

ÍNSULA	Florianópolis	Nº 12	53-70	1982
--------	---------------	-------	-------	------

**ATIVIDADE DE AMILASES E PROTEASES EM  
COTILÉDONES EMBRIONADOS E DE-EMBRIONADOS  
DE *PHASEOLUS VULGARIS* L. cv *CARIOCA* \***

\*\* *Maria Terezinha Silveira Paulilo*

**RESUMO**

Tratamento de 6-BA a  $10^{-4}$ M promoveu tanto a atividade amilolítica como proteolítica durante a incubação de cotilédones de-embrionados de *Phaseolus vulgaris*, sendo o efeito promotor maior para amilases, superando, neste caso, mesmo o efeito promotor dado pela presença do embrião. Frações ácidas de extratos de sementes de feijão com 7 dias de idade e ABA a  $10^{-4}$ M inibiram a atividade amilolítica promovida pelo 6-BA em cotilédones de-embrionados. GA<sub>3</sub> e AIA a  $10^{-4}$ M foram inefetivos na promoção ou inibição da atividade amilolítica. Tratamentos de 6-BA e GA<sub>3</sub> a  $10^{-4}$ M separadamente, ou tratamento de 6-BA e GA<sub>3</sub> conjuntamente, apesar de aumentarem a atividade proteolítica em cotilédones de-embrionados incubados, não a elevaram aos mesmos níveis observados na presença do embrião. Estes dados sugerem diferentes mecanismos no controle da atividade de amilases e proteases durante a germinação de sementes de feijão, sendo as proteases menos sensíveis à ação de citocininas que amilases, onde o forte efeito promotor seria contrabalançado por ABA.

**ABSTRACT**

Treatment with  $10^{-4}$ M 6-BA promoted amylolytic as well as proteolytic activity in incubated detached cotyledons of *Phaseolus vulgaris*. Amylolytic activity was promoted in a higher degree than proteolytic activity, surpassing even embryo-

---

\*\* Profª Assistente do Departamento de Biologia — HORTO BOTÂNICO — UFSC.

\* Trabalho financiado pelo CNPq

induced amylolytic activity. Acid fractions from 7-days old bean seeds extracts and  $10^{-4}$ M ABA inhibited the amylolytic activity promoted by 6-BA in detached cotyledons; this activity was not inhibited by  $10^{-4}$ M GA<sub>3</sub> or AIA. Treatment with either  $10^{-4}$ M 6-BA or GA<sub>3</sub> in separate, or with both in combination did not enhance proteolytic activity in incubated detached cotyledons to the levels verified in the presence of embryo. These data suggest the existence of differing controls for activity of amylases and proteases in germinations bean, seeds, the latter being less influenced by the action of cytokinins than the former, in which the strong promotive effect would be counterbalanced by ABA.

Key words — Amylases, proteases, cotyledons, bean.

## INTRODUÇÃO

O controle das alterações nos tecidos durante a germinação da semente, resultando na translocação de nutrientes para o eixo embrionário, é objeto de muitos estudos que levam a crer que tal controle é exercido pelo embrião, o qual atua, em alguns casos, através de estímulos hormonais.

O papel de hormônios no controle da degradação de reservas foi muito bem visto em cevada, onde o ácido giberélico é a substância responsável pela síntese e liberação de muitas enzimas hidrolíticas, sendo proveniente do embrião e translocado para a camada de aleurona nos primeiros dias de germinação (Filner e Varner, 1967). Na ausência do embrião não ocorre a hidrólise de reservas, sendo a degradação endospermática completamente dependente da presença do embrião (Paleg, 1960). Entretanto foi logo verificado que este modelo de degradação não era verdadeiro para outros cereais como aveia (Naylor, 1969), arroz (Palmiano e Juliano, 1972) e milho (Eastwood, Taverner e Laidman, 1969).

Em dicotiledôneas, mesmo na ausência do embrião, há hidrólise das reservas da semente, embora em menor grau que na presença deste, como é o caso para amendoim (Marcus e Feely, 1964), abóbora (Sze e Ashton, 1971), ervilha (Locker e Ilan, 1975) e feijão (Van Onckelen, Caubergs e De Greef, 1977; Métivier e Paulilo, 1980). Nestes casos os hormônios envolvidos no aumento de atividade de enzimas hidrolíticas são as citocininas. Quanto à inibição da atividade hidrolítica por hormônios vegetais parece que giberelinas inibem a atividade amilolítica em feijão (Gepstain e Ilan, 1970) e ácido abscísico inibe a atividade de amilases e proteases em ervilhas (Yomo e Varner, 1973) e em feijão (Yomo e Srinivasan, 1973). Inibidores da atividade amilolítica também foram relatados em feijão por Van Onckelen et al (1977) e por Métivier e Paulilo (1980). No primeiro caso estes inibidores seriam sintetizados sob a influência da luz, enquanto que no segundo caso pensou-se em inibidores proteicos, já que o efeito inibidor era destruído pelo calor.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material

Sementes de *Phaseolus vulgaris* L. cv Carioca, gentilmente cedidas pelo Instituto Agrônomo de Campinas.

## Métodos

*Condições de crescimento* — sementes secas de feijão foram separadas longitudinalmente em dois cotilédones contendo um deles o embrião e o outro sendo de-embrionado. Os cotilédones assim separados foram colocados, em número de 5, em placas de Petri com papel de filtro umedecidos com 5 ml de água destilada ou 5 ml de soluções-teste (soluções de benziladenina-6-BA a  $10^{-4}$ M, de ácido abscísico — ABA — a  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$ M, de ácido indol acético — AIA — a  $2,5 \cdot 10^{-4}$ M, de cinetina — K — a  $10^{-4}$ M, de ácido giberélico — GA<sub>3</sub> — a  $10^{-4}$ M, frações ácida, básica e neutra, resultantes de fracionamento de extratos de sementes de feijão com 7 dias de idade e extratos brutos de embriões de feijão de várias idades. Os cotilédones embrionados ou de-embrionados foram deixados por diferentes períodos de incubação a 25°C em germinador tipo Mangelsdorf, sem controle de luz. Para extração de hormônios vegetais sementes intactas foram colocadas para germinar em rolos de papel de filtro, a 25°C.

*Dosagem de amilases* — Cotilédones embrionados ou de-embrionados de feijão, embebidos em água ou soluções-teste, foram macerados em solução tampão citrato-fosfato a pH 5,5 (0,1M de ácido cítrico e 0,2M de fosfato dibásico de sódio), utilizando-se 4 ml de solução por cotilédone. O extrato obtido foi centrifugado por 10 minutos a 2500g. Após centrifugação, 0,5 ml de sobrenadante foram incubados em tubo de ensaio contendo 1,0 ml de solução de amido (10g de ARROZINA de IDISA — fécula de mandioca e amido de milho — em 100 ml de solução tampão de citrato-fosfato a pH 5,5), à temperatura de 30°C, dada por banho-maria. A reação foi determinada após 12 minutos com 1,0 ml de solução de ácido 3,5 dinitro-salicílico (1,0g de ácido 3,5 dinitro-salicílico em 20 ml de NaOH 2M; 30g de tartarato de potássio e sódio e 50 ml de água destilada, completando-se o volume para 100 ml com água destilada). As amostras foram então aquecidas à temperatura de 100°C, em banho-maria, por 10 minutos. A absorbância da solução foi lida a 545 nm.

*Dosagem de proteases* — Cotilédones foram maceradas da mesma maneira utilizada para dosagem de amilases. O extrato obtido foi centrifugado, retirando-se 0,5 ml do sobrenadante que foram incubados em tubos de ensaio com 1,0 ml de aquosa de caseína 1% a pH 5,5 (1,2 g de caseína Hammarsten, 20 ml de solução aquosa de NaOH 1 N, 20 ml de ácido acético glacial 1 N e 80 ml de água destilada), à temperatura de 40°C, por 3 horas. A reação foi terminada com 2 ml de ácido tricloroacético a 10%. Após o término da reação os tubos foram colocados em centrifugador por 10 minutos a 2500 g. Do sobrenadante obtido foi retirado 1 ml que foi adicionado a 1 ml de NaOH 1 M, adicionando-se ainda 0,1 ml de reagente de Folin puro. A absorbância da solução foi lida a 620 nm.

*Extração e fracionamento de hormônios vegetais* — Cento e sessenta sementes intactas de feijão após 7 dias de embebição foram maceradas em liquidificador com 400 ml de metanol 80%. O extrato foi colocado a 4°C por 24 h, quando então filtrado a vácuo. Os resíduos foram novamente colocados em 400 ml de metanol 80%, por 24 h a 4°C, para nova extração, quando então foi feita nova filtração a vácuo. Os filtrados obtidos foram misturados e levados para evaporação do metanol em evaporador, sob pressão reduzida e temperatura de 40°C. O extrato aquoso obtido foi ajustado a pH 3,0 com HCl concentrado, e a solução extraída três vezes com igual volume de acetato de etila. A fração aquosa restante foi ajustada a pH 7,0 com NaOH sólido e extraída 3 vezes com igual volume de n-butanol (fração básica). A fração aquosa restante foi descartada. A fração em acetato de etila no primeiro fracionamento foi extraída 3 vezes com igual volume de NaHCO<sub>3</sub> a 5%, obtendo-se uma fração orgânica (neutra) e outra aquosa. A fração aquosa foi ajustada a pH 3,0 com HCl concentrado e extraída três vezes com acetato de etila, obtendo-se uma fração orgânica (ácida) e outra aquosa que foi descartada. As frações ácida, básica e neutra obtidas foram evaporadas para inteira remoção dos solventes, sendo os resíduos secos obtidos dissolvidos em água destilada, e a solução testada para atividade enzimática de cotilédones de feijão.

## RESULTADOS

*Amilases* — Cotilédones embrionados ou de-embrionados de feijão, embebidos em água ou 6-BA não mostraram atividade amilolítica durante as primeiras 24 h de incubação; após este período houve um aumento de atividade até o 5º dia de incubação independentemente do tratamento feito. Em cotilédones de-embrionados embebidos em 6-BA este aumento de atividade ainda foi observado após o 5º dia de incubação. Cotilédones embrionados embebidos em água (controle) apresentaram maior atividade amilolítica que de-embrionados. Tratamento de 6-BA promoveu a atividade amilolítica tanto em cotilédones embrionados como em de-embrionados, sendo a promoção maior nos últimos, chegando a suplantarem a atividade amilolítica de cotilédones embrionados do controle (fig. 1).

O efeito inibidor do embrião sobre a atividade amilolítica de cotilédones embebidos em 6-BA aumentou com o tempo de incubação (tab. I), sendo que extratos de embriões de um dia de idade não apresentaram efeito inibidor, enquanto que extratos de embriões de 6 dias causaram uma inibição de 55% na atividade amilolítica de cotilédones de-embrionados tratados com 6-BA. Após o 3º dia de incubação o aumento de inibição da atividade amilolítica causada pelo embrião foi dado por um aumento absoluto na quantidade de substância inibidora e não por aumento na concentração do inibidor, já que a inibição da atividade amilolítica por grama de peso seco de embrião não aumentou com a idade do embrião, tendendo mesmo a uma leve diminuição (tab. I).

A presença do inibidor foi verificada em todo o embrião, já que cotilédones apenas com o primeiro par de folhas e cotilédones apenas com o eixo hipocótilo-radícula tiveram inibição da atividade amilolítica promovida pelo 6-BA (fig. 2). O poder inibidor mostrou ser maior em folhas que em outras partes do eixo embrionário, já que extratos de 1,6 g de folhas foram mais efetivos que extratos de 1,6 g de hipocótilo-radícula na inibição da atividade amilolítica de cotilédones de-embrioados embebidos em 6-BA (fig. 3).

Experimentos com frações ácidas de extratos de embriões mostraram forte inibição sobre a atividade amilolítica promovida pelo 6-BA. Frações básicas e neutras foram inefetivas (fig. 4).

Tratamento de ABA também causou forte inibição na atividade amilolítica tanto em cotilédones embrionados embebidos em água, como nos de-embrioados sob tratamento de 6-BA, sendo que ABA  $10^{-3}$ M inibiu completamente a atividade amilolítica, enquanto que ABA  $10^{-4}$ M causou uma inibição de 50% na atividade amilolítica promovida pelo 6-BA em cotilédones de-embrioados (fig. 5). Tratamentos com AIA e GA<sub>3</sub> não mostraram influenciar a atividade de cotilédones de-embrioados tratados com 6-BA (fig. 6 e 7).

*Proteases* — A análise sobre a atividade proteolítica durante vários dias de incubação de cotilédones embrionados ou de-embrioados embebidos em água ou 6-BA (fig. 8) mostrou os seguintes pontos: a atividade proteolítica foi detectada desde o primeiro dia de incubação, o que não ocorreu para atividade amilolítica; houve um aumento na atividade proteolítica durante o período de incubação em todos os tratamentos feitos, sendo que em cotilédones embrionados esta atividade começou a declinar após o 4º dia de incubação; a atividade proteolítica de cotilédones embrionados foi maior que nos de-embrioados, tanto naqueles embebidos em água como em 6-BA; o tratamento de 6-BA elevou a atividade proteolítica em cotilédones de-embrioados, mas não ao mesmo nível daquela observada na presença de embrião; tratamento de 6-BA em cotilédones embrionados não afetou a atividade proteolítica promovida pelo embrião.

A influência de outras substâncias sobre a atividade proteolítica foi analisada (tab. II), observando-se que tratamento de GA<sub>3</sub> e cinetina promoveram a atividade proteolítica em cotilédones de-embrioados, enquanto que tratamento de AIA foi inefetivo. Tratamentos conjuntos de 6-BA e GA<sub>3</sub>, apesar de aumentarem a atividade proteolítica, não a elevaram aos mesmos valores observados na presença do embrião.

## DISCUSSÃO

A atividade de amilases encontra-se presente, após as primeiras 24h de incubação, tanto em cotilédones embrionados como nos de-embrionados, sendo a atividade nos últimos menor que nos primeiros. A atividade amilolítica mais baixa em cotilédones de-embrionados de feijão já havia sido anteriormente verificada (Métivier e Paulilo, 1980), como também em outras dicotiledôneas como abóbora (Sze e Ashton, 1971), mamona (Huang e Beevers, 1974) e ervilhas (Locker e Ilan, 1975). Em ervilha e feijão, tratamento de citocininas em cotilédones de-embrionados elevaram a atividade amilolítica, sendo que tratamento de  $10^{-4}$ M de 6-BA em cotilédones de-embrionados de feijão elevou a atividade amilolítica a níveis muito mais altos que aqueles verificados em cotilédones embrionados sob o mesmo tratamento (Métivier e Paulilo, 1980), sugerindo que o embrião agiria no controle da atividade amilolítica através de inibidores e promotores, devendo ser o inibidor de origem proteica, uma vez que a inibição dada por extratos de embrião era destruída pelo calor.

Entretanto, neste presente trabalho, foi encontrada forte inibição da atividade amilolítica promovida pelo 6-BA em cotilédones de-embrionados, tanto quando estes cotilédones eram tratados com frações ácidas de extratos de embriões como por ABA. A inibição da atividade amilolítica em cotilédones embrionados embebidos em água, dada por frações ácidas de extratos de embriões e por ABA, já havia sido verificada em ervilha (Yomo e Varner, 1973) e em feijão (Yomo, 1971; Yomo e Srinivasan, 1973). Assim, acredita-se que a inibição causada pelo embrião sobre a atividade amilolítica em cotilédones tratados com 6-BA seja de origem hormonal, sendo provavelmente o ABA o hormônio envolvido neste processo, já que tratamentos de  $GA_3$  e AIA testados não tiveram efeito sobre a atividade de amilases, embora Gepstein e Ilan (1970) tenham encontrado, em feijão, inibição da atividade amilolítica com aplicação de  $GA_3$  a  $10^{-4}$ M.

A atividade proteolítica, à semelhança da amilolítica, também esteve presente em cotilédones de-embrionados, a um nível mais baixo que nos embrionados. Dados semelhantes também foram encontrados em ervilhas (Chin, Poulson e Breevers, 1972; Yomo e Varner, 1973) e em feijão (Yomo e Srinivasan, 1973).

Tratamento de 6-BA a  $10^{-4}$ M aumentou a atividade proteolítica em cotilédones de-embrionados incubados, embora não aos mesmos valores observados durante a incubação de cotilédones embrionados embebidos em água. Tratamento de  $GA_3$ , cinetina e tratamento conjunto de  $GA_3$  e 6-BA também promoveram parcialmente a atividade proteolítica em cotilédones de-embrionados incubados.

Tratamento de AIA não mostrou influenciar a atividade proteolítica de cotilédones incubados.

Os dados para amilases e proteases mostram que as primeiras são mais sensíveis à ação de 6-BA que as últimas. Este fato poderia levar a supor que um determinado nível de citocininas endógenas do embrião, suficiente para elevar a atividade proteolítica a um nível ótimo, elevaria, ao mesmo tempo, a atividade amilolítica a um nível supra-ótimo. Este excesso de atividade amilolítica seria contrabalançado pela ação do ácido abscísico, que não afetaria a atividade de proteases, uma vez que estas enzimas seriam também menos sensíveis ao ácido abscísico. Este fato foi visto por Yomo e Srinivasan (1973) em feijão, onde concentrações de  $5 \cdot 10^{-6}$  M de ABA, que inibiam em mais de 65% a atividade amilolítica, causava uma inibição de apenas 35% na atividade proteolítica.

O efeito de aminoácidos livres no controle da atividade proteolítica não foi analisado neste trabalho, embora Yomo e Varner (1973) e Yomo e Srinivasan (1973) tenham encontrado que a constante retirada de aminoácidos dos cotilédones durante a germinação promovia a atividade proteolítica em ervilha e feijão. Entretanto outros trabalhos com ervilha (Guaeriola e Sutcliffe, 1971; Chin, Poulson e Beevers, 1972) não mostraram relação entre o nível de compostos solúveis nos cotilédones e a atividade proteolítica.

Agradecimentos — Ao CNPq por financiar este trabalho e ao Laboratório de Sementes Nativas (LASEN) por ter cedido suas dependências.



## BIBLIOGRAFIA

- CHIN, T.Y., POULSON, R. e BEEVERS, L. 1972. The influence of axis removal in protein metabolism in cotyledons of *Pisum sativum* L. *Plant Physiol.* **49**: 482-489.
- EASTWOOD, D., TAVERNER, R.J.A. e LAIDMAN, D.L. 1969. Sequential action of cytokinin and gibberellic acid in wheat aleurone tissue. *Nature* **221**: 1267.
- FILNER, P. e VARNER, J.E. 1967. A test for *de novo* synthesis of enzymes, density labelling with  $H_2O^{18}$  of barley amylase induced by acid gibberellic acid. *Proc. Acad. Sci.* **58**: 1520-1526.
- GEPSTAIN, S. e ILAN, I. 1970. A promotive action of Kinetin on amylase activity in cotyledons of *Phaseolus vulgaris*. *Plant and Cell Physiol.* **11**: 819-822.
- HUANG, R.C. e BEEVERS, L. 1974. Developmental changes in Endosperm of germinating castor bean independent of embryonic axis. *Plant Physiol.* **54**: 277-279.
- LOCKER, A. e ILAN, I. 1975. On the nature of hormonal regulation of amylase activity in cotyledons of germinating peas. *Plant and Cell Physiol.* **16**: 449-454.
- MARCUS, A. e FEELY, J. 1964. Isocitric lyase formation in the dissected peanut cotyledon. *Biochim. Biophys. Acta* **89**: 170-171.
- MÉTIVIER, J.R. e PAULILO, M.T.S. 1980. The utilization of cotyledonary reserves in *Phaseolus vulgaris* cv Carioca. II. *J. Exp. Botany* **31**: 1271-1282.
- NAYLOR, J.M. 1969. Regulation of enzyme synthesis in aleurone tissue of *Avena* species. *Can. J. Bot.* **47**: 2069-2072.
- PALEG, B.G. 1960. Physiological effect of gibberellic acid on carbohydrate metabolism and amylase activity of barley endosperm. *Plant Physiol.* **35**: 293-299.
- PALMIANO, E.P. e JULIANO, B.O. 1972. Biochemical changes in rice grain during germination. *Plant Physiol.* **49**: 751-756.
- SZE, H. e ASHTON, F.M. 1971. Dipeptidase e development in cotyledons of *Cucurbita maxima* during germination. *Phytochemistry* **10**: 2935-2942.
- VAN ONCKELEN, A.H., CAUBERG, R. e DE GREEF, A.J. 1977. Effect of light treatment and endogenous growth hormones on amylases activities in cotyledons of *Phaseolus vulgaris* L. *Plant and Cell Physiol.* **18**: 1029-1040.
- YOMO, H. 1971. Inhibition of amylase formation by abscisic acid in excised pea and bean cotyledons. *Plant Physiol.* **47**: S 23.
- YOMO, H. e SRINIVASAN, K. 1973. Protein breakdown and formation of protease in attached cotyledons of *Phaseolus vulgaris* L. *Plant Physiol.* **52**: 671-673.
- YOMO, H. e VARNER, J.E. 1973. Control of the formation of amylases and proteases in cotyledons of germinating peas. *Plant Physiol.* **51**: 708-713.

TABELA I — atividade amilolítica (ug de maltose liberada após 12 minutos de reação) após 5 dias de incubação de cotilédones de-embrionados embebidos em 6-BA, ou em 6-BA + extratos de embriões de 1 a 6 dias de idade.

TRATAMENTO	ug de maltose liberada	Inibição em relação ao tratamento de 6-BA	Inibição causada por mg de peso seco de embrião
6-BA	1000	—	—
6-BA+E <sub>1</sub>	1000	—	—
6-BA+E <sub>2</sub>	900	10%	3.0
6-BA+E <sub>3</sub>	700	30%	4.0
6-BA+E <sub>4</sub>	800	20%	1.3
6-BA+E <sub>5</sub>	580	42%	2.4
6-BA+E <sub>6</sub>	450	55%	2.4

TABELA — atividade proteolítica (absorbância a 620nm x 10) de cotilédones de-embrionados embebidos em água (C<sup>-</sup>), em soluções a 10<sup>-4</sup>M de 6-benziladenina (6-BA), de cinetina (K), de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>), de 6-benziladenina e ácido giberélico (6-BA + GA<sub>3</sub>), em soluções a 2.5 x 10<sup>-4</sup>M de ácido indol acético (AIA) e de cotilédones embrionados embebidos em água (C<sup>+</sup>). Cada valor representa a média de 8 replicatas.

tratamento	Atividade proteolítica
C <sup>-</sup>	2.5
6-BA	3.2 P < 0,01
K	3.2 P < 0,01
GA <sub>3</sub>	2.9 P < 0,01
6-BA + GA <sub>3</sub>	3.0 P < 0,01
AIA	2.5 N.S.
C <sup>+</sup>	3.7 P < 0,01

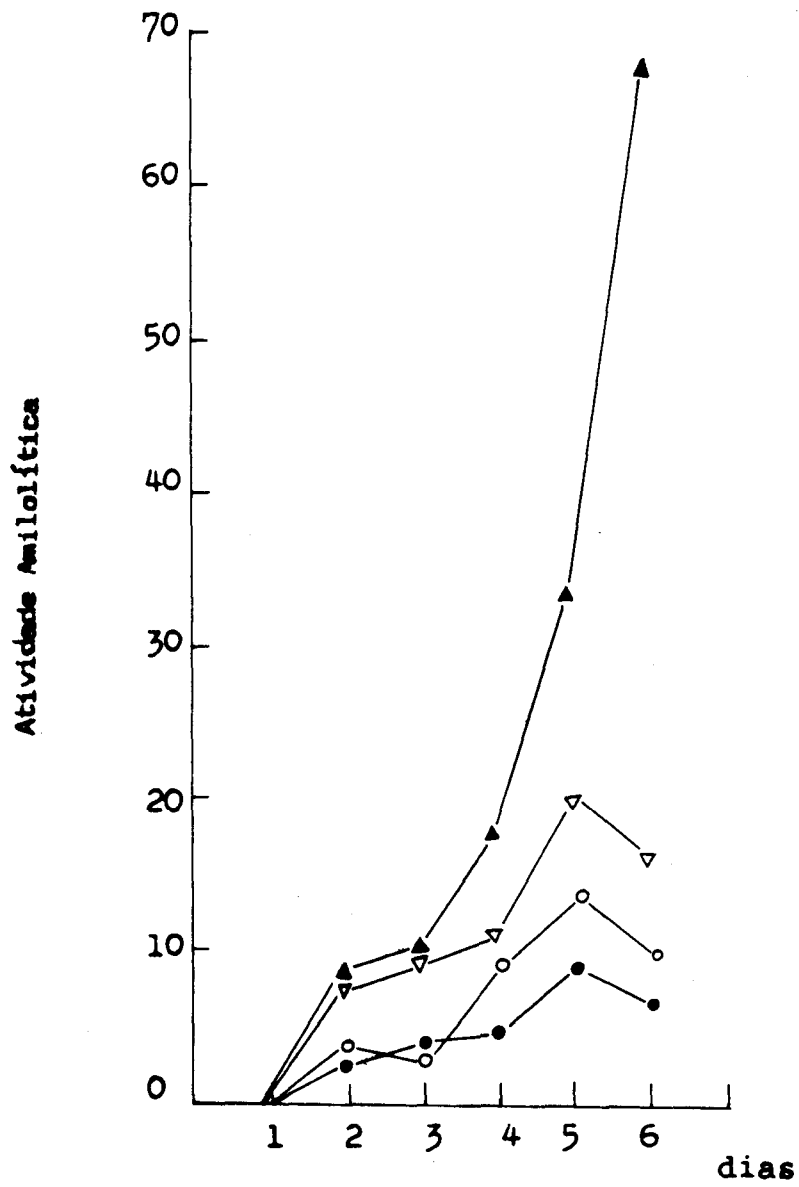


Fig. 1 — atividade amilolítica de cotilédones embrionados embebidos em água (°), em 6-BA (▽) e de cotilédones de-embrionados embebidos em água (●) e em 6-BA (▲). Cada valor representa a média de 5 replicatas.

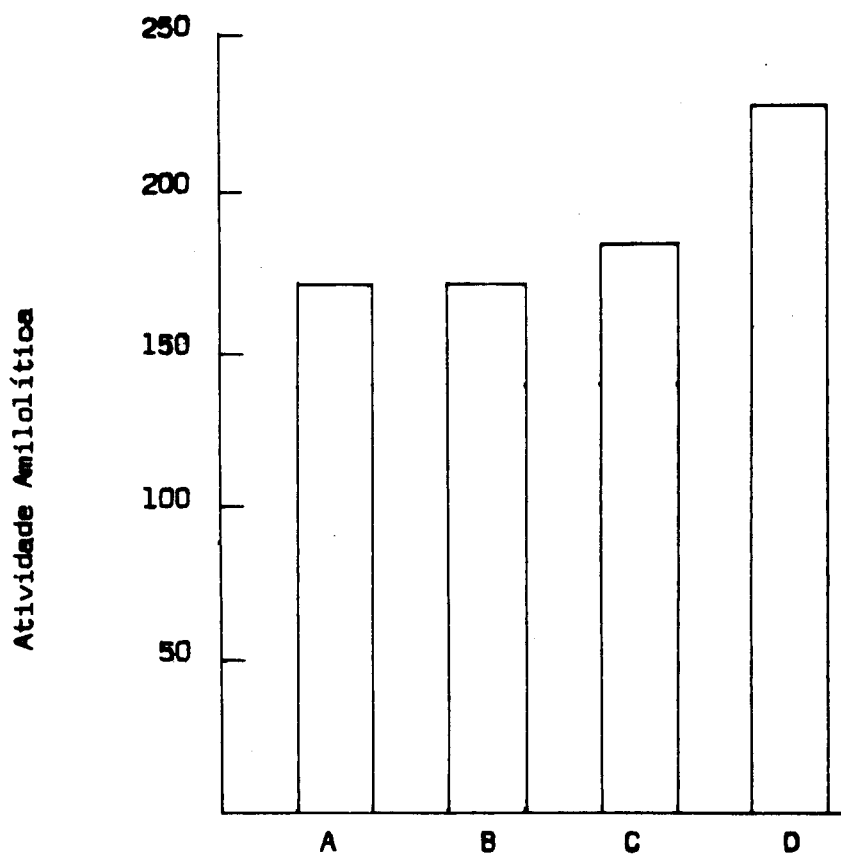


Fig. 2 — atividade amilolítica após 5 dias de incubação de cotilédones embebidos em 6-BA na presença do embrião (A), do primeiro par de folhas (B), do eixo hipocótico-radícula (C) e na ausência de embrião (D). Os valores representam média de 5 replicatas.

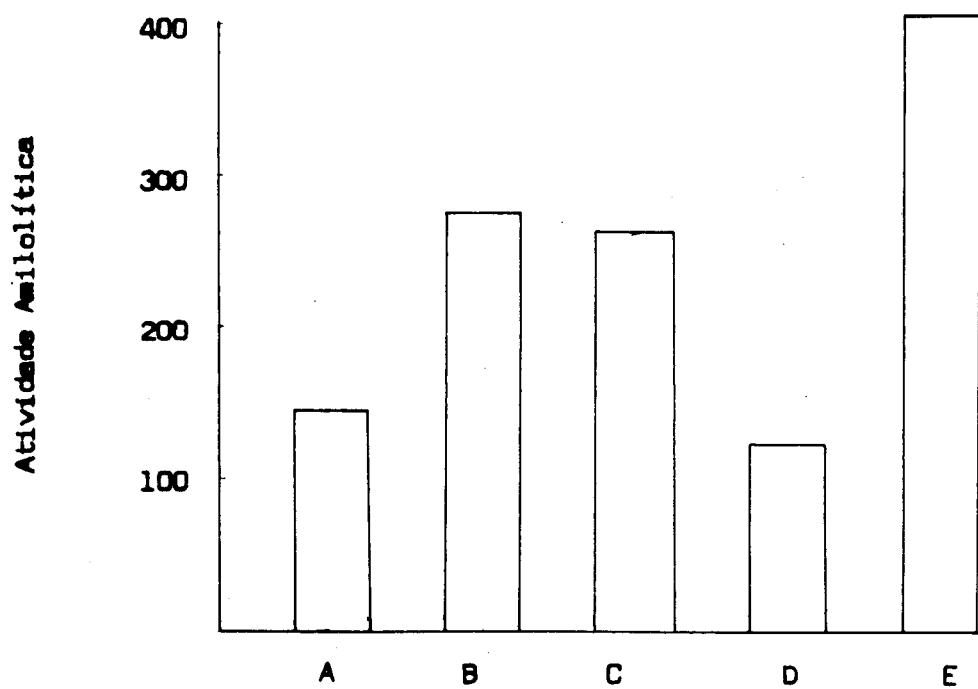


Fig. 3 — atividade amilolítica após 5 dias de incubação de cotilédones de-embrioados embebidos em 6-BA (E), em 6-BA mais extrato de 1.6g de peso fresco de: embriões (A), de hipocótilos (B), de raízes (C) e de primeiro par de folhas (D). Os embriões utilizados para extratos eram de 5 dias de idade. Os valores representam a média de 5 replicatas.

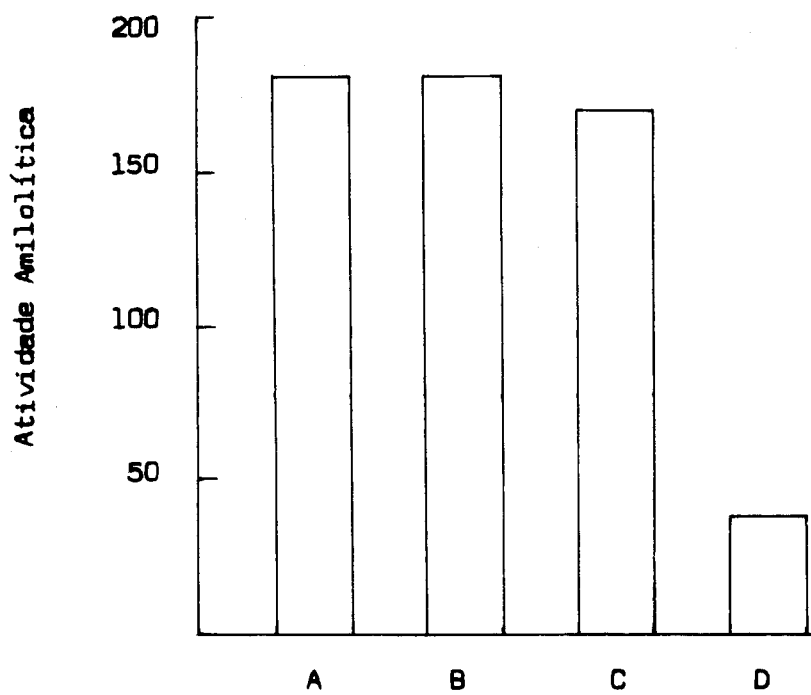


Fig. 4 — atividade amilolítica após 5 dias de incubação de cotilédones de-embrioados embebidos em 6-BA (A), em 6-BA + fração neutra (B), em 6-BA + fração básica (C) e em 6-BA + fração ácida. Os valores representam a média de 5 replicatas.

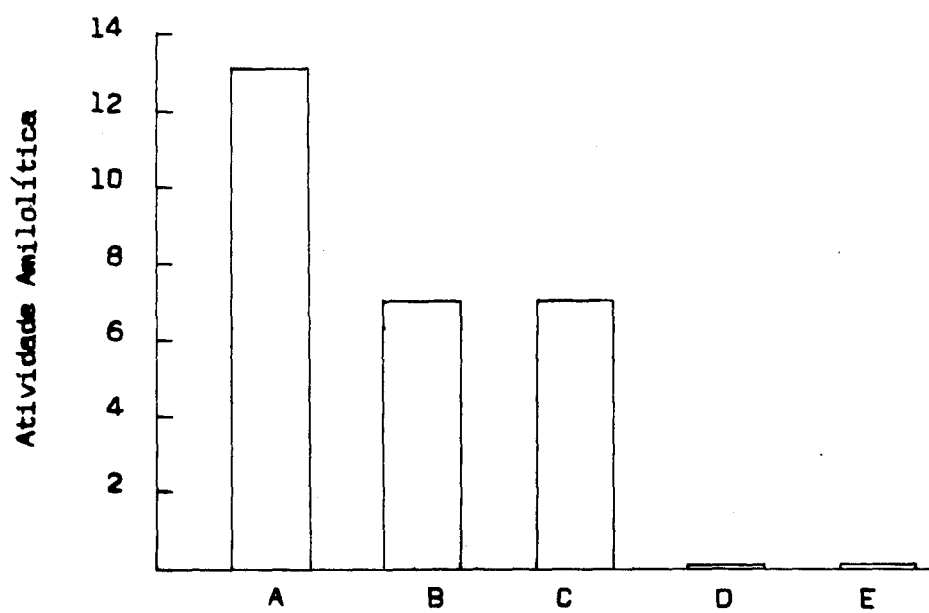


Fig. 5 — atividade amilolítica após 5 dias de incubação de cotilédones de-embrioados embebidos em 6-BA (A), em 6-BA + ABA  $10^{-4}$ M (B), em água (C), em 6-BA + ABA  $10^{-3}$ M (D) e cotilédones embrionados embebidos em ABA  $10^{-3}$ M. Os dados representam a média de 5 replicatas.

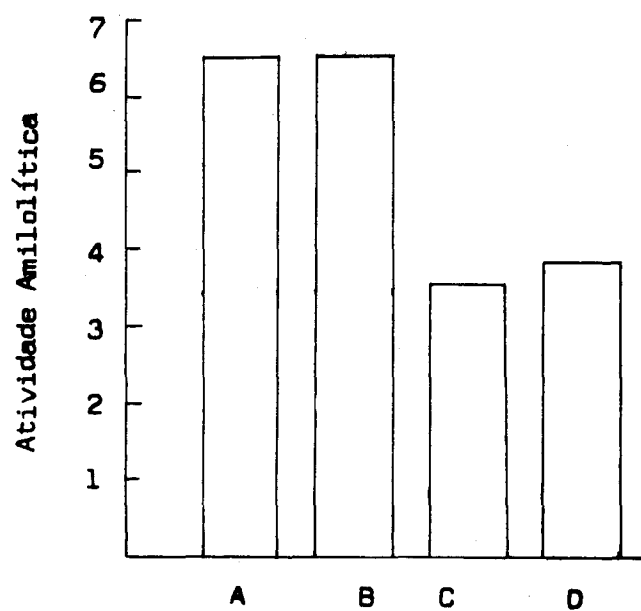


Fig. 6 — atividade amilolítica após 5 dias de incubação de cotilédones de-embrioados embebidos em 6-BA (A), em 6-BA + AIA (B), em água (C) e em AIA (D). Os dados representam a média de 5 replicatas.



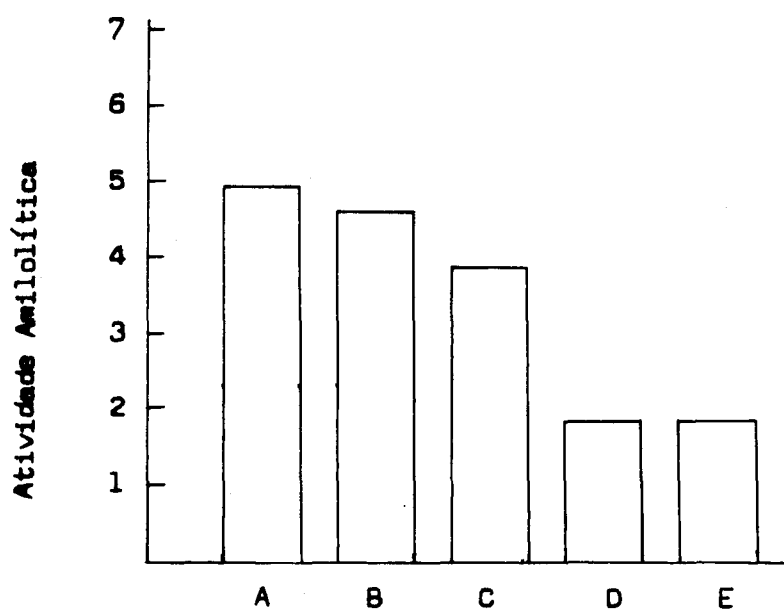


Fig. 7 — atividade amilolítica após 5 dias de incubação de cotilédones de-embrioados embebidos em 6-BA (A), em 6-BA + GA<sub>3</sub> (B), em GA<sub>3</sub> (D), em água (E) e de cotilédones embrionados embebidos em água (C). Cada valor representa a média de 5 replicatas.

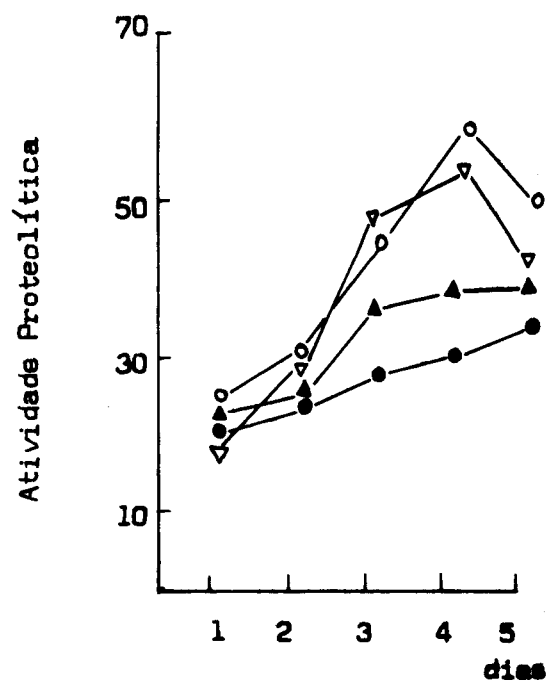


Fig. 8 — atividade proteolítica durante a incubação de cotilédones embrionados (○) e de-embrionados (●) embebidos em água e de cotilédones embrionados (▽) e de-embrionados (▲) embebidos em 6-BA. Os dados representam a média de 4 replicatas.