

ANDRÉ GEORGES ZAYAT

**TERMOBIOLOGIA DA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Sesbania virgata*
(FABACEAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. Dr. AMAURI ALVES DE ALVARENGA

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
1996**

Ficha Catalográfica preparada pela Seção de Classificação e Catalogação
da Biblioteca Central da UFLA

Zayat, André Georges

Termobiologia da germinação de sementes de *Sesbania virgata*
(Fabaceae) / André Georges Zayat. -- Lavras : UFLA, 1996.
68 p.: il.

Orientador: Amauri Alves de Alvarenga.

Dissertação (Mestrado) - UFLA.

Bibliografia

1. *Sesbania virgata* - Semente - Germinação. 2. Fisiologia Vegetal.
3. Temperatura. 4. Parâmetro genético. 5. Fotoblastismo. 6.
Proteína. 7. Fotossensibilidade. 8. Cambaí. I. Universidade Federal
de Lavras. II. Título.

CDD - 583.322046

ANDRÉ GEORGES ZAYAT

**TERMOBIOLOGIA DA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Sesbania virgata*
(FABACEAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de "Mestre".

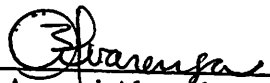
APROVADA em 04 de setembro de 1996



Prof. Dr. Marli A. Ranal



Prof. Ms. Fabian Borghetti



Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga
(Orientador)

“A semente é o começo e o fim; é a herdeira das coisas essenciais; simboliza multiplicação e dispersão, continuação e inovação, sobrevivência, renovação e nascimento”.

W. Heydecker

Ao mestre Labouriau,
em memória...

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a meus pais, pela oportunidade de estar vivendo neste maravilhoso mundo e por terem me dado condições de chegar até aqui.

Em especial aos amigos Josirley, Marcel, Marlos, Poliana e Vespasiano, que com amizade, carinho, união, perseverança, responsabilidade e superação, demonstram ser uma verdadeira família, contribuindo muito à minha formação pessoal e acadêmica.

Ao meu orientador, Amauri Alvarenga, pela amizade e orientação do trabalho.

Agradeço, em memória, ao professor Luiz Fernando Gouvêa Labouriau, pela amizade, carinho, receptividade, idealização e coorientação do trabalho.

Aos amigos e coorientadores Marli Ranal e Fabian Borghetti, pela amizade, incentivo, sugestões e acompanhamento do trabalho.

Aos professores da Universidade Federal de Lavras, especialmente aos do curso de Fisiologia Vegetal, pela contribuição em minha formação acadêmica.

A Telma Monteiro, pela alegria, companhia, solidariedade, paciência e apoio constantes durante a realização deste trabalho.

Aos amigos Celine, Consuelo, Daniel, Dartagnan, Eduardo, Eustáquio, Evaristo, Fábio, Flávia, Irondina, Izonel, Joel, Leonardo, Luciana, Lucivane, Lindomar, Nazaré, Odorêncio, Patrícia e Maguinho pelo carinho, convivência e auxílio dispensados durante os vários momentos desta etapa de vida.

Ao professor Reinaldo Monteiro, pela identificação do material de estudo.

Ao professor Pedro Zanotta e Consuelo M. R. de Lima pela elaboração do programa de análise de comparações binárias.

A Universidade Federal de Lavras e a Universidade de Brasília, em especial aos laboratórios de Ecofisiologia, Nutrição e Metabolismo de Plantas, Termobiologia e Bioquímica, pela receptividade e acolhida.

Ao CNPq pela bolsa de estudo.

A Fundação Apolodoro Plausônio e à Companhia Energética de Minas Gerais (CEMIG) pelo apoio e financiamento deste projeto, o qual se encontra inserido no programa de “Estudos Integrados da Vegetação Ciliar do Alto Rio Grande”, ora em fase de desenvolvimento em parceria com a Universidade Federal de Lavras (UFLA) e a Fundação de Apoio e Amparo a Pesquisa (FAEPE).

A todos, que por um lapso de consciência, foram nominalmente aqui esquecidos.

Obrigado.

BIOGRAFIA

André Georges Zayat, filho de Georges Youssef Zayat e Dolarice Teixeira Zayat, nasceu em Brasília, Distrito Federal, em 21 de maio de 1972. Em agosto de 1989, iniciou o curso de Licenciatura e Bacharelado em Ciências Biológicas na Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, concluindo-os em dezembro de 1993. Durante o XLV Congresso Nacional de Botânica, em janeiro de 1994, foi agraciado com o Prêmio Verde pela Sociedade Botânica do Brasil e ingressou no curso de mestrado em Agronomia, área de concentração Fisiologia Vegetal, pela Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, em março de 1994, concluindo-o em setembro de 1996.

SUMÁRIO

	página
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	x
RESUMO	xi
ABSTRACT	xiii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	5
3 MATERIAIS E MÉTODOS	13
3.1 Aleatoriedade e homogeneidade das sementes	13
3.2 Determinação do conteúdo de água das sementes	14
3.3 Experimentos de germinação	14
3.3.1 Efeito da luz na germinação das sementes	14
3.3.2 Germinação de sementes em temperaturas isotérmicas	15
3.3.3 Parâmetros analisados nos experimentos de germinação	16
3.3.3.1 Germinabilidade	16
3.3.3.2 Tempo médio de germinação e velocidade de germinação	16
3.3.3.3 Pontos cardeais da germinação (T_0 ; T_m e T_M)	17
3.4 Entalpia de ativação	17
3.5 Viabilidade de sementes em diferentes temperaturas isotérmicas	18
3.6 Padrões protéicos das sementes	18
4 RESULTADOS	24

4.1 Aleatoriedade, homogeneidade e conteúdo de água das sementes	24
4.2 Experimentos de germinação	24
4.2.1 Efeito da luz na germinação das sementes	24
4.2.2 Germinação de sementes em temperaturas isotérmicas	25
4.3 Entalpia de ativação	26
4.4 Viabilidade de sementes em diferentes temperaturas isotérmicas	26
4.5 Padrões protéicos de sementes mantidas em temperaturas supra e infra-ótimas	27
5 DISCUSSÃO	51
5.1 Aleatoriedade, homogeneidade e conteúdo de água das sementes	51
5.2 Efeito da luz na germinação de sementes	52
5.3 Germinação de sementes em temperaturas isotérmicas	54
5.4 Entalpia de ativação	56
5.5 Padrões protéicos de sementes mantidas em temperaturas supra e infra-ótimas	58
6 CONCLUSÕES	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Aspecto geral de <i>Sesbania virgata</i> , reproduzida naturalmente as margens da represa de Camargos, Itutinga (MG)	3
2	Aspecto do fruto e semente de <i>Sesbania virgata</i>	4
3	Sementes de <i>Sesbania virgata</i> escarificadas mecanicamente, na extremidade oposta ao eixo embrionário	20
4	Vista geral do bloco termogradiente para estudos de germinação	21
5	Teletermômetro e seletores de estação do bloco termogradiente	22
6	Vista interna do bloco termogradiente contendo os tubos de incubação e termopares	23
7	Frequência de distribuição dos valores de peso de matéria fresca de sementes de <i>Sesbania virgata</i>	28
8	Germinabilidade de sementes de <i>Sesbania virgata</i> germinadas a 30,5°C sob luz contínua e no escuro	29
9	Padrão protéico de sementes germinadas sob luz contínua e no escuro	30
10	Faixa ótima de germinabilidade de sementes de <i>Sesbania virgata</i>	31
11	Germinabilidade e velocidade de germinação de sementes de <i>Sesbania virgata</i> , mantidas em diferentes tratamentos isotérmicos	32
12	Dados parciais das comparações binárias múltiplas entre as velocidades médias de germinação isotérmicas das sementes de <i>Sesbania virgata</i> , pelo teste bimarginal de Mann-Whitney	33
13	Velocidade média de germinação de <i>Sesbania virgata</i>	34

14	Gráfico de Arrhenius não-linear, da velocidade de germinação de sementes de <i>Sesbania virgata</i>	35
15	Padrão protéico de sementes de <i>Sesbania virgata</i> submetidas a tratamentos de temperaturas infra-ótimas	36
16	Padrão protéico de sementes de <i>Sesbania virgata</i> submetidas a tratamentos de temperaturas supra-ótimas	37

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Caracterização de uma amostra de 200 sementes de <i>Sesbania virgata</i> retiradas do lote ao acaso	38
2	Conteúdo de água de sementes de <i>Sesbania virgata</i>	39
3	Efeito da luz na germinação de sementes de <i>Sesbania virgata</i> mantidas a 30,5°C	40
4	Análise estatística das variâncias de germinabilidade e velocidade de germinação, entre os diferentes tratamentos de temperatura isotérmicas	41
5	Germinabilidade, velocidade e tempo médio de germinação de sementes de <i>Sesbania virgata</i> em diferentes temperaturas isotérmicas	42
6	Limites extremos de temperatura na germinação de sementes de <i>Sesbania virgata</i>	47
7	Teste de homogeneidade de variâncias das velocidades de germinação de sementes de <i>Sesbania virgata</i> , mantidas em temperaturas isotérmicas	48
8	Viabilidade média de sementes de <i>Sesbania virgata</i> mantidas em diferentes temperaturas isotérmicas	50

RESUMO

ZAYAT, André Georges. **Termobiologia da germinação de sementes de *Sesbania virgata* (Fabaceae)**. Lavras: UFLA, 1996. 68p. (Dissertação - Mestrado em Fisiologia Vegetal).¹

Algumas espécies de *Sesbania*, particularmente, *S. virgata* (Caz.) Pers., são de grande interesse em programas de revegetação de áreas degradadas sujeitas a inundações periódicas, devido a sua tolerância às condições de baixa oxigenação e deficiências minerais do solo. Algumas informações existentes a respeito das características das sementes de *Sesbania sp.*, (Fabaceae) referem-se a análises químicas e outras poucas referem-se aos efeitos de processos físicos e químicos na estrutura do tegumento. Embora a propagação dessa espécie por meio de sementes já seja praticada, informações básicas do processo de germinação não são conhecidas. No presente trabalho foram analisados os parâmetros, conteúdo de água e fotoblastismo, além da germinabilidade, velocidade e tempo médio de germinação, viabilidade, entalpia de ativação e padrão protéico das sementes mantidas em 80 diferentes temperaturas isotérmicas, com amplitude de 5,2 a 43,2°C, em um bloco de gradiente térmico. As sementes dessa espécie caracterizam-se como ortodoxas e indiferentes à luz. Apresentam uma faixa ótima de germinabilidade entre 8,9 e 36,5°C e faixa ótima de germinação entre 31,0 e 34,6°C, enquanto que os limites extremos de germinação situam-se entre 7,0 - 7,4°C e 39,8 - 40,3°C para as temperaturas infra e supra-ótimas, respectivamente. As sementes dessa espécie apresentam alta assincronia de germinação em temperaturas infra-ótimas, sendo capazes de manter-se viáveis por períodos de até 578 horas nestas condições. Por outro lado, sementes mantidas em temperaturas supra-ótimas extremas, germinam rápido e uniformemente, podendo permanecer viáveis ($\approx 95\%$) por um período médio de 72 horas. Observa-se que nas temperaturas extremas, abaixo de 11,0°C e acima de 35,1°C, a limitação do processo de germinação, sugerida pelos valores de entalpia de ativação, ocorre devido a transconformações e desnaturações protéicas. Entretanto, verifica-se que em algumas temperaturas infra-ótimas e nas supra-ótimas, não ocorre a degradação e síntese de proteínas, semelhante ao observado no padrão protéico de sementes germinadas em temperatura próxima à faixa térmica ótima de germinação. Verifica-se também, nos padrões protéicos de sementes

¹ Orientador: Prof. Dr. Amauri Alves Alvarenga. Membros da Banca: Prof. Dr.^a Marli A. Ranal e Prof. Ms. Fabian Borghetti.

mantidas em temperaturas supra-ótimas, a presença de proteínas de baixo peso molecular, possivelmente relacionadas à termotolerância.

ABSTRACT

TERMOBIOLOGY OF *SESBANIA VIRGATA* (FABACEAE) SEED GERMINATION.

Some *Sesbania* species, particularly *S. virgata* (Caz.) Pers. are useful in revegetation programs of flooded areas, due to its high tolerance to anoxia and soil mineral deficiencies. Most information of *Sesbania* seeds are on their chemical properties or the effects of physical and chemical treatments on their seed coat. Although the propagation of this specie using seeds is common, there is no physiological information regarding the germination process. The treatments were induced in 80 different isothermical temperatures in a thermogradient block for germination experiments. Parameters such as seed water content and photoblastism, its germinability, germination time and rate, viability, activation enthalpy and protein profile were analised The seeds are characterized as orthodoxes and light insensitive. They present high germinability from 8,9 to 36,6°C, optimum germination rate from 31,0 to 34,6°C, and their low and high temperature limits for germination are 7,0 to 7,4°C and 39,8 to 40,3°C, respectively. Although the seeds can stay viable for more than 578 hours at low temperature, their germination assincrony increases as the temperature decrease. On the other hand, seeds mantained at high temperatures for periods no more than 72 hours, germinate quickly and with high sincronization. It can be seen that in temperatures lower than 11,0°C and higher than 35,1°C, the germination process limitation, suggested by the ativation enthalpy energy parameter, is due to thermodesnaturation or transconformation of proteins. On the other side, at some low and some high temperatures we can see that there is no synthesis or degradation of some proteins, that are present in the protein control profile. Also, at high temperatures, two proteins of low molecular weight are synthesised, and are probably related to their termotolerance.

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Sesbania*, pertencente a família Fabaceae, compreende aproximadamente 70 espécies comumente encontradas em cursos de água ou locais alagados (Allen e Allen, 1981).

Os arbustos ou ervas pertencentes a este gênero apresentam uma diversidade de utilização, sendo alguns deles de interesse econômico (D'Orey e Liberato, 1971). Muitas espécies estão relacionadas com o melhoramento da qualidade do solo, por meio da prevenção de erosões e aumento da quantidade de nitrogênio disponível (processo de nodulação). Outras espécies podem ser utilizadas na formação de cercas vivas, barreiras contra o vento e em alguns casos como fornecedoras de fibras de boa qualidade para produção de cordas e linhas de anzol (Allen e Allen, 1981). As flores de algumas espécies, tal como *Sesbania glandiflora*, além do aspecto paisagístico, são utilizadas como alimento na forma de salada, enquanto que as sementes de *Sesbania sesban* apresentam propriedades medicinais. Por outro lado, a ingestão de folhas e sementes de várias outras espécies de *Sesbania* causam o envenenamento de animais (Allen e Allen, 1981).

Sesbania virgata (Caz.) Pers. (Figura 1 e 2), conhecida popularmente como cambaí (Eisinger, 1989), sarazinho, mãe-josé e feijãozinho (Pott e Pott, 1994), caracteriza-se por ser um arbusto de aproximadamente dois metros de altura, possuindo folhas alternas paripenadas, fruto marginado e flores amarelas. Apresenta floração mais intensa nos meses de janeiro, abril, setembro e outubro e frutificação nos meses de janeiro, outubro e novembro (Eisinger, 1989). Pode ser encontrada em campos alagáveis, solos arenosos ou argilosos, distribuindo-se pelas regiões Sul, Sudeste e Centro-oeste do Brasil, Paraguai, Argentina e Uruguai (Pott e Pott, 1994).

Apesar de seu grande potencial para revegetação de áreas degradadas sujeitas a inundações periódicas, devido a sua alta tolerância às condições de baixa oxigenação e deficiências minerais do solo, poucas informações existem a seu respeito, principalmente no que se refere à germinação de suas sementes. Algumas das poucas informações existentes a respeito das características das

sementes de *Sesbania spp.*, referem-se a análises químicas (Harborne, Bolter e Turner, 1971) e outras aos efeitos de processos físicos e químicos na estrutura do tegumento (Graaff e Standen, 1983; Takashi, Alvarenga e Oliveira, 1991).

Apesar da propagação de *S. virgata* por sementes ser realizada com bastante sucesso, poucas são as informações a respeito dos processos que envolvem a fisiologia de sua germinação. Ressalta-se, portanto, a necessidade do estudo da influência de fatores físicos na germinação destas sementes, particularmente, o efeito da temperatura, o qual está relacionado com seus processos fisiológicos e bioquímicos, além da distribuição temporal e espacial da germinação da espécie.

O presente trabalho teve como objetivos: 1) verificar a influência da temperatura na germinação de sementes de *Sesbania virgata*, bem como a ocorrência de lesões térmicas durante este processo; 2) estimar a germinabilidade e determinar as médias e variâncias das velocidades de germinação em diferentes testes isotérmicos e 3) relacionar os padrões protéicos das sementes germinadas em diferentes temperaturas isotérmicas com possíveis mecanismos de regulação do processo de germinação das sementes da espécie.



Figura 1. Aspecto geral de *Sesbania virgata*, reproduzida naturalmente às margens da represa de Camargos.



Figura 2. Aspecto do fruto e semente de *Sesbania virgata*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A energia térmica é um dos mais importantes fatores ambientais que afetam a atividade dos organismos vivos (Rose, 1967). Ao contrário dos animais homeotérmicos, as plantas superiores são incapazes de manter suas células e tecidos a uma temperatura ótima constante, sendo portanto afetadas profundamente por mudanças de temperatura do meio ambiente (Fitter e Hay, 1989).

Vários autores, trabalhando com diferentes espécies, em diferentes estádios de desenvolvimento, encontraram evidências que sugerem possíveis mecanismos fisiológicos e bioquímicos que determinam a tolerância e a resistência das diferentes espécies a altas e baixas temperaturas.

A faixa ótima de temperatura para uma determinada espécie varia com o estágio de desenvolvimento da planta, impondo limites térmicos para os processos físico-químicos envolvidos em seu metabolismo (Fitter e Hay, 1989; Johnson, Eyring e Polissar, 1963). Isso significa que a temperatura é um dos importantes fatores para determinação da distribuição geográfica e temporal das espécies nos diferentes ecossistemas (Fitter e Hay, 1989).

Tanto a distribuição geográfica, quanto a distribuição temporal das diferentes espécies são condicionadas por características genéticas adaptativas. Segundo Alexandrov (1969), no processo de especiação, existe uma correspondência entre a condição de temperatura média para a vida ativa de uma espécie e a termoresistência de suas proteínas. O autor sugere que, mutantes com maior flexibilidade conformacional de suas proteínas, apresentam resistência a baixas temperaturas. Neste caso, organismos submetidos a quedas de temperatura ambiental, sofrem mutações, com alterações em resíduos de aminoácidos de suas proteínas, acarretando aumento na flexibilidade de suas proteínas e consequente resistência. Por outro lado, ocorre o enfraquecimento das forças responsáveis pela manutenção de estruturas secundárias, terciárias e quaternárias, relacionadas com a resistência das proteínas à ação desnaturante de altas temperaturas.

Com relação ao processo de adaptação filogenético dos organismos a temperaturas elevadas, a seleção de mutantes ocorre no sentido de favorecer o aumento da rigidez conformacional das proteínas, propiciando aumento simultâneo de sua termoresistência (Alexandrov, 1969). Possivelmente a flexibilidade conformacional das proteínas é a principal razão da diferença de tolerância dos organismos a diferentes temperaturas, uma vez que a termoestabilidade de muitas proteínas é bastante elevada (Alexandrov, 1969).

Para Evans e Bowler (1973), a estabilidade dos complexos lipoprotéicos, ao invés das proteínas em si, parece ser o fator mais importante na determinação da morte celular, causada por temperaturas extremas. Lyons (1972) sugere que uma resposta imediata de plantas sensíveis a queda de temperatura, é a transição de fase do estado líquido para o estado gélido da porção lipídica das membranas celulares, levando a perdas de atividade enzimática e metabólica. Geralmente espécies sensíveis a baixas temperaturas apresentam maior quantidade de ácidos graxos saturados nas membranas, possibilitando menor flexibilidade dessa estrutura, quando comparadas às de espécies tolerantes (Roch, 1979).

Embora a composição de ácidos graxos interfira na manutenção da integridade de membrana, Thompson Jr. (1989) observou que fosfatidilcolina que, em geral está presente em pequenas quantidades nas células, também passa da forma líquida à fase de gel termotrófico mais rígida, na temperatura de transição de fase. Entretanto, isso não foi observado em outras espécies de moléculas de fosfatidilcolina ou outra classe de lipídeos que apresenta temperatura de transição de fase similar. Para o autor, devido aos lipídeos que apresentam propriedades físicas semelhantes tenderem a ser miscíveis e responderem cooperativamente às mudanças ambientais, o efeito de baixas temperaturas em uma mistura, geralmente leva a uma queda na fluidez da membrana, sem a ocorrência de mudança de fase.

Para Hirata e Axelrod, citados por Lepock (1987), a fluidez dos lipídios de membrana seria um efeito indireto, que afeta e possivelmente regula um grande número de enzimas e receptores ligados a membrana. Borochoy e Shinitzky (1976), citados por Lepock (1987), sugeriram a hipótese de que a fluidez dos lipídeos, da mesma forma que a transição de fase lipídica, pode alterar ou desconfigurar a disposição lateral ou vertical das proteínas de membrana. Essa hipótese parece ser provável, visto que somente a composição lipídica das membranas e sua fluidez não seriam capazes de gerar os altos valores de energia de ativação encontrados nestes locais. Por outro lado, a desestruturação de uma proteína pode promover a elevação dos valores de energia

de ativação, possibilitando o aparecimento de valores gigantescos desta energia (E_a), próximos à temperatura máxima de alguns processos fisiológicos, tal como o processo de germinação de sementes (Lepock, 1987).

Embora a hipótese de Borochoy e Shinitzky (1976), citados por Lepock (1987), possa ser extrapolada para diferentes processos que ocorrem na maioria dos seres vivos, existem exceções. Algumas bactérias alteram a composição de suas membranas em resposta às temperaturas de indução de crescimento, para manter uma “fluidez constante” de suas membranas em qualquer uma das temperaturas fornecidas, não alterando, portanto, a configuração original de suas proteínas (Ljungdahl, 1987).

Outro aspecto negativo com relação às alterações das características de membrana, é que as baixas temperaturas podem causar lesões indiretas, tais como a perda de solutos devido ao aumento da permeabilidade da membrana e redução da absorção de oxigênio e de íons (Levitt, 1980).

Com relação aos efeitos diretos da temperatura no metabolismo, observa-se que baixas temperaturas inibem a respiração aeróbica, acarretando redução na produção de ATP e da síntese protéica (Levitt, 1980). Segundo o autor, após a exposição dos tecidos vegetais por um período mais prolongado a essas temperaturas, a respiração anaeróbica é estimulada, propiciando o acúmulo de produtos tóxicos oriundos dos processos fermentativos. Por outro lado, existem poucas evidências que associam o acúmulo de produtos secundários tóxicos e altas temperaturas. Nesta condição, a produção e acúmulo de compostos intermediários necessários para o crescimento, tais como vitaminas e cofatores, parecem ser inibidos (Levitt, 1980).

Outro aspecto metabólico importante referente ao processo de respiração em plantas mantidas em temperaturas extremas, foi apresentado por Moynihan, Ordentlich e Raskin (1995), os quais propuseram que a via respiratória alternativa resistente ao cianeto seria responsável pelo aumento da temperatura das plantas submetidas a baixas temperaturas prevenindo ou adiando seus efeitos deletérios. Segundo os autores, devido a cadeia de transporte de elétrons não apresentar sítios de conservação de energia entre a ubiquinona e o oxigênio, quase toda a energia química produzida é dissipada na forma de calor. Isso tem um efeito positivo nas mitocôndrias, uma vez que ajuda na manutenção da integridade de sua membrana (Moynihan, Ordentlich e Raskin, 1995). Outra função benéfica, é a prevenção da ação de agentes oxidantes, ao oxidar ubsemiquinonas (Purvis e Shewfelt, 1993; citados por Moynihan, Ordentlich e Raskin, 1995).

Além da abordagem fisiológica, bioquímica e de química de proteínas, pode-se explicar físico-quimicamente os efeitos de temperaturas em plantas superiores, de duas maneiras antagônicas mútuas. Primeiramente, com o aumento da temperatura celular, a velocidade de movimento de uma molécula em reação também aumenta, levando a uma maior colisão intermolecular e a maiores velocidades de reação. Como consequência, o aumento das colisões moleculares tende a causar danos nas estruturas terciárias das proteínas, acarretando menor atividade enzimática e menor velocidade das reações. Por outro lado, em temperaturas sub-ótimas, a inativação enzimática causada pela temperatura é baixa e a resposta ao aumento de temperatura é positiva. Entretanto, abaixo da temperatura ótima, a desnaturação térmica das enzimas ou das membranas às quais estão associadas, levam a uma rápida diminuição da velocidade de reação. Na faixa ótima, as mudanças de temperatura apresentam pouco efeito, devido aos dois efeitos antagônicos estarem em equilíbrio (Fitter e Hay, 1989).

Apesar da abordagem sobre os efeitos de temperaturas extremas, descrita previamente, poder ser aplicada à maioria dos processos fisiológicos de plantas superiores, a germinação de sementes apresenta algumas particularidades.

Inúmeras observações de respostas de germinação têm estabelecido que o controle desse processo é exercido por meio de fatores físicos do ambiente, tais como luz e temperatura (Thompson, 1973). De modo geral a temperatura atua na regulação da germinação de três maneiras distintas: 1) determinando a capacidade e a velocidade de germinação, 2) removendo a dormência primária e secundária, e 3) induzindo a dormência secundária (Bewley e Black, 1994).

Diferentes espécies apresentam diferentes faixas de temperatura nas quais suas sementes germinam, sendo que em temperaturas extremas, a germinação da maioria das sementes é inibida (Mayer e Poljakoff-Mayber, 1989). Segundo esses autores, a faixa de temperatura na qual as diferentes sementes germinam está relacionada com as características de seu material de reserva, identidade genética e idade. Além dessas características, as sementes são mais sensíveis às condições térmicas quando seus tegumentos possuem substâncias que, como os compostos fenólicos de sementes de maçã, são capazes de fixar o oxigênio dissolvido, na sua trajetória até o embrião (Côme e Tissaoui, 1973). Esses autores verificaram que embriões de maçã não dormentes germinam em temperaturas mais baixas (4 a 20°C) com menor requerimento de oxigênio. Segundo eles, quando a temperatura aumenta, o oxigênio se torna menos solúvel em água, oxidando os compostos fenólicos da testa e tornando-se menos disponível para o embrião.

Como resposta aos efeitos de baixas temperaturas, as sementes de algumas espécies são capazes de germinar em temperaturas próximas ao congelamento ou mesmo no gelo. Outras não germinam quando mantidas em temperaturas inferiores a 10°C, embora venham a germinar se transferidas subsequentemente para uma temperatura mais alta. Um terceiro tipo de resposta observada em sementes, são as injúrias causadas pelo frio (Simon, 1979).

Com relação a este último tipo de resposta, observa-se que somente sementes secas que embebem água gelada apresentam lesões, enquanto que as embebidas inicialmente em água morna ou ar úmido a 25-31°C previnem tais lesões (Simon, 1979; Simon, 1984). Segundo Simon (1984), essas lesões térmicas são mais marcantes nos primeiros estádios de embebição e estariam relacionadas com a demora na restituição da integridade da membrana lipoprotéica durante o processo de embebição. A entrada de água em sementes secas seria lenta, forçando a membrana fosfolipídica a uma configuração hexagonal, até o conteúdo de água atingir pelo menos 20% do total, quando ocorreria a reestruturação de seu arranjo lamelar. Nos primeiros momentos de embebição, o conteúdo celular estaria sendo hidratado, mas a membrana não estaria completamente organizada como uma barreira semi-permeável, permitindo a extrusão de solutos (Simon, 1979).

Por outro lado, de maneira benéfica, tratamentos de estratificação promovem a quebra de dormência em sementes de algumas espécies de regiões temperadas, simulando as baixas temperaturas do inverno (Fitter e Hay, 1989). Durante esse processo podem ocorrer decréscimos na totalidade da taxa metabólica (diferenças nas energias de ativação de algumas reações químicas), desnaturações diferenciadas das enzimas devido ao enfraquecimento de ligações hidrofóbicas e mudanças estruturais das membranas, alterando atividades enzimáticas que corroboram para o processo de germinação (Bewley e Black, 1994).

Bradbeer e Coleman (1967), citados por Maguire (1973), estudando as mudanças metabólicas em sementes de *Corylus avellana* L., verificaram que a capacidade de síntese de nucleotídeos foi aumentada por meio da submissão das sementes a baixas temperaturas, a qual propiciou ativação do ciclo dos ácidos tricarbóxicos (Maguire, 1973).

Com relação aos efeitos de altas temperaturas na germinação de sementes Maguire (1973) verificou que proteínas e membranas são adversamente afetadas. Altas temperaturas são capazes de induzir a reprogramação das atividades de transcrição e tradução celular, acarretando no desenvolvimento da termotolerância, devido ao acúmulo intracelular de pequenas famílias de

polipeptídeos denominadas proteínas de choque térmico (Schlesinger et al, citados por Landry et al. 1987).

Muitas das informações geradas nas diferentes áreas do conhecimento, utilizando-se diferentes processos fisiológicos, tiveram como ferramentas essenciais a aplicação de bases teóricas da físico-química. Dentre elas destacam-se o uso do Coeficiente Q_{10} ; a teoria de Eyring; a teoria das Reações Mestras e a teoria da Variação de Entalpia de Ativação, sendo esta última bastante aplicada ao processo de germinação de sementes.

Quantitativamente, uma das maneiras de se descrever os efeitos da temperatura nos organismos vivos, é por meio do coeficiente de temperatura Q_{10} , que representa a taxa de velocidade de um processo metabólico (crescimento; reação enzimática) a uma determinada temperatura, em relação a uma velocidade em temperatura diferente de 10°C . O índice Q_{10} pode ser descrito pela equação $Q_{10} = K_{t+10} / K_t$, onde K é a velocidade constante e t a temperatura (Rose, 1967). Segundo Belehradek (1957), o índice Q_{10} é o parâmetro mais utilizado por ser o mais fácil de se calcular, embora reconhecidamente apresente alguns inconvenientes, o que permite conhecer os limites de sua interpretação. Recentemente, esse índice ainda é comumente utilizado e indicado em revisões, assumindo-se que valores de Q_{10} iguais a 2 indicam que os processos ocorridos na planta estão sob controle metabólico, enquanto que valores abaixo de 2 indicam que a velocidade do processo em estudo é limitada puramente por processos físicos, tais como a difusão ou reações fotoquímicas (Bairry e Raison, citados por Fitter e Hay, 1989).

Entretanto, o coeficiente Q_{10} nada supõe sobre mecanismos dos processos, limitando-se a descrever numericamente o que se passa com a velocidade, quando a temperatura varia (James; Forward, citados por Labouriau, 1983a). Alguns preceitos básicos que regem o uso do Q_{10} são puramente teóricos, refutáveis quando da obtenção de resultados práticos de vários processos fisiológicos (Revisão detalhada em Labouriau, 1983a).

Outra teoria também bastante empregada por muito tempo, a teoria de Eyring,, é o resultado do estudo de mecanismos moleculares, que provam a base para considerações cinéticas que prevalecem na teoria das alterações químicas (Belehradek, 1957). Seu ponto central é o conceito do “complexo ativado”, uma molécula intermediária instável, rapidamente formada pelos reagentes e posteriormente decomposta novamente, com um tempo de vida aproximado de 10^{-13} segundos. A equação utilizada para esse propósito é a fórmula linear de Arrhenius modificada, com 11 constantes diferentes, expressando valores de entalpia e entropia da reação, alterações de

volume, ação da pressão, efeito de configuração molecular, difusão, solubilidade e viscosidade das moléculas, dentre outros. A teoria postula que a energia de ativação (μ ou E_a) deve variar com a temperatura, desde que as alterações de E_a com a temperatura sejam graduais, não produzindo “quebras” (Belehradek, 1957). Segundo Labouriau (1983a), essa teoria postula que o processo não se realiza se as moléculas não atingirem ou ultrapassarem um limiar de energia E_a . As trocas de energia dentro do sistema devem se realizar exclusivamente por colisões moleculares perfeitamente elásticas, considerando-se nesse caso, somente os movimentos de translação das moléculas. Desta forma, não deve existir entre as moléculas outro tipo de interação além das trocas de energia cinética nos choques.

A terceira teoria apresentada, teoria das “Reações Mestras”, foi desenvolvida como resultado do uso da fórmula de Arrhenius em fisiologia e devido as observações de que existe mais de um valor para energia de ativação, para um determinado processo fisiológico, na faixa de temperatura em estudo (Belehradek, 1957). A teoria assume que um mesmo processo pode ser considerado, segundo sucessões unidimensionais de processos parciais, que agem como controladores em certas faixas de temperatura e que para uma real “quebra” ser produzida na curva de Arrhenius, as velocidades dos processos limitantes nas vizinhanças das temperatura de interesse, devem possuir valores de E_a diferindo uns dos outros em aproximadamente 16 Kcal, o que geralmente não ocorre (Belehradek, 1957). Considera-se também que a velocidade do processo global é limitada pelo processo parcial mais lento (reação mestra) e que em certos sistemas fisiológicos existem temperaturas “críticas” nas quais a reação mestra deixa de ser um determinado processo parcial e passa a ser outro, com valores de E_a diferentes, causando uma quebra no gráfico linear de Arrhenius (Labouriau, 1983a).

A partir de 1972, iniciou-se a aplicação de uma nova teoria, denominada “Teoria da Variação de Entalpia de Ativação”, aplicada aos processos termobiológicos. Este instrumento é basicamente a teoria das velocidades absolutas de reação (Teoria de Eyring), partindo, entretanto, de três postulados básicos: a) o sistema possui vários graus de liberdade, entre os quais se reparte a energia; b) o sistema se mantém em equilíbrio com o estado precedente e o seguinte do processo, e c) o processo não ocorre se o sistema não ultrapassa uma barreira de energia potencial, ΔG^\ddagger (energia livre de Gibbs), característica do processo, que conduz a um estado ativado transitório (Labouriau, 1972; Labouriau, 1978; Labouriau, 1983a).

Ao contrário da teoria de Eyring, essa teoria pressupõe que a variação de entalpia e entropia de um sistema são dependentes da temperatura, admitindo-se que a velocidade de um processo fisiológico não se encontra em um estado estacionário, mas trata-se de uma função diferenciável da temperatura, que está definida num intervalo T_m (temperatura mínima) $\leq T \leq T_M$ (temperatura máxima), atingindo um máximo num valor intermediário (dito faixa ótima de temperatura) e que a velocidade se aproxima de zero próximo aos pontos extremos T_m e T_M (Labouriau, 1972; Labouriau, 1978; Labouriau, 1983a).

Segundo essa teoria a variação de entalpia (ΔH^\ddagger) é negativa para temperaturas ótimas e supra-ótimas; tanto ΔH^\ddagger , quanto ΔS^\ddagger (variação de entropia) assumem valores negativos, de módulo arbitrariamente grande, para temperaturas próximas a T_M e ΔH^\ddagger assume valores positivos arbitrariamente grandes, para temperaturas próximas de T_m (Labouriau, 1972; Labouriau, 1978; Labouriau, 1983a).

As novas premissas têm a vantagem de que os resultados são aplicáveis tanto às velocidades específicas, quanto às velocidades globais, além de serem compatíveis com a teoria clássica de Eyring, permitindo a sua aplicação a um maior número de efeitos fisiológicos (Labouriau, 1978).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Termobiologia da Universidade de Brasília, no período de outubro de 1995 a maio de 1996.

A espécie em estudo foi gentilmente identificada pelo Dr. Reinaldo Monteiro, do Departamento de Botânica da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) - Campus de Rio Claro, como *Sesbania virgata* (Caz.) Pers.

As sementes utilizadas nos experimentos foram coletadas de diferentes indivíduos de uma população existente na Represa de Camargos, município de Itutinga (MG), localizada a 21°21'50"S, 43°37'00" W, a 917 metros de altitude e clima do tipo Cwb (mesotérmico, com inverno seco), segundo o sistema de classificação de Köppen (Vilela et al, 1995). As coletas foram realizadas em maio de 1993, sendo as sementes armazenadas em recipientes plásticos, em geladeira ($\pm 5^{\circ}\text{C}$), até o momento de sua utilização.

Em todos os experimentos realizados, as sementes foram previamente escarificadas mecanicamente, com auxílio de uma lâmina de bisturi, sendo removido parte do tegumento da extremidade oposta ao eixo embrionário (Figura 3).

3.1. Aleatoriedade e homogeneidade das sementes

Sementes foram retiradas ao acaso ($n=200$) do lote em estoque, pesadas individualmente em balança analítica Denver Instrument Company, modelo AA-200, com aproximação de quatro casas decimais, determinando-se o peso da matéria fresca de cada uma. Os valores obtidos foram analisados utilizando-se o teste de Runs uni-amostral (Siegel, 1956), que caracteriza a aleatoriedade da amostra utilizada.

Com relação à homogeneidade do lote de sementes, os mesmos valores de peso de matéria fresca obtidos no teste de aleatoriedade foram distribuídos em classes (Waugh, 1959) e analisados quanto à normalidade, assimetria e curtose (Sokal e Rohlf, 1969).

3.2. Determinação do conteúdo de água das sementes

Para determinação do conteúdo de água (C.A.) das sementes, 20 amostras de 10 sementes foram pesadas em balança analítica Denver Instrument Company, modelo AA-200, com aproximação de quatro casas decimais e colocadas para secar em estufa a 105°C, primeiramente, por 16 horas e depois até obtenção do peso de matéria seca constante.

O conteúdo de água foi determinado por meio da expressão:

$$\text{C.A.} = (\text{P.M.F} - \text{P.M.S}) \times 100 / \text{P.M.S}$$

onde P.M.F. é o peso de matéria fresca, P.M.S. o peso de matéria seca e C.A., o conteúdo de água em porcentagem.

3.3. Experimentos de germinação

Os experimentos de germinação foram delineados inteiramente ao acaso (Banzatto e Kronka, 1992), mantendo-se as sementes em quatro repetições de 30 sementes cada uma. As observações de germinação (contagem com retirada) foram realizadas em intervalos de oito horas, sendo o critério de germinação adotado a protrusão de alguma parte do embrião (Labouriau, 1983b). Sempre que necessário as placas foram umedecidas com água destilada.

3.3.1. Efeito da luz na germinação das sementes

As sementes foram submetidas a tratamentos sob luz contínua e escuro, à temperatura isotérmica de 30,3°C, por um período de 48 horas. As sementes foram dispostas em placas de Petri de 7 cm de diâmetro, forradas com três camadas de papel de filtro qualitativo e umedecidas com 40 ml de água destilada. O tratamento sob luz contínua foi induzido, usando-se uma fonte de

luz vermelha (660 ± 20 nm), com intensidade energética diária de $1,95 \times 10^6$ J.m⁻² (2,25 mW . cm⁻²), produzida por uma lâmpada branca (Philips 15W) com filtro óptico vermelho, enquanto que o tratamento no escuro foi obtido mantendo-se as placas de Petri em pequenas caixas de madeira isoladas da luz.

As medidas de irradiância foram realizadas com o auxílio de uma termopilha Eppley mod. 25369, acoplada a um multímetro digital Keithley Instruments mod. 177 DMM, enquanto que as medidas de ondas espectrofotométricas foram realizadas com um espectroscópio Bunsen-Kirchoff (Gartner L-205), previamente calibrado com um monocromador de difração de grade Bausch-Lomb e uma lâmpada de sódio (Silveira e Labouriau, 1995).

As contagens no escuro foram realizadas com o auxílio de uma lâmpada de segurança verde que transmite comprimentos de onda com limite inferior de 495 e limite superior de 560 nm (Silveira e Labouriau, 1995).

3.3.2. Germinação de sementes em temperaturas isotérmicas

Os experimentos em temperaturas isotérmicas (5,2°C a 43,2°C) foram realizados incubando-se as sementes em placas acrílicas de 9,0 X 2,0 cm , com tampa, sobre três camadas de papel de filtro qualitativo, umedecidos com 20 ml de água destilada.

As sementes foram colocadas para germinar no escuro, em um bloco termo-gradiente propriamente designado para experimentos de germinação (Labouriau, 1977a). Este apresenta 23 estações de temperaturas isotérmicas, medidas por termistores Cole-Parmer mod.YSI 401 LN94C80103, acoplados a um teletermômetro digital Cole-Parmer mod. 8502-10, com precisão de 0,1°C (Figuras 4, 5 e 6).

Durante as observações dos experimentos, as sementes foram expostas à irradiância de duas lâmpadas fluorescentes brancas por períodos de até três minutos.

3.3.3. Parâmetros analisados nos experimentos de germinação

3.3.3.1. Germinabilidade

A germinabilidade das sementes foi medida pela porcentagem final de germinação das repetições de cada tratamento. O intervalo de confiança foi obtido por interpolação linear dos dados da tabela de Clopper e Pearson (1934) citados em Documenta Geigy (1965).

A análise estatística dos dados de germinabilidade ($G = \sum ni.100 / N$, onde ni é o número de sementes germinadas e N é o número total de sementes do tratamento) foi realizada por meio da transformação angular $\theta = \text{Arc Seno} \cdot \text{Raiz Quadrada}(G + 0,05)$. Após a transformação em valor angular, os dados foram submetidos ao teste de homogeneidade de variâncias (Bartlett) e ao teste de Kruskal-Wallis para análise de variância (Sokal e Rohlf, 1969).

3.3.3.2. Tempo médio de germinação e velocidade de germinação

Os tempos médios de germinação e suas variâncias foram calculados segundo Labouriau (1967), a partir das seguintes expressões:

$$t = \sum ti.ni / \sum ni$$

$$S^2_t = [\sum ni (ti - t)^2] / (-1 + \sum ni)$$

onde ni é o número de sementes germinadas durante o intervalo de tempo $ti - 1$ — ti .

As velocidades médias de germinação foram computadas segundo Labouriau (1970), a partir da expressão:

$$v = 1/t = \sum ni / \sum ni.ti$$

As variâncias das velocidades de germinação isotérmicas foram calculadas segundo Labouriau (1972), por meio da expressão:

$$S_v^2 = v^4 \cdot S_t^2$$

Os dados de velocidade de germinação foram submetidos ao teste de Bartlett para homogeneidade de variâncias e aos testes de Kruskal-Wallis para análise de variância e Mann-Whitney para comparações binárias (Sokal e Rohlf, 1969).

3.3.3.3. Pontos cardeais da germinação (To, Tm e TM)

A faixa ótima de temperatura de germinação (To) foi determinada a partir de comparações binárias múltiplas das velocidades de germinação dos diferentes tratamentos de temperaturas isotérmicas por meio do teste de Mann-Whitney, sendo considerada como faixa ótima de temperatura de germinação, o intervalo no qual os valores das velocidades médias apresentaram diferenças não significativas entre si a 5% de significância (Labouriau, 1970; Labouriau, 1972; Labouriau, 1983a).

As temperaturas máxima e mínima de germinação foram determinadas como sendo a mais baixa temperatura supra-ótima e a mais alta temperatura infra-ótima, respectivamente, na qual a germinabilidade não difere de zero a 5% de significância (Labouriau, 1970; Labouriau, 1972; Labouriau, 1983a).

3.4. Entalpia de ativação

Os valores da entalpia de ativação (ΔH^*), parâmetro utilizado para sugerir o envolvimento de processos fisiológicos parciais envolvidos no mecanismo de controle da germinação, foram obtidos a partir da análise do gráfico de Arrhenius, computado entre duas temperaturas isotérmicas sucessivas próximas.

O gráfico de Arrhenius foi determinado utilizando-se a expressão:

$$-R \ln V = \varphi(1/T)$$

onde, $R = 1,987 \text{ cal.}^\circ\text{K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$ é a constante universal dos gases; T é a temperatura absoluta e V é a velocidade média de germinação das sementes (Labouriau, 1972, Labouriau 1978 e Labouriau, 1983a).

Os valores de ΔH_n^* foram calculados segundo Labouriau (1972), por meio das expressões:

$$\Delta H_n^* = [R.T.(\theta.T).(T_m + T_M)]/[(T-T_m).(T_M-T)]$$

$$\theta = 2.T_m.T_M / (T_m.T_M)$$

onde ΔH_n^* é o valor da entalpia de ativação; T_m e T_M são as temperaturas mínima e máxima de germinação, respectivamente; T é a temperatura absoluta e θ é a média harmônica das temperaturas cardiais extremas.

3.5. Viabilidade de sementes em diferentes temperaturas isotérmicas

Para verificar a viabilidade das sementes submetidas aos tratamentos a temperaturas supra e infra-ótimas, quatro repetições de 25 sementes cada uma, foram mantidas nas diferentes temperaturas isotérmicas, até o tempo final do experimento ($T_{\text{infra-ótima}} = 578\text{h}$ e $T_{\text{supra-ótima}} = 72\text{h}$), sendo depois realizadas excisões dos eixos embrionários e coloração em solução aquosa de cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio a 0,5%, por 4 a 6 horas a 27,0 ou 30,0°C (Marcos Filho et al. 1987).

O tempo de 72 horas utilizado para realização do teste do tetrazólio das sementes mantidas em temperaturas supra-ótimas, foi escolhido por ter sido observada queda de viabilidade das sementes mantidas a estas temperaturas, por períodos superiores a este.

3.6. Padrões protéicos das sementes

Aproximadamente 100 mg de eixos embrionários (12 sementes) provenientes de sementes não germinadas em algumas temperaturas infra e supra-ótimas, e das germinadas a 30,5°C, foram utilizados como material vegetal para obtenção de amostras para determinação dos padrões protéicos das sementes da espécie.

As extrações das proteínas foram realizadas por meio de maceração do material vegetal, com o auxílio de um cadinho e pistilo, utilizando-se um meio de extração contendo tampão Tris

pH 6,8 (62,5 mM); glicerol 10,0% (v:v); β -Mercaptoetanol 2,0% (v:v); dodecil sulfato de sódio (SDS) 2,3% (w:v); N-Tosyl-L-fenilalanina clorometil cetona (TPCK) (50mM); N α -p-Tosyl-L lisina clorometil cetona (TLCK) (50mM); PMSF (1mM), aprotinina (2 μ g/ml), fenantrolina (5mM) e Leupeptina (2 μ g/ml). Após a maceração, os extratos brutos permaneceram reagindo em gelo por uma hora, sendo posteriormente centrifugados a 12.310 G por dez minutos. Após a centrifugação os sobrenadantes foram coletados, fervidos por três minutos, resfriados e diluídos na proporção de 1:3 (v:v) no tampão da amostra. O tampão da amostra foi constituído pelo tampão de extração concentrado duas vezes, contendo pequenas quantidades de azul de bromofenol. Aliquotas de 20 μ l de cada amostra foram aplicadas nos poços do gel de poliacrilamida (acrilamida/bis-acrilamida) a 12,5% (Laemmli, 1970). A corrida foi realizada sem refrigeração, à corrente constante de 25,0 mA, produzida por uma fonte modelo 1000/500 da Bio Rad.

Para comparação dos padrões protéicos dos diferentes tratamentos, os géis foram secos e os pesos moleculares das bandas protéicas de interesse, determinados, utilizando regressões lineares da distância de cada banda a um ponto fixo e seu peso molecular (R.F.). O padrão protéico 161-0317 da marca Bio Rad, foi utilizado como padrão para determinação dos pesos moleculares das demais proteínas.



Figura 3. Sementes de *Sesbania virgata* escarificadas mecanicamente, na extremidade oposta ao eixo embrionário.

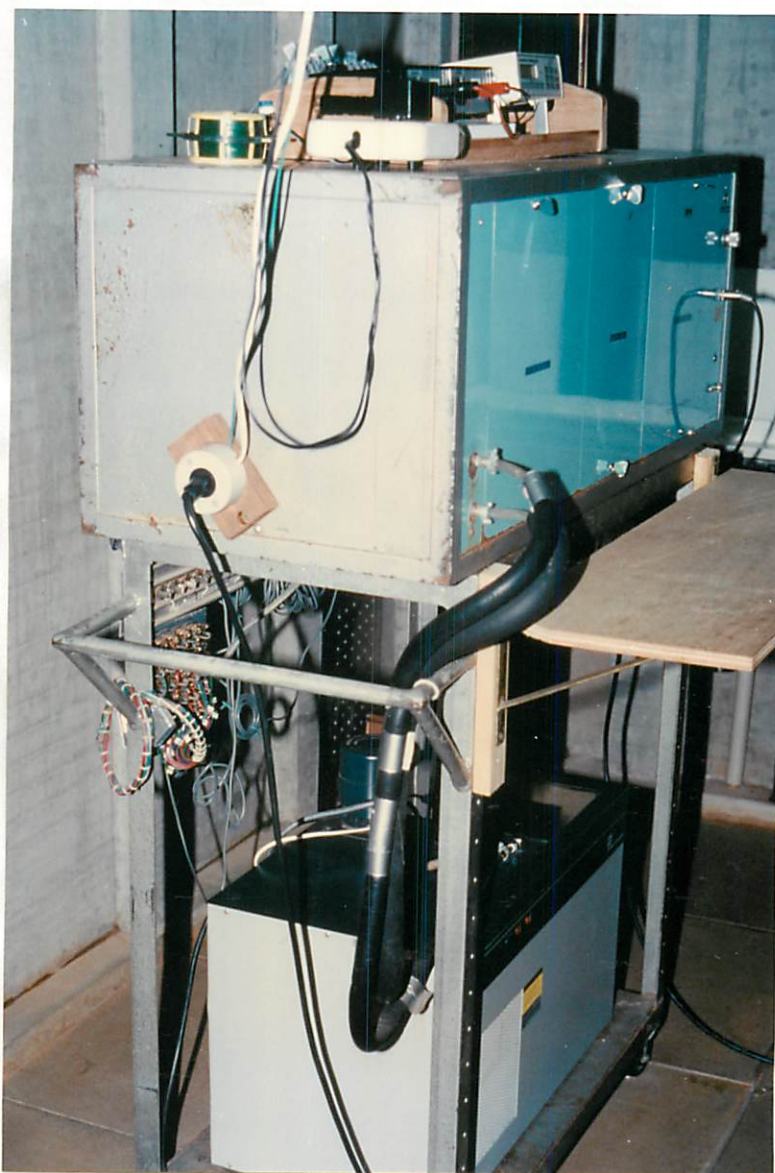


Figura 4. Vista geral do bloco termogradiente para estudos de germinação.

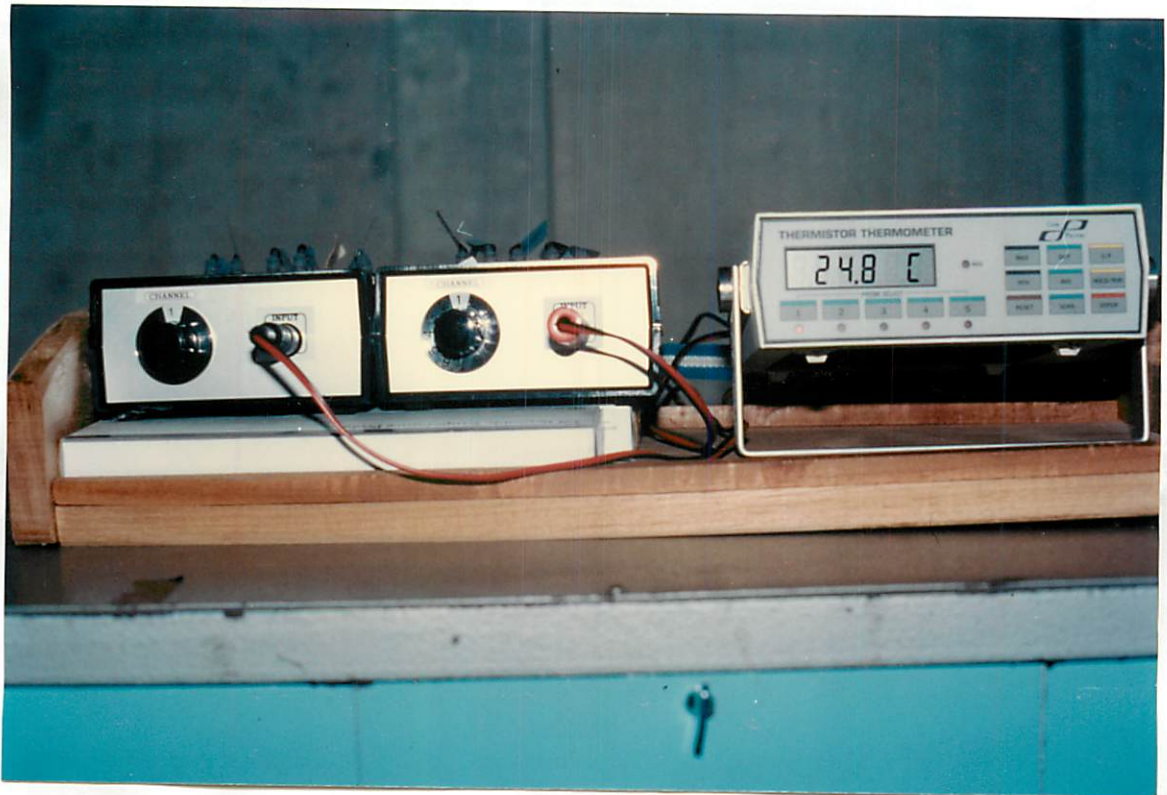


Figura 5. Teletermômetro e seletores de estação do bloco termogradiante.



Figura 6. Vista interna do bloco termogradiente contendo os tubos de incubação e termopares.

4. RESULTADOS

4.1. Aleatoriedade, homogeneidade e conteúdo de água das sementes

Os experimentos com *Sesbania virgata* caracterizaram-se por terem sido realizados com amostras aleatórias e homogêneas de sementes, em relação ao seu peso de matéria fresca (Tabelas 1 e 2). Quanto à variabilidade do peso individual de cada semente ou o peso das amostras de 10 sementes, foram observados valores baixos para esse parâmetro, sendo os coeficientes de variação das amostras 12,9% e 3,64%, respectivamente. A distribuição de frequência dos valores de peso de matéria fresca das sementes ajustou-se à curva normal, caracterizando-se por ser platicúrtica e assimétrica à esquerda (Tabela 1 e Figura 7).

Com relação ao conteúdo de água das sementes, as mesmas apresentaram 9,9% e 11,9% de umidade, quando mantidas a 105°C por 16 horas e quando mantidas a 105°C até alcançar peso constante, respectivamente (Tabela 2).

4.2. Experimentos de germinação

Todos os experimentos de germinação foram realizados com sementes apresentando viabilidade próxima a 100%.

4.2.1 Efeito da luz na germinação das sementes

As sementes de *Sesbania virgata* utilizadas nos experimentos são indiferentes à luz, possuindo germinabilidade e velocidade de germinação altas, tanto nos tratamentos sob luz contínua, quanto nos mantidos no escuro, a 30,5°C ($G = 99,2\%$ e $V > 32,9 \cdot 10^{-3} \cdot h^{-1}$) (Tabela 3 e Figura 8).

Outra evidência que comprova a neutralidade das sementes em relação à luz, é o fato de não terem sido verificadas diferenças aparentes nos padrões protéicos das germinadas sob luz contínua e os padrões das germinadas no escuro (Figura 9).

4.2.2. Germinação de sementes em temperaturas isotérmicas

Com relação à germinabilidade, verifica-se a existência de uma alta heterogeneidade das variâncias nos diferentes tratamentos, a 5% de significância (Tabela 4).

Do mesmo modo, pode-se observar diferenças estatísticas a 5% de significância pelo teste de Kruskal Wallis, entre os diversos tratamentos de temperaturas isotérmicas, com relação a análise de variância dos valores de germinabilidade, confirmando a existência de efeitos dos tratamentos em relação ao parâmetro analisado (Tabela 4).

A faixa ótima de temperatura de germinabilidade obtida por meio da regressão linear dos valores angulares de G (Figura 10), ou por meio da interpolação dos intervalos de confiança das porcentagens de germinação (Tabela 5), para $G \geq 90\%$, apresenta uma grande amplitude, situando-se entre 8,9 a 36,5°C, temperaturas nas quais os valores de germinabilidade não diferem de $G \geq 95\%$, a 5 % de significância. A faixa ótima de germinabilidade pode ser descrita pela equação linear $Y = 83,92 - 0,1068.T$, com $R = -0,2345$, onde Y é a porcentagem de germinação e T a temperatura de incubação em graus Celsius (Figura 10).

Com relação aos limites de temperatura para germinação, verifica-se que as temperaturas mínima e máxima de germinação das sementes de *Sesbania virgata* situam-se entre 7,0 e 7,4°C e entre 39,8 e 40,3°C, respectivamente (Tabela 6).

Quanto à velocidade de germinação, pode-se observar uma alta e significativa heterogeneidade das variâncias a 95% de confiança, entre os diferentes tratamentos (Tabela 4) e dentro de alguns tratamentos, principalmente no que se refere às temperaturas mais baixas (Tabela 7).

A faixa térmica ótima de velocidade de germinação é mais curta do que a de germinabilidade, incluindo poucas temperaturas com valores de velocidade de germinação estatisticamente semelhantes e altos (Figura 11). Embora alguns intervalos de temperatura apresentem valores de velocidade média de germinação estatisticamente similares, apenas a amplitude térmica de 31,0 a 34,6°C pode ser considerada como o intervalo de temperatura ótimo

para a germinação de sementes de *Sesbania virgata* (Figura 12). Apesar de estatisticamente terem sido formados dois pequenos intervalos ótimos de temperatura de germinação ($31,0 \leq T \leq 31,8$ e $33,3 \leq T \leq 34,6$), fisiologicamente, a inclusão dos valores de temperatura intermediários a esses intervalos deve ser considerada, uma vez que os intervalos de temperatura determinados como ótimos, não são estatisticamente distintos.

A curva de velocidade de germinação possui valores crescentes contínuos de V , partindo das temperaturas infra-ótimas até a faixa ótima de temperatura, de acordo com a expressão $Y = 7,5529 + 1,2249.T$, com $R = 0,9887$, onde Y é a velocidade média de germinação e T a temperatura média de incubação em graus Celsius (Figura 13). Esse comportamento não é observado para as temperaturas supra-ótimas, uma vez que estas apresentam grande amplitude de variação da velocidade média de germinação.

Os valores extremos do tempo médio de germinação foram observados nos tratamentos a $32,8^\circ$ e $40,3^\circ\text{C}$ para os mais baixos tempos médios e a 7°C para o mais alto tempo médio de germinação (Tabela 5).

4.3. Entalpia de ativação

O gráfico de Arrhenius apresentou-se não linear. Quanto à entalpia de ativação (ΔH^*), verifica-se que entre $14,9$ e $30,4^\circ\text{C}$, o valor de ΔH^* foi menor que 12 Kcal.mol^{-1} , em módulo, enquanto que abaixo de $11,0^\circ\text{C}$ e acima de $35,1^\circ\text{C}$, o valor de ΔH^* foi maior que 30 Kcal.mol^{-1} (Figura 14).

4.4. Viabilidade de sementes em diferentes temperaturas isotérmicas

Sementes de *Sesbania virgata* mantidas por 578 horas a temperaturas inferiores ou iguais a $7,0^\circ\text{C}$, apresentaram baixa ou nenhuma germinabilidade, enquanto que a viabilidade dos eixos embrionários permaneceu alta, aproximando-se a 100% (Tabela 8). Do mesmo modo, as sementes mantidas até 72 horas em temperaturas acima de $37,0^\circ\text{C}$, apresentaram decréscimo na porcentagem de germinação e alta viabilidade dos eixos embrionários.

4.5. Padrões protéicos de sementes mantidas em temperaturas supra e infra-ótimas

Com relação às alterações na expressão protéica em sementes de *Sesbania virgata* incubadas em diferentes temperaturas infra-ótimas, observa-se que nas temperaturas de incubação 5,1; 6,5 e 7,4°C, os padrões protéicos foram semelhantes entre si, mas diferentes dos padrões do tratamento a 8,4°C e do controle (30,5°C). Nos padrões protéicos dos tratamentos a 5,1; 6,5 e 7,4°C, verifica-se a presença de proteínas de pesos moleculares próximos a 58 Kilo Dalton (KDa) e 40 KDa, enquanto que no tratamento a 8,4°C e no controle essas mesmas proteínas estão ausentes, ou presentes em menores concentrações (Figura 15). Por outro lado, observa-se a presença de uma proteína de peso molecular aproximado de 42 KDa nos tratamentos a 7,4°C, 8,4°C e no controle, não expresso nos padrões protéicos dos tratamentos a 5,1 e 6,5°C (Figura 15). Geralmente, o aparecimento e desaparecimento de bandas protéicas nos padrões dos diferentes tratamentos, ocorrem de forma gradativa com o aumento da temperatura.

Nos tratamentos a temperaturas supra-ótimas (37,3; 37,8; 38,3; 39,4; 40,3 e 41,3°C), observa-se a presença de duas proteínas de pesos moleculares aproximados de 12 e 21 KDa, não presentes no padrão protéico do controle. Por outro lado, proteínas de 43 e 47 KDa, apresentam bandas bem definidas somente no controle, com alguns rastros nas demais temperaturas (Figura 16).

Bandas protéicas de 90 KDa, altamente concentradas, foram observadas nos padrões protéicos dos tratamentos a temperaturas infra e supra-ótimas, ao contrário do ocorrido no controle.

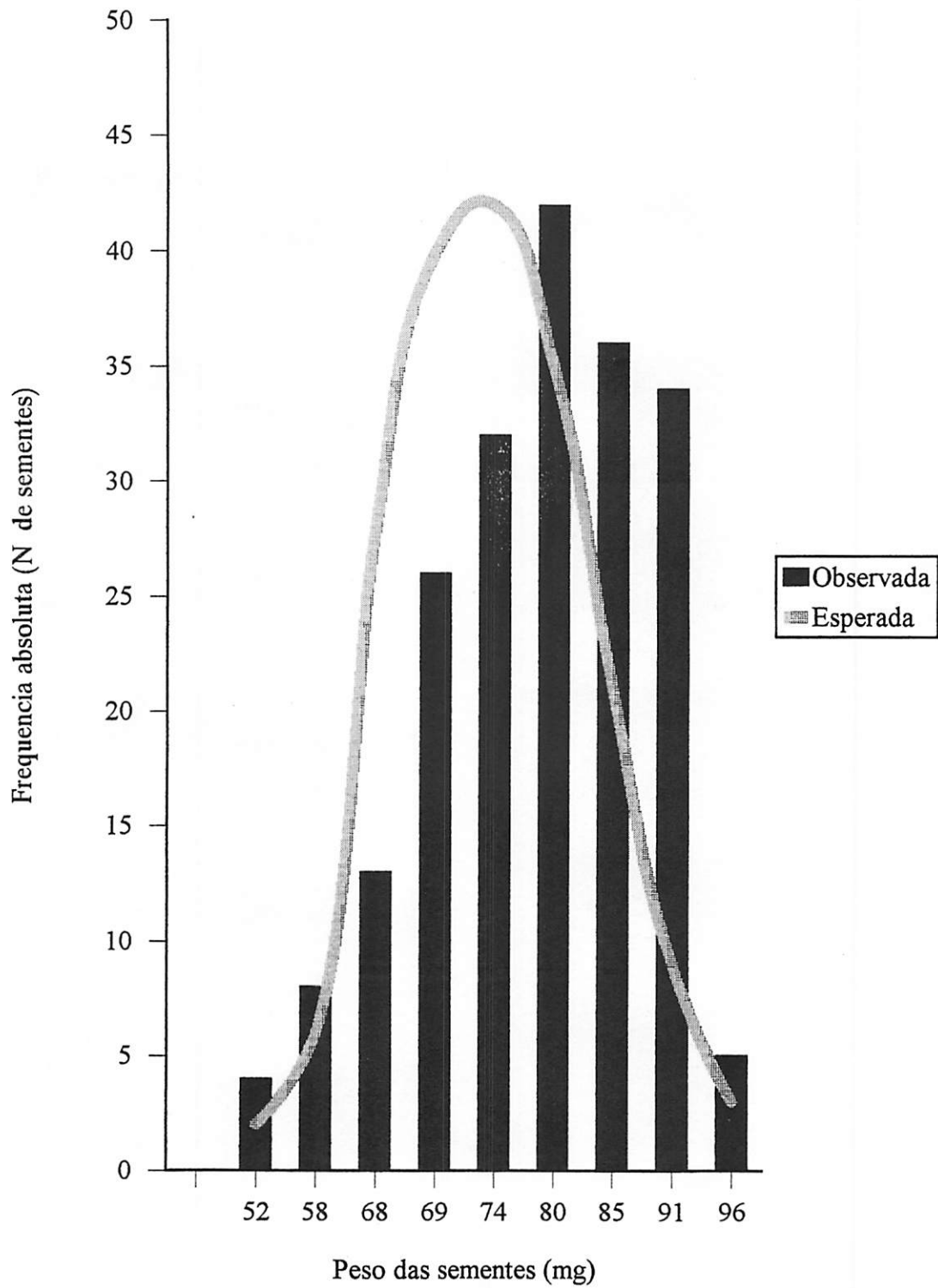


Figura 7. Frequencia de distribuição dos valores de peso fresco de sementes de *Sesbania virgata*.

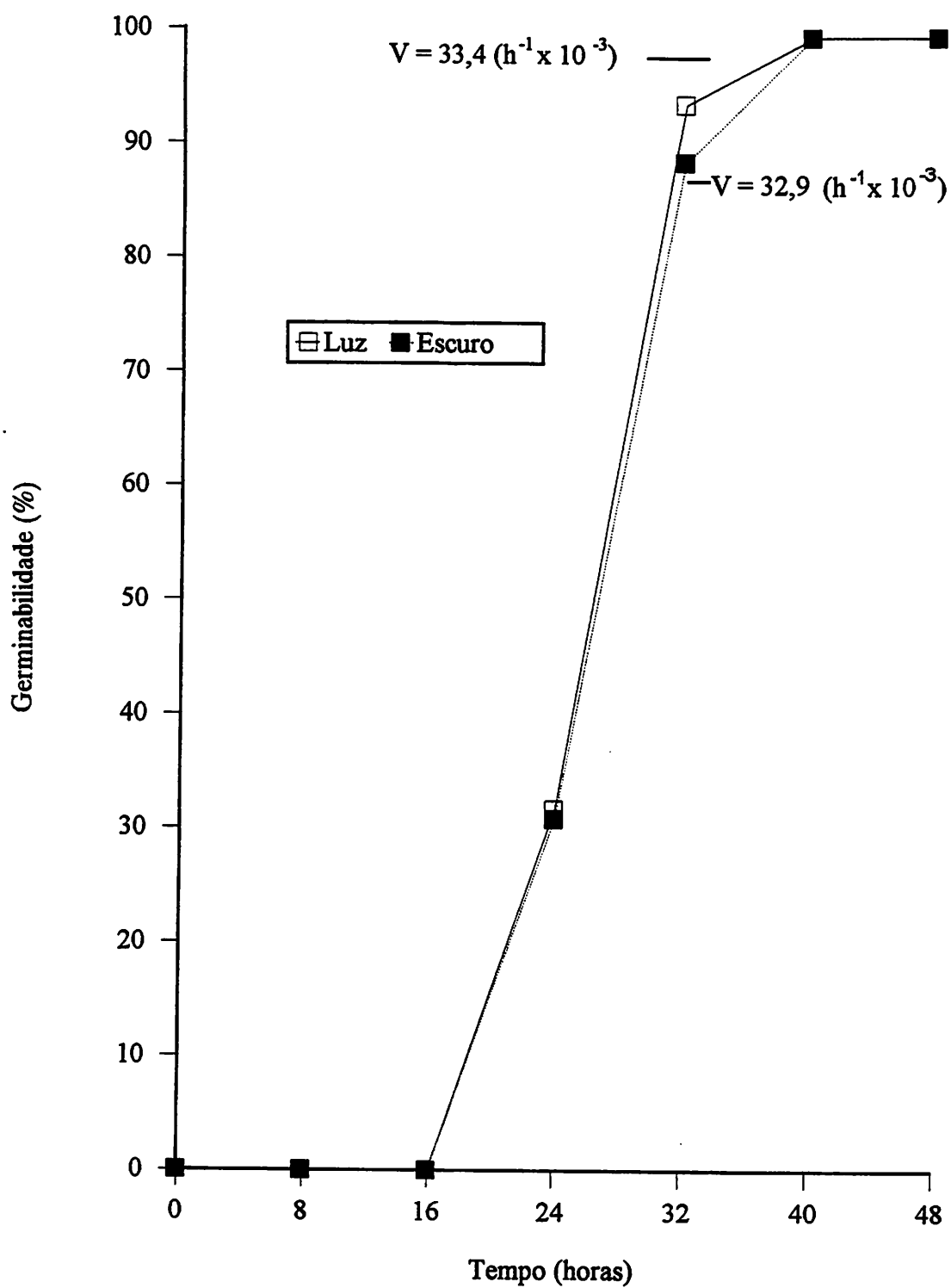


Figura 8. Germinabilidade de sementes de *Sesbania virgata* germinadas a 30,5 °C, sob luz contínua e no escuro

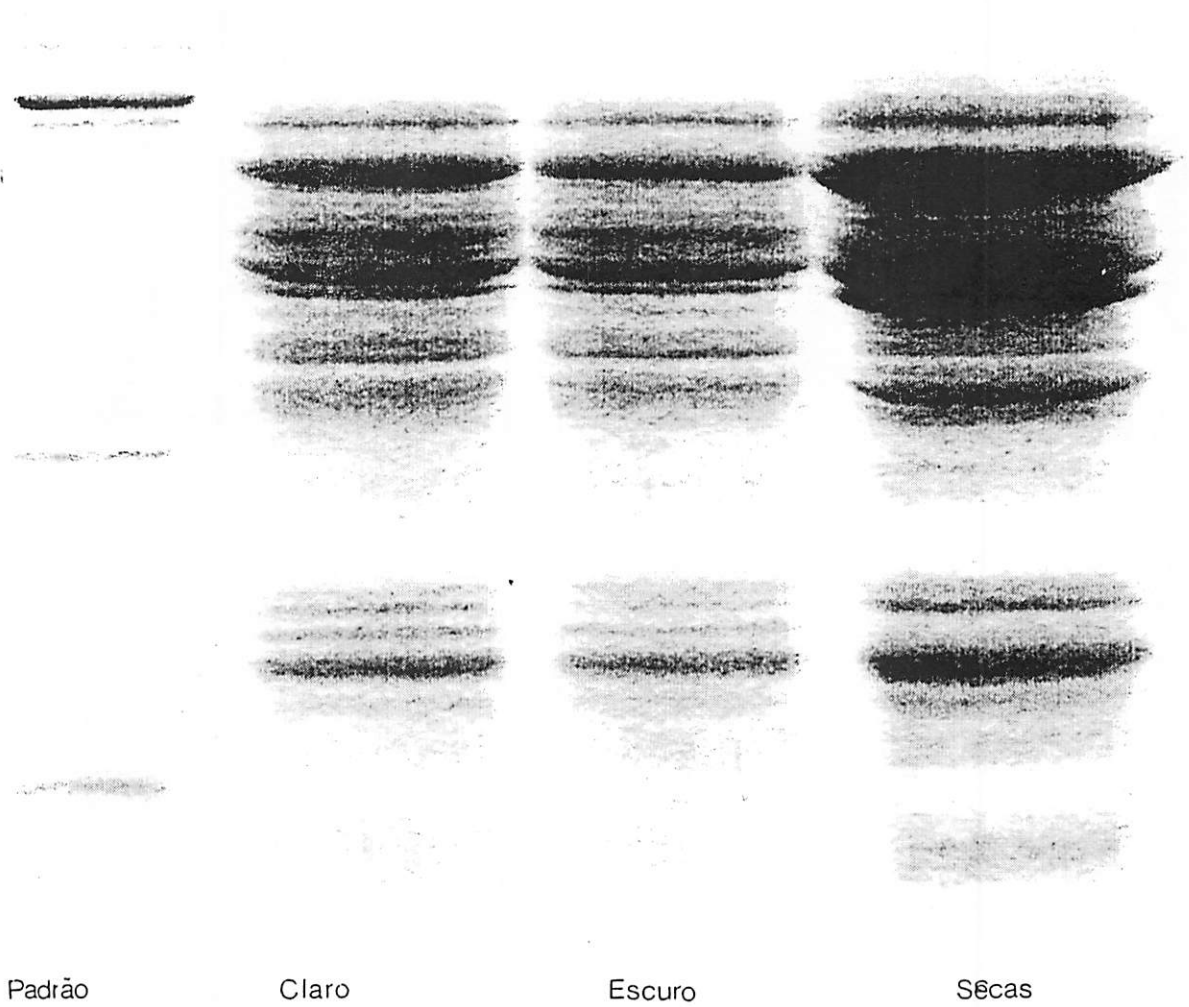


Figura 9. Padrão protéico de sementes germinadas sob luz contínua e no escuro, a 30,5°C.

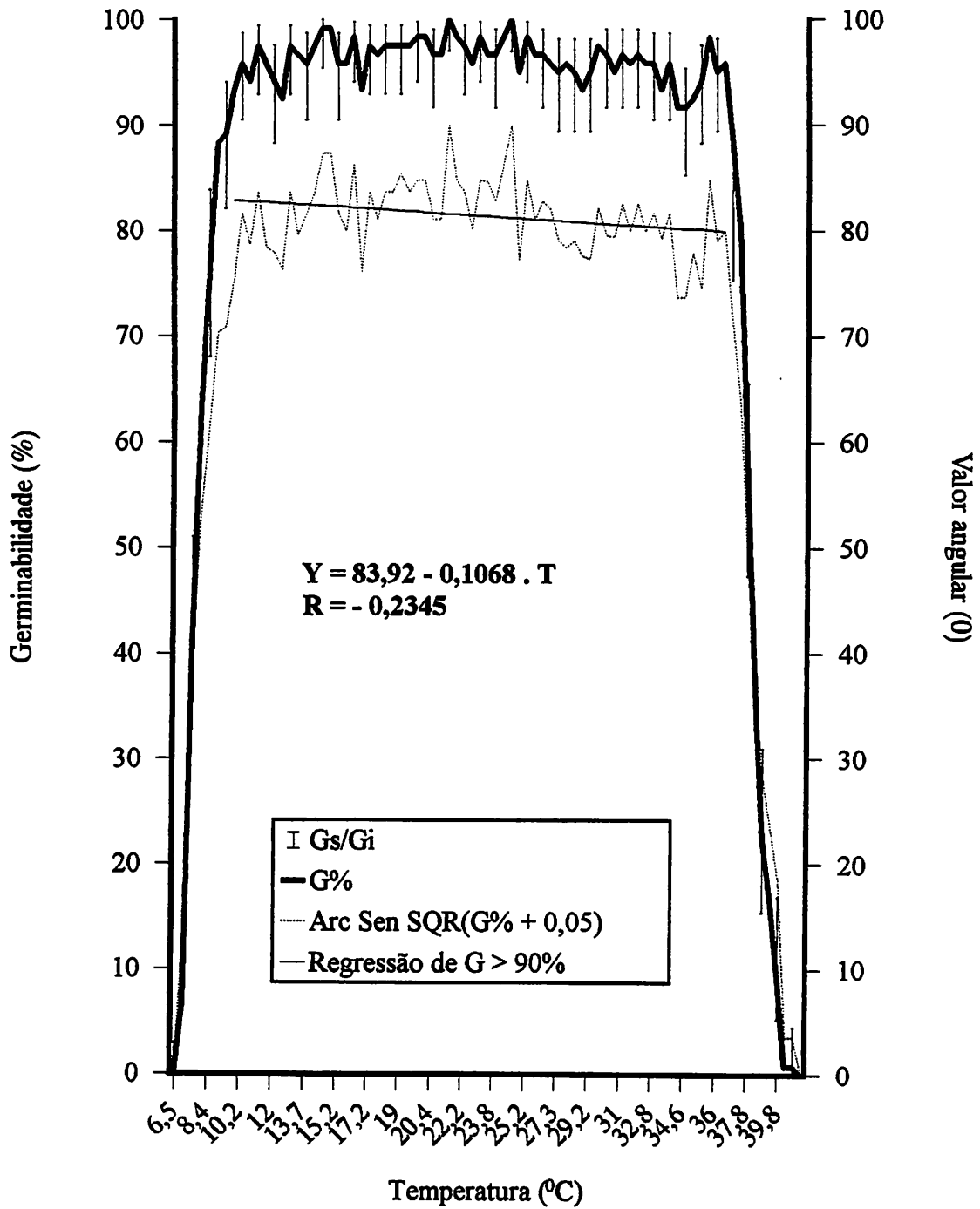


Figura 10. Faixa ótima de germinabilidade de sementes de *Sesbania virgata*.

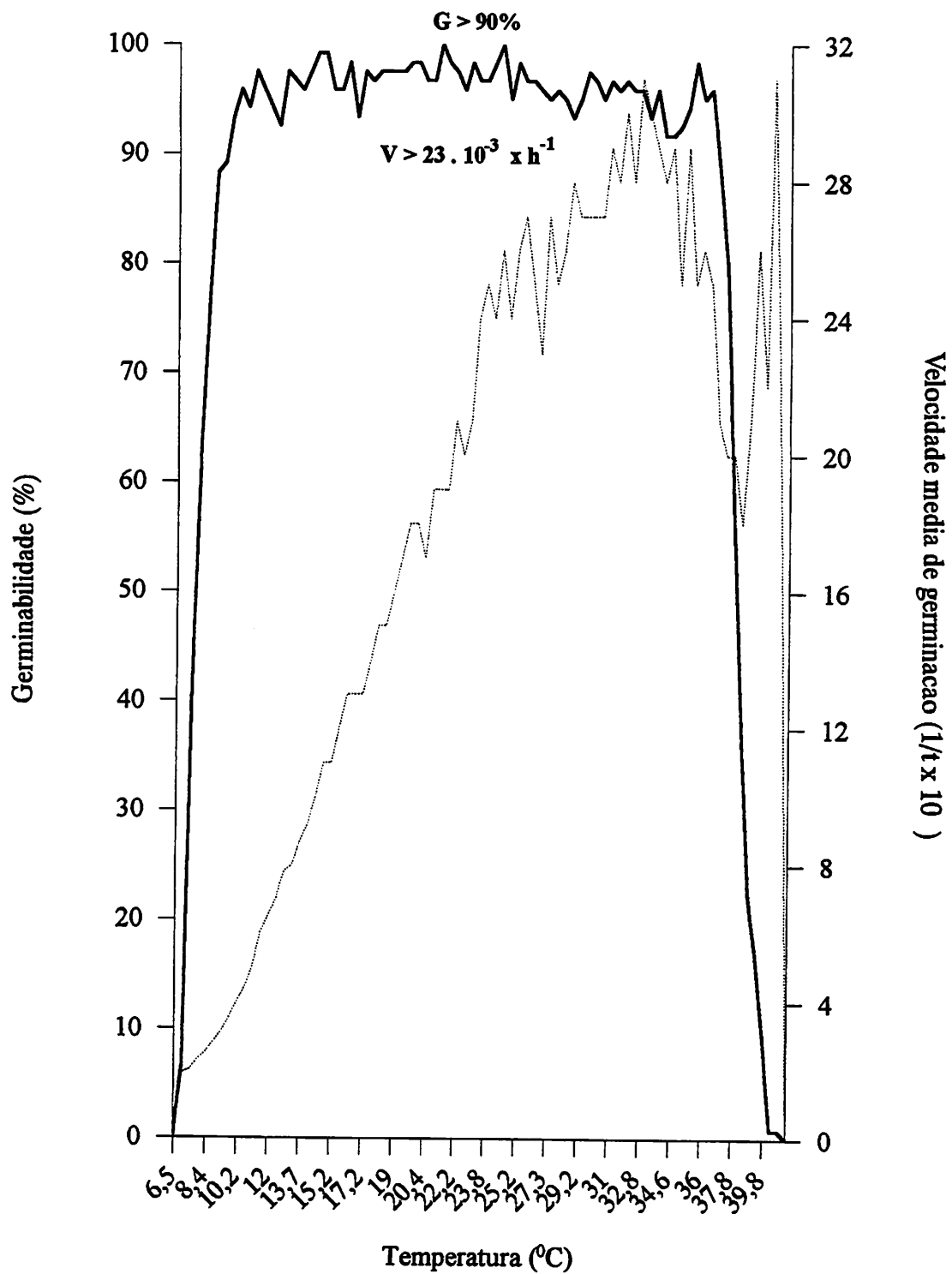


Figura 11. Germinabilidade e velocidade de germinação de sementes de *Sesbania virgata*, mantidas em diferentes tratamentos isotérmicos.

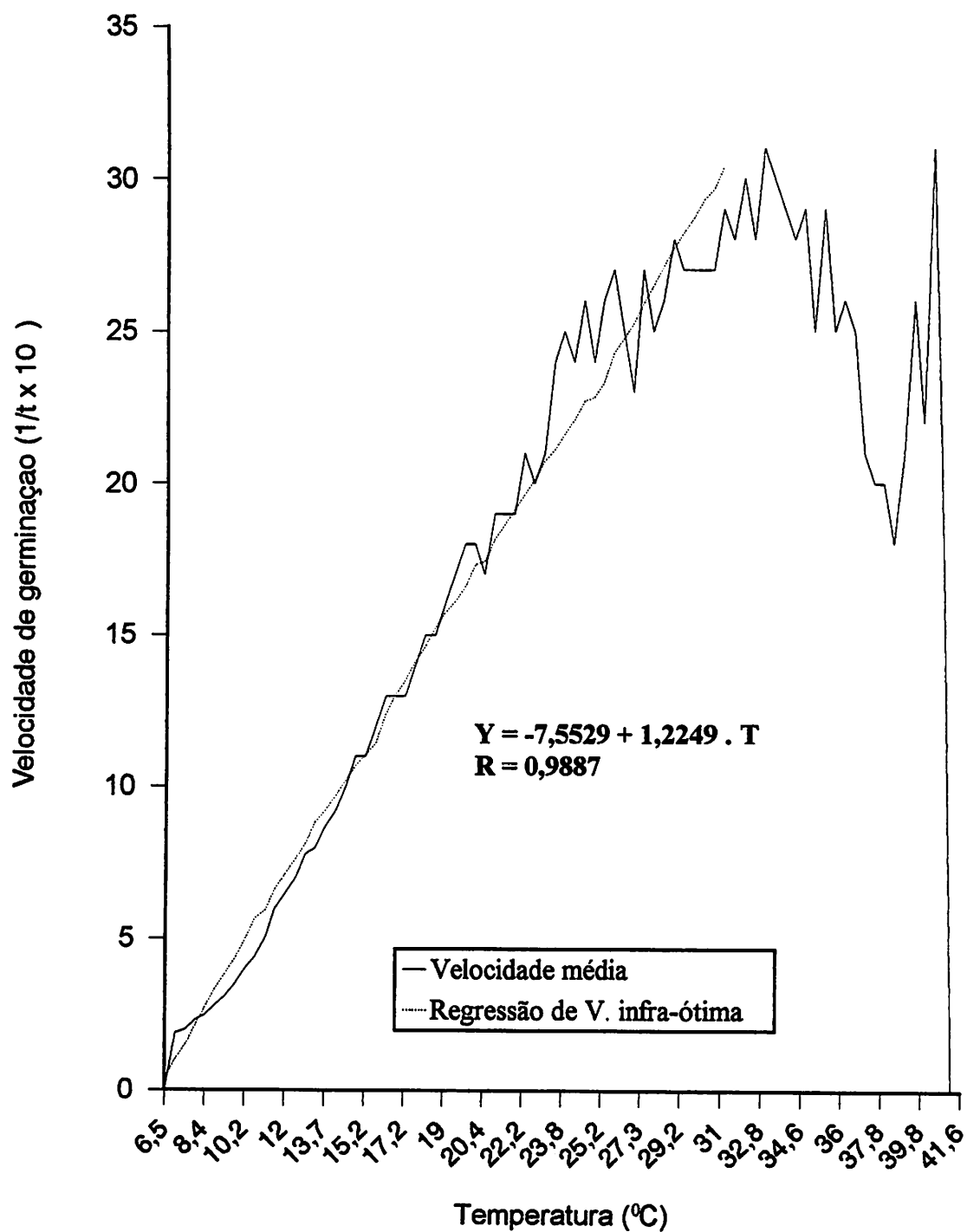


Figura 13. Velocidade media de germinação de *Sesbania virgata*.

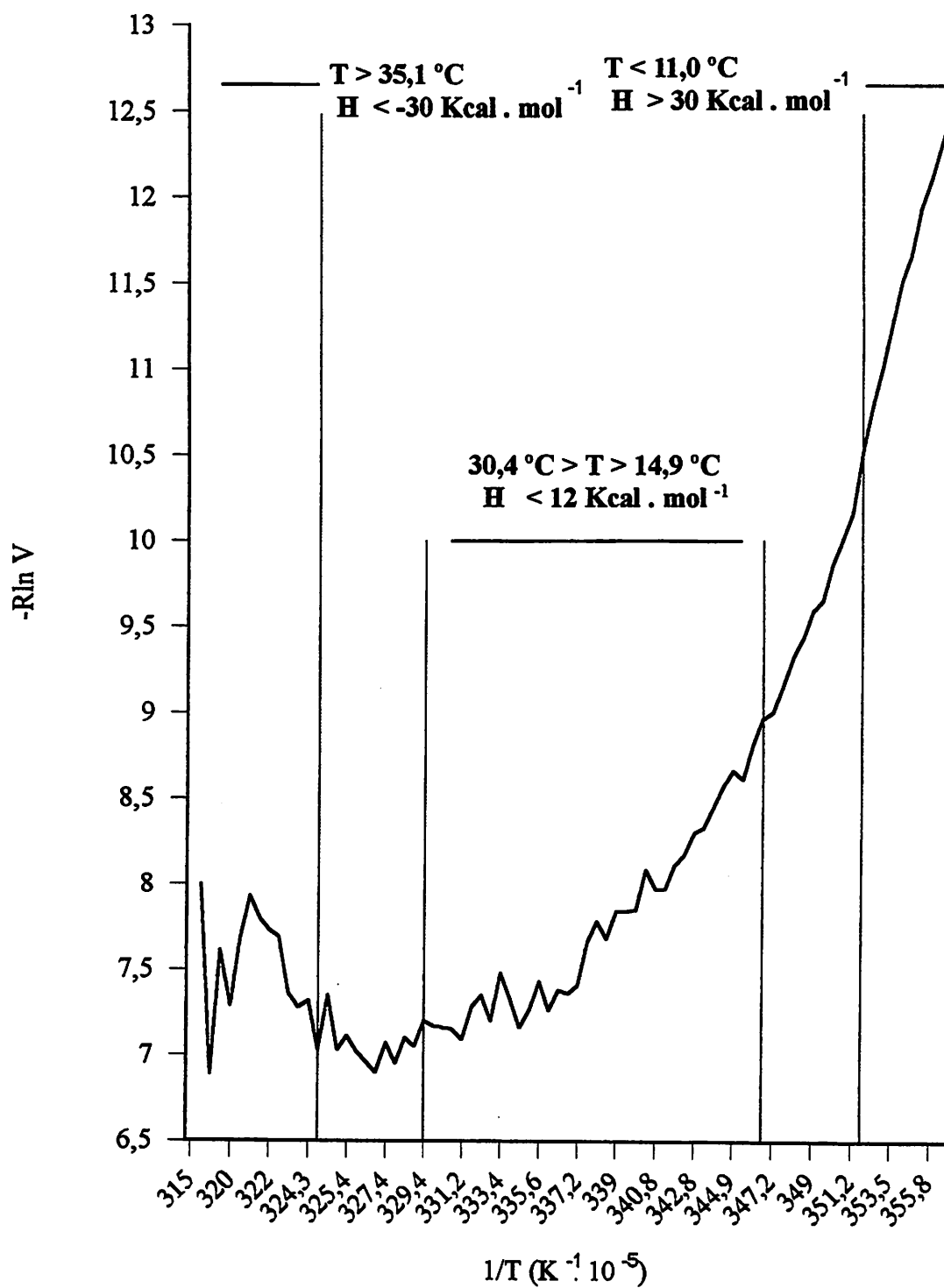


Figura 14. Gráfico de Arrhenius não-linear, da energia de entalpia de ativação da germinação de sementes de *Sesbania virgata*.

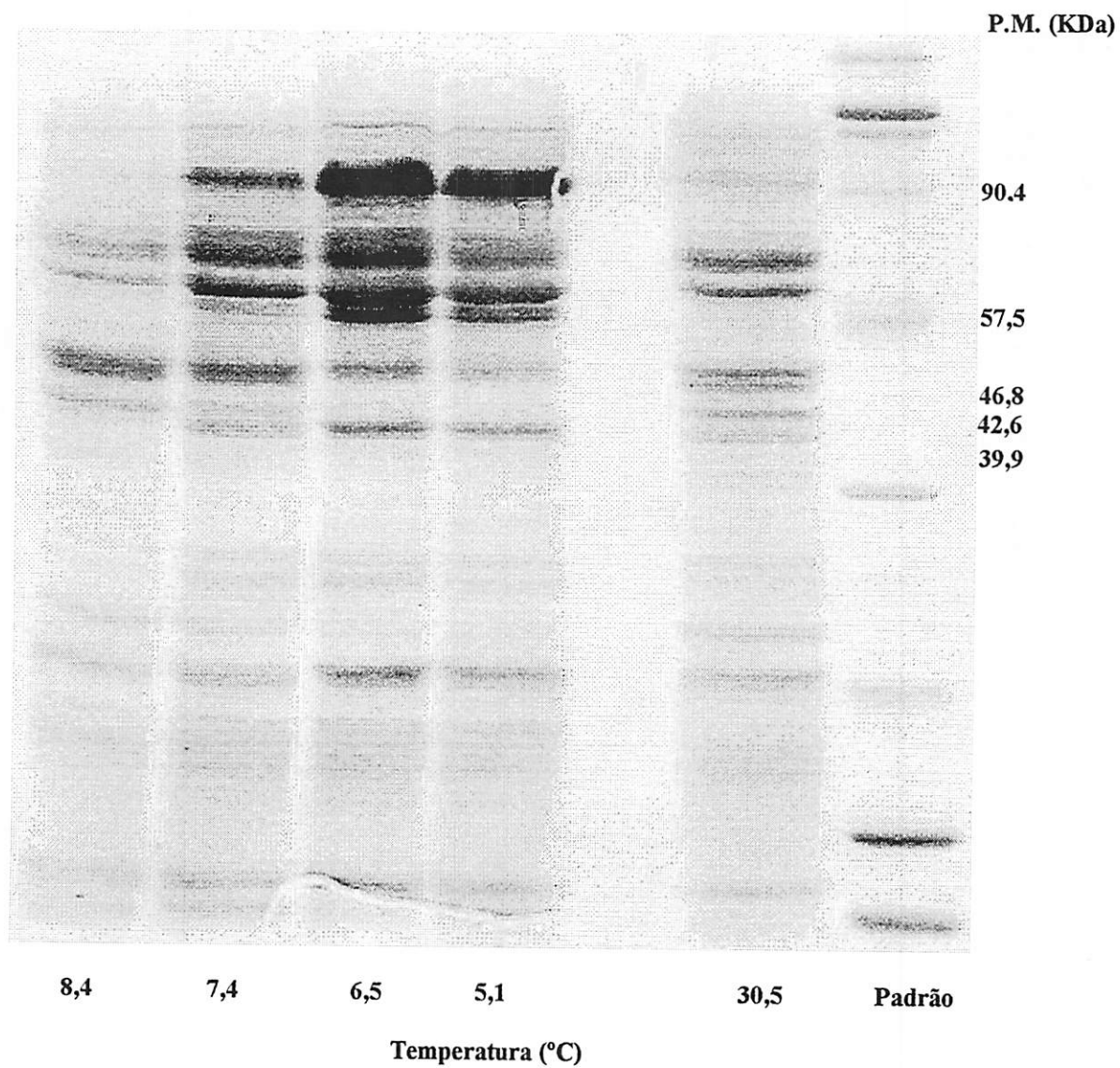


Figura 15. Padrão protéico de sementes de *Sesbania virgata* submetidas a tratamentos de temperatura infra-ótimas.

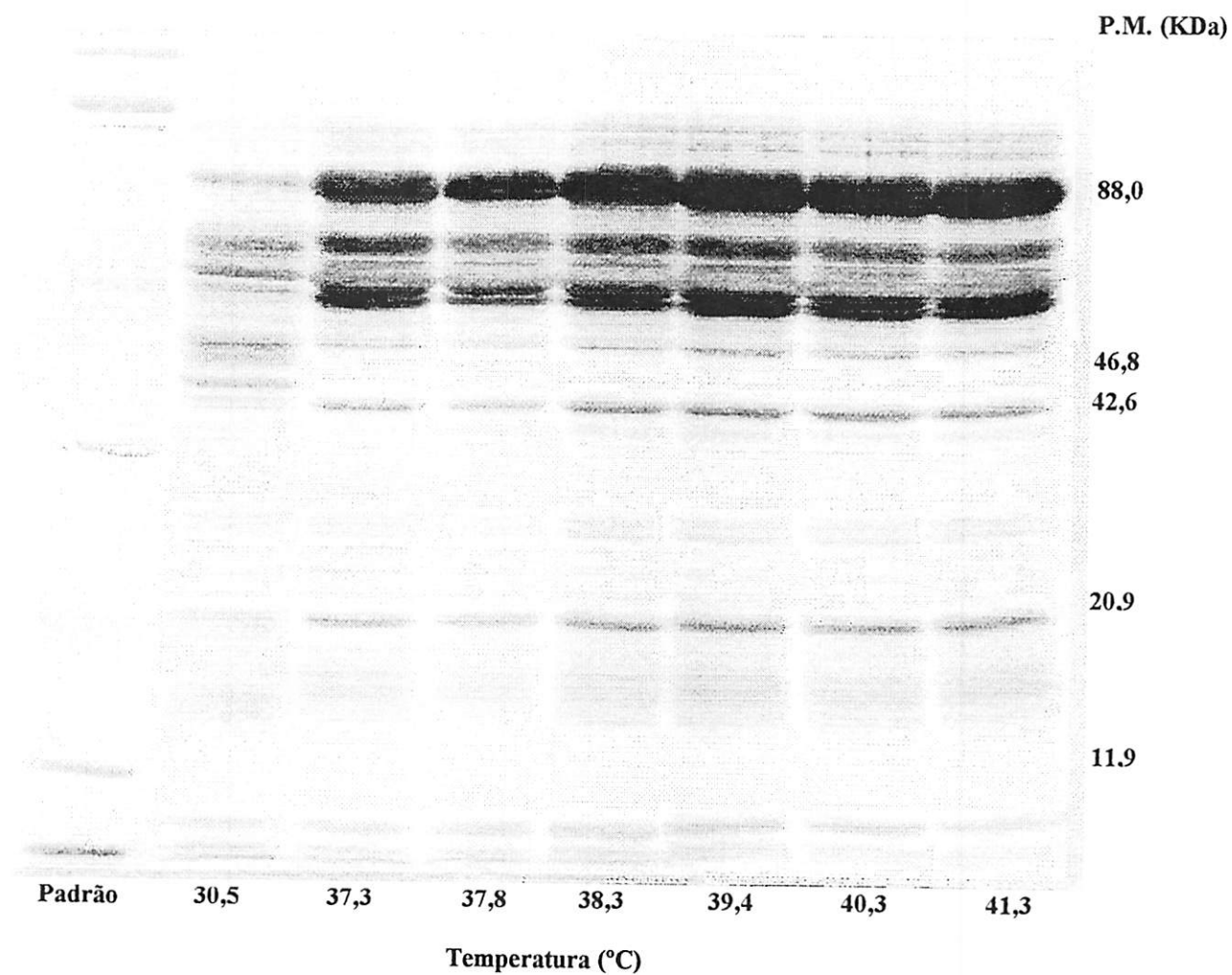


Figura 16. Padrão protéico de sementes de *Sesbania virgata* submetidas a tratamentos de temperaturas supra-ótimas.

Tabela 1. Caracterização de uma amostra de 200 sementes de *Sesbania virgata* retiradas do lote ao acaso.

Parâmetros	Análise estatística
.Aleatoriedade total da amostra (teste de Runs) ^(a)	.número de runs, $r = 90$. $\mu_r = 100,36$. $S_r = 7,0079$. $Z_{calc} = -1,4783$. $Z_{tab} = 1,3888$
.Medidas de posição	.média, $X = 78,5$ mg .mediana, $Q_2 = 79,9$ mg .moda, $Mo = 91,3$ mg
.Medidas de dispersão	.desvio padrão, $S = 10,15$ mg .erro padrão, $S_x = 0,71$ mg .Coeficiente de variação, C.V. = 12,93%
.Ajuste à frequência normal ^(b)	. $X^2_{(calculado)} = 18,17$. $X^2_{(tabelado)} = 18,17$. $\alpha = 0,05$
.Assimetria ^(b)	. $g_1 = -0,2440$ assimetria a esquerda
.Curtose ^(b)	. $g_2 = -0,3764$ platicurticidade

(a) Siegel, 1956

(b) Sokal Rohlf, 1969

Tabela 2. Conteúdo de água de sementes de *Sesbania virgata* ^(a).

Número de amostras	Peso de matéria fresca (mg)	Teste de aleatoriedade sinais runs	Peso de matéria seca (mg) ^(b)	Peso de matéria seca (mg) ^(c)	Conteúdo de água (%) ^(b)	Conteúdo de água (%) ^(c)
1	807,8	+ 1	734,9	720,4	9,92	10,82
2	751,1	-	681,4	669,6	10,23	10,85
3	762,7	- 2	693,8	682,6	9,93	10,50
4	751,8	-	680,5	669,8	10,48	10,91
5	794,6	+ 1	721,7	708,5	10,10	10,84
6	847,4	+ 1	770,3	756,4	10,01	10,74
7	801,1	+ 3	726,1	712,8	10,33	11,02
8	786,7	+ 1	716,5	704,1	9,80	10,45
9	800,5	+ 1	727,5	714,3	10,03	10,77
10	764,1	-	697,0	685,5	9,63	10,29
11	743,1	- 4	681,2	669,4	9,09	9,92
12	770,5	-	701,3	688,7	9,87	10,62
13	770,9	-	702,3	688,7	9,77	10,66
14	809,2	+ 1	736,5	723,5	9,87	10,59
15	796,1	+ 5	727,8	711,9	9,38	10,58
16	781,6	-	710,1	697,7	10,07	10,73
17	754,3	- 6	687,2	675,2	9,76	10,49
18	794,9	+ 7	726,0	714,7	9,49	10,09
19	773,7	- 8	705,8	692,7	9,62	10,47
20	842,3	+ 9	762,6	748,1	10,45	11,18
Média (%)					11,9	9,9

Peso de matéria fresca (mg)	$n_1 = n_2 = 10, r = 9$ ^(d)	Peso de matéria seca (mg) ^(b)
. média	785,2	. média
. mediana	784,2	. mediana
. desvio padrão	28,6	. desvio padrão
. coeficiente de variação	3,64 %	. coeficiente de variação
	$\alpha = 0,05$ bicaudal $5 < r < 16$ Aceita-se H_0 (existe aleatoriedade)	
		714,5 713,3 25,4 3,55 %

(a) Realizado com 20 repetições de 10 sementes cada uma

(b) Secagem a 105°C por 16 horas

(c) Secagem a 105°C até obtenção do peso constante de matéria seca

(d) Siegel, 1956

Tabela 3. Efeito da luz na germinação de sementes de *Sesbania virgata* mantidas a 30,5°C.

Tratamento	Tempo médio de germinação (h)		Germinabilidade				Velocidade média de germinação	
	$t \pm t_{(0,95), St}^{(a)}$	$S^2 t$	G_i (%) ^(b)	G (%)	G_s (%) ^(c)	θ ^(d)	$V(h^{-1} \cdot 10^{-3})$	$S^2 (h^{-2} \cdot 10^{-5})$
Luz	29,92 ± 0,81	20,03	95,4	99,2	100,0	87,39 a	33,42 a	2,5003
Escuro	30,39 ± 0,90	24,49	95,4	99,2	100,0	87,39 a	32,90 a	2,8729
$t_{calculado}$						0	0,14	
$t_{tabelado}$						2,45	2,45	
g.l.						6	6	
C.V. (%)						5,97	4,8	

(a) Tempo médio ± intervalo de confiança (Labouriau, 1967)

(b) Limite inferior da germinabilidade (Clopper e Pearson, 1934 em Documento Geigy, 1965)

(c) Limite superior da germinabilidade (Clopper e Pearson, 1934 em Documento Geigy, 1965)

(d) Arc sen SQRT(G + 0,05)

Tabela 4. Análise estatística das variâncias de germinabilidade e velocidade de germinação, entre os diferentes tratamentos de temperaturas isotérmicas.

Parâmetro analisado	Teste estatístico			
	Bartlett ^(a)		Kruskal Whallis ^(a)	
	X ² calculado	X ² tabelado	H calculado	X ² tabelado
Germinabilidade	300,87	99,62	181,79	99,62
Velocidade de germinação	2992,04	97,35	202,17	100,75

Conclusão: Para ambos os parâmetros analisados, as variâncias são heterogêneas e diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de significância.

(a) Testes uni-caudais realizados a 5% de significância (Sokal e Rohlf, 1969).

Tabela 5. Germinabilidade, velocidade e tempo médio de germinação de sementes de *Sesbania virgata* em diferentes temperaturas isotérmicas.

T ± t _(0,95) St (°C) ^(a)	Tempo médio de germinação (h)		Germinabilidade				Velocidade média de germinação	
	t ± t _(0,95) St ^(b)	S ² T ^(c)	Gi (%) ^(d)	G (%) ^(e)	Gs (%) ^(f)	θ ^(g)	V (h ⁻¹ .10 ⁻³) ^(h)	S ² (h ⁻² 10 ⁻⁵) ⁽ⁱ⁾
6,5 ± 0,08	0	0	0,0	0,0	3,0	1,28	----	----
7,0 ± 0,08	534,38 ± 28,31	200,3906	2,9	6,7	12,8	14,42	1,9	0,0020
7,4 ± 0,08	486,66 ± 18,90	89,3352	32,8	41,7	51,0	40,19	2,0	0,0080
7,9 ± 0,07	441,42 ± 18,48	87,1368	54,0	63,3	71,9	52,93	2,3	0,0174
8,4 ± 0,08	405,41 ± 4,90	6,1245	68,0	76,7	83,9	61,63	2,5	0,0021
8,9 ± 0,06	353,11 ± 5,62	8,0683	81,2	88,3	93,5	70,32	2,8	0,0055
9,3 ± 0,06	326,68 ± 5,82	8,6360	82,1	89,2	94,1	70,87	3,1	0,0081
9,7 ± 0,06	289,15 ± 7,64	14,8886	87,2	93,3	97,1	75,34	3,5	0,0238
10,2 ± 0,05	253,11 ± 6,79	11,7501	90,5	95,8	98,7	81,68	4,0	0,0332
10,8 ± 0,04	227,21 ± 4,59	5,3659	88,3	94,2	97,6	78,77	4,4	0,0228
11,0 ± 0,04	199,60 ± 6,92	12,2332	92,9	97,5	99,5	83,66	5,0	0,0902
11,6 ± 0,03	166,44 ± 6,09	9,4479	90,5	95,8	98,7	78,45	6,0	0,1416
12,0 ± 0,01	153,56 ± 4,97	6,3007	88,3	94,2	97,6	77,95	6,5	0,1280
12,4 ± 0,01	142,80 ± 4,59	5,3697	86,2	92,5	96,5	76,33	7,0	0,1433
12,8 ± 0,01	128,68 ± 4,68	5,5823	92,9	97,5	99,5	83,66	7,8	0,2382
13,4 ± 0,03	124,48 ± 4,43	5,0072	91,7	96,7	99,1	79,57	8,0	0,2419

T ± t_{(0,95)St} (°C)^(a)	Tempo médio de germinação (h)		Germinabilidade				Velocidade média de germinação	
	t ± t_{(0,95)St}^(b)	S²T^(c)	Gi (%)^(d)	G (%)^(e)	Gs (%)^(f)	θ^(g)	V (h⁻¹.10⁻³)^(h)	S² (h⁻² 10⁻⁵)⁽ⁱ⁾
13,7 ± 0,01	115,06 ± 3,91	3,8910	90,5	95,8	98,7	81,68	8,7	0,2553
14,1 ± 0,03	109,08 ± 4,09	4,2715	92,9	97,5	99,5	83,66	9,2	0,3530
14,5	100,22 ± 3,93	3,9331	95,4	99,2	100,0	87,39	10	0,4640
14,9 ± 0,01	92,86 ± 3,32	2,8049	95,4	99,2	100,0	87,39	11	0,4490
15,2 ± 0,03	90,92 ± 7,32	13,6702	90,5	95,8	98,7	81,68	11	2,3000
15,5 ± 0,01	84,31 ± 7,80	15,5079	90,5	95,8	98,7	79,94	12	3,5292
16,3 ± 0,03	76,27 ± 5,94	8,9991	94,1	98,3	99,8	82,27	13	3,1379
16,8 ± 0,02	78,29 ± 7,46	14,1846	87,2	93,3	97,1	76,16	13	4,2297
17,2 ± 0,02	74,67 ± 6,33	10,2202	92,9	97,5	99,5	83,66	13	3,8472
17,7 ± 0,02	70,14 ± 5,19	6,8784	91,7	96,7	99,1	81,06	14	3,2971
18,1 ± 0	66,07 ± 4,10	4,2788	92,9	97,5	99,5	83,66	15	2,6049
18,6	65,03 ± 3,98	4,0341	92,9	97,5	99,5	83,66	15	2,6159
19,0 ± 0,03	61,06 ± 2,87	2,1056	92,9	97,5	99,5	85,40	16	1,7723
19,3	59,12 ± 1,80	0,8255	92,9	97,5	99,5	83,66	17	0,7974
19,7	55,25 ± 2,26	1,3083	94,1	98,3	99,8	84,78	18	1,6562
20,3 ± 0,03	55,24 ± 2,78	1,9775	94,1	98,3	99,8	84,78	18	2,4633
20,4	58,37 ± 3,05	2,3790	91,7	96,7	99,1	81,06	17	2,4178
21,0 ± 0,02	52,07 ± 1,86	0,8784	91,7	96,7	99,1	81,06	19	1,4343
21,4	51,80 ± 1,70	0,7390	97,0	100,0	100,0	90	19	1,2116
21,8	51,80 ± 1,70	0,7390	94,1	98,3	99,8	84,78	19	1,2116
22,2	47,79 ± 1,44	0,5245	92,9	97,5	99,5	83,66	21	1,1760

$T \pm t_{(0,95)}St$ (°C) ^(a)	Tempo médio de germinação (h)		Germinabilidade				Velocidade média de germinação	
	$t \pm t_{(0,95)}St$ ^(b)	S^2T ^(c)	Gi (%) ^(d)	G (%) ^(e)	Gs (%) ^(f)	θ ^(g)	$V (h^{-1} \cdot 10^{-3})$ ^(h)	$S^2 (h^{-2} \cdot 10^{-5})$ ⁽ⁱ⁾
22,6 ± 0,04	50,09 ± 2,15	1,1822	90,5	95,8	98,7	80,19	20	2,1602
23,1	47,25 ± 1,87	0,8899	94,1	98,3	99,8	84,78	21	2,1061
23,4	41,59 ± 1,23	0,3859	91,7	96,7	99,1	84,66	24	1,4968
23,8	40,55 ± 1,06	0,285	91,7	96,7	99,1	82,79	25	1,2234
24,2 ± 0,03	40,95 ± 1,03	0,2704	94,1	98,3	99,8	86,27	24	1,1349
24,7	38,67 ± 1,10	0,3077	97,0	100,0	100,0	90	26	1,6521
24,8	42,04 ± 1,41	0,5049	89,4	95,0	98,2	77,33	24	1,8435
25,2 ± 0,03	38,71 ± 1,11	0,3149	94,1	98,3	99,8	84,78	26	1,6548
26,0 ± 0,03	36,69 ± 1,23	0,3845	91,7	96,7	99,1	81,06	27	2,4612
26,4 ± 0,03	40,07 ± 1,56	0,6188	91,7	96,7	99,1	82,79	25	2,7849
26,8 ± 0,03	43,20 ± 1,60	0,6522	90,5	95,8	98,7	82,05	23	2,1535
27,3 ± 0,03	37,54 ± 1,59	0,6471	89,4	95,0	98,2	79,07	27	3,7131
27,8 ± 0,03	40,49 ± 1,87	0,8913	90,5	95,8	98,7	78,45	25	3,8146
28,3 ± 0,03	38,95 ± 1,48	0,5615	89,4	95,0	98,2	79,07	26	2,7821
28,8 ± 0,04	35,43 ± 1,36	0,4707	87,2	93,3	97,1	77,65	28	3,3460
29,2 ± 0,03	36,56 ± 1,46	0,5462	89,4	95,0	98,2	77,33	27	3,4847
29,6 ± 0,03	36,72 ± 1,77	0,8027	92,9	97,5	99,5	82,17	27	5,6048
30,1 ± 0,02	36,83 ± 1,50	0,5746	91,7	96,7	99,1	79,57	27	3,6232
30,4 ± 0,03	37,47 ± 1,75	0,7782	89,4	95,0	98,2	79,44	27	4,4986
31,0 ± 0,03	34,69 ± 1,33	0,4504	91,7	96,7	99,1	82,54	29	3,6082
31,4 ± 0,03	35,69 ± 2,06	1,0768	90,5	95,8	98,7	79,94	28	7,6347



$T \pm t_{(0,95)}St$ (°C) ^(a)	Tempo médio de germinação (h)		Germinabilidade				Velocidade média de germinação	
	$t \pm t_{(0,95)}St$ ^(b)	S^2T ^(c)	Gi (%) ^(d)	G (%) ^(e)	Gs (%) ^(f)	θ ^(g)	$V (h^{-1} \cdot 10^{-3})$ ^(h)	$S^2 (h^{-2} \cdot 10^{-5})$ ⁽ⁱ⁾
31,8 ± 0,03	32,97 ± 1,52	0,5167	91,7	96,7	99,1	82,54	30	5,7638
32,3 ± 0,03	35,13 ± 1,66	0,7000	90,5	95,8	98,7	79,94	28	5,2852
32,8 ± 0,03	32,28 ± 1,35	0,4680	90,5	95,8	98,7	81,68	31	4,9577
33,3 ± 0,02	33,29 ± 1,44	0,5308	87,2	93,3	97,1	79,31	30	4,8430
33,7 ± 0,03	34,30 ± 1,62	0,6714	90,5	95,8	98,7	81,68	29	5,5811
34,2 ± 0,03	35,85 ± 1,85	0,8725	85,2	91,7	95,4	73,72	28	5,8076
34,6 ± 0,03	34,40 ± 1,73	0,7638	85,2	91,7	95,4	73,72	29	6,0001
34,9 ± 0,03	40,43 ± 2,29	1,3402	86,2	92,5	96,5	74,59	25	5,5662
35,1 ± 0,07	34,34 ± 1,74	0,7755	88,3	94,2	97,6	77,95	29	6,3048
35,2 ± 0,07	39,86 ± 2,22	1,2515	94,1	98,3	99,8	84,78	25	5,8474
36,0 ± 0,07	39,09 ± 2,25	1,2893	89,4	95,0	98,2	79,07	26	6,2966
36,5 ± 0,07	40,70 ± 2,46	1,5384	90,5	95,8	98,7	79,94	25	6,4502
36,8 ± 0,05	47,85 ± 3,48	3,0819	75,4	83,3	89,5	71,02	21	6,2321
37,4 ± 0,07	49,08 ± 3,44	3,0262	71,7	80,0	86,7	64,08	20	5,0054
37,8 ± 0,07	50,59 ± 5,05	6,5023	47,3	56,7	65,6	49,06	20	6,7511
38,4 ± 0,07	54,22 ± 5,99	8,9787	28,9	37,5	46,8	37,70	18	4,6743
38,9 ± 0,07	47,71 ± 7,43	13,1147	15,4	22,5	31,0	28,16	21	7,0103
39,3 ± 0,06	39,20 ± 6,16	8,7242	10,5	16,7	24,6	23,46	26	7,3894
39,8 ± 0,06	46,00 ± 10,09	21,4545	5,3	10,0	16,9	18,48	22	5,7500
40,3 ± 0,06	32,00	-----	0,02	0,8	4,6	3,61	31	-----

$T \pm t_{(0,95)St}$ (°C) ^(a)	Tempo médio de germinação (h)		Germinabilidade				Velocidade média de germinação	
	$t \pm t_{(0,95)St}$ ^(b)	S^2T ^(c)	Gi (%) ^(d)	G (%) ^(e)	Gs (%) ^(f)	θ ^(g)	$V (h^{-1} \cdot 10^{-3})$ ^(h)	$S^2 (h^{-2} \cdot 10^{-5})$ ⁽ⁱ⁾
40,6 ± 0,05	56,00	-----	0,02	0,8	4,6	3,61	18	-----
41,2 ± 0,05	0	-----	0,0	0,0	3,0	1,28	0	-----

(a) Temperatura ± intervalo de confiança (Clopper e Pearson, 1934 em Documenta Geigy, 1965)

(b) Tempo médio ± intervalo de confiança (Labouriau, 1967)

(c) Variância do tempo médio de germinação (Labouriau, 1967)

(d) Limite inferior da germinabilidade (Clopper e Pearson, 1934 em Documenta Geigy, 1965)

(e) Porcentagem média de germinação

(f) Limite superior da germinabilidade (Clopper e Pearson, 1934 em Documenta Geigy, 1965)

(g) Arc sen SQRT(G + 0,05)

(h) Velocidade média de germinação (Labouriau, 1970)

(i) Variância da velocidade média de germinação (Labouriau, 1972)

Tabela 6. Limites extremos de temperatura de germinação de sementes de *Sesbania virgata*.

$T \pm t_{(0,95)} St$ ($^{\circ}C$) ^(a)	Germinabilidade (%) $\alpha = 0,05$		
	G_i ^(b)	$G\%$ ^(c)	G_s ^(d)
6,5 \pm 0,08	0,0	0,0	3,0
7,0 \pm 0,08	2,9	6,7	12,8
7,4 \pm 0,08	32,8	41,7	51,0
7,9 \pm 0,07	54,0	63,3	71,9
conclusão	7,0 \leq T_{min.} < 7,4		
39,3 \pm 0,06	10,5	16,7	24,6
39,8 \pm 0,06	5,3	10,0	16,9
40,3 \pm 0,06	0,02	0,8	4,6
40,6 \pm 0,05	0,02	0,8	4,6
41,2 \pm 0,05	0,0	0,0	3,0
conclusão	39,8 < T_{máx.} \leq 40,3		

(a) Temperatura \pm intervalo de confiança (Clopper e Pearson, 1934 em Documenta Geigy, 1965)

(b) Limite inferior da germinabilidade (Clopper e Pearson, 1934 em Documenta Geigy, 1965)

(c) Porcentagem média de germinação

(d) Limite superior da germinabilidade (Clopper e Pearson, 1934 em Documenta Geigy, 1965)

Tabela 7. Teste de homogeneidade de variâncias das velocidades de germinação de sementes de *Sesbania virgata*, mantidas em temperaturas isotérmicas.

$T \pm t_{(0,95)}St$ ($^{\circ}C$) ^(a)	X^2 ajustado ^(b)	$T \pm t_{(0,95)}St$ ($^{\circ}C$) ^(a)	X^2 ajustado ^(b)
7,0 ± 0,08	75,78 *	18,1 ± 0	2,58
7,4 ± 0,08	176,14 *	18,6	1,25
7,9 ± 0,07	40,52 *	19,0 ± 0,03	0,95
8,4 ± 0,08	61,19 *	19,3	2,02
8,9 ± 0,06	50,02 *	19,7	0,31
9,3 ± 0,06	51,54 *	20,3 ± 0,03	1,94
9,7 ± 0,06	9,00	20,4	2,26
10,2 ± 0,05	20,39 *	21,0 ± 0,02	0,20
10,8 ± 0,04	12,84 *	21,4	1,15
11,0 ± 0,04	4,44	21,8	2,46
11,6 ± 0,03	4,88	22,2	1,92
12,0 ± 0,01	4,82	22,6 ± 0,04	1,14
12,4 ± 0,01	1,95	23,1	7,40
12,8 ± 0,01	9,05	23,4	4,49
13,4 ± 0,03	1,06	23,8	4,79
13,7 ± 0,01	0,57	24,2 ± 0,03	1,87
14,1 ± 0,03	5,15	24,7	0,31
14,5	1,39	24,8	2,67
14,9 ± 0,01	5,05	25,2 ± 0,03	0,20
15,2 ± 0,03	2,74	26,0 ± 0,03	1,02
15,5 ± 0,01	0,92	26,4 ± 0,03	1,73
16,3 ± 0,03	0,98	26,8 ± 0,03	0,72
16,8 ± 0,02	0,14	27,3 ± 0,03	2,30
17,2 ± 0,02	0,23	27,8 ± 0,03	0,82

$T \pm t_{(0,95)}St$ ($^{\circ}C$) ^(a)	X^2 ajustado ^(b)	$T \pm t_{(0,95)}St$ ($^{\circ}C$) ^(a)	X^2 ajustado ^(b)
17,7 ± 0,02	4,23	28,3 ± 0,03	0,63
28,8 ± 0,04	1,22	34,6 ± 0,03	0,62
29,2 ± 0,03	0,54	34,9 ± 0,03	0,32
29,6 ± 0,03	0,06	35,1 ± 0,07	0,38
30,1 ± 0,02	0,39	35,2 ± 0,07	0,11
30,4 ± 0,03	2,45	36,0 ± 0,07	0,67
31,0 ± 0,03	0,72	36,5 ± 0,07	0,36
31,4 ± 0,03	0,48	36,8 ± 0,05	2,18
31,8 ± 0,03	1,02	37,4 ± 0,07	1,34
32,3 ± 0,03	0,41	37,8 ± 0,07	4,51
32,8 ± 0,03	0,90	38,4 ± 0,07	5,35
33,3 ± 0,02	1,06	38,9 ± 0,07	9,33
33,7 ± 0,03	0,34	39,3 ± 0,06	7,40
34,2 ± 0,03	1,85	39,8 ± 0,06	4,45

(a) Temperatura ± intervalo de confiança (Clopper e Pearson, 1934 em Documenta Geigy, 1965)

(b) Teste de Bartlett a 5% de significância (Sokal e Rohlf, 1969)

X^2 tabelado = 9,49

* diferem significativamente a 5%

Tabela 8. Viabilidade média de sementes de *Sesbania virgata* mantidas em diferentes temperaturas isotérmicas.

Temperatura (°C)	Germinabilidade (%)	Viabilidade (%)		
		Média	Erro padrão	C.V.
5,2 ^(a)	0,0	98,9	1,09	2,20
5,6 ^(a)	0,0	98,0	1,15	2,36
6,5 ^(a)	0,0	99,0	1,0	2,02
7,0 ^(a)	6,7	93,8	2,7	5,76
25,0	98,3	100,0	0	0
30,3	95,0	98,3	0,96	1,96
35,3	98,3	98,3	0,96	1,96
36,1	95,0	100,0	0	0
37,0	83,3	99,2	0,83	1,68
37,8	56,7	99,2	0,83	1,68
38,3	37,5	100,0	0	0
39,4	16,7	99,2	0,83	1,68
40,3	0,8	100,0	0	0
41,3	0,0	97,5	0,83	1,71

(a) Teste de viabilidade realizado após 578 horas de exposição ao tratamento térmico.

Nos demais tratamentos, os testes de viabilidade foram realizados com sementes incubadas por 72 horas.

5. DISCUSSÃO

5.1. Aleatoriedade, homogeneidade e conteúdo de água das sementes

A utilização de amostras aleatórias, homogêneas e com bom ajuste a curva normal, são de grande significado para o estudo de efeitos biológicos, uma vez que os resultados obtidos a partir dos experimentos realizados com essas amostras, podem ser extrapolados para toda uma população (preferencialmente a população de origem das sementes), com segurança de que os dados não são tendenciosos, em função da seleção de alguma característica específica. Segundo Labouriau (1967), bons ajustes a curva normal também garantem a ausência de subpopulações segregantes de sementes, detectáveis por meio do peso de matéria fresca.

Ainda com relação à distribuição dos valores de frequência de peso de matéria fresca, parâmetros tais como assimetria e curtose podem sugerir relações entre as características intrínsecas da população estudada.

A presença da baixa assimetria à esquerda e o valor da moda superior ao valor da média de peso de matéria fresca, sugerem o predomínio de sementes “grandes” nesta população. Além dessa característica, a platicurticidade da curva caracteriza uma distribuição de valores de peso de matéria fresca não extremos.

Com relação ao conteúdo de água das sementes, tanto o valor obtido para sementes secas por 16 horas, quanto o obtido para as secas até alcançar peso constante, assemelham-se ao conteúdo de água de muitas espécies. Dentre elas pode-se citar *Calotropis procera*, contendo 12,3% (Labouriau e Valadares, 1976); *Salvia hispanica*, 14 % (Labouriau e Agudo, 1987a) e *Cosmos sulphureus.*, com 12,04 % de água (Borghetti e Labouriau, 1994). Ao contrário de *Calotropis procera*, a qual necessita de um longo período para secagem total de suas sementes (45 dias), devido a sua grande capacidade de retenção de água e a natureza da fração hidrofílica de

suas proteínas de reserva (Crocker e Barton, citados por Labouriau e Valadares, 1976), *Sesbania virgata* pode ser desidratada facilmente em um período curto de 24 horas.

Por apresentar baixo conteúdo de água de suas sementes (10 a 12%), caracterizando-as como ortodoxa e por possuir tegumento impermeável à água, *Sesbania virgata* possui maiores possibilidades de manutenção de sua longevidade. Por possuir essas características, a germinação das sementes desta espécie em condições ambientais desfavoráveis pode ser prevenida, além de possibilitar o armazenamento de suas sementes mais facilmente, com menos riscos de perda de viabilidade.

5.2. Efeito da luz na germinação das sementes

A luz exerce controle na germinação de muitas sementes (Wesson e Wareing, 1969; Maguire, 1973). Dentre as espécies cultivadas existem poucas evidências da luz influenciando no processo de germinação. Na maioria dos casos, as sementes são indiferentes à luz. Por outro lado, entre as espécies não domesticadas, pode-se observar grande variedade de comportamento com relação a esse efeito (Mayer e Poljakoff-Mayber, 1989).

As sementes de *Sesbania virgata*, do mesmo modo que *Pereskia aculeata* (Dau e Labouriau, 1974) são indiferentes à luz, ao contrário de muitas outras espécies, tais como *Lactuca scariola*, *Salvia pratense*, *Veronica arvensis* (Kingel, citado por Mayer e Poljakoff-Mayber, 1989); *Aphanes arvensis*, *Chrysanthemum segetum*, *Leontodom autumnalis*, *Myosotis arvensis* (Wesson e Waring, 1969) e *Erechtites valerianaefolia* (Zayat, 1993), que apresentam fotoblastismo positivo.

É sabido que os efeitos de estímulo e inibição da luz branca são simplesmente duas facetas de um mesmo mecanismo, onde uma cromoproteína, o fitocromo, pode ser estimulado a permanecer em sua forma ativa ou inativa, dependendo da qualidade, intensidade e duração de exposição da semente à luz (Smith, 1973). Além disso, possivelmente todas as sementes não sensíveis a este fator, podem adquirir sensibilidade, por meio de vários outros tratamentos de estresse (Smith, 1973) ou pós-maturação.

Um dos fatores que pode alterar o comportamento fotoblástico das sementes é a temperatura. Borghetti e Labouriau (1994), verificaram que sementes de *Cosmos sulphureus* mantidas em diferentes temperaturas, variando de 20 a 30°C, sob luz intermitente e no escuro, apresentaram diferentes respostas de germinabilidade e velocidade de germinação. Quando as

sementes dessa espécie foram mantidas a 20°C, comportaram-se como fotoblásticas positivas; entretanto, a 30°C tornaram-se indiferentes à luz. Resultados semelhantes foram obtidos por Labouriau e Agudo (1987b), estudando os efeitos da interação luz e temperatura na germinação de sementes de *Salvia hispanica*.

Deve-se ressaltar que o caráter fotoblástico de uma semente é determinado na maioria das vezes em uma única temperatura, não sendo necessariamente a temperatura ótima de germinação. Resultados obtidos por Klein e Felipe (1991) especificam a sensibilidade à luz de 43 espécies de ervas invasoras, determinadas à temperatura única de 25°C. No caso específico de *Sesbania virgata*, a resposta de suas sementes indiferente ao fator luz, quando analisados os parâmetros germinabilidade, velocidade de germinação e padrão protéico, deve ser considerada observando que esse fato está limitado ao experimento em uma única temperatura (30,5°C). Possivelmente, alterações de temperatura em condições de luz e escuro, podem propiciar o aparecimento de resultados diferentes para esta espécie.

Apesar do fotoblastismo estar sujeito a alterações dependentes das condições as quais a planta-mãe e as sementes são expostas (Fenner, 1985), o caráter indiferença à luz para a germinação das sementes de *Sesbania virgata*, observado nas condições do experimento, sugere que a espécie pode propagar seus indivíduos, mais facilmente, em ambientes naturais, tais como clareiras ou interiores de matas, onde a luz é fator limitante para a germinação de algumas espécies, possibilitando a redução de competição, aumentando assim, as chances de sobrevivência de sua população.

Embora a maioria dos resultados experimentais obtidos com as diferentes espécies sejam consistentes com a hipótese de que o controle da germinação pelo fitocromo é um mecanismo que permite a adaptação das sementes aos efeitos de clareiras, não necessariamente existem provas reais sobre isso (Smith, 1973).

5.3. Germinação de sementes em temperaturas isotérmicas

A alta heterogeneidade observada entre as variâncias dos valores de germinabilidade e dos valores de velocidade média de germinação, representam uma característica intrínseca da espécie, que se pronuncia mais acentuadamente quando as sementes são submetidas a condições menos favoráveis. Labouriau e Pacheco (1979), trabalhando com *Dolichos biflorus*, verificaram que a heterogeneidade das variâncias das velocidades médias de germinação mantinha-se alta, independentemente das transformações estatísticas aplicadas sobre os dados.

Essa característica intrínseca das sementes, apresentando alta heterogeneidade das variâncias, principalmente no que se refere ao parâmetro velocidade de germinação, ecologicamente apresenta um significado. Para as diferentes espécies, uma maior distribuição temporal da germinação de suas sementes, quando mantidas em condições desfavoráveis, pode assegurar um aumento de chances para ocorrência da germinação e formação da plântula em condições ambientais mais favoráveis. Deste modo, a probabilidade de que alguns dos indivíduos da espécie ultrapassem uma das fases limitantes de seu desenvolvimento, é aumentada.

Com relação à comparação das variâncias de germinabilidade entre as diferentes temperaturas isotérmicas (Kruskal Wallis), pode-se observar a existência de um pequeno número de tratamentos, que forcem a ocorrência de valores com diferenças estatisticamente significativas. A faixa ótima de germinabilidade das sementes de *Sesbania virgata* é bastante ampla, excetuando-se apenas cinco temperaturas infra-ótimas e dez supra-ótimas, das 80 diferentes temperaturas testadas. Isso significa dizer que a maioria dos tratamentos apresentam valores de germinabilidade altos e semelhantes entre si, numa faixa térmica ampla (8,9 a 36,5°C). Fora dessa faixa observa-se que a queda na germinabilidade das sementes é brusca tanto para as temperaturas supra-ótimas, quanto para as infra-ótimas, sugerindo a existência de processos limitantes, que efetivamente inibem parcial ou totalmente a germinação das sementes nestas temperaturas. Esta mesma característica pode ser observada em sementes de *Pereskia aculeata* (Dau e Labouriau, 1974), *Dolichos biflorus* (Labouriau e Pacheco, 1979) e *Licopersicum esculentum* (Labouriau e Osborn, 1984). Por outro lado, sementes de *Salvia hispanica* apresentam uma pequena faixa de temperatura ótima para germinabilidade (15,0 a 25,7°C), com queda gradativa da porcentagem de germinação em direção às temperaturas extremas (Labouriau e Agudo, 1987a), quando comparada às demais espécies citadas.

Sendo uma espécie de região tropical, a ampla faixa de germinação das sementes de *Sesbania virgata*, propicia-lhe maiores chances de sucesso na propagação de seus indivíduos, mesmo em regiões onde vigoram temperaturas abaixo de 10°C, consideradas prejudiciais às espécies sensíveis a baixas temperaturas. Da mesma maneira, possibilita à espécie a germinação de suas sementes tanto no verão, quanto no inverno, desde que a água não seja fator limitante.

É possível descrever a faixa ótima, a infra-ótima e a supra-ótima de germinabilidade, por meio de equações lineares do tipo $Y = a + b.x$. Entretanto esse procedimento não parece ser necessário, devido a facilidade de determinação dessas faixas por meio da interpolação linear dos intervalos de confiança.

Contrastando os resultados de germinabilidade com os de viabilidade, obtidos em algumas temperaturas infra-ótimas e nas supra-ótimas, verifica-se que em ambos os casos essas temperaturas promovem a repressão da germinação das sementes. Enquanto que nas temperaturas infra-ótimas (5,2; 5,6; 6,5 e 7,0°C) e nas supra-ótimas (39,4; 40,3 e 41,3°C), a germinabilidade aproxima-se de zero, a viabilidade, por outro lado, é de aproximadamente 100 %. Esses resultados sugerem três possíveis causas para ocorrência da queda de germinabilidade: a) ocorrência de inibição de síntese de enzimas catalíticas que seriam responsáveis pela degradação de proteínas preexistentes, b) síntese de proteínas repressoras, possivelmente agindo junto aos sítios ativos das enzimas catalíticas e c) transconformação protéica, impedindo a exposição de sítios ativos para a reação específica enzima-substrato.

Deve-se ressaltar, entretanto, que a exposição das sementes de *Sesbania virgata* a temperaturas supra-ótimas por períodos acima de 72 horas, pode propiciar a redução de seus valores de viabilidade, devido a ocorrência de morte celular, tal como observado em pré-teste com sementes incubadas por períodos de até 120 horas.

Com relação à cinética do processo de germinação, apesar dos intervalos de temperatura entre 16,3 a 18,1°C; 19,7 a 21,4°C; 23,4 a 24,8°C e 36,8 a 40,3°C também apresentarem valores estatisticamente semelhantes, por meio das comparações binárias de Mann-Whitney, somente a faixa de temperatura entre 31,0 a 34,6°C pode ser considerada como o intervalo ótimo de temperatura para germinação de sementes de *Sesbania virgata*. Nesta faixa, a média dos valores das velocidades médias de germinação são superiores aos dos demais tratamentos ($V = 29,1 \text{ h}^{-1} \cdot 10^{-3}$), além de apresentar elevados valores de germinabilidade.

Diferente de *Sesbania virgata*, *Lycopersicon esculentum* (Labouriau e Osborn, 1984), *Dolichos biflorus* (Labouriau e Pacheco, 1979) e *Salvia hispanica* (Labouriau e Agudo, 1987a), algumas espécies tais como *Pereskia aculeata* (Dau e Labouriau, 1974) e *Vicia graminea* (Labouriau, 1967), apresentam uma convergência para um único valor de temperatura ótima de germinação. Essa característica confere à espécie uma menor faixa ótima de temperatura de germinação, reduzindo as chances de ocorrência de germinação em condições ideais, diferente da espécie que possui uma ampla faixa de temperatura ótima na qual as sementes germinam.

Aplicando-se um modelo matemático para a descrição do comportamento cinético da velocidade de germinação, verifica-se claramente que a utilização da equação de regressão linear dos valores de velocidade só é possível para as temperaturas infra-ótimas, por apresentarem uma tendência numérica crescente com a temperatura. Por outro lado, os valores de velocidade média de germinação nas temperaturas supra-ótimas não são regulares, apresentando oscilações bruscas nas temperaturas mais extremas (39,3 e 40,3°C). Em função desses dados, sugere-se que as temperaturas infra-ótimas possibilitam uma maior distribuição da germinação ao longo do tempo, uma vez que as sementes apresentam tolerância a baixas temperaturas, podendo manter-se íntegras por longos períodos ($T \leq 578$ horas). Por outro lado, a germinação das poucas sementes em temperaturas supra-ótimas extremas, ocorre a velocidades similares ou maiores que as da faixa de temperatura ótima de germinação, possivelmente como adaptação para evitar a morte celular, que ocorre em poucas horas ($T < 120$ horas). Nesse caso a germinação das sementes não pode ser distribuída por longos períodos de tempo.

5.4. Entalpia de Ativação

A não linearidade do gráfico de Arrhenius demonstra a ausência de um único processo controlador da velocidade de germinação das sementes (Labouriau, 1972; Labouriau, 1978; Labouriau, 1983a). Essa evidência do desvio do gráfico de Arrhenius corrobora com a abordagem da germinação de sementes como um sistema subdividido em vários processos parciais (Labouriau e Osborn, 1984; Mayer e Poljakoff-Mayber, 1989).

Além dos dados experimentais biológicos obtidos em diferentes trabalhos, demonstrando a não linearidade do gráfico de Arrhenius, Labouriau e Labouriau (1991) demonstraram

matematicamente que a energia de ativação das velocidades dos processos fisiológicos não é uma constante, nem tão pouco uma função linear da temperatura.

Verifica-se que entre 14,9 e 30,4°C, temperaturas estas abaixo do intervalo ótimo para a germinação das sementes de *Sesbania virgata* (31,0 a 34,2°C), as limitações do processo de germinação podem estar relacionadas à difusão ($|\Delta H^*| < 12 \text{ Kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$). Na maioria das espécies estudadas quanto a esse parâmetro (ΔH^*), a faixa ótima de germinação geralmente está localizada dentro do intervalo de temperatura no qual $|\Delta H^*| < 12 \text{ Kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ (Labouriau e Osborn, 1984; Labouriau e Pacheco, 1979). Em *Salvia hispanica* (Labouriau e Agudo, 1987a), espécie que apresenta duas faixas ótimas de temperatura, não intersectáveis, verificou-se que a primeira faixa ótima de temperatura não se localizava no intervalo de temperatura no qual $|\Delta H^*| < 12 \text{ Kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$.

Para as temperaturas infra-ótimas e supra-ótimas, verifica-se que abaixo de 11°C e acima de 35,1°C, respectivamente, o valor de ΔH^* , em módulo, é maior que 30 Kcal \cdot mol⁻¹, quantidade energética que sugere a ocorrência de transição de fase ou transconformações de proteínas (Labouriau, 1972; Labouriau, 1978; Labouriau, 1983a). Segundo os mesmos autores, nas temperaturas supra-ótimas onde $\Delta H^* \geq -30 \text{ Kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$, a limitação da velocidade seria causada por processos parciais destrutivos, acarretando em mudanças configuracionais (desnaturação protéica) que competem com o processo de germinação. A existência de valores energéticos menores que zero (ΔH^* negativo), significa uma redução no número de moléculas ativas com o aumento de temperatura. Isso implica necessariamente na existência de um mecanismo de particionamento de energia superposto às colisões moleculares elásticas, em contradição a uma das premissas básicas da equação de Arrhenius (Labouriau, 1972; Labouriau, 1978; Labouriau, 1983a). Por outro lado, nas temperaturas infra-ótimas, onde o $\Delta H^* \geq 30 \text{ Kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$, a limitação seria imposta por processos sinérgicos que corroboram para o crescimento do embrião.

A transconformação protéica parece ser o fator limitante mais importante na germinação de sementes em temperaturas extremas. Labouriau (1980), verificou que sementes de *Sesamum indicum* tratadas com óxido de deutério (D₂O) apresentam elevações da temperatura mínima de germinação, conforme aumenta-se a concentração de D₂O no meio. Segundo vários autores, a água pesada está envolvida com o aumento da estabilidade e proteção das proteínas de possíveis desnaturações (referências em Labouriau, 1980). Para as sementes de *Sesamum indicum*,

Labouriau (1980) sugere que o D₂O estaria causando o dobramento excessivo das proteínas, não permitindo assim, que os centros de reação fiquem expostos para reagir com seus substratos. Somente um incremento do movimento térmico aleatório, obtido pela elevação de temperatura, possibilita a reversão do processo estabelecido pelo D₂O, causando a elevação da temperatura mínima de germinação.

Por outro lado, próximo ao limite superior de germinação, T_{Máx.}, a estabilização da conformação das proteínas pelo D₂O evita a termodesnaturação, como conseqüência, a T_{Máx.} tende a aumentar (Labouriau, 1980). Em experimentos com sementes de *Vicia graminea*, verificou-se aumentos na temperatura máxima de germinação, conforme aumentava-se a concentração de D₂O no meio (Labouriau, 1977b).

5.5 . Padrões protéicos de sementes mantidas em temperaturas supra e infra-ótimas

A superação da dormência em sementes está associada ao aumento da capacidade de síntese protéica, controlada principalmente ao nível de tradução (Ross, 1984).

Comparando-se os padrões protéicos obtidos para sementes de *Sesbania virgata* mantidas em temperaturas infra-ótimas (5,1; 6,5; 7,4 e 8,4°C) e a 30,5°C, entre si, observa-se que a supressão da germinação induzida por baixas temperaturas pode estar envolvida com a existência de três grupos de proteínas (90,4; 57,5 e 39,9 KDa), também presentes em sementes secas. Conforme aumenta-se a temperatura (7,4 e 8,4°C), possibilitando a germinação de algumas sementes, observa-se que essas proteínas têm suas concentrações reduzidas, ou então, estão ausentes, como no padrão protéico do controle (30,5°C). Por outro lado, a síntese de um grupo de proteínas de 42,6 KDa e outro de 46,8 KDa, também parece ser fundamental para que a semente dessa espécie germine. As diferenças de padrão protéico em temperaturas infra-ótimas também podem interferir na velocidade de germinação das sementes, principalmente no que se refere a concentração das proteínas.

Com relação às temperaturas supra-ótimas, os padrões protéicos obtidos a partir de sementes não germinadas sob as temperaturas de 37,3; 37,8; 38,3; 39,4; 40,3 e 41,3°C, apresentaram-se semelhantes entre si, mas diferentes do padrão das sementes germinadas a 30,5°C. Do mesmo modo que para as temperaturas infra-ótimas, as temperaturas supra-ótimas induziram a dormência parcial ou total das sementes. Não foi observada a redução da

concentração de um grupo de proteínas de aproximadamente 90 KDa, nem a síntese expressiva dos grupos de 46,8 e 42,6 KDa, nos padrões das temperaturas supra-ótimas, supostamente fundamentais para a ocorrência de germinação. Por outro lado, apareceram duas bandas protéicas de 20,9 e 11,9 KDa, que podem estar relacionadas não com a indução da dormência, mas com a termotolerância das sementes de *Sesbania virgata* a altas temperaturas.

Resultados obtidos por outros autores corroboram com os obtidos para *Sesbania virgata*, onde a inabilidade para ocorrência de germinação estaria ligada a inibição de síntese ou desnaturação protéica.

Segundo Simon (1979), a inabilidade das sementes para germinar em temperaturas baixas não estaria relacionada a uma disfunção da mitocôndria ou algum sistema enzimático ligado a membrana, nem tão pouco devido à ocorrência de divisão celular ou necessidade de algum hormônio ou outro metabólito, mas sim devido à inabilidade de síntese ou desnaturação de alguma proteína.

Slater e Bryant (1982), citados por Ross (1984), sugerem que o aumento do potencial de crescimento promovido por baixas temperaturas (chilling), em *Acer* é atribuído a um aumento no maquinário de síntese protéica, principalmente RNA ribossômico (rRNA). Por outro lado, Wood e Bryant (1982), citados por Ross (1984), observaram que a proporção de RNA mensageiro (mRNA) nesse gênero decresceu durante o tratamento a baixas temperaturas, além de não serem detectadas diferenças protéicas entre os tratamentos.

Deve-se ressaltar que pequenas mudanças na estrutura primária das proteínas, ou seja, substituição de algum resíduo de aminoácido em grandes proteínas, é suficiente para alterar a termoestabilidade em vários graus Celsius (Ljungdahl, 1987).

As proteínas de choque térmico têm grande importância fisiológica, parecendo ter papel crítico na proteção das células contra danos causados por altas temperaturas e possivelmente por outros estresses (Nagao, 1989). Entretanto, segundo este autor, a interpretação da importância das proteínas de choque térmico para a aquisição da termotolerância é complexa, visto que algumas dessas proteínas apresentam importantes funções sob condições fisiológicas normais, da mesma maneira que durante a existência de estresses provocados por altas temperaturas. Outro fator seria a complexidade do fenômeno de termotolerância, que apresenta outros parâmetros em adição à síntese e funcionamento das proteínas de choque térmico (Nagao, 1989).

Em plantas superiores, observa-se três grupos de proteínas de choque térmico, de diferentes tamanhos, sendo o primeiro composto por proteínas de 68 a 104 KDa; o segundo com tamanho intermediário, variando de 20 a 33 KDa e o terceiro, com proteínas de 15 a 18 KDa, exclusivo de plantas superiores (Sachs e Ho, 1986). Entretanto, a indução das HSP parece durar poucas horas, apesar da presença contínua das temperaturas elevadas (Sachs e Ho, 1986).

Em plantas superiores, especialmente monocotiledôneas, poucas proteínas de choque térmico de baixo peso molecular são sintetizadas em tecidos teoricamente não estressados (Mansfield e Key, citados por Nguyem et al. 1989).

As proteínas de choque térmico mais abundantes produzidas por plantas, correspondem a um grupo complexo de proteínas de baixo peso molecular (15 a 30 KDa), que apresentam grande homologia com proteínas de baixo peso molecular de outros eucariontes (Gurley et al.; Nagao et al., citados por Vierling e Sun, 1989). Em *S. virgata*, observa-se a presença de duas proteínas de baixo peso molecular, possivelmente, HSPs, relacionadas a termoestabilidade e viabilidade de suas sementes.

6. CONCLUSÕES

- A ocorrência de lesões térmicas em sementes de *Sesbania virgata* ocorre somente em temperaturas supra-ótimas extremas, em períodos superiores a 72 horas, com perda de sua viabilidade;
- A indiferença ao fator luz e a ampla faixa de temperatura de germinação das sementes de *Sesbania virgata*, permite a propagação da espécie em ambientes variados onde a água e a composição de gases do meio não sejam fatores limitantes;
- A limitação do processo de germinação de *Sesbania virgata* em temperaturas infra e supra-ótimas pode estar relacionada a duas principais causas: 1) transconformação das proteínas, evitando a interação de seus sítios catalíticos com o substrato ou alterando a estrutura do substrato, no caso do substrato ser outra proteína e 2) a inabilidade de síntese de proteínas por inibição do processo de transcrição ou tradução protéica;
- A presença de proteínas de baixo peso molecular nos padrões protéicos de sementes mantidas em temperaturas supra-ótimas, podem estar relacionadas com a manutenção provisória da viabilidade destas sementes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDROV, V.Y. Conformational flexibility of proteins, their resistance to proteinases and temperature conditions of life. **Currents in Modern Biology**, Amsterdam, v.3, p.9-19. 1969.
- ALLEN, O.N.; ALLEN, E.K. **The Leguminosae**. A source book of characteristics, uses, and nodulation. Madison: University of Wisconsin Press, 1981. 812p.
- BANZATTO, D.A.; KRONKA, S. do N. **Experimentação agrícola**. 2.ed. Jaboticabal: UNESP, 1992. 247p.
- BELEHRÁDEK, J. Physiological aspects of heat and cold. **Annual Review of Physiology**, Palo Alto, v.19, p.59-82. 1957.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds - Physiology of development and germination**. 2.ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.
- BORGHETTI, F.; LABOURIAU, L.G. Inhibition of phytochrome by deuterium oxide in the germination of akenes of *Cosmos sulphureus* Cav. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v.46, n.3, p.177-181, maio/jun. 1994.
- CÔME, D.; TISSAOUI, T. Interrelated effects of imbibition, temperature and oxygen on seed germination. In: HEYDECKER W (ed.). **Seed Ecology**. London: Butterworths, 1973. p.157-168.

- DAU, L.; LABOURIAU, L.G. Temperature control of seed germination in *Pereskia aculeata* Mill. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, Rio de Janeiro, v.46, n.2, p.311-322. 1974.
- DOCUMENTA GEIGY. **Tablas Científicas**. 6.ed., Suíça: J.R. Geigy, 1965. 783 p.
- D'OREY, J.; LIBERATO, M.C. **Flora da Guiné Portuguesa - Papilionaceae**. Lisboa: Ministério do Ultramar, 1971. 172p.
- EISINGER, S.M. **Levantamento dos gêneros *Sesbania*, *Indigofera* e *Tephrosia* no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: UFRS, 1989. 94p. (Tese - Doutorado em Botânica).
- EVANS, P.R.; BOWLER, K. Thermal death and denaturation of proteins. **Sub -Cellular Biochemistry**, v.2, p.91-95. 1973.
- FENNER, M. **Seed ecology**. New York: Great Britain, 1985.
- FITTER, A. H.; HAY, R.K.M. **Environmental physiology of plants**. 2.ed. London: Academic Press, 1989. 423p.
- GRAAFF, J.L.; STADEN, J.V. The effect of different chemical and physical treatments on seed coat structure and seed germination of *Sesbania* species. **Zeitschrift Fur Pflanzenphysiologie**, New York, v.112, n.3, p.221-230. 1983.
- HARBORNE, J.B.; BOULTER, D.; TURNER, B.L. **Chemotaxonomy of the Leguminosae**. London: Academic Press, 1971. 612p.
- JOHNSON, F.H.; EYRING, H.; POLISSAR, M.J. **The kinetic basis of molecular biology**. 2.ed. USA: John Wiley, 1963. 874p.
- KLEIN, A.; FELIPPE, G.M. Efeito da luz na germinação de sementes de ervas invasoras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.26, n.7, p.955-966, jul. 1991.

- LABOURIAU, L.G. Sobre a fisiologia da germinação de sementes de *Vicia graminea* Sm. Rio de Janeiro: URRJ, 1967. 84p. (Tese - Livre Docência)
- LABOURIAU, L.G. On the physiology of seed germination in *Vicia graminea* Sm. - I. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, Rio de Janeiro, v.42, n.2, p.235-262, jun. 1970.
- LABOURIAU, L.G. On the physiology of seed germination in *Vicia graminea* Sm. II - An analysis of the temperature dependence of the seed germination rate. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, Rio de Janeiro, v.44, n.3/4, p.477-533, set/dez. 1972.
- LABOURIAU, L.G. A thermal - gradient block for germination experiments. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v.37, n.2, p.295-305, maio. 1977a.
- LABOURIAU, L.G. Shift of the maximum temperature of germination of *Vicia graminea* seeds following imbibition of deuterium oxide. **Journal of Thermal Biology**, Elmsford, v.2, p.11-114. 1977b.
- LABOURIAU, L.G. Seed germination as a thermobiological problem. **Radiation and Environmental Biophysics**, v.15, p.345-366. 1978.
- LABOURIAU, L.G. Effects of deuterium oxide on the lower temperature limit of seed germination. **Journal of Thermal Biology**, Elmsford, v.5, n.2, p.113-117, Abr. 1980.
- LABOURIAU, L.G. Uma nova linha de pesquisa na fisiologia da germinação das sementes. In: **SIMPÓSIO SOBRE REPRODUÇÃO DE PLANTAS. CONGRESSO DA SOCIEDADE BOTÂNICA DO BRASIL**, 34, Porto Alegre, 1983a, p.11-50.
- LABOURIAU, L.G. **A germinação das sementes**. Washington: Secretaria geral da organização dos estados americanos, 1983b. 174p.

- LABOURIAU, L.G.; AGUDO, M. On the physiology of seed germination in *Salvia hispanica* L.
I. Temperature effects. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, Rio de Janeiro, v.59, n.1, p.37-56. 1987a.
- LABOURIAU, L.G.; AGUDO, M. On the physiology of seed germination in *Salvia hispanica* L.
II. Light - temperature interections: preliminary results. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, Rio de Janeiro, v.59, n.1/2, p.57-68, mar. 1987b.
- LABOURIAU, L.G.; LABOURIAU, I.S. The Arrhenius plot of a physiological rate process is never linear. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v.43, n.5, p.363 -369, set/out. 1991.
- LABOURIAU, L.G.; OSBORN, J.H. Temperature dependence of the germination of tomato seeds. **Journal of Thermal Biology**, Elmsford, v.9, n.4, p.285-294, Oct. 1984.
- LABOURIAU, L.G.; PACHECO, A.A. Isothermal germination rates in seeds of *Dolichos biflorus* L. **Boletín de la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales**, Caracas, v.34, n.136, p.73-112. Mar. 1979.
- LABOURIAU, L.G.; VALADARES, M.E.B. On the physiology of seed of *Calotropis procera* (Ait.) Ait.f. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, Rio de Janeiro, v.48, n.2, p.264-284, jun. 1976.
- LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T. **Nature**, London, v.227, p.680-685, 1970.
- LANDRY, J.; LAMARCHE, S.; CHRETIEN, P. Heat shock proteins - A lead to the understanding of cell thermotolerance. In: HENLE, K.J. **Thermotolerance - thermotolerance and thermophily**. Florida: CRC Press, 1987. v.1, p.145-173.
- LEPOCK, J.R. Membrane lipids and proteins . In: HENLE, K.J. **Thermotolerance - mechanisms of heat resistance**. Florida: CRC Press, 1987. v.2, p.47-82.

- LEVITT, J. **Responses of plants to environmental stresses - chilling, freezing, and high temperature stress.** 2.ed. New York: Academic Press, 1980. v.1, 497p. (Physiological Ecology).
- LJUNGDAHL, L.G. Aspects of thermophily. In: HENLE, K.J. **Thermotolerance - thermotolerance and thermophily.** Florida: CRC Press, 1987. v.1, p.2-12.
- LYONS, J.M. Phase transitions and control of Cellular metabolism at low temperatures. **Cryobiology**, v.9, p.341-350. 1972.
- MAGUIRE, J.D. Physiological disorders in germinating seeds induced by the environment. In: HEYDECKER W (ed.). **Seed Ecology.** London: Butterworths, 1973. p.289-310.
- MARCOS FILHO, J.; CICERO, S.M.; SILVA, W.R. Teste de tetrazólio. In: **Avaliação da qualidade das sementes.** Piracicaba: FEALQ, 1987. p.109-148.
- MAYER, A. M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds.** 4.ed. England: Pergamon Press, 1989. 270p.
- MOYNIHAN, M.R.; ORDENTLICH, A.; RASKIN, I. Chilling -induced heat evolution in plants. **Plant Physiology**, Washington, v.108, n.3, p.995-999, July 1995.
- NAGAO, R.T. The heat shock response in plants: short - term heat treatment regimes and thermotolerance. In: CHERRY, J.H. **Environmental stress in plants - biochemical and physiological mechanisms.** Berlin: Springer - Verlag, 1989, v.19, p 331-342. (Ecological Sciences).
- NGUYEN, H.T.; KRISHNAN, M.; BURKE, J.J.; PORTER, D.R.; VIERLING, R.A. Genetic diversity of heat shock protein synthesis in cereal plants. In: CHERRY, J.H. **Environmental stress in plants - biochemical and physiological mechanisms.** Berlin: Springer - Verlag, 1989, v.19, p.319-330. (Ecological Sciences).

- POTT, A.; POTT, V. J. **Plantas do Pantanal**. Corumbá: EMBRAPA/CPAP/SPI, 1994, 320p.
- ROCH, I. de la. Mechanism of thermal tolerance. In: UNDERWOOD, L.S.; TIESZEN, L.L.; CALLAHAN, A.B.; FOLK, G.E. **Comparative mechanisms of cold adaptation**. New York: Academic Press, 1979. p.245-257.
- ROSE, A.H. **Thermobiology**. London: Academic Press, 1967. 653 p.
- ROSS, J.D. Metabolic Aspects of Dormancy. In: MURRAY, D. R. **Seed physiology - germination and reserve mobilization**. Australia: Academic Press, 1984. v.2, p.45-75.
- SACHS, M.M.; HO, T.D. Alteration of gene expression during environmental stress in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.37, p.363-376. 1986.
- SIEGEL, S. **Nonparametric statistics - for the behavioral sciences**. Tokio: McGraw-Hill Book, 1956. 312p.
- SILVEIRA, T.S.; LABOURIAU, L.G. Inhibition of light opening of the plumular hook of *Phaseolus vulgaris* L. by deuterium oxide. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v.55, n.2, p.283-291, jun. 1995.
- SIMON, E.W. Seed germination at low temperatures. In: LYONS, J.M.; GRAHAM, D.; RAISON, J.K. **Low temperature stress in crop plants - the role of the membrane**. New York: Academic Press, 1979. p.37-45.
- SIMON, E.W. Early events in germination. In: MURRAY, D. R. **Seed physiology - germination and reserve mobilization**. Australia: Academic Press, 1984. v.2, p.77-115.
- SMITH, H. Light quality and germination: ecological implications. In: HEYDECKER, W (ed.). **Seed Ecology**. London: Butterworths, 1973. p.219-231.

- SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. **Biometry**. USA: Freeman and Company, 1969. 776p.
- TAKASHI, C.R.; ALVARENGA, A.A.; OLIVEIRA, L.E.M. Estudo da germinação de *Sesbania punicea*. **Informativo Abrates**, Brasília, v.1, n.4, p.76, set. 1991.
- THOMPSON, P.A. Geographical adaptation of seeds. In: HEYDECKER W. **Seed Ecology**. London: Butterworths, 1973. p.31-58.
- THOMPSON Jr., G. A. Molecular changes in membrane lipids during cold stress. In: CHERRY, J.H. **Environmental stress in plants - biochemical and physiological mechanisms**. Berlin: Springer - Verlag, 1989, v.19, p.249-257. (Ecological Sciences).
- VIERLING, E.; SUN, A. Developmental expression of heat shock proteins in higher plants. In: CHERRY, J.H. **Environmental stress in plants - biochemical and physiological mechanisms**. Berlin: Springer - Verlag, 1989, v.19, p.343 - 354. (Ecological Sciences).
- VILELA, E.A.; OLIVEIRA-FILHO, A.T. de; CARVALHO, A. de C.; GAVILANES, M.L. Flora arbustivo-arbórea de um fragmento de mata ciliar no Alto Rio Grande, Itutinga, Minas Gerais. **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v.9, n.1, p.87-100. jul. 1995.
- ZAYAT, A.G. **Ecofisiologia da germinação de sementes de *Erechtites valerianaefolia* DC. (Asteraceae) cultivada em Uberlândia**. Uberlândia: UFU, 1993. 65p. (Monografia - Bacharelado em Ciências Biológicas).
- WAUGH, A.E. **Elementos da estatística**. 1.ed., Porto Alegre: Globo, 1959. 489p.
- WESSON, G.; WEREING, P.F. The role of light in the germination of naturally occurring populations of burried weed seeds. **Journal of Experimental Botany**, London, v.20, n.63, p.402-413. 1969.