

JOÃO PAULO RIBEIRO DE OLIVEIRA

DINÂMICA DA ÁGUA EM DIÁSPOROS DE ESPÉCIES DE INTERESSE  
AGRÍCOLA

UBERLÂNDIA  
MINAS-GERAIS-BRASIL

2015

JOÃO PAULO RIBEIRO DE OLIVEIRA

DINÂMICA DA ÁGUA EM DIÁSPOROS DE ESPÉCIES DE INTERESSE  
AGRÍCOLA

Tese apresentada à Universidade Federal de Uberlândia,  
como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em  
Agronomia – Doutorado, para obtenção do título de  
“Doutor”.

Orientadora

Profa. Dra. Marli Aparecida Ranal

Co-orientador

Prof. Dr. Marco Aurélio Boselli

UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

---

O48d      Oliveira, João Paulo Ribeiro de, 1986-  
2015      Dinâmica da água em diásporos de espécies de interesse agrícola /  
João Paulo Ribeiro de Oliveira. - 2015.  
110 f. : il.

Orientadora: Marli Aparecida Ranal.  
Coorientador: Marco Aurélio Boselli.  
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa  
de Pós-Graduação em Agronomia.  
Inclui bibliografia.

1. Agronomia - Teses. 2. Germinação - Teses. I. Ranal, Marli  
Aparecida. II. Boselli, Marco Aurélio. III. Universidade Federal de  
Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

---

CDU: 631

JOÃO PAULO RIBEIRO DE OLIVEIRA

DINÂMICA DA ÁGUA EM DIÁSPOROS DE ESPÉCIES DE INTERESSE  
AGRÍCOLA

Tese apresentada à Universidade Federal de Uberlândia,  
como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em  
Agronomia – Doutorado, para obtenção do título de  
“Doutor”.

Prof. Dr. Marco Aurélio Boselli  
(co-orientador)

INFIS-UFU

Profa. Dra. Ana Lúcia Pereira Kikuti

IFTM

Prof. Dr. Marcelo Tavares

FAMAT-UFU

Prof. Dr. Carlos Machado dos Santos

ICIAG-UFU

Profa. Dra. Marli Aparecida Ranal  
INBIO-UFU  
(Orientadora)

UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2015



*À minha mãe, Nilva Ilário  
Ribeiro Oliveira, e ao meu  
pai, Eugênio Batista de  
Oliveira (in memoriam).*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, meu guia (anjo) e seres de luz que sempre me iluminaram em tudo o que eu fiz e faço. Que vocês continuem me auxiliando contra tudo que for mal para mim, ainda que isto signifique ir contra mim mesmo.

Aos meus pais e ao meu irmão, pela dedicação, amor, incentivo, ensinamentos e pela minha educação. Devo a vocês muito mais que a vida e a possibilidade de aprendizado; devo-lhes a capacidade de amar.

Às minhas tias, primas e avó, por todo o incentivo e apoio.

À William Rodrigues Dias de Souza (Will), por sua paciência, carinho e ensinamentos, responsáveis por me inserir no meu lado humano.

À Profa. Dra. Marli A. Ranal, minha segunda mãe, pela orientação, dedicação, compreensão e ensinamentos pessoais e profissionais, fundamentais para que eu pudesse concretizar este trabalho.

Ao Prof. Dr. Marco Aurélio Boselli, pela co-orientação, paciência e esforço em compreender minha loucura.

À Vanderley José Pereira (Vand), extensão que, por mais peculiar e exótico que seja, eu tanto amo.

À Elequissandra da Costa Araruna (Elek), achado que simplesmente me fez feliz. Minha amiga, eis aqui um irmão que sempre lhe amará.

À Eduarda Mendes Silva (Duda), alma iluminada que Deus me permitiu conhecer e estreitar laços de amor.

À Dayene de Cássia Soares (Day) e Larissa Cássia Inácio de Paula (Preta), pela amizade e carinho durante toda minha etapa de Pós-graduação (Mestrado e Doutorado).

À Profa. Dra. Maria Inês Cruzeiro Moreno, pelo apoio incondicional dado a mim em minha estadia em Catalão-GO.

À Universidade Federal de Goiás (UFG), Campus avançado de Catalão-GO, por conceder seus laboratórios para a implantação e condução dos experimentos.

À colega do Laboratório de Ecofisiologia Vegetal (UFU), Marília Marques (Marilhinha), quem eu vi crescer cientificamente e se fortalecer pessoalmente.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Sementes Florestais (LASEF - UFU) e à Profa. Dra. Denise G. Santana, pelo auxílio técnico e pelo afeto durante toda a minha etapa Uberlandense.

Aos funcionários, amigos e colegas do Laboratório de Análise de Sementes (UFU), Adílio (vô) e Sara, pela amizade e pelo auxílio.

Aos Professores do Instituto de Ciências Agrárias, pelos ensinamentos e pelo companheirismo.

Aos secretários da Pós-Graduação, Eduardo I. Rodrigues (Dudu) e Yara C. de Sousa, pela prestatividade e amizade.

À Universidade Federal de Uberlândia e ao Instituto de Ciências Agrárias, pela oportunidade e incentivo.

À FAPEMIG, por conceder a bolsa de Doutorado.

Aos que não consegui nomear, por motivos óbvios (vide Agradecimentos da minha Dissertação), mas que participaram efetivamente do meu crescimento pessoal e profissional neste ciclo. A vocês, minhas desculpas e um muito obrigado!

## Sumário

RESUMO .....	9
ABSTRACT .....	10
<i>CAPÍTULO I</i> .....	11
CURVA DE EMBEBIÇÃO: A DINÂMICA POR TRÁS DA ESTÁTICA.....	11
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	11
2. REFERENCIAL TEÓRICO .....	13
2.1. A CURVA QUE DEMONSTRA A GERMINAÇÃO <i>STRICTO SENSU</i> DE UM DIÁSPORO.....	13
2.2. DINÂMICA DA ÁGUA EM DIÁSPOROS: UMA FERRAMENTA ÚTIL PARA QUALQUER SEGMENTO SEMENTEIRO.....	16
2.3. COM QUANTOS DIÁSPOROS SE ESTUDA A DINÂMICA DA ÁGUA? .....	19
2.4. A DINÂMICA DA ÁGUA EM DIÁSPOROS É UM PADRÃO TRIFÁSICO? .....	20
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23
<i>CAPÍTULO II</i> .....	32
TAMANHO ÓTIMO DE AMOSTRA PARA AVALIAR A DINÂMICA DA ÁGUA EM DIÁSPOROS..	32
1. INTRODUÇÃO .....	32
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	34
2.1. DIÁSPOROS ESTUDADOS E CLASSIFICAÇÃO EM LOTES.....	34
2.2. AVALIAÇÃO DA DINÂMICA DA ÁGUA EM DIÁSPOROS.....	38
2.3. CÁLCULO DO COEFICIENTE DE VARIAÇÃO DA MASSA ( <i>CVM</i> ) .....	39
2.4. ESTIMATIVA DO MODELO DE MEIER E LESSMAN.....	39
2.5. CÁLCULO DA ESTIMATIVA DO TAMANHO ÓTIMO DE AMOSTRA ( <i>NC</i> ).....	40
3. RESULTADOS .....	40
<i>B</i> .....	45
4. DISCUSSÃO .....	47
5. CONCLUSÕES.....	51
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51
<i>CAPÍTULO III</i> .....	57
MENSURANDO A DINÂMICA DA ÁGUA EM DIÁSPOROS: UM CAMINHO PARA CONTEMPLAR A GERMINAÇÃO <i>STRICTO SENSU</i> .....	57

1.	INTRODUÇÃO .....	58
2.	MATERIAL E MÉTODOS .....	59
2.1.	DIÁSPOROS ESTUDADOS E CLASSIFICAÇÃO EM LOTES.....	59
2.2.	AVALIAÇÃO DA DINÂMICA DA ÁGUA EM DIÁSPOROS.....	63
2.3.	CARACTERÍSTICAS DA DINÂMICA DA ÁGUA EM DIÁSPOROS .....	64
3.	RESULTADOS .....	66
4.	DISCUSSÃO .....	81
5.	CONCLUSÕES.....	88
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	89
	CONCLUSÕES GERAIS.....	96
	ANEXO.....	98
	<b>ANEXO 1. CÓDIGO DE PROGRAMAÇÃO FORTRAN 90 (CÓDIGO DERIVADA – 34.F 90)</b> <b>UTILIZADO PARA A ROTINA DE CÁLCULOS DAS MEDIDAS DE DINÂMICA DA ÁGUA EM</b> <b>DIÁSPOROS. ....</b>	<b>98</b>

## RESUMO

RIBEIRO-OLIVEIRA, JOÃO PAULO. **Dinâmica da água em diásporos de espécies de interesse agrícola**. 2015.110p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.<sup>1</sup>

Consagrada como curva de embebição, a dinâmica da água em diásporos demonstra de maneira fidedigna o caminhar da germinação. Ainda assim, por vezes, este evento é pouco explorado e, até mesmo, negligenciado. Deste modo, se a dinâmica da água demonstra a germinação de um diásporo, não seria interessante mensurá-la? Contudo, antes mesmo de se pensar em mensurar esse processo, há a necessidade de padronizar o tamanho da amostra para estudá-lo. Há grande flutuação amostral em trabalhos que demonstram a dinâmica da água em diásporos. Pensando nisto, esta tese oferece três capítulos dedicados ao estudo da dinâmica da água em diásporos. O Capítulo I faz uma abordagem teórica deste processo e demonstra o uso incorreto do termo embebição para nomear a curva que demonstra a dinâmica da água em diásporos; o Capítulo II apresenta um modelo matemático capaz de estabelecer o tamanho ótimo de amostra para analisar o processo de dinâmica; o Capítulo III disponibiliza medidas de dinâmica capazes de quantificar o processo de maneira acurada e, por meio da taxa (velocidade), propõe uma releitura das fases de germinação *stricto sensu*. Para tanto, utilizou-se diásporos pertencentes a três lotes com qualidades distintas, de cinco espécies com grande relevância agrícola. Estes diásporos ( $n = 50$ ) foram colocados em contato com a água e analisados, a cada hora, até que houvesse ao menos uma protrusão de embrião por amostra de cada lote. Os dados de massa coletados foram utilizados para mensurar o tamanho ótimo de amostra, bem como para calcular as diversas medidas do processo (coeficiente de difusão inicial, entropia, uniformidade, velocidade e aceleração da absorção de água por diásporos). As curvas de incremento de massa ponderada demonstraram que a germinação ocorre de maneira similar, independente da qualidade fisiológica do lote ou da espécie em estudo. O Modelo de Máxima Curvatura Modificada (MMCM) é um método adequado para mensurar a variabilidade da dinâmica da água em diásporos da maioria das espécies e, conseqüentemente, obter o tamanho ótimo de amostra para a análise deste processo. Em geral, para se estudar o processo são necessários sete diásporos. As medidas de dinâmica da água em diásporos são viáveis para inferências da germinação *stricto sensu*. Dentre as medidas, a taxa da dinâmica da água (velocidade) demonstra diversas fases metabólicas da germinação. Por fim, o processo germinativo não é trifásico, mas polifásico e, uma peculiaridade específica, com traços varietais.

**Palavras-chave:** Embebição; unidades de dispersão, medidas de dinâmica da água; germinação *stricto sensu*; MMCM

<sup>1</sup>: Comitê orientador: Marli Aparecida Ranal – UFU (orientadora) e Marco Aurélio Boselli – UFU (Co-orientador).

## ABSTRACT

RIBEIRO-OLIVEIRA, JOÃO PAULO. **Water dynamics on diaspores of agricultural interest.** 2015. 110 p. Thesis (Doctor's Degree in Agronomy/ Crop Science) – Institute of Agricultural Sciences, Federal University of Uberlândia, Uberlândia.<sup>2</sup>

Consecrated as imbibition curve, the dynamics of water absorption demonstrates diaspore germination in a reliable way. Nevertheless, this event still is little explored and even neglected. Moreover, if the dynamics of water demonstrates the germination of a diaspore, wouldn't it be interesting to measure it? Before even thinking about measuring this process, there is a need to standardize the size of the sample to study it. There are large sampling fluctuations in studies demonstrating the dynamics of water in diaspores. Thinking about it, this thesis presents three chapters dedicated to the study of the dynamics of water in diaspores. Chapter I makes a theoretical approach of this process and demonstrates the misuse of the term imbibition to name the curve which shows the dynamics of water in diaspores; Chapter II presents optimum sample size to analyze the dynamic process; Chapter III provides dynamic measures capable of accurately quantifying the process, through rate (speed), proposing a rereading of the phases of germination *stricto sensu*. To this purpose, diaspores belonging to three lots with distinct qualities of five species of great agricultural significance were used. These diaspores ( $n = 50$ ) were placed in contact with water and weighed, every hour, until, at least, one embryo protrusion had occurred in each sample of each lot. Data of mass collected were used to measure the optimum sample size, as well as to calculate the various measures of the process (initial diffusion coefficient, entropy, uniformity, speed and acceleration of water absorption for diaspores). The weighted mass increment curves showed that germination occurs in a similar manner, independent of the physiological quality of the batch or of the species under study. The Modified Maximum Curvature Method (MMCM) is an appropriate method for measuring the variability of the water dynamic on diaspores of most species and, therefore, obtain the size of sample for the analysis of this process. In general, seven diaspores are needed to study the process. Measures of the water dynamic on diaspores are viable for inferences of germination *stricto sensu*. Among the measures, the rate of water dynamics (speed) demonstrates various metabolic phases of germination. Finally, the germinal process is not triphase, but polyphase and, in a specific point, with varietal traits.

**Keywords:** Imbibition; dispersing units, measures of water dynamic; germination *stricto sensu*; MMCM

<sup>2</sup>: Supervising committee: Marli Aparecida Ranal – UFU (Major Professor) e Marco Aurélio Boselli – UFU (Co-advisor).

## CAPÍTULO I

### CURVA DE EMBEBIÇÃO: A DINÂMICA POR TRÁS DA ESTÁTICA

#### RESUMO

Embora um termo físico, embebição foi consagrado na ciência em diásporos como sendo um processo que possibilita a visualização da germinação *stricto sensu*. Contudo, a dinâmica da água inclui dois processos simultâneos, a entrada e o conseqüente inchaço dos polímeros de um diásporo, os quais estão diretamente associados a mudanças bioquímicas. Assim, não é correto atribuir este título, a um processo tão dinâmico quanto à entrada e aproveitamento da água durante a germinação de um diásporo. Então, o que é embebição? E o que é a curva de embebição de diásporos? O que esta curva demonstra? Como estudá-la? Este processo pode ser melhor explorado? Estas perguntas foram a base para a discussão teórica deste capítulo.

**Palavras-chave:** Embebição; unidades de dispersão, medidas de dinâmica da água; germinação *stricto sensu*; MMCM

#### ABSTRACT

Although a physical term, imbibition was consecrated in science on diaspores as being the process that enables the visualization of germination *stricto sensu*. However, the water dynamics on diaspores includes two concurrent processes, the entrance and the consequent swelling of polymers, which are directly associated with biochemical changes. Thus, it is not correct to assign this title to a process as dynamic as the entry and use of water during the germination of a diaspore. Nevertheless, what is imbibition? What is the diaspore imbibition? What does this curve demonstrate? How to study it? Can this process be better exploited? These questions were the basis for the theoretical discussion of this chapter.

**Keywords:** Imbibition; dispersing units, measures of water dynamic; germination *stricto sensu*; MMCM

### 1. INTRODUÇÃO GERAL

A embebição de um diásporo viável é o momento em que, de fato, a reativação do metabolismo para a germinação começa (LABOURIAU, 1983; NONOGAKI et al., 2010; RAJJOU et al., 2012; BEWLEY et al., 2013). Há muito, este processo é mencionado por meio da curva trifásica de entrada da água no diásporo (BEWLEY; BLACK, 1978; BEWLEY; BLACK, 1994; BEWLEY, 1997; NONOGAKI et al., 2010; RAJJOU et al., 2012; BEWLEY et al., 2013), mas a metodologia para analisá-lo é incipiente. Como resultado, há na literatura grande diversidade de métodos empregados para analisar esse



evento (WOODSTOCK; GRABE, 1967; BANSAL et al., 1980; HERNANDÉZ; ORIOLI, 1985; WIERZBICKA; OBIDZIŃSKA, 1998; FINCH-SAVA et al., 2005; PAIVA et al., 2006; HESCHEL et al., 2008; PRESTON et al., 2009; LEI, 2010; PATANÈ et al., 2009; MATARUGA et al., 2010; WANG et al., 2012; WINDAUER et al., 2012). Assim, facilmente pode-se perguntar qual o tamanho ótimo de amostra necessário para analisar o processo ou qual a melhor maneira de conduzi-lo.

Em geral, a análise da embebição é realizada por meio de medidas sucessivas do incremento de massa e/ou teor de água dos diásporos, as quais são base para a plotagem de curvas (BEWLEY; BLACK, 1978; BEWLEY; BLACK, 1994; BEWLEY, 1997; NONOGAKI et al., 2010; PAULA et al., 2012; RAJJOU et al., 2012; BEWLEY et al., 2013). Convencionalmente, vários autores recorrem a estas curvas para inferir dormência, principalmente de causa física (BASKIN; BASKIN, 1998; BASKIN; BASKIN, 2004; HOLDSWORTH et al., 2008; PAULA et al., 2012; BASKIN; BASKIN, 2014). Nos últimos anos, as curvas tornaram-se também marcadores cronológicos para agrônomos, bioquímicos, geneticista e cientistas moleculares que abordam a germinação (BLACKLOW, 1972; EGLEY; PAUL JR., 1981; BRADFORD, 1990; ZHOU et al., 1999; HESCHEL et al., 2008; PATANÈ et al., 2009; IGLESIAS-FERNÁNDEZ et al., 2011; KAMKAR et al., 2012; QUEIROZ et al., 2012; WINDAUER et al., 2012; PEREIRA et al., 2014). Estes profissionais aparentemente se utilizam de análises subjetivas para apontar o início e o fim da segunda fase da entrada de água no diásporo e, a partir disto, determinar os momentos em que se deve refinar o trabalho com ensaios mais sofisticados. Isto por que a abordagem numérica dada ao processo é pequena.

Praticamente não se mensura a embebição. Além da curva de incremento de massa e/ou conteúdo de água, poucos trabalhos quantificam o processo (BRADFORD, 1990; FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006). Estes, por sua vez, tornam-se de uso limitado por apresentarem grande dificuldade técnica e/ou baixa acessibilidade aos cientistas e colaboradores do ramo sementeiro, muito pela linguagem matemática complexa. Desta maneira, tal como ocorreu com a germinação, que por muito tempo foi contemplada por meio de curvas acumulativas da porcentagem e, depois de várias empreitadas impetuosas, teve o estudo refinado por medidas que quantificam aspectos específicos do processo (RANAL; SANTANA, 2006; McNAIR et al., 2012), provavelmente há outros caminhos matemáticos, ou mesmo estatísticos, que possam auxiliar no estudo do processo de embebição de maneira mais facilitada e especializada.

Pensando nesse contexto, esta tese propõe uma nova abordagem à embebição de diásporos, além de apresentar um modelo para determinar o tamanho ótimo de amostra para análise do processo, bem como medidas que o mensure.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1. A curva que demonstra a germinação *stricto sensu* de um diásporo

No ponto de maturidade fisiológica, os diásporos apresentam sua maior capacidade germinativa e vigor (BEWLEY; BLACK, 1994; MARCOS FILHO, 2005; RAJJOU et al., 2012; BEWLEY et al., 2013). A partir deste momento, a deterioração acarreta em perda progressiva da germinabilidade e viabilidade (BEWLEY; BLACK, 1994; MARCOS FILHO, 2005; RAJJOU et al., 2012; BEWLEY et al., 2013). No caso de diásporos anidrobióticos (ortodoxos), isto é mais tênue devido à baixa taxa respiratória, consequência do baixo teor de água que os mantém em estado de hipobiose (MARCOS FILHO, 2005; RANAL et al., 2009; BARBEDO et al., 2013). Este estado é rompido por meio da retomada/intensificação do metabolismo, efetivada pela entrada de moléculas de água em seus tecidos (LABOURIAU, 1983; BEWLEY et al., 2013).

Fisiologicamente a germinação de um diásporo é uma etapa intrigante e complexa da vida de uma planta (BEWLEY; BLACK, 1994; NONOGAKI et al., 2010; RAJJOU et al., 2012; BEWLEY et al., 2013). De maneira sucinta, pode-se considerar que este processo fisiológico se inicia com a reativação gradativa do metabolismo do embrião pela entrada de água e se encerra com a protrusão de qualquer parte deste (LABOURIAU et al., 1983; BEWLEY; BLACK, 1994; FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006; NONOGAKI et al., 2010; RAJJOU et al., 2012; BEWLEY et al., 2013). Por praticidade, a germinação é mensurada apenas na fase final, por meio da contagem de diásporos com protrusão (germinação *stricto sensu*) ou por indivíduos ditos normais (pós-germinação *sensu* BEWLEY, 1997; NONOGAKI et al., 2010).

A intensificação metabólica da germinação é acompanhada por diversas mudanças morfofisiológicas do diásporo, importantes para o desenvolvimento da plântula e, conseqüentemente, o seu estabelecimento (LABOURIAU, 1983; NONOGAKI et al., 2010; BEWLEY et al., 2013). Há muito estas mudanças do metabolismo germinativo são quantificadas e qualificadas utilizando-se a curva de incremento da massa de diásporos

em germinação como marcador cronológico para análises bioquímicas, genéticas e morfofisiológicas (BLACKLOW, 1972; EGLEY; PAUL JR., 1981; BRADFORD, 1990; ZHOU et al., 1999; HESCHEL et al., 2008; PATANÈ et al., 2009; IGLESIAS-FERNÁNDEZ et al., 2011; KAMKAR et al., 2012; QUEIROZ et al., 2012; WINDAUER et al., 2012; PEREIRA et al., 2014). Esta é normalmente denominada como curva trifásica de absorção de água e/ou curva de embebição de diásporos (BEWLEY; BLACK, 1994; FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006; NONOGAKI et al., 2010; RAJJOU et al., 2012; BEWLEY et al., 2013). Como o próprio nome diz, a curva possui três etapas, mas apenas a primeira e a segunda etapa fazem parte do processo germinativo em si. Destas, na primeira há o predomínio físico da entrada da água e a segunda o bioquímico, genético e morfológico.

Em se tratando da nomenclatura, embebição é uma forma incorreta, consagrada pelo uso, de conjugar o verbo embeber. Este termo foi utilizado pela primeira vez na língua portuguesa em 1938, por um fisiologista português proveniente da Universidade de Coimbra (HOUAISS, 2014). Provavelmente, houve um erro de tradução, visto que em inglês o termo é *Imbibition*. Nesta língua, este termo é utilizado há tempos para descrever o processo de entrada de água em diásporos (SHULL, 1913; BLACKLOW, 1972; SVEJDA, 1972; BANSAL et al., 1980; EGLEY; PAUL JR., 1981; MEYERS, 1983; BEWLEY; BLACK, 1978; BRADFORD, 1990; BEWLEY; BLACK, 1994; BEWLEY, 1997; NONOGAKI et al., 2010; RAJJOU et al., 2012; BEWLEY et al., 2013). Contudo, alguns autores também recorrem ao termo absorção de água (*water uptake*) para definir o processo (BEWLEY; BLACK, 1994; BEWLEY, 1997; NONOGAKI et al., 2010; RAJJOU et al., 2012; BEWLEY et al., 2013). O fato é que tanto embebição, quanto absorção, fazem menção à adesão de um líquido por um sólido (OXFORD DICTIONARY, 2014), denotando uma ideia restritamente física. Entretanto, como foi mencionado anteriormente, o processo que abrangem a entrada de água em um diásporo é altamente dependente de questões bioquímicas e fisiológicas, as quais regem qualquer outro aspecto envolvido na germinação *stricto sensu*.

Do ponto de vista linguístico, embeber é encharcar-se, saturar-se, de algum líquido (HOUAISS, 2014). Na física, embebição é definido como a ocupação de um poro de um sólido por um líquido (GRAHAM; RICHARDSON, 1959); enquanto que na biologia é definida como a força de adesão das moléculas de água às partículas dos vegetais (LIVINGSTON, 1927). Assim, para receber este nome o processo ou a curva que o

demonstra não poderiam apresentar um platô teórico. Neste platô, não há embebição, mas estagnação. Da mesma maneira, o termo hidratação não pode ser empregado. Este termo é generalista e significa abastecer-se de água (HOUAISS, 2014). Para isto, pode-se necessitar de uma gota ou dez litros. Contudo, quando se hidrata, apenas se regula quanto à necessidade de água, não se encharca. Diante disto, um termo interessante para abordar o até então chamado processo de embebição, seria de dinâmica. Dinâmica indica sucessão de processos e representa eventos com mais de uma etapa (HOUAISS, 2014). Este termo já foi utilizado para descrever a entrada de água em diásporos (LEOPOLD, 1983; VERTUCCI; LEOPOLD, 1983; VERTUCCI; LEOPOLD, 1984), mas não o suficiente para consagrá-lo.

De fato, a embebição/absorção de água por um diásporo é um processo com grande sucessão de eventos. Em termos de manutenção e gerenciamento do fluxo hídrico nos diásporos, sabe-se que as três etapas da embebição apresentam preponderância de potenciais distintos (BEWLEY; BLACK, 1985; BEWLEY; BLACK, 1994; BEWLEY, 1997; NONOGAKI et al., 2010; WEITBRECHT et al., 2011; RAJJOU et al., 2012; BEWLEY et al., 2013). Na fase I, em que a absorção de água é vertiginosa, o potencial predominante é o matricial; na fase II, na qual existe um platô teórico de absorção, a predominância é do potencial osmótico e de parede; e na fase III, pós-germinação, o incremento ascendente de absorção é regido principalmente pelo potencial osmótico (BEWLEY; BLACK, 1994; BEWLEY; BLACK, 1994; BEWLEY, 1997; BEWLEY et al., 2013). Ademais, estas três etapas apresentam grande complexidade bioquímica e morfofisiológica (NONOGAKI et al., 2010; WEITBRECHT et al., 2011; RAJJOU et al., 2012).

Alguns autores afirmam que a germinação *strictu sensu*, demonstrada por meio da curva de entrada de água, consisti na embebição, fase I; no aumento da atividade metabólica, fase II; e no início do crescimento, com grande atividade metabólica, fase III (GALLARDO et al., 2002). Entretanto, na primeira fase há atividade metabólica, ainda que mínima (BEWLEY, 1997; NONOGAKI et al., 2010; WEITBRECHT et al., 2011; RAJJOU et al., 2012).

Morfofisiologicamente, embora o ganho de massa na primeira etapa da absorção de água seja substancial, o ganho mais significativo se dá na fase de aumento da atividade metabólica (BEWLEY, 1997; NONOGAKI et al., 2010; WEITBRECHT et al., 2011; RAJJOU et al., 2012). Nesta etapa, o eixo embrionário se desenvolve em detrimento da

degradação das reservas, sobretudo na região da micrópila (YAN et al., 2014; BERNDT, 2014). A germinação *stricto sensu* é consequência da comunicação entre as células da micrópila e as células do embrião, especialmente da radícula (YAN et al., 2014; BERNDT, 2014). Esta interação é mais intrigante quando se pensa que estas células da micrópila podem cadenciar a germinação sendo um sensor interno das questões extrínsecas ao diásporo (YAN et al., 2014). Assim, o processo de crescimento e desenvolvimento do embrião é mais complexo e dinâmico que convencionalmente é aceito.

Diante do exposto, é interessante repensar a nomenclatura do gerenciamento hídrico realizado por diásporos, a qual demonstra a sua germinação. Partindo deste pressuposto, nesta tese adotar-se-á, a partir deste momento, o termo “dinâmica da água” para descrever o processo convencionalmente denominado como embebição ou absorção de água de diásporos.

## **2.2. Dinâmica da água em diásporos: uma ferramenta útil para qualquer segmento sementeiro**

A dinâmica da água inclui dois processos simultâneos, a entrada e o consequente inchaço dos polímeros de um diásporo (LEOPOLD, 1983). Logo, qualquer fator que influencie estes dois aspectos, influenciar-se-á a dinâmica e as taxas desta. Dentre os principais influenciadores estão temperatura, potencial osmótico da solução, déficit hídrico, questões hormonais e superfície de contato do diásporo, umidade relativa do ambiente e a viabilidade do embrião (BRADFORD, 1990; BEWLEY, 1997; MARCOS FILHO, 2005; BEWLEY et al., 2013), os quais também são corriqueiramente mencionados como aspectos que afetam a germinação (BEWLEY; BLACK, 1978; BEWLEY; BLACK, 1994; BEWLEY, 1997; MARCOS FILHO, 2005; NONOGAKI et al., 2010; WEITBRECHT et al., 2011; RAJJOU et al., 2012; BEWLEY et al., 2013).

O estudo da dinâmica da água foi um dos alicerces da ciência em diásporos. Trabalhos clássicos em germinação abordavam esta temática sem muitas ferramentas para quantificar e qualificar o fluxo da água durante a germinação *stricto sensu* (SHULL, 1913; EGLEY; PAUL JR., 1981; HERNANDÉZ; ORIOLI, 1985; BRADFORD, 1990). Contudo, as inferências realizadas por meio das curvas de dinâmica permitem demonstrar padrões germinativos, bem como a presença de dormência (BEWLEY;

BLACK, 1978; BEWLEY; BLACK, 1994; BEWLEY, 1997; MARCOS FILHO, 2005; BEWLEY et al., 2013).

A constatação de dormência em diásporos é o exemplo mais recorrente na literatura para demonstrar a importância das curvas de dinâmica da água. Técnica pouco onerosa e muito eficaz, as curvas de dinâmica permitem realizar inferências seguras de dormência, sobretudo a do tipo física *sensu* Nikolaeva (BASKIN; BASKIN, 1998; BASKIN; BASKIN, 2004; BASKIN; BASKIN, 2014). Neste aspecto, a segunda fase da regulação da germinação é de suma importância, visto que o comprimento desta fase é geralmente estendido quando há dormência, enquanto promotores de germinação a encurta (BRADFORD, 1990; BEWLEY, 1997; MARCOS FILHO, 2005; RANAL et al., 2009; BEWLEY et al., 2013). Em outra mão, as curvas norteiam trabalhos que abordam aspectos da morfologia e anatomia de diásporos (EGLEY; PAUL JR., 1981; HERNADÉZ; ORIOLI, 1985; PAIVA et al., 2006; PRESTON et al., 2009; PAULA et al., 2012) e/ou aqueles que demonstram termoinibição e os mais diferentes tipos de estresse (WOLK et al., 1989; FINCH-SAVAGE et al., 2005; FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006; WIANDAUER et al., 2012).

Do ponto de vista agrônomo, a dinâmica da água em diásporos é utilizada principalmente na definição dos momentos em que se deve aplicar o *priming* ou condicionamento fisiológico (NASCIMENTO, 1998; MARCOS FILHO, 2005; NASCIMENTO, 2005; PATANÈ et al., 2009). A técnica do *priming* consiste na interrupção da segunda fase da dinâmica da água, a fim de igualar a capacidade de emergência de plântulas oriundas de diásporos com qualidades fisiológicas distintas (MARCOS FILHO, 2005; NASCIMENTO, 2005). Isto é importante principalmente para o segmento da olericultura, o qual rotineiramente se depara com diásporos com tamanhos, massas e qualidades distintas dentro de um mesmo lote (NASCIMENTO, 1998; MARCOS FILHO, 2005). Em outra vertente, o *priming* possibilita o agricultor utilizar lotes com qualidades distintas em uma mesma semeadura, sem comprometer o estande (MARCOS FILHO, 2005; NASCIMENTO, 2005; PATANÈ et al., 2009). Para isto, os lotes com qualidades inferiores são submetidos ao condicionamento fisiológico para apresentar equivalência da capacidade germinativa e, conseqüentemente, de emergência com aqueles de melhor qualidade (MARCOS FILHO, 2005; NASCIMENTO, 2005; PATANÈ et al., 2009).

A quantificação e a qualificação do vigor por meio do estudo indireto da dinâmica da água em diásporos também tem se mostrado um segmento interessante. Neste âmbito, pode-se citar o teste de espécie reativas de oxigênio (MARCOS FILHO, 2005; ISTA, 2006; LIU et al., 2009), o qual necessita da análise da dinâmica como um indicador. Segundo este teste, quanto maior a quantidade de espécies reativas de oxigênio produzidas nas primeiras fases da dinâmica, pior a qualidade dos diásporos (LIU et al., 2009). Esta técnica demonstra a necessidade de se estudar outras maneiras de utilizar a dinâmica como forma de quantificar e qualificar a fisiologia de germinação de diásporos.

Da mesma maneira, no campo morfofisiológico e molecular, a dinâmica da água é o marcador cronológico utilizado para refinar os ensaios (KAMKAR et al., 2012; QUEIROZ et al., 2012; WINDAUER et al., 2012; PEREIRA et al., 2014). As três fases teóricas desta dinâmica são utilizadas como referencial para análises de crescimento e desenvolvimento do embrião de um diásporo germinando. Do mesmo modo, essas fases, mais especificadamente o início e fim da segunda fase, são referenciais para o refinamento de análises genéticas e bioquímicas (HOLDSWORTH et al., 2008; IGLESIAS-FERNÁNDEZ et al., 2011; WEITBRECHT et al., 2011; QUEIROZ et al., 2012). Entretanto, pouco é descrito nesses trabalhos sobre a implantação e condução dos experimentos prévios que originam as curvas que demonstram a dinâmica da água em diásporos. Ademais, praticamente não se aborda esse processo nos resultados e discussão desses trabalhos. Isto provavelmente está associado ao foco técnico dado à dinâmica ou a falta de medidas que a mensure de maneira eficaz.

Diante de tantos usos, a incorporação de medidas que quantifiquem o processo de dinâmica da água pode possibilitar maior elucidação da germinação *strictu sensu*. Os estudos clássicos em germinação de diásporos também não possuíam aparatos matemáticos e estatísticos elaborados, o que os tornavam *sensu* comum quanto à análise e quantificação acumulativa (RANAL; SANTANA, 2006; McNAIR et al., 2012). Contudo, a partir da disponibilização de expressões matemáticas que quantificavam e qualificavam germinabilidade, sincronia, uniformidade, velocidade e tempo, a ciência em diásporos ganhou impulso (RANAL; SANTANA, 2006; McNAIR et al., 2012). Embora alguns autores mencione a quantificação da dinâmica, matematicamente praticamente não há mensuração (BRADFORD, 1990; FINCH-SAVAGE et al., 2005). Assim, estudos que mensurem a dinâmica podem incorporar robustez aos trabalhos das diversas áreas da ciência em diásporos. Para tanto, será necessário quantificar a capacidade de difusão das moléculas de água nos diásporos, uma vez que durante a dinâmica a água se movimenta

dentro do diásporo devido, principalmente, a força de difusão (PAIVA et al., 2006). É importante ressaltar que outros trabalhos prévios à quantificação da dinâmica precisam ser realizados. Isto porque pouco se discute sobre questões básicas da dinâmica, como a implantação e condução experimental, e por isto não há padrão de método.

### **2.3. Com quantos diásporos se estuda a dinâmica da água?**

As discussões sobre o tamanho ótimo de amostra na ciência em diásporos praticamente são nulas (SANTANA et al., 2012; PEREIRA; SANTANA, 2013; RIBEIRO-OLIVEIRA et al., 2013; RIBEIRO-OLIVEIRA; RANAL, 2014). Por muito tempo, a padronização laboratorial realizada por órgãos como a International Seed Testing (ISTA) foi considerada suficiente (SANTANA et al., 2012; RIBEIRO-OLIVEIRA et al., 2013; RIBEIRO-OLIVEIRA; RANAL, 2014). Entretanto, a necessidade de incluir espécies, como as florestais nativas do Brasil, cuja padronização não havia sido realizada nos primórdios destas organizações, revitalizou a temática amostragem (RIBEIRO-OLIVEIRA et al., 2013; RIBEIRO-OLIVEIRA; RANAL, 2014).

Por definição, população é o conjunto de elementos que tem determinada característica em comum. Todo subconjunto não vazio e com menor número de elementos do que o conjunto definido como população, constitui uma amostra dessa população. Assim, de forma generalizada, amostra pode ser definida como uma parte representativa da população (COCHRAN, 1977; BANZATTO; KRONKA, 2006), da qual é possível estimar parâmetros populacionais (STORCK et al., 2010; STORCK et al., 2011).

Ao aplicar estes conceitos, pode-se dizer que uma amostra é o conjunto de diásporos que tem a mesma história, desde a sua formação até a condição experimental, podendo, esta amostra, ser repetida  $r$  vezes, em  $r$  repetições (SANTANA; RANAL, 2004). Isto significa que os diásporos de um mesmo tratamento, dentro de delineamentos experimentais, constituem uma amostra, pois a sua história é comum. Pode-se dizer também que cada repetição da amostra constitui uma sub-amostra. Esta sub-amostra é comumente chamada de parcela ou unidade experimental (BANZATTO; KRONKA, 2006), sendo a fonte dos dados coletados e, portanto, o reflexo do tratamento ensaiado (PIMENTEL-GOMES, 2000).

Neste raciocínio, para se obter o tamanho da parcela é necessário, *a priori*, estimar o tamanho da amostra. Para isto, o principal modelo utilizado é o proposto por Cochran



para populações finitas (COCHRAN, 1977). No entanto, outros modelos, utilizados para estimar o tamanho ótimo da parcela, também se mostram alternativas viáveis para estimar o tamanho da amostra. Em sua maioria, esses modelos são fundamentados na redução do erro experimental e na maximização operacional, levando-se em consideração a viabilidade financeira. O primeiro deles foi proposto por Smith (1938), sendo alterado posteriormente por outros autores (HATHEWAY; WILLIAMS, 1958; KOCH; RIGNEY, 1958; HATHEWAY, 1961; LESSMAN; ATKINS, 1963; MEIER; LESSMAN, 1971; LINS; BINS, 1986; BARROS; TAVARES, 1995). Dentre esses, o modelo da máxima curvatura se destaca, uma vez que permite calcular algebricamente o ponto de maior inflexão de um modelo originado pela relação funcional entre o coeficiente de variação e o tamanho de parcela (LESSMAN; ATKINS, 1963; MEIER; LESSMAN, 1971; BARROS; TAVARES, 1995; STORK, 2011) ou amostra (PALOMINO et al., 2000; RIBEIRO-OLIVEIRA; RANAL, 2014). Para germinação de diásporos, o modelo utilizado até então é o da máxima curvatura modificado, o qual foi proposto por Meier e Lessman, em 1971 (RIBEIRO-OLIVEIRA; RANAL, 2014).

Nada foi estudado neste aspecto quanto à dinâmica da água em diásporos. A amplitude amostral utilizada para demonstrar o processo varia entre um e 400 diásporos (WOODSTOCK; GRABE, 1967; BANSAL et al., 1980; HERNANDÉZ; ORIOLI, 1985; WIERZBICKA; OBIDZIŃSKA, 1998; FINCH-SAVA et al., 2005; PAIVA et al., 2006; HESCHEL et al., 2008; PRESTON et al., 2009; LEI, 2010; PATANÈ et al., 2009; MATARUGA et al., 2010; WANG et al., 2012; WINDAUER et al., 2012). Uma das consequências dessa grande variabilidade amostral é a falta de robustez na comparação de resultados entre trabalhos, bem como da informação gerada (RIBEIRO-OLIVEIRA et al., 2013). Pouco se sabe como esta amplitude pode influenciar na predição das etapas de dinâmica ou se o tamanho da amostra influi na modelagem do processo, o que demonstra a necessidade de estudos que possam sugerir algum padrão amostral para estudos desse processo. Em adição, a utilização de modelos matemáticos que mostram a dinâmica da água em diásporos também necessita ser estudada.

#### **2.4. A dinâmica da água em diásporos é um padrão trifásico?**

Há muito se dá atenção especial a trabalhos que caracterizam as interações entre as moléculas de água e as estruturas vegetais (LIVINGSTON, 1927). Contudo, quando se pensa em dinâmica da entrada da água em diásporos, pouco é abordado por meio de

modelagem matemática. De maneira geral, a maioria dos trabalhos que abordam esta dinâmica por meio de modelagem é realizada pela ciência em tecnologia de alimentos e demonstra a hidratação, não a dinâmica em si (BECKER, 1960; MISRA; BROOKER, 1980; PELEG, 1988; TURHAN et al., 2002; MARABI; SAGUY, 2004). Nesta ciência, estes modelos matemáticos são importantes por designar e aperfeiçoar as operações do processo alimentar (KAPSTO et al., 2008), enquanto na ciência em diásporos a modelagem auxilia diretamente no entender dos processos decorrentes da germinação *stricto sensu* (FINCH-SAVAGE et al., 2005; FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006; WIANDAUER et al., 2012). Assim, é necessário prudência na escolha do modelo que irá demonstrar esta dinâmica.

Por convencionalismo, adotou-se o padrão trifásico como aquele que representa o processo da dinâmica da água em diásporos e, assim, a germinação *stricto sensu* (BEWLEY; BLACK, 1978; BEWLEY; BLACK, 1994; BEWLEY, 1997, NONOGAKI et al., 2010; RAJJOU et al., 2012; BEWLEY et al., 2013). Embora vários autores sujeitem seus dados a modelos estatísticos para demonstrar esse padrão, em geral polinomial, muitos trabalhos não conseguem ratificá-lo (SVEJDA, 1972; LEOPOLD, 1983; VERTUCCI; LEOPOLD, 1983; VERTUCCI; LEOPOLD, 1984; TERSKIKH et al., 2005; OROZCO-SEGOVIA et al., 2007), sobretudo quando se observa a dispersão dos dados (CARNEIRO et al., 2001). Isto pode estar associado ao fato de pouco se saber quanto à adequabilidade de modelos univariados para demonstrar esse processo (CARNEIRO et al., 2001), que é governado concomitantemente por questões físicas, químicas e biológicas.

De maneira sistemática, a dinâmica da água em diásporos foi um aspecto discutido nas décadas de 80, haja vista o volume de informações geradas neste período (BANSAL et al., 1980; LEOPOLD, 1983; VERTUCCI; LEOPOLD, 1983; VERTUCCI; LEOPOLD, 1984; HERNANDÉZ; ORIOLI, 1985; GUMMERSON, 1986). As informações discutidas quanto à modelagem do processo nestes anos, ainda são base de livros-texto (BEWLEY; BLACK, 1994; BEWLEY et al., 2013), e, por consequência, de artigos que abordam a germinação *stricto sensu* de diásporos. Nessas décadas, os aspectos da dinâmica foram estudados com a finalidade de aprofundar o conhecimento em germinação e traçar paralelos com as questões de campo enfrentadas por um diásporo (BRADFORD, 1990; FINCH-SAVAGE et al., 2007). Assim, embora a fisiologia vegetal regesse o âmago dos trabalhos, a agronomia era um foco intermitente. Em adição, esses

trabalhos apresentavam abordagem matemática densa para discutir aspectos fisiológicos da germinação (LEOPOLD, 1983; VERTUCCI; LEOPOLD, 1983; VERTUCCI; LEOPOLD, 1984; BRADFORD, 1990; FINCH-SAVAGE et al., 2007), o que não é corriqueiro para a maior parte dos pesquisadores do ramo. Isto, provavelmente, inibiu maiores empreitadas, uma vez que na década posterior a este desabrochar científico, pouco se discutiu quanto aspectos que mensurasse ou estimasse, por meio de modelagem, a dinâmica da água em diásporos.

Apenas na segunda metade da primeira década dos anos 2000 é que o assunto modelagem voltou a ser foco de trabalhos que discorrem sobre germinação *stricto sensu*. Isto está associado às novas vertentes dadas ao processo de dinâmica da água em diásporos, como, por exemplo, simulador de efeitos ambientais (FINCH-SAVAGE et al., 2007) e traço evolutivo (LEI, 2010).

Por muito tempo, o modelo que foi utilizado para descrever a dinâmica da água em diásporos foi o de Lockhardt, o qual descreve o crescimento celular por meio de uma expressão empírica (BRADFORD, 1990; FINCH-SAVAGE et al., 2007). Contudo, o uso deste modelo apresenta um grande gargalo; tal como outros modelos de crescimento, a característica estudada originalmente pelo modelo é contínua, portanto a germinação, característica discreta, não pode ser quantificada (BRADFORD, 1990). Diante desta realidade, vários autores sugeriram modelos (GUMMERSON, 1986; BRADFORD, 1990; BRADFORD, 1995; ALVARADO; BRADFORD, 2002; FINCH-SAVAGE et al., 2005) que, em sua maioria, atentavam-se às relações existentes entre a absorção da água por um diásporos e a temperatura, a luminosidade, os reguladores de crescimento e a influência da iniciação do crescimento radicular (BRADFORD, 1990), mas estes não consideram a massa fresca como o única característica para realizar inferências para uma modelagem mais robusta.

A massa fresca de um diásporo embebido é uma medida relativamente estável e de fácil mensuração (FALADE et al., 2007). Ademais, a entrada de água em diásporos segue um sistema lógico, dirigido pelo processo de difusão, em que primeiro há embebição das áreas externas para posterior hidratação interna, incluindo o embrião. Como o tempo para que isto ocorra é variável e, relativamente, complexo de ser inferido, é interessante que o diásporo, como um todo, seja analisado. Isto leva a maior praticidade e confiabilidade analítica. Neste panorama, não se sabe se de fato a dinâmica é regida por um padrão trifásico.

Por ser um processo governado pela difusão, a dinâmica da água em diásporos possivelmente também pode ser demonstrada por meio de uma curva exponencial. Estas equações são a solução natural da difusão (CRANK, 1975). Todavia, a análise com uma exponencial simples pressupõe que os coeficientes de difusão sejam constantes. Na verdade, estes coeficientes são funções da concentração (PHILIBERT, 2005). Assim, a solução tem uma forma exponencial combinada com outro tipo de função que será ditada pela forma como coeficiente varia (CRANK, 1975; PHILIBERT, 2005). Esta abordagem, no entanto, ainda não foi dada na ciência em diásporo.

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARADO, V.; BRADFORD, K.J. A hydrothermal time model explains the cardinal temperatures for seed germination. **Plant, Cell & Environment**, London, v.25, p.1061–1069, 2002.

BANSAL, R. P. et al. Differential specificity in water inhibition of Indian arid zone. **Biology Plantarum**, Praha, v. 22, n. 2, p. 327–331, 1980.

BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. **Experimentação Agrícola**. 4ª ed. Jaboticabal:Funep, 2006. 237p.

BARBEDO, C. J. et al. Do recalcitrant seeds really exist? **Hoehnea**, São Paulo, v. 40, p. 583-593, 2013.

BARROS, I.; TAVARES, M. Estimativa do tamanho ótimo de parcelas experimentais através de cálculos algébricos. **Bragantia**, Campinas, v.54, n.1, p. 209-215, 1995.

BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. **Seeds, ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination**. New York: Academic Press, 1998.

BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. **Seeds, ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination**. New York: Academic Press, 2<sup>nd</sup> ed., 2014. 1600p.

BASKIN, J.M.; BASKIN, C.C. A classification system for seed dormancy. **Seed Science Research**, Cambridge, v.14, p.1–16, 2004.

BECKER, H. A. On the absorption of liquid water by the wheat kernel. **Cereal Chemistry**, Pullman, v.37, p.309–323, 1960.

- BERNDT, J.D. DOG1 Controls Seed Germination. **Science Signaling**, New York, v. 7, n. 341, p. ec238, 2014.
- BEWLEY J. D. Seed germination and dormancy. **The Plant Cell**, Rockville, v. 9, n. 7, p.1055-1066, 1997.
- BEWLEY, J.D. et al. **Physiology of Development, Germination and Dormancy**. Berlin: Springer, 3rd ed., 2013. 392 p.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination**. Development, germination and growth. v.1, Berlin: Springer Verlag, 1978, 306p.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2<sup>o</sup>. ed. New York: PLENUM, 1994. 445p.
- BLACKLOW, W. M. Influence of temperature on germination and elongation of the radicle and shoot of corn (*Zea mays* L.). **Crop Science**, Madison, v.12, n.5, 647-650, 1972.
- BRADFORD, K.J. **Water relations in seed germination**. In: KIGELJ, GALILIG, eds. Seed development and germination. New York, NY, USA: Marcel Dekker, 351–396, 1995.
- BRADFORD, K.J. A water relations analysis of seed germination rates. **Plant Physiology**, Waterbury, v.94, p. 840–849, 1990.
- CARNEIRO, J. W. P. et al.. Massa de água acumulada durante embebição de sementes de cenoura (*Daucus carota* L.) avaliação de modelos lineares e não lineares. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v. 23, n. 1, p. 9-16, 2001.
- COCHRAN, W.G. **Sampling techniques**. 3<sup>a</sup> ed. New York: John Wiley & Sons, 1977.
- CRANK, J. **The mathematics of diffusion**. Vol. 2. No. 3. Oxford: Clarendon press, 1975.
- EGLEY, G. H.; PAUL JR, R. N. Morphological observations on the early imbibition of water by *Sida spinosa* (Malvaceae) seed. **American Journal of Botany**, Stanford, p. 1056-1065, 1981.

FALADE, K. O. et al. Kinetics of mass transfer, and colour changes during osmotic dehydration of watermelon. **Journal of Food Engineering**, London, v. 80, n. 3, p. 979-985, 2007.

FINCH-SAVAGE, W.E.; LEUBNER-METZGER, G. Seed dormancy and control of germination. **New Phytologist**, London, v.171, n.3, p.501-523, 2006.

FINCH-SAVAGE, W.E. et al. Development of combined imbibition and hydrothermal threshold models to simulate maize (*Zea mays*) and chickpea (*Cicer arietinum*) seed germination in variable environments. **New Phytologist**, London, v.165, p.825–838, 2005.

GALLARDO, K. et al. Proteomics of Arabidopsis Seed Germination: A Comparative Study of Wild-Type and Gibberellin-Deficient Seeds. **Plant Physiology**, Waterbury, v.129, n.2, 823–837, 2002.

GRAHAM, J. W.; RICHARDSON, J. G. Theory and application of imbibition phenomena in recovery of oil. **Journal of Petroleum Technology**, Richardson, v. 11, n. 02, p. 65-69, 1959.

GUMMERSON, R.J. The effect of constant temperatures and osmotic potential on the germination of sugar beet. **Journal of Experimental Botany**, Oxyford, v.37, p.729–958, 1986.

HATHEWAY, W.H. Convenient plot size. **Agronomy Journal**, Madison, v.53, 279–280, 1961.

HATHEWAY, W.H.; WILLIAMS, E.J. Efficient estimation of the relation- ship between plot size and the variability of crop yields. **Biometrics**, Arlington, v.14, p.207–222, 1958.

HERNÁNDEZ, L.F; ORIOLI, G.A. Imbibition and germination rates of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds according to fruit size. **Fields Crops Research**, Amsterdam, v. 10, p. 361- 366, 1985.

HESCHEL, M.S. et al. New roles of phytochrome during germination. **International Journal of Plant Science**, Chicago, v.169, p.531-540, 2008.

HOLDSWORTH, M. J. et al.. Post-genomics dissection of seed dormancy and germination. **Trends in plant science**, Amsterdam, v. 13, n. 1, p. 7-13, 2008.

HOUAISS. **Dicionário da Língua Portuguesa**. Disponível em: <http://houaiss.uol.com.br/>. Acessado em 20 de dezembro de 2014.

IGLESIAS-FERNÁNDEZ, R. et al. Three endo- $\beta$ -mannanase genes expressed in the micropylar endosperm and in the radicle influence germination of *Arabidopsis thaliana* seeds. **Planta**, New York, v.233, n.1, p. 25-36, 2011.

ISTA. **International rules for seed testing**, International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland. 2006.

KAMKAR, B. et al.. Quantification of the cardinal temperatures and thermal time requirement of opium poppy (*Papaver somniferum* L.) seeds to germinate using non-linear regression models. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v.35, p.192-198, 2012.

KAPTSO, K. G. et al. Physical properties and rehydration kinetics of two varieties of cowpea (*Vigna unguiculata*) and bambara groundnuts (*Voandzeia subterranea*) seeds. **Journal of Food Engineering**, London, v. 86, n. 1, p. 91-99, 2008.

KOCH, E.J.; RIGNEY, H.J. A method of estimating optimum plot size from experimental data. **Agronomy Journal**, Madison, v.43, p.17–21, 1951.

LABOURIAU, L.G. **A germinação das sementes**. Washington: Secretaria Geral da organização dos Estados Americanos, Programa Regional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. 1983, 174p.

LEI, S.A. Factors influencing seed imbibitions of blackbrush (*Coleogyne ramosissima*: Rosaceae). **The Southwestern Naturalist**, Oklahoma, v.55, p. 443-447, 2010.

LEOPOLD, A.C. Volumetric components of seed imbibition. **Plant Physiology**, Waterbury, v.73, n.2, p.677-680, 1983.

LESSMAN, K.J.; ATKINS, R.E. Optimum plot size and relative efficiency of lattice designs for grain sorghum yield tests. **Crop Science**, Madison, v.3, p. 477-481, 1963

LIN, C.S.; BINNS, M.R. Relative efficiency of two randomized block designs having different plot size and numbers of replications and of plots per block. **Agronomy Journal**, Madison, v.78, p.531–534, 1986.

- LIU, X. et al. A non-invasive and rapid seed vigor biosensor based on quantitative measurement of superoxide generated by aleurone cell in intact seeds. **Biosensors and Bioelectronics**, Amsterdam, v.24, p.1537 – 1542, 2009.
- LIVINGSTON, B. E. Plant water relations. **The Quarterly Review of Biology**, [s/l], v. 2, n. 4, p. 494-515, 1927.
- MARABI, A.; SAGUY, I. S. Effect of porosity on rehydration of dry food particulates. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.84, p.1105–1110, 2004.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005. 495p.
- MATARUGA, M. et al. Dynamics of seed imbibition and germination of Austrian pine (*Pinus nigra* Arnold) from extreme habitat conditions within five Balkan provenances. **New Forests**, Dordrecht, v. 40, p. 229-242, 2010.
- McNAIR, J. N.. et al. How to analyse seed germination data using statistical time-to-event analysis: non-parametric and semi-parametric methods. **Seed Science Research**, Cambridge, v. 22, n. 02, p. 77-95, 2012.
- MEIER, V.D.; LESSMAN, K.J. Estimation of optimum field plot shape and size for testing yield in *Crambe abyssinica* Hochst. **Crop Science**, Madison, v. 11, p.648-650, 1971.
- MISRA, M. K.; BROOKER, D. B. Thin-layer drying and rewetting equations for shelled yellow corn. **Transactions of the ASAE**, St. Joseph, 23, 1254–1260, 1980.
- NASCIMENTO, W. M. Condicionamento osmótico de sementes de hortaliças visando a germinação em condições de temperaturas baixas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n.2, p. 211-214, 2005.
- NASCIMENTO, W. M. Condicionamento osmótico de sementes de hortaliças: potencialidades e implicações. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 16, p. 106-109, 1998.
- NONOGAKI, H. et al. Germination-still a mystery. **Plant Science**, Amsterdam, v. 179, p.574-581, 2010.



- OROZCO-SEGOVIA, A. et al.. Seed anatomy and water uptake in relation to seed dormancy in *Opuntia tomentosa* (Cactaceae, Opuntioideae). **Annals of botany**, Oxyford, v. 99, n. 4, p. 581-592, 2007.
- OXFORD DICTIONARY. **Free online dictionary of British English and American English from Oxford**. Disponível em: <http://www.oxforddictionaries.com/>. Acessado em 20 de dezembro de 2014.
- PAIVA, E.A.S. et al. Imbibition of *Swietenia macrophylla* (Meliaceae) seeds: the role of stomata. **Annals of Botany**, Oxyford, v. 98, n.1, p.213-217, 2006.
- PALOMINO, E.C. et al. Tamanho de amostra para avaliação de famílias de meios-irmãos de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, 1433-1439, 2000.
- PATANÈ, C. et al. Germination and radicle growth in unprimed and primed seeds of sweet sorghum as affected by reduced water potential in NaCl at different temperatures. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, 30, p.1-8, 2009.
- PAULA, A.S. et al. Breaking physical dormancy of *Cassia leptophylla* and *Senna macranthera* (Fabaceae: Caesalpinioideae) seeds: water absorption and alternating temperatures. **Seed Science Research**, Cambridge, v. 22, p. 1-9, 2012.
- PELEG, M. An empirical-model for the description of moisture sorption curves. **Journal of Food Science**, Chicago, v.53, p.1216–1217, 1219, 1988.
- PEREIRA, V. J. ; SANTANA, D. G. Coefficient of variation of normal seedlings obtained from the validation of methods for the seed germination testing of 20 species belonging to the family Fabaceae. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 35, p. 161-170, 2013.
- PEREIRA, W.V.S. et al. Loss of desiccation tolerance in *Copaifera langsdorffii* Desf. seeds during germination. **Brazilian Journal of Biology**, São Paulo, v. 74, p. 501-508, 2014.
- PHILIBERT, J. One and a half century of diffusion: Fick, Einstein, before and beyond. **Diffusion Fundamentals**, Leipzig, v. 2, n. 1, p. 1-10, 2005.
- PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 14. ed. Piracicaba: Nobel, 2000. 477 p.
- POWELL, A.A. et al. Seed quality in grain legumes. **Advances in Applied Biology**, London, v. 10, [s/n], p. 217-285, 1984.

- PRESTON, J. et al. Temporal expression patterns of hormone metabolism genes during imbibition of *Arabidopsis thaliana* seeds: a comparative study on dormant and non-dormant accessions. **Plant and Cell Physiology**, Oxyford, v.50, p.1786-1800, 2009.
- QUEIROZ, S. E. E. et al. Mechanism and control of *Genipa americana* seed germination. **Physiologia plantarum**, Kobenhavn, v. 144, p. 263-276, 2012.
- RAJJOU, L. et al. Seed germination and vigor. **Annual Review of Plant Biology**, Riverside, v. 63, p. 507–533, 2012.
- RANAL, M.A. et al. Calculating germination measurements and organizing spreadsheets. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.32, n.4, pp. 849-855, 2009.
- RANAL, M.A.; SANTANA, D.G. How and why to measure the germination process? **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.29, p. 1-11, 2006.
- RIBEIRO-OLIVEIRA, J. P.; RANAL, M. A. Sementes florestais brasileiras: início precário, presente inebriante e o futuro, promissor? **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 24, p. 771-784, 2014.
- RIBEIRO-OLIVEIRA, J. P. et al. A amplitude amostral interfere nas medidas de germinação de *Bowdichia virgilioides* Kunth? **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 23, p. 623-634, 2013.
- SANTANA, D.G.; RANAL, M.A. **Análise da germinação: um enfoque estatístico**. Brasília, Editora da UnB. 2004.
- SANTANA, D.G. et al. Validation of quality tests for forest seed species. **Seed Science Research**, Cambridge, v.22, p.74-79, 2012.
- SHULL, C. A. Semipermeability of seed coats. **Botanical Gazette**, Chicago, v.56, p.169-199, 1913.
- STORCK, L. Partial collection of data on potato field for experimental planning. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 121, 286-290, 2011.
- STORCK, L. et al. Experimental plan for single, double and triple hybrid corn. **Maydica**, Bergamo, v.55, 27-32, 2010.
- SVEJDA, F.J. Water uptake of rose achenes. **Canadian Journal of Plant Science**, Toronto, v.52, p.1043–1047, 1972.

- TERSKIKH, V. V. et al. Water uptake and oil distribution during imbibition of seeds of western white pine (*Pinus monticola* Dougl. ex D. Don) monitored in vivo using magnetic resonance imaging. **Planta**, Amsterdam, v. 221, n. 1, p. 17-27, 2005.
- TURHAN, M. et al. Application of Peleg model to study water absorption in chickpea during soaking. **Journal of Food Engineering**, Amsterdam, v.53, p.153–159, 2002.
- VERTUCCI, C. W.; LEOPOLD, A. C. Bound water in soybean seed and its relation to respiration and imbibitional damage. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 75, n. 1, p. 114-117, 1984.
- VERTUCCI, C. W.; LEOPOLD, A. C. Dynamics of imbibition by soybean embryos. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 72, p. 190- 193, 1983.
- VIEIRA, R.D. et al. Electrical conductivity of soybean seeds after storage in several environments. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.29, p.599-608, 2001.
- WANG, H. L. et al. Germination dimorphism in *Suaeda acuminata*: a new combination of dormancy types for heteromorphic seeds. **South African Journal of Botany** Pietermaritzburg, v.78, p.270-275, 2012.
- WEITBRECHT, K. et al. First off the mark: early seed germination. **Journal of Experimental of Botany**, Oxyford, v. 62, p.3289–3309, 2011.
- WIERZBICKA, M.; OBIDZIŃSKA, J. The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species. **Plant Science**, Amsterdam, v.137, n.2, p.155-171, 1998.
- WINDAUER, L. B. et al. Germination responses to temperature and water potential in *Jatropha curcas* seeds: a hydrotime model explains the difference between dormancy expression and dormancy induction at different incubation temperatures. **Annals of Botany**, Oxford, v.109, p.265-273, 2012.
- WOLK, W. D. et al. Dynamics of imbibition in *Phaseolus vulgaris* L. in relation to initial seed moisture content. **Plant Physiology**, Waterbury, v. 89, p. 805-810, 1989.
- WOODSTOCK, L.W.; GRABE, D.F. Relationship between seed respiration during imbibition and subsequent seedling growth in *Zea mays*. **Plant Physiology**, Waterbury, v.8, p.339-342, 1967.

YAN, D. et al. The functions of the endosperm during seed germination. **Plant and Cell Physiology**, Oxyford, p. pcu089, 2014.

ZHOU, P. J. et al. Determination of the thermogenesis curves and studies of the thermodynamics and thermokinetics of seed germination. **Journal of biochemical and biophysical methods**, Amsterdam, v. 38, n. 3, p. 171-180, 1999.

## CAPÍTULO II

### TAMANHO ÓTIMO DE AMOSTRA PARA AVALIAR A DINÂMICA DA ÁGUA EM DIÁSPOROS

#### RESUMO

A dinâmica da água permite visualizar o caminhar da germinação *stricto sensu* e, por isto, é utilizada como marcador cronológico para trabalhos moleculares, fisiológicos e agrônomicos com diásporos. Entretanto, não há padronização amostral para estudos deste processo, o que pode inviabilizar o resultado das curvas. Pensando nisto, este capítulo apresenta o tamanho ótimo de amostra para analisar o processo de dinâmica, obtido por meio de um modelo matemático consagrado pelo uso. Para tanto, utilizou-se diásporos pertencentes a três lotes com qualidades distintas, de cinco espécies com grande relevância agrícola. Estes diásporos ( $n = 50$ ) foram colocados em contato com a água e analisados, a cada hora, até que houvesse ao menos uma protrusão de embrião por amostra de cada lote. Os dados de massa coletados no último tempo de análise foram utilizados para mensurar o tamanho ótimo de amostra, avaliado pelo Modelo de Máxima Curvatura Modificada (MMCM). Este modelo mostrou-se um método adequado para mensurar a variabilidade da dinâmica da água em diásporos da maioria das espécies e, conseqüentemente, para obter o tamanho ótimo de amostra para a análise deste processo. Em geral, para se estudar o processo são necessários sete diásporos.

**Palavras-chave:** Embebição, germinação *stricto sensu*, MMCM, esforço amostral, unidades de dispersão

#### ABSTRACT

Water dynamics allows to view the process of germination *stricto sensu* of the diaspore and, therefore, it is used as a chronological marker for studies focused on molecular, physiological and agronomic investigation. However, there is no sampling standardization for studies of this process, which can jeopardize the resulting curves. Thinking about this, this chapter presents the optimum sample size to analyze the dynamic process obtained by means of a mathematical model established by use. Thus, diaspores belonging to three lots with distinct qualities, of five species with great agricultural significance were used. These diaspores ( $n = 50$ ) were placed in contact with water and weighed every hour, until, at least, one embryo protrusion had occurred in each sample of each lot. Mass data collected were used to measure the optimum sample size, evaluated by the Modified Maximum Curvature model (MMCM). This model proved to be suitable for measuring the dynamic variability of water in diaspores of most species and, consequently, to obtain the optimum size of sample for the analysis of this process. In general, seven diaspores are needed to study the process.

**Keywords:** Imbibition; germination *stricto sensu*, optimum sample size, MMCM, dispersion units.

## 1. INTRODUÇÃO

A dinâmica da água em diásporos foi um dos eventos mais reportados no início dos estudos em germinação (a exemplo SHULL, 1913; LIVINGSTON, 1927). A partir disto, foi surpreendente a retomada recente deste assunto (ALLEN et al., 2000; ALVARADO; BRADFORD, 2002; FINCH-SAVAGE et al., 2005; FINCH-SAVAGE et al., 2007; WINDAUER et al., 2012), a ponto de se perguntar por que a dinâmica da água se fez novamente notória entre os pesquisadores. O fato é que este processo demonstra a evolução da retomada da atividade metabólica pelo embrião (germinação) e pode auxiliar na predição de como os diásporos se comportarão em campo, influenciando a formação de estande (BRADFORD, 1990; FINCH-SAVAGE et al., 2007; WINDAUER et al., 2012). Isto se faz verdade, uma vez que esta dinâmica pode auxiliar no estudo comportamental dos diásporos frente a condições múltiplas de estresse (FINCH-SAVAGE et al., 2007), o que a promove como ferramenta útil à agronomia, à botânica, à ecologia e à biologia molecular.

Mesmo desempenhando papel fundamental na análise da germinação *stricto sensu* (*sensu* BEWLEY, 1997; NONOGAKI et al., 2010), pouco se discute sobre os aspectos experimentais da dinâmica da água em diásporos. Normalmente, esta dinâmica é estudada por meio de curvas de incremento de massa dos diásporos e/ou de teor de água (BEWLEY; BLACK, 1978; BEWLEY; BLACK, 1994; BEWLEY, 1997; NONOGAKI et al., 2010; PAULA et al., 2012; RAJJOU et al., 2012; BEWLEY et al., 2013), plotadas a partir de dados coletados de pequenas amostras. Estas pequenas amostras variam muito, principalmente quando o foco dado à dinâmica é meramente metodológico. Em alguns artigos, apenas um diásporo é utilizado para representar o comportamento de uma espécie quanto à dinâmica da água; em outros, cinco, trinta; e, em poucos, 200 (SHULL, 1913; WOODSTOCK; GRABE, 1967; BANSAL et al., 1980; HERNANDÉZ; ORIOLI, 1985; WIERZBICKA; OBIDZIŃSKA, 1998; FINCH-SAVAGE et al., 2005; PAIVA et al., 2006; HESCHEL et al., 2008; PRESTON et al., 2009; LEI, 2010; PATANÈ et al., 2009; MATARUGA et al., 2010; WANG et al., 2012; WINDAUER et al., 2012). Qual a consequência disto? Não seria melhor haver um padrão?

Sabe-se que algumas características apresentam grande robustez à flutuação amostral, como é o caso da germinabilidade (RIBEIRO-OLIVEIRA et al., 2013). Contudo, em geral, este padrão de robustez não é encontrado. Assim, a padronização amostral permite melhores estimativas estatísticas para a realização de qualquer trabalho.

Para os diásporos (sementes e outras unidades de dispersão), a problemática referente ao tamanho de amostra é pouco discutida. Em se tratando disto, a maior abordagem foi realizada por Milles (BÁNYAI; BARABÁS, 2002), quando este propôs o tamanho de amostra adequado para se estudar a germinação de diásporos para fins tecnológicos. Contudo, esta caracterização foi realizada apenas para espécies com foco comercial daquela época. Por isto, recentemente outras empreitadas foram necessárias para que a padronização laboratorial pudesse ser contemplada para espécies tropicais, como as brasileiras (SANTANA et al., 2012; PEREIRA; SANTANA, 2013; RIBEIRO-OLIVEIRA et al., 2013; RIBEIRO-OLIVEIRA; RANAL, 2014). Com a padronização, além da comercialização, viabiliza-se também a comparação de dados, bem como se descaracteriza o efeito da flutuação amostral em qualquer característica estudada. Diante desta relevância, é necessário estabelecer o tamanho ótimo de amostra para qualquer tipo de estudo e uma boa alternativa para isto é a utilização do modelo de Meier e Lessman (1971), o Método de Máxima Curvatura Modificada (MMCM), que demonstra a queda da variabilidade com o incremento da amostra. Com este modelo, é possível demonstrar o esforço amostral e, assim, evitar gastos excessivos de recursos financeiros, humanos e, até mesmo, biológicos. No que tange à dinâmica da água em diásporos, este tipo de estudo ainda não foi realizado. Pensando nisto, este trabalho tem por objetivo determinar o tamanho ótimo de amostra para a quantificação da dinâmica da água em diásporos por meio do MMCM.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Diásporos estudados e classificação em lotes**

Para estudar a dinâmica da água, fez-se uso de diásporos de espécies com grande relevância socioeconômica mundial e sem empecilhos aparentes para a germinação. Assim, foram estudadas cariopses de milho híbrido transgênico P3646H (*Zea mays* L. tipo híbrido), crioulo cultivar caiano (*Zea mays* L. tipo crioulo) e cultivar de trigo BRS 254 (*Triticum aestivum* L.); sementes da cultivar de soja transgênica NA5909RR (*Glycine max* L.), da de feijão BRS Horizonte (*Phaseolus vulgaris* L.) e cipselas do híbrido de girassol Helio 360 (*Helianthus annuus* L.).

Empresas privadas e instituições de pesquisa do ramo sementeiro cederam esses diásporos por meio de lotes comerciais sem qualquer tratamento químico. A qualidade fisiológica dos lotes, inferida pela germinabilidade, viabilidade e tempo inicial de germinação, foi avaliada por meio de testes prévios de germinação. Estes foram conduzidos com pequenas amostras ( $n = 50$ ) de cada lote. Para tanto, semeou-se os diásporos em caixas do tipo gerbox, sobre papel mata-borrão umedecido com água destilada, o equivalente, em mL, a 2,5 vezes a massa deste. A condução foi realizada em bancada de laboratório a  $25,3 \pm 2,5$  °C e luz branca fluorescente contínua ( $11,29 \pm 6,84$   $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PAR). O critério de germinação adotado foi a protrusão do embrião.

Foram designados como lotes com baixo padrão aqueles que apresentaram germinabilidade entre 1 e 40%; de médio entre 41 e 79% e de alto entre 80 e 100% (Tabela 1). Com exceção das cariopses de trigo e das sementes de soja que possuíam diásporos com alto e baixo padrão germinativo advindos de lotes comerciais, utilizou-se o estresse térmico para a formação de lotes com baixo padrão germinativo. Este estresse foi realizado com auxílio de estufa (Nova Ética®).

A temperatura de estresse térmico para a formação do lote de baixo padrão foi encontrada nos resultados de ensaios prévios. Para isto, os diásporos dos lotes comerciais com alto padrão germinativo foram expostos às temperaturas de 70, 80, 90 e  $102 \pm 1$  °C. Nesses ensaios, avaliou-se também a intensidade do estresse em cada temperatura, expondo-se os diásporos a 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48 e 60 horas em cada temperatura. Esses testes foram realizados adotando-se a mesma rotina experimental mencionada anteriormente para os testes prévios de germinação. As temperaturas e tempos de exposição que acarretaram em maior tempo inicial de germinação e menor germinabilidade foram utilizadas como estresse térmico para a formação do lote de baixo padrão germinativo (Tabela 1).

O lote intermediário, por sua vez, originou-se da mistura entre os lotes com maior e menor padrão germinativo. Isto foi possível pela utilização da expressão matemática  $p_{L1} n_{L1} + p_{L3} n_{L3} = p_{L2} n_{L2}$ , onde  $p_{L1}$ ,  $p_{L2}$  e  $p_{L3}$ : proporção de diásporos germinados dos lotes de qualidades baixa, intermediária e alta, respectivamente; e  $n_{L1}$ ,  $n_{L2}$  e  $n_{L3}$ : tamanho da amostra dos lotes de qualidades baixa, intermediária e alta, respectivamente (SANTANA, comunicação pessoal). Esta expressão é baseada no cálculo químico de diluição de substâncias. O exemplo abaixo demonstra o uso desta expressão na formação do lote de sementes de feijão com qualidade intermediária.



O lote de baixa qualidade de feijão possuía 606 sementes para a elaboração do lote intermediário ( $n_{L1} = 606$ ), com germinabilidade de 28% ( $p_{L1} = 0,28$ ). Por outro lado, o lote de alta qualidade, que dispunha da maior amostra de trabalho dentre os lotes, poderia fornecer a quantidade restante ( $n_{L3} = n$ ) para que a elaboração do lote de qualidade intermediária fosse viabilizada. A germinabilidade das sementes pertencentes ao lote 3 era de 100% ( $p_{L1} = 1$ ). Para que o lote apresentasse qualidade intermediária, fixou-se que a germinabilidade deveria ser de 55% ( $p_{L1} = 0,55$ ) e para que todos os testes pudessem ser realizados, era necessária uma amostra mínima de 5000 sementes ( $n_{L2}$ ). Assim, substituindo estes valores na expressão acima, observa-se que aproximadamente 2581 sementes do lote 3 deveriam ser misturadas e homogeneizadas às 606 sementes do lote 1, para que o lote 2 possuisse a amostra mínima de trabalho contendo 55% de germinabilidade. Diante disto:

$$p_{L1} n_{L1} + p_{L3} n_{L3} = p_{L2} n_{L2}$$

$$606 \cdot 0,28 + 1 \cdot n = 5000 \cdot 0,55$$

$$n = 2750 - 169,68$$

$$n \sim 2581 \text{ sementes}$$

TABELA 1. Germinabilidade (*G*) dos diásporos pertencentes aos diferentes lotes das espécies analisadas e o tempo de exposição (*t*) à temperatura (*T*) utilizada para a formação do lote de menor germinabilidade. 1: Lote com baixa qualidade fisiológica; 2: Lote com qualidade fisiológica intermediária; 3: Lote com alta qualidade fisiológica. *n* = 50.

Espécie	<i>G</i> (%)			<i>t</i> (h)	<i>T</i> (°C)
	1	2	3		
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	28	55	100	4	90
<i>Helianthus annuus</i> L.	32	55	98	24	102
<i>Zea mays</i> L. (tipo crioulo)	20	55	98	2	90
<i>Zea mays</i> L. (tipo híbrido)	34	55	100	48	90
<i>Glycine max</i> L.	22	56	98	-	-
<i>Triticum aestivum</i> L.	21	50	96	-	-

## 2.2. Avaliação da dinâmica da água em diásporos

O incremento de massa ao longo do tempo foi utilizado como base para mensurar a hidratação dos diásporos. A quantificação da massa de cada diásporo foi feita, a cada hora, com o auxílio de uma balança digital (BEL Engineering®) com precisão de 0,0001 g (BRASIL, 2009). Esta operação foi efetuada até que ao menos um diásporo de cada lote das espécies estudadas apresentasse protrusão do embrião.

Para cada lote e para espécie, foram avaliados 50 diásporos. A semeadura foi realizada em caixas do tipo gerbox, sobre papel mata-borrão umedecido com água destilada equivalente, em mL, a seis vezes a sua massa. As caixas foram colocadas sobre bancada, sob luz branca fluorescente contínua ( $11,29 \pm 6,84 \text{ PAR } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) à  $25,3 \pm 2,5 \text{ }^\circ\text{C}$ . A umidade do substrato foi mantida com a utilização de 5 mL de água destilada, aplicada em intervalos de seis horas. Para evitar super ou subestimativa dos resultados, antes de mensurar a massa, procedeu-se à retirada do excesso da água que circundava os diásporos, encostando-os rápida e suavemente em papel toalha. Para que o tempo de hidratação fosse o mesmo para todos os diásporos estudados, umedeceu-se o mata-borrão com intervalo mínimo de 15 minutos entre as amostras ( $n = 50$ ), cada qual representativa de um dos lotes. Este foi o tempo necessário para a coleta de dados de uma amostra.

A germinabilidade ( $G$ ) e a viabilidade ( $V$ ) dos diásporos das amostras utilizadas para mensurar a dinâmica da água foram analisadas. Estas características foram estudadas 48 horas após o encerramento das análises da dinâmica do processo. A viabilidade dos diásporos, observada com o uso da solução do sal cloreto de 2,3,5 – trifenil tetrazólio – (BRASIL, 2009), foi calculada pela proporção de diásporos viáveis em relação ao total posto a germinar ( $n = 50$ ). Para facilitar a leitura, os dados gerados para esta medida foram transformados em porcentagens. Os dados de germinabilidade e viabilidade foram analisados de acordo com os procedimentos estatísticos definidos por Carvalho et al. (2005) para o estudo da germinação ou emergência, a partir de pequenas amostras. Para tanto, fez-se uso do teste  $t$  de *Student* ( $\alpha = 0,05$ ), considerando-se as proporções de diásporos germinados.

Os dados de massa coletados ao longo da análise da dinâmica da água foram utilizados para a construção de gráficos de incremento acumulativo de massa, ponderada pela massa inicial. Isto se fez necessário para que a análise da dinâmica da água em

diásporos fosse independente da massa inicial do diásporo. Intervalos de confiança ( $\alpha = 0,05$ ) foram calculados, para cada período de tempo, objetivando demonstrar se há, ou não, dependência da qualidade fisiológica do lote na dinâmica da água em diásporos.

### **2.3.Cálculo do coeficiente de variação da massa ( $CV_m$ )**

Para determinar o tamanho ótimo de amostra, foram utilizados cálculos independentes de coeficientes de variação para a massa ( $CV_m$ ), com o  $n$  experimental variando entre 5 e 50 diásporos. Isto foi possível ao se utilizar a massa obtida na última leitura do teste de dinâmica da água em diásporos, momento em que houve a primeira germinação, ponderada pela massa inicial destes. O agrupamento dos diásporos foi realizado por meio de combinação matemática. Para esta combinação utilizou-se o método de re-amostragem *Bootstrap* (EFRON, 1979), com 2000 re-amostragens.

O coeficiente de variação da massa foi calculado mediante a expressão convencionalmente utilizada para calcular o coeficiente de variação de medidas contínuas (COCHRAN, 1977). Para tanto, utilizou-se a expressão matemática  $CV_m = CV = (s/\bar{x}) 100$ , onde  $s$  é o desvio padrão das massas obtidas para  $n$  diásporos na última leitura do teste de dinâmica da água e  $\bar{x}$  é a média geral da massa de  $n$  diásporos.

### **2.4.Estimativa do modelo de Meier e Lessman**

A estimativa do modelo proposto por Lessman e Atkins (1963) e aprimorado por Meier e Lessman (1971) foi realizada por meio da expressão matemática  $CV(n) = a/n^b$ , onde  $CV(n)$  é o  $CV_m$  entre as amostras de mesmo tamanho, em unidades básicas;  $a$  é o parâmetro do modelo a ser estimado;  $n$  é o tamanho de amostra em número de unidades básicas; e  $b$  é o coeficiente de regressão ou coeficiente de heterogeneidade da germinação, estimado de acordo com Smith (1938). Unidade básica equivale ao menor tamanho de amostra proposto para o experimento. Neste caso, a unidade básica será equivalente a um diásporo. No trabalho original, em que os autores calculam o tamanho ótimo de parcela experimental,  $X$  representa o tamanho da parcela experimental. No entanto, como a simbologia consagrada de amostra para população finita é  $n$ , optou-se por utilizar esta simbologia.

Para estimar os parâmetros  $a$  e  $b$  do modelo descrito acima, foi realizada a linearização do modelo por meio do logaritmo na base 10 da função  $CV(n)$ , como preconizado por Lessman e Atkins (1963). O parâmetro  $a$  foi inferido como sendo a variável independente da regressão linear dessa função logaritimizada; e o coeficiente  $b$ , como o módulo do número da variável dependente. Assim que estipulados, os parâmetros foram substituídos na expressão matemática descrita por Meier e Lessman (1971) para estimar o ponto de máxima inflexão da curva do modelo, ou seja, o tamanho ótimo de amostra.

### 2.5. Cálculo da estimativa do tamanho ótimo de amostra ( $nc$ )

O cálculo do  $nc$  foi realizado mediante a expressão matemática  $nc = \left[ \frac{a^2 b^2 (2b+1)}{b+2} \right]^{\left( \frac{1}{2b+2} \right)}$  (MEIER; LESSMAN, 1971), onde  $nc$  é o tamanho ótimo de amostra em número de unidades básicas;  $a$  é o parâmetro do modelo a ser estimado;  $b$  é o coeficiente de regressão ou coeficiente de heterogeneidade da germinação. No trabalho original, em que os autores calculam o tamanho ótimo de parcela experimental, este valor é simbolizado por  $Xc$ . No entanto, como a simbologia consagrada de amostra finita é  $n$ , optou-se por utilizar a simbologia  $nc$ .

Como o tamanho ótimo de amostra será dado em número de unidades básicas (U.B.), este tamanho também será calculado em número de diásporos, somando-se 5 ao valor original em U.B. (1 U.B. = 1 diásporo + 5). Isto foi necessário pelo excesso de *outliers* na análise do processo, quando o tamanho da amostra é inferior a cinco diásporos, o que automaticamente inviabiliza a utilização de amostras inferiores a este valor para demonstrá-lo.

## 3. RESULTADOS

Em geral, a dinâmica da água em diásporos possui comportamento específico, não se distinguindo entre lotes de uma mesma espécie com qualidades fisiológicas diferentes (Figura 1). Com exceção dos dados de sementes de feijão, há ajuste dos dados de dinâmica da água ao modelo de máxima curvatura modificado (MMCM) ( $R^2(\%)$  na Figura 2). Isto

demonstra que o MMCM mostra, de maneira elucidativa, o comportamento da variabilidade da dinâmica da água em diásporos com o incremento da amostra.

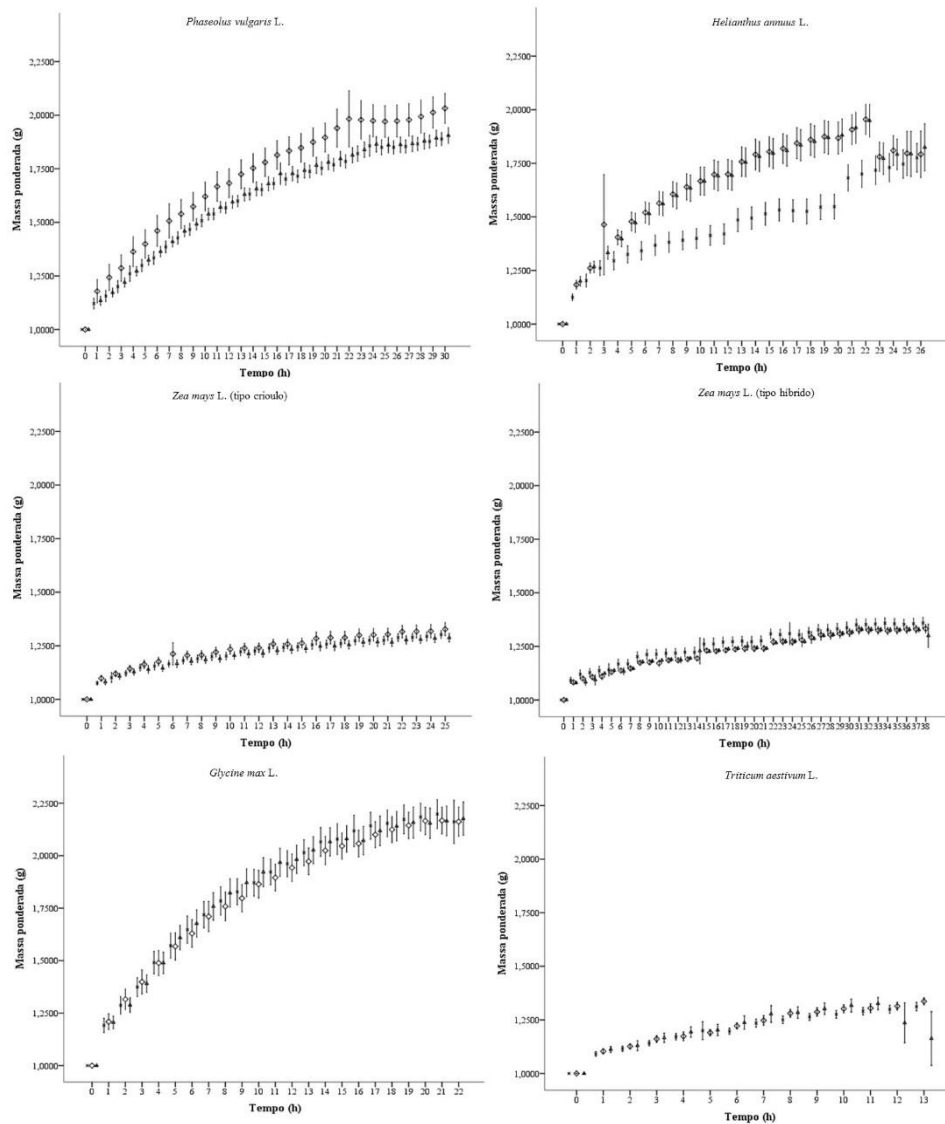


FIGURA 1: Dinâmica da água em diásporos com qualidade fisiológica distinta. 1, x: Lote de baixa qualidade fisiológica; 2,  $\diamond$ : Lote de qualidade fisiológica intermediária; 3,  $\Delta$ : Lote com alta qualidade fisiológica; Barras representam o intervalo de confiança ( $\alpha = 0,05$ ).

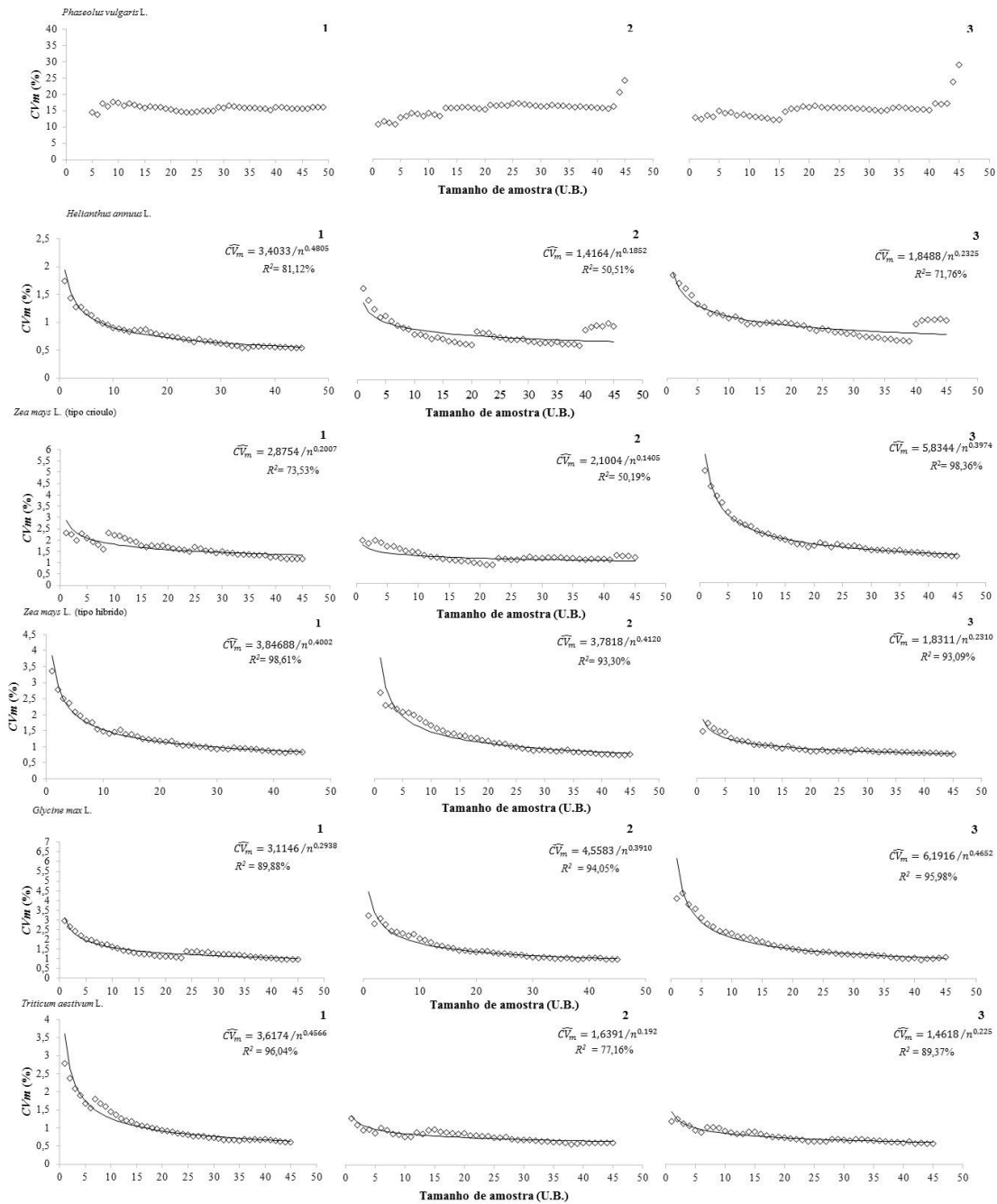


FIGURA 2: Coeficiente de variação da massa no último ponto de análise da dinâmica da água em diásporos ( $CV_m$ ), obtido por meio de diferentes tamanhos de amostra e calculado para lotes com qualidades distintas (1: Lote com baixa qualidade fisiológica; 2: Lote com qualidade fisiológica intermediária; e 3: Lote com alta qualidade fisiológica).  $R^2$ : Coeficiente de determinação.

A dinâmica da água foi reportada por três lotes de diásporos com qualidades distintas, independentemente da espécie (Tabela 2). Dentre as espécies, trigo

( $14\% \leq G \leq 100\%$ ;  $32\% \leq V \leq 100\%$ ) e girassol ( $14\% \leq G \leq 100\%$ ;  $32\% \leq V \leq 100\%$ ) destacam-se pela maior amplitude da qualidade fisiológica; enquanto feijão se destaca pela menor amplitude ( $28\% \leq G \leq 86\%$ ;  $58\% \leq V \leq 90\%$ ) (Tabela 2). Os testes preliminares, realizados para a formação dos lotes, indicaram visualmente o aumento de sementes duras de feijão com o incremento de horas de exposição à elevadas temperaturas.

TABELA 2. Germinabilidade ( $G$ ) e viabilidade ( $V$ ) da amostra de diásporos de lotes com qualidades fisiológicas distintas, utilizadas para a análise da dinâmica da água. 1: Lote com baixa qualidade fisiológica; 2: Lote com qualidade fisiológica intermediária; 3: Lote com alta qualidade.  $n = 50$  diásporos.

Espécie	Lote	$G$ (%)*	$V$ (%)*
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	1	28 c	58 c
	2	60 b	64 b
	3	86 a	90 a
<i>Helianthus annuus</i> L.	1	14 c	30 c
	2	50 b	53 b
	3	100 a	100 a
<i>Zea mays</i> L. (tipo crioulo)	1	40 c	54 c
	2	68 b	70 b
	3	100 a	100 a
<i>Zea mays</i> L. (tipo híbrido)	1	40 c	50 c
	2	70 b	82 b
	3	100 a	100 a
<i>Glycine max</i> L.	1	20 c	48 c
	2	44 b	62 b
	3	92 a	92 a
<i>Triticum aestivum</i> L.	1	14 c	32 c
	2	42 b	44 b
	3	100 a	100 a

\*: Para cada espécie, valores seguidos de mesma letra (coluna) não diferem entre si pelo teste  $t$  de Student ( $\alpha = 0,05$ ).

O número de diásporos necessário para estudar o processo de dinâmica da água é similar entre as espécies e entre lotes pertencentes a cada espécie (Tabela 3). Em geral, o



processo deve ser analisado por meio de uma amostra que contenha entre 5 e 7 diásporos. Milho tipo crioulo apresenta a maior amplitude de tamanho ótimo de amostra ( $nc$ ) (5,27 cariopses  $\leq nc \leq$  6,65 cariopses) e milho tipo híbrido a menor (5,42 cariopses  $\leq nc \leq$  6,24 cariopses). Em termos absolutos, soja é a espécie que exige o maior  $nc$  para analisar o processo de dinâmica da água (6,89 sementes), enquanto girassol é a que exige o menor (5,27 cipselas). Estes números são ratificados pela análise da variabilidade gerada pelo tamanho ótimo de amostra (Tabela 3) e por tamanhos de amostra ( $n$ ) de 5, 10, 20, 25 ou 50 diásporos (Tabela 4). Nota-se que, de fato, a redução da variabilidade a partir do tamanho ótimo de amostra, independente da qualidade do lote analisado, é mínima (Tabelas 3 e 4).

O coeficiente de regressão (coeficiente de heterogeneidade da germinação), próximo a zero para a maioria dos lotes analisados, mostra que a dinâmica da água entre os diásporos de cada espécie ocorre similarmente (Figura 2). Por outro lado, ao analisar a variabilidade, observa-se similaridade entre os lotes de cada espécie e variável entre as espécies, ratificando que o processo provavelmente é uma característica genética. Isto é reforçado quando se observa o comportamento da dinâmica da água entre cariopses de milho do tipo híbrido e crioulo (Tabelas 3 e 4). Em geral, o coeficiente de variação observado para estes dois tipos de milho, independente da qualidade do lote e da variedade, é análogo (Tabela 4).

A amplitude de variabilidade da dinâmica da água em diásporos é de 1,4164 a 15,89% (vide modelo expresso na Figura 2). A maior variabilidade do processo é expressa por sementes de feijão; enquanto a menor por cipselas de girassol (Figura 2). Neste aspecto, o feijão, com amplitude variando entre 10,68 e 15,89%, se mostra um *outlier* em relação às demais espécies estudadas, com variação entre 1,4164 e 6,1916% (vide modelo expresso na Figura 2).

TABELA 3. Coeficiente de variação do tamanho ótimo de amostra para a dinâmica da água em diásporos ( $CVmn_c$ ), coeficiente de heterogeneidade ou de germinação ( $b$ ) e tamanho ótimo de amostra ( $nc$ ) em número de unidades básicas (U.B.) e de diásporos de lotes com qualidades distintas (1: Lote com baixa qualidade fisiológica; 2: Lote com qualidade fisiológica intermediária; 3: Lote com alta qualidade fisiológica). 1 U.B. = 1 diásporo + 5.

Espécie	Lote	$CVmn_c$ (%)	$b$	$Nc$	
				U.B.	Número de diásporos
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	1		0,0036		
	2		0,1289		
	3		0,077		
<i>Helianthus annuus</i> L.	1	3,01	0,4805	1,29	6,29
	2	1,81	0,1852	0,27	5,27
	3	2,26	0,2325	0,42	5,42
<i>Zea mays</i> L. (tipo crioulo)	1	3,27	0,2007	0,52	5,52
	2	2,52	0,1405	0,27	5,27
	3	4,79	0,3974	1,65	6,65
<i>Zea mays</i> L. (tipo híbrido)	1	3,54	0,4002	1,23	6,23
	2	3,46	0,412	1,24	6,24
	3	2,24	0,231	0,42	5,42
<i>Glycine max</i> L.	1	3,31	0,2938	0,81	5,81
	2	4,04	0,391	1,36	6,36
	3	4,60	0,4652	1,89	6,89
<i>Triticum aestivum</i> L.	1	3,21	0,4566	1,30	6,30
	2	2,05	0,192	0,31	5,31
	3	1,86	0,225	0,34	5,34

TABELA 4. Coeficiente de variação da massa no último tempo de análise da dinâmica da água em diásporos (*CVm*), calculado para lotes com qualidades distintas, obtido por meio de tamanhos de amostra (*n*), convencionalmente utilizados para mensurar o processo. 1: Lote com baixa qualidade fisiológica; 2: Lote com qualidade fisiológica intermediária; e, 3: Lote com alta qualidade fisiológica.

Espécie	Lote	<i>CVm</i> (%)					
		<i>N</i>					
		5	10	15	20	25	50
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	1	15,80	15,76	15,72	15,71	15,67	15,80
	2	9,95	9,10	8,33	8,09	7,40	9,95
	3	9,44	8,94	8,48	8,34	7,90	9,44
<i>Helianthus annuus</i> L.	1	1,57	0,52	0,81	0,72	0,52	1,57
	2	1,05	0,69	0,81	0,78	0,69	1,05
	3	1,27	0,74	0,92	0,87	0,74	1,27
<i>Zea mays</i> L. (tipo crioulo)	1	2,08	1,81	1,58	1,51	1,31	2,08
	2	1,68	1,52	1,38	1,34	1,21	1,68
	3	3,08	2,34	1,77	1,62	1,23	3,08
<i>Zea mays</i> L. (tipo híbrido)	1	2,02	1,53	1,16	1,06	0,80	2,02
	2	1,95	1,46	1,10	1,00	0,75	1,95
	3	1,26	1,08	0,92	0,87	0,74	1,26
<i>Glycine max</i> L.	1	1,94	1,58	1,29	1,21	0,99	1,94
	2	2,43	1,85	1,41	1,29	0,99	2,43
	3	2,93	2,12	1,54	1,39	1,00	2,93
<i>Triticum aestivum</i> L.	1	1,73	1,26	0,92	0,83	0,61	1,73
	2	1,20	1,05	0,92	0,88	0,77	1,20
	3	1,02	0,87	0,74	0,71	0,61	1,02

#### 4. DISCUSSÃO

O tamanho ótimo de amostra para a análise do processo da dinâmica da água é de 7 diásporos, independente da espécie. Este processo é frequentemente abordado como marcador cronológico para trabalhos que contemplam aspectos moleculares (bioquímica, genética, proteômica, dentre outras) e agrônômicos (*priming* em sementes), bem como marcador fisiológico para trabalhos que estudam dormência e outros aspectos da germinação *stricto sensu* (BLACKLOW, 1972; EGGLEY; PAUL JR., 1981; BRADFORD, 1990; ZHOU et al., 1999; HESCHEL et al., 2008; PATANÈ et al., 2009; IGLESIAS-FERNÁNDEZ et al., 2011; KAMKAR et al., 2012; QUEIROZ et al., 2012; WINDAUER et al., 2012; PEREIRA et al., 2014). Ademais, recentemente a dinâmica da água em diásporos tem desempenhado papel crucial em modelos que estudam condições de estresse em campo, com a função de predizer o estande de cultivo (BRADFORD, 1990; FINCH-SAVAGE et al., 2007; WINDAUER et al., 2012). Contudo, há grande amplitude entre os tamanhos de amostras adotados para demonstrar o processo (vide SHULL, 1913; WOODSTOCK; GRABE, 1967; BANSAL et al., 1980; HERNANDÉZ; ORIOLI, 1985; WIERZBICKA; OBIDZIŃSKA, 1998; FINCH-SAVA et al., 2005; PAIVA et al., 2006; HESCHEL et al., 2008; PRESTON et al., 2009; LEI, 2010; PATANÈ et al., 2009; MATARUGA et al., 2010; WANG et al., 2012; WINDAUER et al., 2012). Sabe-se que tamanhos de amostras distintos, utilizados para analisar uma mesma característica, podem gerar incoerência entre os resultados, o que dificulta comparações (STORCK et al., 2010; STORCK, 2011). No caso da dinâmica da água em diásporos, isto pode inviabilizar a produção das curvas que demonstram o processo e torná-lo um marcador ineficaz, o que poderia, em efeito cascata, desarticular trabalhos mais elaborados, como aqueles com foco molecular.

O presente trabalho indica que não há distinções específicas do tamanho ótimo de amostra e que pequenas amostras, i.e., sete diásporos, são capazes de gerar resultados estatisticamente confiáveis para demonstrar a dinâmica da água em diásporos. É importante ressaltar que o tamanho ótimo de amostra mensura o esforço amostral. Na verdade, esta deveria ser a primeira etapa de qualquer trabalho e algumas áreas atentam para isto como a ecologia, certamente por envolver atividades extenuantes em campo heterogêneo como é o caso do estudo da vegetação nativa, muito diferente dos campos agrônômicos de produção agrícola (STORCK et al., 2010; STORCK, 2011; SANTANA

et al., 2012; PEREIRA; SANTANA, 2013; RIBEIRO-OLIVEIRA et al., 2013; RIBEIRO-OLIVEIRA; RANAL, 2014). Em adição, por se tratar de amostras muito pequenas, o uso do *bootstrap* (EFRON, 1979) faz-se necessário. Esta técnica, baseada na re-amostragem sucessiva com reposição a partir da amostra original (EFRON, 1979), é uma forma eficiente de assegurar que os modelos analíticos são confiáveis e irão produzir resultados precisos (EFRON, 1979; IBM, 2014). O *bootstrap* facilmente estima a distribuição normal de um estimador, reduz o impacto de *outliers* e anomalias, além de gerar estimativas do erro padrão e intervalos de confiança de parâmetros populacionais (IBM, 2014). Por este motivo, recomenda-se o uso do *bootstrap* sobre os dados originais de dinâmica da água em diásporos.

A dinâmica da água em diásporos é notoriamente regida, sobretudo, pelo contrabalancear entre o potencial hídrico e o potencial osmótico, tanto dos diásporos quanto do substrato onde estejam (BEWLEY; BLACK, 1994; BEWLEY, 1997; BEWLEY et al., 2013). A regulação destes potenciais, por sua vez, em muito está associada com a viabilidade do embrião e de todos os tecidos que o circundam (BEWLEY; BLACK, 1994; BEWLEY, 1997; BEWLEY et al., 2013). De maneira prática, quanto menos viáveis estiverem os tecidos do diásporo, maior a deterioração das membranas e, conseqüentemente, menor a qualidade fisiológica e a capacidade de regular a entrada e saída de água e outros solutos do interior das células (POWEL et al., 1984). Além disto, concebeu-se que esse processo contempla três fases, sendo a primeira (Fase I ou embebição) uma etapa física, e as demais (Fases II e III) físico-químicas (BEWLEY; BLACK, 1985; BEWLEY; BLACK, 1994; BEWLEY, 1997; NONOGAKI et al., 2010; WEITBRECHT et al., 2011 RAJJOU et al., 2012; BEWLEY et al., 2013). Assim, era esperado que a qualidade fisiológica dos diásporos apresentasse importante papel neste processo de dinâmica, sobretudo a partir da Fase II (BEWLEY; BLACK, 1985; BEWLEY; BLACK, 1994; MARCOS FILHO, 2005). Contudo, o presente trabalho demonstrou que a dinâmica da água em diásporos não é afetada pela qualidade fisiológica do lote.

A dinâmica da água em diásporos é um processo muito estável e com forte característica da espécie. Isto é comprovado pelo baixo coeficiente de heterogeneidade da germinação (*b*), independente da qualidade fisiológica do lote, de todas as espécies e ratificado pela conformação da curva e variabilidade (entre cariopses e entre amostras com tamanhos distintos), conforme foi observado em milho do tipo crioulo e híbrido. O

coeficiente de heterogeneidade da germinação é um coeficiente de regressão que originalmente foi denominado de índice de heterogeneidade do solo e varia entre 0 e 1 (SMITH, 1938; SWALLOW; WEHNER, 1986; ZANG et al. 1994), onde valores mais próximos de zero mostram germinação altamente similar. Na literatura, é comum encontrar a dinâmica da água como sendo um processo varietal (MARCOS FILHO, 2005). Os resultados aqui reportados, demonstrados por meio da análise de cariopses de milho do tipo crioulo e híbrido, mostram que existem peculiaridades varietais, mas há maior peso da espécie.

O Modelo de Máxima Curvatura Modificada (MMCM) se mostrou confiável para prever a variabilidade da dinâmica da água em diásporos com o incremento da amostra. Este modelo também foi utilizado para trabalhos com diásporos de espécies florestais, mas mensurando a variabilidade da germinabilidade (RIBEIRO-OLIVEIRA, 2011). O princípio do método é a análise da redução da variabilidade por meio da observação da variância ou do coeficiente de variação entre amostras com tamanho crescente em número de unidades básicas (SMITH, 1938; LESSMAN; ATKINS, 1963; MEIER; LESSMAN, 1971). Contudo, a eficácia do modelo está associada com o preceito tradicional de que com o incremento da amostra há redução da variabilidade e, conseqüentemente, da variância e/ou coeficiente de variação (COCHRAN 1977; THOMPSON 1987; WONG; WU 2002). Assim, quando a variabilidade entre os diferentes tamanhos de amostra e/ou entre indivíduos de uma mesmo tamanho de amostra, mensurados por  $b$ , é nula ou quase nula, não há ajuste ao modelo. Isto foi o que aconteceu com a dinâmica da água em sementes de feijão.

As sementes de feijão, independente da qualidade do lote, foram as que apresentaram menor variabilidade entre si e entre diferentes tamanhos de amostra (vide  $b$ ). Isto provavelmente está associado à grande eficácia do hilo como válvula higroscópica (SOUZA; MARCOS FILHO, 2001). Embora o tegumento das sementes desta leguminosa seja extremamente fino, muito da entrada da água em sementes de feijão é governada pelo hilo (SOUZA; MARCOS FILHO, 2001; KIKUCHI et al. 2006). É interessante ressaltar que o lote de pior qualidade desta espécie, que apresentou a menor variabilidade entre sementes e entre tamanhos de amostra distintos, resultou da exposição contínua destas, ainda secas, à elevada temperatura. As sementes deste lote foram utilizadas para a elaboração do lote de qualidade intermediária, o qual demonstrou a maior variabilidade entre sementes e entre tamanhos de amostras distintos. Neste aspecto, sabe-se que

sementes de leguminosas cuja planta-mãe foi exposta a elevadas temperaturas na ocasião da sua formação e desenvolvimento, apresentam tegumentos mais espessos e, por isto, com maior dureza tegumentar (SOUZA; MARCOS FILHO, 2001). Contudo, é muito restrita a literatura que menciona as alterações morfofisiológicas de sementes de leguminosas submetidas a elevadas temperaturas (acima de 60 °C) após a dispersão. O fato da exposição em alta temperatura por períodos prolongados terem aumentado o número de sementes duras, possibilita inferir que, além da eficácia do hilo como válvula higroscópica, outra possível causa para a não adequabilidade das sementes de feijão ao modelo pode ser uma indução de dormência secundária por meio de elevadas temperaturas.

Ainda em se tratando das sementes de feijão, algo interessante de ser ressaltado foram os elevados coeficientes de variação (vide  $CV_m$  individuais para cada tamanho de amostra). Mesmo nos lotes que aparentemente não apresentavam problemas quaisquer para a dinâmica da água, a variabilidade foi muito superior à das demais espécies. O binômio morfo-anatomia e composição de reserva podem explicar o motivo da grande variabilidade das sementes de feijão em relação às demais espécies. Apenas feijão e soja, que também apresentou coeficiente de variação superior ao das demais espécies, possuíam sementes; ao passo que as demais apresentavam unidades de dispersão do tipo cariopse e cipsela (MARZINEK et al., 2008; BRASIL, 2009). Pensando que a embebição é um processo que leva à hidratação das partes mais externas para a mais internas do diásporo (vide capítulo I), provavelmente as estruturas que envolvem os tegumentos verdadeiros das unidades de dispersão servem como homogeneizadores da entrada da água. Em adição, o feijão é uma espécie cujas sementes são aleuro-amiláceas, com predominância amilácea; enquanto a soja é aleuro-oleaginosa, com predominância proteica; o girassol, oleaginosa; e as demais estudadas são amiláceas (BEWLEY; BLACK, 1994; MARCOS FILHO, 2005; CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Neste aspecto, sabe-se que as proteínas são as moléculas que têm mais afinidade por água, seguidas do amido e do lipídio, respectivamente (BUCKERIDGE et al., 2004). Assim, mesmo que a soja seja dispersa por sementes ao invés de diásporos, seu ritmo de absorção e habilidade de retenção de água são teoricamente superiores aos das sementes de feijão. Isto explica porque, mesmo que as duas espécies sejam pertencentes à família Fabaceae e mesmo que apresentem morfo-anatomia similar, apresentem a dinâmica da água diferenciada.

## 5. CONCLUSÕES

O Modelo de Máxima Curvatura Modificada (MMCM) é um método adequado para mensurar a variabilidade da dinâmica da água em diásporos da maioria das espécies e, conseqüentemente, obter o tamanho ótimo de amostra para a análise deste processo. O tamanho ótimo de amostra para analisar a dinâmica da água é de 7 diásporos, independente da espécie.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARADO, V.; BRADFORD, K.J. A hydrothermal time model explains the cardinal temperatures for seed germination. **Plant, Cell & Environment**, London, v.25, p.1061–1069, 2002.

BANSAL, R. P. et al. Differential specificity in water inhibition of Indian arid zone. **Biology Plantarum**, Praha, v. 22, n. 2, p. 327–331, 1980.

BÁNYAI, J. BARABÁS, J. **Handbook on statistics in seed testing**. Zürich: ISTA, 2002. 84p.

BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. **Seeds, ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination**. New York:Academic Press, 1998.

BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. **Seeds, ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination**. New York: Academic Press, 2<sup>nd</sup> ed., 2014. 1600p.

BASKIN, J.M.; BASKIN, C.C. A classification system for seed dormancy. **Seed Science Research** , Cambridge, v.14, p.1–16, 2004.

BEWLEY J. D. Seed germination and dormancy. **The Plant Cell**, Rockville, v. 9, n. 7, p.1055-1066, 1997.

BEWLEY, J.D. et al. **Physiology of Development, Germination and Dormancy**. Berlim: Springer, 3rd ed., 2013. 392 p.



- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination.** Development, germination and growth. v.1, Berlim: Springer Verlag, 1978, 306p.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds:** physiology of development and germination. 2°. ed. New York: PLENUM, 1994. 445p.
- BLACKLOW, W. M. Influence of temperature on germination and elongation of the radicle and shoot of corn (*Zea mays* L.). **Crop Science**, Madison, v.12, n.5, 647-650, 1972.
- BRADFORD, K.J. A water relations analysis of seed germination rates. **Plant Physiology**, Waterbury, v.94, p. 840–849, 1990.
- BRASIL. **Regras para Análise de Sementes.** Brasília, MAPA/ACS: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2009.
- BUCKERIDGE, M.S. et al. Mobilização de reservas. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (Org.). **Germinação do básico ao aplicado.** Porto Alegre:ARTMED, p.163-185, 2004.
- CARVALHO, M. P. et al. Emergência de plântulas de *Anacardium humile* A. St.-Hil.(Anacardiaceae) avaliada por meio de amostras pequenas. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 28, n. 3, p. 627-633, 2005.
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes:** ciência, tecnologia e produção. 5°. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590p.
- COCHRAN, W.G. **Sampling techniques.** 3ª ed. New York: John Wiley & Sons, 1977.
- EFRON, B. Bootstrap method: another look at the jackknife. **Annual Statistical**, Alexandria, v.7, 1-26, 1979.
- FINCH-SAVAGE, W. E. et al. Seed dormancy release in *Arabidopsis Cvi* by dry after-ripening, low temperature, nitrate and light shows common quantitative patterns of gene expression directed by environmentally specific sensing. **The Plant Journal**, London, v. 51, n. 1, p. 60-78, 2007.
- FINCH-SAVAGE, W.E.; LEUBNER-METZGER, G. Seed dormancy and control of germination. **New Phytologist**, London, v.171, n.3, p.501-523, 2006.

- FINCH-SAVAGE, W.E. et al. Development of combined imbibition and hydrothermal threshold models to simulate maize (*Zea mays*) and chickpea (*Cicer arietinum*) seed germination in variable environments. **New Phytologist**, London, v.165, p.825–838, 2005.
- GRAHAM, J. W.; RICHARDSON, J. G. Theory and application of imbibition phenomena in recovery of oil. **Journal of Petroleum Technology**, Richardson, v. 11, n. 02, p. 65-69, 1959.
- HERNÁNDEZ, L.F; ORIOLI, G.A. Imbibition and germination rates of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds according to fruit size. **Fields Crops Research**, Amsterdam, v. 10, p. 361- 366, 1985.
- HESCHEL, M.S. et al. New roles of phytochrome during germination. **International Journal of Plant Science**, Chicago, v.169, p.531-540, 2008.
- HOLDSWORTH, M. J. et al. Post-genomics dissection of seed dormancy and germination. **Trends in plant science**, Amsterdam, v. 13, n. 1, p. 7-13, 2008.
- HOUAISS. **Dicionário da Língua Portuguesa**. Disponível em: <http://houaiss.uol.com.br/>. Acessado em 20 de dezembro de 2014.
- IBM. **IBM SPSS bootstrap**. 2014. Disponível em : <http://www-03.ibm.com/software/products/en/spss-bootstrapping>. Acessado em: 20 de dezembro de 2014.
- IGLESIAS-FERNÁNDEZ, R. et al. Three endo- $\beta$ -mannanase genes expressed in the micropylar endosperm and in the radicle influence germination of *Arabidopsis thaliana* seeds. **Planta**, Amsterdam, v.233, n.1, p. 25-36, 2011.
- KAMKAR, B. et al. Quantification of the cardinal temperatures and thermal time requirement of opium poppy (*Papaver somniferum* L.) seeds to germinate using non-linear regression models. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v.35, p.192-198, 2012.
- KIKUCHI, K. et al. Water uptake by dry beans observed by micro-magnetic resonance imaging. **Annals of Botany**, Oxyford, v. 98, p. 545-553, 2006.
- LIVINGSTON, B. E. Plant water relations. **The Quarterly Review of Biology**, [s/l], v. 2, n. 4, p. 494-515, 1927.

- MARZINEK, J. et al. Cypselas or achene? Refining terminology by considering anatomical and historical factors. **Brazilian Journal of Botany**, São Paulo, v.31, n.3, p.549-553, 2008.
- MEIER, V.D.; LESSMAN, K.J. Estimation of optimum field plot shape and size for testing yield in *Crambe abyssinica* Hochst. **Crop Science**, Madison, v. 11, p.648-650, 1971.
- NONOGAKI, H. et al. Germination-still a mystery. **Plant Science**, Amsterdam, v. 179, p.574-581, 2010.
- OROZCO-SEGOVIA, A. et al. Seed anatomy and water uptake in relation to seed dormancy in *Opuntia tomentosa* (Cactaceae, Opuntioideae). **Annals of botany**, Oxford, v. 99, n. 4, p. 581-592, 2007.
- OXFORD DICTIONARY. **Free online dictionary of British English and American English from Oxford**. Disponível em: <http://www.oxforddictionaries.com/>. Acessado em 20 de dezembro de 2014.
- PAIVA, E.A.S. et al. Imbibition of *Swietenia macrophylla* (Meliaceae) seeds: the role of stomata. **Annals of Botany**, Oxford, v. 98, n.1, p.213-217, 2006.
- PAULA, A.S. et al. Breaking physical dormancy of *Cassia leptophylla* and *Senna macranthera* (Fabaceae: Caesalpinioideae) seeds: water absorption and alternating temperatures. **Seed Science Research**, Cambridge, v. 22, p. 1-9, 2012.
- PEREIRA, V. J. ; SANTANA, D. G. Coefficient of variation of normal seedlings obtained from the validation of methods for the seed germination testing of 20 species belonging to the family Fabaceae. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 35, p. 161-170, 2013.
- PEREIRA, W.V.S. et al. Loss of desiccation tolerance in *Copaifera langsdorffii* Desf. seeds during germination. **Brazilian Journal of Biology**, São Paulo, v. 74, p. 501-508, 2014.
- PRESTON, J. et al. Temporal expression patterns of hormone metabolism genes during imbibition of *Arabidopsis thaliana* seeds: a comparative study on dormant and non-dormant accessions. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v.50, p.1786-1800, 2009.
- QUEIROZ, S. E. E. et al. Mechanism and control of *Genipa americana* seed germination. **Physiologia plantarum**, København, v. 144, p. 263-276, 2012.

- RAJJOU, L. et al. Seed germination and vigor. **Annual Review of Plant Biology**, Riverside, v. 63, p. 507–533, 2012.
- RANAL, M.A. et al. Calculating germination measurements and organizing spreadsheets. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.32, n.4, pp. 849-855, 2009.
- RANAL, M.A.; SANTANA, D.G. How and why to measure the germination process? **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.29, p. 1-11, 2006.
- RIBEIRO-OLIVEIRA, J. P.; RANAL, M. A. Sementes florestais brasileiras: início precário, presente inebriante e o futuro, promissor? **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 24, p. 771-784, 2014.
- RIBEIRO-OLIVEIRA, J. P. et al. A amplitude amostral interfere nas medidas de germinação de *Bowdichia virgilioides* Kunth? **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 23, p. 623-634, 2013.
- SANTANA, D.G. et al. Validation of quality tests for forest seed species. **Seed Science Research**, Cambridge, v.22, p.74-79, 2012.
- SHULL, C. A. Semipermeability of seed coats. **Botanical Gazette**, Chicago, v.56, p.169-199, 1913.
- SMITH, H.F. An empirical law describing heterogeneity in the yields of agricultural crops. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 28, 1–23, 1938.
- SOUZA, F. H.; MARCOS-FILHO, J. The seed coat as a modulator of seed-environment relationships in Fabaceae. **Brazilian Journal of Botany**, São Paulo, v. 24, n. 4, p. 365-375, 2001.
- STORCK, L. Partial collection of data on potato field for experimental planning. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 121, 286-290, 2011.
- STORCK, L. et al. Experimental plan for single, double and triple hybrid corn. **Maydica**, Bergamo, v.55, 27-32, 2010.
- SVEJDA, F.J. Water uptake of rose achenes. **Canadian Journal of Plant Science**, Toronto, v.52, p.1043–1047, 1972.
- SWALLOW, W.H.; WEHNER, T.C. Optimum plot size determination and its application to cucumber yield trials. **Euphytica**, Dordrecht, v.35, 421-432, 1986.

- WANG, H. L. et al. Germination dimorphism in *Suaeda acuminata*: a new combination of dormancy types for heteromorphic seeds. **South African Journal of Botany**, Pietermaritzburg, v.78, p.270-275, 2012.
- WEITBRECHT, K. et al. First off the mark: early seed germination. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 62, p. 3289–3309, 2011.
- WIERZBICKA, M.; OBIDZIŃSKA, J. The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species. **Plant Science**, Amsterdam, v.137, n.2, p.155-171, 1998.
- WINDAUER, L. B. et al. Germination responses to temperature and water potential in *Jatropha curcas* seeds: a hydrotime model explains the difference between dormancy expression and dormancy induction at different incubation temperatures. **Annals of Botany**, Oxford, v.109, p.265-273, 2012.
- WONG, A.C.M.; WU, J. Small sample asymptotic inference for the coefficient of variation: normal and nonnormal models. **Journal of Statistical Planning and Inference**, Amsterdam, v.104, 73–82, 2002.
- ZHANG, R. et al. Heterogeneity, plot shape effect and optimum plot size. **Geoderma**, New York, v.62, 183-197, 1994.
- ZHOU, P. J. et al. Determination of the thermogenesis curves and studies of the thermodynamics and thermokinetics of seed germination. **Journal of biochemical and biophysical methods**, Amsterdam, v. 38, n. 3, p. 171-180, 1999.

## CAPÍTULO III

### MENSURANDO A DINÂMICA DA ÁGUA EM DIÁSPOROS: UM CAMINHO PARA CONTEMPLAR A GERMINAÇÃO *STRICTO SENSU*

#### RESUMO

Praticamente não se mensura a dinâmica da água em diásporos, mas se este processo demonstra a germinação de um diásporo, não seria interessante mensurá-lo? Este capítulo disponibiliza medidas de dinâmica capazes de quantificar o processo de maneira acurada e, por meio da taxa (velocidade), propõe uma releitura das fases de germinação. Para tanto, utilizou-se diásporos pertencentes a três lotes com qualidades distintas, de cinco espécies com grande relevância agrícola. Estes diásporos ( $n = 50$ ) foram colocados em contato com a água e analisados, a cada hora, até que houvesse ao menos uma protrusão de embrião por amostra de cada lote. Os dados de massa coletados foram utilizados para calcular as diversas medidas do processo (coeficiente de difusão inicial, entropia, uniformidade, velocidade e aceleração da absorção de água por diásporos). As curvas de incremento de massa ponderada demonstraram que a germinação ocorre de maneira similar, independente da qualidade fisiológica do lote ou da espécie em estudo. As medidas de dinâmica da água em diásporos são viáveis para inferências da germinação *stricto sensu*. Dentre as medidas, a taxa da dinâmica da água (velocidade) demonstra diversas fases metabólicas da germinação. Por fim, o processo germinativo não é trifásico, mas polifásico e, uma peculiaridade específica, com traços varietais.

**Palavras-chave:** Embebição; unidades de dispersão, medidas de dinâmica da água; germinação *stricto sensu*

#### ABSTRACT

If water dynamics demonstrates the germination of a diaspore, wouldn't it be interesting to measure it? This chapter provides dynamic measures capable of accurately quantifying the process through rate (speed), and proposes a rereading of the phases of germination. To this end, diaspores belonging to three lots with distinct qualities, of five species with great agricultural significance were used. These diaspores ( $n = 50$ ) were placed in contact with water and weighed, every hour, until, at least, one embryo protrusion occurred in each sample of each lot. Mass data collected were used to calculate the various measures of the process (initial diffusion coefficient, entropy, uniformity, speed and acceleration of water absorption for diaspores). The weighted mass increment curves showed that germination occurs in a similar manner, independent of the physiological quality of the lot or of the species under study. Measures of water dynamics on diaspores are viable for inferences of germination *stricto sensu*. Among the measures, the rate of water dynamics (speed) demonstrates various metabolic phases of germination. Finally, the germinal process is not triphase, but polyphase and, in a specific point, with varietal traits.

**Keywords:** Imbibition; dispersing units, measures of water dynamics; germination *stricto sensu*.

## 1. INTRODUÇÃO

A dinâmica da água em diásporos demonstra o caminhar da germinação (BEWLEY; BLACK, 1978; BEWLEY; BLACK, 1994; BEWLEY, 1997; NONOGAKI et al., 2010; RAJJOU et al., 2012; BEWLEY et al., 2013). Entretanto, é pouco explorada e, muitas vezes, negligenciada, muito pela falta de ferramentas que permitem quantificá-la. Assim, ferramentas que contextualizam o estudo detalhado da dinâmica da água em diásporos são de grande valia e podem contribuir de maneira ampla para esclarecimentos quanto às questões germinativas ainda não respondidas.

Há muito a germinação é quantificada a partir da protrusão do embrião através dos tegumentos e outras estruturas de revestimento de um diásporo (LABOURIAU, 1983; BEWLEY, BLACK, 1994; BEWLEY, 1997; NONOGAKI et al., 2010; RAJJOU et al., 2012; BEWLEY et al., 2013). Este fundamento básico permitiu que diversos critérios práticos de avaliação da germinação fossem elaborados, destacando-se o botânico (protrusão do embrião) e o agrônômico (formação de uma plântula com estruturas ditas essenciais para manutenção no campo) (BRASIL, 2009; BEWLEY, 1997; NONOGAKI et al., 2010; BEWLEY et al., 2013). Entretanto, a germinação é um complexo processo, iniciado com a absorção de água pelos tecidos do diásporo, que desencadeia várias mudanças físicas e metabólicas, e encerrado com a protrusão do embrião. A este percurso é dado o nome de germinação *stricto sensu* e às etapas subsequentes o nome de pós-germinação (*sensu* BEWLEY, 1997; NONOGAKI et al., 2010). Para se mensurar a germinação propriamente dita, é necessário acompanhar a dinâmica da água em diásporos. Por isto, vários trabalhos utilizam este processo de dinâmica como marcador cronológico e/ou fisiológico para se estudar questões germinativas (BLACKLOW, 1972; EGLEY; PAUL JR., 1981; BRADFORD, 1990; ZHOU et al., 1999; HOLDSWORTH et al., 2008; HESCHEL et al., 2008; PATANÈ et al., 2009; IGLESIAS-FERNÁNDEZ et al., 2011; KAMKAR et al., 2012; PAULA et al., 2012; QUEIROZ et al., 2012; WINDAUER et al., 2012; PEREIRA et al., 2014). Como pode ser observado, a germinação e a dinâmica da água em diásporos são eventos distintos, mas concomitantes e que se influenciam. Como consequência, ao se mensurar um; mensurar-se-á o outro.

Os primórdios do estudo da germinação se deram com a construção de gráficos acumulativos, chamados de curva acumulativa de germinação (RANAL; SANTANA, 2006; McNAIR et al., 2012), que permitiam, de forma pouca acurada e indireta, avaliar

a velocidade e o tempo de germinação, além da própria germinabilidade. Por isto, vários pesquisadores lançaram mão de medidas que contemplam a uniformidade, a sincronia e a velocidade da germinação (RANAL; SANTANA, 2006; McNAIR et al., 2012). Estas medidas foram desenvolvidas ao longo de vários anos e só recentemente atingiram sua plenitude de utilização, muito devido a revisões sobre o assunto (vide RANAL; SANTANA, 2006; RANAL et al., 2009; McNAIR et al., 2012). Paralelo a isto, a dinâmica da água em diásporos ainda é demonstrada apenas por meio de gráficos (BEWLEY; BLACK, 1978; BEWLEY; BLACK, 1994; BEWLEY, 1997; NONOGAKI et al., 2010; PAULA et al., 2012; RAJJOU et al., 2012; BEWLEY et al., 2013). Contudo, um processo dinâmico e termodinâmico (LABOURIAU; PACHECO, 1976), que envolve metabolismo e catabolismo, certamente pode ser estudado por meio de medidas que contemplem entropia, velocidade e uniformidade. Partindo deste pressuposto, este capítulo propõe medidas que mensuram o processo de dinâmica da água em diásporos e que podem ser utilizadas para estudar o processo germinativo em si. O capítulo também aponta a melhor medida para mensurar a germinação, demonstra matematicamente o caráter polimodal da germinação *stricto sensu* e caracteriza, por meio das medidas propostas, a germinação de diásporos de feijão, girassol, milho tipo crioulo e híbrido, soja e trigo.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Diásporos estudados e classificação em lotes

Para estudar a dinâmica da água, fez-se uso de diásporos de espécies com grande relevância socioeconômica mundial e sem empecilhos aparentes para a germinação. Assim, foram estudadas cariopses de milho híbrido transgênico P3646H (*Zea mays* L. tipo híbrido), crioulo cultivar caiano (*Zea mays* L. tipo crioulo) e cultivar de trigo BRS 254 (*Triticum aestivum* L.); sementes da cultivar de soja transgênica NA5909RR (*Glycine max* L.), da de feijão BRS Horizonte (*Phaseolus vulgaris* L.) e cipselas do híbrido de girassol Helio 360 (*Helianthus annuus* L.).

Empresas privadas e instituições de pesquisa do ramo sementeiro cederam esses diásporos por meio de lotes comerciais sem qualquer tratamento químico. A qualidade fisiológica dos lotes, inferida pela germinabilidade, viabilidade e tempo inicial de



germinação, foi avaliada por meio de testes prévios de germinação. Estes foram conduzidos com pequenas amostras ( $n = 50$ ) de cada lote. Para tanto, semeou-se os diásporos em caixas do tipo gerbox, sobre papel mata-borrão umedecido com água destilada, o equivalente, em mL, a 2,5 vezes a massa deste. A condução foi realizada em bancada de laboratório a  $25,3 \pm 2,5$  °C e luz branca fluorescente contínua ( $11,29 \pm 6,84$   $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PAR). O critério de germinação adotado foi a protrusão do embrião.

Foram designados como lotes com baixo padrão aqueles que apresentaram germinabilidade entre 1 e 40%; de médio entre 41 e 79% e de alto entre 80 e 100% (Tabela 1). Com exceção das cariopses de trigo e das sementes de soja que possuíam diásporos com alto e baixo padrão germinativo advindos de lotes comerciais, utilizou-se o estresse térmico para a formação de lotes com baixo padrão germinativo. Este estresse foi realizado com auxílio de estufa (Nova Ética®).

A temperatura de estresse térmico para a formação do lote de baixo padrão foi encontrada nos resultados de ensaios prévios. Para isto, os diásporos dos lotes comerciais com alto padrão germinativo foram expostos às temperaturas de 70, 80, 90 e  $102 \pm 1$  °C. Nesses ensaios, avaliou-se também a intensidade do estresse em cada temperatura, expondo-se os diásporos a 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48 e 60 horas em cada temperatura. Esses testes foram realizados adotando-se a mesma rotina experimental mencionada anteriormente para os testes prévios de germinação. As temperaturas e tempos de exposição que acarretaram em maior tempo inicial de germinação e menor germinabilidade foram utilizadas como estresse térmico para a formação do lote de baixo padrão germinativo (Tabela 1).

O lote intermediário, por sua vez, originou-se da mistura entre os lotes com maior e menor padrão germinativo. Isto foi possível pela utilização da expressão matemática  $p_{L1} n_{L1} + p_{L3} n_{L3} = p_{L2} n_{L2}$ , onde  $p_{L1}$ ,  $p_{L2}$  e  $p_{L3}$ : proporção de diásporos germinados dos lotes de qualidades baixa, intermediária e alta, respectivamente; e  $n_{L1}$ ,  $n_{L2}$  e  $n_{L3}$ : tamanho da amostra dos lotes de qualidades baixa, intermediária e alta, respectivamente (SANTANA, comunicação pessoal). Esta expressão é baseada no cálculo químico de diluição de substâncias. O exemplo abaixo demonstra o uso desta expressão na formação do lote de sementes de feijão com qualidade intermediária.

O lote de baixa qualidade de feijão possuía 606 sementes para a elaboração do lote intermediário ( $n_{L1} = 606$ ), com germinabilidade de 28% ( $p_{L1} = 0,28$ ). Por outro lado,

o lote de alta qualidade, que dispunha da maior amostra de trabalho dentre os lotes, poderia fornecer a quantidade restante ( $n_{L3} = n$ ) para que a elaboração do lote de qualidade intermediária fosse viabilizada. A germinabilidade das sementes pertencentes ao lote 3 era de 100% ( $p_{L1} = 1$ ). Para que o lote apresentasse qualidade intermediária, fixou-se que a germinabilidade deveria ser de 55% ( $p_{L1} = 0,55$ ) e para que todos os testes pudessem ser realizados, era necessária uma amostra mínima de 5000 sementes ( $n_{L2}$ ). Assim, substituindo estes valores na expressão acima, observa-se que aproximadamente 2581 sementes do lote 3 deveriam ser misturadas e homogeneizadas às 606 sementes do lote 1, para que o lote 2 possuisse a amostra mínima de trabalho contendo 55% de germinabilidade. Diante disto:

$$p_{L1} n_{L1} + p_{L3} n_{L3} = p_{L2} n_{L2}$$

$$606 \cdot 0,28 + 1 \cdot n = 5000 \cdot 0,55$$

$$n = 2750 - 169,68$$

$$n \sim 2581 \text{ sementes}$$

TABELA 1. Germinabilidade (*G*) prévia dos diásporos pertencentes aos diferentes lotes das espécies analisadas e o tempo de exposição (*t*) à temperatura (*T*) utilizada para a formação do lote de menor germinabilidade. 1: Lote com baixa qualidade fisiológica; 2: Lote com qualidade fisiológica intermediária; 3: Lote com alta qualidade fisiológica. *n* = 50 diásporos.

Espécie	<i>G</i> (%)			<i>t</i> (h)	<i>T</i> (°C)
	1	2	3		
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	28	55	100	4	90
<i>Helianthus annuus</i> L.	32	55	98	24	102
<i>Zea mays</i> L. (tipo crioulo)	20	55	98	2	90
<i>Zea mays</i> L. (tipo híbrido)	34	55	100	48	90
<i>Glycine max</i> L.	22	56	98	-	-
<i>Triticum aestivum</i> L.	21	50	96	-	-

## 2.2. Avaliação da dinâmica da água em diásporos

O incremento de massa ao longo do tempo foi utilizado como base para mensurar a hidratação dos diásporos. A quantificação da massa de cada diásporo foi feita, a cada hora, com o auxílio de uma balança digital (BEL Engineering®) com precisão de 0,0001 g (BRASIL, 2009). Esta operação foi efetuada até que ao menos um diásporo de cada lote das espécies estudadas apresentasse protrusão do embrião.

Para cada lote de cada espécie, foram avaliados 50 diásporos. A semeadura foi realizada em caixas do tipo gerbox, sobre papel mata-borrão umedecido com água destilada equivalente, em mL, a seis vezes a sua massa. As caixas foram colocadas sobre bancada, sob luz branca fluorescente contínua ( $11,29 \pm 6,84 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  PAR) à  $25,3 \pm 2,5$  °C. A umidade do substrato foi mantida com a utilização de 5 mL de água destilada, aplicada em intervalos de seis horas. Para evitar super ou subestimativa dos resultados, antes de mensurar a massa, procedeu-se à retirada do excesso da água que circundava os diásporos, encostando-os rápida e suavemente em papel toalha. Para que o tempo de hidratação fosse o mesmo para todos os diásporos estudados, umedeceu-se o mata-borrão com intervalo mínimo de 15 minutos entre as amostras ( $n = 50$ ), cada qual representativa de um dos lotes. Este foi o tempo necessário para a coleta de dados de uma amostra. Dentre os 50 diásporos analisados, 10 ( $n = 10$ ) foram escolhidos aleatoriamente para representar a dinâmica da água em diásporos de cada lote (vide tamanho ótimo de amostra necessário para se estudar o processo no capítulo II). É importante ressaltar que os ensaios foram conduzidos sobre bancada, pois o curto intervalo de leitura de cada amostra representativa de cada lote, foi muito pequeno (15 minutos) e, deste modo, a abertura sucessiva da câmara de germinação geraria maior variação experimental do que a exposição sobre à bancada.

A germinabilidade ( $G$ ) e a viabilidade ( $V$ ) dos diásporos das amostras utilizadas para mensurar a dinâmica da água foram analisadas. Estas características foram estudadas 48 horas após o encerramento das análises da dinâmica do processo. A viabilidade dos diásporos, observada com o uso da solução do sal cloreto de 2,3,5 – trifenil tetrazólio – (BRASIL, 2009), foi calculada pela proporção de diásporos viáveis em relação ao total posto a germinar ( $n = 50$ ). Para facilitar a leitura, os dados gerados para esta medida foram transformados em porcentagens. Os dados de germinabilidade e viabilidade foram analisados de acordo com os procedimentos estatísticos definidos por Carvalho et al.

(2005) para o estudo de germinação ou emergência a partir de pequenas amostras. Para tanto, fez-se uso do teste t de *Student* ( $\alpha = 0,05$ ) considerando as proporções de diásporos germinados.

Os dados de massa coletados ao longo da análise da dinâmica da água foram utilizados para a construção de gráficos de incremento acumulativo de massa, ponderada pela massa inicial. Os dados brutos, sem ponderação e re-amostrados 2000 pelo método do *Bootstrap* (EFRON, 1979), também foram utilizados para o cálculo do coeficiente de difusão da fase inicial ( $D$ ). Isto se fez necessário para que a análise da dinâmica da água em diásporos fosse independente da massa inicial do diásporo. Intervalos de confiança ( $\alpha = 0,05$ ) foram calculados, para cada período de tempo, objetivando demonstrar se há, ou não, dependência da qualidade fisiológica do lote na dinâmica da água em diásporos.

### 2.3. Características da dinâmica da água em diásporos

Os dados de massa coletados ao longo da análise da dinâmica da água em diásporos, após sofrerem 2000 re-amostragens sucessivas pelo método de *bootstrap* (EFRON, 1979), foram utilizados para construir gráficos de incremento ponderado de massa, de taxa de absorção e uniformidade de absorção da água por diásporos. Além disto, estes dados foram utilizados no cálculo da entropia, uniformidade, velocidade e aceleração média da absorção da água por diásporos e o coeficiente de difusão da fase inicial da dinâmica da água.

O incremento ponderado de massa foi expresso pelo ganho de massa que os diásporos obtiveram durante as análises, ponderado pela massa inicial destes. A taxa de absorção foi calculada por meio da expressão matemática:

$$Taxa_{H_2O} = \frac{(m_{i+1} - m_i)}{\sum_{i=1}^k (m_{i+1} - m_i)}$$

Onde:

$Taxa_{H_2O}$ : velocidade de absorção de água por diásporos;  $m_{i+1}$ : massa do(s) diásporo(s) no intervalo  $i$  e  $k$  de exposição à água;  $m_i$ : massa do(s) diásporo(s) no intervalo anterior ao  $i+1$  intervalo de exposição à água;  $k$ : último intervalo de exposição dos diásporos à água. A aceleração de absorção foi obtida por meio da derivada desta

expressão ( $a_{H_2O} = \partial Taxa_{H_2O}$ ). A entropia da dinâmica da água em diásporos foi estimada pela expressão:

$$E_{H_2O} = (m_{i+1} - m_i)/(m_i - m_0)$$

Onde:

$E_{H_2O}$ : entropia da dinâmica da água em diásporos ao absorver água;  $m_{i+1}$ : massa do(s) diásporo(s) no intervalo  $i$  de exposição dos diásporos à água;  $m_i$ : massa do(s) diásporo(s) no intervalo anterior ao  $i+1$  intervalo de exposição dos diásporos à água;  $m_0$ : massa inicial dos diásporos, antes da exposição à água. A Uniformidade da absorção da água por diásporos ( $U_{H_2O}$ ) foi obtida por meio da derivada desta expressão ( $U_{H_2O} = \partial E_{H_2O}$ ).

O coeficiente de difusão da fase inicial da dinâmica da água ( $D$ ) foi calculado de acordo com Crank (1975), por meio da equação da segunda Lei de Fick. Para tanto, fez-se uso da expressão:

$$M_t/M_\infty = 1 - 6/\pi^2 \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp(-Dn^2\pi^2t/a^2)$$

Onde:

$M_t$ : massa total de diásporos no tempo  $t$ ;  $M_\infty$ : massa total de diásporos no tempo infinito;  $n$ : número de mols da água;  $D$ : coeficiente de difusão;  $t$ : tempo de análise  $t$ ;  $a$ : raio, imaginário, ou não, dos diásporos.

A entropia ( $\overline{E_{H_2O}}$ ), a uniformidade ( $\overline{U_{H_2O}}$ ), a velocidade ( $\overline{v_{H_2O}}$ ) e aceleração média ( $\overline{a_{H_2O}}$ ) da absorção da água por diásporos foram obtidas por meio das expressões:

$$\overline{E_{H_2O}} = \frac{1}{tf} \int_0^{tf} (dE) \partial t$$

$$\overline{U_{H_2O}} = \frac{1}{tf} \int_0^{tf} (dU) \partial t$$

$$\overline{v_{H_2O}} = \frac{1}{tf} \int_0^{tf} \left( \frac{dM}{dt} \right) \partial t$$

$$\overline{a_{H_2O}} = \frac{1}{tf} \int_0^{tf} \left( \frac{dTaxa}{dt} \right) \partial t$$

Onde:

$\overline{E_{H_2O}}$ : entropia média da dinâmica da água em diásporos em absorver água;  $\overline{v_{H_2O}}$ : velocidade média da absorção de água por diásporos;  $\overline{a_{H_2O}}$ : aceleração média da absorção de água por diásporos;  $E_{H_2O}$ : entropia da dinâmica da água em diásporos em absorver água;  $Taxa$ : taxa instantânea da absorção de água por diásporos;  $Taxa = \frac{dM}{dt}$ ;  $tf$ : último tempo de análise da dinâmica da água em diásporos;  $\partial t$ : variação do tempo da dinâmica da água em diásporos;  $M$ : massa dos diásporos no tempo  $t$ .

O incremento de massa ponderada, a entropia ( $E_{H_2O}$ ), a uniformidade ( $U$ ), entropia média ( $\overline{E_{H_2O}}$ ) e uniformidade média ( $\overline{U_{H_2O}}$ ) são medidas adimensionais. O coeficiente de difusão ( $D$ ) da fase inicial da dinâmica é dado por meio de horas<sup>-1</sup> ( $h^{-1}$ ). A taxa ( $Taxa_{H_2O}$ ) e a velocidade média ( $\overline{v_{H_2O}}$ ) são dadas em gramas de água por hora ( $g_{H_2O} h^{-1}$ ). A aceleração ( $a_{H_2O}$ ) e a aceleração média ( $\overline{a_{H_2O}}$ ) são dadas em gramas de água pelo quadrado da hora ( $g_{H_2O} h^{-2}$ ).

Partindo do pressuposto de que a velocidade é uma grandeza estreitamente relacionada ao metabolismo, utilizou-se a  $Taxa_{H_2O}$  para estabelecer etapas (fases) da germinação *stricto sensu* de diásporos. A mudança brusca na inflexão da  $Taxa_{H_2O}$  (derivada segunda igual a zero) foi considerada o limiar dessas etapas.

Todos os cálculos e rotinas de elaboração de gráficos foram realizados por meio do código de programação Fortran 90 (código derivada – 34.f 90), que se encontram anexados (Anexo 1). A rotina seguiu três etapas básicas, sendo a primeira de ajuste de uma curva por “*splines* cúbicos”; a segunda, partindo deste ajuste, sendo a derivação de taxa para a obtenção da aceleração e da entropia para obtenção da uniformidade de absorção de água por diásporos; e a última etapa, sendo a integração das curvas para a obtenção dos valores de entropia média, uniformidade média, aceleração média e velocidade média.

### 3. RESULTADOS

A dinâmica da água foi caracterizada por três lotes de diásporos com qualidades distintas, independentemente da espécie (Tabela 2). Dentre as espécies, trigo ( $14\% \leq G \leq 100\%$ ;  $32\% \leq V \leq 100\%$ ) e girassol ( $14\% \leq G \leq 100\%$ ;  $32\% \leq V \leq 100\%$ )

destacaram-se pela maior amplitude da qualidade fisiológica; enquanto feijão se destacou pela menor amplitude ( $28\% \leq G \leq 86\%$ ;  $58\% \leq V \leq 90\%$ ) (Tabela 2).

TABELA 2. Germinabilidade (*G*) e viabilidade (*V*) da amostra de diásporos de lotes com qualidades fisiológicas distintas, utilizadas para a análise da dinâmica da água. 1: Lote com baixa qualidade fisiológica; 2: Lote com qualidade fisiológica intermediária; 3: Lote com alta qualidade. *n* = 50 diásporos.

Espécie	Lote	<i>G</i> (%)*	<i>V</i> (%)*
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	1	28 c	58 c
	2	60 b	64 b
	3	86 a	90 a
<i>Helianthus annuus</i> L.	1	14 c	30 c
	2	50 b	53 b
	3	100 a	100 a
<i>Zea mays</i> L. (tipo crioulo)	1	40 c	54 c
	2	68 b	70 b
	3	100 a	100 a
<i>Zea mays</i> L. (tipo híbrido)	1	40 c	50 c
	2	70 b	82 b
	3	100 a	100 a
<i>Glycine max</i> L.	1	20 c	48 c
	2	44 b	62 b
	3	92 a	92 a
<i>Triticum aestivum</i> L.	1	14 c	32 c
	2	42 b	44 b
	3	100 a	100 a

\*: Para cada espécie, valores seguidos de mesma letra (coluna) não diferem entre si pelo teste t de Student ( $\alpha = 0,05$ ).

As medidas utilizadas para quantificar a dinâmica da água não foram capazes de detectar as qualidades fisiológicas distintas dos lotes, independente da espécie (Tabela 3). Contudo, o coeficiente de difusão inicial demonstra melhor o peso da qualidade fisiológica na reidratação dos tecidos dos diásporos, embora não haja padrão entre as espécies e, nem mesmo, entre variedades de uma espécie (Tabela 3). Os maiores coeficientes de difusão foram obtidos para cariopses de milho tipo híbrido, o que mostra



que estas unidades de dispersão são as que possuem a difusão inicial mais facilitada ( $2,61 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1} \leq D \leq 8,86 \cdot 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ ); enquanto sementes de soja são as que possuem a maior resistência para a difusão inicial da água em seus tecidos ( $1,38 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1} \leq D \leq 1,83 \cdot 10^{-3} \text{ h}^{-1}$ ). O tipo de material de reserva não é o fator mais preponderante para a determinação deste coeficiente (vide  $D$  do milho tipo crioulo e híbrido, Tabela 3). Assim, o coeficiente de difusão é um bom mensurador físico do metabolismo inicial do processo de germinação.

Cariopses de milho, seja do tipo crioulo ou híbrido, são as mais uniformes quanto à absorção de água, i.e., possuem a menor entropia média e a maior uniformidade média da dinâmica da água em diásporos; ao passo que sementes de soja e cariopses de trigo são as mais desuniformes (Tabela 3). Ao analisar o milho tipo crioulo e híbrido, nota-se que a velocidade média de absorção de água por diásporo é a medida que melhor reflete aspectos genéticos específicos, isto porque os valores são similares, independente do grau de melhoramento (Tabela 3). As sementes de soja são as que apresentam a maior velocidade média de absorção da água; enquanto as cariopses de milho, seja tipo crioulo ou híbrido, são as que apresentam a menor (Tabela 3). Cipselas de girassol e cariopses de trigo possuem comportamento de absorção de água desacelerado (vide  $\overline{a_{H_2O}}$  negativa, Tabela 3). As sementes de feijão são as que possuem a maior aceleração média da absorção de água e as cipselas de girassol a menor (Tabela 3).

TABELA 3. Coeficiente de difusão ( $D$ ), entropia média ( $\overline{E_{H_2O}}$ ), uniformidade média ( $\overline{U_{H_2O}}$ ), velocidade média ( $\overline{v_{H_2O}}$ ) e aceleração média ( $\overline{a_{H_2O}}$ ) da absorção de água por diásporos de espécies agrícolas com diferentes qualidades fisiológicas. 1: Lote com baixa qualidade fisiológica; 2: Lote com qualidade fisiológica intermediária; 3: Lote com alta qualidade fisiológica.  $n = 10$  diásporos.

<b>Espécie</b>	<b>Lote</b>	$D$ ( $h^{-1}$ )	$\overline{E_{H_2O}}$	$\overline{U_{H_2O}}$	$\overline{v_{H_2O}}$ ( $g_{H_2O} h^{-1}$ )	$\overline{a_{H_2O}}$ ( $g_{H_2O} h^{-2}$ )
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	1	$1,94 \cdot 10^{-3}$	0,0806	-0,015	0,0218	0,0028
	2	$2,27 \cdot 10^{-3}$	0,0879	-0,001	0,0266	0,0081
	3	$2,45 \cdot 10^{-3}$	0,0904	0,003	0,0286	-0,0002
<i>Helianthus annuus</i> L.	1	$1,95 \cdot 10^{-3}$	0,1006	-0,035	0,0216	-0,0251
	2	$4,11 \cdot 10^{-2}$	0,0416	-0,042	0,0278	-0,0113
	3	$1,44 \cdot 10^{-2}$	0,0741	-0,030	0,1009	-0,0420
<i>Zea mays</i> L. (tipo crioulo)	1	$2,93 \cdot 10^{-3}$	0,0741	-0,059	0,0087	0,0052
	2	$1,91 \cdot 10^{-2}$	0,0846	-0,033	0,0096	-0,0061
	3	$2,21 \cdot 10^{-2}$	0,0776	-0,039	0,0079	0,0001
<i>Zea mays</i> L. (tipo híbrido)	1	$5,84 \cdot 10^{-2}$	0,0571	0,012	0,0091	-0,0081
	2	$8,86 \cdot 10^{-2}$	0,0847	0,088	0,0073	-0,0060
	3	$2,61 \cdot 10^{-2}$	0,0729	0,049	0,0034	0,0013
<i>Glycine max</i> L.	1	$1,38 \cdot 10^{-3}$	0,1354	-0,001	0,0718	-0,0184
	2	$1,83 \cdot 10^{-3}$	0,1248	-0,012	0,0553	-0,0076
	3	$1,57 \cdot 10^{-3}$	0,1109	-0,007	0,0450	0,0354
<i>Triticum aestivum</i> L.	1	$3,73 \cdot 10^{-3}$	0,1814	-0,010	0,0205	-0,0116
	2	$1,77 \cdot 10^{-2}$	0,1588	-0,007	0,0312	-0,0078
	3	$8,48 \cdot 10^{-3}$	0,2321	0,042	0,0126	-0,0362

O padrão da curva de incremento da massa ponderada foi similar entre as espécies e entre os lotes de cada espécie (Figuras 1 - 6). A derivada da curva de incremento da massa ( $d(\text{massa ponderada})/dt$ ) também pode expressar a taxa de absorção de água por diásporos (Figura 1 – 6). As curvas de entropia da dinâmica da água, de uniformidade, de taxa e de aceleração da absorção da água por diásporos são peculiaridades da espécie, com comportamentos similares entre os lotes (Figuras 1 – 6). A análise visual dos gráficos pertencentes a cariopses de milho do tipo crioulo e híbrido demonstram que, embora existam peculiaridades varietais, o maior peso do processo é, de fato, da espécie (Figuras 3 e 4).

Como era esperado, a entropia da dinâmica da água e a uniformidade de absorção da água no tempo, bem como a taxa (velocidade) e a aceleração de absorção da água por diásporos são medidas que se complementam para o estudo da dinâmica da água (Figuras 1-6). Em geral, paradoxalmente, o incremento da velocidade está associado à redução da aceleração de absorção (Figuras 1-6). Do mesmo modo, quanto maior a entropia gerada pela entrada de água, menor será a uniformidade da absorção de água por diásporos no tempo (Figuras 1-6).

Em termos práticos, independente da espécie e do lote, a entrada inicial de água nos diásporos acarreta a maior entropia, gerando a maior desuniformidade no tempo da absorção de água, que tende a ser estabilizada com o evoluir do processo (Figuras 1-6). De modo similar, em geral, a maior rapidez (velocidade) de absorção se dá quando há o contato do diásporo com a água. Este momento é marcado pela maior desaceleração da absorção de água por diásporos (Figuras 1-6). Contudo, ao contrário da entropia e da uniformidade, a velocidade e a aceleração da absorção de água por diásporos se mostram mais flutuantes ao longo do processo (Figura 1-6), demonstrando que estas medidas são mais representativas da dinâmica da água em diásporos e, conseqüentemente, da germinação *stricto sensu*. Neste sentido, é nítido que as cipselas de girassol, as sementes de soja e as cariopses de trigo são as que apresentam maior flutuação da taxa e da aceleração ao longo da dinâmica da água em diásporos; ao passo que sementes de feijão e cariopses de milho tipo crioulo e tipo híbrido a menor (Figuras 1-6). Assim, cipselas de girassol, sementes de soja e cariopses de trigo possuem maior dinamismo da água e, conseqüentemente, metabolismo germinativo mais dinâmico.

A taxa de absorção de água permite visualizar várias etapas no processo de germinação (Figuras 7-12), que independem da espécie ou variedade (vide milho tipo crioulo e tipo híbrido Figuras 9 e 10), mas é notório que este número não é função da qualidade fisiológica do lote (Figuras 7-12). Com exceção de cariopses de milho tipo híbrido, com cinco fases, e de trigo, com três fases, a germinação dos diásporos apresenta quatro fases diferenciadas (Figuras 7-12), que certamente estão associadas com fases metabólicas da germinação. Isto é ratificado pelo fato do comprimento das fases ser um atributo da qualidade fisiológica do lote (Figuras 7-12). A taxa permite caracterizar a fase de embebição como sendo a primeira (Fase I) e a mais rápida etapa da germinação, independente da espécie e da qualidade fisiológica dos diásporos pertencentes aos diferentes lotes (Figuras 7-12). Em geral, o fim desta fase é marcado pelo decréscimo acentuado da velocidade de absorção de água, o que se dá geralmente entre uma e duas horas após o contato do diásporo com a água (Figuras 7-12). Na maioria das espécies, a última fase é marcada por um pico espúrio advindo da protrusão do embrião (Figuras 7-12), caracterizado por um processo metabólico completamente diferente, peculiar do início de outro ciclo da vida de uma planta.

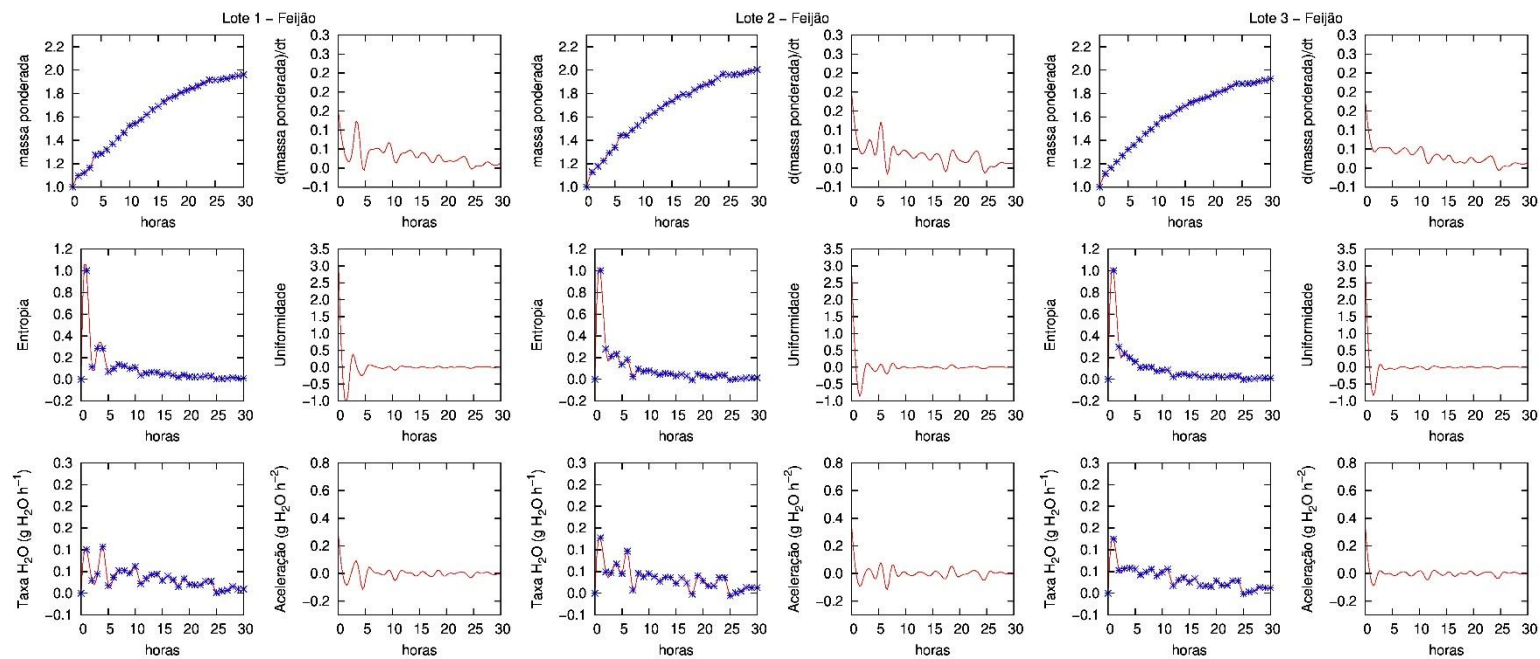


FIGURA 1: Medidas da dinâmica da água em sementes de *Phaseolus Vulgaris* L. com qualidades fisiológicas distintas. 1: Lote com baixa qualidade fisiológica; 2: Lote com qualidade fisiológica intermediária; 3: Lote com alta qualidade fisiológica.  $n = 10$  diásporos.

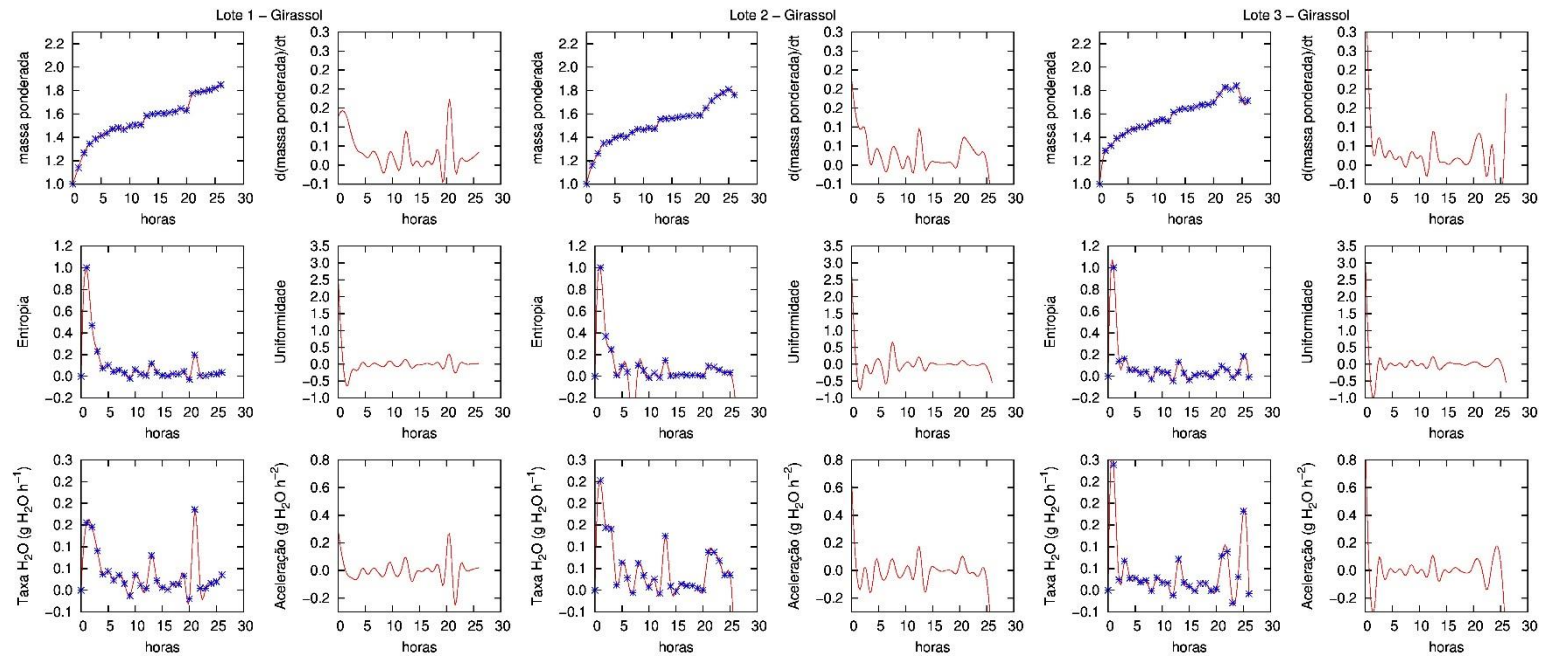


FIGURA 2: Medidas da dinâmica da água em cipselas de *Helianthus annuus* L. com qualidades fisiológicas distintas. 1: Lote com baixa qualidade fisiológica; 2: Lote com qualidade fisiológica intermediária; 3: Lote com alta qualidade fisiológica.  $n = 10$  diásporos.

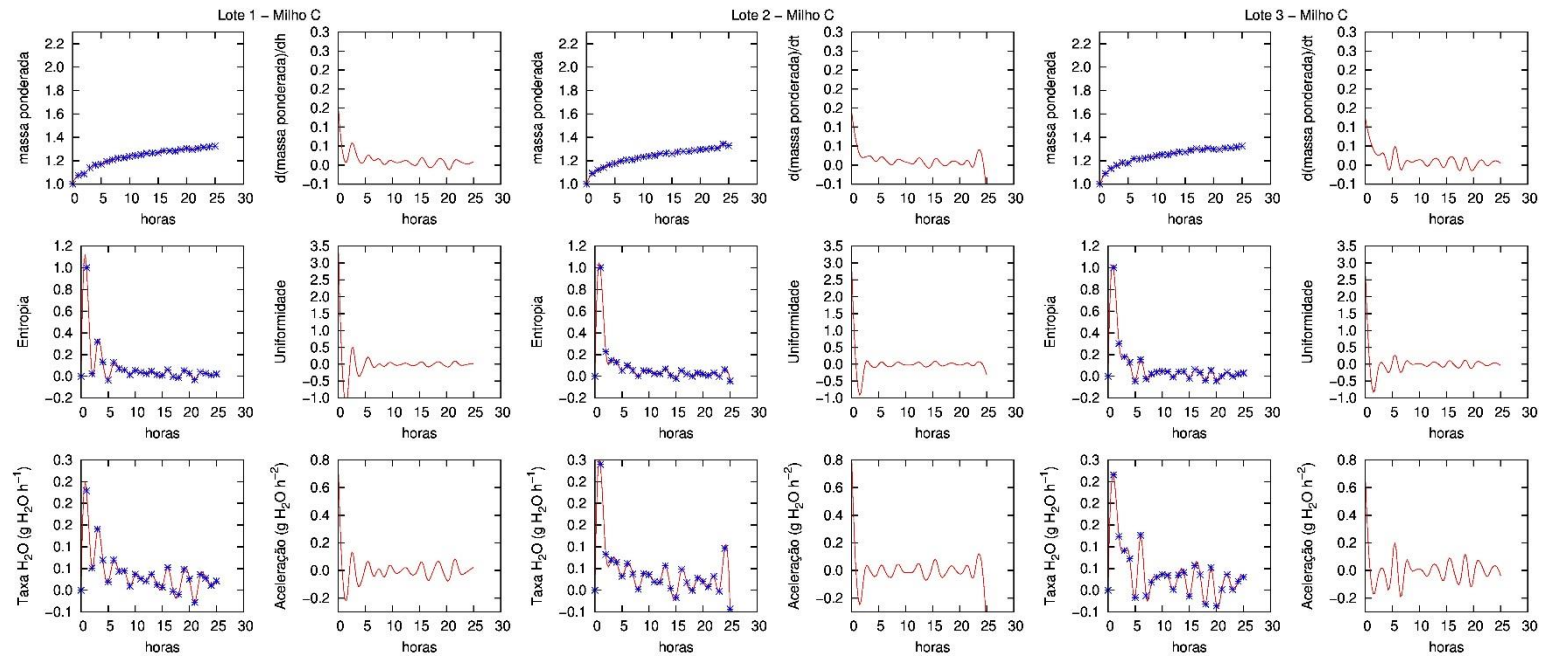


FIGURA 3: Medidas da dinâmica da água em cariopses de *Zea mays* L. (tipo crioulo) com qualidades fisiológicas distintas. 1: Lote com baixa qualidade fisiológica; 2: Lote com qualidade fisiológica intermediária; 3: Lote com alta qualidade fisiológica.  $n = 10$  diásporos.

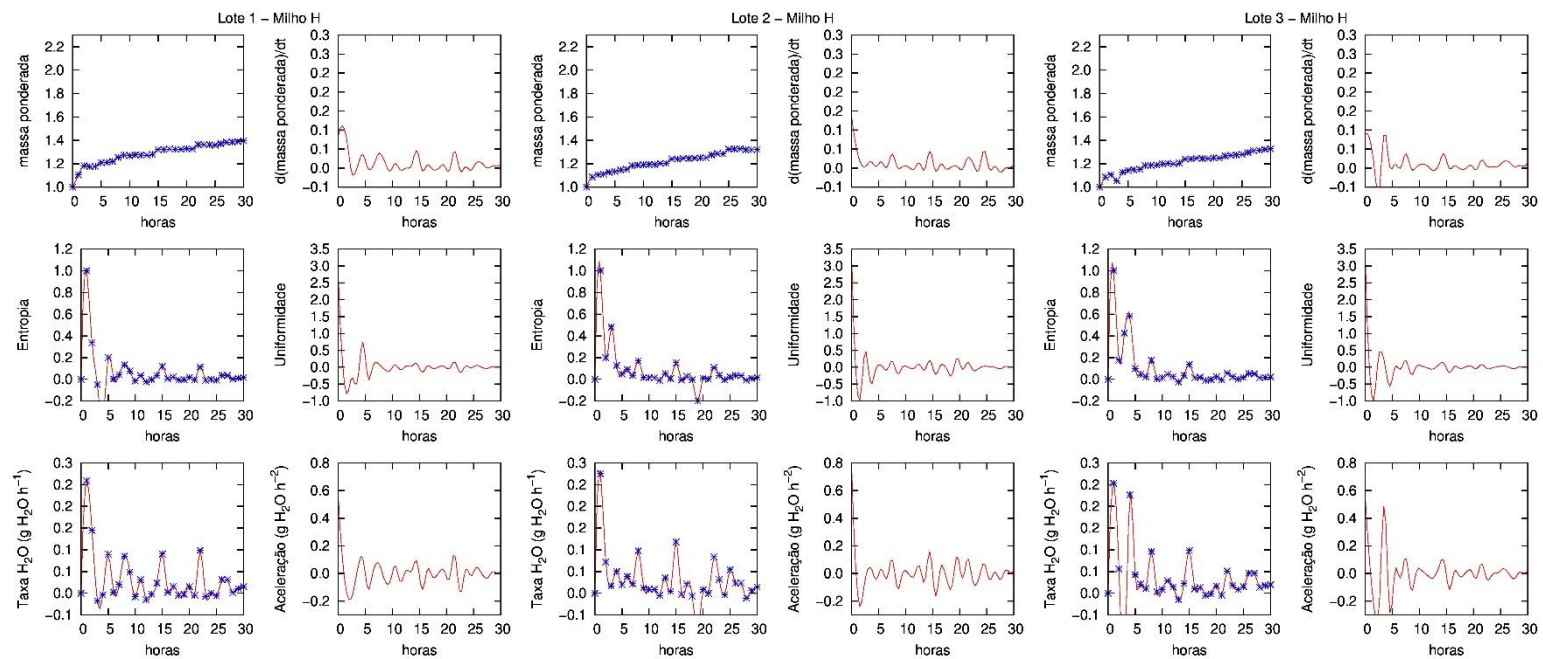


FIGURA 4: Medidas da dinâmica da água em cariosopes de *Zea mays* L. (tipo híbrido) com qualidades fisiológicas distintas. 1: Lote com baixa qualidade fisiológica; 2: Lote com qualidade fisiológica intermediária; 3: Lote com alta qualidade fisiológica.  $n = 10$  diásporos.



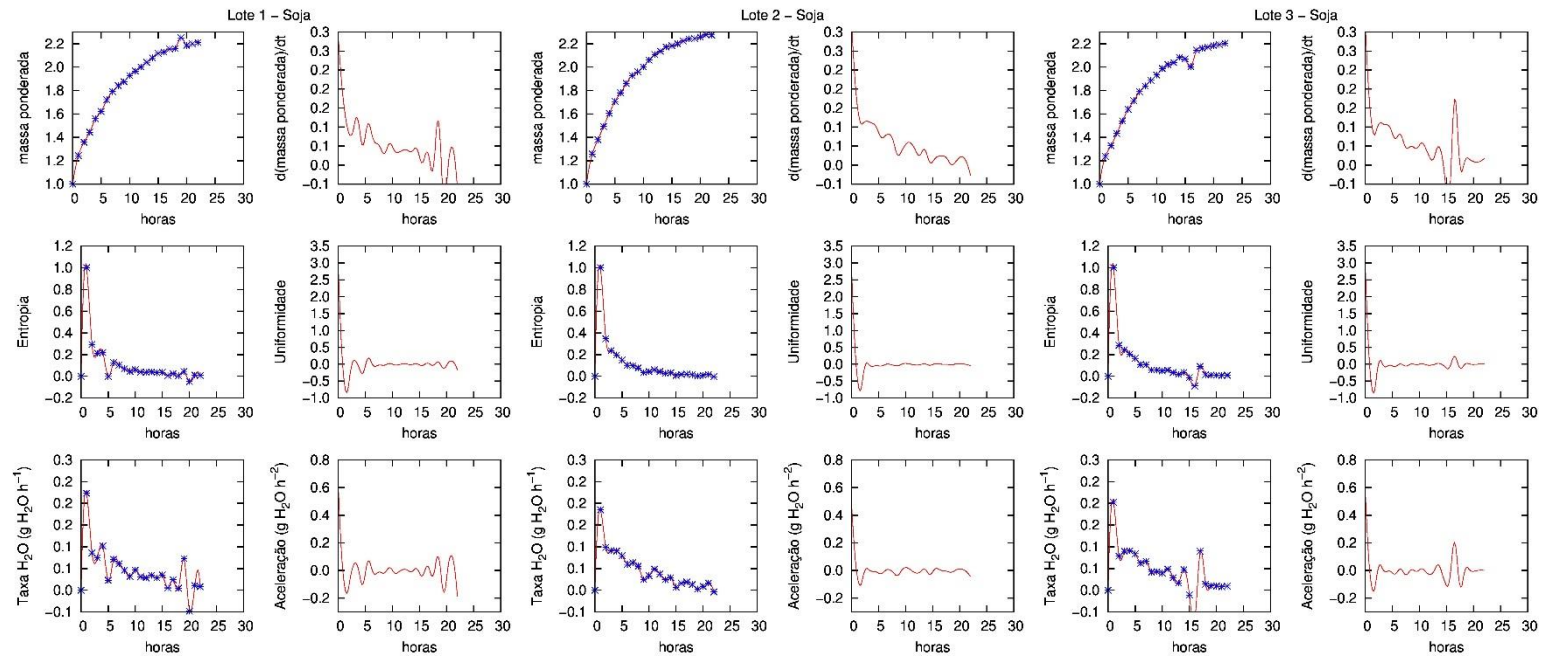


FIGURA 5: Medidas da dinâmica da água em sementes de *Glycine max* L. com qualidades fisiológicas distintas. 1: Lote com baixa qualidade fisiológica; 2: Lote com qualidade fisiológica intermediária; 3: Lote com alta qualidade fisiológica.  $n = 10$  diásporos.

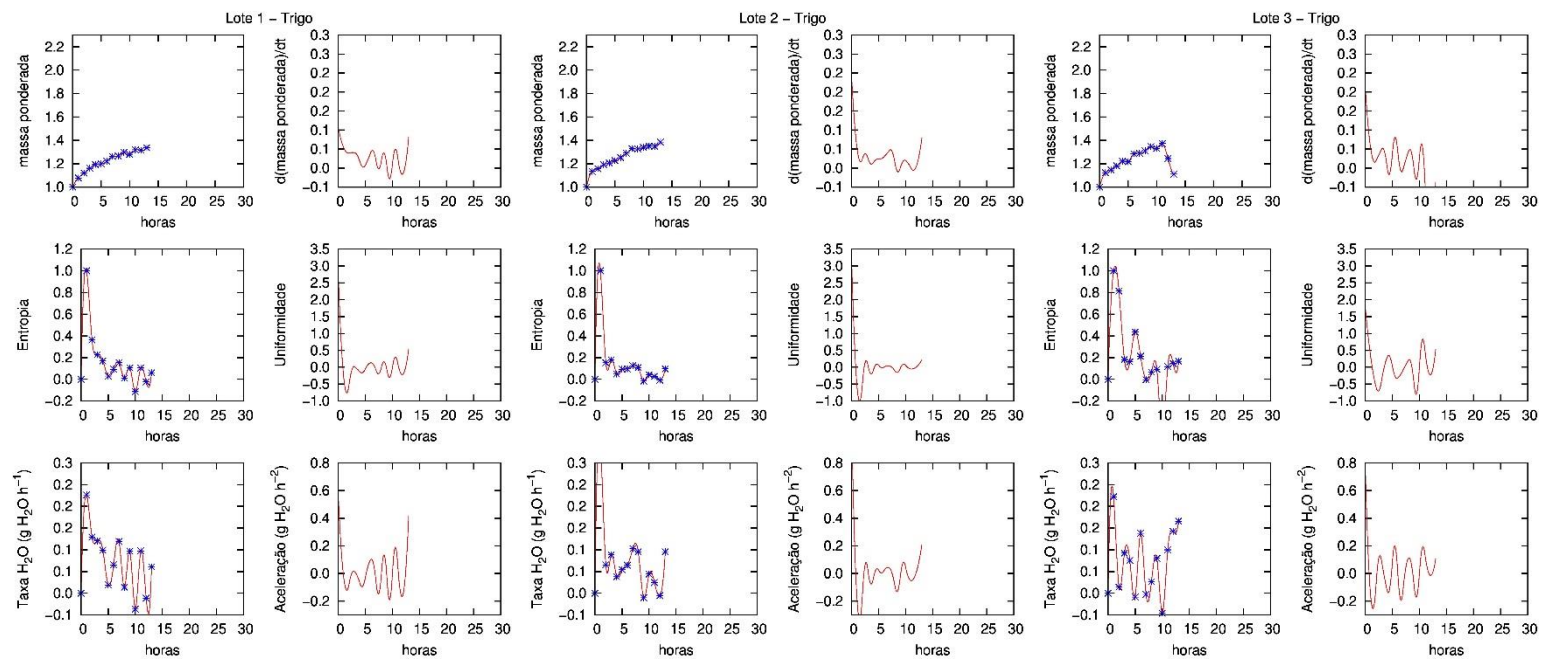


FIGURA 6: Medidas da dinâmica da água em cariopses de *Triticum aestivum* L. com qualidades fisiológicas distintas. 1: Lote com baixa qualidade fisiológica; 2: Lote com qualidade fisiológica intermediária; 3: Lote com alta qualidade fisiológica.  $n = 10$  diásporos.

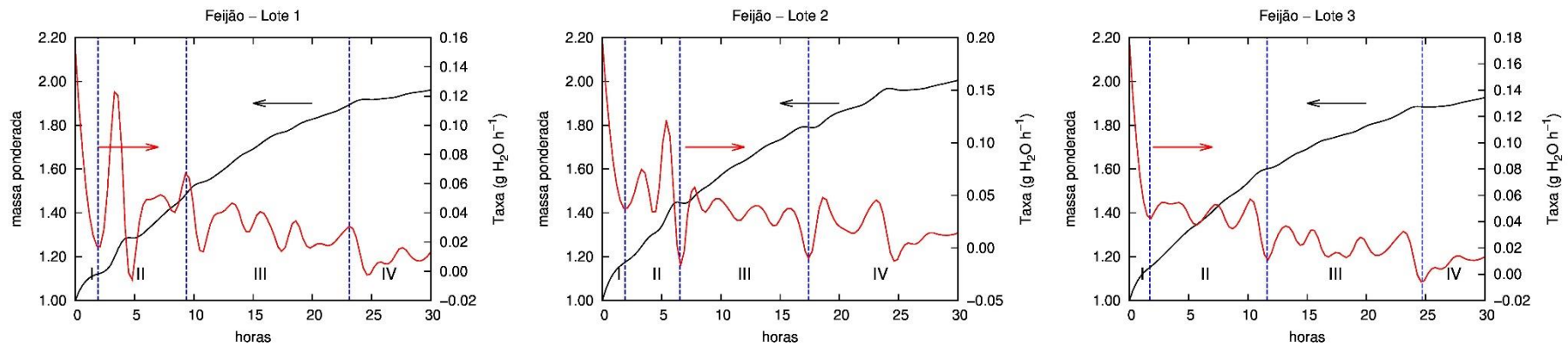


FIGURA 7: Etapas, definidas por meio da taxa de absorção da água, da germinação *stricto sensu* de sementes de *Phaseolus Vulgaris* L. com qualidades fisiológicas distintas. 1: Lote com baixa qualidade fisiológica; 2: Lote com qualidade fisiológica intermediária; 3: Lote com alta qualidade fisiológica.  $n = 10$  diásporos.

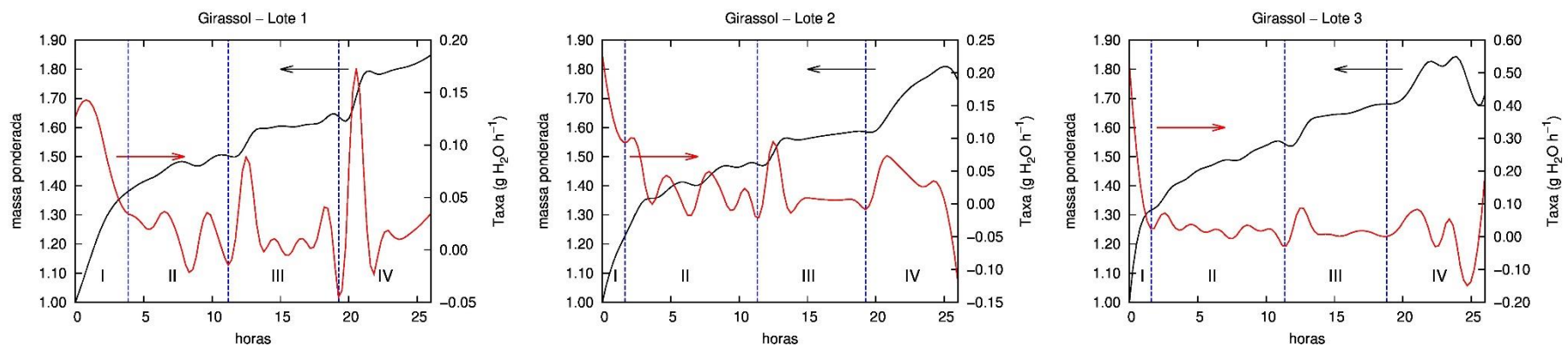


FIGURA 8: Etapas, definidas por meio da taxa de absorção da água, da germinação *stricto sensu* de cipselas de *Helianthus annuus* L. com qualidades fisiológicas distintas. 1: Lote com baixa qualidade fisiológica; 2: Lote com qualidade fisiológica intermediária; 3: Lote com alta qualidade fisiológica.  $n = 10$  diásporos.

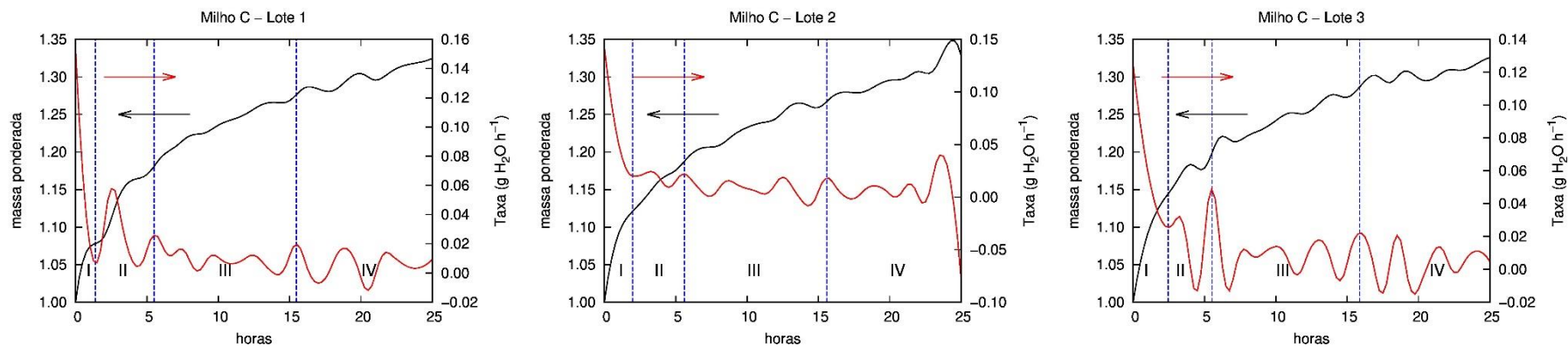


FIGURA 9: Etapas, definidas por meio da taxa de absorção da água, da germinação *stricto sensu* de cariopses de *Zea mays* L. (tipo crioulo) com qualidades fisiológicas distintas. 1: Lote com baixa qualidade fisiológica; 2: Lote com qualidade fisiológica intermediária; 3: Lote com alta qualidade fisiológica.  $n = 10$  diásporos.

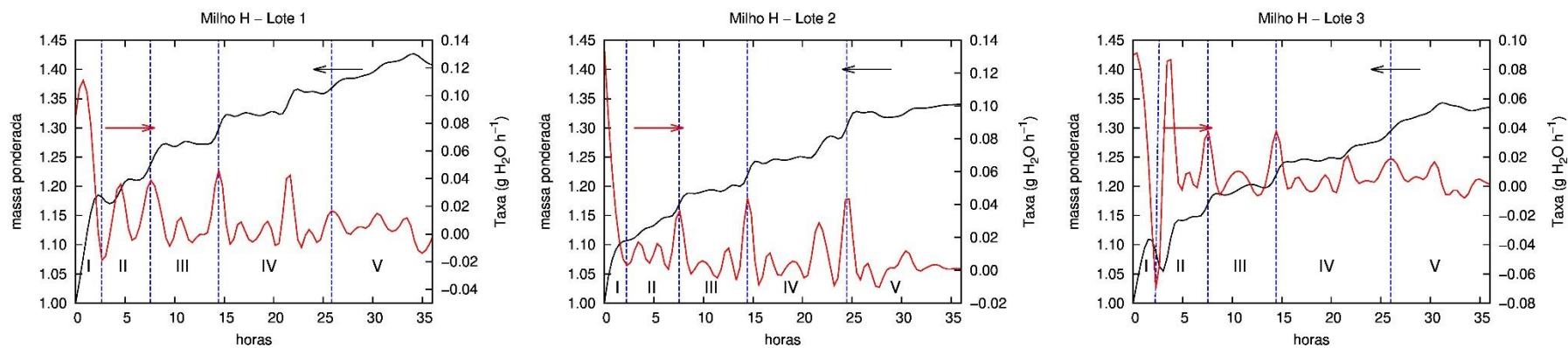


FIGURA 10: Etapas, definidas por meio da taxa de absorção da água, da germinação *stricto sensu* de cariopses de *Zea mays* L. (tipo híbrido) com qualidades fisiológicas distintas. 1: Lote com baixa qualidade fisiológica; 2: Lote com qualidade fisiológica intermediária; 3: Lote com alta qualidade fisiológica.  $n = 10$  diásporos.

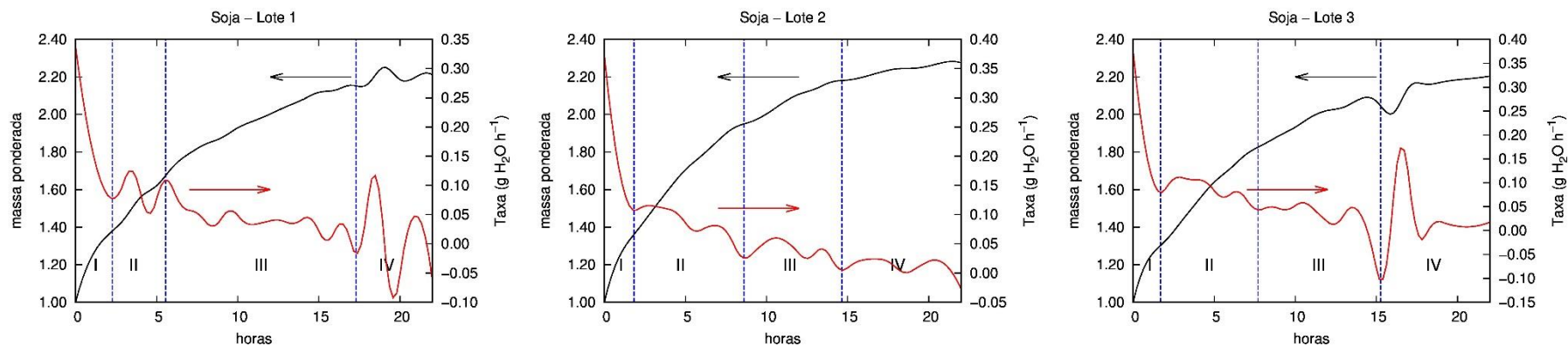


FIGURA 11: Etapas, definidas por meio da taxa de absorção da água, da germinação *stricto sensu* de sementes de *Glycine max* L. com qualidades fisiológicas distintas. 1: Lote com baixa qualidade fisiológica; 2: Lote com qualidade fisiológica intermediária; 3: Lote com alta qualidade fisiológica.  $n = 10$  diásporos.

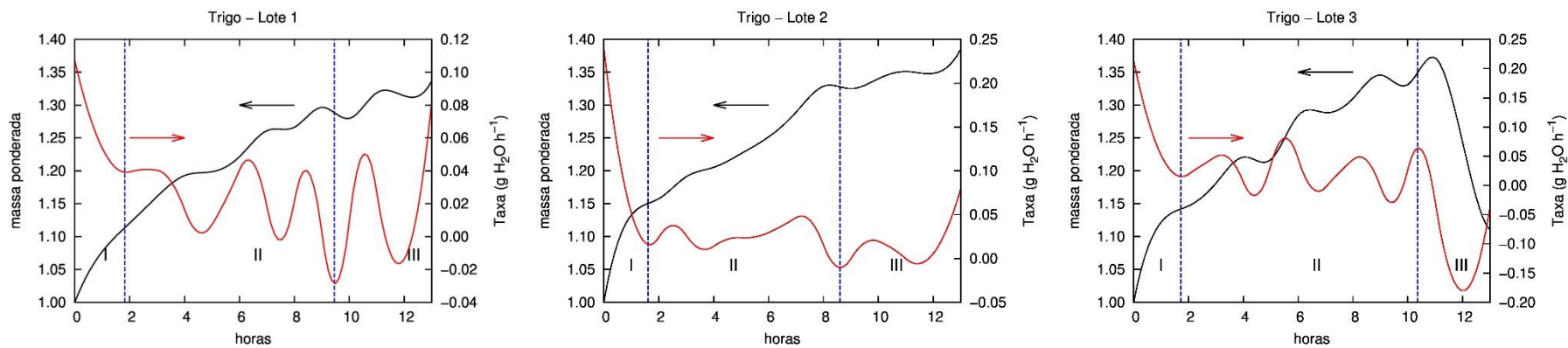


FIGURA 12: Etapas, definidas por meio da taxa de absorção da água, da germinação *stricto sensu* de em cariopses de *Triticum aestivum* L. com qualidades fisiológicas distintas. 1: Lote com baixa qualidade fisiológica; 2: Lote com qualidade fisiológica intermediária; 3: Lote com alta qualidade fisiológica.  $n = 10$  diásporos.

#### 4. DISCUSSÃO

Um dos maiores diferenciais deste capítulo é mensurar, de fato, a germinação *stricto sensu* de diásporos. A germinação, em si, é um processo que se inicia com a embebição dos diásporos, quando estes são colocados em contato com a água, e encerra-se com a protrusão do embrião (LABOURIAU, 1983; BEWLEY; BLACK, 1978; BEWLEY; BLACK, 1994; BEWLEY, 1997; NONOGAKI et al., 2010; RAJJOU et al., 2012; BEWLEY et al., 2013). Contudo, convencionalmente, utiliza-se o encerramento germinativo, ou mesmo a capacidade de formação de plântulas (pós-germinação), como o critério para a quantificação da germinação (BEWLEY, 1997; NONOGAKI et al., 2010). Por outro lado, o dinamismo da água em diásporos demonstra as etapas do desenrolar da germinação e, assim, permite fazer inferências salubres do processo germinativo (BEWLEY; BLACK, 1978; BEWLEY; BLACK, 1994; BEWLEY, 1997; NONOGAKI et al., 2010; RAJJOU et al., 2012; BEWLEY et al., 2013). Este motivo é o que explica o grande número de trabalhos moleculares, fisiológicos, agrônômicos e ecológicos que utilizam o processo de dinâmica da água como marcador de fases da germinação (BEWLEY, 1997; NONOGAKI et al., 2010; QUEIROZ et al., 2012; RAJJOU et al., 2012; WINDAUER et al., 2012; PEREIRA et al., 2014). Assim, quando se propõe um estudo da dinâmica da água, propõe-se também um aprofundamento do estudo da germinação *stricto sensu*. As medidas aqui propostas demonstram isto na prática.

No presente trabalho, a entropia é o ruído gerado no sistema pela adesão das moléculas de água ao diásporo e a uniformidade é a variação desta entropia. Assim, quanto maior a entropia gerada pela água, menor será a uniformidade de absorção. Isto fica mais evidente quando se pensa que a intensificação metabólica da germinação surge com a adesão das moléculas de água aos diásporos, gerando um desencadear metabólico complexo e extremamente dinâmico, o que causa grande movimentação (energia) molecular. Uniformidade, do ponto de vista literal, é aquilo que apresenta uma única forma (HOUAISS, 2014; OXFORD DICTIONARY, 2014). Isto significa que quanto mais distorcido for um sistema, maior a desuniformidade deste. A uniformidade é uma medida de dispersão que

demonstra o quão próximo estão todos os resultados (RANAL; SANTANA, 2006). Em geral, esta medida é associada a medidas estatísticas de dispersão, como coeficiente de variação e variância (BEIRLANT et al., 1997; ROCHA et al., 1999; ORTEGA-ÁLVAREZ et al., 2004; RANAL; SANTANA, 2006). Agronomicamente, a uniformidade é reportada em tecnologia de aplicação de agrotóxicos, irrigação e tecnologia de sementes, com a finalidade de demonstrar qual (is) tratamento (s) propicia (m) melhor uso de recursos, no caso de aplicação de agrotóxicos e irrigação; e melhor homogeneidade de estande, no caso da tecnologia de sementes (ROCHA et al., 1999; ORTEGA-ÁLVAREZ et al., 2004; RANAL; SANTANA, 2006). Entropia (termo utilizado pela primeira vez pelo físico alemão Rudolf Julius Emmanuel Clausius, em 1865), por sua vez, é uma grandeza física que, em termodinâmica, mensura o grau de irreversibilidade de um sistema (SCHROEDER, 1999; HAYNIE, 2001; LEFF, 2007; FRIGG; WERNDL, 2011). A entropia demonstra como a matéria e a energia, encontram-se armazenadas e distribuídas pelas fronteiras do sistema termodinâmico (SCHROEDER, 1999; HAYNIE, 2001; LEFF, 2007). Assim, embora seja uma grandeza bem distinta das de massa, de energia interna e de quantidade de matéria, a entropia de um sistema encontra-se certamente relacionada a estas, sendo, da mesma forma que as anteriores, uma propriedade do sistema (HAYNIE, 2001; LEFF, 2007; FRIGG; WERNDL, 2011). Há uma tendência da natureza de igualar temperaturas à medida que a ordem passa para a desordem, ou seja, quando a desordem molecular aumenta. Assim, Ludwig Boltzmann (1896), aplicando fisicamente o conceito, afirmou que a entropia pode ser definida como uma medida do grau de desordem do sistema (SCHROEDER, 1999; HAYNIE, 2001; LEFF, 2007; FRIGG; WERNDL, 2011). Isto explica a estreita relação entre entropia e uniformidade. É importante ressaltar que a entropia aqui chamada é a contribuição da massa (ponderada) para a entropia termodinâmica.

Ao transpor os conhecimentos termodinâmicos para a ciência em diásporos e com a releitura de Shannon (1948) sobre entropia, Labouriau e Pacheco (1976) definiram o índice de entropia informacional da distribuição de frequências relativas da germinação de diásporos e a variação da entalpia líquida de ativação. Estes índices, calculados a fim de descobrir as temperaturas ótimas para a germinação de diásporos, seguem o pressuposto de que o diásporo é um sistema termodinâmico. Na mesma linha, Ranal e Santana (2006) transpuseram o conceito de uniformidade para germinação, correlacionando-o com a

dispersão da germinação e o tempo e demonstraram que esta medida é viável para mostrar a concentração dos eventos germinativos no tempo. Intuitivamente, estes autores relacionaram dois aspectos que, segundo a física moderna, podem estar intimamente ligados. A teoria informacional de Shannon (1948), por sua vez, diz que a entropia guarda estreita relação com o estado de informação de um sistema. A entropia age no sentido sempre de mensurar a perda de informação do sistema. Diante disto, quanto menor a informação, maior a entropia (SHANNON, 1948; JOST, 2006). Nesta mesma linha, quanto maior a entropia, menor a uniformidade (BEIRLANT et al., 1997). Isto justifica o motivo pelo qual a máxima entropia e a mínima uniformidade de absorção de água ocorrem quando há apenas embebição da água pelos diásporos. Em adição, a entropia é tão importante quanto a energia e influencia a vida de modo semelhante; porém, ao contrário da energia que conserva sua quantidade total, a entropia não se conserva e, em um processo natural, a entropia do universo sempre aumenta e é dessa forma que sabemos se o processo é espontâneo (SCHROEDER, 1999; HAYNIE, 2001; LEFF, 2007; FRIGG; WERNDL, 2011). A dinâmica da água em diásporos só é um processo espontâneo na fase de embebição propriamente dita. A partir disto, há a atuação de complexos bioquímicos que gerenciam o turgor celular e, conseqüentemente, os vieses deste processo. Assim, a máxima entropia do sistema de germinação é o limiar da embebição e isto caracteriza também a maior desuniformidade de entrada da água. A partir deste momento, o sistema germinativo, teoricamente gerenciado pelo embrião, coordena as atividades metabólicas e torna a germinação um processo não-espontâneo, com baixa entropia e altamente uniforme. Neste capítulo, esta teoria foi demonstrada numericamente e pode ser visualizada com os gráficos de uniformidade e entropia da dinâmica da água. Assim, pode-se afirmar que a entropia e a uniformidade no tempo da dinâmica da água também demonstram, na prática, a entropia e a uniformidade da germinação de diásporos.

A velocidade é uma grandeza vetorial que mensura o deslocamento no tempo (CREW, 2008). No caso da dinâmica da água, essa magnitude é função da variação da massa de água incorporada pelo diásporo ao longo do tempo de hidratação. Paralelo a isto, a aceleração é a expressão da variação da velocidade no tempo (CREW, 2008), o que pode ser atingido derivando a velocidade. Logo, para a dinâmica da água, aceleração é a derivada primeira da velocidade. Do ponto de vista biológico, os termos velocidade e aceleração são frequentemente utilizados pela farmacologia, sendo que a velocidade é empregada para



definir o metabolismo e/ou a cinética de moléculas; enquanto a aceleração está associada ao aproveitamento da energia decorrente da velocidade (SHARGEL; YU, 1985; GRASSI et al., 2007). Deste modo, a velocidade está associada à transferência de metabólicos exógenos para um determinado corpo; ao passo que a aceleração associa-se ao grau de absorção destes metabólicos por este determinado corpo (HEADING et al., 1973; URQUHART, 2002; CUSTÓDIO et al., 2008). Este conceito cabe nos resultados aqui apresentados para demonstrar o processo germinativo de diásporos. A velocidade de absorção demonstra o influxo de água por meio de rotas gerenciadas pelo embrião e, assim, dá ideia de como o metabolismo germinativo é processado; enquanto a aceleração demonstra a redução deste influxo, dando ideia de como o aporte de água está sendo aproveitado pelo embrião. Isto faz com que estas medidas sejam complementares na interpretação e caracterização da germinação de diásporos. Reitera-se que nem sempre, como foi observado para o lote 1 de trigo, a velocidade e a aceleração serão medidas complementares, o que ratifica a importância do estudo de ambas as medidas.

Na ciência em diásporos, a velocidade é reportada convencionalmente por meio da velocidade média, uma medida de taxa pura, sem a interferência da germinabilidade, de difícil entendimento por ser não-linear; e que possui uso similar àquele empregado para reações químicas, ou seja moléculas por unidade de tempo, haja visto que a germinação é resultado de uma série de mudanças químicas dentro de complexas rotas metabólicas (RANAL; SANTANA, 2006). Diante deste raciocínio e pensando que neste capítulo abordou-se a germinação *per se*, por meio da dinâmica da água em diásporos, pode-se afirmar que as inflexões da curva de taxa da absorção de água coincidem com as inflexões metabólicas da germinação. Por isto, a mudança de fases de germinação por meio da observação da taxa de absorção se mostra de grande relevância para trabalhos futuros que objetivem explorar o processo germinativo. Estas inflexões da taxa, ao contrário do que convencionalmente é feito, permitem também a padronização cronológica dos estudos que envolvam o refinamento de trabalhos de germinação. O fato de haver mais de três fases englobando o processo germinativo denota que o metabolismo da germinação é mais complexo do que se tem convencionalmente defendido (BEWLEY; BLACK, 1985; BEWLEY; BLACK, 1994; BEWLEY, 1997; NONOGAKI et al., 2010; WEITBRECHT et al., 2011; RAJJOU et al., 2012; BEWLEY et al., 2013). Neste aspecto ainda, pode-se afirmar

que não há a formação de uma curva trifásica de germinação (vide massa ponderada), mas uma curva de modelo ainda desconhecido. É importante salientar que embora seja convencionalmente propagado que a germinação se dá seguindo esse padrão trifásico da dinâmica da água, isto não se faz verdade para todas as espécies (NONOGAKI et al., 2010; BEWLEY et al., 2013). Entretanto, as espécies contempladas neste capítulo teoricamente deveriam apresentar tal padrão (BEWLEY; BLACK, 1985; BEWLEY; BLACK, 1994). Assim, o padrão trifásico pode ser, na verdade, um *insight* didático para demonstrar a germinação de diásporos. Isto é reforçado pelo limiar científico ocasionado pela publicação, por Bewley e Black (1978), do padrão trifásico de germinação, o qual foi consagrado pelos mesmos autores nas reedições deste livro em 1985 e em 1994 (BEWLEY; BLACK, 1985; 1994). Antes destas publicações, os trabalhos em ciência de diásporos seguiam a dispersão dos pontos observados e, em geral, não demonstravam o padrão trifásico corriqueiramente (vide SHULL, 1913; BLACKLOW, 1972; SVEJDA, 1972). Após a publicação, muitos trabalhos negligenciaram a dispersão dos pontos em prol do ajuste ao modelo teórico (CARNEIRO et al., 2001).

Em contrapartida, a fase de embebição é incontestável, sendo a primeira fase germinativa e apresentando período mais rápido. Esta fase foi aqui caracterizada como a que apresenta a maior entropia, menor uniformidade, maior rapidez e menor aceleração de absorção de água por diásporos. Ela se encerra com o declínio acentuado da velocidade de absorção de água. Por se tratar de um aspecto unicamente físico, a embebição pode ser mensurada por meio de coeficientes que demonstram como ocorre a distribuição do líquido no meio (CRANK, 1975; PHILIBERT, 2005). Por isto, um bom estimador seria o coeficiente de difusão da equação da segunda Lei de Fick. Na física, o coeficiente de difusão ou difusividade de massa é um valor que representa a facilidade com que cada soluto em particular se move em um solvente determinado (CRANK, 1975). É uma proporcionalidade constante entre o fluxo molar devido à difusão molecular e o gradiente na concentração de espécies (ou pela força condutora para a difusão) (CRANK, 1975; PHILIBERT, 2005). Quanto maior a difusividade (de uma substância em relação à outra), mais rápido elas se difundem uma na outra (PHILIBERT, 2005). Embora em caráter físico, no caso da germinação de diásporos, é possível afirmar que o coeficiente de difusão demonstra a velocidade de retomada do metabolismo e que esta é uma peculiaridade atribuída à qualidade

do lote e o padrão depende da espécie e da variedade da espécie. Este coeficiente mostra-se como um bom preditor da retomada metabólica, visto que não é influenciado pelo material de reserva. Isto fica evidente quando se analisa milho tipo crioulo e tipo híbrido, os quais apresentam o mesmo tipo de unidade de dispersão, mesma filogenia, mesmo material de reserva, mas metabolismo germinativo inicial diferenciado.

De acordo com tudo o que foi apresentado, pode-se dizer que as medidas de dinâmica da água em diásporos demonstram a germinação *stricto sensu* em si e, desta maneira, são de grande valia para estudos de caracterização do processo germinativo de diásporos. Estes estudos englobam pesquisas ecológicas, como a definição da longevidade de diásporos por meio da ocorrência de dormência; fisiológicas, como o estudo comportamental de estresses múltiplos na germinação de diásporos; moleculares, como estudos de proteômica e genômica da germinação; e agrônômicos, como estudos com condicionamento osmótico e de determinação, por meio de modelagem, de formação de estande inicial em nível de campo (BLACKLOW, 1972; EGGLEY; PAUL JR., 1981; BRADFORD, 1990; ZHOU et al., 1999; HESCHEL et al., 2008; PATANÈ et al., 2009; LEI, 2010; IGLESIAS-FERNÁNDEZ et al., 2011; KAMKAR et al., 2012; QUEIROZ et al., 2012; WINDAUER et al., 2012; PEREIRA et al., 2014). Ademais, a demonstração de mais de três etapas germinativas pode auxiliar na exploração mais aprofundada da germinação e, em breve, permitir que se possa, por exemplo, relacionar eficazmente o teor de água, por meio de método não destrutivo, com o metabolismo da germinação.

Na prática, as medidas propostas aqui possibilitam fazer inferências sobre tolerância dos diásporos frente a estresses múltiplos, bem como sobre o metabolismo da germinação e sobre o aproveitamento da água por estes. As cariopses de milho híbrido, por exemplo, possuem a difusão mais facilitada na etapa de embebição (vide  $D$ ), refletindo a retomada rápida do metabolismo devido à rápida embebição. Entretanto, estas cariopses possuem metabolismo cadenciado, com grande número de fases, mas altamente uniforme e com baixa entropia (vide  $\overline{U_{H_2O}}$  e  $\overline{E_{H_2O}}$ ). Este tipo de metabolismo homogêneo, com grande número de fases e reações similares ( $\overline{v_{H_2O}}$  similar) certamente permite que as cariopses de milho híbrido possam rapidamente acionar outras rotas metabólicas e, conseqüentemente, recuperar-se de qualquer tipo de estresse, o que as torna mais tolerantes ao estresse na germinação que as

demais unidades de dispersão estudadas. Esta ideia é validada pelo fato do tipo de híbrido estudado ser parte de uma linhagem que apresenta resistência ao estresse hídrico germinativo (ARAÚJO et al., 2015). As sementes de soja, por outro lado, demonstram metabolismo altamente flutuante, com elevado dinamismo da água (vide flutuações nos gráficos de dinâmica da água em diásporos), mesmo que haja restrição difusiva inicial, algo natural para uma unidade de dispersão que possui proteína como principal componente de reserva. Como a proteína é o componente de reserva mais ávido pela água (BUCKERIDGE et al., 2004), quando a água entre em contato rapidamente é aprisionada, o que a torna a ação difusiva dificultosa. Todavia, quando hidratadas, estas sementes expressam um metabolismo germinativo intenso e peculiar (elevada  $\overline{v_{H_2O}}$ , mas similar). Por isto, cada fase da germinação é única para estas sementes e a sua não-efetuação implica em grandes perdas no processo germinativo, o que pode restringir seu encerramento, tornando estas sementes mais susceptíveis a estresses múltiplos da germinação. Contudo, a grande flutuação mostra que existem processos bioquímicos muito variados. Isto se torna coerente quando se pensa que as sementes de soja utilizadas pertencem a uma cultivar transgênica, tolerante à molécula N-fosfonometil-glicina (C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>NO<sub>5</sub>P), i.e., glifosato (FRANCHINI et al., 2014).

Similar ao que ocorre com as sementes de soja, cipselas de girassol e cariopses de trigo apresentam metabolismo dinâmico, com grande flutuação e, no caso destas cariopses, poucas fases germinativas. Estas propriedades também as tornam mais susceptíveis a estresses germinativos. Entretanto, o gerenciamento metabólico destas unidades de dispersão é menos dependente de abundância de água do que a das sementes de soja, visto que apresentam baixo grau de absorção, o que torna o processo desacelerado (vide gráficos de aceleração e  $\overline{a_{H_2O}}$ ). Diante disto, estas unidades são menos susceptíveis ao estresse hídrico do que soja. Por outro lado, a alta aceleração de sementes de feijão ratifica a grande capacidade de gerenciamento na absorção e aproveitamento de água por estas estruturas. Como o hilo é uma válvula higroscópica que regula eficazmente a entrada de água nestas sementes (SOUZA; MARCOS FILHO, 2001; KIKUCHI et al. 2006), não há saturação da absorção e, deste modo, não há redução do grau de absorção, acarretando em grandes picos de aceleração e alta aceleração média. Isto capacita as sementes de feijão a passarem por estresses hídricos com maior facilidade do que os demais diásporos.

Diante desta capacidade de leitura do metabolismo, caso o pesquisador queira estreitar a pesquisa em âmbito de uma única espécie, mas com variados tratamentos e/ou lotes, há a possibilidade destas medidas serem utilizadas para mostrar o vigor da germinação. Embora possua mais de uma definição oficial para vigor de diásporos (ISTA, 2004; AOSA, 2009), todas convergem para o fato deste termo ser atribuído para fins comparativos. Além disto, o vigor da germinação é dirigido pela habilidade de um embrião, quando o diásporo é embebido, resumir sua atividade metabólica de maneira coordenada e sequencial (RAJJOU et al., 2012). Estas características, somadas às atribuições explanadas, tornam as medidas de dinâmica da água viáveis para inferir também o vigor da germinação *stricto sensu* e/ou diásporos.

Diante do exposto, as medidas de dinâmica da água contribuem para análise sobre a tolerância dos diásporos frente a estresses múltiplos, bem como sobre o metabolismo da germinação e sobre o aproveitamento da água por estes; além do vigor da germinação. A diferença fisiológica observada em lotes com qualidades distintas está relacionada com a duração de cada fase metabólica, mas não com as características da dinâmica em si.

## 5. CONCLUSÕES

As medidas de dinâmica da água em diásporos são viáveis para inferências da germinação *stricto sensu*. O estudo das medidas, em conjunto, permite o entendimento mais acurado da germinação. A  $Taxa_{H_2O}$  é teoricamente a medida mais interessante para se estudar o processo germinativo *per se*. A taxa (velocidade) demonstra diversas fases metabólicas da germinação. O processo germinativo não é trifásico, mas polifásico e, uma peculiaridade específica, com traços varietais. A diferença fisiológica observada em lotes com qualidades distintas está relacionada com a duração de cada fase metabólica, mas não com as características da dinâmica em si. A germinação de sementes de feijão se processa com difusão inicial ( $D$ ) de  $1,94 \cdot 10^{-3} h^{-1}$  a  $2,45 \cdot 10^{-3} h^{-1}$ ; entropia média ( $\overline{E_{H_2O}}$ ) de 0,0806 a 0,0904; uniformidade média ( $\overline{U_{H_2O}}$ ) de -0,001 a -0,015; velocidade média ( $\overline{v_{H_2O}}$ ) de  $0,0218 g_{H_2O} h^{-1}$  a  $0,0286 g_{H_2O} h^{-1}$ ; e aceleração média ( $\overline{a_{H_2O}}$ ) de  $-0,0002 g_{H_2O} h^{-2}$  a  $0,0081 g_{H_2O} h^{-2}$ .

$g_{H_2O} h^{-2}$ . A germinação de cipselas de girassol se processa com difusão inicial ( $D$ ) de  $1,95 \cdot 10^{-3} h^{-1}$  a  $4,11 \cdot 10^{-2} h^{-1}$ ; entropia média ( $\overline{E_{H_2O}}$ ) de 0,0416 a 0,1006; uniformidade média ( $\overline{U_{H_2O}}$ ) de -0,042 a -0,030; velocidade média ( $\overline{v_{H_2O}}$ ) de  $0,0216 g_{H_2O} h^{-1}$  a  $0,1009 g_{H_2O} h^{-1}$ ; e aceleração média ( $\overline{a_{H_2O}}$ ) de  $-0,0420 g_{H_2O} h^{-2}$  a  $0,0011 g_{H_2O} h^{-2}$ . A germinação de cariopses de milho tipo crioulo se processa com difusão inicial ( $D$ ) de  $2,93 \cdot 10^{-3} h^{-1}$  a  $2,21 \cdot 10^{-2} h^{-1}$ ; entropia média ( $\overline{E_{H_2O}}$ ) de 0,0741 a 0,0846; uniformidade média ( $\overline{U_{H_2O}}$ ) de -0,059 a -0,033; velocidade média ( $\overline{v_{H_2O}}$ ) de  $0,0079 g_{H_2O} h^{-1}$  a  $0,0096 g_{H_2O} h^{-1}$ ; e aceleração média ( $\overline{a_{H_2O}}$ ) de  $-0,0061 g_{H_2O} h^{-2}$  a  $0,0052 g_{H_2O} h^{-2}$ . A germinação de cariopses de milho tipo híbrido se processa com difusão inicial ( $D$ ) de  $2,61 \cdot 10^{-2} h^{-1}$  a  $8,86 \cdot 10^{-2} h^{-1}$ ; entropia média ( $\overline{E_{H_2O}}$ ) de 0,0571 a 0,0847; uniformidade média ( $\overline{U_{H_2O}}$ ) de 0,012 a 0,088; velocidade média ( $\overline{v_{H_2O}}$ ) de  $0,0034 g_{H_2O} h^{-1}$  a  $0,0091 g_{H_2O} h^{-1}$ ; e aceleração média ( $\overline{a_{H_2O}}$ ) de  $-0,0081 g_{H_2O} h^{-2}$  a  $0,0013 g_{H_2O} h^{-2}$ . A germinação de sementes de soja se processa com difusão inicial ( $D$ ) de  $1,38 \cdot 10^{-3} h^{-1}$  a  $1,83 \cdot 10^{-3} h^{-1}$ ; entropia média ( $\overline{E_{H_2O}}$ ) de 0,1109 a 0,1354; uniformidade média ( $\overline{U_{H_2O}}$ ) de -0,001 a -0,012; velocidade média ( $\overline{v_{H_2O}}$ ) de  $0,0450 g_{H_2O} h^{-1}$  a  $0,0718 g_{H_2O} h^{-1}$ ; e aceleração média ( $\overline{a_{H_2O}}$ ) de  $-0,0184 g_{H_2O} h^{-2}$  a  $0,0354 g_{H_2O} h^{-2}$ . A germinação de cariopses de trigo se processa com difusão inicial ( $D$ ) de  $3,73 \cdot 10^{-3} h^{-1}$  a  $1,77 \cdot 10^{-2} h^{-1}$ ; entropia média ( $\overline{E_{H_2O}}$ ) de 0,1588 a 0,0846; uniformidade média ( $\overline{U_{H_2O}}$ ) de -0,007 a -0,042; velocidade média ( $\overline{v_{H_2O}}$ ) de  $0,0126 g_{H_2O} h^{-1}$  a  $0,0312 g_{H_2O} h^{-1}$ ; e aceleração média ( $\overline{a_{H_2O}}$ ) de  $-0,0362 g_{H_2O} h^{-2}$  a  $-0,0078 g_{H_2O} h^{-2}$ .

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOSA. Association of Official Seed Analysts. **Seed Vigor Testing**. Handbook. Washington: AOSA, 2009.
- ARAÚJO, E.O. et al. Effect of nitrogen fertilization associated with inoculation of *Azospirillum brasilense* and *Herbaspirillum seropedicae* on corn. **African Journal of Agricultural Research**, Nairobi, v. 10, p. 137-145, 2015.
- BANSAL, R. P. et al. Differential specificity in water inhibition of Indian arid zone. **Biology Plantarum**, Praha, v. 22, n. 2, p. 327–331, 1980.
- BEIRLANT, J. et al. Nonparametric entropy estimation: An overview. **International Journal of Mathematical and Statistical Sciences**, Miami, v. 6, n. 1, p. 17-39, 1997.
- BEWLEY J. D. Seed germination and dormancy. **The Plant Cell**, Rockville, v. 9, n. 7, p.1055-1066, 1997.
- BEWLEY, J.D. et al. **Physiology of Development, Germination and Dormancy**. Berlin: Springer, 3rd ed., 2013. 392 p.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination**. Development, germination and growth. v.1, Berlin: Springer Verlag, 1978, 306p.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 1º. ed. New York: PLENUM, 1985. 440p.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2º. ed. New York: PLENUM, 1994. 445p.
- BLACKLOW, W. M. Influence of temperature on germination and elongation of the radicle and shoot of corn (*Zea mays* L.). **Crop Science**, Madison, v.12, n.5, 647-650, 1972.
- BRADFORD, K.J. A water relations analysis of seed germination rates. **Plant Physiology**, Waterbury, v.94, p. 840–849, 1990.
- BRASIL. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília, MAPA/ACS: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2009.

- CARNEIRO, J. W. P. et al. Massa de água acumulada durante embebição de sementes de cenoura (*Daucus carota* L.) avaliação de modelos lineares e não lineares. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v. 23, n. 1, p. 9-16, 2001.
- CARVALHO, M. P. et al. Emergência de plântulas de *Anacardium humile* A. St.-Hil.(Anacardiaceae) avaliada por meio de amostras pequenas. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 28, n. 3, p. 627-633, 2005.
- CRANK, J. **The mathematics of diffusion**. Vol. 2. No. 3. Oxford: Clarendon press, 1975.
- CREW, H. **The Principles of Mechanics**. BiblioBazaar, LLC. p. 43., 2008.
- CUSTODIO, J. M. et al. Predicting drug disposition, absorption/elimination/transporter interplay and the role of food on drug absorption. **Advanced drug delivery reviews**, Amsterdam, v. 60, n. 6, p. 717-733, 2008.
- EFRON, B. Bootstrap method: another look at the jackknife. **Annual Statistical**, Alexandria, v.7, 1-26, 1979.
- EGLEY, G. H.; PAUL JR, R. N. Morphological observations on the early imbibition of water by *Sida spinosa* (Malvaceae) seed. **American Journal of Botany**, Stanford, p. 1056-1065, 1981.
- FINCH-SAVAGE, W.E.; LEUBNER-METZGER, G. Seed dormancy and control of germination. **New Phytologist**, London, v.171, n.3, p.501-523, 2006.
- FINCH-SAVAGE, W.E. et al. Development of combined imbibition and hydrothermal threshold models to simulate maize (*Zea mays*) and chickpea (*Cicer arietinum*) seed germination in variable environments. **New Phytologist**, London, v.165, p.825–838, 2005.
- FRANCHINI, J. C. et al. Soybean performance as affected by desiccation time of *Urochloa ruziziensis* and grazing pressures. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.45, n.5, p.999-1005, 2014.
- FRIGG, R; WERNDL, C. Entropy-A Guide for the Perplexed. **Probabilities in physic**. New york: Springer. 2011.
- GRASSI, M. et al. **Understanding drug release and absorption mechanisms: a physical and mathematical approach**. New York: CRC Press. 2006.



- HAYNIE, D. T. **Biological Thermodynamics**. Cambridge: Cambridge University Press. 2001.
- HEADING, R. C. et al. The dependence of paracetamol absorption on the rate of gastric emptying. **British journal of pharmacology**, London, v. 47, n. 2, p. 415-421, 1973.
- HOLDSWORTH, M. J. et al. Post-genomics dissection of seed dormancy and germination. **Trends in plant science**, Amsterdam, v. 13, n. 1, p. 7-13, 2008.
- HOUAISS. **Dicionário da Língua Portuguesa**. Disponível em: <http://houaiss.uol.com.br/>. Acessado em 20 de dezembro de 2014.
- IGLESIAS-FERNÁNDEZ, R. et al. Three endo- $\beta$ -mannanase genes expressed in the micropylar endosperm and in the radicle influence germination of *Arabidopsis thaliana* seeds. **Planta**, New York, v.233, n.1, p. 25-36, 2011.
- ISTA. International Seed Testing Association. Seed vigour testing. In: ISTA. **International rules for seed testing**. Bassersdorf: ISTA, 2004.
- JOST, L. Entropy and diversity. **Oikos**, Copenhagen, v. 113, n. 2, p. 363-375, 2006.
- KIKUCHI, K. et al. Water uptake by dry beans observed by micro-magnetic resonance imaging. **Annals of Botany**, Oxyford, v. 98, p. 545-553, 2006.
- LABOURIAU, L.G. **A germinação das sementes**. Washington: Secretaria Geral da organização dos Estados Americanos, Programa Regional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. 1983, 174p.
- LABOURIAU, L.G.; VALADARES, M.E.B. On the germination of seeds of *Calotropis procera* (Ait.) Ait. f. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 48, p.263-284, 1976.
- LEFF, H. S. Entropy, its language, and interpretation. **Foundations of Physics**, New York, v. 37, n. 12, p. 1744-1766, 2007.
- LEI, S.A. Factors influencing seed imbibitions of blackbrush (*Coleogyne ramosissima*: Rosaceae). **The Southwestern Naturalist**, Oklahoma, v.55, p. 443-447, 2010.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005. 495p.

- NONOGAKI, H. et al. Germination-still a mystery. **Plant Science**, Amsterdam, v. 179, p.574-581, 2010.
- OROZCO-SEGOVIA, A. et al. Seed anatomy and water uptake in relation to seed dormancy in *Opuntia tomentosa* (Cactaceae, Opuntioideae). **Annals of botany**, Oxysford, v. 99, n. 4, p. 581-592, 2007.
- ORTEGA ÁLVAREZ, J. et al. Uniformity distribution and its economic effect on irrigation management in semiarid zones. **Journal of Irrigation and Drainage Engineering**, New York, v. 130, n. 4, p. 257-268, 2004.
- OXFORD DICTIONARY. **Free online dictionary of British English and American English from Oxford**. Disponível em: <http://www.oxforddictionaries.com/>. Acessado em 20 de dezembro de 2014.
- PAIVA, E.A.S. et al. Imbibition of *Swietenia macrophylla* (Meliaceae) seeds: the role of stomata. **Annals of Botany**, Oxyford, v. 98, n.1, p.213-217, 2006.
- PAULA, A.S. et al. Breaking physical dormancy of *Cassia leptophylla* and *Senna macranthera* (Fabaceae: Caesalpinioideae) seeds: water absorption and alternating temperatures. **Seed Science Research**, Cambridge, v. 22, p. 1-9, 2012.
- PEREIRA, W.V.S. et al. Loss of desiccation tolerance in *Copaifera langsdorffii* Desf. seeds during germination. **Brazilian Journal of Biology**, São Paulo, v. 74, p. 501-508, 2014.
- PHILIBERT, J. One and a half century of diffusion: Fick, Einstein, before and beyond. **Diffusion Fundamentals**, Leipzig, v. 2, n. 1, p. 1-10, 2005.
- PRESTON, J. et al. Temporal expression patterns of hormone metabolism genes during imbibition of *Arabidopsis thaliana* seeds: a comparative study on dormant and non-dormant accessions. **Plant and Cell Physiology**, London, v.50, p.1786-1800, 2009.
- QUEIROZ, S. E. E. et al. Mechanism and control of *Genipa americana* seed germination. **Physiologia plantarum**, Kobenhavn, v. 144, p. 263-276, 2012.
- RAJJOU, L. et al. Seed germination and vigor. **Annual Review of Plant Biology**, Riverside, v. 63, p. 507-533, 2012.

RANAL, M.A.; SANTANA, D.G. How and why to measure the germination process?

**Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.29, p. 1-11, 2006.

ROCHA, E. M. et al. Uniformidade de distribuição de água por aspersão convencional na superfície e no perfil do solo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campo Grande, v. 3, n. 2, p. 154-160, 1999.

SCHROEDER, D. V. **An Introduction to Thermal Physics**. Addison Wesley Longman, 1999, p. 57

SHANNON, C.E.. A mathematical theory of communication. **Bell System Technical Journal**, New York, v.27, p. 379–423, 1948.

SHARGEL, L.; YU, A.B.C. **Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics**. Norwalk: Appleton-Century-Crofts, 1985.

SHULL, C. A. Semipermeability of seed coats. **Botanical Gazette**, Chicago, v.56, p.169-199, 1913.

SOUZA, F. H.; MARCOS-FILHO, J. The seed coat as a modulator of seed-environment relationships in Fabaceae. **Brazilian Journal of Botany**, São Paulo, v. 24, n. 4, p. 365-375, 2001.

SVEJDA, F.J. Water uptake of rose achenes. **Canadian Journal of Plant Science**, Toronto, v.52, p.1043–1047, 1972.

URQUHART, J. The odds of the three nons when an aptly prescribed medicine isn't working: non-compliance, non-absorption, non-response. **British journal of clinical pharmacology**, Oxyford, v. 54, n. 2, p. 212-220, 2002

WANG, H. L. et al. Germination dimorphism in *Suaeda acuminata*: a new combination of dormancy types for heteromorphic seeds. **South African Journal of Botany**, Pietermaritzburg, v.78, p.270-275, 2012.

WEITBRECHT, K. et al. First off the mark: early seed germination. **Journal of Experimental of Botany**, Oxyford, v. 62, p.3289–3309, 2011.

WIERZBICKA, M.; OBIDZIŃSKA, J. The effect of lead on seed imbibition and germination in different plant species. **Plant Science**, Amsterdam, v.137, n.2, p.155-171, 1998.

WINDAUER, L. B. et al. Germination responses to temperature and water potential in *Jatropha curcas* seeds: a hydrotime model explains the difference between dormancy expression and dormancy induction at different incubation temperatures. **Annals of Botany**, Oxysford, v.109, p.265-273, 2012.

WOODSTOCK, L.W.; GRABE, D.F. Relationship between seed respiration during imbibition and subsequent seedling growth in *Zea mays*. **Plant Physiology**, Waterbury, v.8, p.339-342, 1967.

## CONCLUSÕES GERAIS

O termo embebição não deve ser empregado para designar a curva que demonstra a dinâmica da água em diásporos. Este termo é cabível apenas para a primeira e mais rápida fase da germinação *stricto sensu*, a qual é predominantemente física.

O Modelo de Máxima Curvatura Modificada (MMCM) é um método adequado para mensurar a variabilidade da dinâmica da água em diásporos da maioria das espécies e, conseqüentemente, obter o tamanho ótimo de amostra para a análise deste processo.

O tamanho ótimo de amostra para analisar a dinâmica da água é de 7 diásporos, independente da espécie. As medidas de dinâmica da água em diásporos são viáveis para inferências da germinação *stricto sensu*.

O estudo das medidas, em conjunto, permite o entendimento mais acurado da germinação.

A  $Taxa_{H_2O}$  é teoricamente a medida mais interessante para se estudar o processo germinativo *per se*.

Dentre as medidas, a taxa (velocidade) demonstra diversas fases metabólicas da germinação.

O processo germinativo não é trifásico, mas polifásico e uma peculiaridade específica com traços varietais.

A diferença fisiológica observada em lotes com qualidades distintas está relacionada com a duração de cada fase metabólica, mas não com as características da dinâmica em si.

A germinação de sementes de feijão se processa com difusão inicial ( $D$ ) de  $1,94 \cdot 10^{-3} h^{-1}$  a  $2,45 \cdot 10^{-3} h^{-1}$ ; entropia média ( $\overline{E_{H_2O}}$ ) de 0,0806 a 0,0904; uniformidade média ( $\overline{U_{H_2O}}$ ) de -0,001 a -0,015; velocidade média ( $\overline{v_{H_2O}}$ ) de  $0,0218 g_{H_2O} h^{-1}$  a  $0,0286 g_{H_2O} h^{-1}$ ; e aceleração média ( $\overline{a_{H_2O}}$ ) de  $-0,0002 g_{H_2O} h^{-2}$  a  $0,0081 g_{H_2O} h^{-2}$ .

A germinação de cipselas de girassol se processa com difusão inicial ( $D$ ) de  $1,95 \cdot 10^{-3} h^{-1}$  a  $4,11 \cdot 10^{-2} h^{-1}$ ; entropia média ( $\overline{E_{H_2O}}$ ) de 0,0416 a 0,1006; uniformidade média ( $\overline{U_{H_2O}}$ ) de -0,042 a -0,030; velocidade média ( $\overline{v_{H_2O}}$ ) de  $0,0216 g_{H_2O} h^{-1}$  a  $0,1009 g_{H_2O} h^{-1}$ ; e aceleração média ( $\overline{a_{H_2O}}$ ) de  $-0,0420 g_{H_2O} h^{-2}$  a  $0,0011 g_{H_2O} h^{-2}$ .

A germinação de cariopses de milho tipo crioulo se processa com difusão inicial ( $D$ ) de  $2,93 \cdot 10^{-3} h^{-1}$  a  $2,21 \cdot 10^{-2} h^{-1}$ ; entropia média ( $\overline{E_{H_2O}}$ ) de 0,0741 a 0,0846; uniformidade média ( $\overline{U_{H_2O}}$ ) de -0,059 a -0,033; velocidade média ( $\overline{v_{H_2O}}$ ) de  $0,0079 g_{H_2O} h^{-1}$  a  $0,0096 g_{H_2O} h^{-1}$ ; e aceleração média ( $\overline{a_{H_2O}}$ ) de  $-0,0061 g_{H_2O} h^{-2}$  a  $0,0052 g_{H_2O} h^{-2}$ .

A germinação de cariopses de milho tipo híbrido se processa com difusão inicial ( $D$ ) de  $2,61 \cdot 10^{-2} h^{-1}$  a  $8,86 \cdot 10^{-2} h^{-1}$ ; entropia média ( $\overline{E_{H_2O}}$ ) de 0,0571 a 0,0847; uniformidade média ( $\overline{U_{H_2O}}$ ) de 0,012 a 0,088; velocidade média ( $\overline{v_{H_2O}}$ ) de  $0,0034 g_{H_2O} h^{-1}$  a  $0,0091 g_{H_2O} h^{-1}$ ; e aceleração média ( $\overline{a_{H_2O}}$ ) de  $-0,0081 g_{H_2O} h^{-2}$  a  $0,0013 g_{H_2O} h^{-2}$ .

A germinação de sementes de soja se processa com difusão inicial ( $D$ ) de  $1,38 \cdot 10^{-3} h^{-1}$  a  $1,83 \cdot 10^{-3} h^{-1}$ ; entropia média ( $\overline{E_{H_2O}}$ ) de 0,1109 a 0,1354; uniformidade média ( $\overline{U_{H_2O}}$ ) de -0,001 a -0,012; velocidade média ( $\overline{v_{H_2O}}$ ) de  $0,0450 g_{H_2O} h^{-1}$  a  $0,0718 g_{H_2O} h^{-1}$ ; e aceleração média ( $\overline{a_{H_2O}}$ ) de  $-0,0184 g_{H_2O} h^{-2}$  a  $0,0354 g_{H_2O} h^{-2}$ .

A germinação de cariopses de trigo se processa com difusão inicial ( $D$ ) de  $3,73 \cdot 10^{-3} h^{-1}$  a  $1,77 \cdot 10^{-2} h^{-1}$ ; entropia média ( $\overline{E_{H_2O}}$ ) de 0,1588 a 0,0846; uniformidade média ( $\overline{U_{H_2O}}$ ) de -0,007 a -0,042; velocidade média ( $\overline{v_{H_2O}}$ ) de  $0,0126 g_{H_2O} h^{-1}$  a  $0,0312 g_{H_2O} h^{-1}$ ; e aceleração média ( $\overline{a_{H_2O}}$ ) de  $-0,0362 g_{H_2O} h^{-2}$  a  $-0,0078 g_{H_2O} h^{-2}$ .

## ANEXO

**ANEXO 1.** Código de programação Fortran 90 (código derivada – 34.f90) utilizado para a rotina de cálculos das medidas de dinâmica da água em diásporos.

```
module const
implicit none
!real(8),parameter::wa=3.25d0,wc=5.12d0

integer, parameter::nlo=30,nl=200,ns=500,npoints=101
real(8), dimension(4,nl)::coef
real(8), dimension(nl)::absc
integer:: nline
integer, parameter:: nnod=5
real(8), dimension(nnod):: xgau,wgau ! abscissas and weighting for Gaussian
quadrature.

endmodule const

program derivate
use const
implicit none

real(8), parameter:: eps=1.d-4
real(8), dimension(nlo,ns,nl,20):: coluna
real(8), dimension(nlo,900,20):: resul, orig
real(8), dimension(nl):: teorm
real(8), dimension(nl):: mod1
!integer,dimension(ns,nl) :: semente
character(14)::nomea,nomeb
character(6)::file
character(8)::fileo
!character(1),dimension(ns,nl)::lote
!internal variabls
!real(8), dimension(4,nl)::coef
!real(8), dimension(nl)::absc
real(8):: xx,resl,deri,aux, ss
real(8), dimension(20):: sa0, sa1, sa2
integer:: nlote,nseed,ncol,nn
integer:: i,j,k,kk,l,kcol,nct,iseed
integer:: ncalc
```

```

!
!
!
!
! Reading input
open(unit=1,file='derivada_3.inp',status='old')
read(1,*)nlote, nseed, nline, ncol
write(*,*)nlote,nseed,nline,ncol
read(1,*)nomea
write(*,*) nomea
read(1,*)file
write(*,*)file
read(1,*) ncalc
!
!
open(2,file=nomea)
do l=1,nlote
do j=1,nseed
do i=1,nline
read(2,*)(coluna(l,j,i,k),k=1,ncol)
write(4,*)l,j,i
write(4,100)(coluna(l,j,i,k),k=1,ncol)
enddo
enddo
enddo
nn = nline
close(1)
close(2)
100 format(3f10.1,2x,5(f12.4))

call gauleg(0.d0,1.d0,xgau,wgau,nnod)
write(22,*)xgau
write(22,*)
write(22,*)wgau

fileo=file//'_o'
open(9,file=fileo//'vm.dat')
do l=1, nlote
call nomearq(l,6,file,nomea)
call nomearq(l,8,fileo,nomeb)
write(*,*)nomea,nomeb
open(3,file=nomea)
open(5,file=nomeb)
do k=4,8
do i=1,nline
write(*,*) k,i

```



```

absc(i)=0.d0
coef(1,i)=0.d0
teorm(i)=0.d0
iseed = 0
aux = 0.d0
do j=1,ncalc
  teorm(i)=teorm(i)+coluna(l,j,i,k)
  aux = coluna(l,j,i,4) + coluna(l,j,i,5) + coluna(l,j,i,6) + coluna(l,j,i,7)
  if(((i.ne.1).and.k.eq.7).and.(dabs(aux) < eps))then
    iseed = iseed + 1
    write(33,'(5i4,f16.6)')l,j,i,k, iseed, aux
    write(33,'(4f16.6)')coluna(l,j,i,4), coluna(l,j,i,5), coluna(l,j,i,6), coluna(l,j,i,7)
  endif
enddo
! write(33,*)iseed
teorm(i)=teorm(i)/dfloat(ncalc-iseed)
absc(i)=coluna(l,1,i,3)
coef(1,i)=teorm(i)
write(*,'(2f14.4,3i4)') absc(i),teorm(i),l,j,i
kcol=(k-2)
orig(l,i,kcol)=teorm(i)
orig(l,i,1)=absc(i)
enddo ! i

call cubspl(absc,coef,nline,0,0)
resl=ppvalu(absc,coef,nline-1,4,1.d0,0)

do kk=1,npoints
  xx=dfloat(kk-1)*coluna(l,1,nn,3)/dfloat(npoints-1)
  resl=ppvalu(absc,coef,nline-1,4,xx,0)
  deri=ppvalu(absc,coef,nline-1,4,xx,1)
! write(3,*)xx,resl,deri
  resul(l,kk,1)=xx
  kcol=2*(k-3)
  resul(l,kk,kcol)=resl
  resul(l,kk,kcol+1)=deri
! write(33,*)resul(i,kk,1),resul(i,kk,kcol),resul(i,kk,kcol+1)
enddo ! kk

! calculo das medias
!
!
call qgauss(func,0.d0,absc(nline),ss)
write(9,*)ss

```

```

sa0(k-3)=ss/(absc(nline)-absc(1))

call qgauss(gfunc,0.d0,absc(nline),ss)
sa1(k-3)=ss/(absc(nline)-absc(1))

call qgauss(afunc,0.d0,absc(nline),ss)
sa2(k-3)=ss/(absc(nline)-absc(1))
! write(*,*)absc(1),absc(nline)

enddo ! k

do i=1,nline
  write(5,'(6f14.6)')(orig(l,i,kcol),kcol=1,6)
enddo
nct=11
do kk=1,npoints
  write(3,'(11f10.4)')(resul(l,kk,kcol),kcol=1,nct)
enddo
!
write(9,'(26h limite sup de integracao:,f16.8)')absc(nline)
write(9,'(9h ## lote ,i3,3h ##)')l
write(9,'(18h valor func mÃ©dia,5f16.8)')(sa0(kcol),kcol=1,5)
write(9,'(18h velocidade mÃ©dia,5f16.8)')(sa1(kcol),kcol=1,5)
write(9,'(18h aceleracao mÃ©dia,5f16.8)')(sa2(kcol),kcol=1,5)
write(9,*)
!
! Agora mÃ©dia do modulo da coluna 4
!
do i=1,nline
  absc(i) = orig(l,i,1)
  coef(1,i) = dabs(orig(l,i,4))
enddo
call cubspl(absc,coef,nline,0,0)
!
call qgauss(func,0.d0,absc(nline),ss)
sa0(6)=ss/(absc(nline)-absc(1))

call qgauss(gfunc,0.d0,absc(nline),ss)
sa1(6)=ss/(absc(nline)-absc(1))

call qgauss(afunc,0.d0,absc(nline),ss)
sa2(6)=ss/(absc(nline)-absc(1))
!
write(9,'(26h limite sup de integracao:,f16.8)')absc(nline)
write(9,'(18h uniformida mÃ©dia,f16.8)')sa0(6)

```

```
write(9,'(18h der unifor mÃ©dia,f16.8)')sa1(6)
write(9,'(18h der 2 unif mÃ©dia,f16.8)')sa2(6)
write(9,*)
```

```
close(3)
```

```
enddo ! l (lote)
close(9)
```

```
stop !end of the main program (f90)
```

```
!need to compile the subroutines (f90)
```

```
!
CONTAINS
!
!
subroutine nomearq(i,n,filen,nome)
integer::n
character(14):: nome
character(n):: filen
integer:: i, idiv, imod
idiv=i/10
imod=mod(i,10)
nome=filen//char(48+idiv)//char(48+imod)//'.dat'
return
endsubroutine nomearq
!
!
```

```
double precision function func(xa)
real(8):: xa
func = ppvalu(absc,coef,nline-1,4,xa,0)
endfunction func
```

```
double precision function gfunc(xa)
real(8):: xa
gfunc = ppvalu(absc,coef,nline-1,4,xa,1)
endfunction gfunc
```

```
double precision function afunc(xa)
real(8):: xa
afunc = ppvalu(absc,coef,nline-1,4,xa,2)
endfunction afunc
```

```

!
!!!!!!!!!!!!!!
  SUBROUTINE qgauss(func,a,b,ss)
  REAL(8):: a,b,ss,func
  EXTERNAL func
  INTEGER:: j
  REAL(8):: dx,xm,xr
  real(8), dimension(5):: w, x
  SAVE w,x
  DATA w/.2955242247,.2692667193,.2190863625,.1494513491,.0666713443/
  DATA x/.1488743389,.4333953941,.6794095682,.8650633666,.9739065285/
  xm=0.5*(b+a)
  xr=0.5*(b-a)
  ss=0
  do 11 j=1,5
    dx=xr*x(j)
    ss=ss+w(j)*(func(xm+dx)+func(xm-dx))
11  continue
  ss=xr*ss
  return
  ENDSUBROUTINE qgauss
! (C) Copr. 1986-92 Numerical Recipes Software '5)].
!
!
  SUBROUTINE gauleg(x1,x2,x,w,n)
  INTEGER n
  REAL(8) x1,x2
  real(8), dimension(n):: x, w
!  DOUBLE PRECISION EPS
  real(8), PARAMETER:: EPS=3.d-14
  INTEGER i,j,m
  DOUBLE PRECISION p1,p2,p3,pp,xl,xm,z,z1
  m=(n+1)/2
  xm=0.5d0*(x2+x1)
  xl=0.5d0*(x2-x1)
  do 12 i=1,m
    z=cos(3.141592654d0*(i-.25d0)/(n+.5d0))
1  continue
    p1=1.d0
    p2=0.d0
    do 11 j=1,n
      p3=p2
      p2=p1
      p1=((2.d0*j-1.d0)*z*p2-(j-1.d0)*p3)/j
11  continue
    pp=n*(z*p1-p2)/(z*z-1.d0)

```

```

    z1=z
    z=z1-p1/pp
    if(abs(z-z1).gt.EPS)goto 1
    x(i)=xm-xl*z
    x(n+1-i)=xm+xl*z
    w(i)=2.d0*xl/((1.d0-z*z)*pp*pp)
    w(n+1-i)=w(i)
12 continue
    return
    ENDSUBROUTINE gauleg
! (C) Copr. 1986-92 Numerical Recipes Software '5)].

```

```

!
!*****
!
!
!   subroutine cubspl ( tau, c, n, ibcbeg, ibcend )
! from * a practical guide to splines * by c. de boor
!   ***** input *****
!   n = number of data points. assumed to be .ge. 2.
!   (tau(i), c(1,i), i=1,...,n) = abscissae and ordinates of the
!   data points. tau is assumed to be strictly increasing.
!   ibcbeg, ibcend = boundary condition indicators, and
!   c(2,1), c(2,n) = boundary condition information. specifically,
!   ibcbeg = 0 means no boundary condition at tau(1) is given.
!   in this case, the not-a-knot condition is used, i.e. the
!   jump in the third derivative across tau(2) is forced to
!   zero, thus the first and the second cubic polynomial pieces
!   are made to coincide.)
!   ibcbeg = 1 means that the slope at tau(1) is made to equal
!   c(2,1), supplied by input.
!   ibcbeg = 2 means that the second derivative at tau(1) is
!   made to equal c(2,1), supplied by input.
!   ibcend = 0, 1, or 2 has analogous meaning concerning the
!   boundary condition at tau(n), with the additional infor-
!   mation taken from c(2,n).
!   ***** output *****
!   c(j,i), j=1,...,4; i=1,...,l (= n-1) = the polynomial coefficients
!   of the cubic interpolating spline with interior knots (or
!   joints) tau(2), ..., tau(n-1). precisely, in the interval
!   (tau(i), tau(i+1)), the spline f is given by
!   f(x) = c(1,i)+h*(c(2,i)+h*(c(3,i)+h*c(4,i)/3.)/2.)
!   where h = x - tau(i). the function program *ppvalu* may be
!   used to evaluate f or its derivatives from tau,c, l = n-1,
!   and k=4.

```

```

integer ibcbeg,ibcend,n, i,j,l,m
real*8 c(4,n),tau(n), divdf1,divdf3,dtau,g
!c***** a tridiagonal linear system for the unknown slopes s(i) of
! f at tau(i), i=1,...,n, is generated and then solved by gauss elim-
! ination, with s(i) ending up in c(2,i), all i.
! c(3,.) and c(4,.) are used initially for temporary storage.
l = n-1
!compute first differences of tau sequence and store in c(3,.) also,
!compute first divided difference of data and store in c(4,.)
do 10 m=2,n
c(3,m) = tau(m) - tau(m-1)
10 c(4,m) = (c(1,m) - c(1,m-1))/c(3,m)
!construct first equation from the boundary condition, of the form
! c(4,1)*s(1) + c(3,1)*s(2) = c(2,1)
if (ibcbeg-1) 11,15,16
11 if (n .gt. 2) go to 12
! no condition at left end and n = 2.
c(4,1) = 1.
c(3,1) = 1.
c(2,1) = 2.d0*c(4,2)
go to 25
! not-a-knot condition at left end and n .gt. 2.
12 c(4,1) = c(3,3)
c(3,1) = c(3,2) + c(3,3)
c(2,1) = ((c(3,2)+2.*c(3,1))*c(4,2)*c(3,3)+c(3,2)**2*c(4,3))/c(3,1)
go to 19
! slope prescribed at left end.
15 c(4,1) = 1.
c(3,1) = 0.
go to 18
! second derivative prescribed at left end.
16 c(4,1) = 2.
c(3,1) = 1.
c(2,1) = 3.*c(4,2) - c(3,2)/2.*c(2,1)
18 if(n .eq. 2) go to 25
! if there are interior knots, generate the corresp. equations and car-
! ry out the forward pass of gauss elimination, after which the m-th
! equation reads c(4,m)*s(m) + c(3,m)*s(m+1) = c(2,m).
19 do 20 m=2,l
g = -c(3,m+1)/c(4,m-1)
c(2,m) = g*c(2,m-1) + 3.*(c(3,m)*c(4,m+1)+c(3,m+1)*c(4,m))
20 c(4,m) = g*c(3,m-1) + 2.*(c(3,m) + c(3,m+1))
!construct last equation from the second boundary condition, of the form
! (-g*c(4,n-1))*s(n-1) + c(4,n)*s(n) = c(2,n)
! if slope is prescribed at right end, one can go directly to back-
! substitution, since c array happens to be set up just right for it

```

```

! at this point.
  if (ibcend-1)          21,30,24
21 if (n .eq. 3 .and. ibcbeg .eq. 0) go to 22
! not-a-knot and n .ge. 3, and either n.gt.3 or also not-a-knot at
! left end point.
  g = c(3,n-1) + c(3,n)
  c(2,n) = ((c(3,n)+2.*g)*c(4,n)*c(3,n-1)+ c(3,n)**2*(c(1,n-1)-c(1,n-2)))/c(3,n-
1))/g
  g = -g/c(4,n-1)
  c(4,n) = c(3,n-1)
                                go to 29
! either (n=3 and not-a-knot also at left) or (n=2 and not not-a-
! knot at left end point).
22 c(2,n) = 2.*c(4,n)
  c(4,n) = 1.
                                go to 28
! second derivative prescribed at right endpoint.
24 c(2,n) = 3.*c(4,n) + c(3,n)/2.*c(2,n)
  c(4,n) = 2.
                                go to 28
25 if (ibcend-1)          26,30,24
26 if (ibcbeg .gt. 0)      go to 22
! not-a-knot at right endpoint and at left endpoint and n = 2.
  c(2,n) = c(4,n)
                                go to 30
28 g = -1./c(4,n-1)
!complete forward pass of gauss elimination.
29 c(4,n) = g*c(3,n-1) + c(4,n)
  c(2,n) = (g*c(2,n-1) + c(2,n))/c(4,n)
!carry out back substitution
30 j = 1
40 c(2,j) = (c(2,j) - c(3,j)*c(2,j+1))/c(4,j)
  j = j - 1
  if (j .gt. 0)          go to 40
!***** generate cubic coefficients in each interval, i.e., the deriv.s
! at its left endpoint, from value and slope at its endpoints.
  do 50 i=2,n
    dtau = c(3,i)
    divdf1 = (c(1,i) - c(1,i-1))/dtau
    divdf3 = c(2,i-1) + c(2,i) - 2.*divdf1
    c(3,i-1) = 2.*(divdf1 - c(2,i-1) - divdf3)/dtau
50  c(4,i-1) = (divdf3/dtau)*(6./dtau)
                                return
  endsubroutine cubspl

```

!

```

!
!
! real function ppvalu (break, coef, l, k, x, jderiv )
! from * a practical guide to splines * by c. de boor
!calls interv
!calculates value at x of jderiv-th derivative of pp fct from pp-repr
!c
!c***** i n p u t *****
! break, coef, l, k....forms the pp-representation of the function f
! to be evaluated. specifically, the j-th derivative of f is
! given by
!
!
!  $(d^{**j})f(x) = \text{coef}(j+1,i) + h*(\text{coef}(j+2,i) + h*( \dots (\text{coef}(k-1,i) +$ 
!  $+ h*\text{coef}(k,i)/(k-j-1))/(k-j-2) \dots )/2)/1$ 
!
! with  $h = x - \text{break}(i)$ , and
!
!  $i = \max( 1 , \max( j , \text{break}(j) .\text{le. } x , 1 .\text{le. } j .\text{le. } l ) )$ .
!
! x....the point at which to evaluate.
! jderiv....integer giving the order of the derivative to be evaluat-
! ed. a s s u m e d to be zero or positive.
!
!c***** o u t p u t *****
! ppvalu....the value of the (jderiv)-th derivative of f at x.
!
!c***** m e t h o d *****
! the interval index i, appropriate for x, is found through a
! call to interv. the formula above for the jderiv-th derivative
! of f is then evaluated (by nested multiplication).
!c
! integer jderiv,k,l, i,m,ndummy
! real*8 break(l+1),coef(k,l),x, fmmjdr,h
! ppvalu = 0.
! fmmjdr = k - jderiv
! derivatives of order k or higher are identically zero.
! if (fmmjdr .le. 0.) go to 99
!c
! find index i of largest breakpoint to the left of x.
! call interv ( break, l+1, x, i, ndummy )
!c
! Evaluate jderiv-th derivative of i-th polynomial piece at x.
! h = x - break(i)
! m = k
9 ppvalu = (ppvalu/fmmjdr)*h + coef(m,i)

```



```

    m = m - 1
    fmmjdr = fmmjdr - 1.
    if (fmmjdr .gt. 0.)      go to 9
99      return
endfunction ppvalu

subroutine interv ( xt, lxt, x, left, mflag )
! from * a practical guide to splines * by C. de Boor
! computes left = max( i : xt(i) .lt. xt(lxt) .and. xt(i) .le. x ) .
!c
!c***** i n p u t *****
! xt.....a real sequence, of length lxt , assumed to be nondecreasing
! lxt.....number of terms in the sequence xt .
! x.....the point whose location with respect to the sequence xt is
!   to be determined.
!c
!c***** o u t p u t *****
! left, mflag.....both integers, whose value is
!c
! 1  -1  if      x .lt. xt(1)
! i  0  if  xt(i) .le. x .lt. xt(i+1)
! i  0  if  xt(i) .lt. x .eq. xt(i+1) .eq. xt(lxt)
! i  1  if  xt(i) .lt.   xt(i+1) .eq. xt(lxt) .lt. x
!c
!   In particular, mflag = 0 is the 'usual' case. mflag .ne. 0
!   indicates that x lies outside the CLOSED interval
!   xt(1) .le. y .le. xt(lxt) . The asymmetric treatment of the
!   intervals is due to the decision to make all pp functions cont-
!   inuous from the right, but, by returning mflag = 0 even if
!   x = xt(lxt), there is the option of having the computed pp function
!   continuous from the left at xt(lxt) .
!
!c***** m e t h o d *****
! The program is designed to be efficient in the common situation that
! it is called repeatedly, with x taken from an increasing or decrea-
! sing sequence. This will happen, e.g., when a pp function is to be
! graphed. The first guess for left is therefore taken to be the val-
! ue returned at the previous call and stored in the l o c a l varia-
! ble ilo . A first check ascertains that ilo .lt. lxt (this is nec-
! essary since the present call may have nothing to do with the previ-
! ous call). Then, if xt(ilo) .le. x .lt. xt(ilo+1), we set left =
! ilo and are done after just three comparisons.
! Otherwise, we repeatedly double the difference istep = ihi - ilo
! while also moving ilo and ihi in the direction of x , until
!       xt(ilo) .le. x .lt. xt(ihi) ,
! after which we use bisection to get, in addition, ilo+1 = ihi .

```

```

! left = ilo is then returned.
!c
integer left,lxt,mflag, ihi,ilo,istep,middle
real*8 x,xt(lxt)
data ilo /1/
save ilo
ihi = ilo + 1
if (ihi .lt. lxt)          go to 20
  if (x .ge. xt(lxt))      go to 110
  if (lxt .le. 1)         go to 90
  ilo = lxt - 1
  ihi = lxt
!
20 if (x .ge. xt(ihi))     go to 40
  if (x .ge. xt(ilo))     go to 100
!
!      **** now x .lt. xt(ilo) . decrease ilo to capture x .
  istep = 1
31  ihi = ilo
  ilo = ihi - istep
  if (ilo .le. 1)         go to 35
  if (x .ge. xt(ilo))    go to 50
  istep = istep*2
                                go to 31
35 ilo = 1
  if (x .lt. xt(1))      go to 90
                                go to 50
!      **** now x .ge. xt(ihi) . increase ihi to capture x .
40 istep = 1
41  ilo = ihi
  ihi = ilo + istep
  if (ihi .ge. lxt)      go to 45
  if (x .lt. xt(ihi))    go to 50
  istep = istep*2
                                go to 41
45 if (x .ge. xt(lxt))    go to 110
  ihi = lxt
!
!      **** now xt(ilo) .le. x .lt. xt(ihi) . narrow the interval.
50 middle = (ilo + ihi)/2
  if (middle .eq. ilo)   go to 100
! note. it is assumed that middle = ilo in case ihi = ilo+1 .
  if (x .lt. xt(middle)) go to 53
  ilo = middle
                                go to 50
53  ihi = middle

```

```

                                go to 50
!c**** set output and return.
  90 mflag = -1
    left = 1
                                return
 100 mflag = 0
    left = ilo
                                return
 110 mflag = 1
    if (x .eq. xt(lxt)) mflag = 0
    left = lxt
 111 if (left .eq. 1)          return
    left = left - 1
    if (xt(left) .lt. xt(lxt)) return
    go to 111
end subroutine interv

!
! *****
!
Subroutine sample(nk)
implicit none
integer, parameter::nsit=500
real(8), dimension(nsit,3)::nmag
integer:: nk
write(*,*)nk
return
end subroutine sample

endprogram derivate

```