

OS MODELOS *HYDROTIME* E *HYDROTHERMAL TIME* NA ANÁLISE DA GERMINAÇÃO EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA E POTENCIAL DE ÁGUA

Victor José Mendes Cardoso

Unesp, Instituto de Biociências, Departamento de Botânica, Av.24-A, 1515, Caixa Postal 199, Rio Claro, SP, Brasil, CEP: 13506-900.
E-mail: victorjc@rc.unesp.br

RESUMO

São inúmeros os estudos sobre a germinação de sementes sob a ótica do efeito de fatores ambientais, particularmente a água e a temperatura, considerados os principais fatores do meio na determinação do sucesso do processo germinativo. Por outro lado, nota-se que em grande parte desses estudos os autores ignoram – seja pelo desconhecimento, seja pela pouca familiaridade com o método – algumas ferramentas de análise há muito disponíveis na literatura internacional, as quais podem não apenas auxiliar na interpretação dos dados, como também permitir a modelagem da germinação com base em parâmetros que contenham algum significado biológico e, desse modo, abrir novas perspectivas para avanços na criação de modelos cada vez mais precisos para a previsão do comportamento de populações de sementes no campo. Neste artigo, apresentamos os modelos *hydrotime* e *hydrothermal time* no sentido de familiarizar o leitor com as bases teóricas dos modelos, bem como exemplos de como usá-los na análise de ensaios de germinação.

Palavras-chave: tempo térmico; tempo hídrico; Ψ -graus-dia; sementes

ABSTRACT

MODELING THE GERMINATION RESPONSE TO TEMPERATURE AND WATER POTENTIAL. Many studies on seed germination are carried out testing the effect of environmental factors, particularly water and temperature which are considered the main factors for successfully germination. Moreover, in most of these studies the authors ignore - either by ignorance or by unfamiliarity with the method - some analysis tools available in the scientific literature, which are useful both for data interpretation and modeling of germination based on parameters with biological meaning, thereby open new perspectives for advances in the creation of more accurate models for predicting the behavior of seed populations in the field. In this article, the *hydrotime* and *hydrothermal time* models are introduced in order to familiarize the reader with the theoretical basis of such models and provide examples of how to use them in the analysis of germination assays.

Keywords: thermal time; hydrotime; hydrothermal time; seeds.

INTRODUÇÃO

Em um artigo anterior (Cardoso 2011) foi discutido o uso de um método baseado no conceito de graus-dia (*thermal time*) na análise da dependência térmica da germinação de sementes. Essa dependência pode ser descrita em termos das chamadas “temperaturas cardeais de germinação”, ou seja, as temperaturas mínima (T_b), máxima (T_c) e ótima (T_o) para que o processo ocorra. Em geral, observa-se que a velocidade de germinação (inverso do tempo que semente leva para germinar) aumenta linearmente com a temperatura na faixa térmica infra-ótima (entre T_b e T_o) e decresce com a temperatura a partir de T_o até o limite superior T_c (faixa infra-ótima) (Labouriau 1972). Essa relação linear entre a temperatura (T) e a velocidade de germinação (V) levou à formulação de modelos cujo objetivo é basicamente prever quando a semente irá germinar num ambiente onde T varia constantemente. Para

isso, criou-se o conceito de “tempo térmico” ou “soma térmica”, ou ainda “grau-dia” (*thermal time*), que nada mais é do que um tempo corrigido pelo histórico da variação térmica no período, sendo representado pela fórmula: $\theta_{T(g)} = (T - T_b) \cdot t_g$, onde $\theta_{T(g)}$ é a quantidade de graus-dia ou graus-hora para que uma dada porcentagem g das sementes da população germine, e t_g é tempo ‘real’ para a germinação dessa porcentagem (Garcia-Huidobro *et al.* 1982).

Esse modelo pode ser aplicado para situações que T oscile dentro da faixa térmica infra-ótima e haja plena disponibilidade de água para a semente. Evidentemente, tais condições nem sempre se verificam no campo onde, além da temperatura, uma eventual redução do potencial de água (Ψ) no solo pode acarretar a diminuição das taxas de absorção de água, devido à redução do gradiente de Ψ entre a semente e o solo. Por outro lado, esse decréscimo da taxa de absorção de água pela semente depende também da resistência dos tegumentos/

envoltórios, da área de contato entre a semente e o solo, e da própria temperatura (Finch-Savage 2004). Apesar da relativa complexidade das relações que governam o processo de embebição de água pela semente, diversos modelos baseados em diferentes pressupostos vêm sendo testados com o intuito de prever da maneira mais acurada possível o comportamento da semente no campo. Um trabalho pioneiro foi realizado por Gummerson (1986), que propôs o conceito de *hydrotime*, termo que até o momento não encontra uma tradução ‘oficial’ para o português, mas que, sendo equivalente ao conceito de graus-dia (*thermal time*), poderia ser traduzido para “ Ψ -dia” ou “tempo hídrico”. Além de analisar a germinação em resposta ao potencial hídrico, o modelo proposto por Gummerson também levava em consideração o fator temperatura, sendo denominado “*hydrothermal time*”, ou algo equivalente a “ Ψ -graus-dia”. Desde então, diversos trabalhos que buscam analisar a resposta germinativa de populações de sementes à água e à temperatura vem se baseando nos fundamentos do modelo “ Ψ -graus-dia”, evidentemente introduzindo adaptações que buscam aperfeiçoar o modelo como ferramenta para descrever a germinação no ambiente natural, caracterizado pela contínua flutuação de variáveis abióticas. Neste artigo, o objetivo é re-abordar o conceito de grau-dia apresentado anteriormente (Cardoso 2011) sob a ótica do potencial de água, apresentando uma breve revisão sobre os fundamentos teóricos e a aplicação dos modelos “*hydrotime*” e “*hydrothermal time*”, visando familiarizar o pesquisador de sementes com mais essa ferramenta que pode vir a auxiliá-lo na análise de seus resultados e permitir inferências mais abrangentes como, por exemplo, em que medida a umidade do solo pode afetar o grau de dormência da semente (Batlla & Benech-Arnold 2006) ou relação de dependência entre parâmetros térmicos e hídricos na germinação (Simão *et al.* 2010).

O CONCEITO DE Ψ -DIA (*hydrotime*) NA GERMINAÇÃO

Para que a germinação ocorra é necessário, antes de tudo, que haja hidratação dos tecidos da semente e que as células alcancem um potencial de água suficiente para que ocorra a expansão (alongamento) celular. A hidratação (embebição),

por sua vez, depende da existência de um gradiente entre os valores dos potenciais de água (Ψ) do meio e da semente, sendo que a intensidade e a velocidade do processo irão depender do tamanho desse degrau. Em outras palavras, quanto mais negativo o Ψ da semente em relação ao Ψ do meio, maior a embebição. Assumindo-se uma condição de equilíbrio dinâmico entre os potenciais de água do meio e da semente, existe um Ψ_{meio} mínimo ou base para que a germinação ocorra, sendo que nessa condição limite o Ψ_{semente} é referido como Ψ_{base} ou Ψ_b . O conceito de Ψ -dia ou *hydrotime* permite compreender e quantificar o quanto a germinação é modificada pela disponibilidade de água, tratando o efeito da redução do Ψ_{meio} de um modo similar ao efeito de temperaturas baixas (Bradford 2004). Em sua formulação inicial, o modelo Ψ -dia fundamentava-se – a exemplo do modelo graus-dia – na hipótese de que a ordem de germinação de cada semente num universo de n sementes (tamanho da amostra ou população) é independente da temperatura, embora esse fator afete o tempo que cada semente leva para germinar. Essa característica permite que as sementes sejam agrupadas hierarquicamente em ‘frações’ percentuais (g), por exemplo, $g = 10\%$, 20% , 30% , etc. Num universo de, digamos, 100 sementes, uma semente $g = 10\%$ está entre as 10 primeiras que germinam num dado conjunto de condições (água, temperatura, etc), enquanto que uma semente do grupo $g = 90$ só irá germinar após quase 90 sementes terem concluído o processo nessas mesmas condições ambientais. Em outras palavras, uma semente $g = 10\%$ é mais ‘rápida’ do que uma $g = 90\%$, sendo essa diferença entre as sementes responsável pela distribuição da germinação ao longo de certo tempo, produzindo as características curvas sigmoidais. Também de maneira similar ao modelo *thermal time*, o modelo Ψ -dia assume que a velocidade de germinação correspondente a uma dada fração percentual – por exemplo, $g = 50\%$ – é relacionada linearmente com o potencial de água (Ψ) do meio (Gummerson 1986).

No caso do modelo *thermal time*, a relação entre os tempos de germinação de uma dada fração percentual (t_g) e a quantidade de graus-dia necessária para que tal fração germine ($\theta_{T(g)}$) é dada pela equação:

$$\theta_{T(g)} = (T-T_b)t_g \therefore t_g = \theta_{T(g)}/(T-T_b) \therefore 1/t_g = (T-T_b)/\theta_{T(g)} \quad (1)$$

onde T_b representa a temperatura mínima ou base para que a germinação ocorra. De acordo com a

equação, a variação nos tempos de germinação das sementes numa temperatura T pode em princípio ser atribuída a variações tanto em T_b como em $\theta T_{(g)}$, embora a maioria dos resultados mostre que T_b varia pouco (ou praticamente não varia) entre as sementes de uma população. Assim, se todas as sementes têm uma mesma T_b , a quantidade de graus-dia ($\theta T_{(g)}$) para que uma dada fração percentual g germine é constante, mas as sementes (identificadas pelas respectivas frações) diferem entre si em termos de necessidade de graus dia para completar a germinação, ou seja, a distribuição dos tempos de germinação ocorreria principalmente em função de $\theta T_{(g)}$ (Bradford 1995).

Num trabalho clássico, Gummerson (1986) propôs que a resposta de sementes ao Ψ pode ser descrita por intermédio de uma escala semelhante à usada no modelo graus-dia, levando-se em conta que a velocidade da germinação decresce com a redução do Ψ do meio, como ilustrado na Figura 1. Observa-se que as retas que descrevem esse decréscimo da velocidade para as frações 10%, 50% e 90% são paralelas, apresentando, portanto, uma mesma inclinação (b) cuja recíproca ($1/b$) corresponde à constante *hydrotime* ou Ψ -dia (θ_H), ao passo que os interceptos (ponto em que a linha intercepta a abscissa) correspondem aos potenciais hídricos base (Ψ_{b_g}) relativos a cada uma das frações. Essa relação entre os tempos de germinação e o potencial de água do meio é descrita pela equação (Gummerson 1986):

$$\theta_H = (\Psi - \Psi_{b_g})t_g \therefore t_g = \theta_H / (\Psi - \Psi_{b_g}) \therefore 1/t_g = (\Psi - \Psi_{b_g}) / \theta_H \quad (2)$$

Sendo θ_H constante (as inclinações são paralelas, conforme Figura 1), num dado potencial de água a velocidade de germinação depende basicamente da variação de Ψ_{b_g} , ou seja, o tempo de germinação (t_g) é inversamente proporcional à diferença entre Ψ e Ψ_{b_g} ($= \Delta\Psi_g$), significando que quanto menor (mais negativo) for Ψ_{b_g} , maior será $\Delta\Psi_g$ e, portanto, menor o tempo de germinação (maior a velocidade). Boa parte dos trabalhos, realizados principalmente com sementes de espécies agrícolas, mostra que a distribuição de Ψ_{b_g} aproxima-se do padrão normal, conforme mostrado na Figura 2A (Bradford & Still 2004).

Assim, dentro de um lote de sementes, o padrão de distribuição de Ψ_{b_g} é o que basicamente determinaria a distribuição dos tempos de germinação num determinado potencial de água, responsável pela característica curva sigmoideal ilustrada na Figura 2B.

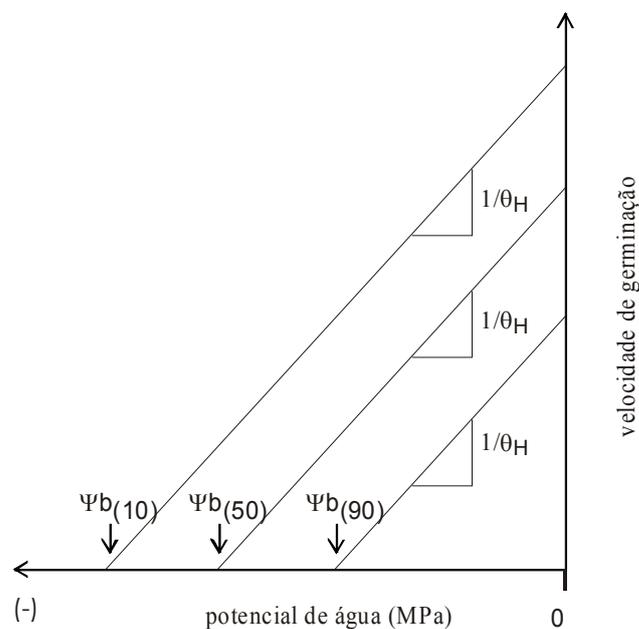


Figura 1. Relação entre velocidade de germinação e potencial de água do meio. As velocidades correspondem às recíprocas dos tempos de germinação para as frações 10% (linha inclinada externa), 50% (linha inclinada intermediária) e 90% (linha inclinada interna). Setas indicam os respectivos Ψ_b (Bradford 1995).

Figure 1. The relationship between germination rate and water potential in the medium. The rates are the reciprocal of the times for germination of the fractions 10% (external oblique line), 50% (intermediate oblique line) and 90% (internal oblique line). The arrow shows the respective Ψ_b (Bradford 1995).

Logicamente, quando se comparam diferentes lotes, populações ou espécies, as sementes poderão diferir não só em relação aos parâmetros de Ψ_{b_g} (média e desvio padrão), como também em termos de θ_H , o que em última análise irá determinar a distribuição dos tempos de germinação e, por conseguinte, as formas das curvas de germinação num determinado meio.

O modelo explicaria não apenas a variação das velocidades de germinação, mas também a redução da capacidade de germinação (germinabilidade) que se observa quando sementes são embebidas em soluções de potenciais osmóticos suficientemente baixos. Isso ocorre porque, se considerarmos que a sensibilidade da semente ao Ψ é determinada pelo seu Ψ_{b_g} , e levando-se em conta que as sementes de uma população apresentam diferentes valores de Ψ_{b_g} , sempre que o potencial osmótico do meio (Ψ) for igual ou menor do que o Ψ_{b_g} , isso resultará num valor zero ou num valor negativo do termo $(\Psi - \Psi_{b_g})$ da equação (2), o que significa que essa semente não irá germinar nesse Ψ . Em outras palavras, numa amostra em que a totalidade das sementes esteja viável, se, por exemplo, 40% das sementes apresentarem valores de Ψ_{b_g}

iguais ou superiores ao do Ψ_s do meio, então apenas 60% das sementes irão completar o processo de germinação nesse Ψ_s .

Em suma, a constante θ_H representa a quantidade total de *hydrotime* ou Ψ -dia (MPa-dia) que uma semente necessita para completar a germinação, sendo que o inverso de θ_H corresponde à taxa de progresso em direção à germinação – na prática, à velocidade do processo – por unidade de diferença entre o Ψ_{meio} e o $\Psi b_{(g)}$ (Bradford 1995).

ESTIMATIVA DOS PARÂMETROS DA DISTRIBUIÇÃO DE $\Psi b_{(g)}$

Com base no item anterior, para se obter uma curva de germinação esperada num dado Ψ_s é necessário, antes de tudo, determinarem-se os parâmetros da distribuição dos valores de $\Psi b_{(g)}$ dentro da amostra de sementes. Conforme já mencionado, considerando-se que a variação de $\Psi b_{(g)}$ é aproximadamente normal (Bradford 1995), os parâmetros da distribuição podem ser estimados por análise probítica. De qualquer modo, é aconselhável testar-se a distribuição dos valores de $\Psi b_{(g)}$ entre diferentes frações, conforme a Figura 1. Basicamente,

o objetivo da análise probítica é linearizar uma curva dose-resposta sigmoidal, facilitando assim a estimativa da resposta do organismo a uma determinada dose de um fator qualquer (Finney 1952). No caso, estamos analisando o efeito do Ψ (dose) sobre a germinação (resposta), e também assumindo que a distribuição do fator $\Psi b_{(g)}$ é determinante na resposta da semente. Portanto, a análise deverá ser feita sobre a relação entre $\Psi b_{(g)}$ – nesse caso, a ‘dose’ – e a germinação, obedecendo-se às seguintes etapas:

1. Obter as curvas de germinação em diferentes potenciais osmóticos;
2. Usando uma planilha eletrônica (como o Excel®), organizar os dados de cada curva em sequência, dispondo-se na primeira coluna os tempos (horas ou dias) e na segunda coluna as respectivas porcentagens acumuladas de germinação (g), conforme ilustrado na Tabela 1;
3. Converter as porcentagens em probit (recurso INV. NORM da planilha eletrônica Excel®);
4. Para cada tempo (t_g), estimar os respectivos valores de $\Psi b_{(g)}$ (conforme descrito abaixo);
5. Gerar uma linha de regressão linear de probit(g) versus $\log \Psi b_{(g)}$, conforme ilustrado na Figura 3;

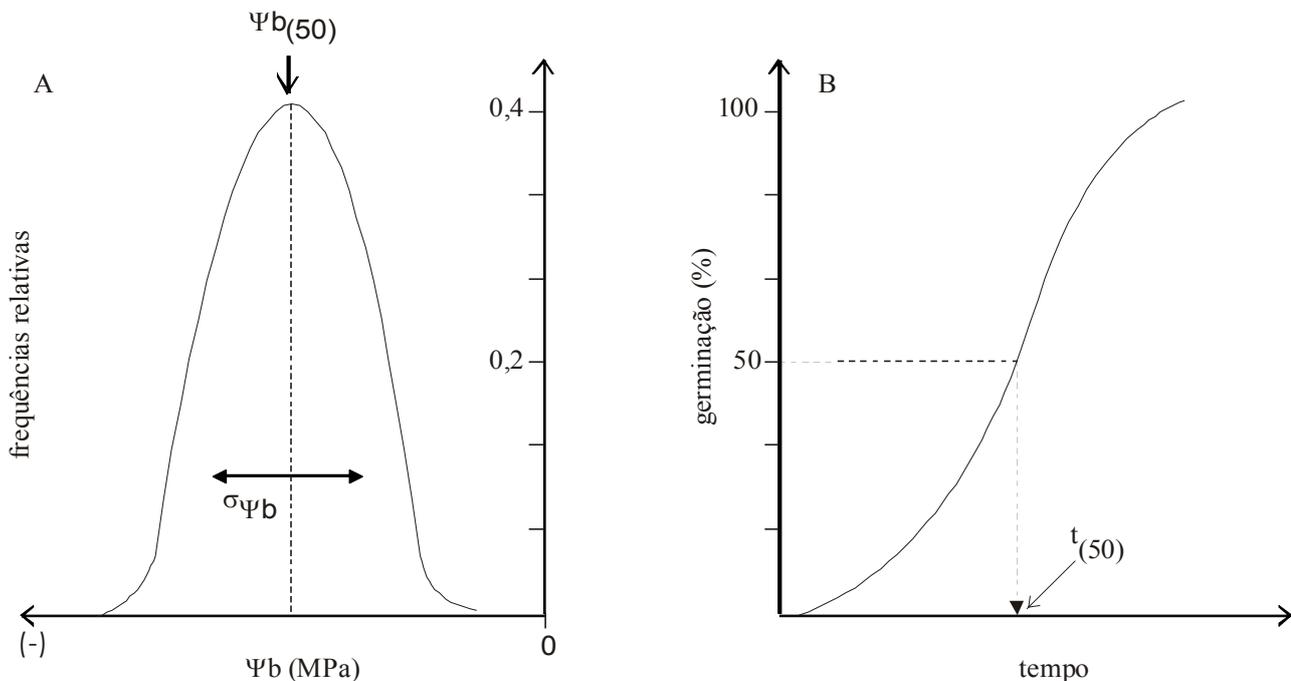


Figura 2. A. Distribuição normal de Ψb numa população de sementes, descrita pelos parâmetros média ($\Psi b_{(50)}$) e desvio padrão ($\sigma_{\Psi b}$) (Bradford & Still 2004). B. Curva de germinação típica, de forma sigmoidal, mostrando o tempo para germinação de 50% das sementes ($t_{(50)}$).

Figure 2. A. The normal distribution of Ψb values within a seed population, characterized by the mean ($\Psi b_{(50)}$) and standard deviation ($\sigma_{\Psi b}$) (Bradford & Still 2004). B. Typical sigmoidal germination timecourse, showing the time to 50% of the seeds germinate ($t_{(50)}$).

6. Experimentar diferentes valores de θ_H (Tabela 1) até se obter o melhor ajuste dos pontos, isto é, até que se observe o maior coeficiente de determinação (R^2). Pode-se começar por um valor de θ_H correspondente à recíproca da inclinação da reta de regressão da velocidade de germinação (1/tempo para 50% da germinação) sobre Ψ (MPa).

Note que os valores de $\Psi b_{(g)}$ na quinta coluna da Tabela 1 devem ser calculados automaticamente pela planilha a partir do valor de θ_H lançado na quarta coluna, de acordo com a seguinte equação, obtida a partir da equação (2):

$$\Psi b_{(g)} = \Psi - \theta_H/t_g \quad (3)$$

Em outras palavras, na quinta coluna deve-se instruir a planilha a executar a operação $\Psi - \theta_H/t_g$ (Tabela 1), a partir dos valores de θ_H inseridos pelo usuário. Este, à medida que vai experimentando os diferentes valores de θ_H na segunda linha da quarta coluna, deve ficar atento ao R^2 da reta de regressão de probit(g) em $\Psi b_{(g)}$ (Figura 3). Quando se atinge o maior valor de R^2 , não é necessário mexer-se mais em θ_H .

Uma vez gerada a reta de regressão de melhor

Tabela 1. Exemplo de arranjo de uma planilha para estimativa dos parâmetros da distribuição de $\Psi b_{(g)}$ pelo método de regressão probítica. Diferentes valores de θ_H (4ª coluna) são experimentados até se obter o maior R^2 da regressão de probit (g) em $\Psi b_{(g)}$ (6ª e 5ª colunas, respectivamente). Os valores gerados na coluna $\Psi b_{(g)}$ correspondem à expressão $\Psi - \theta_H/t_g$, cujos termos estão na 3ª, 4ª e 1ª colunas, respectivamente. A média (9ª coluna) é o valor de Ψb correspondente ao probit de valor 5 (probit mediano), estimada a partir da regressão, e o desvio (última coluna) é a recíproca da inclinação da reta de regressão (8ª coluna). Dados baseados em Bradford (1995). G (%) é a germinação acumulada expressa em porcentagem.

Table 1. Example of worksheet for estimating parameters of the $\Psi b_{(g)}$ distribution by the probit regression method. Different θ_H values (4ª column) are tried until the best fit (higher R^2) to the regression of probit (g) on $\Psi b_{(g)}$ (6ª and 5ª column, respectively). The $\Psi b_{(g)}$ values correspond to $\Psi - \theta_H/t_g$, whose terms are displaced in the 3ª, 4ª and 1ª columns, respectively. The mean (9ª column) is the Ψb corresponding to median probit and it was estimated from the regression line; and the deviation (last column) is the inverse of the slope (8ª column). Data based on Bradford (1995). G (%) is the cumulative germination percentage.

tempo (t_g) (h)	G (%)	Ψ (MPa)	θ_H	$\Psi b_{(g)}$	probit (g)	intercepto	inclinação	media	desvio
110	7,9	0,0	180	-1,63	3,588	10,79	3,97	-2,71	0,251
120	41,8	0,0		-1,50	4,792				
125	51,1	0,0		-1,44	5,027				
128	58,1	0,0		-1,40	5,204				
130	78,1	0,0		-1,38	5,775				
135	83,0	0,0		-1,33	5,954				
140	87,4	0,0		-1,28	6,145				
155	89,3	0,0		-1,16	6,242				
165	92,0	0,0		-1,09	6,405				
180	94,0	0,0		-1,00	6,554				
120	6,0	-0,2		-1,70	3,445				
125	11,6	-0,2		-1,64	3,804				
130	42,8	-0,2		-1,58	4,818				
135	56,7	-0,2		-1,53	5,168				
140	58,6	-0,2		-1,48	5,217				
155	74,4	-0,2		-1,36	5,655				
165	81,0	-0,2		-1,29	5,877				
180	87,4	-0,2		-1,20	6,145				
185	88,3	-0,2		-1,17	6,190				
205	89,3	-0,2		-1,07	6,242				
225	90,2	-0,2		-1,00	6,293				
230	90,7	-0,2		-0,98	6,322				
130	3,7	-0,4		-1,78	3,213				
135	12,1	-0,4		-1,73	3,829				
140	21,4	-0,4		-1,68	4,207				
155	40,0	-0,4		-1,56	4,746				
165	48,8	-0,4		-1,49	4,969				
180	66,0	-0,4		-1,40	5,412				
185	70,7	-0,4		-1,37	5,544				
205	81,0	-0,4		-1,27	5,877				
225	85,6	-0,4		-1,20	6,062				
230	87,4	-0,4		-1,18	6,145				
250	89,3	-0,4		-1,12	6,242				

ajuste (maior R²), obtém-se a média ($\mu = \Psi b_{(50)}$) – valor no eixo X correspondente ao probit 5 (= 50% da germinação) – e o desvio padrão (σ) da distribuição de $\Psi b_{(g)}$, correspondente ao inverso da inclinação b (Figura 3). Na análise probítica, essa reta é descrita pela equação (Finney 1952):

$$y = (x - \mu) / \sigma \quad (4)$$

Sendo $x = \Psi - (\theta_H / t_g)$ e $\mu = \Psi b_{(50)}$, no presente caso a equação (4) pode ser reescrita como (Bradford 1995):

$$\text{probit}(g) = [\Psi - (\theta_H / t_g) - b_{(50)}] / \sigma_{\Psi b} \quad \therefore t_g = \theta_H / [\Psi - (\text{probit}(g) \cdot \sigma) - \Psi b_{(50)}] \quad (5)$$

Conhecendo-se, portanto, os parâmetros μ e σ da distribuição de $\Psi b_{(g)}$, a partir da equação (5) pode-se estimar o tempo cronológico (t) esperado para que uma determinada porcentagem g de sementes germine num dado potencial de água (Ψ).

Ψ -GRAU-DIA (HYDROTHERMAL TIME)

Considerando-se que a germinação ocorre sempre numa dada temperatura ou regime térmico, Gummerson (1986) estendeu o conceito de *hydrotime* de modo a combinar num único modelo os efeitos do Ψ e da temperatura. Para tanto, ele assumiu que a temperatura base (Tb) não varia entre as sementes e é independente do Ψ , e que $\Psi b_{(g)}$ é independente da

temperatura. De acordo com o modelo, a quantidade acumulada de graus-dia ($\theta_{T(g)}$) ou ‘tempo térmico’ de germinação é inversamente proporcional à diferença entre o e o $\Psi b_{(g)}$, de acordo com a seguinte equação (Finch-Savage 2004):

$$\theta_{T(g)} = \theta_{HT} / (\Psi - \Psi b_{(g)}) \quad (6)$$

onde θ_{HT} é uma constante denominada Ψ -*grau-dia* ou *hydrothermal time*.

Combinando-se as equações (1) e (6), Gummerson (1986) propôs o seguinte modelo para descrever a germinação em condições variáveis de T e Ψ :

$$\theta_{HT} = (\Psi - \Psi b_{(g)}) (T - T_b) t_g \quad \therefore t_g = \theta_{HT} / [(\Psi - \Psi b_{(g)}) (T - T_b)] \quad \therefore \Psi b_{(g)} = \Psi - \{ \theta_{HT} / [(T - T_b) t_g] \} \quad (7)$$

Assim como no modelo Ψ -*dia* (*hydrotime*) descrito acima, a aplicação da equação (7) assume que, além de Tb ser constante, a distribuição dos tempos de germinação é uma função da distribuição de $\Psi b_{(g)}$ entre as sementes da população. Sendo θ_{HT} constante, pela equação (7) pode-se concluir que o tempo para a germinação de uma fração g de sementes depende das diferenças entre Ψ e $\Psi b_{(g)}$, e entre T e Tb, de modo que, quanto maior a diferença, menor será t_g (ou mais rápida será a germinação).

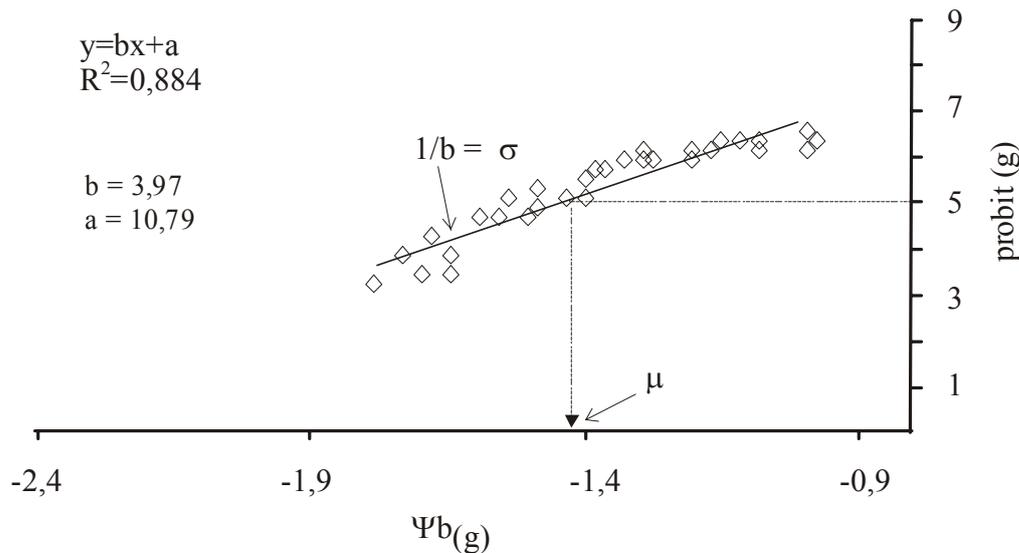


Figura 3. Análise probítica dos dados apresentados na Tabela 1, mostrando a regressão das porcentagens de germinação – transformadas em probit (probit (g)) – em $\Psi b_{(g)}$. A recíproca da inclinação da reta de regressão corresponde ao desvio padrão de $\Psi b_{(g)}$ (σ), e μ é a média (= $\Psi b_{(50)}$) da distribuição de $\Psi b_{(g)}$. $\Psi b_{(g)} = \Psi - \theta_H / t_g$. Dados baseados em Bradford (1995).

Figure 3. Probit analysis of data in Table 1, showing the regression of the probit-transformed percentages on $\Psi b_{(g)}$. The inverse of the slope is the standard deviation (σ) of $\Psi b_{(g)}$ and μ is the midpoint of the regression line (= $\Psi b_{(50)}$). $\Psi b_{(g)} = \Psi - \theta_H / t_g$. Figure based on data in Bradford (1995).

Assumindo-se uma distribuição normal dos valores de $\Psi b_{(g)}$, pode-se aplicar o método da regressão probítica para a estimativa dos parâmetros da distribuição e, assim, proceder à modelagem da germinação. O procedimento é semelhante ao descrito acima, combinando-se numa só regressão as porcentagens diárias de germinação de experimentos realizados em diferentes potenciais osmóticos e temperaturas, como ilustrado na Tabela 2. Elabora-se um gráfico de $\text{probit}(g)$ versus $\Psi b_{(g)}$ (vide Figura 3) e obtém-se a reta de regressão dos pontos. A exemplo do modelo *hydrotime*, diferentes valores de θ_{HT} são experimentados até se obter o melhor ajuste (maior R^2), lembrando que nesse caso a coluna $\Psi b_{(g)}$ corresponde à expressão $\Psi - \{\theta_{HT}/[(T-Tb)t_g]\}$, derivada da equação (7). Uma vez calculados os parâmetros μ ($= \Psi b_{(50)}$) e σ da distribuição de $\Psi b_{(g)}$, para se estimar os tempos de germinação numa dada temperatura e num dado Ψ usa-se a seguinte equação (Finch-Savage 2004), que corresponde à equação (4):

$$\text{probit}_{(g)} = \{[\Psi - \theta_{HT}/(T-Tb)t_g] - \Psi b_{(50)}\} / \sigma_{\Psi b} \quad \therefore \quad t_g = [\theta_{HT}/(\Psi - \text{probit}_{(g)} \cdot \sigma_{\Psi b} - \Psi b_{(50)}) / (T-Tb)] \quad (8)$$

Por exemplo, considerando-se os dados da Tabela 2, qual seria o tempo esperado para que, digamos, 42,8% das sementes germinasse à temperatura $T = 14^\circ\text{C}$ e $\Psi = -0,2\text{MPa}$? Aplicando-se a equação (8) e considerando $Tb = 3,2^\circ\text{C}$:

$$t_g = [1922/(-0,2-4,81853 \cdot 0,239 - (-2,62))/(14-3,2)] \rightarrow t_g = 140,3\text{h}$$

O resultado (140,3horas) pode ser comparado com o valor observado de 130h (7ª linha na Tabela 2). Alternativamente, usando-se a equação da reta da regressão probítica – $\text{probit}_{(g)} = a + b \cdot \Psi b_{(g)}$ – pode-se estimar t_g para qualquer fração percentual. Por exemplo, se considerarmos os parâmetros da regressão $a = 10,927$ e $b = 4,173$, e usando-se os mesmos valores de Tb e θ_{HT} do exemplo anterior, para se calcular o tempo para, digamos, 70% das sementes germinarem em água destilada ($\Psi = 0$) à temperatura de 15°C , basta executar o seguinte procedimento:

$$\text{probit}_{(g)} = a + b \Psi b_{(g)} \quad \therefore \quad \text{probit}_{(g)} = a + b \{ \Psi - [\theta_{HT}/((T-Tb)t_g] \} \quad \therefore \quad t_g = \{ \theta_{HT} / [\Psi - (\text{probit}_{(g)} - a) / b] / (T-Tb) \} \quad (9)$$

Atribuindo-se os respectivos valores do exemplo aos termos da equação (9), temos:

$$t_{70} = \{ 1922 / [0,0 - (\text{probit}_{(70)} - 10,927) / 4,173] / (15 - 3,2) \} \rightarrow t_{70} \cong 126 \text{ horas}$$

Ou seja, de acordo com o modelo, o tempo previsto para 70% das sementes germinarem em $\Psi = 0$ e $T = 15^\circ\text{C}$ será de aproximadamente 126h.

O modelo apresentado na equação (7) assume que, para uma dada fração percentual, os valores de $\Psi b_{(g)}$ são relativamente independentes da temperatura, ou seja, variam pouco (ou não variam) com T . Isso significa que, num determinado Ψ , quanto maior a temperatura, ou seja, quanto maior a diferença entre T e Tb , menor será o tempo de germinação. Como mencionam Bradford (2004) e Finch-Savage (2004), isso pode ser válido quando o ensaio é realizado com temperaturas da faixa infra-ótima, na qual a velocidade de germinação aumenta com T , mas não com temperaturas da faixa supra-ótima, onde a velocidade é uma função decrescente de T . Como exemplificado em trabalho realizado por Alvarado & Bradford (2002) com sementes de *Solanum tuberosum* L., os valores de $\Psi b_{(g)}$ variam pouco em temperaturas infra-ótimas, mas em temperaturas acima de To há uma sensível mudança nas taxas de variação, com $\Psi b_{(g)}$ aumentando (tornando-se menos negativo) rapidamente com a elevação da temperatura (Figura 4). Esse aumento nos valores de $\Psi b_{(g)}$ seria acompanhado por uma estabilização de $\theta T_{(g)}$, ou seja, a semente pararia de acumular ‘graus-dia’ na faixa supra-ótima, de modo que o termo $T-Tb$ da equação (1), tendo atingido seu valor máximo em To , deixa de variar quando a temperatura aumenta além desse limite (Finch-Savage 2004). Na prática, isso equivale dizer que, quando $T > To$, o termo $T-Tb$ na equação (7) pode ser substituído por $To-Tb$.

Portanto, a partir da equação básica do modelo *hydrothermal time* (7), para que esse possa descrever a resposta da semente ao longo de todo o intervalo térmico entre Tb e Tc , as seguintes condições são assumidas:

- Quando T menor do que To , com o aumento da temperatura, o termo $(\Psi - \Psi b_{(g)})$ da equação (7) irá variar relativamente pouco, ao passo que o termo $(T-Tb)$ aumentará, fazendo assim com que t_g diminua (velocidade de germinação aumenta);
- Quando T maior do que To , com o aumento da temperatura, o termo $(\Psi - \Psi b_{(g)})$ da equação (7) irá diminuir devido ao aumento de $\Psi b_{(g)}$ (Figura 4), enquanto que o termo $(T-Tb)$ permanecerá constante ($T-Tb = To-Tb$), fazendo assim com que t_g aumente e, portanto, a velocidade de germinação diminua.

A partir da Figura 4 pode-se constatar também

que, tendo $\Psi b_{(g)}$ atingido o valor zero, a semente deixaria de germinar mesmo em água destilada, já que o termo $\Psi - \Psi b_{(g)}$ da equação (7) teria valor nulo. De acordo com Alvarado & Bradford (2002), isso explicaria o efeito térmico supra-ótimo, onde a capacidade da semente germinar também é reduzida com o aumento da temperatura. Em suma, o decréscimo da germinação na faixa supra-ótima seria uma consequência do efeito da temperatura sobre $\Psi b_{(g)}$.

Para tornar mais abrangente o modelo descrito na equação (7), Alvarado & Bradford (2002) propuseram uma modificação que levasse em conta o desvio de $\Psi b_{(g)}$ para valores maiores com o aumento da temperatura (Figura 4). Considerando-se linear essa variação de $\Psi b_{(g)}$, com um coeficiente de inclinação da reta igual a k_T , quando $T > T_o$ propôs-se a adição do termo $k_T(T - T_o)$ ao valor de $\Psi b_{(g)}$ (Alvarado & Bradford 2002):

$$\Psi b_{(g)T > T_o} = \Psi b_{(g)T_o} + k_T(T - T_o) \tag{10}$$

onde $\Psi b_{(g)T_o}$ representa a distribuição de $\Psi b_{(g)}$ em T_o ou à temperatura aonde $\Psi b_{(g)}$ passa a aumentar acentuadamente com o aumento de T (Figura 4). Com isso, e considerando-se também que na faixa supra-ótima $T - T_b \Leftrightarrow T_o - T_b$, para se aplicar a equação (7) aos casos de temperaturas supra-ótimas, esta deve ser modificada para (Bradford 2002):

$$\theta_{HT} = \{\Psi - [\Psi b_{(g)T_o} + k_T(T - T_o)]\} / [(T_o - T_b)t_g - k_T(T - T_o)] \therefore \Psi b_g = \Psi - \theta_{HT} / [(T_o - T_b)t_g - k_T(T - T_o)] \tag{11}$$

Novamente, para se descobrir os parâmetros da distribuição de $\Psi b_{(g)}$, procede-se à análise probítica de acordo com a equação (4), que adquire a seguinte forma:

$$y = (x - \mu) / \sigma \rightarrow \text{probit}(g) = \{ \{ -\theta_{HT} / [(T_o - T_b)t_g] - k_T(T - T_o) \} - \Psi b_{s0} \} / \sigma_{\Psi b} \tag{12}$$

Na planilha ilustrada na Tabela 3, diferentes valores dos parâmetros θ_{HT} , T_o e k_T vão sendo sistematicamente experimentados até o melhor ajuste da reta de regressão das porcentagens de germinação

Tabela 2. Exemplo de planilha para estimativa dos parâmetros da distribuição de $\Psi b_{(g)}$ no modelo *hydrothermal time* (Ψ -grau-dia), pelo método de regressão probítica. Diferentes valores de θ_{HT} são experimentados até se obter o maior R^2 da regressão de $\text{probit}(g)$ em $\Psi b_{(g)}$. $\Psi b_{(g)} = \Psi - \{ \theta_{HT} / [(T - T_b)t_g] \}$. Dados meramente ilustrativos.

Table 2. Example of worksheet for estimating parameters of the $\Psi b_{(g)}$ distribution according to the hydrothermal time model, by the probit regression method. Different θ_{HT} values are tried until the best fit to the regression of $\text{probit}(g)$ on $\Psi b_{(g)}$. $\Psi b_{(g)} = \Psi - \{ \theta_{HT} / [(T - T_b)t_g] \}$. Data merely illustrative.

T (°C)	tempo (h)	G (%)	Ψ (MPa)	θ_{HT}	$\Psi b_{(g)}$	probit (g)	intercepto	inclinação	media(μ)	desvio(σ)
14	110	7,9	0,0	1922	-1,61	3,588	10,92	4,17	-2,62	0,239
14	120	41,8	0,0		-1,48	4,792				
14	125	51,1	0,0		-1,42	5,027				
14	120	6,0	-0,2		-1,68	3,445				
14	125	11,6	-0,2		-1,62	3,804				
14	130	42,8	-0,2		-1,56	4,818				
14	130	3,7	-0,4		-1,76	3,213				
14	135	12,1	-0,4		-1,71	3,829				
14	140	21,4	-0,4		-1,67	4,207				
16	95	19,5	0,0		-1,58	4,140				
16	98	40,4	0,0		-1,53	4,756				
16	100	48,4	0,0		-1,50	4,959				
16	100	4,6	-0,2		-1,70	3,315				
16	110	11,6	-0,2		-1,56	3,804				
16	120	41,8	-0,2		-1,45	4,792				
16	120	6,5	-0,4		-1,65	3,485				
16	125	10,2	-0,4		-1,60	3,729				
16	128	13,0	-0,4		-1,57	3,873				
18	75	6,0	0,0		-1,73	3,445				
18	78	9,7	0,0		-1,66	3,701				
18	80	12,1	0,0		-1,62	3,829				
18	95	11,2	-0,2		-1,50	3,784				
18	98	20,9	-0,2		-1,52	4,190				
18	104	27,9	-0,2		-1,44	4,414				
18	100	3,7	-0,4		-1,69	3,213				
18	110	8,4	-0,4		-1,58	3,621				
18	120	27,9	-0,4		-1,48	4,414				

(G) transformadas nos respectivos probits sobre $\Psi b_{(g)}$, que resulte também em valores de $\Psi b_{(50)}$ (μ) e $\sigma_{\Psi b}$ próximos aos valores de μ e $\sigma_{\Psi b}$ obtidos para temperaturas infra-ótimas (Tabela 2 e equação (8)) (Bradford 2002). Esse procedimento visa permitir que a distribuição dos pontos referentes a todas as temperaturas (infra e supra-ótimas) possa ser representada numa única escala de *thermal time*. Tendo sido determinados os parâmetros θ_{HT} , μ e $\sigma_{\Psi b}$, os tempos de germinação esperados para qualquer temperatura ($T > T_0$) e Ψ podem ser determinados a partir da equação (12), apenas isolando-se o termo t_g :

$$t_g = \{\theta_{HT} / [\Psi - \text{probit}_{(g)} \sigma_{\Psi b} - \Psi b_{50} - k_T (T - T_0)]\} / (T_0 - T_b) \quad (13)$$

Usando-se as equações (7) e (11) é possível descrever e prever o comportamento germinativo, em termos de velocidade e germinabilidade, em qualquer condição de temperatura e potencial de água, ressaltando-se apenas que a equação (7) aplica-se quando T menor do que T_0 , e a equação (11) quando T igual ou maior do que T_0 .

CONCLUSÕES

Este artigo não pretende abordar todos os aspectos da modelagem da resposta das sementes à temperatura e ao potencial de água, nem fornecer uma análise crítica dos modelos. Entendemos, por outro lado, que a compreensão de pelo menos alguns princípios da análise poderá levar o pesquisador interessado a buscar novas fontes ou mesmo introduzir os necessários ajustes e aperfeiçoamentos no modelo básico. São diversos os trabalhos que tratam desses aspectos (Phelps & Finch-Savage 1997, Rowse & Finch-Savage 2003, Bloomberg et al. 2009, Patané & Tringali 2011, Rawlins et al. 2012, Watt et al. 2011, Zhang et al. 2012). Além disso, recomenda-se a leitura de revisões mais abrangentes e artigos “clássicos”, como Garcia-Huidobro et al. (1982), Gummerson (1986), Bradford (1995), Bradford (2002), Alvarado & Bradford (2002), Bradford & Still (2004) e Finch-Savage (2004). De qualquer modo, esse modelo empírico apresenta parâmetros aos quais podem ser atribuídos significados fisiológicos, ampliando-se assim o conjunto de ferramentas disponíveis para investigação e quantificação dos processos de germinação e dormência. Além disso, tais parâmetros também podem ser usados para a triagem de germoplasmas, como no caso de sementes de

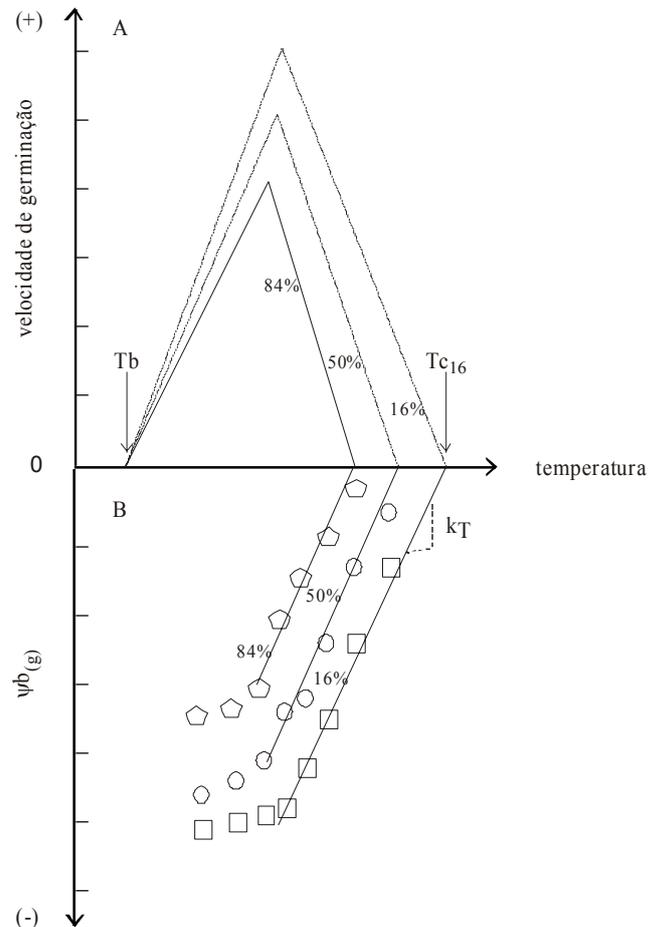


Figura 4. Dependência térmica da velocidade de germinação (A) e de $\Psi b_{(g)}$ (B), baseado em dados de Alvarado & Bradford (2002) com sementes de batata. As velocidades correspondem às frações 1/16, 1/160 e 1/1600. Os valores de $\Psi b_{(g)}$ correspondem também às frações 16%, 50%, e 84%. k_T é a inclinação de cada uma das retas em (B). T_b é a temperatura base e $T_{c_{16}}$ a temperatura máxima ou teto referente à fração 16%

Figure 4. Temperature dependence on the germination rate (A) and on $\Psi b_{(g)}$ based on Alvarado & Bradford (2002) data with potato seeds. The rates refer to the 16%, 50% and 84% fractions. k_T is the slope of each straight line in (B). T_b is the base temperature and $T_{c_{16}}$ the ceiling temperature corresponding to the fraction 16%.

Phaseolus vulgaris (Cardoso & Bianconi, 2013) a partir de experimentos relativamente simples com duas ou três temperaturas e potenciais de água.

AGRADECIMENTOS: O autor agradece ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de produtividade em pesquisa.

REFERÊNCIAS

Alvarado, V. & Bradford, K. J. 2002. A hydrothermal time model explains the cardinal temperatures for seed germination. *Plant, Cell and Environment*, 25: 1061-1069. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00894>.

Tabela 3. Exemplo de planilha para estimativa dos parâmetros da distribuição de $\Psi b_{(g)}$ no modelo *hydrothermal time* (Ψ -graus-dia) pelo método de regressão probítica, aplicado a temperaturas supra-ótimas. Diferentes valores de θ_{HT} , T_o e k_T são experimentados até se obter o maior R^2 da regressão de probit (g) em $\Psi b_{(g)}$. $\Psi b_{(g)} = \Psi - \theta_{HT} / [(T_o - T_b)t_g - k_T(T - T_o)]$. Dados meramente ilustrativos. μ = média; σ = desvio padrão de $\Psi b_{(g)}$.

Table 3. Example of worksheet for estimating parameters of the $\Psi b_{(g)}$ distribution according to the hydrothermal time model by the probit regression method, concerning supra-optimum temperatures. Different θ_{HT} , T_o and k_T values are tried until the best fit to the regression of probit (g) on $\Psi b_{(g)}$. $\Psi b_{(g)} = \Psi - \theta_{HT} / [(T_o - T_b)t_g - k_T(T - T_o)]$. Data merely illustrative. μ = mean; σ = standard deviation of $\Psi b_{(g)}$.

T (°C)	tempo (h)	G (%)	Ψ (MPa)	θ_{HT}	T_o	k_T	$\Psi b_{(g)}$	Probit (g)	intercept	inclinação	μ	σ
20	75	6,0	0,0	2077	19,7	0,11	-1,71	3,445	5,92	4,16	-1,42	0,24
20	80	12,0	0,0				-1,60	3,825				
20	85	15,0	0,0				-1,51	3,963				
20	90	6,5	-0,2				-1,63	3,485				
20	100	27,5	-0,2				-1,49	4,402				
20	104	34,0	-0,2				-1,44	4,587				
20	115	5,0	-0,4				-1,52	3,355				
20	125	27,5	-0,4				-1,44	4,402				
20	130	41,0	-0,4				-1,40	4,772				
24	85	2,5	0,0				-1,95	3,040				
24	90	18,5	0,0				-1,87	4,103				
24	95	20,0	0,0				-1,79	4,158				
24	120	4,0	-0,2				-1,72	3,249				
24	125	8,0	-0,2				-1,68	3,594				
24	130	9,0	-0,2				-1,64	3,659				
24	130	9,0	-0,4				-1,84	3,659				
24	135	14,0	-0,4				-1,80	3,919				
24	155	27,0	-0,4				-1,68	4,387				
28	130	0,5	0,0				-1,88	2,424				
28	135	1,0	0,0				-1,84	2,673				
28	145	3,0	0,0				-1,78	3,119				
28	205	2,5	-0,2				-1,72	3,040				
28	210	2,5	-0,2				-1,71	3,040				
28	225	5,0	-0,2				-1,67	3,355				
28	225	0,5	-0,4				-1,87	2,424				
28	230	1,0	-0,4				-1,86	2,673				
28	305	2,0	-0,4				-1,72	2,946				

LD, R.L. 2006. The role of fluctuations in soil water content on the regulation of dormancy changes in buried seeds of *Polygonum aviculare* L. *Seed Science Research*, 16: 47-59. <http://dx.doi.org/10.1079/SSR2005234>.

Bloomberg, M.; Sedcole, J.R.; Mason, E.G. & Buchan, G. 2009. Hydrothermal time germination models for radiate pine (*Pinus radiata* D. Don). *Seed Science Research*, 19: 171-182. <http://dx.doi.org/10.1017/S0960258509990031>.

Bradford, K. 1995. Water relations in seed germination. Pp. 351-396. In: J. Kigel & G. Galili (eds.). *Seed Development and Germination*. Marcel Dekker Inc, New York. (NY). 853 p.

Bradford, K. 2002. Applications of hydrothermal time to quantifying and modeling seed germination and dormancy. *Weed Science*, 50: 248-260. [http://dx.doi.org/10.1614/0043-1745\(2002\)050\[0248:AOHTTQ\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1614/0043-1745(2002)050[0248:AOHTTQ]2.0.CO;2).

Bradford, K. & Still, D.W. 2004. Applications of hydrotime analysis in seed testing. *Seed Technology*, 26: 75-85.

Cardoso, V.J.M. 2011. Metodologia para análise da dependência térmica da germinação pelo modelo de graus-dia. *Oecologia Australis*, 15: 236-248. <http://dx.doi.org/10.4257/oeco.2011.1502.04>.

Cardoso, V.J.M. & Bianconi, A. Hydrotime model can describe the response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.)

lines to temperature and reduced water potentials. *Acta Scientiarum*, 35: 255-261. <http://dx.doi.org/10.4025/actasciobiolsci.v35i2.15393>.

Finch-Savage, W.E. 2004. The use of population based threshold models to describe and predict the effects of seedbed environment on germination and seedling emergence of crops. Pp. 51-59. In: R.L. Benech-Arnold & R.A. Sanchez (eds.). *Handbook of Seed Physiology: Applications to Agriculture*. The Haworth Reference Press, New York (NY). 480 p.

Finney, D.J. 1952. *Probit Analysis*, 2nd Ed. Cambridge University Press, Cambridge (UK). 318 p.

Garcia-Huidobro, J.; Monteith, J.L. & Squire, G.R. 1982. Time, temperature and germination of pearl millet (*Pennisetum typhoides*). *Journal of Experimental Botany*, 33: 288-296. <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/33.2.288>.

Gummerson, R.J. 1986. The effect of constant temperatures and osmotic potentials on the germination of sugar beet. *Journal of Experimental Botany*, 37: 729-741. <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/37.6.729>.

Labouriau, L.G. 1972. On the physiology of seed germination in *Vicia graminea* Sm. II. An analysis of the temperature dependence of the seed germination rate. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 44: 477-534.

- Patanè, C. & Tringali, S. 2011. Hydrotime analysis of Ethiopian mustard (*Brassica carinata* A. Braun) seed germination under different temperatures. *Journal of Agronomy and Crop Sciences*, 197: 94-102. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-037X.2010.00448> .
- Phelps, K. & Finch-Savage, W.E. 1997. A statistical perspective on threshold type germination models. Pp. 361-368. In: R.H. Ellis; M. Black; A.J. Murdoch & T.D. Hong (eds.). *Basic and Applied Aspects of Seed Biology*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht (NL). 823 p.
- Rawlins, J.K.; Roundy, B.A.; Egget, D. & Cline, N. 2012. Predicting germination in semi-arid wildland seedbeds II. Field validation of wet thermal-time models. *Environmental and Experimental Botany*, 76: 68-73. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2011.10.004> .
- Rowse, H.R. & Finch-Savage, W.E. 2003. Hydrothermal threshold models can describe the germination response of carrot (*Daucus carota*) and onion (*Allium cepa*) seed populations across both sub and supra-optimal temperatures. *The New Phytologist*, 158: 101-108. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00707>.
- Simão, E.; Takaki, M. & Cardoso, V.J.M. 2010. Germination response of *Hylocereus setaceus* (Sakn-Dyck ex DC.) Ralf Bauer (Cactaceae) seeds to temperature and reduced water potentials. *Brazilian Journal of Biology*, 70: 135-144. <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-69842010000100019> .
- Watt, M.S.; Bloomberg, M. & Finch-Savage, W.E. 2011. Development of a hydrothermal time model that accurately characterizes how thermoinhibition regulates seed germination. *Plant, Cell and Environment*, 34: 870-876. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3040.2011.02292> .
- Zhang, H.; Irving, L.J.; Tian, Y. & Zhou, D. 2012. Influence of salinity and temperature on seed germination rate and the hydrotime parameters for the halophyte *Chloris virgata*, and the glycophyte *Digitaria sanguinalis*. *South African Journal of Botany*, 78: 203-210. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sajb.2011.08.008> .

Submetido em 22/11/2012

Aceito em 12/03/2013