

UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CÂMPUS DE BOTUCATU

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

METABOLISMO GERMINATIVO DE SEMENTES DE *Passiflora alata* Curtis

TRATADAS COM GIBERELINAS E CITOCININA

M.Sc. TAINARA BORTOLUCCI FERRARI

BOTUCATU - SP

- 2009 -

UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE BOTUCATU
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS

METABOLISMO GERMINATIVO DE SEMENTES DE *Passiflora alata* Curtis
TRATADAS COM GIBERELINAS E CITOCININA

M.Sc. TAINARA BORTOLUCCI FERRARI

PROF^ª DR^ª GISELA FERREIRA
ORIENTADORA

**Tese apresentada ao Instituto de
Biotecnologia, Câmpus de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de
Doutor em Ciências Biológicas
(Botânica), AC: Fisiologia Vegetal**

BOTUCATU - SP
- 2009 -

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO DE AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE

Ferrari, Tainara Bortolucci.

Metabolismo germinativo de sementes de *Passiflora alata* Curtis tratadas com giberelinas e citocinina / Tainara Bortolucci Ferrari. - Botucatu, 2009

Tese (doutorado) - Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2009.

Orientador: Gisela Ferreira
Assunto CAPES: 20303009

1. Germinação – Semente - Metabolismo. 2. Maracujá – Qualidade.

Palavras-chave: Amilase; Embebição; *Passiflora* sp; Propagação; Reguladores Vegetais.

"Comece fazendo o que é necessário, depois o que é possível, e de repente você estará fazendo o impossível."

(São Francisco de Assis)

"O único homem que está isento de erros, é aquele que não arrisca acertar."

(Albert Einstein)

"Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa, nunca tem medo e nunca se arrepende"

(Leonardo da Vinci)

Dedico esta conquista aos meus pais, **Luiz e Maria**,
pelo amor incondicional, por estarem sempre ao meu lado
em todas as minhas decisões, pelo esforço de uma vida inteira,
por terem me mostrado o caminho certo, pela educação que recebi,
por acreditarem sempre na minha capacidade, por terem me dado
a vida e a honra de tê-los como pais, meus pais!

Dedico também aos meus irmãos, **Tadeu e Tarso**,
que apesar da distância física sempre se fizeram presentes
através do estímulo, carinho, amor e apoio incondicional
em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, que é a inteligência suprema, que nos permite estar aqui neste espaço e neste tempo, vivendo e convivendo, ensinando e aprendendo.

Aos meus pais, **Luiz e Maria**, pelo exemplo de vida, conselhos, amizade, ensinamentos, amor e carinho irrestritos. Amo vocês!

Aos meus queridos irmãos, **Tadeu e Tarso**, pessoas iluminadíssimas, por me apoiarem tanto e alegrarem ainda mais minha vida. Não sou nada sem vocês!!!!

Aos meus avós **Jorge** (*in memorian*) e **Martha e Pedro** (*in memorian*) e **Leopoldina**, por serem meus exemplos de vida e de perseverança.

À minha tia **Neide**, minha segunda mãe, por se preocupar tanto comigo e segurar muitas barras. Mais uma vez, obrigada pelo incentivo.

Ao meu amor, **Caio**, parceiro de todas as horas, por me mostrar o quanto a vida vale a pena. Certamente, meu doutorado ficou muito mais leve com você do meu lado. Obrigada por não me deixar desanimar! Te amo infinitamente!

Aos meus tios **Fábio, Adriana, Eliza, Ondina e Antônio**; aos meus primos/irmãos **Henrique, Danny, Gustavo, Lucas, Juliana, Pedro e Francisco** e aos meus sogros **Edson e Edna**. Muito obrigada pelo constante incentivo!

À Professora Doutora **Gisela Ferreira**, orientadora e amiga de tantos anos, por ter confiado em mim desde o início e por ter contribuído para minha formação de pesquisadora e docente.

À Professora Doutora **Ana Catarina Cataneo**, por ter me permitido realizar parte dos experimentos no Laboratório de Xenobióticos e por ter se tornado uma pessoa tão especial na minha vida. Não tenho palavras para expressar o quanto te admiro!

À Professora Doutora **Martha Maria Mischan**, pela orientação na parte estatística deste trabalho.

Aos Professores do Departamento de Botânica, em especial aos Professores Doutores **Carmen Silvia Fernandes Boaro, Elizabeth Orika Ono e João Domingos Rodrigues** pelas valiosas sugestões durante todo o meu curso de Pós-Graduação.

Aos funcionários do Departamento de Botânica, em especial ao **José Eduardo Costa**, sempre tão gentil em me auxiliar em tudo que precisava.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação e da Biblioteca, pela atenção dispensada.

Às minhas amigas queridíssimas, **Ana Caroline (Paper)** e **Bárbara (Dáf)** que com muita paciência entenderam a minha impaciência. Muito obrigada pela compreensão, ombro amigo, sugestões, risadas, jantares com vinhos para relaxar quando tudo parecia dar errado, enfim... Vou sentir muita falta da nossa república tão animada!!!!

À **Thais (Capinha)**, **Fernanda (Festa)** e **Gilson**, amigos de longa data, por todo apoio, incentivo e discussões valiosíssimas. Vocês são pessoas importantíssimas na minha vida!

À **Paula (Kentinha)** e **Daniel (Zé Ruela)**, amigos muito iluminados que participam ativamente da minha vida. Obrigada por todos os momentos que pude compartilhar com vocês, pelas ideias, dicas, discussões, sugestões. Com certeza vocês são pessoas que só me acrescentam coisas boas.

À **Nadia (Marola)**, velha amiga, tão presente em toda minha caminhada. É muito difícil encontrar pessoas como você, que mesmo distante de corpo, está integralmente de alma comigo todo o tempo.

Às minhas amigas “louquinhas” **Camila (Over)**, **Lara** e **Ligia**, por me divertirem tanto. Tudo teria sido mais duro sem vocês...

Aos companheiros de Pós-Graduação **Denise, Tatiana, Glaucia, Juliana Iassia, Jaqueline** e **Daniel Baron**, pela saudável convivência e por tornarem o Laboratório de Germinação um local tão divertido. Também ao **Leonardo** e ao **Bruno (Prozac)** pela valiosa ajuda no Laboratório de Xenobióticos.

À Glória, por todo apoio psicológico e por me mostrar que tudo, mas tudo mesmo, tem um lado positivo.

À Unesp, por toda minha formação.

À CAPES, pelo importante apoio financeiro concedido durante a realização do curso.

Enfim, agradeço a todos que de alguma maneira colaboraram para a realização desta tese.

Muito obrigada de coração!!!!

SUMÁRIO

Resumo.....	1
Abstract	2
1- Introdução	3
1.1 – Objetivo	3
2- Revisão de Literatura	4
2.1- Gênero <i>Passiflora</i>	4
2.2- <i>Passiflora alata</i>	5
2.3- Germinação de Sementes	7
2.3.1- Fases da Germinação	7
2.3.2- Giberelinas e Citocininas: Ação na Germinação de Sementes...	11
3- Capítulo I - Fases da germinação de sementes de <i>Passiflora alata</i> Curtis submetidas a tratamentos com giberelinas e citocinina	21
4- Capítulo II- Germinação de sementes de <i>Passiflora alata</i> Curtis submetidas a tratamentos com giberelinas e citocinina	46
5- Capítulo III- Atividade amilolítica de sementes de <i>Passiflora alata</i> Curtis tratadas com giberelinas e citocinina durante as fases da germinação	68
6- Considerações Gerais	84
7- Conclusão	86
8- Referências Bibliográficas	88

**METABOLISMO GERMINATIVO DE SEMENTES DE *Passiflora alata* CURTIS
TRATADAS COM GIBERELINAS E CITOCININA. 2009. 94P. TESE (DOUTORADO)**

– INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA,
BOTUCATU.

RESUMO – O interesse pelo maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis) tem crescido devido à qualidade dos frutos para consumo *in natura* e aos preços alcançados no mercado de frutas frescas. Iniciativas de expansão do cultivo de maracujazeiro-doce são de grande importância tanto para o mercado interno quanto para o externo. No entanto, muitos são os relatos de baixo percentual de germinação de sementes dessa espécie, o que dificulta a formação de mudas e de porta-enxertos vigorosos e, conseqüentemente, a formação de pomar uniforme e com boa produção. Isso sugere que trabalhos que estudem o metabolismo germinativo de sementes de maracujazeiro-doce sejam de grande importância. Sendo assim, foram instalados dois experimentos no Departamento de Botânica e um experimento no Departamento de Química e Bioquímica do Instituto de Biociências, da Unesp, Botucatu, SP com a finalidade de atingir os objetivos propostos. O primeiro experimento constou em determinar as fases da germinação das sementes de *P. alata* submetidas a concentrações de GA₃ e GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina, enquanto que o segundo experimento estudou os efeitos desses reguladores vegetais na germinação do maracujá-doce. O delineamento experimental dos dois experimentos foi inteiramente casualizado, com 11 tratamentos e cinco repetições de 25 sementes por parcela, seguindo esquema fatorial 2x5 (reguladores x concentrações) e uma testemunha (água destilada) em comum. As concentrações utilizadas foram 100, 200, 300, 400 e 500 mg L⁻¹ tanto para GA₃ quanto para GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina. As sementes foram acondicionadas em ‘gerbox’ preto, contendo 10 mL das soluções com os reguladores vegetais e levadas à câmara de germinação, com temperatura alternada entre 20°C por 8 h e 30°C por 16 h. Para o experimento um foram avaliados grau de umidade das sementes, germinabilidade, velocidade e tempo médios de germinação e porcentagem total de sementes germinadas. Para o experimento dois as avaliações foram constituídas pela germinabilidade, porcentagem total de sementes dormentes e mortas, velocidade e tempo médios, frequência relativa e índice de sincronização de germinação. O terceiro experimento teve por objetivo avaliar o efeito de giberelinas e citocinina na atividade amilolítica de sementes de *Passiflora alata* Curtis. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 4 épocas de coleta (determinadas através do experimento um), 3 tratamentos (determinadas através do experimento dois) e 4 repetições de 25 sementes por parcela. As sementes foram acondicionadas em ‘gerbox’ preto, contendo 10 mL das seguintes soluções: água destilada (testemunha), 100 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina (i.a.) e 200 mg L⁻¹ de GA₃ (i.a.) e levadas à câmara de germinação, com temperatura alternada entre 20°C por 8 h e 30°C por 16 h. Amostras das sementes foram coletadas após 0, 3, 50 e 360 h de tratamento e em seguida, congeladas com nitrogênio líquido e armazenadas em freezer a -80°C. Foram determinadas as atividades de amilase total e α -amilase, açúcares redutores e total. Da análise dos resultados pode-se inferir que a caracterização das fases da germinação de sementes de *Passiflora alata* Curtis foi possível independentemente dos reguladores, que a associação entre giberelinas e citocinina incrementou o processo germinativo *P. alata* Curtis e que sementes de maracujá-doce tratadas com GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina tiveram sua atividade metabólica acelerada durante a fase II da germinação.

Palavras-chave: *Passiflora* sp., reguladores vegetais, propagação, embebição, amilase

FERRARI, T.B. GERMINATIVE METABOLISM OF *Passiflora alata* CURTIS SEEDS
TREATED WITH GIBBERELLIN AND CYTOKININ

ABSTRACT – Interest in sweet passion fruit (*Passiflora alata* Curtis) has grown due to the quality of fruits for consumption in natura and prices achieved in the fresh fruit. Initiatives to expand the cultivation of sweet passion fruit are of great importance both for the domestic market and for the external. However there are many data of low percentage of seeds germination of this species. At this way, there is difficulty in the seedlings formation and vigorous rootstock and, consequently, in uniform orchard formation and with good production. This suggests that works to study the metabolism of sweet passion fruit seed germination have great importance. So, it had been installed two experiments at Department of Botany and one experiment at Department of Chemistry and Biochemistry, Bioscience Institute, in São Paulo State University, Botucatu, SP, with the aim to reach the considered purpose data. The first one had consisted of the determination of seeds germination phases subjected to concentrations of GA₃ and GA₄₊₇ + N-(phenylmethyl)-1H-purine-6-amine. The second experiment studied the effects of plant growth regulators on sweet passion-fruit germination. The experimental design had been totally randomized, with 11 treatments and five replications of 25 seeds in each plot, following factorial design 2 x 5 (regulators x concentrations), and a common control (distilled water). The seeds had been submitted to the following treatments: 100, 200, 300, 400 and 500 mg L⁻¹, for GA₃ and also for GA₄₊₇ + N-(phenylmethyl)-1H-purine-6-amine. The seeds had been sown in black containers, containing 10 mL of solutions with plant growth regulators, and taken to the germination chamber, with temperature alternated between 20°C for 8 hours and 30° for 16 hours. The seeds moisture degree (%), the percentage of germination, average time of germination, average speed of germination and total percentage of germination had been evaluated for experiment one. It had been calculated the parameters total percentage of germination, total percentage of dormant seeds, average time of germination, average speed of germination, relative frequency of germination and rate of synchronization of germination for experiment two. The third study aimed at evaluating the effect of gibberellins and cytokinin on the amylolytic activity of seeds from *P. alata* Curtis. Experimental design was completely randomized, with 3 treatments, 4 harvesting times and 4 replicates of 25 seeds per plot. Seeds were placed into black ‘gerbox’, containing 10 mL of the following solutions: distilled water (control), 100 mg L⁻¹ of GA₄₊₇ + N-(phenylmethyl)-1H-purine-6-amine (a.i.) and 200 mg L⁻¹ of GA₃ (a.i.). Then, seeds were kept in a germination chamber with alternate temperature between 20°C for 8h and 30°C for 16h. At 0, 3, 50, and 360h after treatments, seed samples were collected, frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C for posterior assay of total and α-amylase activities and total soluble sugars and soluble reducing sugars. From the analysis of the results it could be inferred that the characterization of seeds germination phases of *P. alata* Curtis was possible regardless of regulators. It had been verified that the regulators influence in the germinating process on *P. alata* Curtis seeds with increment in the percentage. When gibberellins were associated with the cytokinin *P. alata* Curtis seeds have accelerated its metabolic activity during phase II of germination.

Key words: *Passiflora* sp., plant growth regulators, propagation, imbibition, amylase

1- INTRODUÇÃO

O maracujazeiro pertence à família Passifloraceae, ordem Passiflorales e apresenta distribuição tropical e sub-tropical (Silva e São José, 1994). No Brasil encontra condições ecológicas favoráveis para o desenvolvimento e produção (Oliveira, 2003).

Com a elevada cotação do suco no mercado nacional e internacional e ao aumento da procura no mercado de frutas frescas, esta família tem assumido uma importância significativa no agronegócio de frutas tropicais (Meletti et al., 2002; Prado e Natale, 2004).

A propagação do maracujazeiro pode ser feita sexuadamente pelo emprego de sementes (Pereira e Dias, 2000) ou assexuadamente com o uso de estaquia ou enxertia (Ruggiero e Correa, 1978) e, mesmo quando se realiza a enxertia, há necessidade do uso de sementes para produção do porta-enxerto (Ferreira, 1998).

Dessa maneira, estudos relacionados com as fases da germinação se fazem necessários, já que as sementes são responsáveis por perpetuar as espécies.

A germinação é um processo composto por três fases. A fase I é conhecida como embebição. Durante a fase II são ativados os processos metabólicos requeridos para o crescimento do embrião e na fase III ocorre a protrusão da raiz primária. Assim que se dá início ao processo de germinação, ocorre ativação de síntese protéica e formação das enzimas hidrolíticas, como por exemplo, as amilases, responsáveis pela mobilização das reservas (Castro et al., 2004).

Dentre os fatores bióticos que afetam a germinação, encontram-se os reguladores vegetais, que são substâncias que podem aperfeiçoar a porcentagem, velocidade e uniformidade de germinação, resultando na produção de mudas mais vigorosas para plantio e minimização de gastos (Nassif et al., 1998). Entre os reguladores vegetais pode-se citar o uso de giberelina, citocinina e etileno em sementes promovendo quebra de dormência, uniformidade de germinação e crescimento de plantas jovens (Kahlon e Chandler, 1987; Hore e Sem, 1993; Taiz e Zeiger, 2009).

1.1 - Objetivo

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade da amilase e da α -amilase e os níveis de açúcares, totais e redutores em sementes de *Passiflora alata* Curtis, submetidas a tratamentos com os reguladores vegetais GA₃ e GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina em diferentes concentrações nas fases da germinação.

2- REVISÃO DE LITERATURA

2.1- Gênero *Passiflora*

A primeira referência botânica ao maracujá surgiu em 1569, quando Nic Monardis descreveu a espécie “*Passiflora incarnata* L.” (Hoehne, 1946), a qual foi enviada ao Papa Paulo V, com o nome genérico de Granadilla. Em 1610, Jacomo Boscio apresentou-a ao mundo sob o nome de “Flos Passionis” de onde teria derivado o nome popular “flor da paixão” e o nome científico *Passiflora* (Ruggiero et al., 1996). Existem inúmeras descrições botânicas das espécies da família Passifloraceae e do gênero *Passiflora* que estão descritas com detalhes em Killip (1938), Sacco (1980) e Salomão e Andrada (1987).

A família Passifloraceae é representada por 14 gêneros, que apresentam distribuição tropical, ocorrendo nas Américas, Ásia e África, com espécies herbáceas ou lenhosas, em geral trepadeiras. No Brasil, a família Passifloraceae é representada por 2 gêneros, *Dilkea* e *Passiflora*, sendo o gênero *Passiflora* originário da região tropical da América do Sul e o maior centro de distribuição geográfica localiza-se no centro-norte do Brasil (Leitão Filho e Aranha, 1974). De acordo com Schultz (1943), o gênero *Passiflora* é constituído por cerca de 530 espécies tropicais e subtropicais, enquanto que Silva e São José (1994) afirmam que embora existam divergências entre os diversos autores, atualmente considera-se que a família Passifloraceae apresenta 14 gêneros com cerca de 580 espécies.

Os maracujazeiros são trepadeiras de caules frequentemente sulcados; em algumas espécies, as folhas são arredondadas e em outras são profundamente partidas, com bordos serrados; apresentam flores grandes, vistosas, de coloração que pode variar de branco-esverdeada, alaranjada, vermelho a arroxeadas, de acordo com a espécie, e o florescimento ocorre de dezembro a abril; os frutos são ovóides, amarelados, com a polpa geralmente comestível e as sementes achatadas, pretas e envolvidas por um arilo de textura gelatinosa de coloração amarelada e translúcida (São José, 1994).

Quanto a utilização, as espécies *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. (maracujá amarelo), *P. edulis* Sims. (maracujá roxo), *P. alata* Curtis (maracujá doce), *P. maliformis* (maracujá maçã), *P. setacea* (maracujá do mato), *P. nítida*, *P. macrocarpa* (maracujá melão), *P. caerulea* (maracujá azul), *P. cincinnata* (maracujá mochila), *P. quadrangularis* (maracujá açu), *P. ligularis* Juss (granadilla) e *P. laurifolia* L. (maracujá laranja) são comestíveis, enquanto as espécies *P. coccinea*, *P. alata*, *P. suberosa*, *P. misera*, são ornamentais e *P. incarnata*, *P. alata*, *P. edulis*, *P. foetida* L. (maracujá de cheiro), *P. laurifolia* L., *P. quadrangularis*, *P. mucronata* Lam. (maracujá pintado) e *P. caerulea* L. são utilizadas como medicinais (São José, 1994).

2.2- *Passiflora alata*

A espécie *P. alata* Curtis, popularmente chamada de maracujá-doce, maracujá-de-refresco, maracujá-guaçu, maracujá-do-grande e maracujá-alado (Pereira et al., 1971; Medina, 1980), é espécie nativa da América do Sul, encontrada no Brasil, Peru, Paraguai e Argentina (Killip, 1938).

Segundo Rossini (1977), esta espécie pertence ao subgênero *Granadilla*, série *Quadrangulares* e tem como seu classificador Dryander, porém, Bernacci et al. (2003) verificaram que o classificador é Curtis. *P. alata* é descrita por Sacco (1962) como planta totalmente glabra; estípulas lineares lanceoladas a ovais lanceoladas, de 10 a 20 mm de comprimento por 3 a 10 mm de largura, inteiras ou serrilhadas; pecíolos com 30 a 50 mm de comprimento, com um canal em cima, com 2 a 4 glândulas orbiculares sésseis; folhas ovais ou ovais-oblongas de 80 a 150 mm de comprimento por 70 a 100 mm de largura, calminadas no ápice, arredondadas, subacordadas ou subcuneadas na base, inteiras ou levemente denticuladas, peninervadas, membranosas.

Haddad Garcia e Milan Fariñas (1975) descrevem o maracujazeiro-doce como planta trepadeira, vigorosa e com caule quadrangular, o que a diferencia de outras espécies que apresentam caule circular. *Passiflora alata* é planta que apresenta sistema radicular superficial, concentrando-se nos primeiros 30 – 40 cm de solo num raio de 50 cm, chegando esta porção de solo a sustentar de 60 a 80% do sistema radicular e o maior crescimento ocorre entre 210 e 300 dias, alcançando estabilidade após esse período. Apresenta folhas inteiras de 8 a 15 cm de comprimento com 2 – 4 glândulas no pecíolo. As flores, formadas nas axilas das folhas (1 – 3 gemas), são grandes e pesadas, pendentes, com diâmetro variando de 8 a 12,7 cm (Medina, 1980; Kliemann, 1986). Sacco (1962) refere-se a pedúnculos de 15 a 25 mm de comprimento, levemente trigonais e brácteas situadas na base das flores, ovais, com cerca de 15 mm de comprimento por 10 mm de largura, agudas, serruladas (Figura 1).

O florescimento ocorre de 20 a 32 dias após o aparecimento do respectivo botão floral, dependendo da temperatura média diária e, em menor grau da radiação solar incidente. As flores (Figura 2) se abrem uma única vez por volta das cinco da manhã, fechando-se depois que o sol se põe. Elas demoram cerca de uma hora para completarem sua abertura e duas horas para completa curvatura dos estiletos. Algumas plantas produzem flores cujos estiletos não se curvam totalmente e outras, em menor quantidade, cujos estiletos não apresentam nenhuma curvatura. Como esse fato dificulta ou mesmo impede a fecundação da flor – apesar do pólen produzido ser normalmente fértil – plantas que apresentam qualquer um desses tipos de flores não devem ser propagadas. O período que vai do florescimento à maturação dos

frutos varia de 70 a 100 dias, dependendo da região e da época do ano ou, mais precisamente, da temperatura média e da radiação solar (Kavati e Piza Júnior, 2002).



Fonte: <http://herbario.iac.sp.gov.br/Relatorios/ConsultaHerbario.asp?NumIac=45667>. Acessado em 10/01/2009.

Figura 1- Aspecto geral da planta de maracujazeiro-doce (*Passiflora alata* Curtis).



Fonte: http://www.ubcbotanicalgarden.org/potd/2005/05/passiflora_alat.php. Acessado em 10/01/2009.

Figura 2- Aspecto geral da estrutura da flor de maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis).

O fruto é amarelado quando maduro, apresentando de 8 a 10 cm de comprimento por 4 a 6 cm de largura; a forma é oboval/oval, com sabor doce-acidulado (Silva e São José, 1994).

Rossini (1977) refere ainda o aroma perfumado dos frutos e considera a polpa adocicada (Figura 3).



Fonte: http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=7544. Acessado em 10/01/2009.

Figura 3- Aspecto geral do fruto de maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis).

O maracujazeiro-doce apresenta características que fornecem alternativas para o mercado, visto que os frutos frescos alcançam ótimos preços; as flores são grandes e coloridas e, portanto, muito atrativas para serem usadas com fins ornamentais. Das folhas e ramos é extraída a passiflorina, muito utilizada na industrialização de medicamentos para o tratamento das excitações nervosas, ansiedade e insônia (Vasconcellos e Cereda, 1994). Os pomares de maracujazeiro-doce têm se expandido em função do preço do produto comercial, desde o final da década de 80, embora várias espécies já fossem cultivadas desde o período colonial (Meletti e Maia, 1999). A seleção realizada por produtores tecnificados possibilitou obter plantas produtivas e frutos com mais de 350 g, ovais, amarelo-alaranjados, de sabor e aroma agradáveis (Silva, 1998). A crescente demanda por informações técnicas tem levado à ampliação dos estudos da família Passifloraceae, visando conhecer os recursos genéticos disponíveis e diferentes aspectos da tecnologia de produção. Portanto, questões referentes ao conhecimento da fisiologia da germinação são prioritárias, pois significam auxílio no processo de produção de mudas (Alves et al, 2006).

2.3- Germinação de sementes

2.3.1- Fases da germinação

A disseminação e perpetuação da espécie são garantidas pelas sementes, através de algumas propriedades fisiológicas e bioquímicas, distribuindo a germinação no tempo (dormência) e espaço (dispersão) (Carvalho e Nakagawa, 2000; Castro et al., 2004).

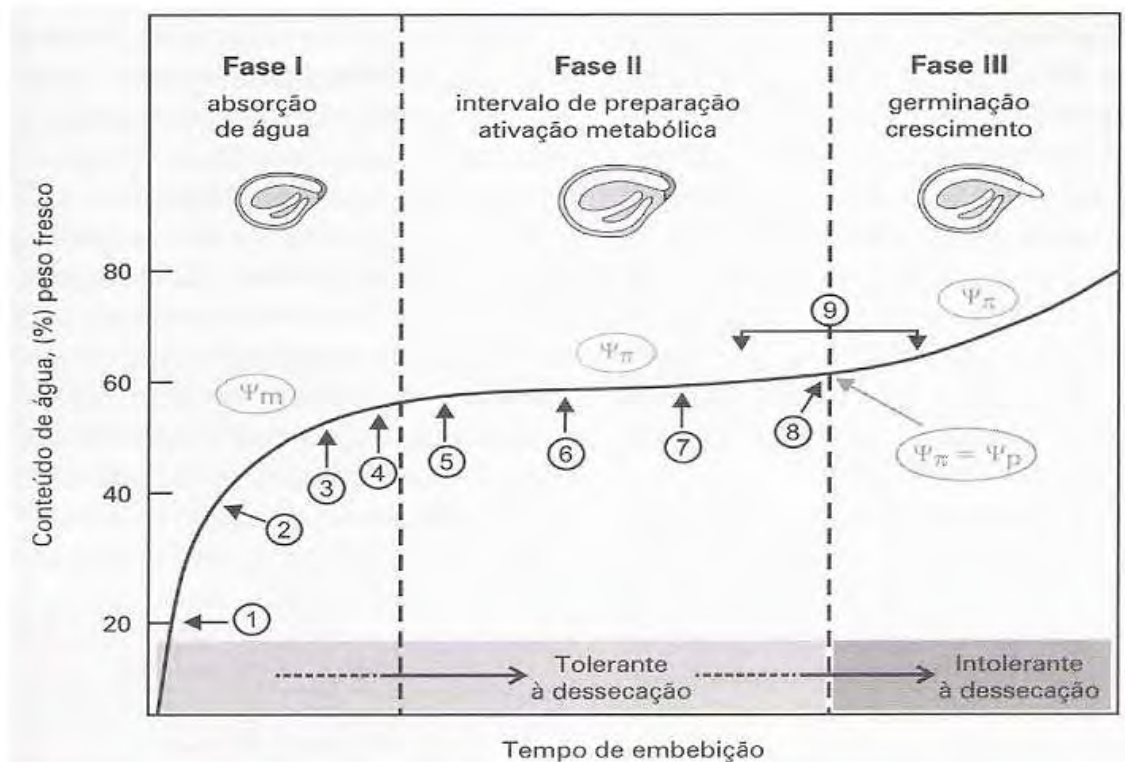
A germinação é considerada um processo fisiológico de difícil definição. É caracterizada pela retomada das atividades anabólicas e catabólicas, incluindo a respiração, síntese de proteínas e mobilização das reservas após a absorção da água, possibilitando o crescimento do eixo embrionário, culminando com a protrusão da radícula (Bewley e Black, 1994; Castro et al., 2004).

No desenvolvimento vegetal, a germinação é considerada uma fase crítica e está relacionada a aspectos fisiológicos e bioquímicos associados a fatores ambientais e da própria semente (Bewley, 1997; Carvalho e Nakagawa, 2000; Castro et al., 2004).

Para que uma semente germine, precisa dispor de condições internas e externas favoráveis. Dentre os fatores internos, relaciona-se à longevidade e viabilidade, sendo a longevidade da semente quase impossível de ser determinada, uma vez que depende de condições ideais de armazenamento. A viabilidade é o período em que a semente realmente vive, sendo determinada pela interação entre fatores genéticos e ambientais. A viabilidade de uma espécie depende de características genéticas da planta progenitora, do seu vigor, das condições climáticas predominantes durante a maturação das sementes, do grau de injúria mecânica, das condições ambientais de armazenamento e preparo das sementes para serem armazenadas (Carvalho e Nakagawa, 2000).

A determinação do início e do término da germinação é bastante difícil, visto que além da germinação apresentar diferentes definições, algumas espécies de Passifloráceas germinam de forma irregular, podendo este período variar de 10 dias a 3 meses, o que dificulta a produção das mudas de maracujazeiro (Akamine et al., 1972; Labouriau, 1983).

Para que ocorra a germinação é necessário que as sementes absorvam água, desencadeando os processos metabólicos (Carvalho e Nakagawa, 2000). A germinação é um processo composto por três fases que consistem na embebição (fase I), na ativação dos processos metabólicos requeridos para o crescimento do embrião (fase II) e na iniciação do crescimento do embrião (fase III) (Castro et al., 2004). As três fases estão ilustradas na Figura 4.



Fonte: Adaptado do Capítulo 9: Embebição e reativação do metabolismo. Castro, Bradford & Hilhonsst./Germinação: Do básico ao aplicado/ Ferreira & Borghetti, 2004.

Figura 4- Representação esquemática do padrão trifásico de absorção de água durante a embebição de sementes, em relação aos conteúdos aproximados de água em que os diferentes eventos do processo germinativo são iniciados. (1) Respiração e acúmulo de ATP. (2) Síntese de mRNA e reparo de DNA. (3) Ativação de polissomos. (4) Síntese de proteínas a partir de mRNAs recentemente sintetizados. (5) Síntese e duplicação de DNA. (6) Início da degradação de reservas. (7) As células da radícula alongam-se. (8) Protrusão radicular. (9) Mitose. Potencial matricial (Ψ_m); Potencial osmótico (Ψ_π); Potencial de pressão (Ψ_p)

Bewley e Black (1994) também consideram que a germinação ocorre de acordo com um padrão trifásico. A fase I é caracterizada pela embebição de água, como consequência do gradiente estabelecido pelo potencial matricial da semente e o potencial de água do substrato com que a mesma permanece em contato. Carvalho e Nakagawa (2000) afirmam que esta é a fase mais rápida da germinação, podendo durar uma ou duas horas. Esta fase é presente tanto em sementes viáveis quanto nas inviáveis.

Na fase II ocorre redução acentuada da velocidade de absorção de água e o eixo embrionário ainda não consegue se desenvolver. A duração dessa fase é variável de acordo com a espécie considerada (Bewley e Black, 1994). Castro et al. (2004) afirmam que é durante a fase II que são ativados os processos metabólicos requeridos para o crescimento do

embrião e a conclusão do processo germinativo (momento em que há a emergência ou protrusão da radícula). A duração da fase II depende principalmente da temperatura, mas também do potencial água da semente (potencial osmótico + potencial matricial + potencial de pressão ou de turgor), sendo que a temperatura e o potencial água da semente baixos estendem-na.

A fase III é associada com o reinício do crescimento do embrião, as sementes passam a absorver água em maior volume, quando comparada a fase II, e aumenta a atividade respiratória. A intensa atividade metabólica nessa fase promove o crescimento do eixo embrionário que se torna visível. O embrião exige grandes quantidades de água, nutrientes e energia (Bewley e Black, 1994).

A duração de cada fase da germinação depende de propriedades inerentes à semente, como a permeabilidade do tegumento e tamanho da semente e, também das condições durante a embebição, como temperatura e composição do substrato (Carvalho e Nakagawa, 2000).

Bewley e Black (1994) relatam que quando as sementes viáveis embebem água, uma série de eventos é iniciada, cujo resultado final é a emissão de radícula, significando que a germinação foi completada com sucesso. Durante a embebição, a atividade metabólica é retomada. Respiração, atividade de enzimas e organelas e síntese de RNA e proteínas, são atividades celulares fundamentais, intimamente envolvidas na germinação e preparo para o subsequente crescimento. Os autores afirmam ainda, que o total de água absorvida é geralmente pequeno e não ultrapassa duas ou três vezes a massa seca das sementes. Para o subsequente crescimento da planta, grande quantidade de água é requerida.

Dessa forma, como a mobilização de reservas tem a finalidade de subsidiar o crescimento e o desenvolvimento, é essencial que tanto o crescimento quanto o desenvolvimento sejam sincronizados. Isso depende de um sistema interno de comunicação entre os órgãos da semente e a plântula. Os sinais, nesse caso, são químicos e normalmente envolvem os níveis internos e o transporte de hormônios, carboidratos e compostos nitrogenados. De modo geral, a mobilização das reservas se inicia a partir de um sinal que vem do embrião, que segundo Bewley (2001) no caso de cereais, as giberelinas e, em leguminosas, a auxina.

Segundo Buckeridge et al. (2004), as principais substâncias de reserva em sementes são os amidos, os polissacarídeos, os lipídeos e as proteínas.

Como o objetivo deste trabalho é estudar a atividade da amilase e os níveis de açúcares totais e redutores em sementes de *P. alata* Curtis, a revisão somente abordará a rota de degradação do amido.

Para que o amido de reserva seja degradado e passível de utilização pelo metabolismo, é necessário que os grânulos sejam desmembrados em estruturas menores, como a maltose e a glicose. Nesse processo, destacam-se as enzimas α -amilase, β -amilase e amido fosforilase. Destas, somente a α -amilase é capaz de atacar diretamente os grânulos de amido, o que a caracteriza como a primeira enzima no processo de degradação do amido. A α -amilase é uma endoenzima que hidrolisa aleatoriamente as ligações α -(1,4), ao longo dos polímeros de amilose e amilopectina (Manners, 1985), liberando maltose e moléculas maiores contendo ligações α -(1,6), as dextrinas (Buckeridge et al., 2004).

A β -amilase é uma exoglucanase que ataca somente os terminais não redutores dos constituintes do amido, liberando moléculas de maltose. As β -amilases são capazes de hidrolisar completamente os polímeros ou fragmentos de amilose. Em contrapartida, a amilopectina só pode ser digerida parcialmente, pois as ligações α -(1,6) não são atacadas, o que também resulta na liberação de dextrinas (Buckeridge et al., 2004).

Segundo Kigel e Galili (1995), sementes dormentes podem sustentar baixo nível de atividade metabólica, mobilizando lentamente as reservas e permanecendo na fase II por meses ou anos, até atingir a germinação. Quando as sementes estão dormentes, a duração da fase II pode ser consideravelmente prolongada, assim como sementes submetidas a tratamentos de envigoreamento por meio de tecnologias de embebição controlada ou *priming*. Durante essa fase, as sementes também tendem a se manter tolerantes à desidratação ou à dessecação (Bradford, 1995).

De acordo com Hartmann et al. (2002), existe a dormência exógena, que pode ser física, mecânica ou química, que ocorre devido à impermeabilidade do tegumento, ou devido à presença de inibidores; a dormência endógena, que pode ser morfológica ou fisiológica; a dormência causada pela combinação de fatores e a dormência secundária como a termodormência.

2.3.2- Giberelinas e citocininas: ação na germinação de sementes

Os reguladores vegetais são compostos orgânicos que, em pequenas concentrações, provocam, inibem ou modificam processos fisiológicos. A importância dos reguladores vegetais foi primeiramente reconhecida na década de 30 e como resultado de extensivas pesquisas, novos compostos naturais e sintéticos têm sido descobertos e usados em práticas agrícolas. Em geral, os reguladores vegetais podem ser considerados como ferramentas químicas potenciais e suplementares no manejo de plantas, devendo ser aplicados em baixas concentrações. Esta baixa concentração afeta o metabolismo dos vegetais e a resposta da

planta, ou de alguns órgãos desta, podendo variar muito em função da variedade, idade, condições do meio e seu estado nutricional (Taiz e Zeiger, 2009).

Dentre os fatores que regulam o processo germinativo, a presença e o equilíbrio entre hormônios, promotores e inibidores, exercem papel fundamental na promoção da germinação (Mattoo e Suttle, 1991; Salisbury e Ross, 1991; Takahashi et al., 1991 e Taiz e Zeiger, 2009).

Esse controle do desenvolvimento dos vegetais era atribuído a somente 5 grupos de hormônios: auxinas, giberelinas, citocininas, etileno e ácido abscísico. Entretanto, novas descobertas continuam ocorrendo, elevando assim o número e tipos de hormônios e de agentes sinalizadores semelhantes aos hormônios vegetais (Taiz e Zeiger, 2009). Porém, neste trabalho serão abordados apenas as giberelinas e citocininas.

No que se refere à germinação de sementes, autores como Mattoo e Suttle (1991), Salisbury e Ross (1991), Takahashi et al. (1991) e Taiz e Zeiger (2009) citam as giberelinas, citocininas e etileno como promotores da germinação e o ácido abscísico como indutor de dormência.

Nas plantas, as giberelinas determinam importantes alterações fisiológicas, como a indução da floração, expressão sexual, senescência, síntese de proteínas e RNA específicos na germinação tanto na quebra da dormência como no controle da hidrólise de reservas, alongamento de ramos em plantas anãs, pegamento e crescimento de frutos (Takahashi et al., 1991; Taiz e Zeiger, 2009), sendo sintetizadas nas regiões de crescimento, sementes em germinação, endosperma, frutos imaturos, ápices de caules e raízes e são encontradas em menor concentração nas raízes (Taiz e Zeiger, 2009).

A giberelina é capaz de estimular o crescimento em muitas plantas e seu efeito tem sido atribuído basicamente à promoção de alongamento e divisão celular. Segundo Rêgo (1984) dados analíticos comprovam o fato de que as giberelinas aumentam a produção de auxina, sendo provável que elas estejam relacionadas com múltiplos processos bioquímicos, inclusive na conversão do triptofano em auxina.

O ácido giberélico, considerado ativador enzimático endógeno, promove a germinação (Levitt, 1974) e a aplicação exógena deste promotor influencia o metabolismo protéico, podendo dobrar a taxa de síntese de proteínas das sementes (Mc Donald e Khan, 1983).

Na germinação, a giberelina promove a produção e/ou secreção de várias enzimas hidrolíticas envolvidas na solubilização das reservas do endosperma, entre as quais, a α -amilase (Taiz e Zeiger, 2009).

Em cereais, a giberelina atua principalmente induzindo a expressão do gene da α -amilase. Tem sido demonstrado que o GA₃ aumenta o nível de mRNA a ser traduzido em α -amilase nas camadas de aleurona (Taiz e Zeiger, 2009).

Durante a germinação, portanto, as reservas armazenadas no endosperma são quebradas por enzimas hidrolíticas e os açúcares, aminoácidos e outros produtos são transportados para o crescimento do embrião. As duas enzimas responsáveis pela degradação do amido são a α e a β -amilase (Taiz e Zeiger, 2009).

A amilase é secretada por dois tecidos, o escutelo e a camada de aleurona. Embora a função primária do escutelo seja absorver açúcares produzidos durante a degradação do amido, ele também pode liberar α -amilase. A camada de aleurona, ao contrário, é altamente especializada e a função parece ser síntese e liberação de enzimas hidrolíticas. Depois de completada a função, as células da camada de aleurona são esgotadas de seus conteúdos e morrem (Salisbury e Ross, 1991; Taiz e Zeiger, 2009).

Além das giberelinas, as citocininas podem ser utilizadas para acelerar a germinação das sementes de várias espécies (Taiz e Zeiger 2009). Em relação as citocininas, Crozier et al. (2001) relatam que são substâncias derivadas da adenina, caracterizada pela habilidade em induzir a divisão celular. Porém, apresentam também outros efeitos, tais como, induzir a brotação de gemas laterais, interferir na dominância apical, promover a expansão foliar e retardar a senescência foliar, levando a um acúmulo de clorofila e aumentar a conversão de etioplastos para cloroplastos (Davies, 1995).

Segundo Horcat e Letham (1990) as citocininas têm estado implicadas na germinação de sementes e nos rápidos eventos pós-germinativos, pois as citocininas endógenas podem ter um papel na promoção do crescimento da radícula. Os autores citados concluíram que embriões de sementes de milho, em germinação, são capazes de biossintetizar citocininas.

Na germinação as citocininas participam no controle de genes, de tradução, da regulação das funções protéicas, da regulação da permeabilidade de membranas e da regulação dos níveis de giberelinas (Taiz e Zeiger, 2009).

Diversos estudos com a aplicação de reguladores vegetais em sementes de Passifloráceas têm sido realizados, como o trabalho de Ferreira (1998), que constatou que sementes de *P. alata* imersas em 100 mg L^{-1} de GA_3 apresentaram aumento na porcentagem de germinação de 56% para 68%, e Rossetto et al. (2000) que verificaram que sementes sem arilo, submetidas à pré-embebição em contato com substrato umedecido com soluções de 150 e 300 mg L^{-1} de ácido giberélico também apresentaram aumento na porcentagem de germinação. Em contrapartida, Coneglian et al. (2000) verificaram que não houve efeito na germinação de maracujá-doce, com a utilização de 0, 100 e 300 mg L^{-1} de ácido giberélico em substrato umedecido.

Ferreira et al. (2001) estudando diferentes tempos de embebição e diferentes concentrações de giberelina em sementes de *P. alata*, verificaram que o uso de elevadas

concentrações de GA₃ foi benéfico, incrementando a germinação, sendo a concentração de 500 mg L⁻¹ a que promoveu o maior nível de respostas, sem interferência dos tempos de embebição. Fogaça et al. (2001) estudando a sementeira de *P. alata* Dryander em diferentes embalagens, utilizaram as mesmas doses de giberelina (as sementes permaneceram em solução de ácido giberélico por 5 horas) e concluíram que o ácido giberélico promoveu incremento no processo germinativo, sendo as melhores concentrações 100, 500, 750 e 1000 mg L⁻¹.

Por outro lado, outros autores não verificaram os efeitos benéficos de reguladores vegetais na germinação de sementes de *P. alata*, como Alves et al. (2006) que estudaram o efeito de soluções de giberelina (75 e 1000 mg L⁻¹), citocinina (250 e 750 mg L⁻¹) e KNO₃ (0,1 e 0,2%) na germinação.

No entanto, combinações de diferentes reguladores vegetais têm se mostrado eficientes para processos germinativos.

Ferreira (1998) verificou que concentrações muito baixas de GA₃, menores que 50 mg L⁻¹, podem ser insuficientes para aumentar a porcentagem de germinação em sementes *P. alata*. Porém, esse mesmo autor observou que tratamentos contendo giberelina (GA₃) e citocinina associadas foram benéficos à germinação de sementes de *P. edulis* f. *flavicarpa* e *P. alata*, embora os maiores valores para porcentagem de sementes germinadas, porcentagem total de plântulas normais e índice de velocidade de germinação, tenham sido obtidas com GA₃.

Ferrari et al. (2008) verificaram efeito benéfico dos reguladores vegetais GA₃ e GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina na germinação de sementes de *Passiflora alata* Curtis. Os mesmos autores observaram que as concentrações de 200 e 250 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ + fenilmetilaminopurina foram mais eficientes no processo germinativo, pois aumentaram a porcentagem de germinação e diminuíram o tempo médio de germinação.

No entanto, não foram identificados trabalhos envolvendo a aplicação de reguladores vegetais e a atividade amilolítica de espécies da família Passifloraceae. Dessa forma, trabalhos desenvolvidos com outras espécies serão citados a fim de concluir esta revisão.

Em trabalho realizado com sementes de milho super doce (*Zea mays*) cv. DO-04 submetidas a tratamentos com GA₃, Aragão et al. (2003) observaram que o GA₃ induz à síntese das enzimas de degradação das reservas, pela atividade da α-amilase, já que ocorre uma síntese de 'novo' dessa enzima durante a germinação. Além disso, os autores também verificaram que houve decréscimo nos teores de proteínas totais nos tratamentos com 50, 100 e 150 mg L⁻¹ de GA₃, o que pôde ser explicado pela degradação das proteínas de reserva existentes nessas sementes. Dessa forma, a elevada degradação das proteínas de reserva

associada à elevada atividade da α -amilase proporcionou aumento da germinação e do vigor das sementes tratadas com 50 mg L⁻¹ de GA₃.

Filner e Varner (1967) mostraram que em cereais a α -amilase é sintetizada em resposta ao ácido giberélico produzido pelo embrião e transferido para a camada de aleurona da célula, onde essa enzima é produzida via *síntese de novo*, promovendo a conversão do amido para açúcar, que é usado no crescimento da plântula.

3- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Akamine EK, Beaumont JH, Bowers FAI, Hamilton RA, Nishida T, Sherman GD, Shoji K, Storey WB, Yee WWJ, Onsdorff T, Shaw TN. 1972. Passion fruit culture in Hawaii. *Cooperative Extension Service* 1-35 (Circ. 345).

Alves CZ, Sá ME, Corrêa LS, Binotti FFS. 2006. Efeito da temperatura de armazenamento e de fitorreguladores na germinação de sementes de maracujá-doce e desenvolvimento inicial de mudas. *Acta Scientiarum Agronomy* **28**: 441-448.

Aragão CA, Dantas BF, Alves E, Cataneo AC, Cavariani C, Nakagawa J. 2003. Atividade amilolítica e qualidade fisiológica de sementes armazenadas de milho super doce tratadas com ácido giberélico. *Revista Brasileira de Sementes* **25**: 43-48.

Bernacci LC, Meletti MM, Soares-Scott MD. 2003. Maracujá-doce: o autor, a obra e a data de publicação de *Passiflora alata* (Passifloraceae). *Revista Brasileira de Fruticultura* **25**: 355-356.

Bewley JD. 1997. Seed germination and dormancy. *Plant Cell* **9**: 1055–1066.

Bewley JD. 2001. Seed germination and reserve mobilization. In: *Encyclopedia of life sciences*. Nature Publishing Group.

Bewley JD, Black M. 1994. *Seeds: physiology of development and germination*. New York: Plenum Press.

Bradford KJ. 1995. Water relations in seed germination. In: Kigel J, Galili G, eds. *Seed development and germination*. 2.ed. New York: Plenum Press, 351-396.

- Buckeridge MS, Santos HPdos, Tiné MAS, Aldar MPM. 2004.** Mobilização de reservas. In: Ferreira AG, Borghetti F, eds. *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, 163-185.
- Carvalho NM, Nakagawa J. 2000.** *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP.
- Castro RDde, Bradford KJ, Hilhorst HWM. 2004.** Embebição e reativação do metabolismo. In: Ferreira AG, Borghetti F, eds. *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, 149-162.
- Coneglian RCC, Rossetto CAV, Shimizu MK, Vasconcellos MAS. 2000.** Efeitos de métodos de extração e de ácido giberélico na qualidade de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Dryand). *Revista Brasileira de Fruticultura* **22**: 463-467.
- Crozier A, Kamiya K, Bishop G, Yokota T. 2001.** Biosynthesis of hormones and elicitor molecules. In: Buchanan BB, Gruissem W, Russel LJ, eds. *Biochemistry & molecular biology of plants*. 3.ed., Rockville: American Society of Plant Physiologists, 850-929.
- Davies PJ. 1995.** *Plant hormones: Physiology, biochemistry and molecular biology*. London: Klumer Academic Publishers.
- Ferrari TB, Ferreira G, Mischan MM, Pinho SZ. 2008.** Germinação de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis): fases e efeito de reguladores vegetais. *Biotemas* **21**: 64-74.
- Ferreira G. 1998.** *Estudo da embebição e do efeito de fitorreguladores na germinação de sementes de Passifloraceas*. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- Ferreira G, Fogaça LA, Moro E. 2001.** Germinação de sementes de *Passiflora alata* Dryander (maracujá-doce) submetidas a diferentes tempos de embebição e concentrações de ácido giberélico. *Revista Brasileira de Fruticultura* **23**: 160-163.

- Filner P, Varner JE. 1967.** A test for *de novo* synthesis of enzymes density labelling with $^{18}\text{H}_2\text{O}$ of barley-amylase induced by gibberellic acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **58**: 1520-1526.
- Fogaça LA, Ferreira G, Bloedorn M. 2001.** Efeito do ácido giberélico (GA_3) aplicado em sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Dryander) para a produção de mudas em diferentes embalagens. *Revista Brasileira de Fruticultura* **23**: 152-155.
- Haddad Garcia O, Millan Fariñas M. 1975.** La parchita maracuya (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.). *Fondo Desar. Fruticultura* **2**: 1-82.
- Hartmann HT, Kester DE, Davies Júnior FT, Geneve RL. 2002.** *Plant propagation: principles and practices*. New Jersey: Prentice Hall.
- Hoene FC. 1946.** *Frutas indígenas*. São Paulo: Instituto de Botânica.
- Horcat CH, Letham DS. 1990.** Biosynthesis of cytokinin in germination seeds of *Zea mays*. *Journal of Experimental Botany* **4**: 1525-1528.
- Hore JK, Sem SK. 1993.** Viability of papaya (*Carica papaya* L.) seeds under different pre-storage treatments. *Environment and Ecology* **11**: 273-275.
- Kahlon PS, Chandler D. 1987.** A study on the seed germination and subsequent seedling growth in peach (*Prunus persica* Batsch) cv. Sharbati. *Research and Development Reporter Amristar* **4**: 81-84.
- Kavati R, Piza Júnior CT. 2002.** *A cultura do maracujá-doce*. 1.ed. Campinas: CATI.
- Kigel J, Galili G. 1995.** *Seed development and germination*. 2.ed. New York: Plenum Press.
- Killip EP. 1938.** *The American species of Passifloraceae*. Chicago: Field Museum of Natural History. Botanical Series.
- Kliemann HJ. 1986.** *Nutrição mineral e adubação de fruteiras tropicais*. Campinas: Fundação Cargill.

- Labouriau LG. 1983.** *A germinação de sementes*. Washington: OEA.
- Leitão Filho HF, Aranha C. 1974.** Botânica do Maracujazeiro. In: *Simpósio da Cultura do Maracujá, 1*, Campinas: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 11-13.
- Levitt J. 1974.** *Introduction to plant physiology*. 2.ed. Saint Louis: The C.V. Mosby Company.
- Manners DJ. 1985.** Starch. In: Dey PM, Dixon RA, ed. *Biochemistry of storage carbohydrates in green plants*. London: Academic Press, 149-203.
- Mattoo AK, Suttle JC. 1991.** *The plant hormone ethylene*. London: CRC Press.
- McDonald MD, Khan AA. 1983.** Acid scarification and protein synthesis during seed germination. *Agronomy Journal* **2**: 111-114.
- Medina JC. 1980.** Cultura. In: Medina JC, Garcia, JLM, Lara JC, Tocchini RP, Hashizume T, Moretti VA, Canto WL, eds. *Maracujá: da cultura ao processamento e comercialização*. Campinas: ITAL, 5-105.
- Meletti LMM, Maia ML. 1999.** *Maracujá: produção e comercialização*. Campinas: Instituto Agrônômico. (Boletim Técnico, 181).
- Meletti LMM, Furlani PR, Álvares V, Soares-Scott MD, Bernacci LC, Azevedo Filho JA. 2002.** Novas tecnologias melhoram a produção de mudas de maracujá. *Agrônômico* **54**: 30-33.
- Nassif SML, Vieira IG, Fernades GD. 1998.** *Fatores externos (ambientais) que influenciam na germinação de sementes*. Piracicaba: IPEF/LCF/ESALQ/USP.
- Oliveira, A. 2003.** *Uso de reguladores vegetais na formação de mudas de Passiflora alata Dryander*. Dissertação de Mestrado, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon.

- Pereira ALJ, Campacci CA, Cianciulli PL. 1971.** Maracujá: seu cultivo, espécies, e moléstias. In: *Congresso Brasileiro de Fruticultura, 1*, Campinas: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 641-658.
- Pereira KJC, Dias DCFS. 2000.** Germinação e vigor de sementes de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.) submetidas a diferentes métodos de remoção da mucilagem. *Revista Brasileira de Sementes* **22**: 288-291.
- Popinigis F. 1985.** *Fisiologia da Semente*. Brasília, DF: ABEAS.
- Prado RM, Natale W. 2004.** Efeitos da aplicação da escória de siderurgia ferrocromo no solo, no estado nutricional e na produção de matéria seca de mudas de maracujazeiro. *Revista Brasileira de Fruticultura* **26**: 140-144.
- Rêgo GM. 1984.** *Micropropagação de plantas através da cultura de tecidos*. Cruz das Almas: EMBRAPA, CNPMF.
- Rossetto CAV, Coneglian RCC, Nakagawa J, Shimizu MK, Marin VA. 2000.** Germinação de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Dryand) em função de tratamento pré-germinativo. *Revista Brasileira de Sementes* **22**: 247-252.
- Rossini AO. 1977.** *Características botânicas e agronômicas de plantas de Passiflora alata Ait (maracujá-guaçú) cultivadas em Jaboticabal*. Monografia, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- Ruggiero C, Correa LS. 1978.** Propagação do maracujazeiro. In: *Simpósio Sobre a Cultura do Maracujazeiro, 2*, Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, 24-28.
- Ruggiero C, São José AR, Volpe CA, Oliveira JC, Durigan JF, Baumgartner JG, Silva JR, Nakamura K, Ferreira ME, Kavati R, Pereira VP. 1996.** *Maracujá para exportação: aspectos técnicos da produção*. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, Ministério da Agricultura e do Abastecimento, Secretaria do Desenvolvimento Rural, Programa de Apoio à Produção e Exportação de Frutas, Hortaliças, Flores e Plantas Ornamentais.

- Sacco JC. 1962.** *Flora ilustrada do Rio Grande do Sul: Passifloraceaes*. Instituto de Ciências Naturais, Universidade do Rio Grande do Sul. (Boletim 12), fascículo IV.
- Sacco JC. 1980.** Passifloráceas. In: Reitz P, ed. *Flora ilustrada catarinense*. Itajaí: IOESC, 130p.
- Salisbury FB, Ross CW. 1991.** *Plant Physiology*. Belmont: Wadsworth.
- Salomão TA, Andrada VMM. 1987.** Botânica. In: Ruggiero C, ed. *Maracujá*. Ribeirão Preto: Legis Summa, 20-39.
- São José AR. 1994.** *Maracujá: produção e mercado*. Vitória da Conquista: DFZ/UESB.
- Schultz A. 1943.** *Botânica Sistemática*. Porto Alegre: Globo.
- Silva AC, São José AR. 1994.** Classificação Botânica do Maracujazeiro. In: São José AR, ed. *Maracujá: produção e mercado*. Vitória da Conquista: DFZ/UESB, 1-5.
- Silva JR. 1998.** Situação da cultura do maracujazeiro na Região Central do Brasil. In: *Simpósio Brasileiro sobre a Cultura do Maracujá, 5*, Jaboticabal, 18-19.
- Taiz L, Zeiger E. 2009.** *Fisiologia Vegetal*. 4.ed. Porto Alegre: Artmed Editora S.A.
- Takahashi N, Phinney BO, Macmillan J. 1991.** *Gibberellins*. New York: Springer – Verlag.
- Vasconcellos MAS, Cereda E. 1994.** O cultivo de maracujá-doce. In: São José AR, Ed. *Maracujá: produção e mercado*. Vitória da Conquista: DFZ/UESB, 71-83.

**3- CAPÍTULO I* – FASES DA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Passiflora alata*
Curtis SUBMETIDAS A TRATAMENTOS COM GIBERELINAS E CITOCININA**

*Nas normas da Revista Annals of Botany

FASES DA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Passiflora alata* Curtis SUBMETIDAS A TRATAMENTOS COM GIBERELINAS E CITOCININA

Tainara Bortolucci Ferrari e Gisela Ferreira

RESUMO – O presente trabalho teve por objetivo caracterizar as fases da germinação de sementes de *Passiflora alata* Curtis submetidas a concentrações de GA₃ e GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina. O experimento foi realizado no Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Unesp, Botucatu, SP. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 11 tratamentos e cinco repetições de 25 sementes por parcela, seguindo esquema fatorial 2x5 (reguladores x concentrações) e uma testemunha (água destilada) em comum. As concentrações utilizadas foram 100, 200, 300, 400 e 500 mg L⁻¹ tanto para GA₃ quanto para GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina. As sementes foram acondicionadas em ‘gerbox’ preto, contendo 10 mL das soluções com os reguladores vegetais e levadas à câmara de germinação, com temperatura alternada entre 20°C por 8 h e 30°C por 16 h. Foram avaliados grau de umidade das sementes, germinabilidade, velocidade e tempo médios de germinação e porcentagem total de sementes germinadas. A caracterização das fases da germinação de sementes de *Passiflora alata* Curtis foi possível independentemente dos reguladores, porém com o uso de 200, 300 e 400 mg L⁻¹ de GA₃ e de todas as concentrações de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina, o início da fase III foi antecipado.

Palavras-chave: *Passiflora* sp., embebição, propagação, fisiologia da germinação

GERMINATION PHASES OF *Passiflora alata* Curtis TREATED WITH GIBBERELLIN AND CYTOKININ

ABSTRACT – The present work had as objective to characterize *Passiflora alata* Curtis germination phases subjected to concentrations of GA₃ and GA₄₊₇ + phenylmethylaminepurine. The experiment had been done at Botany Department, Institute of Biosciences, São Paulo State University, Botucatu, São Paulo State, Brazil.. The experimental design had been totally randomized, with 11 treatments and five replications of 25 seeds in each plot, following factorial design 2 x 5 (regulators x concentrations), and a common control (distilled water). The seeds had been submitted to the following treatments: 100, 200, 300, 400 and 500 mg L⁻¹, for GA₃ and also for GA₄₊₇ + N-(phenylmethyl)-1H-purine-6-amine. The seeds had been sown in black containers, containing 10 mL of solutions with plant growth regulators, and taken to the germination chamber, with temperature alternated between 20°C for 8 hours and 30° for 16 hours. The seeds moisture degree (%), the percentage of germination, average time of germination, average speed of germination and total percentage of germination had been evaluated. The characterization of seeds germination phases of *Passiflora alata* Curtis was possible regardless of regulators, but the start of phase III was anticipated with the use of 200, 300 and 400 mg L⁻¹ of GA₃ and all concentrations of GA₄₊₇ + N-(phenylmethyl)-1H-purine-6-amine.

Key Words: *Passiflora* sp., imbibition, propagation, germination physiology

INTRODUÇÃO

A família Passifloraceae compreende cerca de 580 espécies, das quais, entre 50 e 60 produzem frutos comestíveis, sendo que algumas destas espécies são nativas do Brasil (Manica, 1997).

Passiflora alata Curtis, espécie pertencente a família Passifloraceae, é popularmente conhecida como maracujá-doce (Pereira et al., 1971) e apresenta frutos que alcançam ótimos preços no mercado de frutas frescas; as flores são grandes e coloridas e portanto atrativas para serem usadas com fins ornamentais; das suas folhas e ramos é extraída a passiflorina, utilizada na industrialização de medicamentos para o tratamento das excitações nervosas, ansiedade e insônia (Vasconcellos e Cereda, 1994).

A propagação do maracujazeiro pode ser feita através de sementes, estacas, enxertia (Ferreira, 1998) e cultura de tecidos 'in vitro' (Alexandre et al., 2002), porém o método predominante ainda é a produção de mudas utilizando-se sementes (Wagner Júnior et al., 2007), o que justifica o estudo das fases da germinação, seja por se tratar da perpetuação da espécie, como para proporcionar variabilidade genética para os programas de melhoramento ou ainda para auxiliar na formação de porta-enxertos para espécies comerciais (Ruggiero, 1991).

Neste contexto, Bewley e Black (1994) e Castro et al. (2004) afirmam que a germinação é um processo composto por três fases que consistem na embebição (fase I), na ativação dos processos metabólicos requeridos para o crescimento do embrião (fase II) e no seu efetivo crescimento, que ocorre devido a divisão e, alongamento celular, que culminam na protrusão da raiz primária (fase III). Em cada uma das fases a aquisição de água pelas sementes resulta em padrão trifásico, devido a variações entre o potencial hídrico da semente e o meio (Castro et al., 2004).

Os componentes do potencial hídrico da semente atuam de modo diferente em cada uma das fases da germinação. A fase I se caracteriza por ser um processo físico, que ocorre tanto em sementes vivas quanto mortas, desde que o tegumento seja permeável a água. Esta fase é dirigida sobretudo pelo potencial matricial, que depende somente da ligação da água à matriz da semente. Em geral, a fase I é rápida (Castro et al., 2004) e pode durar, segundo Carvalho e Nakagawa (2000) uma ou duas horas.

Ao atingirem teores de água entre 25% e 30% e, 35% e 40 % as sementes endospermáticas e cotiledonares, respectivamente, passam para a fase II da germinação (Carvalho e Nakagawa, 2000).

A fase II é caracterizada pela total hidratação das sementes, havendo uma tendência à estabilização e equilíbrio na absorção de água pela semente em relação ao meio. Isso ocorre já

que as células no interior das sementes não podem absorver mais água porque não podem mais expandir (Castro et al., 2004). Porém, como a maioria dos eventos metabólicos que fazem parte na preparação da germinação ocorre nesta fase, como a biossíntese *de novo* e ativação de enzimas, hidrólise de reservas e início da translocação dos produtos da hidrólise, ocorrendo o transporte ativo das substâncias hidrolizadas dos tecidos de reserva para os meristemas, o potencial osmótico passa ser o responsável pela variação do potencial hídrico da semente e portanto responsável pela aquisição de água nesta fase (Carvalho e Nakagawa, 2000, Castro et al., 2004).

A partir de teor de água que varia de 35 a 40% para endospermáticas e de 50 a 60% para as cotiledonares, a semente volta a absorver água e inicia-se a fase III (Carvalho e Nakagawa, 2000).

A fase III é marcada pela protrusão da raiz primária, que ocorre com a retomada de crescimento do eixo embrionário. Alguns aspectos estão envolvidos nesta fase, como o potencial osmótico das células do embrião, propriedades da parede celular embrionária em resposta ao turgor interno e a resistência dos tecidos externos presentes, impedindo a expansão do embrião (Kigel e Galili, 1995; Bewley, 1997; Carvalho e Nakagawa, 2000, Castro et al., 2004).

Dentre os fatores que afetam a germinação, tem sido observado o efeito de compostos químicos biologicamente ativos, como reguladores e estimulantes vegetais, os quais aceleram o processo germinativo de várias espécies (Aragão et al., 2003).

As giberelinas atuam no controle da hidrólise do tecido de reserva para o fornecimento de energia ao embrião, promovendo, de acordo com Salisbury e Ross (1991) o alongamento celular, o que faz com que a raiz primária se desenvolva através do endosperma ou do tegumento.

As citocininas também estão envolvidas no processo germinativo, já que complementam a ação das giberelinas na indução da germinação e de processos enzimáticos, quando estes são bloqueados por inibidores (Fraga, 1982). Além disso, as citocininas estimulam a divisão celular (Taiz e Zeiger, 2009).

Deste modo, o presente trabalho teve por objetivo caracterizar as fases da germinação de sementes de *Passiflora alata* Curtis submetidas a tratamentos com GA₃ e GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de Fisiologia da germinação de sementes do Departamento de Botânica do Instituto de Biociências, *Campus* de Botucatu, SP – UNESP.

As sementes de *P. alata* Curtis foram obtidas de frutos maduros, coletados em janeiro de 2006, em uma propriedade rural localizada no município de Botucatu, SP. Após a retirada manual dos arilos, as sementes foram colocadas para secar à sombra, sobre papel toalha, por período de sete dias (São José e Nakagawa, 1988) e posteriormente armazenadas em geladeira até que os experimentos fossem montados. O grau de umidade inicial das sementes foi determinado utilizando-se cinco repetições de 25 sementes por meio de estufa à 105 °C, de acordo com Brasil (1992).

O experimento foi instalado em delineamento experimental inteiramente casualizado, com 11 tratamentos e 5 repetições, de 25 sementes por parcela, seguindo esquema fatorial 2X5 (reguladores x concentrações), onde a testemunha foi comum para os dois reguladores. Os tratamentos foram constituídos por soluções de reguladores vegetais (GA₃ - na forma do produto comercial Pro-Gibb[®], contendo 10% de ingrediente ativo e GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina - na forma do produto comercial Promalin[®], contendo 1,8% de GA₄₊₇ e 1,8% de N-(fenilmetil)-1H-6-aminopurina) nas concentrações 100, 200, 300, 400 e 500 mg L⁻¹ e testemunha (água destilada).

Com o objetivo de prevenir contaminações no meio de germinação as sementes foram submetidas à tratamento com fungicida nistatina a 10% durante 10 minutos e lavadas com água corrente posteriormente.

Após a pesagem (grau de umidade inicial) as sementes foram colocadas em caixas pretas para germinação ('gerbox') (11,0 cm x 11,0 cm x 3,5 cm), contendo papel de filtro para germinação umedecido com 10 mL de cada solução contendo os reguladores vegetais ou água. O material tratado foi acondicionado em germinador mantendo-se a temperatura alternada de 20°C por 6h e 30°C por 18h (6 h – 18h) (Ferreira, 1998).

Decorrido o período de uma hora, as sementes foram retiradas das caixas 'gerbox', secas superficialmente com papel toalha e pesadas, sendo a seguir, colocadas novamente no 'gerbox'. Este procedimento foi realizado a cada hora, durante um período de 12 horas. Após este período, o procedimento foi repetido a cada 24 horas até que não fosse mais observada germinação. Foram consideradas sementes germinadas aquelas que apresentavam no mínimo 2 mm de raiz primária (Hadas, 1976).

Para a realização da curva com a aquisição de água durante as fases da germinação, foi considerado o grau de umidade obtido antes da imersão das sementes nos tratamentos (Tempo=0), após uma hora de imersão e assim sucessivamente, até atingir o máximo de germinação.

Para o estudo das variações no teor de água nas fases I e início da II foi ajustado o modelo de Brody, ou monomolecular, de equação $y = \alpha [1 - \beta \exp(-\gamma x)]$, com y = grau de

umidade (%), x = tempo (em horas) e α , β e γ = parâmetros do modelo. Esses parâmetros possuem um significado biológico, principalmente α , que representa a assíntota horizontal superior à curva, e γ , que é um parâmetro relacionado à velocidade de crescimento de y .

Para o estudo das variações no teor de água no final da fase II e na fase III foi ajustado um modelo polinomial de segundo grau, uma vez que o crescimento está apenas na sua fase inicial. A equação é: $y = \beta_0 + \beta_1 x + \beta_2 x^2$, $\beta_2 > 0$. No caso das funções polinomiais os parâmetros não possuem um significado biológico, mas seus significados matemáticos permitem distinguir curvas representativas de dois ou mais tratamentos, a saber:

β_2 é uma medida da concavidade da curva, sendo que, quanto maior o valor de β_2 , mais acentuada esta será e, portanto, maior a velocidade de aquisição de água. β_1 é a derivada da função no ponto $x = 0$ e, portanto, determina a velocidade de aquisição de água apenas nesse ponto. Neste estudo as avaliações foram feitas a partir de $x = 36$ horas. β_0 é o valor da interseção da curva com o eixo y , ou seja, é o grau de umidade que as sementes apresentam em 36 horas.

Os modelos monomolecular (fase I e início da fase II) e polinomial de 2º grau (final da fase II e fase III) foram ajustados às medidas feitas em cada parcela, isto é, em cada repetição de cada tratamento, produzindo um conjunto de estimativas de parâmetros suscetível de ser analisado estatisticamente, através de análise de variância e teste de médias (teste de Tukey). Esse método de análise segue a recomendação de Carvalho (1996). Foi adotado o nível de significância de 5% nos testes.

Para representar a variação da porcentagem de germinação (y) com as épocas (x) foram ajustadas curvas de regressão logística, para cada tratamento. A função logística é representada pela equação $y = a / (1 - b \cdot \exp(-c \cdot x))$, onde a é o parâmetro denominado assíntota da função, isto é, a é o limite do crescimento de y quando x cresce indefinidamente; o parâmetro b relaciona o crescimento inicial (y para $x=0$) com aquele que falta para atingir a assíntota; e o parâmetro c está relacionado com o valor da derivada da função no ponto de inflexão da curva (quanto maior o parâmetro c , mais rapidamente o crescimento atinge esse ponto) (Ratkowsky, 1990).

A comparação das funções logísticas dos diferentes tratamentos foi feita segundo método descrito por Carvalho (1996).

Os dados referentes aos parâmetros a e c , velocidade média de germinação, calculada segundo Labouriau (1983), tempo médio de germinação, calculado segundo Edmond e Drapala (1958) e a porcentagem total de sementes germinadas foram submetidos à análise de variância e regressão polinomial e as médias comparadas pelo teste Tukey, no nível de significância de 5% nos testes. Para comparar os tratamentos com a testemunha, os dados

foram submetidos ao teste de Dunnett, a 5 % de probabilidade (Mischan e Pinho, 1996). Todas as análises foram processadas utilizando-se o programa computacional SAS (2004).

RESULTADOS

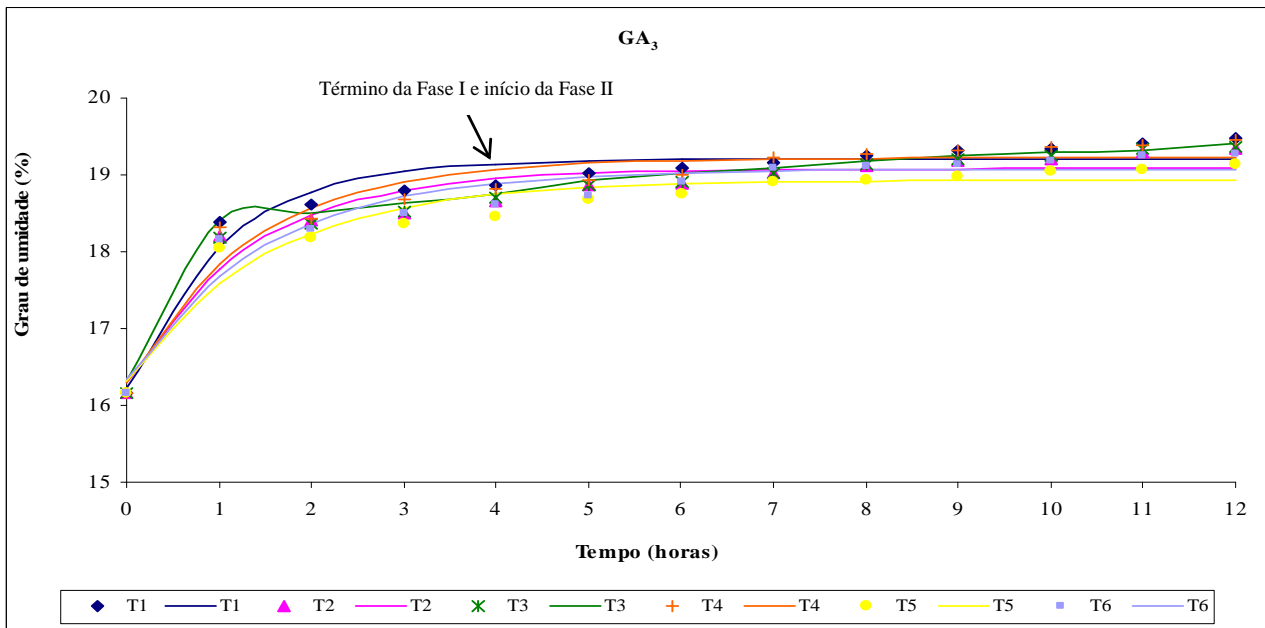
As Figuras 1, 2, 3 e 4 apresentam o grau de umidade (%) das sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis) tratadas com diferentes concentrações de giberelina e de giberelinas associadas a citocinina durante as fases da germinação.

Observou-se que a espécie possui as três fases da germinação definidas, tanto nos tratamentos com GA₃ quanto nos tratamentos com GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina, com aumento do grau de umidade nas primeiras horas do teste (fase I), tendendo a estabilidade com o passar do tempo (fase II) e posterior aumento na velocidade de absorção quando da emissão de raiz primária (fase III).

Em relação às fases I e início da fase II, ajustadas pelo modelo de Brody, pode-se verificar que não houve diferença significativa entre os tratamentos com GA₃ para os parâmetros *a* e *c* (Figura 1 e Tabela 1). No entanto, o tratamento das sementes com 100 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina diferiu da testemunha, a qual apresentou maior valor para o parâmetro *c* (velocidade de crescimento da curva) (Figura 2 e Tabela 1).

Independentemente do regulador empregado, a fase I teve duração de 4 horas (Figuras 1 e 2). O tempo de duração da fase II variou entre os tratamentos, sendo que a testemunha e as sementes tratadas com 100 e 500 mg L⁻¹ de GA₃ permaneceram nessa fase por 152 horas, enquanto que nos demais tratamentos com GA₃ permaneceram 128 horas (Figuras 1 e 3).

Com relação ao regulador vegetal GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina, o tempo de duração da fase II foi o mesmo para todas as concentrações, ou seja, 152 horas (Figuras 2 e 4).



$$y = \alpha [1 - \beta \exp(-\gamma x)]$$

T1 - 0 mg L⁻¹ GA₃

T2 - 100 mg L⁻¹ GA₃

T3 - 200 mg L⁻¹ GA₃

T4 - 300 mg L⁻¹ GA₃

T5 - 400 mg L⁻¹ GA₃

T6 - 500 mg L⁻¹ GA₃

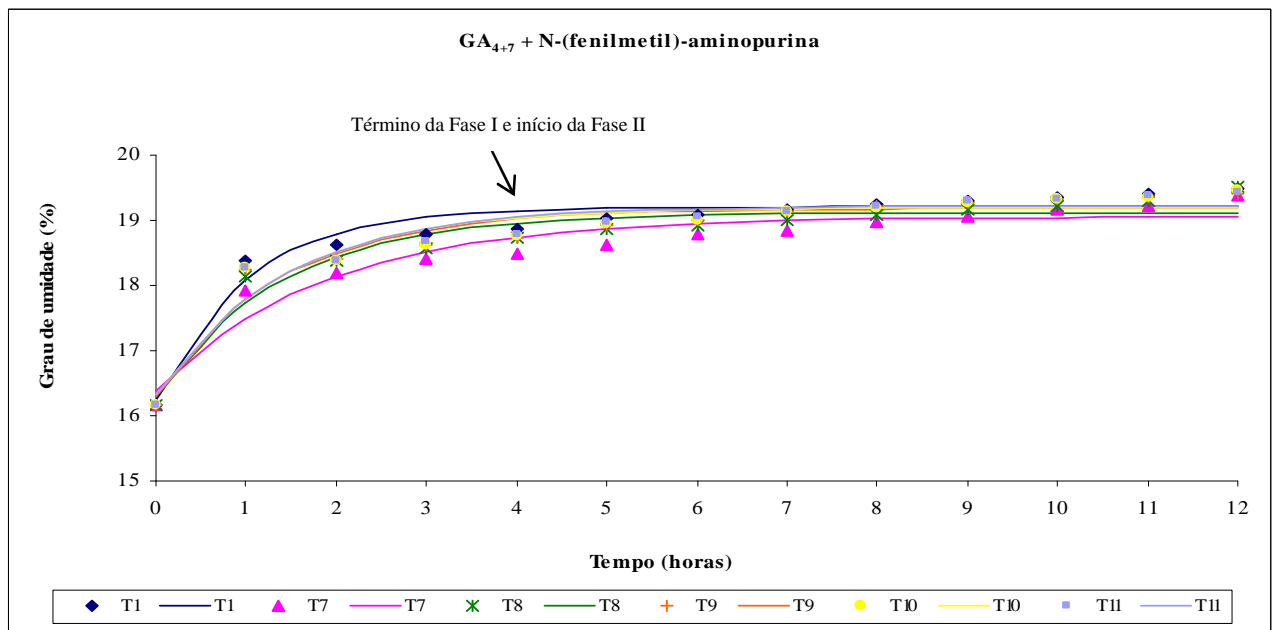
Figura 1- Grau de umidade de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis) submetidas a tratamentos com diferentes concentrações de ácido giberélico (GA₃) na fase I e início da fase II da germinação.

Tabela 1- Estimativas médias dos parâmetros *a* (assíntota da função) e *c* (velocidade de crescimento da curva) do modelo de Brody conforme as concentrações e os reguladores utilizados para grau de umidade (%) de sementes de *P. alata* Curtis de acordo com teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tratamento	<i>a</i>	<i>C</i>
0 mg L ⁻¹ (testemunha)	19,2067ns ¹	0,9737 a ²
100 mg L ⁻¹ GA ₃	19,0827ns	0,7881 ab
200 mg L ⁻¹ GA ₃	19,1285ns	0,7552 ab
300 mg L ⁻¹ GA ₃	19,2259ns	0,7748 ab
400 mg L ⁻¹ GA ₃	18,9347ns	0,666 ab
500 mg L ⁻¹ GA ₃	19,0795ns	0,6944 ab
100 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	19,1162ns	0,5366 b
200 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	19,1274ns	0,7067 ab
300 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	18,1878ns	0,7266 ab
400 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	19,1948ns	0,74 ab
500 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	19,2172ns	0,7145 ab

¹ Médias seguidas de ns (não significativo) na mesma coluna, comparando os reguladores, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

² Médias seguidas da mesma letra na coluna, comparando os reguladores, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.



$$y = \alpha [1 - \beta \exp(-\gamma x)]$$

T1 - 0 mg L⁻¹ GA₄₊₇ + FMAP

T7 - 100 mg L⁻¹ GA₄₊₇ + FMAP

T8 - 200 mg L⁻¹ GA₄₊₇ + FMAP

T9 - 300 mg L⁻¹ GA₄₊₇ + FMAP

T10 - 400 mg L⁻¹ GA₄₊₇ + FMAP

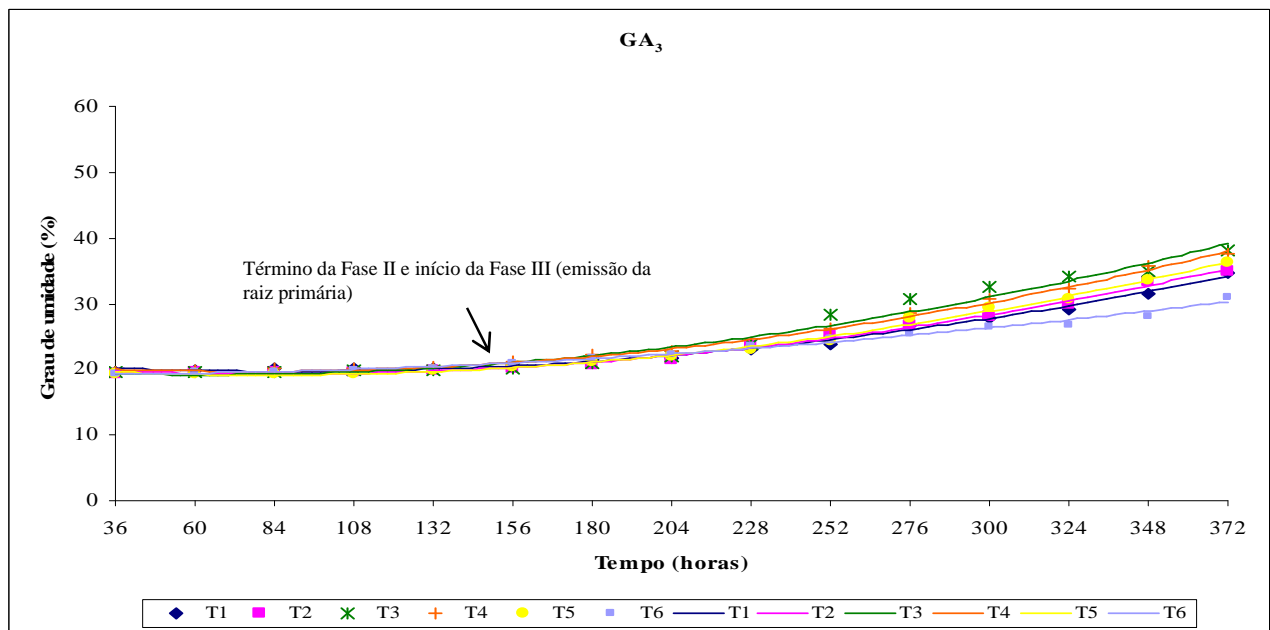
T11 - 500 mg L⁻¹ GA₄₊₇ + FMAP

Figura 2- Grau de umidade de sementes de maracujá-doce (*P. alata* Curtis) submetidas a tratamentos com diferentes concentrações de giberelinas e citocinina (GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina) na fase I e início da fase II da germinação.

A Tabela 2 apresenta os valores médios dos parâmetros β_0 , β_1 e β_2 , e as diferenças entre médias conforme os tratamentos, a fim de determinar a velocidade de aquisição de água pelas sementes no final da fase II e durante toda a fase III da germinação.

A análise de variância dos valores dos parâmetros do modelo de polinômio de segundo grau mostrou diferença significativa entre os valores de β_0 , sendo que a testemunha, 100, 300 e 400 mg L⁻¹ de GA₃ apresentaram maiores valores do que o tratamento 500 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina, ou seja, apresentaram maior grau de umidade quando as sementes estavam embebendo há 36 horas (fase II) (Tabela 2).

Sementes tratadas com 500 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina apresentaram maior valor com relação ao parâmetro β_1 do que a testemunha (0 mg L⁻¹), 100, 200, 300 e 400 mg L⁻¹ de GA₃ e 100 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina, significando que a velocidade inicial de aquisição de água foi maior nas sementes tratadas com 500 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina (Tabela 2).



$$y = \beta_0 + \beta_1 x + \beta_2 x^2, \beta_2 > 0$$

T1 - 0 mg L⁻¹ GA₃

T2 - 100 mg L⁻¹ GA₃

T3 - 200 mg L⁻¹ GA₃

T4 - 300 mg L⁻¹ GA₃

T5 - 400 mg L⁻¹ GA₃

T6 - 500 mg L⁻¹ GA₃

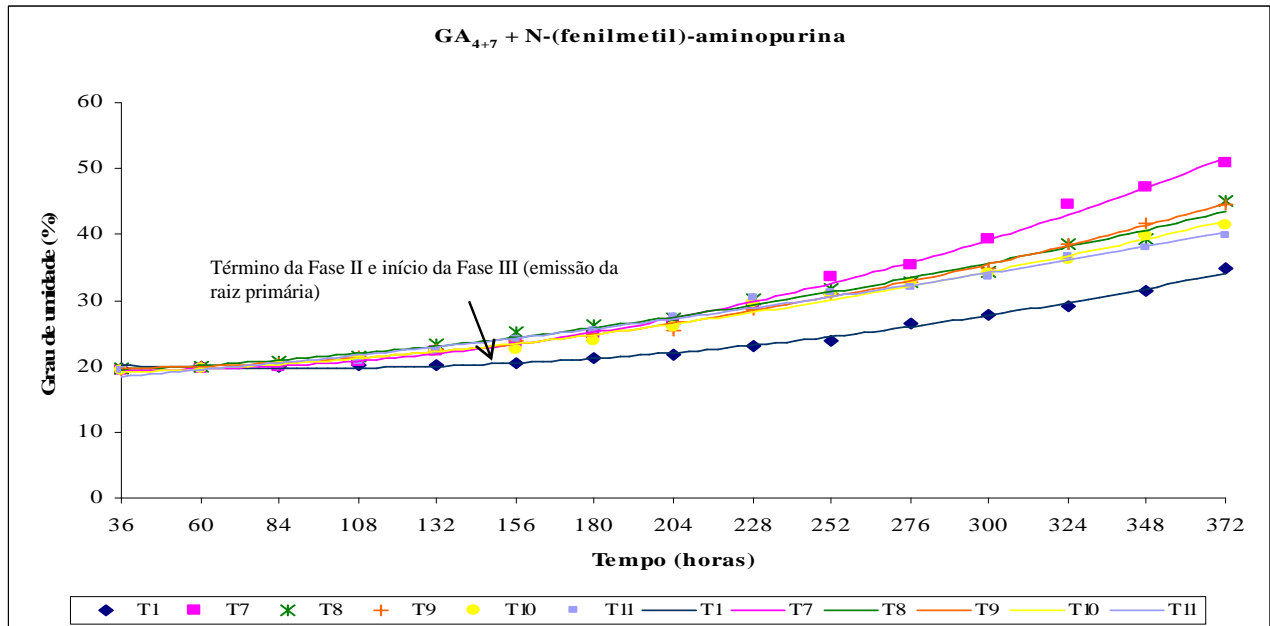
Figura 3- Grau de umidade de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis) submetidas a tratamentos com diferentes concentrações de ácido giberélico (GA₃) no final da fase II e fase III da germinação.

Tabela 2- Valores médios dos parâmetros β_0 (grau de umidade em 36 horas), β_1 (velocidade inicial de aquisição de água) e β_2 (velocidade de aquisição de água no final da fase II a durante a fase III) conforme as concentrações e os reguladores utilizados para grau de umidade de sementes de *P. alata* Curtis comparados de acordo com teste Tukey.

Tratamento	β_0	β_1	β_2
0 mg L ⁻¹ (testemunha)	20,8112a ¹	-0,02820b	0,000173ab
100 mg L ⁻¹ GA ₃	20,6394 ^a	-0,03270b	0,000194ab
200 mg L ⁻¹ GA ₃	19,9103ab	-0,02527b	0,000207ab
300 mg L ⁻¹ GA ₃	20,8791 ^a	-0,03206b	0,000210ab
400 mg L ⁻¹ GA ₃	20,4776 ^a	-0,03366b	0,000205ab
500 mg L ⁻¹ GA ₃	19,1993ab	-0,00221ab	0,000086b
100 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	19,9371ab	-0,02379b	0,000293a
200 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	18,7940ab	0,01359ab	0,000142b
300 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	19,7091ab	-0,00771ab	0,000201ab
400 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	18,5527ab	0,00830ab	0,000148b
500 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	17,1296b	0,03384a	0,000076b

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna, comparando os reguladores, não diferem entre si no nível de 5% de probabilidade.

Com relação ao valor do parâmetro β_2 , sementes tratadas com 100 mg L^{-1} de GA_{4+7} + N-(fenilmetil)-aminopurina apresentaram valores superiores às tratadas com 500 mg L^{-1} de GA_3 , 200, 400 e 500 mg L^{-1} de GA_{4+7} + N-(fenilmetil)-aminopurina, indicando que nesse tratamento a velocidade de aquisição de água entre o final da fase II e a fase III foi maior (Tabela 2).



$$y = \beta_0 + \beta_1 x + \beta_2 x^2, \beta_2 > 0$$

T1 - 0 mg L^{-1} GA_{4+7} + FMAP

T7 - 100 mg L^{-1} GA_{4+7} + FMAP

T8 - 200 mg L^{-1} GA_{4+7} + FMAP

T9 - 300 mg L^{-1} GA_{4+7} + FMAP

T10 - 400 mg L^{-1} GA_{4+7} + FMAP

T11 - 500 mg L^{-1} GA_{4+7} + FMAP

Figura 4- Grau de umidade de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis) submetidas a tratamentos com diferentes concentrações de giberelinas e citocinina (GA_{4+7} + N-(fenilmetil)-aminopurina) no final da fase II e fase III da germinação.

A fase III da germinação de sementes de *Passiflora alata* foi marcada por um aumento no conteúdo de água da semente (Figuras 3 e 4), devido à absorção associada com a iniciação do crescimento do embrião e que culminou com a emergência da raiz primária (Figura 5 e 6)

Sementes tratadas com 200, 300 e 400 mg L^{-1} de GA_3 e com todas as concentrações de GA_{4+7} + N-(fenilmetil)-aminopurina entraram na fase III com 132 horas de embebição, enquanto que aquelas sem tratamento (testemunha) e tratadas com 100 e 500 mg L^{-1} de GA_3 entraram nessa fase com 156 horas (Figuras 3 e 4).

Além das fases da germinação também foi possível verificar a germinabilidade das sementes de *P. alata* Curtis submetidas a embebição com diferentes concentrações de GA_3 , conforme observa-se na Tabela 3 e na Figura 5.

Tabela 3- Valores médios dos parâmetros a (assíntota da função) e c (relacionado com o valor da derivada da função no ponto de inflexão da curva) da função logística conforme tratamento com concentrações de GA₃ para germinabilidade de sementes de *P. alata* Curtis de acordo com teste Tukey.

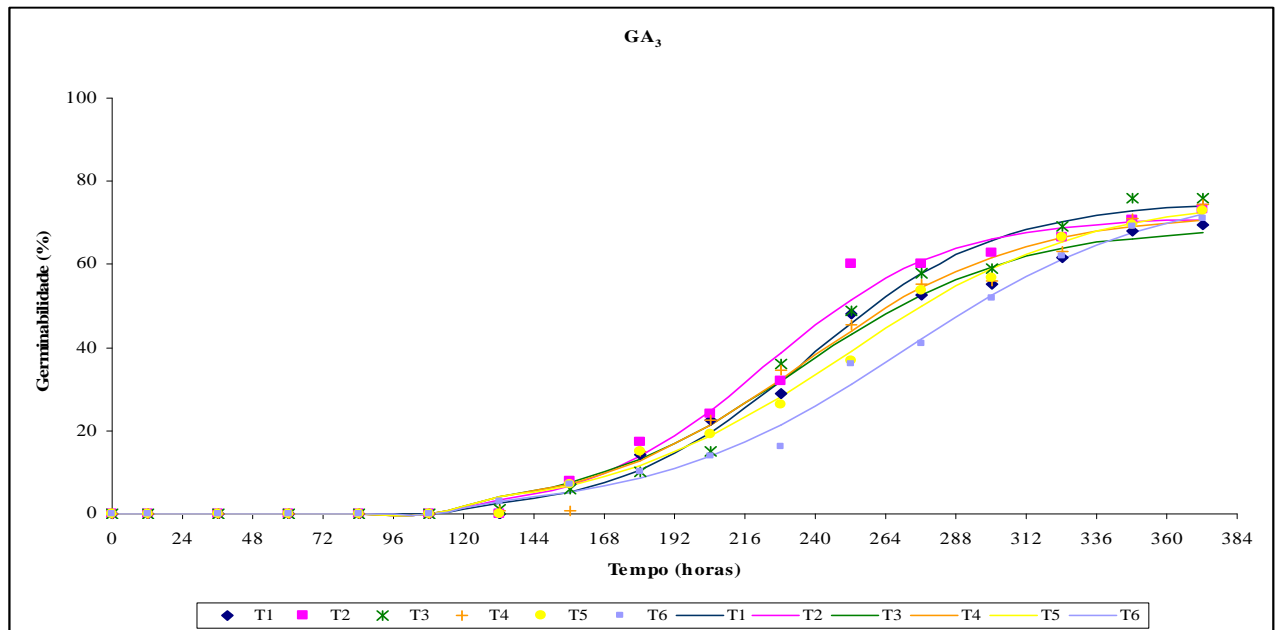
Tratamento	a	C
100 mg L ⁻¹ GA ₃	76,29ns ¹	0,8633ns
200 mg L ⁻¹ GA ₃	76,52ns	0,8634ns
300 mg L ⁻¹ GA ₃	73,74ns	0,8148ns
400 mg L ⁻¹ GA ₃	78,33ns	0,6726ns
500 mg L ⁻¹ GA ₃	82,36ns	0,8784ns
a e c	$y=a/(1-b*\exp(-c*x))$	

¹ Médias seguidas de ns (não significativo) na mesma coluna, comparando as concentrações, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Não houve diferença significativa para o parâmetro a (assíntota da função), ou seja, as sementes não apresentaram diferença para porcentagem de germinação ao longo do período estudado (Tabela 3), uma vez que a representa o limite do crescimento de y (porcentagem de germinação).

Da mesma forma, o parâmetro c (valor da derivada da função no ponto de inflexão da curva) também não apresentou diferença significativa entre as concentrações de ácido giberélico utilizado (Tabela 3).

O teste de Dunnett demonstrou que não houve diferença entre os tratamentos com GA₃ e a testemunha para os parâmetros a e c , conforme verifica-se na Tabela 4.



$$y = a / (1 - b \cdot \exp(-c \cdot x))$$

T1 - 0 mg L⁻¹ GA₃

T2 - 100 mg L⁻¹ GA₃

T3 - 200 mg L⁻¹ GA₃

T4 - 300 mg L⁻¹ GA₃

T5 - 400 mg L⁻¹ GA₃

T6 - 500 mg L⁻¹ GA₃

Figura 5- Germinabilidade de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis) tratadas com diferentes concentrações de ácido giberélico (GA₃).

Tabela 4- Valores dos parâmetros *a* e *c* da função logística de sementes de *Passiflora alata* Curtis submetidas a tratamentos com GA₃ comparados com valores dos parâmetros *a* e *c* da função logística de sementes sem tratamento (testemunha - água destilada) pelo teste de Dunnett a 5% de significância.

Tratamento	<i>A</i>	<i>c</i>
Testemunha (água destilada)	69,50ns ¹	0,6875ns
100 mg L ⁻¹ de GA ₃	76,29ns	0,8633ns
200 mg L ⁻¹ de GA ₃	76,52ns	0,8634ns
300 mg L ⁻¹ de GA ₃	73,74ns	0,8148ns
400 mg L ⁻¹ de GA ₃	78,33ns	0,6726ns
500 mg L ⁻¹ de GA ₃	82,36ns	0,8784ns

¹ Médias seguidas de ns (não significativo) na mesma coluna, comparando as concentrações com a testemunha não diferem pelo teste de Dunnett a 5% de significância.

Os resultados referentes a tempo médio de germinação (TMG) calculado segundo Edmond e Drapala (1958), velocidade média de germinação (VMG) calculada segundo Labouriau (1983) e porcentagem total de sementes de maracujá-doce germinadas (SG) tratadas com GA₃ encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5- Valores das variáveis tempo médio de germinação (TMG), velocidade média de germinação (VMG) e porcentagem total de sementes germinadas (SG) de *P. alata* Curtis, conforme concentrações de GA₃ de acordo com teste Tukey e regressão polinomial.

Tratamento	TMG (dias)	VMG (sementes germinadas/dia)	SG (%)
100 mg L ⁻¹ GA ₃	10,58571ns ¹	0,094992ns	72,0ns
200 mg L ⁻¹ GA ₃	11,12992ns	0,09031ns	75,2ns
300 mg L ⁻¹ GA ₃	11,12788ns	0,09007ns	74,4ns
400 mg L ⁻¹ GA ₃	11,18328ns	0,089589ns	72,8ns
500 mg L ⁻¹ GA ₃	11,77231ns	0,084993ns	68,0ns
TMG	$y = 0,0024x + 10,432$	$R^2 = 0,2337$	
VMG	$y = -0,00002x + 0,0962$	$R^2 = 0,2350$	
SG	$y = -0,0002x^2 + 0,061x + 67,2$	$R^2 = 0,4584$	

¹ Médias seguidas de ns (não significativo) na mesma coluna, comparando as concentrações, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

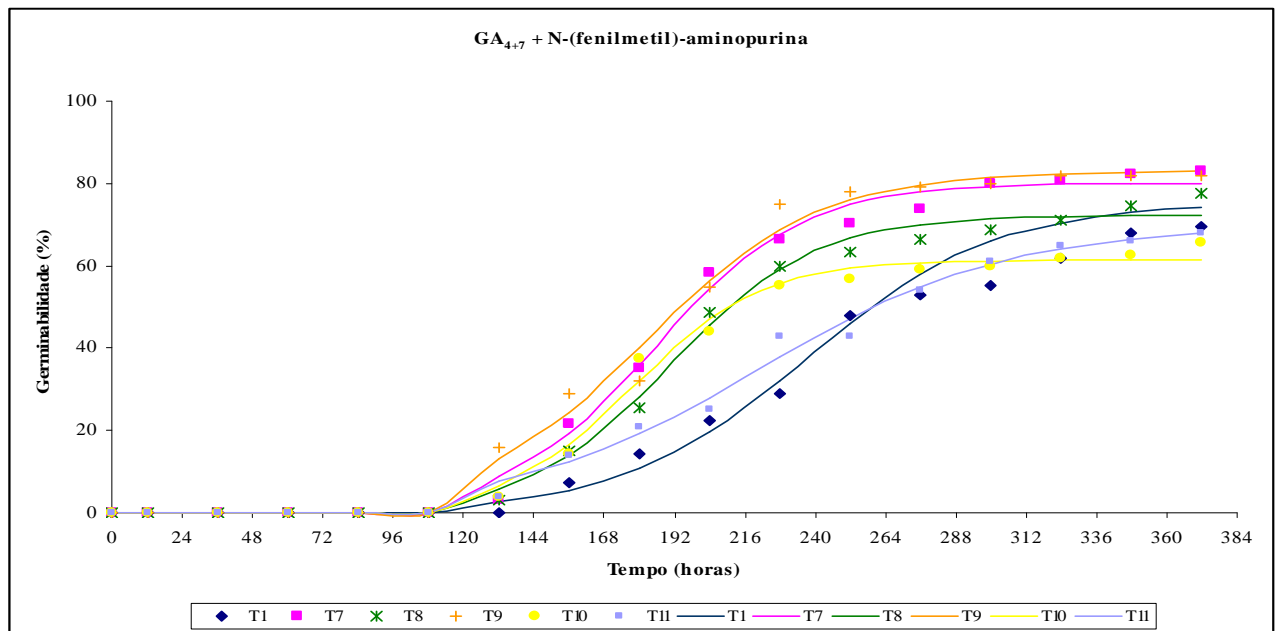
Além disso, tanto para TMG quanto para VMG e para SG, a testemunha não diferiu das sementes tratadas com diferentes concentrações de GA₃, de acordo com Dunnett (Tabela 6).

Tabela 6- Tempo (TMG), velocidade (VMG) médios de germinação e porcentagem total de sementes de *Passiflora alata* Curtis germinadas (SG) submetidas a tratamentos com GA₃ comparados com o TMG, VMG e SG de sementes sem tratamento (testemunha - água destilada) pelo teste de Dunnett a 5% de significância.

Tratamento	TMG	VMG	SG
Testemunha (água destilada)	10,81905ns ¹	0,092528ns	69,6ns
100 mg L ⁻¹ de GA ₃	10,58571ns	0,094992ns	72,0ns
200 mg L ⁻¹ de GA ₃	11,12992ns	0,09031ns	75,2ns
300 mg L ⁻¹ de GA ₃	11,12788ns	0,09007ns	74,4ns
400 mg L ⁻¹ de GA ₃	11,18328ns	0,089589ns	72,8ns
500 mg L ⁻¹ de GA ₃	11,77231ns	0,084993ns	68,0ns

¹ Médias seguidas de ns (não significativo) na mesma coluna, comparando as concentrações com a testemunha não diferem pelo teste de Dunnett a 5% de significância.

Os resultados referentes a utilização de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina em sementes de maracujá-doce estão representados na Tabela 7 e na Figura 8.



$$y=a/(1-b*\exp(-c*x))$$

T1 - 0 mg L⁻¹ GA₄₊₇ + FMAP T7 - 100 mg L⁻¹ GA₄₊₇ + FMAP
 T8 - 200 mg L⁻¹ GA₄₊₇ + FMAP T9 - 300 mg L⁻¹ GA₄₊₇ + FMAP
 T10 - 400 mg L⁻¹ GA₄₊₇ + FMAP T11 - 500 mg L⁻¹ GA₄₊₇ + FMAP

Figura 6- Germinabilidade de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis) tratadas com diferentes concentrações de giberelinas e citocinina (GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina).

Foi possível observar que não houve diferença significativa entre os parâmetros a (assíntota da função) e c (valor da derivada da função no ponto de inflexão da curva) de sementes de *P. alata* Curtis tratadas com GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina (Tabela 7).

Tabela 7- Valores médios dos parâmetros a (assíntota da função) e c (relacionado com o valor da derivada da função no ponto de inflexão da curva) da função logística conforme tratamento com concentrações de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina (GA₄₊₇ + FMAP) para germinabilidade de sementes de *P. alata* Curtis de acordo com teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tratamento	A	C
100 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	80,62ns ¹	1,1083ns
200 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	72,36ns	1,1761ns
300 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	82,10ns	1,3417ns
400 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	62,83ns	1,4076ns
500 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	72,64ns	0,7771ns
a e c	$y=a/(1-b*\exp(-c*x))$	

¹ Médias seguidas de ns (não significativo) na mesma coluna, comparando as concentrações, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Da mesma forma, os demais tratamentos com GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina não diferiram da testemunha para os parâmetros *a* e *c*, pelo teste de Dunnett (Tabela 8).

Tabela 8- Valores dos parâmetros *a* e *c* da função logística de sementes de *Passiflora alata* Curtis submetidas a tratamentos com GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina comparados com valores dos parâmetros *a* e *c* da função logística de sementes sem tratamento (testemunha - água destilada) pelo teste de Dunnett a 5% de significância.

Tratamento	A	C
Testemunha (água destilada)	69,50ns ¹	0,6875ns
100 mg L ⁻¹ de GA ₄₊₇ + FMAP	80,62ns	1,1083ns
200 mg L ⁻¹ de GA ₄₊₇ + FMAP	72,36ns	1,1761ns
300 mg L ⁻¹ de GA ₄₊₇ + FMAP	82,10ns	1,3417ns
400 mg L ⁻¹ de GA ₄₊₇ + FMAP	62,83ns	1,4076ns
500 mg L ⁻¹ de GA ₄₊₇ + FMAP	72,64ns	0,7771ns

¹ Médias seguidas de ns (não significativo) na mesma coluna, comparando as concentrações com a testemunha não diferem pelo teste de Dunnett a 5% de significância.

Os resultados referentes a tempo médio de germinação (TMG) e velocidade média de germinação (VMG) são encontrados na Tabela 9.

Tabela 9- Valores das variáveis tempo médio de germinação (TMG), velocidade média de germinação (VMG), e porcentagem total de sementes de *P. alata* Curtis germinadas (SG), conforme tratamentos com GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina de acordo com teste Tukey e regressão polinomial.

Tratamento	TMG (dias)	VMG (sementes germinadas/dia)	SG (%)
100 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	9,149756ns ¹	0,110036ns	83,2ns
200 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	9,642626ns	0,104194ns	77,6ns
300 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	8,663565ns	0,117082ns	76,8ns
400 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	9,147637ns	0,110094ns	65,6ns
500 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	9,720238ns	0,104245ns	65,6ns
TMG	$y = 0,0000001x^3 - 0,0001x^2 + 0,0244x + 7,6976$		$R^2 = 0,6408$
VMG	$y = -0,000000001x^3 + 0,000001x^2 - 0,0003x + 0,1255$		$R^2 = 0,5514$
SG	$y = -0,0047x + 87,92$		$R^2 = 0,2783$

¹ Médias seguidas de ns (não significativo) na mesma coluna, comparando as concentrações, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Assim como para GA₃, os valores do TMG, da VMG e da % SG com o emprego de concentrações de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina também não diferiram entre si (Tabela 9).

Pelo teste de Dunnett foi possível verificar que, tanto para TMG quanto para VMG, a testemunha diferiu das sementes tratadas com 100, 300 e 400 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina, as quais apresentaram menor tempo e maior velocidade de germinação. Com relação a SG, não foi observada diferença significativa entre as concentrações de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina utilizadas (Tabela 10).

Tabela 10- Tempo (TMG), velocidade (VMG) médios de germinação e porcentagem total de sementes de *Passiflora alata* Curtis germinadas (SG) submetidas a tratamentos com GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina comparados com o TMG, VMG e SG de sementes sem tratamento (testemunha - água destilada) pelo teste de Dunnett a 5% de significância.

Tratamento	TMG	VMG	SG
Testemunha (água destilada)	10,81905	0,092528	69,6ns ¹
100 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	9,149756*	0,110036*	83,2ns
200 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	9,642626	0,104194	77,6ns
300 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	8,663565*	0,117082*	76,8ns
400 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	9,147637*	0,110094*	65,6ns
500 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	9,720238	0,104245	65,6ns

* Significativo ao teste de Dunnett, ao nível de 5%.

¹ Médias seguidas de ns (não significativo) na mesma coluna, comparando as concentrações com a testemunha não diferem pelo teste de Dunnett a 5% de significância.

Com o objetivo de comparar estatisticamente o efeito dos reguladores na germinação ao longo do tempo, estão apresentadas a seguir as análises dos parâmetros *a* e *c*. Desta forma, atenção será dada para a comparação entre reguladores e não para as concentrações específicas de cada regulador, uma vez que as discussões quanto às concentrações já foram realizadas.

As médias comparadas pelo teste Tukey para os parâmetros *a* (assíntota) e *c* (valor da derivada da função no ponto de inflexão da curva) de sementes tratadas com GA₃ e GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina nas concentrações 100, 200, 300, 400 e 500 mg L⁻¹ encontram-se nas Tabelas 11 e 12.

Tabela 11- Valores médios do parâmetro a (assíntota) comparando os reguladores em cada concentração e valores do teste F para germinabilidade de sementes de *Passiflora alata* Curtis.

Reguladores Vegetais	Concentrações (mg L ⁻¹)				
	100	200	300	400	500
GA ₃	76,29ns ¹	76,52ns	73,74ns	78,33ns	82,36ns
GA ₄₊₇ + FMAP	80,62ns	72,36ns	82,10ns	62,83ns	72,64ns
F dos Reguladores (R): 0,11ns	F das Concentrações (C): 0,39ns			F RxC: 0,59ns	

¹ Médias seguidas de ns (não significativo) na mesma coluna, comparando os reguladores, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Para o parâmetro a não foram observadas diferenças significativas entre os reguladores vegetais (Tabela 11), enquanto que para o parâmetro c , GA₃ e GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina diferiram na concentração de 400 mg L⁻¹ (Tabela 12).

Tabela 12- Valores médios do parâmetro c (valor da derivada da função no ponto de inflexão da curva) comparando os reguladores em cada concentração e valores do teste F para germinabilidade de sementes de *Passiflora alata* Curtis.

Reguladores Vegetais	Concentrações (mg L ⁻¹)				
	100	200	300	400	500
GA ₃	0,8633a ¹	0,8634a	0,8148a	0,6726b	0,8784a
GA ₄₊₇ + FMAP	1,1083a	1,1761a	1,3417a	1,4076a	0,7771a
F dos Reguladores (R): 5,04*	F das Concentrações (C): 0,37ns			F RxC: 0,61ns	

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna, comparando os reguladores, não diferem entre si no nível de 5% de probabilidade.

As médias comparadas pelo teste Tukey para TMG, calculado segundo Edmond e Drapala (1958) e VMG, calculado segundo Labouriau (1983) de sementes de maracujá-doce tratadas com reguladores vegetais, encontram-se nas Tabelas 13 e 14.

Observa-se que para TMG houve diferença entre GA₃ e GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina em cada uma das concentrações utilizadas. Sementes de *P. alata* Curtis tratadas com GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina apresentaram menor tempo médio de germinação (Tabela 13).

Tabela 13- Valores para tempo médio de germinação (TMG) de sementes de *Passiflora alata* Curtis comparando os reguladores em cada concentração e valores do teste F.

Reguladores Vegetais	Concentrações (mg L ⁻¹)				
	100	200	300	400	500
GA ₃	10,58571b ¹	11,12992b	11,12788b	11,18328b	11,77231b
GA ₄₊₇ + FMAP	9,149756a	9,642626a	8,663565a	9,147637a	9,720238a
F dos Reguladores (R): 64,45*	F das Concentrações (C): 1,93ns			F RxC: 0,67ns	

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna, comparando os reguladores, não diferem entre si no nível de 5% de probabilidade.

Da mesma forma, o uso do GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina promoveu maior VMG em cada uma das concentrações em comparação com o GA₃ (Tabela 14).

Tabela 14- Valores para velocidade média de germinação (VMG) de sementes de *Passiflora alata* Curtis comparando os reguladores em cada concentração e valores do teste F.

Reguladores Vegetais	Concentrações (mg L ⁻¹)				
	100	200	300	400	500
GA ₃	0,094992b ¹	0,09031b	0,09007b	0,089589b	0,084993b
GA ₄₊₇ + FMAP	0,110036a	0,104194a	0,117082a	0,110094a	0,104245a
F dos Reguladores (R): 55,45*	F das Concentrações (C): 1,63ns			F RxC: 0,73ns	

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna, comparando os reguladores, não diferem entre si no nível de 5% de probabilidade.

Verifica-se na Tabela 15 que para porcentagem total de sementes de *P. alata* Curtis germinadas (SG) não houve diferença entre os reguladores vegetais utilizados.

Tabela 15- Valores para porcentagem total de sementes de *Passiflora alata* Curtis germinadas (SG) comparando os reguladores em cada concentração e valores do teste F.

Reguladores Vegetais	Concentrações (mg L ⁻¹)				
	100	200	300	400	500
GA ₃	72,0ns ¹	75,2ns	74,4ns	72,8ns	68,0ns
GA ₄₊₇ + FMAP	83,2ns	77,6ns	76,8ns	65,6ns	65,6ns
F dos Reguladores (R): 0,11ns	F das Concentrações (C): 1,20ns			F RxC: 0,60ns	

¹ Médias seguidas de ns (não significativo) na mesma coluna, comparando os reguladores, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

DISCUSSÃO

As três fases de germinação citadas por Bewley e Black (1994) são bem definidas para maracujá doce, o que pode ser observado nas Figuras 1, 2, 3 e 4. Dessa forma, a espécie possui germinação com aumento no grau de umidade mais rápido nas primeiras horas do teste (fase I), tendendo à estabilidade com o passar do tempo (fase II) e posterior aumento na velocidade de absorção quando a raiz primária é emitida (fase III).

Assim, o movimento da água ocorreu espontaneamente segundo um gradiente decrescente de potencial hídrico em função de componente matricial, o que garantiu inicialmente a entrada rápida de água (fase I) (Figuras 1 e 2), conforme afirmam Labouriau (1983), Young et al. (1983), Bewley e Black (1994) e Carvalho e Nakagawa (2000). Dessa forma, tanto as sementes de maracujá-doce submetidas a tratamentos com os reguladores vegetais quanto a testemunha permaneceram na fase I por 4 horas.

Para que sementes cotiledonares passem da fase I para a fase II, Carvalho e Nakagawa (2000) afirmam que essas precisam de teor de água entre 35 e 40%. Porém, neste trabalho, foi observado que para entrarem na fase II as sementes de *P. alata* Curtis, apresentaram grau de umidade entre 18 e 19% (Figuras 1 e 2).

Entre espécies de maracujazeiro, Ferreira (1998) obteve diferentes tempos para a fase I, que durou 3 horas para *P. edulis* f. *flavicarpa*, 5 horas para *P. caerulea* e *P. giberti*. Para *P. alata*, o autor observou que a fase I durou 5 horas, praticamente o mesmo tempo de embebição encontrado neste trabalho (Figuras 1 e 2). Ainda em trabalho com *P. alata* Curtis, Ferrari et al. (2008) verificaram que sementes acondicionadas em caixas de germinação tipo 'gerbox' levaram 10 horas para entrar na fase II, com grau de umidade de 9,86%, enquanto que sementes imersas em água destilada levaram 11 horas, com grau de umidade igual a 10,02%, valores abaixo daqueles encontrados neste trabalho, já que as sementes de maracujá-doce aqui utilizadas apresentaram grau de umidade em torno de 16% antes de começarem a embeber.

Somente após atingir o grau de umidade adequado é que sementes viáveis não dormentes terminarão a fase II e darão início a fase III (Carvalho e Nakagawa, 2000), conforme observa-se nas Figuras 3 e 4.

Durante a fase II são ativados os processos metabólicos, tais como duplicação do DNA, início da degradação de reservas e alongamento das células da radícula (Bewley e Black, 1994; Castro et al., 2004). Portanto, durante essa fase ocorrem processos não visíveis, que só serão confirmados assim que ocorrer a protrusão da raiz primária (fase III da germinação).

Sementes sem tratamento (testemunha) e aquelas tratadas com GA₃ atingiram a fase III com grau de umidade entre 20 e 21% (Figura 3), enquanto que sementes tratadas com GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina precisaram de grau de umidade entre 22 e 24% para chegarem até essa fase (Figura 4). Tais observações não estão de acordo com Carvalho e Nakagawa (2000), os quais afirmam que para que haja passagem da fase II para a fase III, sementes cotiledonares devem apresentar teor de água entre 50 e 60%.

O fato das sementes de maracujá-doce tratadas com GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina apresentarem maior grau de umidade na passagem da fase II para a III do que aquelas tratadas com GA₃ pode ser explicado pela ação conjunta das giberelinas com a citocinina. Nesse caso, tanto GA₄ quanto GA₇ se transformam em GA₁ promovendo o alongamento celular (Davies, 1994; Taiz e Zeiger, 2009), enquanto que a citocinina aumentou a divisão celular (Davies, 1994). Essas ações do GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina resultaram em maior produção de tecido vegetal e conseqüentemente maior quantidade de água foi requerida para a manutenção do desenvolvimento o que resultou em maior absorção de água na fase III.

Na fase III (Figuras 3 e 4) a ação dos reguladores vegetais atuando na fase II é constatada, uma vez que observa-se a emissão de raiz primária, o que reforça o fato de que as giberelinas atuam na síntese de enzimas como a α e β -amilase, e a citocinina na divisão celular (Hopkins, 1999; Taiz e Zeiger, 2009). Porém, neste experimento foi a combinação de GA e CK (GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina) a mais efetiva, resultando em menor tempo médio de germinação (Tabela 13) e portanto maior velocidade média de germinação (Tabela 14).

Conclui-se que a caracterização das fases da germinação de sementes de *Passiflora alata* Curtis é possível independentemente do uso de reguladores vegetais, porém com 200, 300 e 400 mg L⁻¹ de GA₃ e de todas as concentrações de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina, o início da fase III é antecipado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alexandre RS, Couto FA, Dias JMM, Otoni WC, Cecon PR. 2002. Germinação *in vitro* de sementes de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.) submetidas a tratamentos pré-germinativos. In: *Reunião Técnica em Pesquisa de Maracujazeiro*, 3, Viçosa: UFV, 187.

- Aragão CA, Dantas BF, Alves E, Cataneo AC, Cavariani C, Nakagawa J. 2003.** Atividade amilolítica e qualidade fisiológica de sementes armazenadas de milho super doce tratadas com ácido giberélico. *Revista Brasileira de Sementes* **25**: 43-48.
- Bewley JD. 1997.** Seed germination and dormancy. *Plant Cell* **9**: 1055–1066.
- Bewley JD, Black M. 1994.** *Seeds: physiology of development and germination*. New York: Plenum Press.
- Brasil, Ministério da Agricultura. 1992.** *Regras para Análise de Sementes*. Brasília, DF: MA/LANARV.
- Carvalho LRde. 1996.** *Métodos para comparação de curvas de crescimento*. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- Carvalho NM, Nakagawa J. 2000.** *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP.
- Castro RDde, Bradford KJ, Hilhorst HWM. 2004.** Embebição e reativação do metabolismo. In: Ferreira AG, Borghetti F, eds. *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, 149-162.
- Davies PJ. 1994.** *Plant hormones: their role in plant growth and development*. 2nd ed. New York: Nijhoff Publishers.
- Edmond JB, Drapala WJ. 1958.** The effects of temperature, sand and soil, and acetone on germination of okra seed. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* **71**: 428-443.
- Ferrari TB, Ferreira G, Mischán MM, Pinho SZ. 2008.** Germinação de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis): fases e efeito de reguladores vegetais. *Biotemas* **21**: 64-74.

- Ferreira G. 1998.** *Estudo da embebição e do efeito de fitorreguladores na germinação de sementes de Passifloraceas.* Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- Fraga AC. 1982.** Dormência de sementes. *Informe Agropecuário* **8**: 62-64.
- Hadas A. 1976.** Water uptake and germination of leguminous seeds under changing external water potential in osmotic solution. *Experimental of Botany* **27**: 480-489.
- Hopkins WG. 1999.** *Introduction to plant physiology.* 2.ed. New York: John Wiley e Sons.
- Kigel J, Galili G. 1995.** *Seed development and germination.* 2.ed. New York: Plenum Press.
- Labouriau LG. 1983.** *A germinação de sementes.* Washington: OEA.
- Manica I. 1997.** Maracujazeiro: taxonomia, anatomia, morfologia. In: São José AR, Bruckner CH, Manica I, Hoffmann N, eds. *Maracujá: temas selecionados (1): melhoramento, morte prematura, polinização, taxonomia.* Porto Alegre: Cinco Continentes, 7-24.
- Mischan, MM, Pinho, SZ. 1996.** *Experimentação agrônômica – dados não balanceados.* Botucatu: Fundibio.
- Pereira ALJ, Campacci CA, Cianciulli PL. 1971.** Maracujá: seu cultivo, espécies, e moléstias. In: *Congresso Brasileiro de Fruticultura, 1,* Campinas: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 641-658.
- Ratkowsky DA. 1990.** *Handbook of nonlinear regression models.* New York: Marcel Dekker.
- Ruggiero C. 1991.** Enxertia do maracujazeiro. In: São José AR, Ferreira FR, Vaz RL, eds. *A cultura do maracujá no Brasil.* Jaboticabal: FUNEP, 43-59.
- Salisbury FB, Ross CW. 1991.** *Plant Physiology.* Belmont: Wadsworth.

São José AR, Nakagawa J. 1988. Influência do método de extração da qualidade fisiológica de sementes de maracujazeiro amarelo. In: *Congresso Brasileiro de Fruticultura, 9*, Campinas: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 619-623.

Taiz L, Zeiger E. 2009. *Fisiologia Vegetal*. 4.ed. Porto Alegre: Artmed Editora S.A.

The Sas System. 2002-2004. *Release 9.1.3*. SAS Institute Inc., Cary, NC.

Vasconcellos MAS, Cereda E. 1994. O cultivo de maracujá-doce. In: São José AR, ed. *Maracujá: produção e mercado*. Vitória da Conquista: DFZ/UESB, 71-83.

Wagner Júnior A, Negreiros JRS, Alexandre RS, Pimentel LD, Bruckner CH. 2007. Efeito do pH da água de embebição e do trincamento das sementes de maracujazeiro amarelo na germinação e desenvolvimento inicial. *Ciência e Agrotecnologia* **31**: 1014-1019.

Young JA, Evans RA, Round B, Greg C. 1983. *Moisture stress and seed germination*. Washington: USDA.

**4- CAPÍTULO II* – GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Passiflora alata* Curtis
SUBMETIDAS A TRATAMENTOS COM GIBERELINAS E CITOCININA**

*Nas normas da Revista Annals of Botany

GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Passiflora alata* Curtis SUBMETIDAS A TRATAMENTOS COM GIBERELINAS E CITOCININA

Tainara Bortolucci Ferrari e Gisela Ferreira

RESUMO – Este estudo objetivou avaliar o efeito de diferentes concentrações de GA₃ e GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina na germinação de sementes de *P. alata* Curtis. O experimento foi desenvolvido no Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, da Unesp, Botucatu, SP. As sementes foram submetidas aos tratamentos 100, 200, 300, 400 e 500 mg L⁻¹ de GA₃ e de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 11 tratamentos e cinco repetições de 25 sementes por parcela, seguindo esquema fatorial 2x5 (reguladores x concentrações) e uma testemunha (água destilada) em comum. As sementes foram acondicionadas em caixas pretas para germinação, contendo 10 mL das soluções com os reguladores vegetais e levadas à câmara de germinação, com temperatura alternada entre 20°C por 8 h e 30°C por 16 h. As avaliações foram constituídas pelas contagens diárias do número de sementes germinadas e contagem do número de sementes dormentes e mortas no final do experimento. Calculou-se germinabilidade, porcentagem total de sementes dormentes e mortas, velocidade e tempo médios, frequência relativa e índice de sincronização de germinação. Verificou-se que a associação entre giberelinas e citocinina influenciou o processo germinativo das sementes de *P. alata* Curtis com incremento na porcentagem, na velocidade e redução no tempo de germinação e na porcentagem de sementes dormentes.

Palavras-chave: *Passiflora* sp., reguladores vegetais

**SEEDS GERMINATION OF *Passiflora alata* Curtis TREATED WITH GIBBERLLIN
AND CITOKYNIN**

ABSTRACT – This study had as objective to evaluate the effect of different concentrations of GA₃ and GA₄₊₇ + N-(phenylmethyl)-1H-purine-6-amine on *P. alata* Curtis seeds germination. The experiment had been conducted at Botany Department, Institute of Biosciences, São Paulo State University, Botucatu, São Paulo State, Brazil.. For that, the seeds had been submitted to the following treatments: 100, 200, 300, 400 and 500 mg L⁻¹, for GA₃ and also for GA₄₊₇ + N-(phenylmethyl)-1H-purine-6-amine. The experimental design had been totally randomized, with 11 treatments and five replications of 25 seeds in each plot, following factorial design 2 x 5 (regulators x concentrations), and a common control (distilled water). The seeds had been sown in black containers, containing 10 mL of solutions with plant growth regulators, and taken to the germination chamber, with temperature alternated between 20°C for 8 hours and 30° for 16 hours. The evaluations had been constituted by the daily counting of the number of germinated seeds and normal seedlings, counting of the number of dormant and dead seeds in the end of the experiment. It had been calculated the parameters total percentage of germination, total percentage of dormant seeds, average time of germination, average speed of germination, relative frequency of germination and rate of synchronization of germination. It had been verified that the regulators influence in the germinating process on *P. alata* Curtis seeds with increment in the percentage, in the speed and reduction in the time of germination and in the percentage of dormant seeds.

Key words: *Passiflora* sp., plant growth regulator

INTRODUÇÃO

O maracujazeiro pode ser propagado de forma sexuada, através de sementes e, assexuada, através de métodos como enxertia, estaquia (Rocha e São José, 1994) e cultura de tecidos *in vitro* (Alexandre et al., 2002), mas mesmo quando se utiliza a enxertia há necessidade da utilização de sementes para formação do porta-enxerto (Ferreira, 1998).

No entanto, Pereira e Dias (2000) relatam que a germinação de sementes de maracujá é baixa e desuniforme, o que dificulta a formação de mudas de boa qualidade. Portanto, técnicas que induzam a melhora do processo germinativo dessas sementes são importantes.

Uma alternativa para aumentar a germinação de sementes e reduzir a desuniformidade é a utilização de reguladores vegetais, que são substâncias que mediam processos fisiológicos, transformam sinais ambientais específicos em respostas bioquímicas e produzem modificações no estado fisiológico da semente. Tais ações ocorrem através de transcrição diferencial, repressão ou desrepressão gênica ou ativação do RNA mensageiro ou, ainda, por alteração da permeabilidade da membrana (Davies, 1995).

Quando as propriedades físicas da membrana são modificadas, a taxa de hidratação, liberação de enzimas, transporte iônico, pH e conteúdo de inibidores da germinação são afetados e essas situações interferem no processo germinativo das sementes (Davies, 1995).

Segundo Taiz e Zeiger (2009) giberelinas, citocininas e etileno atuam de forma a promover a germinação de sementes. As giberelinas têm ação na síntese de proteínas e RNA específicos na germinação, tanto na superação da dormência como no controle da hidrólise de reservas, as quais são degradadas em amido e proteína, que são utilizados no desenvolvimento do embrião (Taiz e Zeiger, 2009). Além disso, na maioria das espécies, as giberelinas também atuam no alongamento celular, fazendo com que a raiz primária rompa os tecidos que restringem o seu crescimento, como o endosperma, o tegumento da semente ou estruturas do fruto (Salisbury e Ross, 1991; Taiz e Zeiger, 2009).

As citocininas, assim como as giberelinas, têm papel na germinação de sementes (Mayer e Poljakoff-Mayber, 1978), já que regulam o nível de inibidores ativos presentes nas sementes, permitindo que se tornem mais sensíveis à ação de giberelina (Walker et al., 1989). Gepstein e Ilan (1980) demonstraram que as citocininas induzem um aumento na atividade de hidrolases, como α -amilase e proteases.

Autores como Coneglian et al. (2000), Rosseto et al. (2000), Ferreira et al. (2001), Fogaça et al. (2001), Leonel e Pedroso (2005) e Ferrari et al. (2008) estudaram os efeitos de reguladores vegetais na germinação de sementes de *Passiflora alata* e demonstraram seus efeitos benéficos.

Desta forma, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito dos reguladores vegetais GA₃ e GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina em diferentes concentrações na germinação de sementes de *P. alata* Curtis.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado em delineamento experimental inteiramente casualizado, com 11 tratamentos e 5 repetições, de 25 sementes por parcela, seguindo esquema fatorial 2X5 (reguladores x concentrações), onde a testemunha foi comum para os dois reguladores. Foram utilizados os reguladores vegetais GA₃ (na forma do produto comercial Pro-Gibb[®], contendo 10% de ingrediente ativo) e GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina (na forma do produto comercial Promalin[®], contendo 1,8% de GA₄₊₇ e 1,8% de N-(fenilmetil)-1H-6-aminopurina) (GA₄₊₇ + FMAP), nas concentrações 100, 200, 300, 400 e 500 mg L⁻¹ de ingrediente ativo e testemunha sem os reguladores.

Com o objetivo de prevenir contaminações no meio de germinação as sementes foram submetidas à tratamento com fungicida nistatina a 10% durante 10 minutos e lavadas com água corrente posteriormente.

A semeadura foi realizada em caixas pretas para germinação ('gerbox') (11,0 cm x 11,0 cm x 3,5 cm), contendo papel de filtro para germinação umedecido com 10 mL das soluções com os reguladores vegetais. O material tratado foi acondicionado em germinador mantendo-se a temperatura alternada de 20°C por 6h e 30°C por 18h (Ferreira, 1998).

As avaliações constituídas pelas contagens do número de sementes germinadas foram realizadas diariamente após a semeadura. As sementes dormentes e mortas foram avaliadas no final do experimento.

Foram consideradas sementes germinadas as que apresentaram raiz primária com aproximadamente 2 mm de comprimento (Hadas, 1976). Para a determinação da porcentagem de sementes dormentes e mortas, foi realizado o teste de tetrazólio nas sementes que não germinaram, segundo metodologia de Santos et al. (1999). Para tanto, as sementes não germinadas foram cortadas transversalmente e mergulhadas em solução de tetrazólio a 0,1%, durante três horas, na ausência de luz e à temperatura de 35°C. A leitura foi realizada mediante avaliação da coloração das partes do embrião, onde tecidos com coloração vermelha ou rosa foram considerados viáveis e tecidos branco-leitosos ou vermelho-intensos, considerados não viáveis.

Com os dados foram realizados os cálculos das seguintes variáveis: porcentagem total de sementes dormentes (SD) e mortas (SM), tempo médio de germinação (TMG), calculado

segundo Edmond e Drapala, (1958), velocidade média (VMG), frequência relativa (FRG) e índice de sincronização de germinação (ISG), calculados segundo Labouriau (1983).

Para representar a variação da porcentagem de germinação (y) ao longo do tempo (x) foram ajustadas curvas de regressão logística, para cada tratamento. A função logística é representada pela equação $y=a/(1-b*\exp(-c*x))$, onde a é o parâmetro denominado assíntota da função, isto é, a é o limite do crescimento de y quando x cresce indefinidamente; o parâmetro b relaciona o crescimento inicial (y para $x=0$) com aquele que falta para atingir a assíntota; e o parâmetro c está relacionado com o valor da derivada da função no ponto de inflexão da curva (quanto maior o parâmetro c , mais rapidamente o crescimento atinge esse ponto) (Ratkowsky, 1990).

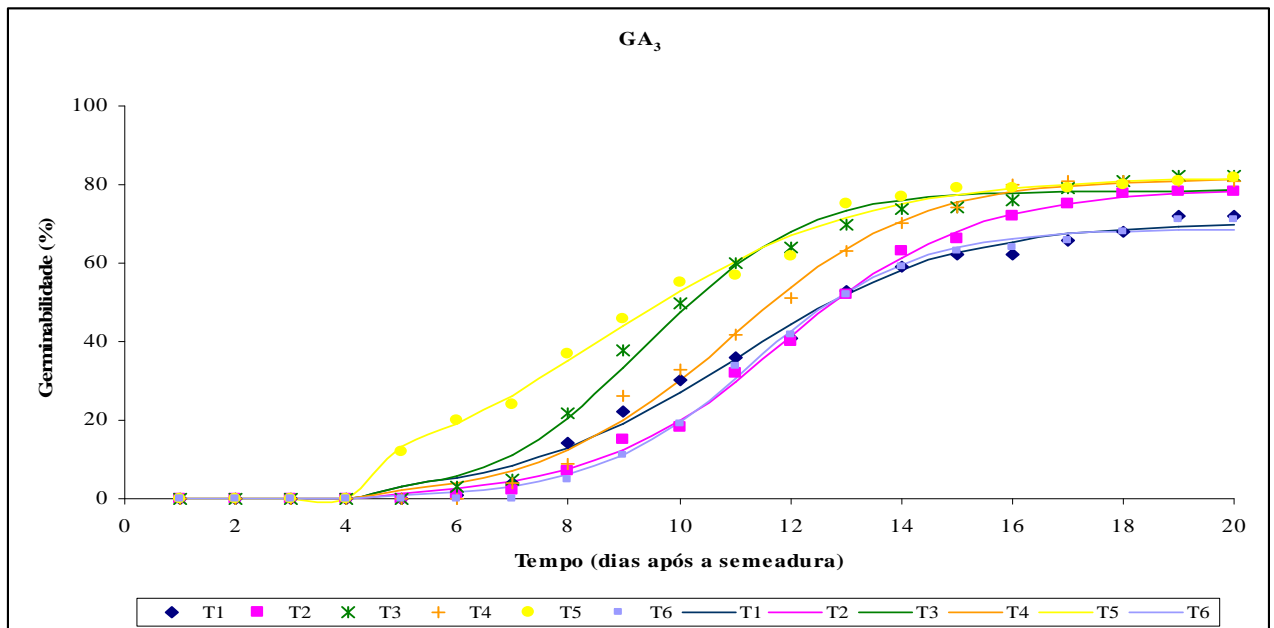
A comparação das funções logísticas dos diferentes tratamentos foi feita segundo método descrito por Carvalho (1996).

Quanto ao estudo das variações do tempo médio (TMG), velocidade média (VMG) e frequência relativa da germinação (FRG) e porcentagem total de sementes dormentes (SD) e mortas (SM) em função dos tratamentos utilizados foram ajustadas curvas de regressão polinomial para cada tratamento. As médias dessas variáveis, além do índice de sincronização de germinação e dos parâmetros a e c foram comparadas pelo teste Tukey, no nível de significância de 5%. Para comparar os tratamentos com a testemunha, os dados foram submetidos ao teste de Dunnett, a 5 % de probabilidade. (Mischan e Pinho, 1996). Todas as análises foram processadas utilizando-se o programa computacional SAS (2004).

RESULTADOS

Os resultados referentes à germinabilidade de *Passiflora alata* Curtis com o uso do regulador vegetal GA₃ encontram-se na Tabela 1 e na Figura 1.

Observa-se na Tabela 1 e na Figura 1 que tanto para o parâmetro a (assíntota da função) quanto para o parâmetro c (valor da derivada da função no ponto de inflexão da curva) não houve diferença significativa entre os tratamentos. O mesmo pode ser verificado entre a testemunha e as concentrações de GA₃ pelo teste de Dunnett (Tabela 2).



$$y = a / (1 - b \cdot \exp(-c \cdot x))$$

T1 - 0 mg L⁻¹ GA₃

T2 - 100 mg L⁻¹ GA₃

T3 - 200 mg L⁻¹ GA₃

T4 - 300 mg L⁻¹ GA₃

T5 - 400 mg L⁻¹ GA₃

T6 - 500 mg L⁻¹ GA₃

Figura 1- Germinabilidade de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis) tratadas com diferentes concentrações de ácido giberélico (GA₃), durante o período de 20 dias após a semeadura.

Tabela 1- Valores médios dos parâmetros *a* (assíntota da função) e *c* (relacionado com o valor da derivada da função no ponto de inflexão da curva) da função logística conforme tratamento com concentrações de GA₃ para germinabilidade de sementes de *P. alata* Curtis de acordo com teste Tukey.

Tratamento	<i>a</i>	<i>c</i>
100 mg L ⁻¹ GA ₃	77,73ns ¹	0,6628ns
200 mg L ⁻¹ GA ₃	79,20ns	0,9089ns
300 mg L ⁻¹ GA ₃	81,62ns	0,6933ns
400 mg L ⁻¹ GA ₃	81,72ns	0,5111ns
500 mg L ⁻¹ GA ₃	68,54ns	0,7388ns
<i>a e c</i>	$y = a / (1 - b \cdot \exp(-c \cdot x))$	

¹ Médias seguidas de ns (não significativo) na mesma coluna, comparando as concentrações, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 2- Valores médios dos parâmetros a (assíntota da função) e c (relacionado com o valor da derivada da função no ponto de inflexão da curva) da função logística conforme tratamento com concentrações de GA₃ para germinabilidade de sementes de *P. alata* Curtis comparados com os valores médios dos parâmetros a e c da função logística de sementes sem tratamento (testemunha - água destilada) pelo teste de Dunnett a 5% de significância.

Tratamento	a	c
Testemunha (água destilada)	69,89ns ¹	0,5447ns
100 mg L ⁻¹ de GA ₃	77,73ns	0,6628ns
200 mg L ⁻¹ de GA ₃	79,20ns	0,9089ns
300 mg L ⁻¹ de GA ₃	81,62ns	0,6933ns
400 mg L ⁻¹ de GA ₃	81,72ns	0,5111ns
500 mg L ⁻¹ de GA ₃	68,54ns	0,7388ns

¹ Médias seguidas de ns (não significativo) na mesma coluna, comparando as concentrações com a testemunha não diferem pelo teste de Dunnett a 5% de significância.

Os resultados referentes a tempo médio (TMG) e velocidade média de germinação (VMG), porcentagem total de sementes dormentes (SD) e mortas (SM) e índice de sincronização da germinação (ISG) de sementes de *P. alata* Curtis submetidas a tratamentos com o regulador vegetal GA₃ encontram-se na Tabela 3.

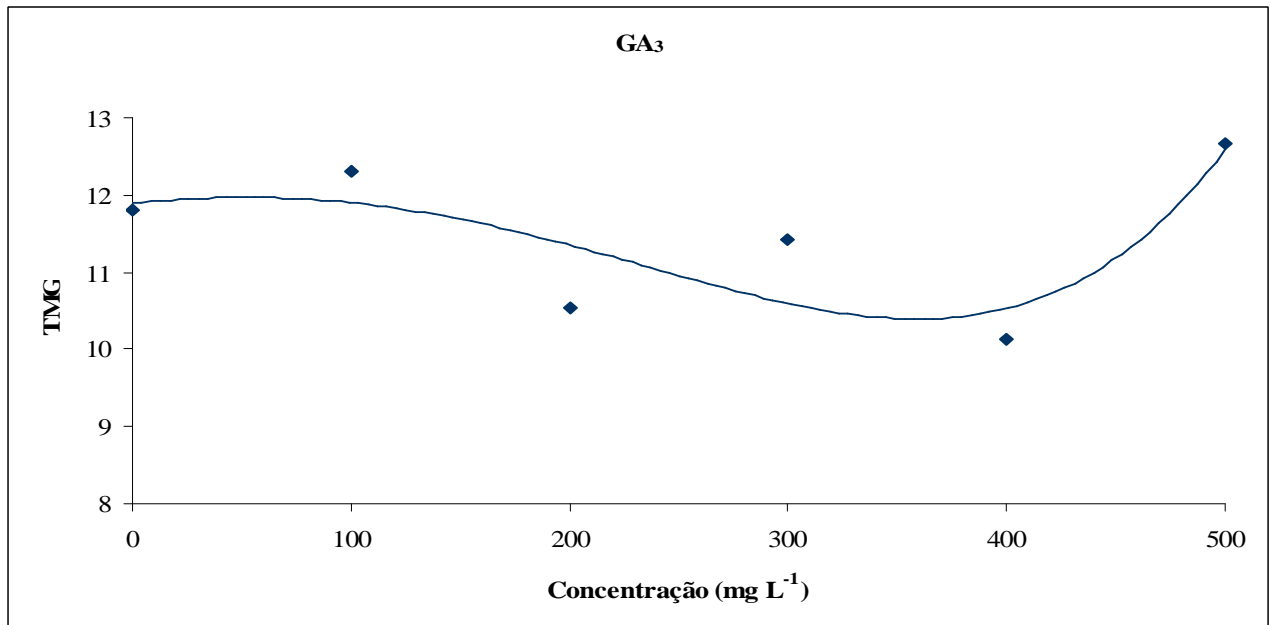
Tabela 3- Valores das variáveis tempo médio (TMG) e velocidade média de germinação (VMG), porcentagem total de sementes dormentes (SD) e mortas (SM) e índice de sincronização da germinação (ISG) de sementes de *P. alata* Curtis, conforme tratamentos com GA₃ de acordo com teste Tukey e regressão polinomial.

Tratamento	TMG	VMG	SD	SM	ISG
100 mg L ⁻¹ GA ₃	12,30806ab ¹	0,081535ns ²	7,2ns	14,4ns	2,935879ns
200 mg L ⁻¹ GA ₃	10,52957ab	0,096349ns	3,2ns	14,4ns	2,863694ns
300 mg L ⁻¹ GA ₃	11,41297ab	0,088107ns	4,0ns	15,2ns	2,925205ns
400 mg L ⁻¹ GA ₃	10,11732b	0,100964ns	8,0ns	12,0ns	2,403095ns
500 mg L ⁻¹ GA ₃	12,67277a	0,079383ns	9,6ns	19,2ns	2,748923ns
TMG	$y = 0,000000005x^4 - 0,000005x^3 + 0,0022x^2 - 0,3729x + 32,46$				$R^2 = 0,4420$
VMG	$y = -0,0000000004x^4 + 0,00000005x^3 - 0,00002x^2 - 0,0034x - 0,1002$				$R^2 = 0,4380$
SD	$y = 0,0001x^2 - 0,0521x + 10,72$				$R^2 = 0,2503$
SM	$y = 0,0000008x^3 - 0,0006x^2 + 0,1514x + 4,64$				$R^2 = 0,8077$

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna, comparando os reguladores, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

² Médias seguidas de ns (não significativo) na mesma coluna, comparando as concentrações, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Observa-se, na Figura 2 e na Tabela 3, que para GA₃ o menor tempo médio de germinação foi obtido com 400 mg L⁻¹ de GA₃, o que diferiu significativamente de 500 mg L⁻¹ de GA₃. Com relação aos outros parâmetros (VMG, SD, SM, ISG), não foram verificadas diferenças estatísticas entre os tratamentos.



$$y = 0,000000005x^4 - 0,000005x^3 + 0,0022x^2 - 0,3729x + 32,46 \quad R^2 = 0,4420$$

Figura 2- Tempo médio de germinação de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis) tratadas com diferentes concentrações de ácido giberélico (GA₃).

Com relação ao teste de Dunnett, não foram encontradas diferenças estatísticas para TMG, VMG, SM e ISG entre a testemunha e as sementes tratadas com o regulador GA₃. No entanto, a SD foi menor em sementes tratadas com 200 mg L⁻¹ de GA₃ quando comparadas à testemunha (Tabela 4).

Foi possível observar que a germinação de sementes de *P. alata* Curtis, independentemente da utilização de GA₃, foi heterogênea, ou seja, não apresentou sincronização, o que confirma a distribuição polimodal da frequência relativa da germinação (Figura 3).

Tabela 4- Tempo (TMG) e velocidade (VMG) médios de germinação, porcentagem total de sementes dormentes (SD), e mortas (SM) e índice de sincronização da germinação (ISG) de sementes de *Passiflora alata* Curtis submetidas a tratamentos com GA₃ comparadas com TMG, VG, SD, SM e ISG de sementes sem tratamento (testemunha - água destilada) pelo teste de Dunnett a 5% de significância.

Tratamento	TMG	VMG	SD	SM	ISG
Testemunha (água destilada)	11,80944ns ¹	0,084743ns	11,2	16,8ns	2,795153ns
100 mg L ⁻¹ de GA ₃	12,30806ns	0,081535ns	7,2	14,4ns	2,935879ns
200 mg L ⁻¹ de GA ₃	10,52957ns	0,096349ns	3,2*	14,4ns	2,863694ns
300 mg L ⁻¹ de GA ₃	11,41297ns	0,088107ns	4,0	15,2ns	2,925205ns
400 mg L ⁻¹ de GA ₃	10,11732ns	0,100964ns	8,0	12,0ns	2,403095ns
500 mg L ⁻¹ de GA ₃	12,67277ns	0,079383ns	9,6	19,2ns	2,748923ns

* Significativo ao teste de Dunnett, ao nível de 5%.

¹ Médias seguidas de ns (não significativo) na mesma coluna, comparando as concentrações com a testemunha não diferem pelo teste de Dunnett a 5% de significância.

Os resultados obtidos pelo uso de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina no processo germinativo de sementes de maracujá-doce estão representados na Tabela 5.

Observa-se na Tabela 5 e na Figura 4 que o parâmetro *a* (assíntota da função) obtido nos tratamentos com 100 e 200 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina foi maior e diferiu estatisticamente do tratamento com 500 mg L⁻¹. Isso significa que as sementes tratadas com as concentrações 100 e 200 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina apresentaram maior germinabilidade ao longo do período estudado, uma vez que *a* representa o limite de crescimento de *y* (porcentagem de germinação). O parâmetro *c* (valor da derivada da função no ponto de inflexão da curva) foi maior em sementes que receberam 200 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina, o que significa que neste tratamento o início da germinação ocorreu mais rapidamente, porém ao longo do tempo foi superado pelas concentrações de 100 e 200 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina, o que resultou na redução da porcentagem de sementes germinadas no final do teste.

Observa-se na Tabela 6 que, pelo teste de Dunnett, sementes tratadas com 100 e 200 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina apresentaram maiores valores para o parâmetro *a* e diferiram da testemunha. Com relação ao parâmetro *c* houve diferença entre a testemunha e a concentração de 200 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina.

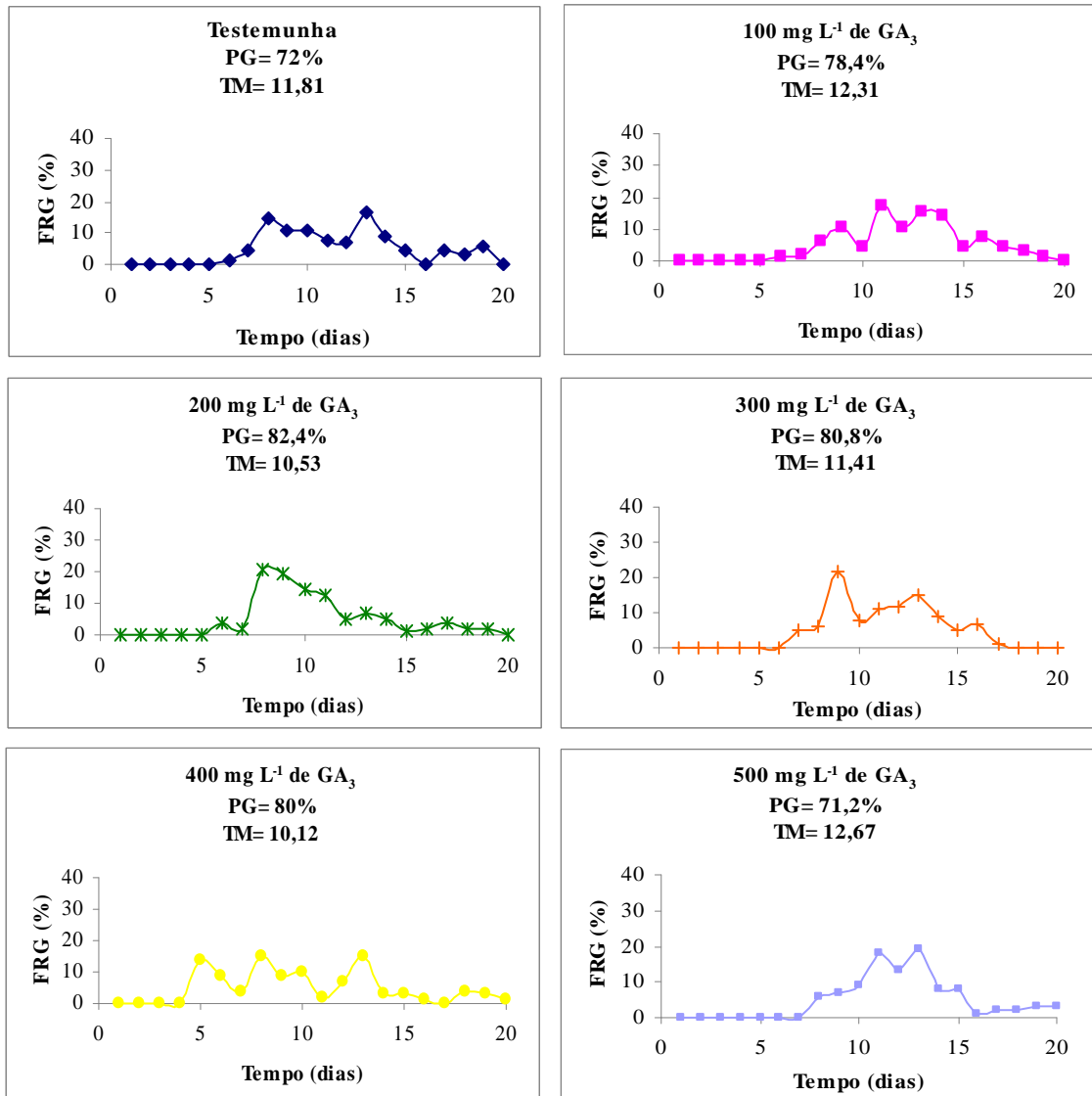


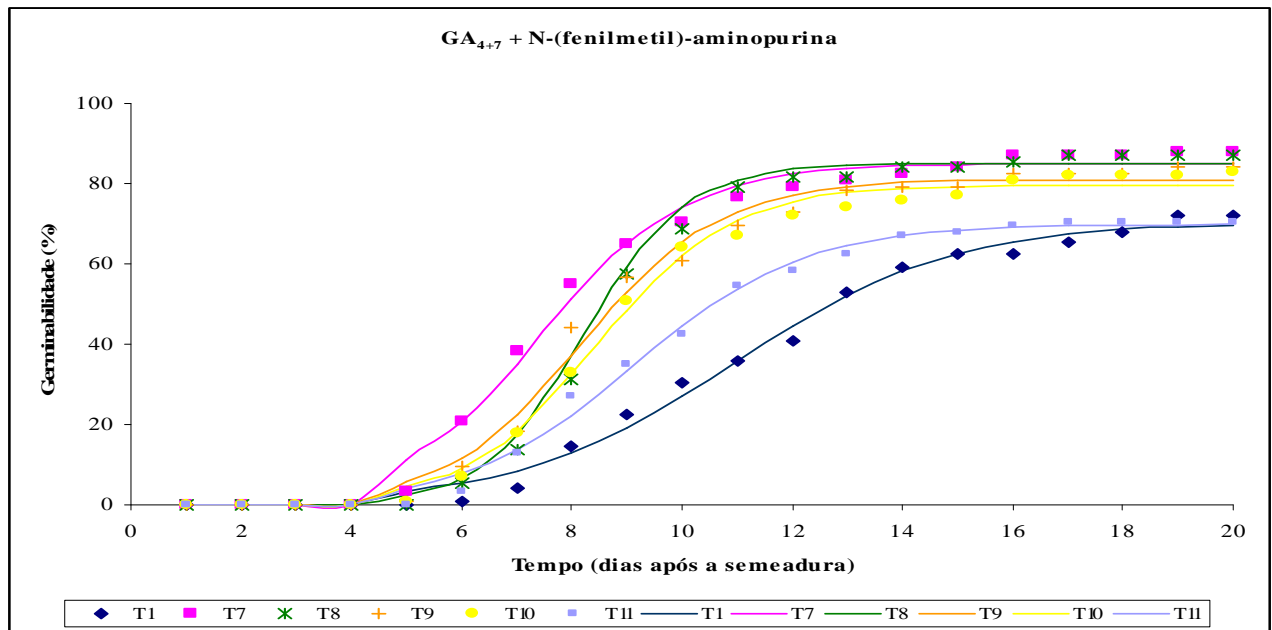
Figura 3- Frequência relativa da germinação de sementes de *P. alata* Curtis tratadas com diferentes concentrações de GA₃. PG: germinabilidade; TM: tempo médio de germinação.

Tabela 5- Valores médios dos parâmetros a (assíntota da função) e c (relacionado com o valor da derivada da função no ponto de inflexão da curva) da função logística conforme tratamento com concentrações de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina (GA₄₊₇ + FMAP) para germinabilidade de sementes de *P. alata* Curtis de acordo com o teste Tukey.

Tratamento	a	c
100 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	86,10a ¹	0,8939ab
200 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	85,65 ^a	1,3999a
300 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	81,20ab	1,0133ab
400 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	80,21ab	1,0365ab
500 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	69,86b	0,7134b

$$a \text{ e } c \quad y = a / (1 - b * \exp(-c * x))$$

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna, comparando os reguladores, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.



$$y = a / (1 - b \cdot \exp(-c \cdot x))$$

T1 - 0 mg L⁻¹ GA₄₊₇ + FMAP

T7 - 100 mg L⁻¹ GA₄₊₇ + FMAP

T8 - 200 mg L⁻¹ GA₄₊₇ + FMAP

T9 - 300 mg L⁻¹ GA₄₊₇ + FMAP

T10 - 400 mg L⁻¹ GA₄₊₇ + FMAP

T11 - 500 mg L⁻¹ GA₄₊₇ + FMAP

Figura 4- Germinabilidade de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis) tratadas com diferentes concentrações de giberelinas e citocinina (GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina), durante o período de 20 dias após a semeadura.

Tabela 6- Valores médios dos parâmetros *a* (assíntota da função) e *c* (relacionado com o valor da derivada da função no ponto de inflexão da curva) da função logística conforme tratamento com concentrações de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina para germinabilidade de sementes de *P. alata* Curtis comparados com os valores médios dos parâmetros *a* e *c* da função logística de sementes sem tratamento (testemunha - água destilada) pelo teste de Dunnett a 5% de significância.

Tratamento	<i>a</i>	<i>c</i>
Testemunha (água destilada)	69,89	0,5447
100 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	86,10*	0,8939
200 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	85,65*	1,3999*
300 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	81,20	1,0133
400 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	80,21	1,0365
500 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	69,86	0,7134

* Significativo ao teste de Dunnett, ao nível de 5%.

Os resultados referentes à tempo médio (TMG) e velocidade média de germinação (VMG), porcentagem total de sementes dormente (SD) e de sementes mortas (SM) e índice de sincronização da germinação (ISG) de sementes tratadas com o regulador vegetal GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina encontram-se na Tabela 7.

Tabela 7- Valores das variáveis tempo médio (TMG) e velocidade média de germinação (VMG), porcentagem total de sementes dormentes (SD) e mortas (SM) e índice de sincronização da germinação (ISG), conforme tratamentos com GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina (GA₄₊₇ + FMAP).

Tratamento	TMG	VMG	SD	SM	ISG
100 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	8,58961ns ¹	0,117260ns	4,0b ²	8,0ns	2,892393ns
200 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	9,28682ns	0,108625ns	3,2b	9,6ns	2,695725ns
300 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	9,27797ns	0,108597ns	4,0b	12,0ns	2,851721ns
400 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	9,44895ns	0,107246ns	5,6ab	11,2ns	2,904708ns
500 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	9,89048ns	0,101289ns	13,6a	16,0ns	2,6877764ns
TMG	y = 0,0028x + 8,4696				R ² = 0,1833
VMG	y = -0,00003x + 0,1186				R ² = 0,1870
SD	y = 0,0001x ² - 0,0573x + 8,8				R ² = 0,5501
SM	y = 0,0176x + 6,08				R ² = 0,8521

¹ Médias seguidas de ns (não significativo) na mesma coluna, comparando as concentrações, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

² Médias seguidas da mesma letra na coluna, comparando os reguladores, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Não houve diferença entre os tratamentos com GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina para TMG, VMG, SM e ISG.

Para porcentagem total de sementes dormentes houve diferença entre a concentração de 500 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina e as concentrações de 100, 200 e 300 mg L⁻¹, já que sementes tratadas com 500 mg L⁻¹ apresentaram maior porcentagem de SD (Figura 5 e Tabela 7).

Observa-se na Tabela 8 que, pelo teste de Dunnett, que as sementes da testemunha atingiram menor velocidade para germinar do que as sementes tratadas com GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina.

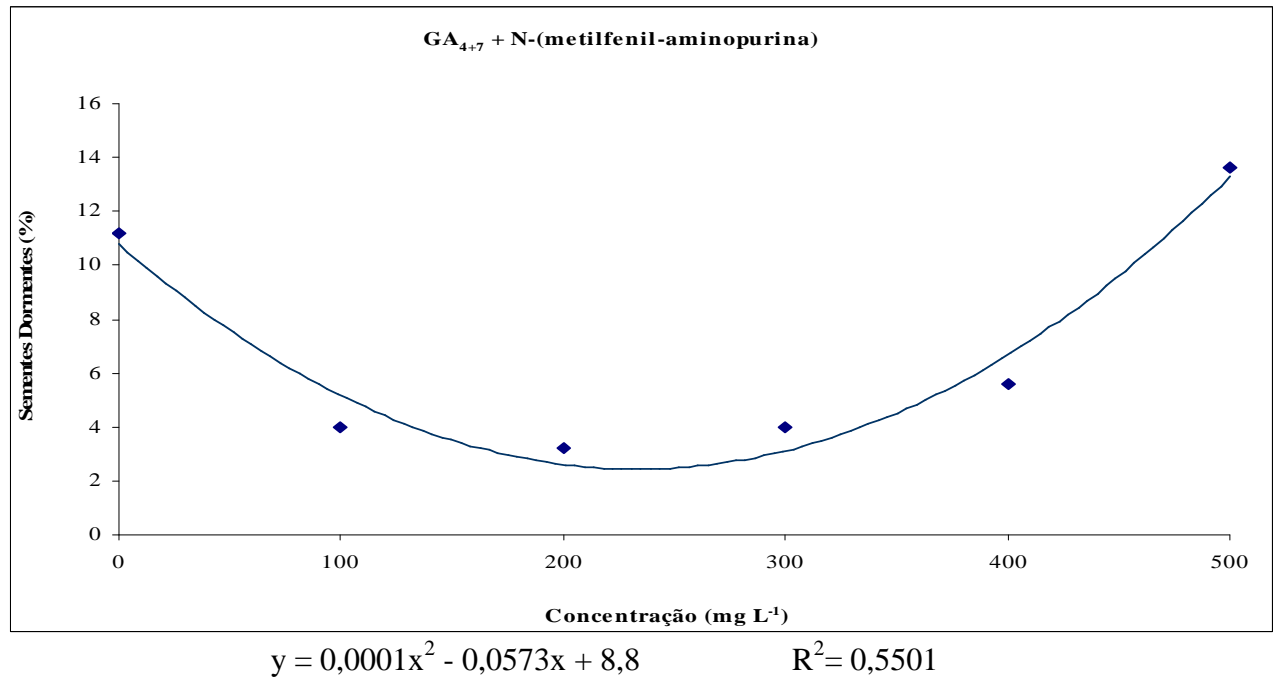


Figura 5- Porcentagem total de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis) dormentes tratadas com diferentes concentrações de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina.

Para SD sementes tratadas com 200 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina apresentaram menores valores quando comparadas a testemunha.

Não houve diferença estatística com relação a SM e ISG entre a testemunha e as sementes tratadas com concentrações de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina (Tabela 8).

Tabela 8- Tempo (TMG) e velocidade (VMG) médios de germinação, porcentagem total de sementes dormentes (SD) e de sementes mortas (SM) e índice de sincronização da germinação (ISG) de sementes de *Passiflora alata* Curtis submetidas a tratamentos com GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina comparadas com TMG, VG, SD, SM e ISG de sementes sem tratamento (testemunha - água destilada) pelo teste de Dunnett a 5% de significância.

Tratamento	TMG	VMG	SD	SM	ISG
Testemunha (água destilada)	11,80944	0,084743	11,2	16,8ns ¹	2,795153ns
100 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	8,58961*	0,117260*	4,0	8,0ns	2,892393ns
200 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	9,28682*	0,108625*	3,2*	9,6ns	2,695725ns
300 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	9,27797*	0,108597*	4,0	12,0ns	2,851721ns
400 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	9,44897*	0,107246*	5,6	11,2ns	2,904708ns
500 mg L ⁻¹ GA ₄₊₇ + FMAP	9,89048*	0,101289	13,6	16,0ns	2,6877764ns

* Significativo ao teste de Dunnett, ao nível de 5%.

¹ Médias seguidas de ns (não significativo) na mesma coluna, comparando as concentrações com a testemunha não diferem pelo teste de Dunnett a 5% de significância.

Foi possível observar que a germinação de sementes de *P. alata* Curtis, independentemente da utilização de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina foi de maneira geral homogênea, ou seja, apresentou sincronização, o que confirma a distribuição unimodal da frequência relativa da germinação (Figura 6).

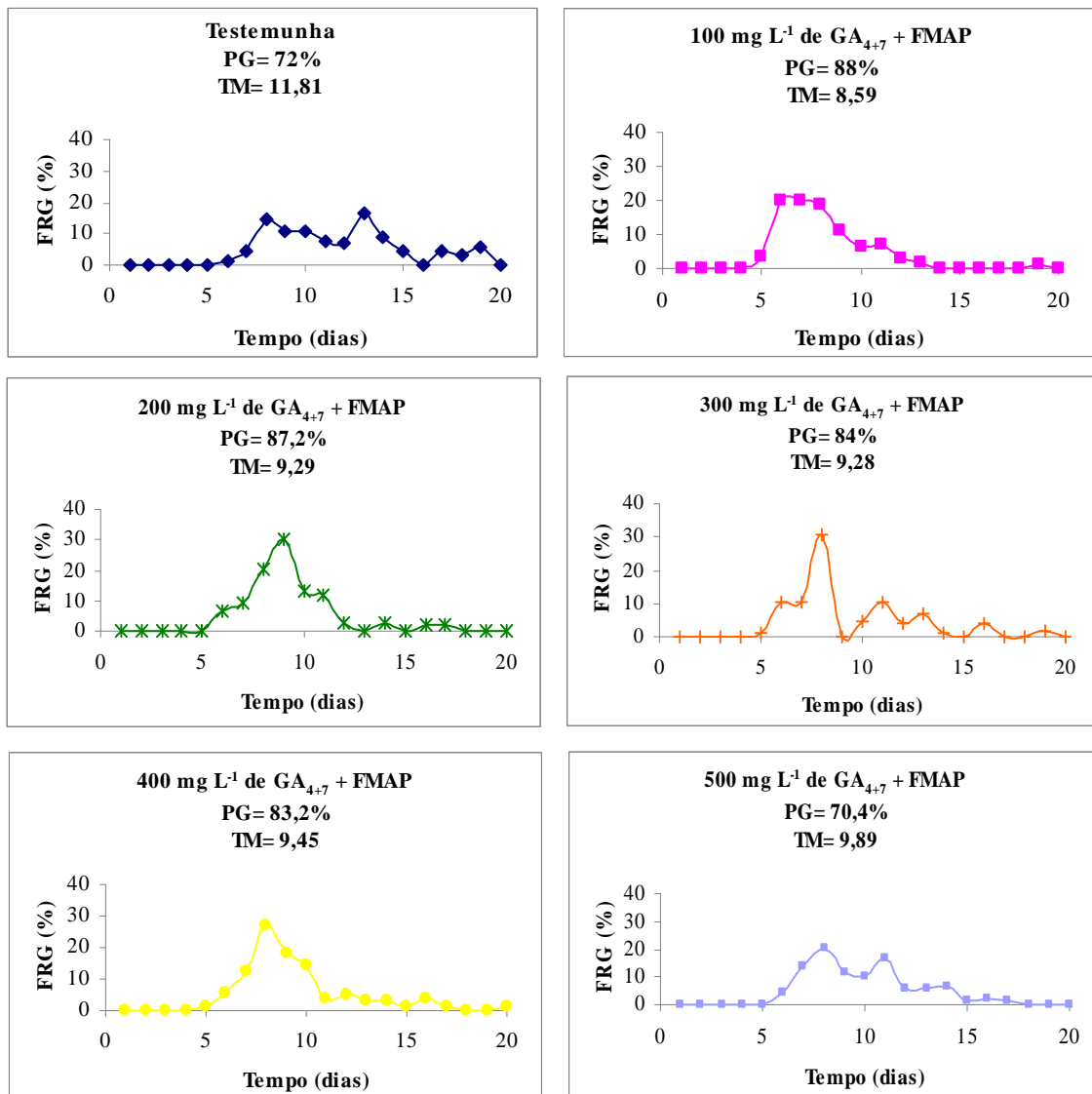


Figura 6- Frequência relativa da germinação de sementes de *P. alata* Curtis tratadas com diferentes concentrações de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina.

Com o objetivo de comparar estatisticamente o efeito dos reguladores na germinação ao longo do tempo, estão apresentadas a seguir as análises dos parâmetros *a* e *c*. Desta forma, atenção será dada para a comparação entre reguladores e não para as concentrações específicas de cada regulador, uma vez que os resultados quanto às concentrações já foram realizadas.

As médias comparadas pelo teste Tukey para os parâmetros a (assíntota) e c (valor da derivada da função no ponto de inflexão da curva) de sementes tratadas com GA₃ e GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina nas concentrações 100, 200, 300, 400 e 500 mg L⁻¹ encontram-se nas Tabelas 9 e 10.

Tabela 9- Valores médios do parâmetro a (assíntota) comparando os reguladores em cada concentração e valores do teste F para germinabilidade de sementes de *Passiflora alata* Curtis.

Reguladores Vegetais	Concentrações (mg L ⁻¹)				
	100	200	300	400	500
GA ₃	77,73ns ¹	79,20ns	81,62ns	81,72ns	68,54ns
GA ₄₊₇ + FMAP	68,89ns	86,10ns	85,65ns	81,20ns	80,21ns
F dos Reguladores (R): 2,01ns		F das Concentrações (C): 6,12*		F RxC: 0,95ns	

¹ Médias seguidas de ns (não significativo) na mesma coluna, comparando os reguladores, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Verifica-se que para o parâmetro a não houve diferença estatística entre os tratamentos com os reguladores vegetais GA₃ e GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina nas concentrações utilizadas (Tabela 9).

Tabela 10- Valores médios do parâmetro c (valor da derivada da função no ponto de inflexão da curva) comparando os reguladores em cada concentração e valores do teste F para germinabilidade de sementes de *Passiflora alata* Curtis de acordo com teste Tukey.

Reguladores Vegetais	Concentrações (mg L ⁻¹)				
	100	200	300	400	500
GA ₃	0,6628a ¹	0,9089b	0,6933a	0,5111b	0,7388a
GA ₄₊₇ + FMAP	0,8939a	1,3999a	1,0133a	1,0365a	0,7134a
F dos Reguladores (R): 47,29*		F das Concentrações (C): 2,96*		F RxC: 3,12*	

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna, comparando os reguladores, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Para o parâmetro c (valor da derivada da função no ponto de inflexão da curva) observa-se pela análise de interação que houve diferença estatística entre os tratamentos com reguladores vegetais GA₃ e GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina nas concentrações de 200 e 400 mg L⁻¹, o que demonstra que as sementes de *P. alata* tratadas com GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina apresentaram maior velocidade inicial de germinação.

As médias comparadas pelo teste Tukey para TMG, calculado segundo Edmond e Drapala (1958) e VMG, calculado segundo Labouriau (1983) de sementes de maracujá-doce tratadas com reguladores vegetais, encontram-se nas Tabelas 11, 12 e 13.

Para TMG e VMG houve diferença estatística entre as concentrações 100, 300 e 500 mg L⁻¹, sendo que sementes tratadas com GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina apresentam menor tempo e maior velocidade de germinação do que aquelas tratadas com GA₃ (Tabelas 11 e 12).

Tabela 11- Valores para tempo médio de germinação (TMG) de sementes de *Passiflora alata* Curtis comparando os reguladores em cada concentração e valores do teste F.

Reguladores Vegetais	Concentrações (mg L ⁻¹)				
	100	200	300	400	500
GA ₃	12,30806a ¹	10,52957a	11,41297a	10,11732a	12,67277a
GA ₄₊₇ + FMAP	8,58961b	9,28682a	9,27797b	9,44897a	9,89048b
F dos Reguladores (R): 47,29*		F das Concentrações (C): 2,96*		F Rx C: 3,12*	

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna, comparando os reguladores, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 12- Valores para velocidade média de germinação (VMG) de sementes de *Passiflora alata* Curtis comparando os reguladores em cada concentração e valores do teste F.

Reguladores Vegetais	Concentrações (mg L ⁻¹)				
	100	200	300	400	500
GA ₃	0,081535b ¹	0,096349a	0,088107b	0,100964a	0,079383b
GA ₄₊₇ + FMAP	0,117260a	0,108625a	0,108597a	0,107246a	0,101289a
F dos Reguladores (R): 41,23*		F das Concentrações (C): 2,51ns		F Rx C: 2,74*	

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna, comparando os reguladores, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Com relação as médias comparadas pelo teste Tukey para porcentagem total de sementes dormentes e mortas de maracujá-doce, pode-se observar que não houve diferença entre os tratamentos com GA₃ e GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina nas concentrações utilizadas (Tabelas 13 e 14).

Tabela 13- Valores médios para porcentagem de sementes dormentes de *Passiflora alata* Curtis comparando os reguladores em cada concentração e valores do teste F.

Reguladores Vegetais	Concentrações (mg L ⁻¹)				
	100	200	300	400	500
GA ₃	7,2ns ¹	3,2ns	4,0ns	8,0ns	9,6ns
GA ₄₊₇ + FMAP	4,0ns	3,2ns	4,0ns	5,6ns	13,6ns
F dos Reguladores (R): 0,08ns		F das Concentrações (C): 7,19*			F RxC: 1,29ns

¹ Médias seguidas de ns (não significativo) na mesma coluna, comparando os reguladores, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 14- Valores médios para porcentagem de sementes mortas de *Passiflora alata* Curtis comparando os reguladores em cada concentração e valores do teste F.

Reguladores Vegetais	Concentrações (mg L ⁻¹)				
	100	200	300	400	500
GA ₃	7,2ns ¹	3,2ns	4,0ns	8,0ns	9,6ns
GA ₄₊₇ + FMAP	4,0ns	3,2ns	4,0ns	5,6ns	13,6ns
F dos Reguladores (R): 5,12*		F das Concentrações (C): 1,29ns			F RxC: 0,16ns

¹ Médias seguidas de ns (não significativo) na mesma coluna, comparando os reguladores, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

No entanto, para SM houve diferença para o efeito principal dos reguladores GA₃ e GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina, o que significa que, independentemente das concentrações utilizadas, os produtos diferiram entre si, sendo que sementes tratadas com GA₃ apresentaram maior porcentagem de sementes mortas (Tabela 15).

Tabela 15- Valores médios para porcentagem de sementes mortas de *Passiflora alata* Curtis conforme os produtos, independentemente das concentrações utilizadas.

Reguladores Vegetais	Concentrações (mg L ⁻¹)
GA ₃	15,04a ¹
GA ₄₊₇ + FMAP	11,36b

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna, comparando os reguladores, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados do índice de sincronização da germinação encontram-se na Tabela 16. Não houve diferença para este parâmetro entre os tratamentos com os reguladores utilizados.

Tabela 16- Valores médios para índice de sincronização de germinação de sementes de *Passiflora alata* Curtis comparando os reguladores em cada concentração.

Reguladores Vegetais	Concentrações (mg L ⁻¹)				
	100	200	300	400	500
GA ₃	2.9359ns ¹	2.8637ns	2.9252ns	2.4031ns	2.7489ns
GA ₄₊₇ + FMAP	2.8924ns	2.6957ns	2.8517ns	2.9047ns	2.6878ns

¹ Médias seguidas de ns (não significativo) na mesma coluna, comparando os reguladores, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade.

DISCUSSÃO

Observou-se que a embebição das sementes nas soluções contendo GA₃ não promoveu respostas significativas com relação ao processo germinativo de maracujá-doce (Figura 1 e Tabelas 1, 2 e 3), a não ser em relação a porcentagem total de sementes dormentes (Tabela 4). Em contrapartida, respostas significativas foram encontradas em diversos trabalhos com o uso de giberelina em sementes de *Passiflora alata* como os de Ferreira (1998), Coneglian et al. (2000), Rossetto et al. (2000), Ferreira et al. (2001), Fogaça et al. (2001) e Ferrari et al. (2008).

Por outro lado, quando giberelinas associadas à citocinina (GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina) foram utilizadas, observaram-se resultados satisfatórios no processo germinativo de sementes de maracujá-doce (Figura 4 e Tabela 5, 6, 7 e 8).

Na germinação, as giberelinas ativam o crescimento vegetativo do embrião e mobilizam reservas energéticas. Além disso, sua aplicação também estimula a produção de numerosas hidrolases, como por exemplo, a α -amilase. As giberelinas também estão envolvidas com o alongamento celular (Taiz e Zeiger, 2009).

As citocininas, por sua vez, estão envolvidas na germinação de sementes e nos rápidos eventos pós-germinativos, pois as citocininas endógenas podem ter papel na promoção do crescimento da radícula (Horcat e Letham, 1990). Taiz e Zeiger (2009) relatam, ainda, que sua função na germinação é regular o nível de inibidores ativos presentes nas sementes, permitindo que se tornem mais sensíveis à ação das giberelinas.

Dessa forma, sementes de *P. alata* responderam satisfatoriamente ao modo de ação do GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina, o que resultou em maior germinabilidade, menor tempo e maior velocidade de germinação (Tabelas 10, 11, 12 e 15). Autores como Ferreira (1998) e Ferrari et al. (2008) também verificaram que houve incremento no processo germinativo de sementes de maracujá-doce quando utilizaram giberelinas e citocinina. Além disso, observou-se na Figura 6 que as concentrações de 100, 200 e 400 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-

aminopurina promoveram um pico na frequência relativa de germinação, o que não foi observado quando empregou-se GA₃.

Conclui-se, portanto, que a concentração de 100 mg L⁻¹ da associação entre giberelinas (GA₄₊₇) e citocinina (N-(fenilmetil)-aminopurina) pode ser indicada para que os eventos germinativos de *P. alata* sejam completados mais rapidamente e com maior sucesso.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alexandre RS, Couto FA, Dias JMM, Otoni WC, Cecon PR. 2002. Germinação *in vitro* de sementes de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.) submetidas a tratamentos pré-germinativos. In: *Reunião Técnica em Pesquisa de Maracujazeiro*, 3, Viçosa: UFV, 187.

Carvalho LRde. 1996. *Métodos para comparação de curvas de crescimento*. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

Coneglian RCC, Rossetto CAV, Shimizu MK, Vasconcellos MAS. 2000. Efeitos de métodos de extração e de ácido giberélico na qualidade de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Dryand). *Revista Brasileira de Fruticultura* **22**: 463-467.

Davies PJ. 1995. *Plant hormones: Physiology, biochemistry and molecular biology*. London: Klumer Academic Publishers.

Edmond JB, Drapalla WJ. 1958. The effects of temperature, sand and soil, and acetone on germination of okra seed. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* **71**: 428-443.

Ferrari TB, Ferreira G, Mischan MM, Pinho SZ. 2008. Germinação de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis): fases e efeito de reguladores vegetais. *Biotemas* **21**: 64-74.

Ferreira G. 1998. *Estudo da embebição e do efeito de fitorreguladores na germinação de sementes de Passifloraceas*. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

- Ferreira G, Fogaça LA, Moro E. 2001.** Germinação de sementes de *Passiflora alata* Dryander (maracujá-doce) submetidas a diferentes tempos de embebição e concentrações de ácido giberélico. *Revista Brasileira de Fruticultura* **23**: 160-163.
- Fogaça LA, Ferreira G, Bloedorn M. 2001.** Efeito do ácido giberélico (GA₃) aplicado em sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Dryander) para a produção de mudas em diferentes embalagens. *Revista Brasileira de Fruticultura* **23**: 152-155.
- Gepstain S, Ilan I. 1980.** Evidence for the involvement of cytokinins in the regulation of proteolytic activity in cotyledons of germinating beans. *Plant & Cell Physiology* **21**: 57-63.
- Hadas A. 1976.** Water uptake and germination of leguminous seeds under changing external water potential in osmotic solution. *Experimental of Botany* **27**: 480-489.
- Horcat CH, Letham DS. 1990.** Biosynthesis of cytokinin in germination seeds of *Zea mays*. *Journal of Experimental Botany* **41**: 1525-1528.
- Labouriau LG. 1983.** *A germinação de sementes*. Washington: OEA.
- Leonel S, Pedroso CJ. 2005.** Produção de mudas de maracujazeiro-doce com o uso de biorregulador. *Revista Brasileira de Fruticultura* **27**: 107-109.
- Mayer AM, Poljakoff-Mayber A. 1978.** *The germination of plants*. 4.ed. Oxford: Pergamon Press.
- Mischan, MM, Pinho, SZ. 1996.** *Experimentação agrônômica – dados não balanceados*. Botucatu: Fundibio.
- Pereira KJC, Dias DCFS. 2000.** Germinação e vigor de sementes de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.) submetidas a diferentes métodos de remoção da mucilagem. *Revista Brasileira de Sementes* **22**: 288-291.
- Ratkowsky DA. 1990.** *Handbook of nonlinear regression models*. New York: Marcel Dekker.

- Rocha QMMF, São José AR. 1994.** Extração de sementes. In: São José, A.R. ed. *Maracujá: produção e mercado*. Vitória da Conquista: UESB, 38-40.
- Rossetto CAV, Coneglian RCC, Nakagawa J, Shimizu MK, Marin VA. 2000.** Germinação de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Dryand) em função de tratamento pré-germinativo. *Revista Brasileira de Sementes* **22**: 247-252.
- Santos MC, Sousa GRL, Silva JR, Santos, VLM. 1999.** Efeito da temperatura e do substrato na germinação de sementes de maracujá (*Passiflora edulis Sims flavicarpa* Deg.). *Revista Brasileira de Sementes* **21**:1-6.
- Salisbury FB, Ross CW. 1991.** *Plant Physiology*. Belmont: Wadsworth.
- Taiz L, Zeiger E. 2009.** *Fisiologia Vegetal*. 4.ed. Porto Alegre: Artmed Editora S.A.
- The Sas System. 2002-2004.** *Release 9.1.3*. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Walker MA, Roberts DR, Waite JL, Dumbroff EB. 1989.** Relationship among cytokinin, ethylene and polyamines during the stratification-germination process in seeds of *Acer saccharum*. *Physiologia Plantarum* **76**: 326-332.

5- CAPÍTULO III* – ATIVIDADE AMIOLÍTICA DE SEMENTES DE *Passiflora alata* Curtis TRATADAS COM GIBERELINAS E CITOCININA DURANTE AS FASES DA GERMINAÇÃO

*Nas normas da Revista Annals of Botany

ATIVIDADE AMILOLÍTICA NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Passiflora alata* Curtis TRATADAS COM GIBERELINAS E CITOCININA

Tainara Bortolucci Ferrari e Gisela Ferreira

RESUMO – Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de giberelinas e citocinina na atividade amilolítica de sementes de *Passiflora alata* Curtis. O experimento foi conduzido nos Departamentos de Botânica e de Química e Bioquímica, Instituto de Biociências, Unesp, Botucatu, SP. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x3 (reguladores –testemunha, 200 mg L⁻¹ de GA₃ e 100 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina x fases da germinação – 3, 50 e 360 h). Além desses tratamentos, também foi avaliado o comportamento das sementes anteriormente aos tratamentos (tempo 0h), o que totalizou 10 tratamentos com 5 repetições de 25 sementes por parcela. As sementes foram acondicionadas em caixas pretas para germinação, contendo 10 mL das seguintes soluções: água destilada (testemunha), 100 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina (i.a.) e 200 mg L⁻¹ de GA₃ (i.a.) e levadas à câmara de germinação, com temperatura alternada entre 20°C por 8 h e 30°C por 16 h. Amostras das sementes foram coletadas no tempo 0h (anterior aos tratamentos) e após 3, 50 e 360 h de tratamento para determinações das atividades de amilase total e α-amilase e dos teores de açúcares solúveis totais e redutores. Sementes embebidas em giberelinas associadas a citocinina apresentam aumento da amilase total. Sementes de maracujá-doce tratadas com 100 mg.L⁻¹ de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina tem sua atividade metabólica acelerada durante a fase II da germinação.

Palavras-chave: *Passiflora* sp., germinação, reguladores vegetais, amilase

AMYLOLYTIC ACTIVITY OF *Passiflora alata* Curtis SEEDS TREATED WITH PLANT GROWTH REGULATORS DURING GERMINATION PHASES

ABSTRACT – This study aimed at evaluating the effect of gibberellins and cytokinin on the amylolytic activity of seeds from *Passiflora alata* Curtis, a species hardly propagated through seed germination. The experiment was carried out in Department of Botany and Department of Chemistry and Biochemistry, Institute of Biosciences, São Paulo State University, Botucatu, São Paulo State, Brazil. Experimental design was completely randomized, with 3 treatments, 4 harvesting times and 4 replicates of 25 seeds per plot. Seeds were placed into black ‘gerbox’, containing 10 mL of the following solutions: distilled water (control), 100 mg L⁻¹ of GA₄₊₇ + N-(phenylmethyl)-1H-purine-6-amine (a.i.) and 200 mg L⁻¹ of GA₃ (a.i.). Then, seeds were kept in a germination chamber with alternate temperature between 20°C for 8h and 30°C for 16h. At 0, 3, 50, and 360h after treatments, seed samples were collected, frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C for posterior assay of total and α -amylase activities and total soluble sugars and soluble reducing sugars. When gibberellins were associated with the cytokinin led to an increase in total amylase activities. *P. alata* Curtis seeds treated with Not only total but also α -amylase had their activities increased during germination phase II (50h), with consequent reduction in levels of total soluble sugars and increase in soluble reducing sugars. *P. alata* seeds treated with GA₄₊₇ + N-(phenylmethyl)-1H-purine-6-amine have accelerated its metabolic activity during phase II of germination.

Key words: *Passiflora* sp., germination, plant growth regulators, amylase

INTRODUÇÃO

Sementes de *Passiflora alata* Curtis comumente apresentam problemas de germinação, visto que essa é baixa e desuniforme. A utilização de reguladores vegetais surge então como uma ferramenta para diminuir os problemas relacionados a germinação desta espécie (Pereira e Dias, 2000).

Dentre os reguladores vegetais, as giberelinas, citocininas e o etileno atuam em sementes promovendo quebra de dormência, uniformidade de germinação e crescimento de plantas jovens (Hore e Sem, 1993; Taiz e Zeiger, 2009).

Como é de conhecimento, a germinação compreende três fases (Bewley e Black, 1994; Castro et al., 2004). A fase I é conhecida como embebição. A fase II consiste na ativação dos processos metabólicos requeridos para o crescimento do embrião, enquanto na fase III ocorre a iniciação do crescimento do embrião. Assim que se dá início ao processo de germinação, ocorre ativação de síntese protéica e formação das enzimas hidrolíticas que produzem a mobilização das reservas (Castro et al., 2004).

Segundo Carvalho et al. (2000) várias pesquisas têm sido desenvolvidas para detectar as diversas reações metabólicas que envolvem síntese e degradação de moléculas durante o desenvolvimento, a germinação e a deterioração de sementes.

Durante a germinação das sementes, as reservas insolúveis de elevado peso molecular são degradadas e convertidas a formas solúveis, que são rapidamente transportadas aos tecidos em crescimento e utilizadas em reações de síntese ou de produção de energia. As modificações metabólicas que ocorrem nesses estágios são resultados da atividade de várias enzimas de hidrólise e transferência (Bewley e Black, 1994).

A α -amilase tem um papel fundamental nesse processo por catalisar clivagens endoglicolíticas ao acaso das ligações α -1,4 entre os resíduos de glicose das cadeias de amilose e amilopectina que compõem as reservas de amido de sementes de cereais (Mayer e Poljakoff-Mayber, 1978). São vários os fatores que influenciam na síntese e atividade de α -amilase durante a germinação das sementes e grande número de estudos de caracterização e expressão de α -amilase tem sido conduzidos em cevada, trigo e arroz (Fincher, 1989).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi verificar se os reguladores vegetais GA_3 e GA_{4+7} + N-(fenilmetil)-aminopurina influenciam as atividades da amilase total e α -amilase e dos teores de açúcares solúveis totais e redutores em sementes de *Passiflora alata* Curtis, durante as fases da germinação.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado nos Departamentos de Botânica e Química e Bioquímica do Instituto de Biociências, da Unesp, Botucatu – SP.

Foram utilizadas sementes de *Passiflora alata* Curtis obtidas de frutos maduros, cujo arilo foi retirado manualmente e colocadas para secar a sombra, sobre papel toalha, por período de sete dias (São José e Nakagawa, 1988).

O experimento foi instalado em delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x3 (reguladores – testemunha, 200 mg L⁻¹ de GA₃ e 100 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina x fases da germinação – 3, 50 e 360 h). Além desses tratamentos, também foi avaliado o comportamento das sementes sem tratamento (coletadas no tempo 0h), o que totalizou 10 tratamentos com 5 repetições de 25 sementes por parcela. As concentrações dos reguladores foram determinadas em experimento prévio. Foram estabelecidos 4 períodos em que as sementes foram coletadas para a avaliação da atividade da amilase total, α -amilase e dos teores de açúcares solúveis redutores e totais. Os períodos de coleta das amostras consistiram em 0 h (semente sem tratamento), 3 h (final da fase I da germinação), 50 h (final da fase II) e 360 h (fase III) de tratamento. Como reguladores vegetais foram utilizados GA₃ (na forma do produto comercial Pro-Gibb[®], contendo 10% de ingrediente ativo) na concentração 200 mg L⁻¹ e GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina (na forma do produto comercial Promalin[®], contendo 1,8% de GA₄₊₇ e 1,8% de N-(fenilmetil)-1H-6-aminopurina), na concentração 100 mg L⁻¹ de ingrediente ativo e testemunha (água destilada).

A semeadura foi realizada em caixas pretas para germinação (11,0 cm x 11,0 cm x 3,5 cm), contendo papel de filtro para germinação umedecido com 10 mL das soluções (reguladores vegetais e água destilada). O material tratado foi acondicionado em germinador mantendo-se a temperatura alternada de 20°C por 6h e 30°C por 18h (Ferreira, 1998).

Em cada período de coleta as amostras das sementes foram congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -80°C. Para a extração enzimática, as amostras foram homogeneizadas com a utilização de almofariz gelado e uma pequena quantidade de areia lavada e esterilizada, em 10 mL de tampão fosfato de sódio gelado 0,1 mmol L⁻¹, pH 7,5 contendo polivinilpolipirrolidona na proporção de 7,5% (peso/volume), como descrito no método de Sharma e Sengupta (1987). O homogeneizado obtido foi centrifugado a 14000g em centrífuga refrigerada durante 30 minutos e o sobrenadante separado e congelado a -20°C, para posterior determinação dos teores de açúcares solúveis totais e redutores, bem como da atividade da amilase total e α -amilase.

A determinação da atividade de amilase total e de α -amilase foi realizada de acordo com Guglielmineti et al. (1995). O sistema de reação foi composto de tampão acetato de sódio 50 mmol L⁻¹, pH 5,2 contendo CaCl₂ 10 mmol L⁻¹ e amido solúvel de batata 2% (peso/volume) como substrato. O sistema de reação foi mantido a 35°C e após o período de 15 minutos foram determinados os teores de açúcares redutores pelo método do ácido dinitrosalicílico (DNS) em espectrofotômetro no comprimento de onda de 540 nm. Para a determinação da α -amilase o extrato enzimático cru foi anteriormente mantido a 70°C, durante 15 minutos, a fim de inativar as outras amilases. A determinação da quantidade de proteínas solúveis no extrato enzimático utilizado nas determinações foi realizada de acordo com o método proposto por Lowry et al. (1951), a partir da curva de referência de albumina sérica bovina, com leitura de absorbância em espectrofotômetro a 660 nm. A atividade da amilase total e da α -amilase foi expressa em μ g glicose/minuto/mg proteína.

Para a determinação dos teores de açúcares solúveis redutores (AR) foi utilizado o método descrito por Nelson (1944), utilizando-se uma alíquota de 1,0 mL do extrato bruto utilizado nas determinações enzimáticas e 1,0 mL do reagente de Somogy. A mistura foi homogeneizada e em seguida mantida em banho-maria fervente durante 20 minutos, sendo posteriormente resfriada. Foram então adicionados 1,0 mL do reativo de Nelson e 5,0 mL de água destilada. As leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro a 500 nm e comparadas com curva de referência de glicose. Os resultados de açúcares solúveis redutores foram expressos em porcentagem.

Os açúcares solúveis totais (AST) foram dosados de acordo com a metodologia proposta por Dubois et al. (1956). Para tanto, foi utilizado 0,5 mL de extrato bruto utilizado nas determinações enzimáticas, 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado e 0,5 mL de solução de fenol a 5 % (peso/volume). As leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro a 490 nm e comparadas com curva de referência de glicose. Os resultados de açúcares solúveis totais foram expressos em porcentagem.

Os resultados das determinações bioquímicas realizadas em função dos tratamentos utilizados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Os tratamentos foram comparados ao comportamento das sementes no tempo 0 h pelo teste de Dunnett a 5% de significância. Posteriormente os dados foram ajustados. Para o ajuste dos modelos estatísticos utilizou-se o modelo de Ratkowsky (1990), o qual é representado pela equação $y = a*x*\exp(-c*x) + b$, onde a não tem significado biológico; b é o valor de y quando $x=0$ e c é o inverso da abscissa no ponto de máximo.

RESULTADOS

Através da análise de variância, não foi detectada interação significativa com respeito a atividade da amilase total, α -amilase e açúcares solúveis totais e redutores durante a germinação de sementes de *Passiflora alata* Curtis entre os períodos de coletas e os tratamentos com os reguladores.

Na Figura 1 estão representados os resultados da atividade da amilase total nas sementes de *P. alata* tratadas com reguladores em diferentes períodos de germinação.

No entanto, pelo desdobramento da análise de interação, foram encontradas diferenças entre a atividade da amilase total tanto para efeito principal de regulador, quanto para efeito principal do período de coleta das sementes (Tabelas 1 e 2).

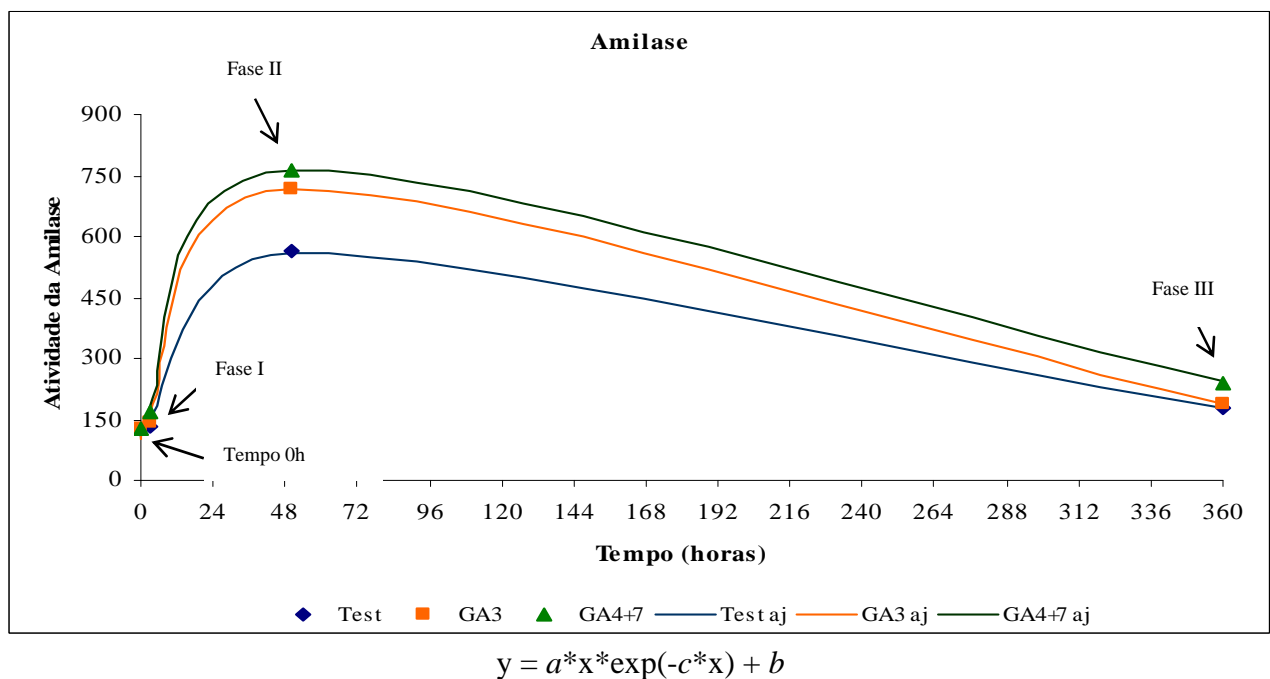


Figura 1- Atividade da amilase total (μg glicose/minuto/mg proteína) durante a germinação de sementes de *Passiflora alata* Curtis, com 0, 3, 50 e 360 horas após início da embebição, utilizando os tratamentos com GA_3 , GA_{4+7} + N-(fenilmetil)-aminopurina e testemunha.

Foi observado que no tratamento da associação de GA_{4+7} com N-(fenilmetil)-aminopurina a atividade da amilase total foi maior em comparação com a testemunha, porém, não diferiu significativamente do tratamento com GA_3 (Tabela 1). Em relação ao tempo, a atividade da amilase total foi maior em sementes de *P. alata* Curtis coletadas com 50 h (fase II da germinação), independentemente do tratamento dessas sementes com os reguladores vegetais (Tabela 2).

Tabela 1- Atividade da amilase total (μg glicose/minuto/mg proteína) em sementes de *Passiflora alata* Curtis submetidas a tratamentos com reguladores vegetais.

Tratamentos	Atividade da Amilase
Testemunha	290,25 B
GA ₃	348,39 AB
GA ₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina	389,84 A
C.V. (%) = 17,77	

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna, comparando os reguladores, não diferem entre si no nível de 5% de probabilidade.

Tabela 2- Atividade da amilase total (μg glicose/minuto/mg proteína) em sementes de *Passiflora alata* Curtis coletadas em diferentes períodos do processo germinativo.

Tempo	Atividade da Amilase
3 h	147,42 B
50 h	680,30 A
360 h	200,75 B
C.V. (%) = 17,77	

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna, comparando os tempos, não diferem entre si no nível de 5% de probabilidade.

Os resultados da atividade da α -amilase nas sementes de *P. alata* tratadas com reguladores em diferentes períodos de germinação estão representados na Figura 2.

Apesar de não haver interação significativa entre os tratamentos com os reguladores vegetais e os períodos de coleta, foram observadas diferenças significativas com relação a atividade da α -amilase entre os períodos no qual as sementes foram coletadas, independentemente do tratamento com regulador vegetal. As sementes coletadas com 50 h apresentaram maior atividade da enzima (Tabela 3).

Tabela 3- Atividade da α -amilase (μg glicose/minuto/mg proteína) em sementes de *Passiflora alata* Curtis coletadas em diferentes períodos durante o processo germinativo.

Tempo	Atividade da α -amilase
3 h ¹	111,52 B
50 h	376,71 A
360 h	112,53 B
C.V. (%) = 29,57	

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna, comparando os tempos, não diferem entre si no nível de 5% de probabilidade.

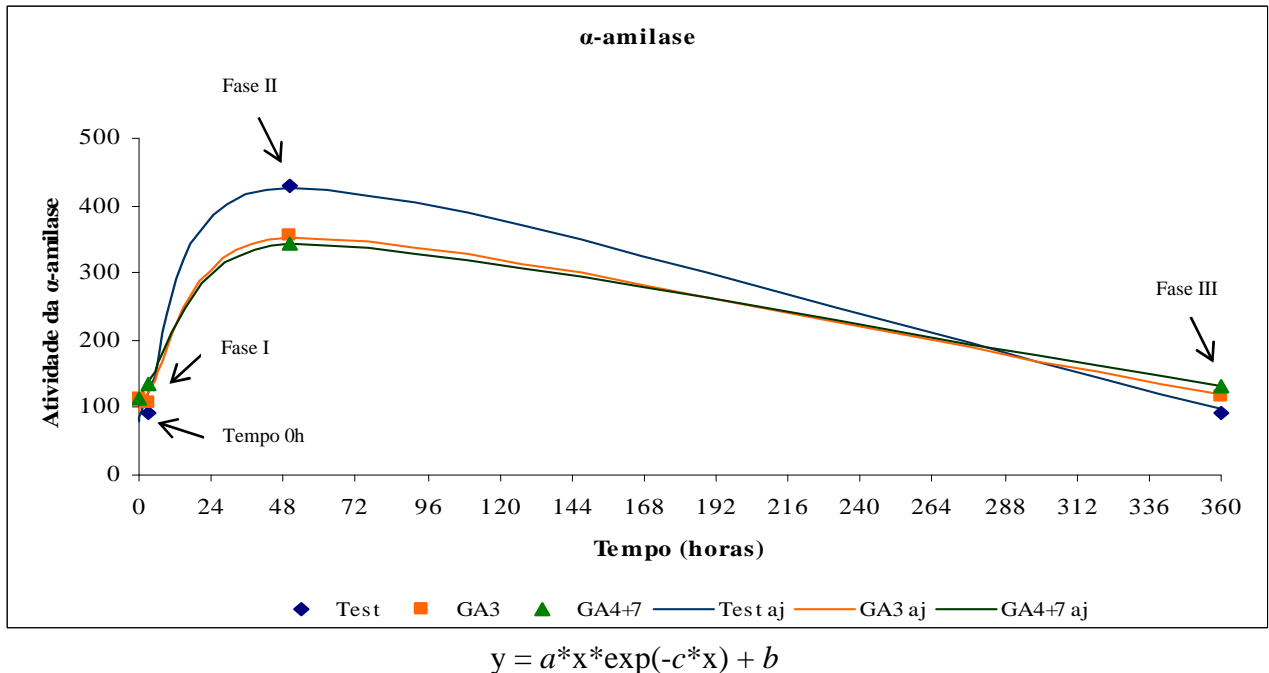


Figura 2- Atividade da α -amilase (μg glicose/minuto/mg proteína) durante a germinação de sementes de *Passiflora alata* Curtis, com 0, 3, 50 e 360 horas após início da embebição, utilizando os tratamentos com GA_3 , GA_{4+7} + N-(fenilmetil)-aminopurina e testemunha.

Pelo teste de Dunnett, a atividade da amilase total e da α -amilase, tanto de sementes tratadas com os reguladores, quanto da testemunha quando coletadas com 50 h (fase II da germinação), diferiram das sementes coletadas no tempo 0 (Tabelas 4 e 5).

Na Figura 3 estão representados os resultados dos teores de açúcares solúveis redutores em sementes de *P. alata* tratadas com reguladores em diferentes períodos de germinação.

Em relação aos teores de açúcares solúveis redutores, não foi observada interação significativa entre os tratamentos com os reguladores vegetais e os períodos de coleta, no entanto, foi observado que houve diferença significativa nos teores destes compostos somente em relação ao tempo no qual as sementes foram coletadas (Tabela 6). No período de 50 h os teores de açúcares solúveis redutores das sementes aumentaram, mas sem diferir daquelas coletadas com 3 h.

Tabela 4- Atividade da amilase total (μg glicose/minuto/mg proteína) em sementes de *Passiflora alata* Curtis submetidas a tratamentos com reguladores vegetais e coletadas em diferentes períodos durante o processo germinativo comparadas com a atividade da amilase total (μg glicose/minuto/mg proteína) de sementes coletadas no tempo 0 (sementes sem tratamento) pelo teste de Dunnett a 5% de significância.

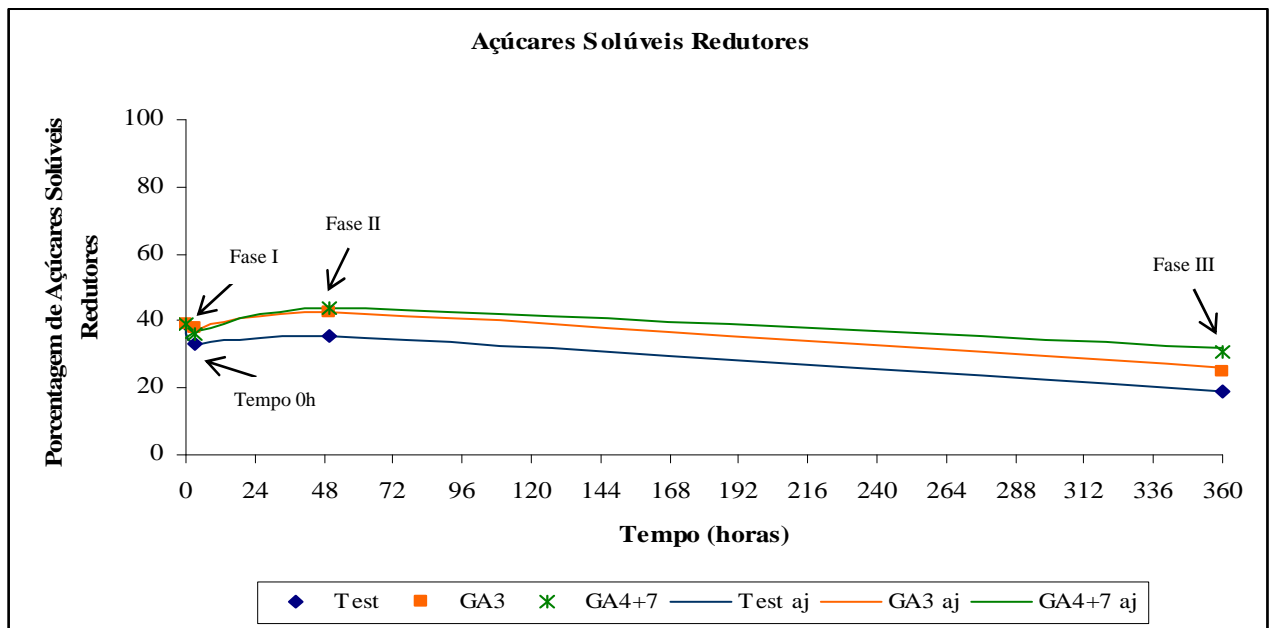
Atividade da Amilase	Média
0 hora	127,1443
Testemunha - 3 h	131,6159
Testemunha - 50 h	562,8109*
Testemunha - 360 h	176,3306
200 mg L ⁻¹ de GA ₃ – 3 h	142,5582
200 mg L ⁻¹ de GA ₃ – 50 h	716,5822*
200 mg L ⁻¹ de GA ₃ – 360 h	186,0339
100 mg L ⁻¹ de GA ₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina – 3 h	168,0877
100 mg L ⁻¹ de GA ₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina – 50 h	761,5214*
100 mg L ⁻¹ de GA ₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina – 360 h	239,8964

* Significativo pelo teste de Dunnett, no nível de 5% de probabilidade.

Tabela 5- Atividade da α -amilase (μg glicose/minuto/mg proteína) em sementes de *Passiflora alata* Curtis submetidas a tratamentos com reguladores vegetais e coletadas em diferentes períodos durante o processo germinativo comparadas com a atividade da enzima α -amilase (μg glicose/minuto/mg proteína) de sementes coletadas no tempo 0 (sementes sem tratamento) pelo teste de Dunnett a 5% de significância.

Atividade da α -amilase	Média
0 hora	112,2454
Testemunha - 3 h	92,57164
Testemunha - 50 h	430,077*
Testemunha - 360 h	90,64825
200 mg L ⁻¹ de GA ₃ – 3 h	107,0027
200 mg L ⁻¹ de GA ₃ – 50 h	356,502*
200 mg L ⁻¹ de GA ₃ – 360 h	115,4582
100 mg L ⁻¹ de GA ₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina – 3 h	134,9857
100 mg L ⁻¹ de GA ₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina – 50 h	343,5472*
100 mg L ⁻¹ de GA ₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina – 360 h	131,4726

* Significativo pelo teste de Dunnett, no nível de 5% de probabilidade.



$$y = a*x*\exp(-c*x) + b$$

Figura 3- Porcentagem de açúcares solúveis redutores durante a germinação de sementes de *Passiflora alata* Curtis, com 0, 3, 50 e 360 horas após início da embebição, utilizando os tratamentos com GA₃, GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina e testemunha.

Tabela 6- Teores de açúcares solúveis redutores (%) em sementes de *Passiflora alata* Curtis coletadas em diferentes períodos durante o processo germinativo.

Tempo	Teor de açúcares redutores
3 h ¹	35,698 AB
50 h	40,687 A
360 h	24,898 B
C.V. (%) = 45,87	

¹ Médias seguidas da mesma letra na coluna, comparando os tempos, não diferem entre si no nível de 5% de probabilidade.

A Figura 4 refere-se aos resultados dos teores de açúcares solúveis totais em sementes de maracujá-doce tratadas com reguladores vegetais. A análise de interação entre os reguladores utilizados e os períodos de coletas não foi significativa. Além disso, também não foram observadas diferenças significativas dos resultados desta variável, tanto com relação ao efeito principal dos reguladores vegetais, quanto com relação aos períodos de coleta das sementes.

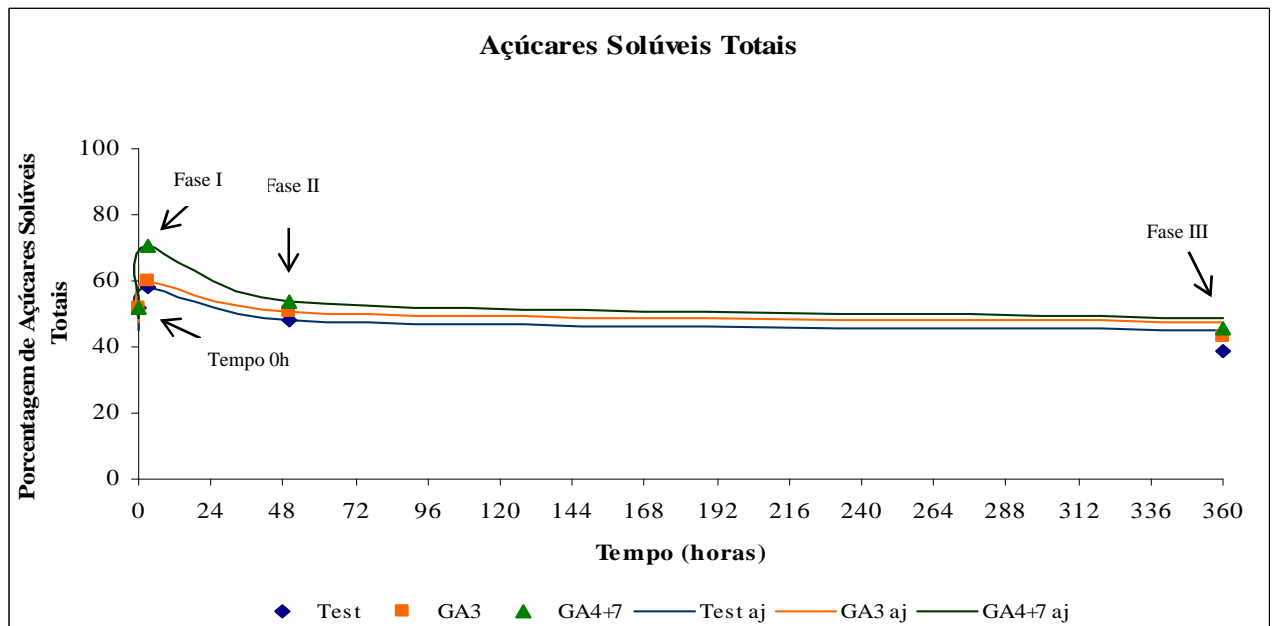


Figura 4- Porcentagem de açúcares solúveis totais (%) durante a germinação de sementes de *Passiflora alata* Curtis, com 0, 3, 50 e 360 horas após início da embebição, utilizando os tratamentos com GA₃, GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina e testemunha.

O teste de Dunnett demonstrou que para teores de açúcares solúveis redutores e totais não foi possível observar diferenças significativas entre as sementes tratadas com os reguladores, que foram coletadas durante todo processo germinativo e aquelas coletadas no tempo 0 (sem tratamento).

DISCUSSÃO

Durante a germinação, as giberelinas estão envolvidas na ativação do crescimento vegetativo do embrião, já que estão relacionadas com o alongamento celular (Castro et al., 2004; Taiz e Zeiger, 2009). Além disso, também participam da mobilização de reservas energéticas, as quais são degradadas pela atividade de enzimas como as amilases (Taiz e Zeiger, 2009).

O ácido giberélico produzido pelo embrião da semente promove a síntese *de novo* das amilases, responsáveis pela conversão do amido em açúcares, utilizados para o crescimento da plântula (Taiz e Zeiger, 2009). Esse crescimento é resultante da redução do potencial hídrico nas células pela presença dos açúcares, o que possibilita a entrada de água e, conseqüentemente, o alongamento observado na fase III da germinação (Arteca, 1996).

Analisando-se a Figura 1 e Tabela 1, confirma-se que a giberelina em sementes de *Passiflora alata* induz a síntese das enzimas de degradação de reservas, visto pela tendência

ao aumento da atividade da amilase total, redução nos teores de açúcares solúveis totais (Figura 4) e aumento na degradação destes açúcares, com a formação de açúcares solúveis redutores (Figura 3), os quais são utilizados como fonte de energia para o crescimento do embrião (Castro et al., 2004). Portanto, o aumento da atividade da amilase, que ocorreu com 50 horas (fase II) é essencial para manter ativo o metabolismo respiratório, que induz a germinação das sementes.

Entretanto, no presente trabalho, o efeito da giberelina sobre a atividade da amilase total foi mais satisfatório, quando este regulador foi aplicado exogenamente associado à citocinina (tratamento de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina) (Tabela 1). Isso pode ser explicado pelo fato das citocininas regularem o nível de inibidores ativos presentes nas sementes, permitindo que as giberelinas atuem de forma mais efetiva (Walker et al., 1989). Além disso, Gepstein e Ilan (1980) demonstraram que as citocininas induzem um aumento na atividade de hidrolases, como α -amilase e proteases.

A associação entre giberelinas e citocinina demonstrou tendência a redução de açúcares solúveis totais e aumento de açúcares solúveis redutores (Figuras 3 e 4, respectivamente).

Apesar do conhecimento de que a α -amilase desempenha o principal papel na degradação das reservas de carboidratos formando açúcares solúveis durante a germinação (Perata et al., 1997; Vartapetian e Jackson, 1997), a giberelina utilizada sozinha, como em associação com a citocinina não apresenta efeito significativo sobre a atividade desta enzima em sementes de maracujá-doce (Figura 2).

Além dos reguladores vegetais aplicados nas sementes de *P. alata* Curtis, o tempo também influenciou a atividade das enzimas durante o processo germinativo. Foi observado maior atividade da amilase total (Tabela 2) e da α -amilase (Tabela 3), além de aumento dos teores de açúcares solúveis redutores (Tabela 6) e tendência a diminuição de açúcares solúveis totais (Figura 4) no período de 50 h de germinação. Estes eventos coincidem com a fase II de germinação, quando há intensificação dos processos metabólicos requeridos para o crescimento do embrião e a conclusão do processo germinativo (fase III), momento em que há a emergência da raiz primária, como descrito por Carvalho e Nakagawa (2000) e Castro et al. (2004).

Conclui-se, portanto, que em sementes de maracujá-doce tratadas com giberelinas associadas a citocinina (GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina) ocorre aumento da atividade da amilase total na fase II da germinação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arteca RN. 1996.** *Plant growth substances: principles and applications*. New York: Chapman & Hall.
- Bewley JD, Black M. 1994.** *Seeds: physiology of development and germination*. New York: Plenum Press.
- Carvalho MLM, Vieira MGGC, Von Pinho ER. 2000.** Aplicação de técnicas moleculares no controle de qualidade de sementes. *Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento* **3**: 44-47.
- Carvalho NM, Nakagawa J. 2000.** *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP.
- Castro RDde, Bradford KJ, Hilhorst HWM. 2004.** Embebição e reativação do metabolismo. In: Ferreira AG, Borghetti F, eds. *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, 149-162.
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Ribers PA, Smith T. 1956.** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* **28**: 350-356.
- Ferreira G. 1998.** *Estudo da embebição e do efeito de fitorreguladores na germinação de sementes de Passifloraceas*. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- Fincher GB. 1989.** Molecular and cellular biology associated with endosperm mobilization in germinating cereal grains. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **40**: 305-346.
- Gepstain S, Ilan I. 1980.** Evidences for the involvement of cytokinins in the regulation of proteolytic activity in cotyledons of germinating beans. *Plant & Cell Physiology* **21**: 57-63.
- Guglielminetti L, Yamaguchi J, Perata P, Alpi A. 1995.** Amilolitic activities in cereal seeds under aerobic and anaerobic conditions. *Plant Physiology* **109**: 1069-1076.

- Hore JK, Sem SK. 1993.** Viability of papaya (*Carica papaya* L.) seeds under different pre-storage treatments. *Environment and Ecology* **11**: 273-275.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951.** Protein measurement with Folin-phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry* **193**: 265-275.
- Mayer AM, Poljakoff-Mayber A. 1978.** *The germination of plants*. 4.ed. Oxford: Pergamon Press.
- Nelson NA. 1944.** A photometric adaptation of the Somogy method for the determination of glucose. *Journal of Biology Chemistry* **153**: 375-80.
- Perata P, Guglielminetti L, Alpi A. 1997.** Mobilization of endosperm reserves in cereal seeds under anoxia. *Annals of Botany* **79** (Suppl. A): 49–56.
- Pereira KJC, Dias DCFS. 2000.** Germinação e vigor de sementes de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.) submetidas a diferentes métodos de remoção da mucilagem. *Revista Brasileira de Sementes* **22**: 288-291.
- Ratkowsky DA. 1990.** *Handbook of nonlinear regression models*. New York: Marcel Dekker.
- São José AR, Nakagawa J. 1988.** Influência do método de extração da qualidade fisiológica de sementes de maracujazeiro amarelo. In: *Congresso Brasileiro de Fruticultura, 9.*, Campinas: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 619-623.
- Sharma A, Sengupta VK. 1987.** Changes in protease and alfa amylase activity in germinating seeds of groundnut. *Indian Journal of Plant Physiology* **30**: 176-182.
- Taiz L, Zeiger E. 2009.** *Fisiologia Vegetal*. 4.ed. Porto Alegre: Artmed Editora S.A.
- Vartapetian BB, Jackson MB. 1997.** Plant adaptation to anaerobic stress. *Annals of Botany* **79**: 3–20.

Walker MA, Roberts DR, Waite JL, Dumbroff EB. 1989. Relationship among cytokinin, ethylene and polyamines during the stratification-germination process in seeds of *Acer saccharum*. *Physiologia Plantarum* **76**: 326-332.

6- CONSIDERAÇÕES FINAIS

4- CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos relacionados à fisiologia de germinação são de fundamental importância para a manutenção de espécies frutíferas.

Assim, a realização de cada capítulo desta tese possibilitou verificar o comportamento fisiológico de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis) e suas alterações quando submetidas ao tratamento com reguladores vegetais.

As observações durante a execução dos experimentos permitem fazer algumas considerações em relação a cada etapa, conforme seguem:

- As fases da germinação do maracujá-doce (*P. alata*) são bem definidas, sendo que a espécie apresenta as três fases bem definidas, com aumento no grau de umidade mais rápido nas primeiras horas do teste (fase I), tendendo à estabilidade com o passar do tempo (fase II) e posterior aumento na velocidade de absorção quando há emissão da raiz primária (fase III). Assim, o movimento da água ocorreu espontaneamente segundo um gradiente decrescente de potencial hídrico, o que garantiu inicialmente a entrada rápida de água (fase I). Observou-se ainda que, de modo geral, os reguladores vegetais aceleraram a entrada das sementes na fase III.

- A germinação do maracujá-doce é favorecida pela utilização da mistura GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina. A resposta positiva em relação à interação da giberelina GA₄₊₇ e da citocinina N-(fenilmetil)-aminopurina sugere que a desuniformidade da germinação de sementes de maracujá-doce se deve a um balanço desfavorável de promotores e inibidores da germinação.

- Através de análises bioquímicas, pode-se observar os efeitos benéficos do GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina durante as fases da germinação, já que as sementes embebidas neste regulador apresentaram aumento na atividade das enzimas amilase e α -amilase. Durante a fase II, a ação do regulador foi mais pronunciada.

7- CONCLUSÃO

7- CONCLUSÃO

Foi possível concluir que:

- As sementes de *P. alata* Curtis apresentaram fase I da germinação com duração de 4 horas, entrando na fase II que durou entre 132 e 156 horas, momento em que as sementes iniciaram a emissão de raiz primária, demonstrando o início da fase III.

- GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina promoveram aumento na germinação de sementes de *P. alata* Curtis, sendo eficiente no processo germinativo.

- Giberelinas associadas a citocininas causam aumento da atividade da amilase total, sendo que o efeito é maior quando as sementes se encontram na fase II da germinação.

- O tratamento de sementes de *P. alata* com a associação giberelina e citocinina pode ser utilizado para aumento da germinabilidade desta espécie.

8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alexandre RS, Couto FA, Dias JMM, Otoni WC, Cecon PR. 2002.** Germinação *in vitro* de sementes de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.) submetidas a tratamentos pré-germinativos. In: *Reunião Técnica em Pesquisa de Maracujazeiro*, 3, Viçosa: UFV, 187.
- Aragão CA, Dantas BF, Alves E, Cataneo AC, Cavariani C, Nakagawa J. 2003.** Atividade amilolítica e qualidade fisiológica de sementes armazenadas de milho super doce tratadas com ácido giberélico. *Revista Brasileira de Sementes* **25**: 43-48.
- Arteca RN. 1996.** *Plant growth substances: principles and applications*. New York: Chapman & Hall.
- Bewley JD. 1997.** Seed germination and dormancy. *Plant Cell* **9**: 1055–1066.
- Bewley JD, Black M. 1994.** *Seeds: physiology of development and germination*. New York: Plenum Press.
- Brasil, Ministério da Agricultura. 1992.** *Regras para Análise de Sementes*. Brasília, DF: MA/LANARV.
- Carvalho LRde. 1996.** *Métodos para comparação de curvas de crescimento*. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- Carvalho MLM, Vieira MGGC, Von Pinho ER. 2000.** Aplicação de técnicas moleculares no controle de qualidade de sementes. *Biotechnology, Ciência & Desenvolvimento* **3**: 44-47.
- Carvalho NM, Nakagawa J. 2000.** *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP.
- Castro RDde, Bradford KJ, Hilhorst HWM. 2004.** Embebição e reativação do metabolismo. In: Ferreira AG, Borghetti F, eds. *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, 149-162.

- Coneglian RCC, Rossetto CAV, Shimizu MK, Vasconcellos MAS. 2000.** Efeitos de métodos de extração e de ácido giberélico na qualidade de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Dryand). *Revista Brasileira de Fruticultura* **22**: 463-467.
- Davies PJ. 1994.** *Plant hormones: their role in plant growth and development*. 2nd ed. New York: Nijhoff Publishers.
- Davies PJ. 1995.** *Plant hormones: Physiology, biochemistry and molecular biology*. London: Klumer Academic Publishers.
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Ribers PA, Smith T. 1956.** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* **28**: 350-356.
- Edmond JB, Drapala WJ. 1958.** The effects of temperature, sand and soil, and acetone on germination of okra seed. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* **71**: 428-443.
- Ferrari TB, Ferreira G, Mischan MM, Pinho SZ. 2008.** Germinação de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis): fases e efeito de reguladores vegetais. *Biotemas* **21**: 64-74.
- Ferreira G. 1998.** *Estudo da embebição e do efeito de fitorreguladores na germinação de sementes de Passifloraceas*. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- Ferreira G, Fogaça LA, Moro E. 2001.** Germinação de sementes de *Passiflora alata* Dryander (maracujá-doce) submetidas a diferentes tempos de embebição e concentrações de ácido giberélico. *Revista Brasileira de Fruticultura* **23**: 160-163.
- Fincher GB. 1989.** Molecular and cellular biology associated with endosperm mobilization in germinating cereal grains. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **40**: 305-346.

- Fogaça LA, Ferreira G, Bloedorn M. 2001.** Efeito do ácido giberélico (GA₃) aplicado em sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Dryander) para a produção de mudas em diferentes embalagens. *Revista Brasileira de Fruticultura* **23**: 152-155.
- Fraga AC. 1982.** Dormência de sementes. *Informe Agropecuário* **8**: 62-64.
- Gepstain S, Ilan I. 1980.** Evidence for the involvement of cytokinins in the regulation of proteolytic activity in cotyledons of germinating beans. *Plant & Cell Physiology* **21**: 57-63.
- Guglielminetti L, Yamaguchi J, Perata P, Alpi A. 1995.** Amilolitic activities in cereal seeds under aerobic and anaerobic conditions. *Plant Physiology* **109**: 1069-1076.
- Hadas A. 1976.** Water uptake and germination of leguminous seeds under changing external water potential in osmotic solution. *Experimental of Botany* **27**: 480-489.
- Hopkins WG. 1999.** *Introduction to plant physiology*. 2.ed. New York: John Wiley e Sons.
- Horcat CH, Letham DS. 1990.** Biosynthesis of cytokinin in germination seeds of *Zea mays*. *Journal of Experimental Botany* **41**: 1525-1528.
- Hore JK, Sem SK. 1993.** Viability of papaya (*Carica papaya* L.) seeds under different pre-storage treatments. *Environment and Ecology* **11**: 273-275.
- Kigel J, Galili G. 1995.** *Seed development and germination*. 2.ed. New York: Plenum Press.
- Labouriau LG. 1983.** *A germinação de sementes*. Washington: OEA.
- Leonel S, Pedroso CJ. 2005.** Produção de mudas de maracujazeiro-doce com o uso de biorregulador. *Revista Brasileira de Fruticultura* **27**: 107-109.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951.** Protein measurement with Folin-phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry* **193**: 265-275.

- Manica I. 1997.** Maracujazeiro: taxonomia, anatomia, morfologia. In: São José AR, Bruckner CH, Manica I, Hoffmann N, eds. *Maracujá: temas selecionados (1): melhoramento, morte prematura, polinização, taxonomia*. Porto Alegre: Cinco Continentes, 7-24.
- Mayer AM, Poljakoff-Mayber A. 1978.** *The germination of plants*. 4.ed. Oxford: Pergamon Press.
- Mischan, MM, Pinho, SZ. 1996.** *Experimentação agrônômica – dados não balanceados*. Botucatu: Fundibio.
- Nelson NA. 1944.** A photometric adaptation of the Somogy method for the determination of glucose. *Journal of Biology Chemistry* **153**: 375-80.
- Perata P, Guglielminetti L, Alpi A. 1997.** Mobilization of endosperm reserves in cereal seeds under anoxia. *Annals of Botany* **79** (Suppl. A): 49–56.
- Pereira ALJ, Campacci CA, Cianciulli PL. 1971.** Maracujá: seu cultivo, espécies, e moléstias. In: *Congresso Brasileiro de Fruticultura, 1*, Campinas: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 641-658.
- Pereira KJC, Dias DCFS. 2000.** Germinação e vigor de sementes de maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.) submetidas a diferentes métodos de remoção da mucilagem. *Revista Brasileira de Sementes* **22**: 288-291.
- Ratkowsky DA. 1990.** *Handbook of nonlinear regression models*. New York: Marcel Dekker.
- Rocha QMMF, São José AR. 1994.** Extração de sementes. In: São José, A.R. ed. *Maracujá: produção e mercado*. Vitória da Conquista: UESB, 38-40.
- Rossetto CAV, Coneglian RCC, Nakagawa J, Shimizu MK, Marin VA. 2000.** Germinação de sementes de maracujá-doce (*Passiflora alata* Dryand) em função de tratamento pré-germinativo. *Revista Brasileira de Sementes* **22**: 247-252.

- Ruggiero C. 1991.** Enxertia do maracujazeiro. In: São José AR, Ferreira FR, Vaz RL, eds. *A cultura do maracujá no Brasil*. Jaboticabal: FUNEP, 43-59.
- Salisbury FB, Ross CW. 1991.** *Plant Physiology*. Belmont: Wadsworth.
- Santos MC, Sousa GRL, Silva JR, Santos, VLM. 1999.** Efeito da temperatura e do substrato na germinação de sementes de maracujá (*Passiflora edulis Sims flavicarpa Deg.*). *Revista Brasileira de Sementes* **21**:1-6.
- São José AR, Nakagawa J. 1988.** Influência do método de extração da qualidade fisiológica de sementes de maracujazeiro amarelo. In: *Congresso Brasileiro de Fruticultura, 9*, Campinas: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 619-623.
- Sharma A, Sengupta VK. 1987.** Changes in protease and alfa amylase activity in germinating seeds of groundnut. *Indian Journal of Plant Physiology* **30**: 176-182.
- Taiz L, Zeiger E. 2009.** *Fisiologia Vegetal*. 4.ed. Porto Alegre: Artmed Editora S.A.
- The Sas System. 2002-2004.** *Release 9.1.3*. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Vartapetian BB, Jackson MB. 1997.** Plant adaptation to anaerobic stress. *Annals of Botany* **79**: 3–20.
- Vasconcellos MAS, Cereda E. 1994.** O cultivo de maracujá-doce. In: São José AR, ed. *Maracujá: produção e mercado*. Vitória da Conquista: DFZ/UESB, 71-83.
- Wagner Júnior A, Negreiros JRS, Alexandre RS, Pimentel LD, Bruckner CH. 2007.** Efeito do pH da água de embebição e do trincamento das sementes de maracujazeiro amarelo na germinação e desenvolvimento inicial. *Ciência e Agrotecnologia* **31**: 1014-1019.
- Walker MA, Roberts DR, Waite JL, Dumbroff EB. 1989.** Relationship among cytokinin, ethylene and polyamines during the stratification-germination process in seeds of *Acer saccharum*. *Physiologia Plantarum* **76**: 326-332.

Young JA, Evans RA, Round B, Greg C. 1983. *Moisture stress and seed germination.*
Washington: USDA.