inibidores da biossíntese de etileno têm sido utilizados para indicar o requerimento de algumas espécies de sementes por etileno para germinarem. Todavia, estes inibidores têm falhado em prevenir, satisfatoriamente, a germinação de algumas sementes (Hoffman *et al* 1983, K pczy ski e Karssen 1985, K pczy ski 1986, Machabée e Saini 1991). Portanto, o melhor meio para detectar-se se as sementes de estilossante dependem realmente de etileno para germinar, seria a obtenção de plantas mutantes auxotróficas ou insensíveis ao regulador. Por exemplo, já existem vários tipos de mutantes em que foi possível demonstrar a essencialidade do etileno no amadurecimento dos frutos de tomateiro (Hamilton 1990).

Para tentar reverterem-se os efeitos dos inibidores da biossíntese de etileno, utilizou-se CEPA ($0,1 \text{ mol m}^{-3}$) como revertor (Fig 10). Os efeitos inibitórios do Co^{2+} foram revertidos, principalmente sob pH 2,5, resultando em uma germinação média de 97,6 % para as sementes expostas ao pH puro; 96,4 % para as sementes tratadas com nitrato e sulfato de alumínio; 94,8 % para cloreto de alumínio; 90,8 % com o nitrato férrico; 85,6 %

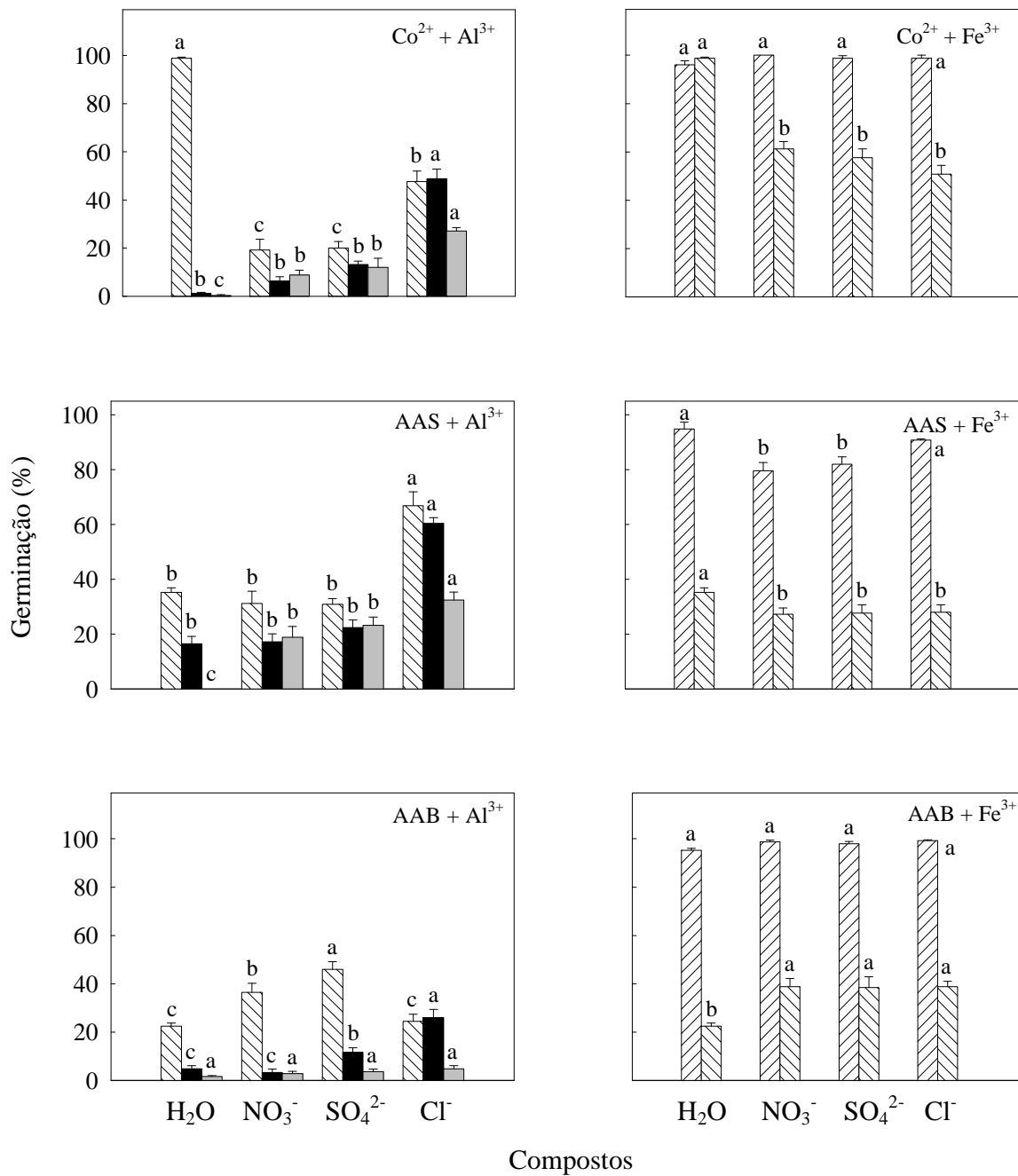


Figura 9 – Efeito dos inibidores da biossíntese de etileno sobre a germinação de sementes dormentes de estilosante, de 110 dias de idade pós-colheita, estimulada por sais de alumínio e férricos. Germinação sob a solução-teste com pH 2,5 (▨), pH 3,0 (■), pH 4,0 (□) para os sais de alumínio e pH 2,0 (▩), pH 2,5 (▧) para os íons férrico. A germinação sob pH 7,0 foi de 11 ± 2 %. Média de cinco repetições \pm erro da média. Médias seguidas de mesma letra, dentro de um mesmo retângulo, não diferem estatisticamente entre si, em nível de 5 % de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott

com sulfato férrico e 81,2 % com cloreto férrico (Fig 10). O CEPA age liberando etileno no meio celular, demonstrando que a inibição causada pelo Co^{2+} sobre a oxidase do ACC foi superada pela ação do etileno. Esses resultados corroboram os dados de Gallardo *et al* (1994), nos quais os efeitos inibitórios do Co^{2+} sobre sementes de *Cicer arietinum* L. foram revertidos com a aplicação de etileno.

Para tentar-se reverter a ação do AAS, as sementes foram expostas a soluções contendo CEPA, o qual foi eficaz em fazer aumentar, parcialmente, a germinação. O AAS atua inibindo também a oxidase do ACC. Pelacani (2001) observou uma inibição de 55 % da germinação de sementes de estilosante expostas ao baixo pH do meio de germinação, em placa de Petri, com AAS, à concentração de $1,0 \text{ mol m}^{-3}$.

A inibição pelo AAB foi revertida parcialmente pelo CEPA. A média de germinação das sementes foi inferior à dos outros tratamentos, talvez porque o AAB seja um inibidor dos processos de crescimento e desenvolvimento em geral. Essa reversão mostrou-se menor que a encontrada por Pelacani (2001) e Pinheiro (2004), quando estudaram a mesma espécie vegetal. Em *Cicer arietinum* L., os efeitos do AAB também foram revertidos por CEPA (Gallardo *et al* 1994) e em *Amaranthus caudatus*, a inibição foi revertida por ACC (Kepczy ski 1986), sugerindo que aquele inibidor estaria controlando a atividade da sintase do ACC na dormência das sementes de *A. caudatus*, e possivelmente, de estilosante. Como pode ser observado nas Figs 6 e 9, as sementes expostas ao pH 2,0 não tiveram a germinação reduzida pelos inibidores, não havendo assim, necessidade de proceder-se à reversão.

A quebra da dormência de sementes de estilosante pareceu associada à condição acídica, no caso de pH 2,0. Já sob pH 3,0, pareceu depender da produção de etileno, que seria estimulada pelos sais de alumínio e férricos, por meio de uma condição de estresse. Esse fato é confirmado pela inibição da germinação quando se utiliza substâncias anti-etilênicas e pela reversão por substâncias associadas à produção do gás na célula.

Tabela 10 - Efeito de inibidores da biossíntese do etileno, sob atmosfera livre do gás, sobre a germinação e produção do regulador gasoso por sementes dormentes de estilosante, de 158 dias de idade pós-colheita. Após 24 h de incubação na solução de inibidores da biossíntese de etileno (AOA + Co^{2+}), pH 7,0, as sementes eram lavadas, infiltradas e transferidas para frascos Erlenmeyer, contendo ao fundo uma tampa de polipropileno invertida com perclorato de mercúrio e papel filtro umedecido com soluções de inibidores da biossíntese mais sais de alumínio, pH 3,0, e férrico, pH 2,5

Tratamento	Germinação (%)				Etileno (rmol sem^{-1})
	24 h	48 h	72 h	96 h	96 h
H₂O pH 7,0	0 ± 0,0	0,8 ± 0,5 Bc	0,8 ± 0,5 Bd	21,2 ± 9,4 Bb	3,3 ± 0,6 Aa
H₂O pH 2,5	0,8 ± 0,5	27,6 ± 1,3 A	41,6 ± 3,7 A	62,0 ± 2,2 A	3,8 ± 0,6 A
Fe(NO₃)₃ pH 2,5	1,2 ± 0,8	35,6 ± 1,5 A	50,0 ± 2,8 A	80,4 ± 2,4 A	7,0 ± 1,3 a
H₂O pH 3,0	0 ± 0,0	28,0 ± 3,0 b	30,8 ± 2,3 c	69,2 ± 2,6 a	4,0 ± 0,2 a
Al(NO₃)₃ pH 3,0	0 ± 0,0	32,0 ± 2,4 b	32,0 ± 2,4 c	74,8 ± 5,3 a	4,8 ± 0,6 a
Al₂(SO₄)₃ pH 3,0	0 ± 0,0	38,4 ± 3,2 b	42,0 ± 2,3 b	70,8 ± 5,2 a	6,2 ± 0,1 a
AlCl₃ pH 3,0	0 ± 0,0	56,4 ± 3,5 a	56,4 ± 3,5 a	83,6 ± 1,6 a	7,0 ± 1,3 A

As tampas de polipropileno inseridas dentro dos frascos continham 0,2 cm^3 de solução de perclorato. As sementes distribuídas ao redor das tampas foram inseridas em solução contendo inibidores da biossíntese do etileno mais sais de alumínio ou férrico. O etileno foi quantificado a partir do segundo dia de experimento, sendo liberado da solução de perclorato, pela adição de KCl 1,0 kmol m^{-3} , após 72 h. Antes da liberação de etileno da solução de perclorato não foi detectado nenhum traço do gás na atmosfera dos frascos Erlenmeyer. As médias seguidas de mesma letra, dentro de cada coluna, não diferem estatisticamente entre si, em nível de 5 % de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott, sendo as maiúsculas referentes à comparação entre pH (s) 2,5 e 7,0, e as minúsculas referentes à comparação entre pH (s) 3,0 e 7,0

4.5 Produção de etileno por sementes de estilosante

Sabendo-se que alguns íons promovem a quebra da dormência de sementes de estilosante, sob pH 3,0, via produção de etileno, e que inibidores da biossíntese desse regulador reduzem seu efeito, testou-se a eficiência dos sais de alumínio e férricos em induzir a produção de etileno pelas sementes.

O cloreto de alumínio, nos sistemas com e sem exaustão, foi o composto que promoveu menor germinação e produção de etileno em relação às sementes não-dormentes (Fig 11.1), mas maior que a apresentada por sementes dormentes (Figs 11.2 e 11.3). O nitrato férrico, em pH 2,5, provavelmente, não teve efeito sobre a quebra da dormência, uma vez que não promoveu diferença significativa em relação ao causado pelo pH puro, indicando que o fenômeno foi causado pelo baixo pH. Entretanto, os sais de alumínio,

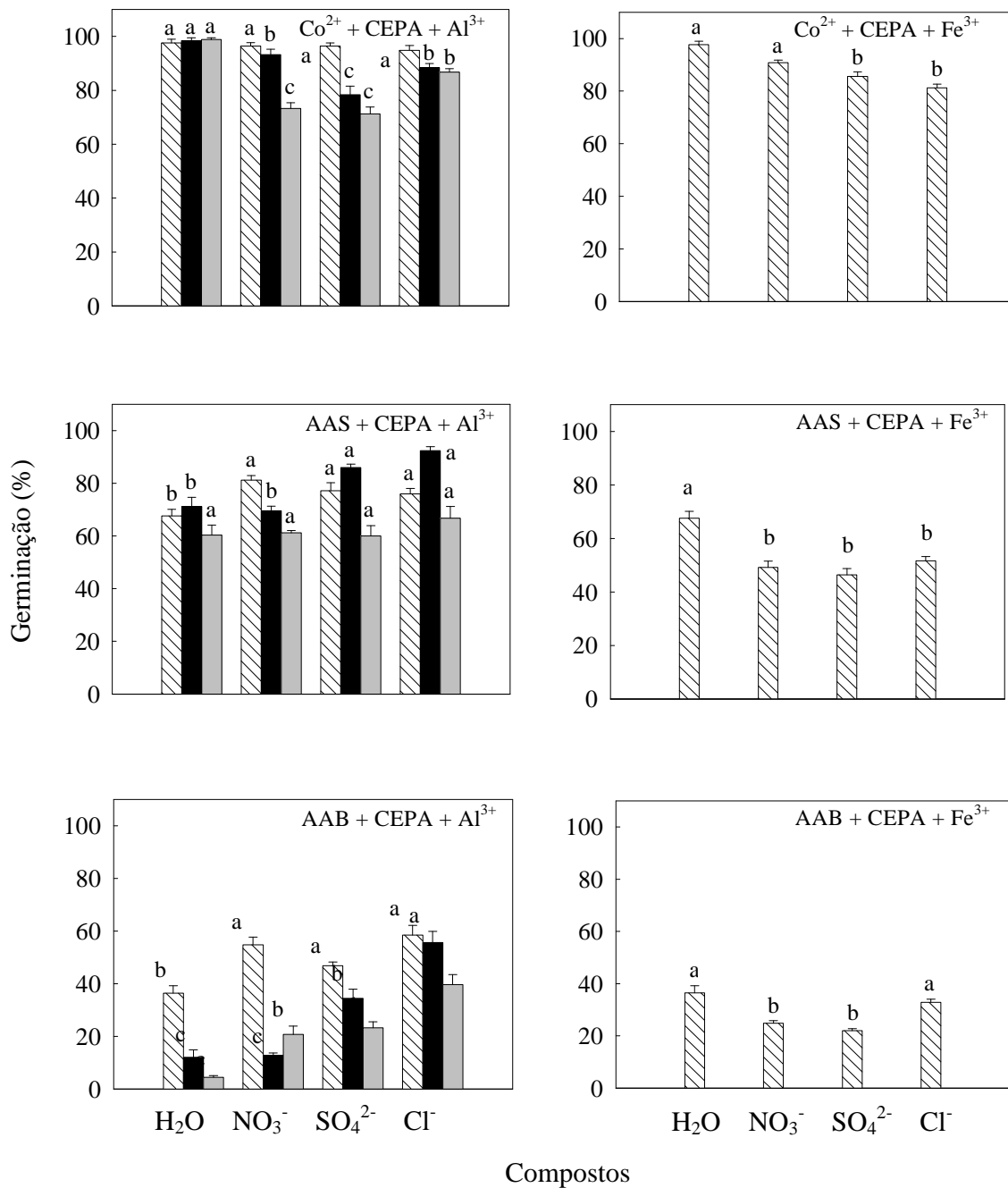


Figura 10 – Reversão do efeito dos inibidores da biossíntese de etileno fornecidos conjuntamente com os íons alumínio e férrico, em sementes dormentes de 120 dias de idade pós-colheita, com troca de solução e ajuste de pH. Germinação sob a solução-teste com pH 2,5 (▣), pH 3,0 (■), pH 4,0 (▤) para os sais de alumínio e pH 2,5 (▣), para os íons férricos. A germinação sob CEPA, pH 7,0 foi de 98,4 %. Média de cinco repetições ± erro da média. Médias seguidas de mesma letra, dentro de um mesmo pH e inibidor, não diferem estatisticamente entre si, em nível de 5 % de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott

com exceção do nitrato, estimularam a germinação de sementes mantidas sob pH 3,0, já que promoveram uma germinação superior àquela causada pelo pH puro, sendo esse comportamento observado no sistema com e sem exaustão. Pode-se verificar, também, que houve um aumento na produção de etileno pelas sementes, em comparação com o efeito do pH 3,0 puro (Figs 11.2 e 11.3).

Os maiores incrementos na produção de etileno, em pH 3,0, foram observados 48 h após a incubação das sementes com o nitrato férrico, e 72 h em solução de sais de alumínio, em frascos Erlenmeyer, submetidos ou não à exaustão de ar. Sob pH 3,0 puro ocorreu menor germinação das sementes e menor liberação de etileno, exceto sob o nitrato de

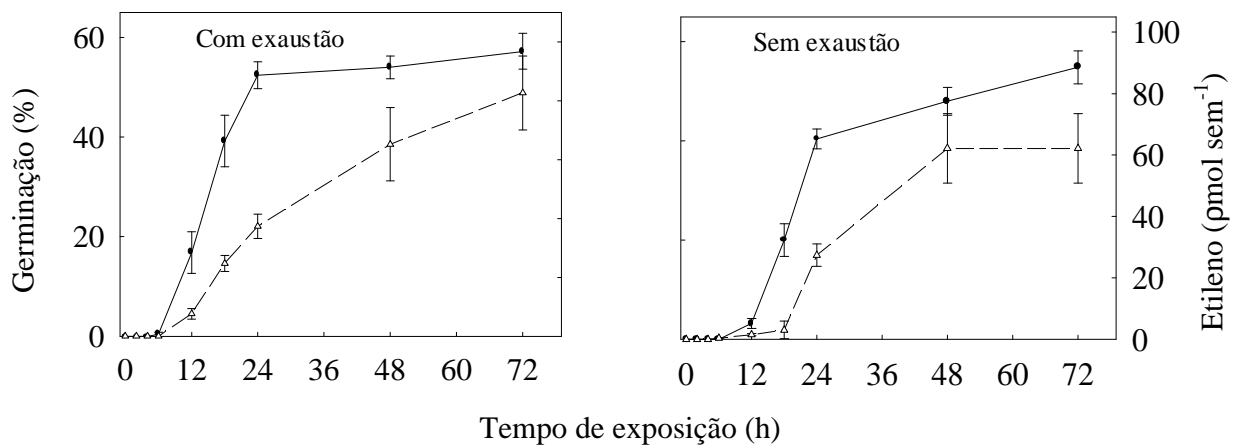


Figura 11.1 – Germinação (—) e produção de etileno (---) em sementes não-dormentes de estilosante, com idade pós-colheita de 353 dias, tratadas com H₂O pH 7,0. A germinação e produção de etileno em sementes dormentes, com 100 dias de idade pós-colheita foi 8 % e 10 pmol sem⁻¹, para o sistema com exaustão, e 7 % e 9 pmol sem⁻¹, para sistema sem exaustão. Média de 5 repetições ± erro da média.

alumínio. Como foi sugerido anteriormente (itens 4.1, 4.3 e 4.4), esses resultados podem ser atribuídos ao fato de alguns íons agirem como indutores de estresse, promovendo a produção de etileno.

Segundo Chen *et al* (1991), os íons alumínio atuam sobre a membrana celular, neutralizando cargas superficiais, o que levaria a uma maior rigidez dos lipídeos das membranas; afetaria os níveis de cálcio associado às proteínas da membrana; ligar-se-ia à alguma calmodulina, causando modificações em sua conformação; ou reduziria a

permeabilidade à água. Cakmak e Horst (1991) sugeriram que o alumínio potencializaria ou facilitaria a peroxidação de lipídeos por desorganizar a estrutura da membrana, uma vez que induz a produção de radicais livres, afetando os níveis de enzimas relacionadas ao estresse, como superóxido dismutase, catalase e peroxidase. Nesse caso, a peroxidação poderia conduzir à síntese de etileno, via uma rota alternativa, pois enzimas como peroxidases e lipoxigenases convertem ACC em etileno, em presença de co-fatores específicos (Oswald *et al* 1989).

A germinação de sementes de estilozante estimulada por íons alumínio, sob pH 3,0, mostrou-se correlacionada com a produção de etileno pelas sementes, sugerindo que a quebra da dormência tenha ocorrido via produção de etileno. Todavia, em solução de nitrato férrico, pH 2,5, o efeito parece ter sido causado pela condição acídica.

4.6 Cinética de produção de etileno em relação à germinação estimulada por íons alumínio e férrico

Considerando-se que os íons alumínio e férrico promovem a quebra de dormência de sementes de estilozante (Fig 6), provavelmente via produção de etileno, sementes dormentes foram expostas a alguns compostos, para quantificação do etileno produzido (Figs 14.1 e 14.2), observando-se, também, a germinação das sementes (Figs 12.2 e 12.3).

Para descrever-se o comportamento da germinação e produção de etileno, ajustaram-se as funções Gompertz que melhor descreveram a cinética de germinação e produção de etileno (Calbo *et al* 1989) (Figs 12.1 - 12.3). Isso possibilitou fazerem-se comparações entre os parâmetros estimulados por sais de alumínio e férricos em sementes dormentes e não-dormentes (Fig 12.1). Das curvas de germinação integradas ao longo do tempo, foram estimadas as derivadas primeiras para a obtenção das taxas de germinação e de produção de etileno (Causton 1983). Igualando-se a derivada segunda a zero, obtiveram-se os tempos correspondentes às taxas máximas e, quando houve estabilização da germinação, determinou-se o limiar de saturação da germinação. Por extrapolação da parte ascendente da curva até o eixo do x, determinou-se o tempo inicial da germinação e produção de etileno. A partir desses resultados construíram-se as Tabs 11 - 14.

Em pH 2,5, observou-se uma diferença pouco significativa entre o efeito promovido pelo pH puro e aquele causado pelo nitrato férrico, indicando efeito exclusivo do pH, como

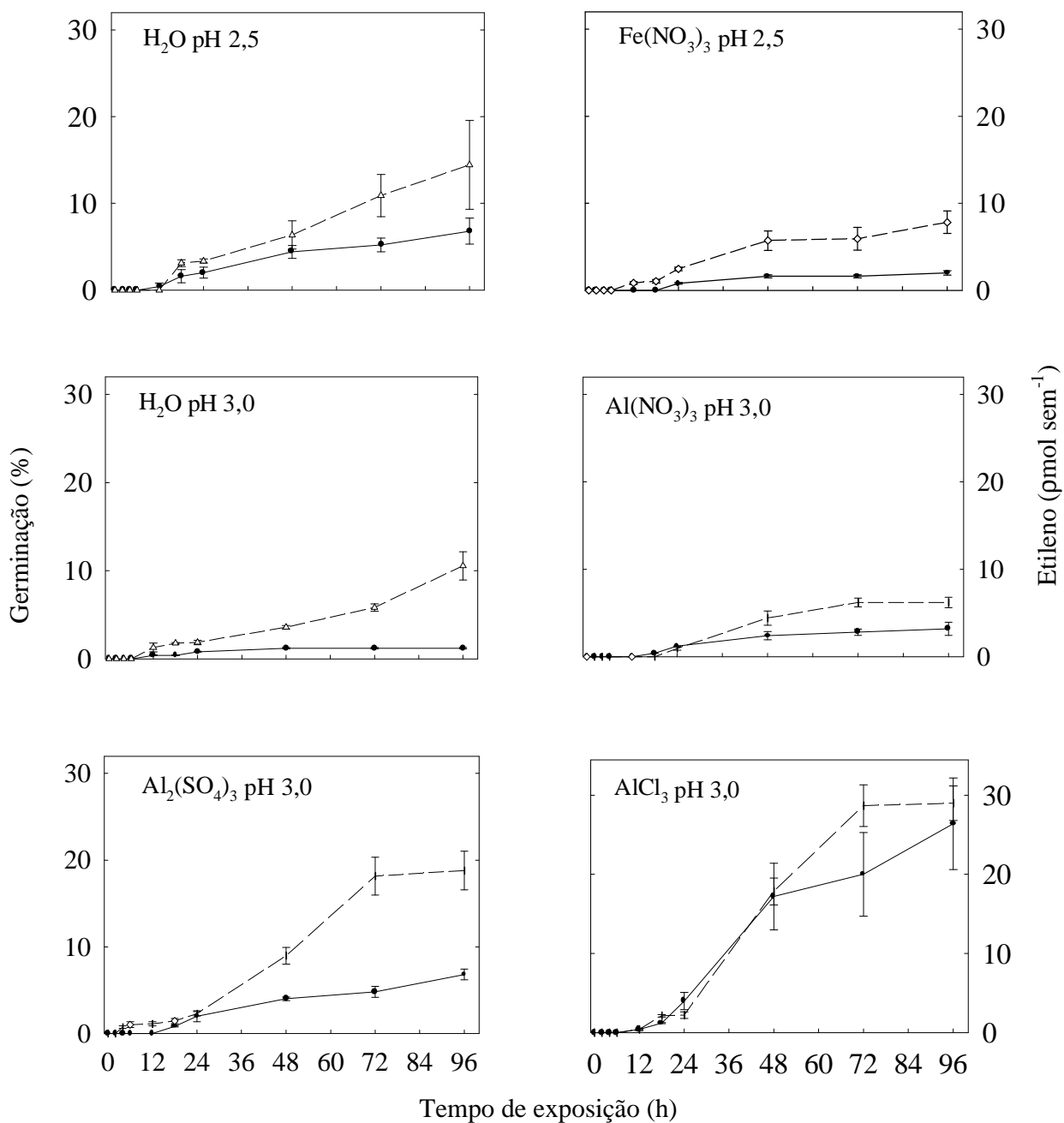


Figura 11.2 – Germinação (—) e produção de etileno (---) em sementes dormentes de estilosante, com 8 dias de idade pós-colheita, acondicionadas em frascos Erlenmeyer não submetidos à exaustão. Média de 5 repetições ± erro da média

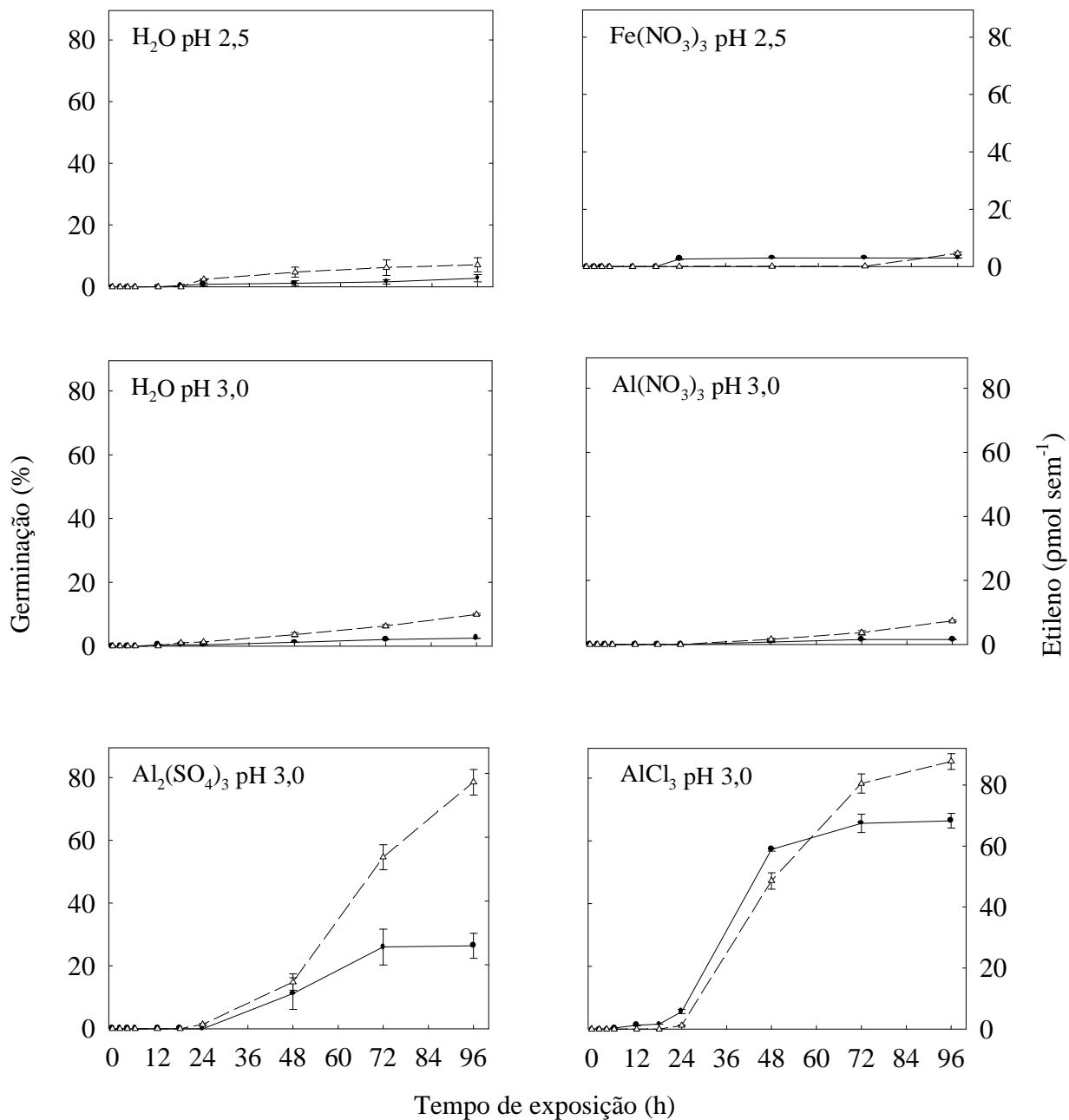


Figura 11.3 – Germinação (—) e produção de etileno (---) em sementes dormentes de estilosante, com 8 dias de idade pós-colheita, acondicionadas em frascos Erlenmeyer, submetidos à exaustão. Média de 5 repetições ± erro da média

já foi sugerido anteriormente (itens 4.1, 4.3 e 4.4). No sistema em que ocorreu exaustão de ar, verificou-se que o início da germinação foi semelhante àquele de produção de

etileno, exceto para as sementes expostas ao nitrato férrico (Tabs 12 e 14). Entretanto, o tempo para ocorrer a taxa máxima diferiu entre a germinação e produção de etileno, corroborando a idéia de que, sob baixo pH, o etileno não se mostrou essencial para promover a germinação. No sistema em que os frascos mantiveram-se fechados durante todo o experimento, verificou-se que o início do processo de germinação e biossíntese de etileno ocorreram em momentos diferentes, no que se refere às sementes expostas ao pH 2,5. Já quando tratadas com nitrato férrico, o início do processo, bem como os tempos de taxa máxima, foram semelhantes (Tabs 12 e 14).

Sob pH 3,0, pode-se perceber que os sais promoveram uma taxa de germinação superior àquela causada por pH puro, embora não fosse significativa. No sistema sem exaustão, o AlCl_3 e o $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ promoveram tempo inicial de germinação de 9 h, enquanto as sementes expostas aos demais sais necessitaram de 11 h de incubação para iniciarem o processo germinativo e o tempo de ocorrência da taxa máxima promovido pelos íons foi superior, em alguns casos, àquele promovido pelo pH puro. Já no sistema com exaustão, o início da germinação promovida pelos sais ocorreu após aquele causado pelo pH 3,0, sendo o tempo de taxa máxima promovido pelos íons maior que o causado pelo pH puro, exceto no que se refere ao AlCl_3 . Além disso, detectou-se, também, uma correlação entre início da germinação e produção de etileno, no sistema sem exaustão, indicando que em pH 3,0 o etileno seria essencial para promover a germinação, ainda que requerido em quantidades mínimas, confirmando dados obtidos em experimentos anteriores (Figs 11.2 e 11.3).

Assim, verificou-se uma relação entre produção de etileno e germinação das sementes dormentes de estilante (Figs 12.1-14.2), sendo ambos descritos por curvas sigmóides, caracterizadas por uma fase lenta no início, seguida de uma fase logarítmica, em que a germinação e a produção de etileno aumentaram exponencialmente, até atingirem um ponto máximo e, finalmente, a saturação do processo. Os sais que continham o nitrato como íon acompanhante e o pH 3,0 puro, no sistema com exaustão, não promoveram resposta apreciável, pois, ao final de 96 h de incubação, não foi atingida a taxa máxima de produção de etileno, nem tampouco a estabilização da produção do gás. Provavelmente, seria necessário aumentar-se o tempo de exposição das sementes a esses compostos.

Como foi verificado pela cinética de germinação, com exceção da água pH 2,5 e 3,0 e do nitrato de alumínio e férrico, todos os demais sais promoveram uma taxa de produção de

etileno maior que das sementes dormentes, quando se utilizou o sistema com exaustão. Os sais que apresentavam o nitrato como íon acompanhante e os controles, no sistema sem exaustão de ar, não apresentaram diferenças significativas, sendo os valores menores que os obtidos pelas sementes não-dormentes, em pH 7,0, (Figs 13, 14.1 e 14.2).

Tabela 11 – Alguns parâmetros da cinética de germinação, em frascos Erlenmeyer, de sementes dormentes e não-dormentes de estilosante, com idade pós-colheita de 100 e 353 dias, respectivamente,

Tratamento	Tempo inicial (h)	Taxa máxima (sem h ⁻¹)	Tempo de taxa máxima (h)	Limiar de saturação (h)
Com Exaustão				
Semente dormente	3	0,19	19	60
Semente não-dormente	7	4,00	13	30
Sem Exaustão				
Semente dormente	5	0,19	10	16
Semente não-dormente	12	4,00	17	30

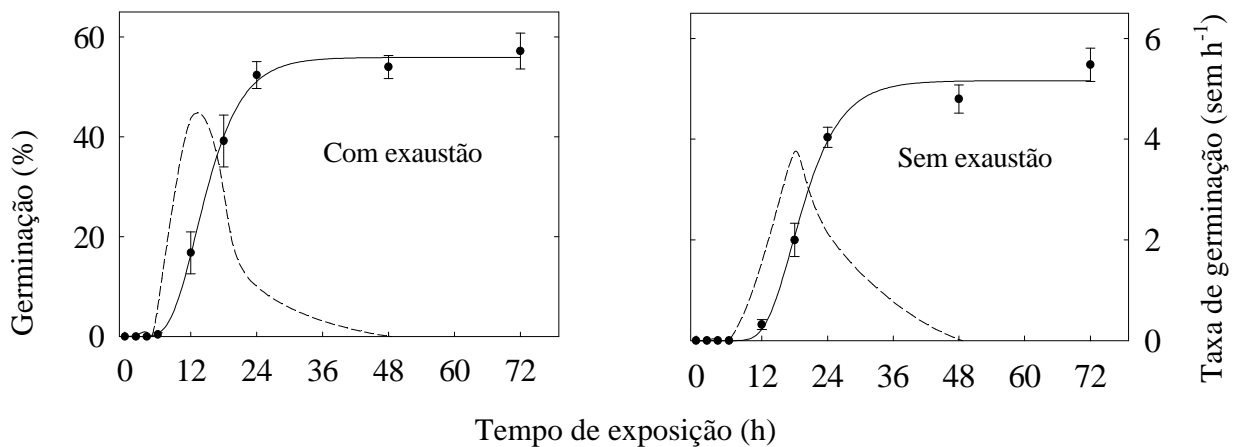


Figura 12.1 – Germinação acumulada (—) e taxa de germinação (---) em sementes dormentes de estilosante, com idade pós-colheita 353 dias. A germinação e taxa máxima de germinação de sementes dormentes, com 100 dias de idade pós-colheita, foram 8 % e 0,2 sem h⁻¹ para o sistema com exaustão e, 6 % e 0,2 sem h⁻¹ para o sistema sem exaustão. Média de 5 repetições ± erro da média

Tabela 12 – Alguns parâmetros da cinética de germinação, de sementes dormentes de estilosante, com 8 dias de idade pós-colheita, tratadas com sais de alumínio e férrico, em frascos Erlenmeyer

Tratamento	Tempo inicial (h)	Taxa máxima (sem h ⁻¹)	Tempo de taxa máxima (h)	Limiar de saturação (h)
Com Exaustão				
H ₂ O pH 2,5	17	0,03	59	-
H ₂ O pH 3,0	9	0,03	42	-
Al(NO ₃) ₃ pH 3,0	25	0,01	26	72
Al ₂ (SO ₄) ₃ pH 3,0	25	0,42	48	68
AlCl ₃ pH 3,0	23	3,00	32	60
Fe(NO ₃) ₃ pH 2,5	2	0,05	16	48
Sem Exaustão				
H ₂ O pH 2,5	2	0,12	30	-
H ₂ O pH 3,0	5	0,05	16	44
Al(NO ₃) ₃ pH 3,0	11	0,08	26	48
Al ₂ (SO ₄) ₃ pH 3,0	9	0,10	35	60
AlCl ₃ pH 3,0	9	0,50	35	60
Fe(NO ₃) ₃ pH 2,5	11	0,06	25	36

- não atingido

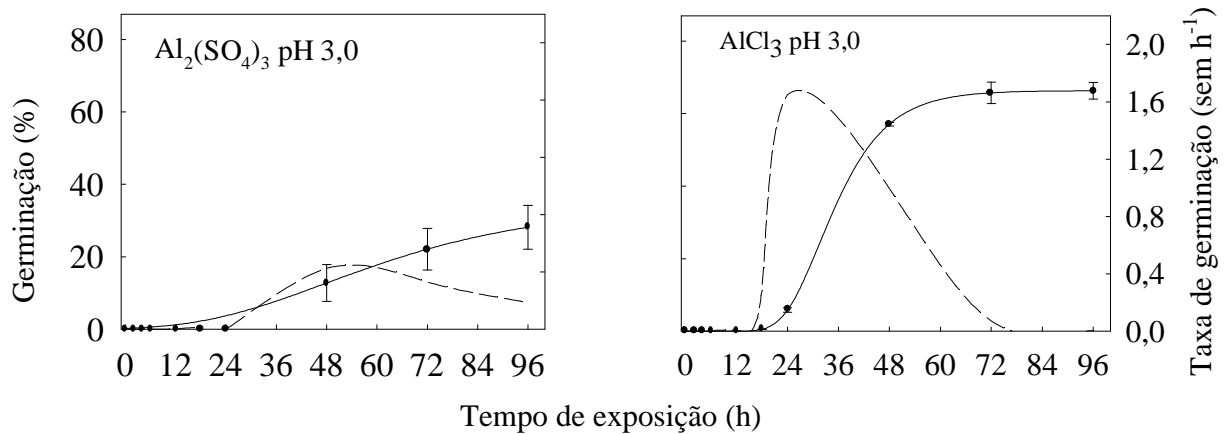


Figura 12.2 – Germinação acumulada (—) e taxa de germinação (---) de sementes dormentes de estilosante, com idade pós-colheita de 8 dias, tratadas com sulfato de alumínio e cloreto de alumínio, sob pH 3,0, em frascos Erlenmeyer submetidos à exaustão de ar. Média de 5 repetições ± erro da média

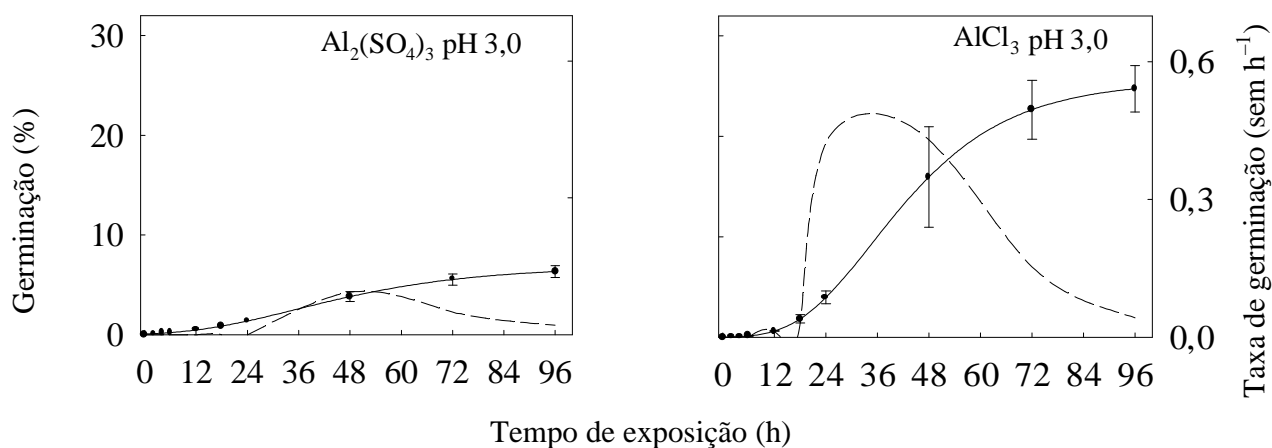


Figura 12.3 – Germinação acumulada (—) e taxa de germinação (---) de sementes dormentes de estilosante, com idade pós-colheita de 8 dias, tratadas com sulfato de alumínio e cloreto de alumínio, sob pH 3,0, em frascos Erlenmeyer não exauridos. Média de 5 repetições \pm erro da média

Tabela 13 – Alguns parâmetros da cinética de produção de etileno, em sementes dormentes e não-dormentes de estilosante, com idade pós-colheita de 100 e 353 dias, respectivamente, em frascos Erlenmeyer

Tratamento	Tempo inicial (h)	Taxa máxima (rmol sem h ⁻¹)	Tempo de taxa máxima (h)	Limiar de saturação (h)
Com Exaustão				
Semente dormente	14	0,27	21	40
Semente não-dormente	8	2,00	21	60
Sem Exaustão				
Semente dormente	18	0,20	58	-
Semente não-dormente	18	5,00	23	38

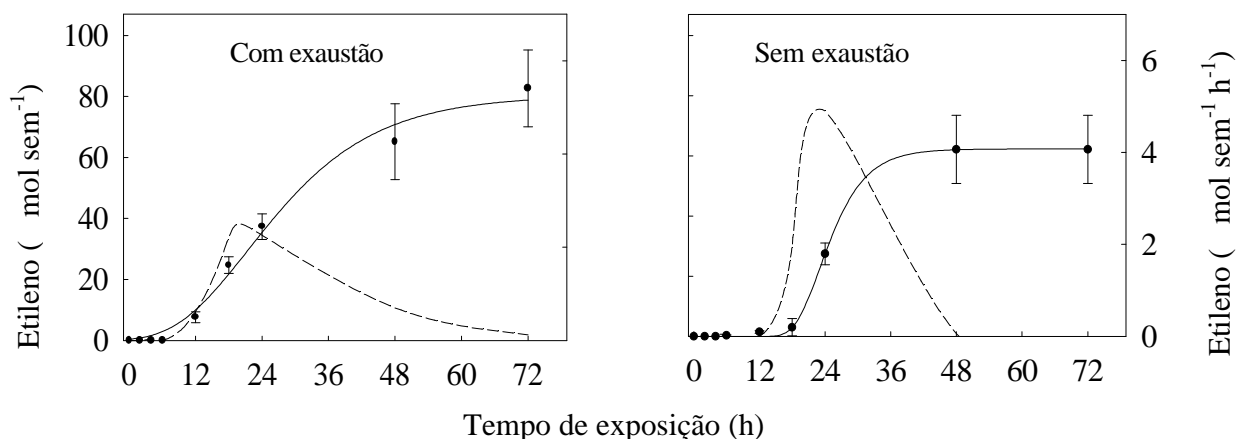


Figura 13 – Produção de etileno (—) e taxa de produção de etileno (---) de sementes não-dormentes de estilosante, com idade pós-colheita de 353 dias, tratadas com água destilada pH 7,0. Média de 5 repetições \pm erro da média

Tabela 14 –Alguns parâmetros da cinética de produção de etileno, por sementes dormentes de estilosante tratadas com sais de alumínio e férrico com 8 dias de idade pós-colheita, em frascos Erlenmeyer

Tratamento	Tempo inicial (h)	Taxa máxima (rmol sem h ⁻¹)	Tempo de taxa máxima (h)	Limiar de saturação (h)
Com Exaustão				
H ₂ O pH 2,5	12	0,16	31	72
H ₂ O pH 3,0	12	0,14	70	-
Al(NO ₃) ₃ pH 3,0	25	0,15	97	-
Al ₂ (SO ₄) ₃ pH 3,0	27	2,00	59	90
AlCl ₃ pH 3,0	27	2,00	42	68
Fe(NO ₃) ₃ pH 2,5	94	0,12	94	-
Sem Exaustão				
H ₂ O pH 2,5	12	0,19	48	-
H ₂ O pH 3,0	12	2,00	13	-
Al(NO ₃) ₃ pH 3,0	20	0,16	25	60
Al ₂ (SO ₄) ₃ pH 3,0	18	0,35	42	-
AlCl ₃ pH 3,0	18	0,62	33	59
Fe(NO ₃) ₃ pH 2,5	10	0,16	26	72

- não atingido

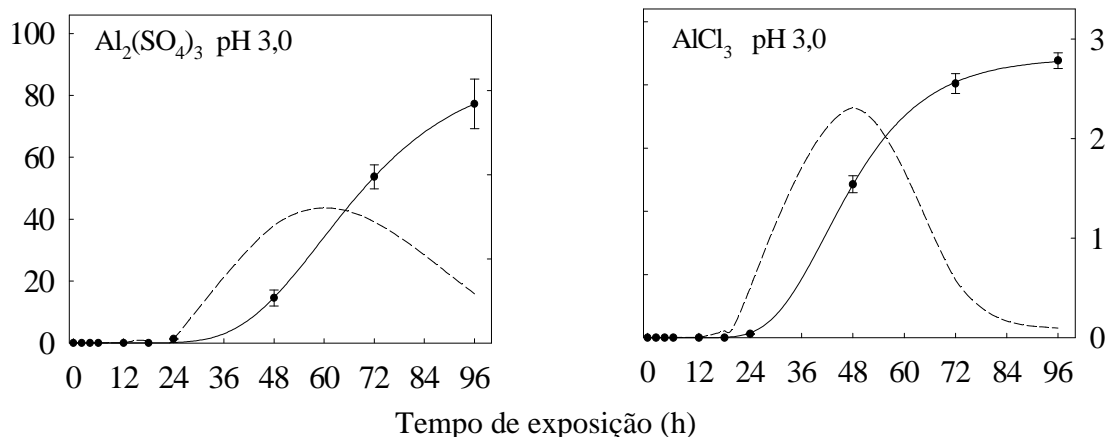


Figura 14.1 – Produção de etileno (—) e taxa de produção de etileno (---) em sementes dormentes de estilosante, com idade pós-colheita de 8 dias, tratadas com sais de alumínio, submetidas ao sistema com exaustão. Média de 5 repetições \pm erro da média

Como foi mencionado anteriormente, os íons alumínio provavelmente promovem uma condição de estresse, que induziria à síntese de etileno. Dentre os efeitos causados pelo alumínio está a interferência nos níveis de cálcio. Esse elemento aumenta a habilidade das citocininas em promover a síntese de etileno (Yu *et al* 1981). As calmodulinas também são conhecidas por sua ação na ativação e desativação enzimática, e os íons alumínio, ao atuarem sobre a calmodulina, poderiam afetar a síntese de etileno. As mudanças na fluidez da membrana poderiam atuar sobre a oxidase do ACC, uma vez que a enzima parece associada à membrana. Assim, os íons alumínio poderiam estar atuando sobre a síntese ou atividade de uma ou das duas enzimas envolvidas na rota biossintética do etileno.

Pode-se inferir que o etileno promoveu um aumento na germinação das sementes dormentes de estilosante, porém não seria requerido para quebrar a dormência sob pH (s) muito baixos. No caso de pH (s) mais elevados, o efeito promotor pareceu relacionado ao composto propriamente dito e ao íon acompanhante, via biossintese de etileno. Outra possibilidade seria o requerimento do regulador gasoso, em quantidades mínimas, para quebrar a dormência, as quais não são detectadas por meios usuais.

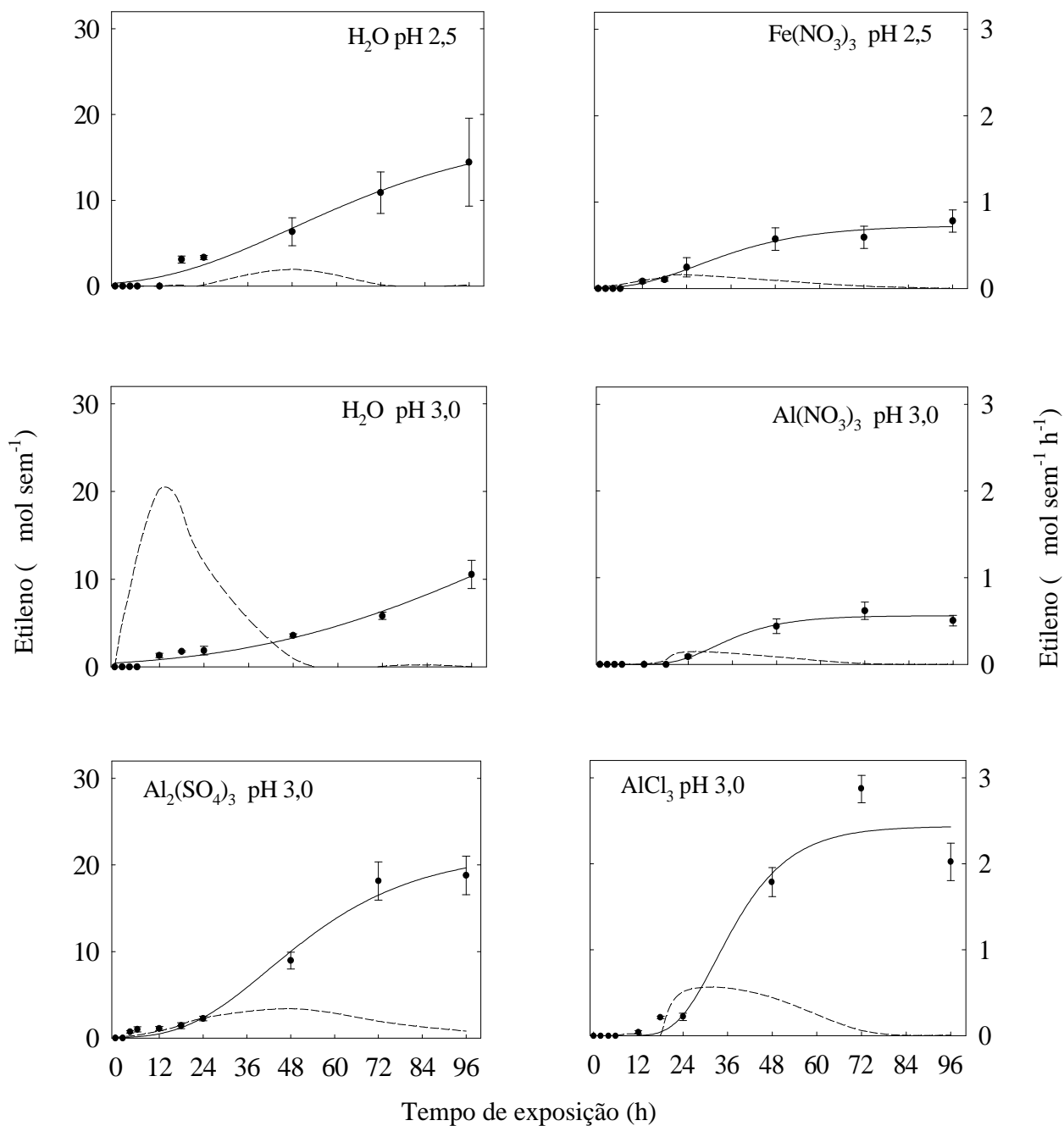


Figura 14.2 – Produção de etileno (—) e taxa de produção de etileno (---) em sementes dormentes de estilosante, com idade pós-colheita de 8 dias, tratadas com sais de alumínio e férrico, submetidas ao sistema sem exaustão. Média de 5 repetições ± erro da média

5 CONCLUSÕES

A dormência fisiológica de sementes escarificadas de *Stylosanthes humilis* H.B.K. foi quebrada em soluções de pH (s) 2,0 e 2,5, devido à condição acídica, e sob pH 3,0 e 4,0, aparentemente pela ação dos íons alumínio, que, por sua vez talvez tenham produzido uma condição de estresse. Sob pH 2,5, não se observou diferença entre os efeitos causados pelos sais e pelo pH puro. Sob pH 3,0, os sais de alumínio aparentemente promoveram uma germinação e uma taxa de germinação superior àquelas causadas pelo pH puro, indicando um efeito próprio do íon.

O Co^{2+} e o ácido acetil-salicílico (AAS), inibidores da biossíntese de etileno, não causaram inibição da germinação apenas quando as sementes foram expostas ao pH 2,0. O ácido abscísico (AAB) promoveu maior inibição da germinação, do que os demais inibidores empregados. Os efeitos do Co^{2+} , AAS e AAB foram revertidos pela aplicação do ácido 2-cloroetilfosfônico.

Comparando-se a germinação das sementes com a sua produção de etileno, observou-se que as sementes de estilósante estimuladas por íons alumínio, em pH 3,0, exibiram uma relação positiva entre germinação e produção de etileno, sugerindo que a quebra da dormência tenha ocorrido via produção do regulador. Todavia, quando se considera a solução de nitrato férrico, sob pH 2,5, o efeito pareceu ser causado pela condição acídica.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adkins SW, Simpson GM, Naylor JM (1984 a) The physiological basis of seed dormancy in *Avena fatua* III. Action of nitrogenous compounds. *Physiol Plant* 60: 227-33
- Adkins SW, Simpson GM, Naylor JM (1984 b) The physiological basis of seed dormancy in *Avena fatua* IV. Alternative respiration and nitrogenous compounds. *Physiol Plant* 60: 234-8
- Adkins SW, Simpson GM, Naylor JM (1985) The physiological basis of seed dormancy in *Avena fatua* VII. Action of organic acids and pH. *Physiol Plant* 65: 310-6
- Araújo EF, Araújo RF, Gomes JM (2000) Avaliação de diferentes métodos de escarificação das sementes e dos frutos de *Stylosanthes viscosa* SW. *Rev Bras Sem* 22: 18-22
- Bauer P, Thiel T, Klatte M, Berezky Z, Brumbarova T, Hell R, Grosse I (2004) Analysis of sequence, map position, and gene expression reveals conserved essential genes for iron uptake in *Arabidopsis* and tomato. *Plant Physiol* 136: 4168-83
- Bewley JD, Black M (1994) *Seeds: physiology of development and germination*. 2ed. New York, Plenum Press, 445 p
- Brassard P, Kramer JR, Nosko P, Kershaw A (1988) Continuous flow rhizostat for the study of aluminium toxicity. *Plant Cell Environ* 11: 863-73
- Burin ME, Barros RS, Rena AB (1987) Chemical regulation of endogenous dormancy in seeds of *Stylosanthes humilis* H.B.K. *Turrialba* 37: 281-5
- Cakmak I, Horst WJ (1991) Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max* L.). *Physiol Plant* 834: 463-8
- Calbo AG, Silva WLC, Torres AC (1989) Ajuste de funções não lineares de crescimento. *Rev Bras Fisiol Veg* 1: 9-18
- Cameron DF (1967) Hardseededness and seed dormancy of Townsville lucerne (*Stylosanthes humilis*) selections. *Aust J Exp Agr Anim Husb* 7: 237-40
- Cameron DF, 'tMannetje L (1977) Effects of photoperiod and temperature on flowering of twelve *Stylosanthes* species. *Aust J Exp Agr Anim Husb* 17: 417-24
- Carver BF, Ownby JD (1995) Acid soil tolerance in wheat. *Adv Agron* 54: 117-73

- Cate RR, Sukai AP (1964) A study of aluminium in rice brite Guiana soil survey. *Soil Sci* 98: 85-93
- Causton DR (1983) *A biologist's basic mathematics*. London, Edward Arnold, 216 p
- Chen J, Sucoff E, Stadelmann EJ (1991) Aluminum and temperature alteration of cell membrane permeability of *Quercus rubra*. *Plant Physiol* 96: 644-9
- Cohn MA (1989) Factors influencing the efficacy of dormancy-breaking chemicals. In: Taylorson RB (ed) *Recent advances in development and germination of seeds*. New York, Plenum Press. p 261-7
- Cohn MA (1996) Chemical mechanisms of breaking seed dormancy. *Seed Sci Res* 6: 95-9
- Cohn MA, Chiles LA, Hughes JA, Boullion KJ (1987) Seed dormancy in red rice VI. Monocarboxylic acids: a new class of pH-dependent germination stimulants. *Plant Physiol* 84: 716-9
- Delatorre CA (1994) *Regulação não-específica da germinação de sementes de Stylosanthes humilis HBK*. Viçosa, UFV. 83 p (Tese de Mestrado)
- Delatorre CA, Barros RS (1996) Germination of dormant seeds of *Stylosanthes humilis* as related to heavy metal ions. *Biol Plant* 38: 269-74
- Delatorre CA, Barros RS, Vieira HD (2000) Germinação de sementes de *Stylosanthes humilis* em resposta a tiouréia. *Rev Bras Fisiol Veg* 9: 49-53
- Delhaize E, Ryan PR (1995) Aluminum toxicity and tolerance in plants. *Plant Physiol* 107: 315-21
- Echart CL, Cavalli-Molina S (2001) Fitotoxicidade do alumínio: efeitos, mecanismo de tolerância e seu controle genético. *Ciênc Rur* 31: 531-41
- Eustice DC, Kull FJ, Shrift A (1981) Selenium toxicity: aminoacylation and peptide bond formation with selenomethionine. *Plant Physiol* 67: 1054-8
- Footitt S, Cohn MA (1992) Seed dormancy in red rice VIII. Embryo acidification during dormancy-breaking and subsequent germination. *Plant Physiol* 100: 1196-202
- Foy CD (1988) Plant adaptation to acid, Al-toxic soils. *Commun Soil Sci Plant Anal* 19: 959-87
- Frigeri RBC (1998) *Efeito do pH na germinação de sementes dormentes de Stylosanthes humilis HBK*. Viçosa, UFV. 56 p (Tese de Mestrado)

- Fu JR, Yang SF (1983) Release of heat pretreatment-induced dormancy in lettuce seeds by ethylene or cytokinin in relation to the production of ethylene and the synthesis of ACC during germination. *J Plant Growth Regul* 2: 185-92
- Gallardo M, Delgado MM, Sánchez-Calle IM, Mattila AJ (1991) Ethylene production and 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid conjugation in thermoinhibited *Cicer arietinum* L. seeds. *Plant Physiol* 97: 122-7
- Gallardo M, De Rueda PM, Mattila AJ, Sánchez-Calle IM (1994) The relationships between ethylene production and germination of *Cicer arietinum* seeds. *Biol Plant* 36: 201-7
- Green L, Rogers EE (2004) *FRD3* controls iron localization in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 136: 25-31
- Gutteridge JMC, Quinlan GJ, Clark I, Halliwell B (1985) Aluminium salts accelerate peroxidation of membrane lipids stimulated by iron salts. *Biochim Biophys Acta* 835: 441-7
- Hamilton AJ, Lycett GW, Grierson D (1990) Antisense gene that inhibits synthesis of ethylene in transgenic plants. *Nature* 346: 284-7
- Hoffman NE, Fu JR, Yang SF (1983) Identification and metabolism of 1-(malonylamino)cyclopropane-1-carboxylic acid in germination of peanut seeds. *Plant Physiol* 71: 197-9
- Holm AM (1973) The effect of high temperature pretreatments on germination of Townsville stylo seed material. *Aust J Exp Agr Anim Husband* 13: 190-2
- Horst WJ (1996) The role of the apoplast in aluminium toxicity and resistance of higher plants: a review. *Z Pflanzenernahr Bodenkd* 158: 419-28
- Jones DL, Kochian LV (1995) Aluminium inhibition of the inositol 1,4,5-triphosphate signal transduction pathway in wheat roots: a role in aluminium toxicity? *Plant Cell* 7: 1913-22
- Kato H, Esashi Y (1975) Dormancy and impotency of cocklebur seeds I. CO₂, C₂H₄, O₂ and high temperature. *Plant Cell Physiol* 16: 687-96
- Kpczy ski J (1986) Inhibition of *Amaranthus caudatus* seed germination by polyethylene glycol-6000 and abscisic acid and its reversal by ethephon or 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. *Physiol Plant* 67: 588-91

- Kpczyński J, Karssen CM (1985) Requirement for the action of endogenous ethylene during germination of non-dormant seeds of *Amaranthus caudatus*. *Physiol Plant* 63: 49-52
- Kpczyński J, Kpczyńska E, Bihun M (2003) The involvement of ethylene in the release of primary dormancy in *Amaranthus retroflexus* seeds. *Plant Growth Regul* 39: 47-52
- Kinraide TB, Arnold RC, Baligar VC (1985) A rapid assay for aluminum phytotoxicity at submicromolar concentrations. *Physiol Plant* 65: 245-50
- Kinraide TB, Parker DR (1987) Non-phytotoxicity of the aluminum sulfate ion, $AlSO_4^+$. *Physiol Plant* 71: 207-12
- Kochian LV (1995) Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 46: 237-60
- Leslie CA, Romani RJ (1988) Inhibition of ethylene biosynthesis by salicylic acid. *Plant Physiol* 88: 833-7
- Lovato MB, Martins PS, Lemos-Filho JP (1994) Germination in *Stylosanthes humilis* populations in the presence of NaCl. *Aust J Bot* 42: 717-23
- Machabée S, Saini HS (1991) Differences in the requirement for endogenous ethylene germination of dormant and non-dormant seeds of *Chenopodium album* L. *J Plant Physiol* 138: 97-101
- Marin A, Santos DMM, Banzatto DA, Ferraudo AS (2004) Germinação de sementes de guandu sob efeito da disponibilidade hídrica e de doses subletais de alumínio. *Bragantia* 63: 13-24
- Matilla AJ (2000) Ethylene in seed formation and germination. *Seed Sci Res* 10:111-26
- Morgan PW, Drew MC (1997) Ethylene and plant responses to stress. *Physiol Plant* 100: 620-30
- Mott JJ, McKeon GM (1979) Effect of heat treatment in breaking hardseededness in four species of *Stylosanthes*. *Seed Sci Technol* 7: 15-25
- Oswald WF, Schutz W, Elster EF (1989) Indole-3-acetic acid and p-hydroxyacetophenone driven ethylene formation from 1-amino-cyclopropane-1-carboxylic acid catalyzed by horse-radish peroxidase. *J Plant Physiol* 134: 510-3
- Pelacani CR (2001) *Relações entre o pH do meio de germinação e a produção de etileno*

- em sementes de Stylosanthes humilis HBK.* Viçosa, UFV. 140 p (Tese de Doutorado)
- Pinheiro FJA (2004) *Quebra de dormência de sementes de Stylosanthes humilis HBK por compostos selênicos.* Viçosa, UFV. 86 p (Tese de Doutorado)
- Prusinski J, Khan AA (1990) Relationship of ethylene production to stress alleviation in seeds of lettuce cultivars. *J Amer Soc Hort Sci* 115: 294-8
- Reis MS, Martins PS (1989) Avaliação do grau de dormência das sementes de espécies de *Stylosanthes* Sw. *Rev Ceres* 36: 357-64
- Rengel Z (1992) Role of calcium in aluminium toxicity. *New Phytol* 121: 499-513
- Rengel Z (1996) Uptake of aluminum by plant cells. *New Phytol* 134: 389-406
- Ribeiro DM (2003) *Germinação de sementes dormentes de Stylosanthes humilis HBK promovida pelo acúmulo de etileno em ambiente fechado.* Viçosa, UFV. 73 p (Tese de Mestrado)
- Richards KD, Schott EJ, Sharma YK, Davis KR, Gardner RC (1998) Aluminum induces oxidative stress genes in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol* 116: 409-18
- Roberts EH (1963) The effects of inorganic ions on dormancy in rice seed. *Physiol Plant* 16: 732-44
- Roy AK, Sharma A, Talukder G (1988) Some aspects of aluminium toxicity in plants. *Bot Rev* 54: 145-78
- Saini HS, Bassi PK, Spencer MS (1986) Use of ethylene and nitrate to break seed dormancy of common lambsquarters (*Chenopodium album*). *Weed Sci* 34: 502-6
- Saltveit-Jr ME, Yang SF (1987) Ethylene. In: Rivier L, Crozier A (eds) *Principles and practice of plant hormone analysis*, Vol 2. Academic Press, London. p 367-401
- Scott AJ, Knott M (1974) A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics* 30: 507-12
- Serrato-Valenti G, Cornara L, Ferrando M, Modenesi P (1993) Structural and histochemical features of *Stylosanthes scabra* (Leguminosae; Papilionoideae) seed coat as related to water entry. *Can J Bot* 71: 834-40
- Sherman PJ, Cameron DG, Riveros F (1991) *Leguminosas forrajeras tropicales*. Roma, FAO. 707 p
- Silva IR, Smyth TJ, Moxley DF, Carter TE, Allen NS, Rufty TW (2000) Aluminum accumulation at nuclei of cells in the root tip. Fluorescence detection using lumogallion

- and confocal laser scanning microscopy. *Plant Physiol* 123: 543-52
- Souza-Filho AS, Dutra S (1998) Germination of seed of *Calopogonium mucunoides*. *Past Trop* 20: 26-30
- Szymanska M, Molas J (1996) The effect of aluminium on early development stages of *Cucumis sativus* L. *Fol Hort* 8: 73-83
- Taylor GJ (1991) Current views of the aluminum stress response: the physiological basis of tolerance. *Curt Top Plant Biochem Physiol* 10: 57-93
- Vieira HD, Barros RS (1994) Responses of seed of *Stylosanthes humilis* to germination regulators. *Physiol Plant* 92: 17-20
- Whitehead CS, Nelson RM (1992) Ethylene sensitivity in germinating peanut seeds: the effect of short-chain saturated fatty acids. *J Plant Physiol* 139: 479-83
- Whitehead CS, Sutcliffe MA (1995) Effect of low temperatures and different growth regulators on seed germination in *Cyclopia* spp. *J Plant Physiol* 147: 107-12
- Yu Y-B, Yang SF, Corse J, Kuhnle JA, Hua S-F (1981) Structure of cytokinins influence synergistic production of ethylene. *Phytochemistry* 20: 1191-5

ANEXO

Tabela 1A – Modelo descritivo do efeito de sais de alumínio e férricos, em diferentes pH (s), na germinação de sementes dormentes de estilosante, com idade pós-colheita de 134 dias, em placas de Petri , em função do tempo (Figs 8.1 – 8.5)

Tratamento	Coeficientes da função $Y = a - be^{-kt}$			R ²
	a	b	k	
H ₂ O pH 7,0	23,010	13,033	0,1627	0,989
CEPA pH 7,0	94,496	51,487	0,913	0,997
pH 2,5				
H ₂ O	83,554	2,578	0,109	0,969
Al(NO ₃) ₃	76,248	2,726	0,100	0,989
Al ₂ (SO ₄) ₃	87,899	1,720	0,091	0,949
AlCl ₃	86,730	1,752	0,107	0,952
Fe(NO ₃) ₃	86,244	3,038	0,134	0,993
Fe ₂ (SO ₄) ₃	87,337	2,097	0,135	0,972
FeCl ₃	84,889	2,185	0,129	0,979
pH 3,0				
H ₂ O	49,158	11,292	0,169	0,994
Al(NO ₃) ₃	50,592	58,772	0,276	0,993
Al ₂ (SO ₄) ₃	62,002	2,198	0,125	0,978
AlCl ₃	85,306	1,410	0,103	0,871
pH 4,0				
H ₂ O	42,323	14,742	0,162	0,995
Al(NO ₃) ₃ pH 4,0	48,967	174,517	0,290	0,999
Al ₂ (SO ₄) ₃ pH 4,0	43,925	36,711	0,217	0,999
AlCl ₃ pH 4,0	48,779	2,347	0,085	0,983

Taxa de germinação: $Y' = (abk)/e^{kt} \cdot e^{-kt}$

Tempo de taxa máxima (h): $Y''=0$, $t = \ln b/k$

Tabela 2A – Modelo descritivo do efeito de sais de alumínio e férricos na germinação de sementes dormentes de estilosante, com idade pós-colheita de 8 dias, em frascos Erlenmeyer, em função do tempo (Figs 12.2 e 12.3)

Tratamento	Coeficientes da função $Y = ae^{-be^{-kt}}$			R ²
	a	b	k	
Com Exaustão				
H ₂ O pH 7,0	1,837	4,407	0,040	0,969
H ₂ O pH 2,5	4,000	3,895	0,023	0,954
H ₂ O pH 3,0	2,869	4,001	0,033	0,988
Al(NO ₃) ₃ pH 3,0	1,529	2,000	0,027	0,924
Al ₂ (SO ₄) ₃ pH 3,0	34,212	5,000	0,034	0,974
AlCl ₃ pH 3,0	66,364	39,233	0,116	0,999
Fe(NO ₃) ₃ pH 2,5	3,248	2,000	0,043	0,876
Sem Exaustão				
H ₂ O pH 7,0	1,000	3,968	0,030	0,854
H ₂ O pH 2,5	6,628	4,061	0,047	0,983
H ₂ O pH 3,0	1,215	5,344	0,102	0,983
Al(NO ₃) ₃ pH 3,0	3,021	7,154	0,077	0,990
Al ₂ (SO ₄) ₃ pH 3,0	6,850	4,384	0,042	0,974
AlCl ₃ pH 3,0	25,476	7,400	0,058	0,987
Fe(NO ₃) ₃ pH 2,5	1,820	10,000	0,092	0,971

Taxa de germinação: $Y' = (abk)/ekt \cdot e^{-kt}$

Tempo de taxa máxima (h): $Y''=0, t = \ln b/k$

Tabela 3A – Modelo descritivo da germinação de sementes dormentes e não-dormentes de estilosante, com idade pós-colheita de 100 e 353 dias, respectivamente, em frascos Erlenmeyer, em função do tempo (Fig 12.1)

Tratamento	Coeficientes da função $Y = ae^{-be^{-kt}}$			R ²
	a	b	k	
Com Exaustão				
Semente dormente	8,731	3,114	0,059	0,979
Semente não-dormente	55,925	16,601	0,217	0,998
Sem Exaustão				
Semente dormente	5,845	2,427	0,090	0,810
Semente não-dormente	51,716	32	0,198	0,994

Taxa de germinação: $Y' = (abk)/ekt \cdot e^{-kt}$

Tempo de taxa máxima (h): $Y''=0, t = \ln b/k$

Tabela 4A – Modelo descritivo da produção de etileno por sementes dormentes e não-dormentes de estilosante, com idade pós-colheita de 100 e 353 dias, respectivamente, em função do tempo (Fig 13)

Tratamento	Coeficientes da função $Y = a - be^{-kt}$			R ²
	a	b	k	
Com Exaustão				
Semente dormente	9,647	5,000	0,077	0,972
Semente não-dormente	80,397	5,284	0,078	0,991
Sem Exaustão				
Semente dormente	26,399	5,981	0,024	0,993
Semente não-dormente	62,306	152,112	0,218	0,999

Taxa de produção de etileno: $Y' = (abk)/ekt \cdot e^{-kt}$

Tempo de taxa máxima (h): $Y''=0, t = \ln b/k$

Tabela 5A – Modelo descritivo do efeito de sais de alumínio e férrico sobre a produção de etileno por sementes dormentes de estilosante, com idade pós-colheita de 8 dias, em função do tempo (Figs 14.1 e 14.2)

Tratamento	Coeficientes da função $Y = a - be^{-kt}$			R ²
	a	b	k	
Com Exaustão				
H ₂ O pH 7,0	16,279	289,899	0,118	0,998
H ₂ O pH 2,5	6,955	6,689	0,062	0,978
H ₂ O pH 3,0	16,922	4,830	0,023	0,994
Al(NO ₃) ₃ pH 3,0	20,331	7,351	0,021	0,997
Al ₂ (SO ₄) ₃ pH 3,0	89,177	22,748	0,053	0,999
AlCl ₃ pH 3,0	88,587	26,762	0,079	0,999
Fe(NO ₃) ₃ pH 2,5	10,000	19,943	0,032	0,905
Sem Exaustão				
H ₂ O pH 7,0	10,633	5,764	0,090	0,958
H ₂ O pH 2,5	18,235	4,006	0,029	0,980
H ₂ O pH 3,0	47,773	4,672	0,117	0,978
Al(NO ₃) ₃ pH 3,0	5,619	19,141	0,095	0,985
Al ₂ (SO ₄) ₃ pH 3,0	21,549	6,398	0,044	0,989
AlCl ₃ pH 3,0	24,374	20,981	0,092	0,957
Fe(NO ₃) ₃ pH 2,5	7,288	4,989	0,060	0,982

Taxa de produção de etileno: $Y' = (abk)/ekt \cdot e^{-kt}$

Tempo de taxa máxima (h): $Y''=0, t = \ln b/k$