

GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Cucumis anguria*

Este exemplar corresponde a redação final
da tese defendida pelo Victor J. M. Cardoso
e aprovada pela comissão julgadora.

27/XI/85

VICTOR JOSÉ MENDES CARDOSO

GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Cucumis anguria*

Tese apresentada ao Instituto
de Biologia da Universidade Esta-
dual de Campinas, para a obtenção
do título de Doutor em Ciências

Orientador: Prof. Dr. Gil Martins Felipe

Campinas

1985

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Gil Martins Felipe, pela orientação deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo e à Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior, pelo auxílio financeiro.

Ao Departamento de Botânica da UNESP, Rio Claro, pelos afastamentos concedidos para a conclusão da tese.

Ao Prof. Dr. Ivany F.M. Válio, pelas sugestões dadas.

Ao Prof. Dr. Massanori Takaki, pelas sugestões e pelo empréstimo de separatas.

À Sra. Carmem Silvia C. Ragghiante, pelo cuidadoso trabalho datilográfico.

Ao Sr. Luiz Roberto Jordão, pela confecção dos gráficos.

Ao Depto de Espectroscopia Fotoacústica do Instituto de Física da UNICAMP, pela utilização do monocromador.

À Sra. Lorette G.H. Cardoso, pelo valioso auxílio prestado na confecção deste trabalho e por ter sempre me acompanhado na reta final.

INDICE

| | |
|--|----|
| INTRODUÇÃO | 1 |
| OBJETIVOS | 16 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 17 |
| Material | 17 |
| Métodos | 18 |
| 1. Interação entre luz vermelha e substâncias de crescimento | 20 |
| 2. Efeito da escarificação | 21 |
| 3. Secagem e maturação das sementes | 24 |
| 3.1. Secagem | 24 |
| 3.2. Efeito do fotoperíodo durante a maturação do fruto | 25 |
| 3.3. Germinação das sementes em estádios sucessivos de maturação dos frutos | 26 |
| 4. Efeito da temperatura | 27 |
| 4.1. Temperaturas constantes | 27 |
| 4.2. Períodos curtos de temperatura baixa ou alta | 28 |
| 5. Etileno e germinação | 29 |
| 5.1. Liberação de etileno pelas sementes | 30 |
| 5.2. Germinação em frascos vedados | 32 |
| 5.3. Efeito de substâncias inibidoras da produção de etileno | 33 |
| 6. Análise estatística | 34 |
| RESULTADOS | 35 |
| 1. Interação entre luz vermelha e reguladores de crescimento | 35 |
| 2. Efeito da escarificação das sementes sobre a germinação | 35 |
| 3. Secagem e maturação de sementes | 45 |
| 3.1. Secagem | 45 |
| 3.2. Efeito do fotoperíodo durante a maturação do fruto | 51 |

| | |
|--|-----|
| 3.3. Germinação das sementes em estádios sucessivos de maturação dos frutos | 52 |
| 4. Efeito de diferentes comprimentos de onda | 59 |
| 5. Efeito de temperatura | 64 |
| 5.1. Temperaturas constantes | 64 |
| 5.2. Períodos curtos de temperatura baixa ou alta | 70 |
| 6. Efeito de vermelho extremo e temperatura | 73 |
| 7. Etileno e germinação | 90 |
| 7.1. Liberação de etileno em sementes mantidas sob vermelho, vermelho extremo e luz branca .. | 90 |
| 7.2. Germinação em frascos vedados | 100 |
| 7.3. Efeito de substâncias inibidoras da produção de etileno | 103 |
| DISCUSSÃO | 107 |
| RESUMO | 150 |
| BIBLIOGRAFIA | 152 |

INTRODUÇÃO

Pode-se definir germinação como o conjunto de passos consecutivos que levam uma semente quiescente, com um baixo conteúdo de água, a apresentar um aumento da sua atividade metabólica geral e a iniciar a formação de uma plântula a partir do embrião (MAYER & POLJAKOFF-MAYBER, 1975). O momento exato em que o processo de germinação começa ou termina é extremamente difícil de se definir. O próprio critério usado em geral para definir germinação, ou seja, a protrusão de alguma parte do embrião através da testa, já é em si mesmo um resultado do crescimento (MAYER & POLJAKOFF-MAYBER, 1975; METIVIER, 1979). A radícula é normalmente o primeiro órgão a emergir da casca, como no caso de milho, feijão, maxixe e picão, embora em alguns casos possa ocorrer primeiramente a emergência do epicótilo ou até parte dos cotilédones (METIVIER, 1979).

Para que ocorra a germinação, a semente deve ser antes de mais nada colocada em condições favoráveis a este processo. As condições necessárias são: suprimento adequado de água; temperatura e composição de gases na atmosfera adequados (MAYER & POLJAKOFF-MAYBER, 1975). Entretanto, em certos casos, embora as condições do meio ambiente sejam perfeitamente adequadas à germinação, a semente hidratada não responde a essas condições. Nesse caso diz-se que a se

mente está dormente. Esta dormência é provocada pela existência, dentro da própria semente, de um ou mais bloqueios à germinação (BEWLEY & BLACK, 1982).

A dormência é quebrada, em geral, pelo aparecimento de algum fator que não é necessário para a germinação em si, mas que irá capacitar a semente a responder subsequentemente às condições que suportam a germinação (METIVIER, 1978; BEWLEY & BLACK, 1982). Assim, uma característica da semente dormente é que a dormência pode ser quebrada por uma descontinuidade das condições, ou seja, uma condição que quebra a dormência e outra condição adequada à germinação propriamente dita (BEWLEY & BLACK, 1982). Assim, por exemplo, algumas espécies não germinam a menos que sejam expostas por um determinado período de tempo a temperaturas ao redor de 4°C, ou ainda a um período curto de luz, estando as sementes embebidas em escuro (BEWLEY & BLACK, 1982).

Sementes cuja quebra de dormência depende das condições de luz são denominadas fotoblásticas (EVENARI, 1965). Sementes fotoblásticas positivas são aquelas que necessitam de luz para germinar, enquanto que as sementes fotoblásticas negativas tem sua germinação inibida pela luz branca (NOGGLE & FRITZ, 1976). A fisiologia do fotocontrole da dormência é variada e complexa. A germinação de algumas espécies é promovida por exposições curtas à luz de energia relativamente baixa; outras requerem irradiação intermitente, enquanto que outras ainda necessitam de uma iluminação

diária com um certo fotoperíodo. Em algumas espécies a germinação é estimulada por períodos curtos de luz e inibida por exposições longas, enquanto que algumas são inibidas por luz de determinadas composições espectrais, mas não por luz branca (BEWLEY & BLACK, 1982). De qualquer maneira, quase todos os casos estão sujeitos a interações complexas entre luz e temperatura. Assim, por exemplo, sementes de *Bidens tripartita* não germinam em escuro a temperatura constante, mas o fazem sob temperaturas alternantes (ROLLIN, 1963). Sementes de *Amaranthus caudatus* mostram fotoblastismo negativo à temperatura de 5°C e fotoblastismo positivo a 40°C, sendo afotoblásticas a 25°C (ROLLIN, 1963). Certas variedades de alface necessitam de luz para germinar a 25°C, mas germinam no escuro quando em temperaturas baixas (WAREING & PHILLIPS, 1978). MAYER & POLJAKOFF-MAYBER (1975) citam um trabalho onde o autor apresenta uma relação de espécies cuja germinação ele relacionou com os fatores luz e temperatura. Dessa correlação ele identificou quatro grupos de sementes: a) a 20°C ou acima, 270 espécies eram fotoblásticas positivas e 114 negativas; b) após frio severo, 190 germinaram na luz e 81 no escuro; c) após resfriamento moderado, 52 espécies germinaram na luz e 32 no escuro; d) independentemente do tratamento de temperatura, 33 espécies eram indiferentes à luz ou ao escuro para germinar.

Entretanto, são muitos os fatores que influenciam o fotoblastismo, tais como o armazenamento. Em algumas espécies a necessidade de luz para germinar existe apenas

imediatamente após a colheita (por exemplo, *Salvia pratensis* e *Epilobium angustifolia*), enquanto que em outras espécies este efeito persiste pelo menos por 1 ano (exemplo, *Epilobium parviflorum*) (MAYER & POLJAKOFF-MAYBER, 1975). NORONHA, VICENTE & FELIPPE (1976) mostraram que em *Cucumis anguria* a medida em que se aumentava o período de armazenamento, as sementes passavam de indiferentes à luz a fotoblásticas negativas.

O tegumento também parece influenciar o fotoblastismo. ROLLIN (1963), estudando a fotoinibição da germinação de *Phacelia tanacetifolia*, mostrou que a escarificação dos tegumentos permite a germinação sob luz branca contínua. Esse mesmo autor mostrou que apenas a escarificação realizada no polo radicular teve efeito. Escarificações realizadas na região lateral ou no polo oposto à radícula não causaram efeito algum.

O comportamento germinativo da semente ainda pode ser determinado enquanto esta estiver na planta mãe. Dependendo do comprimento do dia, sementes com diferentes padrões de germinação são produzidas na mesma planta ou até no mesmo ramo (GUTTERMAN, 1980). Em *Portulaca oleracea* as sementes maturadas sob condições de dias curtos germinaram mais rapidamente do que aquelas maturadas sob dias longos (GUTTERMAN, 1980).

O efeito da luz sobre a germinação vem sendo estudado há muito tempo. Já em 1860, CASPARY observara que sementes de *Tillaea aquatica* não germinavam a menos que fos-

sem expostas à luz (KENDRICK, 1976). Em 1903 HEINRICHER demonstrou um efeito inibitório da luz na germinação de sementes de *Acanthostachys strobilacea* (KENDRICK, 1976). A partir de 1935 uma série de trabalhos, entre eles os trabalhos atualmente clássicos de FLINT & McALISTER (1935, 1937), BORTHWICK *et al.* (1952) e BUTLER *et al.* (1959), levaram à descoberta e isolamento do pigmento fitocromo, responsável, entre outras coisas, pelo fotocontrole da germinação.

O fitocromo é encontrado nos tecidos vegetais sob duas formas interconvertíveis pela luz: uma forma chamada Fv, com absorção máxima a 660 nm (vermelho) e outra forma denominada Fve, que apresenta seu pico de absorção a 730nm (vermelho extremo). A forma fisiologicamente ativa do fitocromo é a Fve. Desse modo, quando as sementes são embebidas sob luz vermelha, o fitocromo na forma Fv absorve esse comprimento de onda e se converte na forma Fve, determinando a germinação. Por outro lado, se as sementes forem embebidas sob vermelho extremo, o fitocromo que está sob a forma Fve absorve esse comprimento de onda e passa para a forma Fv, que é fisiologicamente inativa, de modo que a semente falha em germinar (MOHR, 1972). A alternância de exposição ao vermelho ou ao vermelho extremo irá provocar a promoção ou inibição da germinação, sendo que a resposta final dependerá apenas do último comprimento de onda dado, não importando o número de ciclos (BORTHWICK *et al.*, 1952). Esse tipo de resposta, indicando a ação do fitocromo, já foi demonstrada em diversas espécies como *Rumex obtusifolius* -

lius (ISIKAWA & FUJII, 1961; VICENTE *et al.*, 1962), maxixe (NORONHA *et al.*, 1978) e *Stevia rebaudiana* (RANDI & FELIPPE, 1981).

A fototransformação de Fv para Fve e vice versa pela luz vermelha e vermelho extremo envolve uma série de passos intermediários após as fotorreações iniciais (Figura 1). Tem sido mostrado que as plantas respondem tanto à concentração de Fve como à proporção Fve/F total mantida sob irradiação contínua. Nessas condições, uma proporção significativa do fitocromo total é mantida na forma de intermediários, já que as reações desses intermediários são relativamente lentas (KENDRICK & DE KOK, 1983). Sementes que requerem luz para a indução da germinação somente respondem à luz após um período de embebição, mostrando que Fve não pode ser formado a partir de Fv no estado não hidratado. Por outro lado, sementes que naturalmente apresentam um nível alto de Fve ou sementes que tenham sido hidratadas, submetidas a um período de vermelho (para produzir Fve) e secas novamente, podem mostrar efeitos fotorreversíveis sobre a germinação no estado não hidratado, durante a irradiação com vermelho e vermelho extremo (KENDRICK & DE KOK, 1983). Possivelmente essas reações de fotoconversão não ocorrem entre Fv e Fve, mas entre meta-Fa e Fve. Assim, o espectro de indução da germinação pela luz vermelha aplicada após vermelho extremo em sementes secas é diferente do espectro de ação para promoção da germinação em sementes hidratadas (KENDRICK & DE KOK, 1983).

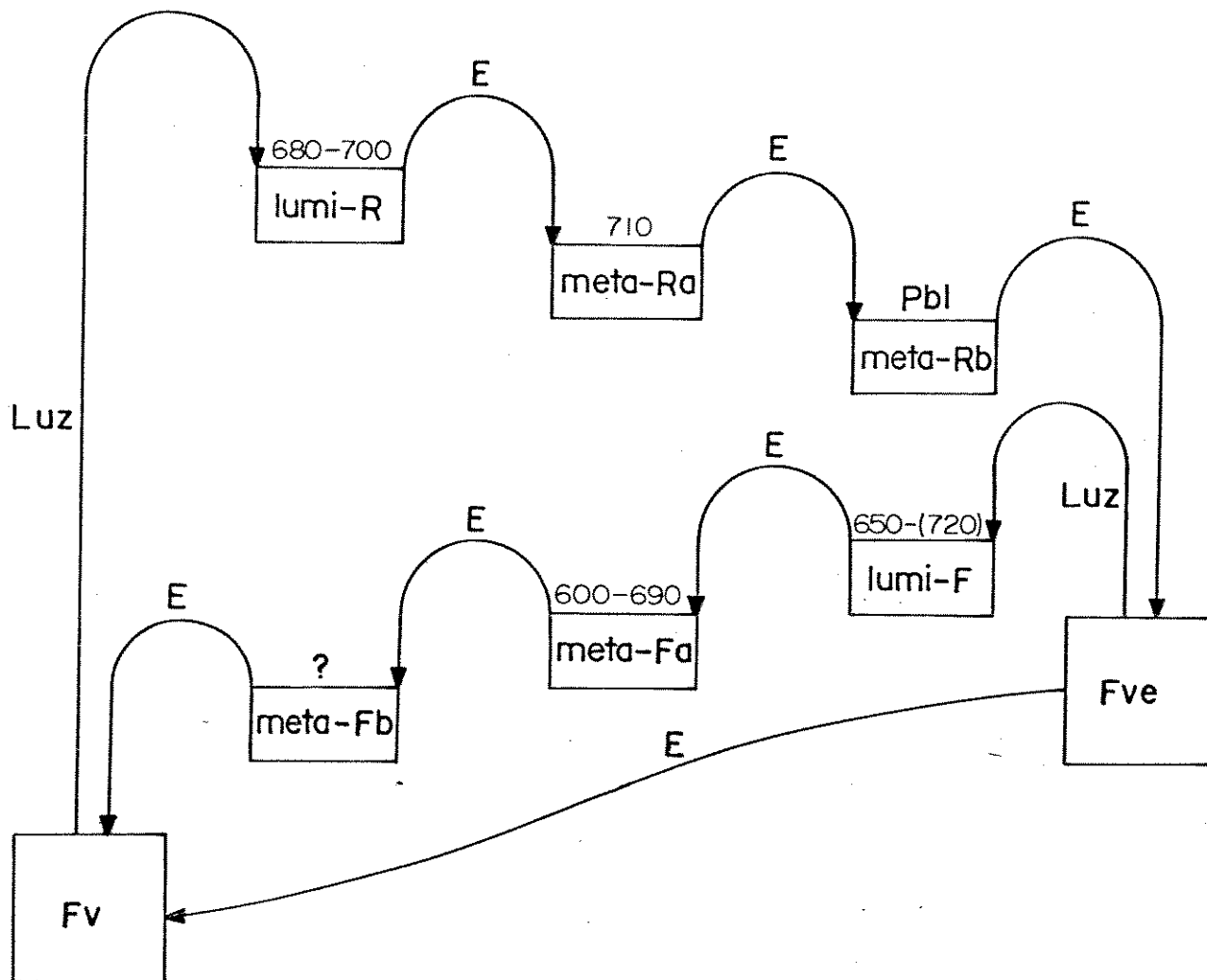


FIGURA 1. Fotoconversão do fitocromo (de acordo com KENDRICK & DE KOK, 1983). E= escuro.

A concentração de fitocromo em sementes secas é muito baixa, aumentando rapidamente durante a embebição. Este primeiro aumento parece ser resultado da hidratação de moléculas de fitocromo já presentes no tecido. Após um determinado período de tempo ocorre um segundo aumento correspondente à síntese "de novo" de fitocromo na forma Fv, que é a forma termodinamicamente estável. A forma Fve é relativamente instável de modo que, após conversão de Fv para Fve pela luz vermelha, ocorre um processo chamado destruição ou decaimento (KENDRICK, 1976). Sob luz vermelha contínua, a quantidade de fitocromo decresce por esse processo até um nível crítico, desencadeando a síntese "de novo" de Fv até ocorrer um equilíbrio entre destruição e síntese. O Fve sofre também uma reação de reversão térmica para Fv em escuro, embora esta reação não seja de ocorrência geral. Tanto a destruição como a reversão em escuro são dependentes de temperatura (KENDRICK & FRANKLAND, 1983).

O efeito praticamente instantâneo do vermelho extremo significa que quando ele é aplicado imediatamente após a luz vermelha, o Fve que foi produzido é removido antes de ter tempo para agir. À medida em que se aumenta o tempo de escuro entre o fim do tratamento com luz vermelha e o início do tratamento com vermelho extremo ocorre uma perda progressiva da reversibilidade da resposta até o momento em que o vermelho extremo não reverte nada o efeito da luz vermelha, embora possa transformar Fve em Fv. O período de tempo durante o qual o Fve efetivamente atua, e

após o que a reversão do pigmento deixa de ter efeito inibitório, é denominado tempo de escape (BEWLEY & BLACK, 1982). A velocidade de escape é geralmente dependente da temperatura. Em alface, por exemplo, o tempo necessário para a perda de 50% da reversibilidade é de 9 horas a 20^oC e de 5 horas a 25^oC (KENDRICK & FRANKLAND, 1983).

A ação do fitocromo ocorre por intermédio de duas reações: a) reação de baixa energia (LER) e b) reação de alta irradiância (HIR). No caso da LER, a resposta é iniciada pela formação de Fve, sendo dependente da concentração de Fve. Esta resposta pode ser revertida por exposição ao vermelho extremo. A concentração limiar de Fve necessária para iniciar a germinação é extremamente sensível à temperatura (KENDRICK, 1976). No caso da HIR, a resposta é iniciada por exposição contínua ao vermelho extremo. O espectro de ação para esse tipo de resposta apresenta um pico a cerca de 720 nm e um pico secundário na região azul do espectro. A irradiação prolongada com vermelho extremo atua da mesma maneira que um período curto de luz vermelha (na reação de baixa irradiância). A HIR é dependente da irradiância, requerendo contínua excitação do Fve e Fv (KENDRICK, 1976; KENDRICK & FRANKLAND, 1983). Embora um aumento na irradiância não altere a razão Fve/F total, há um aumento da taxa de interconversão de Fv e Fve, ou seja, da taxa de ciclagem do fitocromo. Enquanto que em plântulas a quantidade de Fve e o fluxo de fitocromo produzem o mesmo tipo de resposta fotomorfogenética, na germinação de semen

tes o efeito da alta irradiância atua de maneira oposta a aquele condicionado pela quantidade de Fve. Desse modo a germinação pode ser inibida tanto em sementes que germinam em escuro, fotoblásticas negativas, como em sementes cuja germinação é induzida por um período curto de vermelho, fotoblásticas positivas (KENDRICK & FRANKLAND, 1983).

Em algumas sementes fotoblásticas negativas a germinação pode ser inibida por uma exposição prolongada ao vermelho extremo, sendo que o grau de inibição é uma função da irradiância. O efeito do tratamento prolongado com vermelho extremo pode ser revertido por uma breve exposição ao vermelho, sendo que quanto maior for a irradiância e(ou) duração da exposição ao vermelho extremo, maior será a fluência da luz vermelha requerida para promover a germinação (MANCINELLI & RABINO, 1978). Possivelmente este tipo de reação está sob controle do fitocromo, já que ciclos de 1 min de vermelho/ 1 min de vermelho extremo/ 8 min de escuro são efetivos na inibição, enquanto que ciclos de 1 min de vermelho extremo/ 1 min de vermelho/ 8 min de escuro não são efetivos. Isto levou à hipótese de que vermelho extremo contínuo é necessário para remover Fve que está aparecendo continuamente durante a embebição. As observações sobre o aparecimento de Fve após vermelho extremo em sementes e tecidos desidratados, levou à hipótese de que o Fve é convertido em intermediários da via Fve para Fv, os quais revertem para Fve em escuro. Tais reações ocorrendo na semente não totalmente hidratada poderia explicar a ne-

cessidade de vermelho extremo contínuo para inibir a germinação (KENDRICK, 1976).

Sementes que são hidratadas, submetidas à irradiação com luz vermelha e secas novamente contêm altos níveis de Fve, sendo que a secagem deve ser suficientemente rápida para que a reversão em escuro seja mínima. Isto, possivelmente, não é o que ocorre na planta mãe, onde o processo de desidratação ocorre mais lentamente, já que a reversão de Fve para Fv em escuro pode ocorrer quando uma semente está em escuro e parcialmente hidratada (KENDRICK, 1976).

KENDRICK & RUSSELL (1975), trabalhando com alface, demonstraram que a efetividade de um pré tratamento com luz vermelha ou vermelho extremo é retida após secagem e armazenamento em escuro. Nesse trabalho, vermelho extremo foi aplicado em sementes imediatamente antes da embebição; o tratamento com vermelho extremo em sementes secas sob luz vermelha contínua foi menos efetivo em inibir a germinação do que em sementes secas após um período curto de irradiação com vermelho, indicando que as primeiras contêm menos Fve (KENDRICK & RUSSELL, 1975).

A qualidade da luz durante a maturação da semente na planta mãe é um importante fator de controle da germinação posterior. Sementes amadurecidas sob diferentes razões vermelho / vermelho extremo tem mostrado acentuadas diferenças em seu comportamento germinativo (KENDRICK & RUSSELL, 1975). Outro fator que afeta a razão vermelho/vermelho extremo no sítio de percepção da semente é a pigmentação dos

envoltórios constituídos pelo fruto ou (e) testa durante a maturação (KENDRICK, 1976). Uma vez que a luz deve passar através das estruturas que circundam o embrião, é concebível que estas possam atuar como um filtro, alterando a proporção de radiação vermelha e vermelho extremo que atinge o embrião (BEWLEY & BLACK, 1982).

A dormência de algumas sementes sensíveis à luz pode ser quebrada pela aplicação de reguladores de crescimento. Em alguns casos as sementes não respondem ao regulador aplicado isoladamente, sendo que a combinação de dois ou mais reguladores (como giberelina, citocinina e etileno) são ativos em luz ou em escuro (BEWLEY & BLACK, 1982).

Muitos trabalhos tem mostrado uma correlação entre produção de etileno e dormência, sugerindo que o etileno endógeno desempenha um papel importante na dormência de sementes (ABELES, 1973). O eixo embrionário de variedades não dormentes de amendoim produzem etileno durante a germinação, enquanto que a taxa de produção em variedades dormentes é baixa. O mesmo ocorre em sementes de *Xanthium*, nas quais a produção de etileno é bem maior na semente não dormente do que na dormente (WAREING & PHILLIPS, 1978).

A influência do etileno na germinação de sementes, principalmente sementes dormentes, envolve uma complexa interação com luz, giberelinas, citocininas e gás carbônico (LIEBERMAN, 1979). DRENNAM *et al.* (1978) postularam que em sementes de *Ambrosia artemisiifolia* o etileno aparentemente inicia os processos metabólicos que conduzem à quebra de dormência.

Pouco é conhecido a respeito da influência de inibidores da biossíntese de etileno na germinação de sementes. Da mesma maneira, o metabolismo de etileno exógeno em sementes dormentes ou em germinação não tem sido demonstrado, embora tenha sido estabelecido para plântulas. O etileno liberado durante a germinação de sementes, contudo, parece ser de origem metabólica (TAYLORSON & HENDRICKS, 1977).

A via biossintética hipotética do etileno em tecido de maçã parece ser a seguinte: metionina (Met) → S-adenosilmetionina (SAM) → ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano (ACC) → etileno (ADANS & YANG, 1977; YANG & HOFFMAN, 1984). São conhecidos diversos tipos de inibidores da biossíntese de etileno, podendo-se destacar: AVG, aminoetoxivinilglicina (AMRHEIN & WENKER, 1979; YOSHII *et al.*, 1980) que inibe a conversão de SAM para ACC através da inibição da enzima ACC sintase (YANG & HOFFMAN, 1984); ions inorgânicos tais como o cobalto, que possivelmente atuam inibindo a conversão de ACC para etileno (YU & YANG, 1979) e níquel (LAU & YANG, 1976). Outros inibidores da biossíntese de etileno são conhecidos, destacando-se o cloreto de cobalto e benzoato de sódio (MACHACKOVA & ZMRHAL, 1981; APELBAUM *et al.*, 1981) que removem radicais livres.

Sementes de *Cucumis anguria* L. (maxixe) são fotoblásticas negativas (NORONHA *et al.*, 1971). A germinação de *C. anguria* é inibida pelos comprimentos de onda azul e vermelho extremo, enquanto que escuro e luz vermelha promovem a germinação. A inibição por vermelho extremo pode ser

revertida por luz vermelha e escuro, sendo que a reversão por vermelho é mais efetiva do que a reversão por escuro (NORONHA *et al.*, 1978). A resposta das sementes a diferentes períodos de escuro independe do período de embebição prévia em luz branca. Por outro lado, a luz vermelha é mais efetiva quando aplicada após um período de 6 a 24 horas de embebição prévia em luz fluorescente branca (CARDOSO, 1982).

O período mínimo de escuro capaz de causar germinação situa-se entre 12 e 24 horas, enquanto que o período mínimo de vermelho encontra-se entre 6 e 12 horas (CARDOSO, 1982).

Em sementes de *C. anguria* o fitocromo pode ser detectado *in vivo*. A pequena proporção de fitocromo na forma Fve nessas sementes é responsável pela germinação em escuro (TAKAKI, 1983).

FELIPPE & LITJENS (1979; 1980) testaram alguns reguladores de crescimento sobre a germinação de *C. anguria*. Esses autores mostraram que 6-benziladenina (6-BA), ácido giberélico (GA_3) e ácido 2-cloroetilfosfônico (CEPA) promoveram a germinação em luz branca, sendo que o CEPA foi mais efetivo em reverter o efeito inibitório da luz branca. Esses resultados foram confirmados por CARDOSO (1982), que mostrou que 6-BA foi o regulador que menos efeito causou na germinação de *C. anguria*. CARDOSO (1982) mostrou que o efeito relativamente lento de 6-BA e GA_3 não está relacionado a mecanismos de impermeabilidade da casca a esses re-

guladores, uma vez que eles penetraram nas sementes durante as primeiras 24 horas de embebição. Foi observado que durante a germinação de *C. anguria* ocorre liberação de etileno, sendo que esta esteve correlacionada com a taxa de germinação; sementes embebidas em escuro apresentaram maior porcentagem de germinação e maior liberação de etileno do que sementes embebidas em luz branca (CARDOSO, 1982).

Em sementes de *C. anguria* observou-se que choques de 0°C e pares alternantes de temperatura de 25-10°C e 25-5°C promoveram a germinação em luz branca. Associando-se o par de temperaturas alternantes de 25-5°C com vermelho extremo, observou-se que a aplicação do vermelho extremo quando a temperatura era 25°C causou inibição da germinação. Por outro lado, a aplicação do vermelho extremo com a temperatura de 5°C, seguindo-se luz fluorescente branca e escuro a 25°C, não causou qualquer inibição, sendo que a luz branca foi mais efetiva em reverter o efeito do vermelho extremo nessas condições. Resultados semelhantes também foram obtidos com sementes fotoblásticas positivas de *Rumex obtusifolius* (FELIPPE, 1980).

OBJETIVOS

Com este trabalho pretendeu-se fazer um estudo mais amplo a respeito dos fatores que influenciam a germinação da semente fotoblástica negativa de *Cucumis anguria*. Dentre esses fatores foram destacados: temperatura, luz e escarificação da testa. Também foram feitos experimentos para se verificar a interação entre luz e substâncias de crescimento e o papel do etileno na germinação de *C. anguria*, assim como observar o efeito da luz durante a maturação do fruto na planta mãe e durante a secagem das sementes.

Os objetivos gerais foram: a) buscar novas evidências do envolvimento do fitocromo na germinação de *C. anguria*; b) verificar por métodos indiretos o comportamento do fitocromo numa semente fotoblástica negativa; c) tentar caracterizar alguns fatores que possam explicar o fotoblastismo negativo de *C. anguria*; d) esclarecer alguns aspectos da relação entre etileno e germinação de *C. anguria*.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Foram utilizadas sementes de *Cucumis anguria* L. (maxixe) coletadas em plantas cultivadas em canteiros no Departamento de Fisiologia Vegetal da Universidade Estadual de Campinas.

Para os experimentos de germinação, os frutos foram coletados quando já estavam bem amadurecidos e os pedúnculos secos. Em seguida cortava-se cada fruto longitudinalmente em duas partes, sendo que cada uma delas foi esfregada contra a superfície de uma peneira de malha grossa para que as sementes fossem removidas. Estas eram então lavadas com água corrente e postas para secar em bandejas sob luz branca obtida com 3 lâmpadas fluorescentes de 40 W e 3 lâmpadas incandescentes de 40 W, à temperatura de aproximadamente 27°C.

Após estarem completamente secas (peso constante), as sementes eram armazenadas em frascos de vidro tampados, em condições de escuro e à temperatura ambiente (cerca de 25°C), onde permaneciam até serem utilizadas. Em geral, o período de armazenamento não ultrapassou 16 meses.

Métodos

Os experimentos de germinação foram realizados em câmaras de crescimento com condições controladas de luz e temperatura. Os experimentos foram mantidos à temperatura de 25°C, sob luz fluorescente branca ou escuro, exceto nos casos em que se verificou o efeito de temperaturas constantes e luz monocromática.

Utilizaram-se placas de Petri de vidro de 9 cm de diâmetro, cada qual forrada com 2 discos de papel de filtro. As sementes foram distribuídas no interior de cada placa (20 ou 30 sementes por placa) adicionando-se em seguida 5 ml de solução ou água destilada, de acordo com o experimento. De um modo geral foram utilizadas 5 repetições por tratamento, sendo que em alguns experimentos utilizaram-se apenas 3.

Nos experimentos com luz branca constante foram utilizadas lâmpadas fluorescentes de 15 W, que proporcionavam ao nível das placas uma irradiância de $320 \mu\text{W}\cdot\text{cm}^{-2}$. Nos tratamentos de escuro contínuo ou períodos curtos de escuro, as placas foram colocadas dentro de um invólucro formado por 3 camadas de plástico preto.

O critério utilizado para se considerar a semente germinada foi a protrusão da radícula ou de qualquer outra parte do embrião. As sementes germinadas foram removidas das placas após a contagem.

Nos tratamentos de escuro, as contagens de germinação foram feitas sob luz verde de segurança, que não afeta a germinação de *C. anguria* (NORONHA *et al.*, 1978).

Testes de germinação sob luz branca e escuro a 25°C foram realizados como controle para a maioria dos experimentos.

Os experimentos de germinação tiveram uma duração média de 7 dias, que é o tempo dentro do qual sementes de *C. anguria* mantidas em escuro a 25°C atingem a germinação máxima.

Para obtenção de luz monocromática de banda larga, no caso da luz vermelha, foi utilizado um filtro formado por duas folhas de papel celofane vermelho sob luz de duas lâmpadas fluorescentes brancas de 15 W cada (intensidade de aproximadamente $1,2 \mu\text{W} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{nm}^{-1}$). Para o vermelho extremo, o filtro era formado por três folhas de papel celofane azul e duas de papel celofane vermelho, sob uma lâmpada incandescente branca de 40 W (intensidade ao redor de $1,2 \mu\text{W} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{nm}^{-1}$). O filtro para azul era formado por duas folhas de papel celofane azul sob uma lâmpada fluorescente azul de 15 W (intensidade de $1,2 \mu\text{W} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{nm}^{-1}$) (NORONHA *et al.*, 1978; RANDI, 1980).

A aplicação de vermelho (660 nm) e vermelho extremo (730 nm) de banda estreita foi feita utilizando-se monocrômador acoplado à lâmpada de xenônio de 200 W. A aplicação dos tratamentos luminosos foi feita à temperatura de 25°C.

1. Interação entre luz vermelha e substâncias de crescimento.

Nesta série de experimentos foram utilizados dois reguladores de crescimento (concentrações finais): ácido giberélico (GA_3) da Sigma a $2,88 \cdot 10^{-4}$ M; 6-benziladenina (6-BA) da Sigma, a $2,2 \cdot 10^{-4}$ M. Foi também utilizado o ácido 2-cloroetilfosfônico (CEPA) da Amchem, a $1,6 \cdot 10^{-4}$ M. O CEPA é uma substância liberadora do regulador etileno (ABELES, 1973). Essas concentrações são consideradas promotoras da germinação de *C. anguria* (FELIPPE & LITJENS, 1980). As soluções de CEPA foram preparadas a partir de uma solução estoque 24%. O GA_3 foi preparado diluindo-se 18 mg da substância em 1 ou 2 gotas de etanol, completando-se para 60 ml com água destilada (solução estoque). A solução estoque de 6-BA, por sua vez, foi preparada diluindo-se à temperatura de $100^{\circ}C$, 9 mg da substância em água destilada, completando-se em seguida para 60 ml. Nos tratamentos nos quais testou-se a interação entre reguladores de crescimento e luz, a luz vermelha foi aplicada pelo período de 6 horas, após 24 horas de embebição sob luz branca.

Antes de receberem as soluções de reguladores de crescimento, as sementes foram embebidas em água destilada a $5^{\circ}C$ durante 3 horas. Esse procedimento visa diminuir a possibilidade do regulador de crescimento, que está penetrando mais lentamente do que a água, encontrar a semente num estado já induzido (KARSSSEN, 1976). Após a embebição,

as sementes foram transferidas para placas contendo os reguladores de crescimento e o experimento todo transportado para as câmaras de crescimento, onde permanecia a 25°C sob luz fluorescente branca constante (excetuando-se os tratamentos com 6 horas de vermelho).

Foram testadas as seguintes interações: GA₃ com luz vermelha (V); 6-BA com V; CEPA com V; GA₃ com 6-BA ; GA₃ com CEPA; 6-BA com CEPA; 6-BA com GA₃ e CEPA; GA₃ com 6-BA e V; GA₃ com CEPA e V; 6-BA com CEPA e V e, GA₃ com 6-BA, CEPA e V.

2. Efeito da escarificação.

As escarificações foram feitas removendo-se com auxílio de bisturi e pinça, pequenas porções de cerca de 1 mm² da testa das sementes. As regiões em que as escarificações foram feitas são mostradas na Figura 2: no polo da micrôpila; no polo oposto à micrôpila e na região lateral da semente. As escarificações sempre foram feitas antes das sementes serem colocadas para embeber.

No ensaio para se avaliar a sensibilidade das duas extremidades da semente de *C. anguríá* à luz, utilizou-se o procedimento de se enterrar cada semente em solo peneirado, com a micrôpila voltada para cima ou com a micrôpila voltada para baixo, isto é, enterrada no solo. O esquema da montagem do experimento encontra-se na Figura 3.

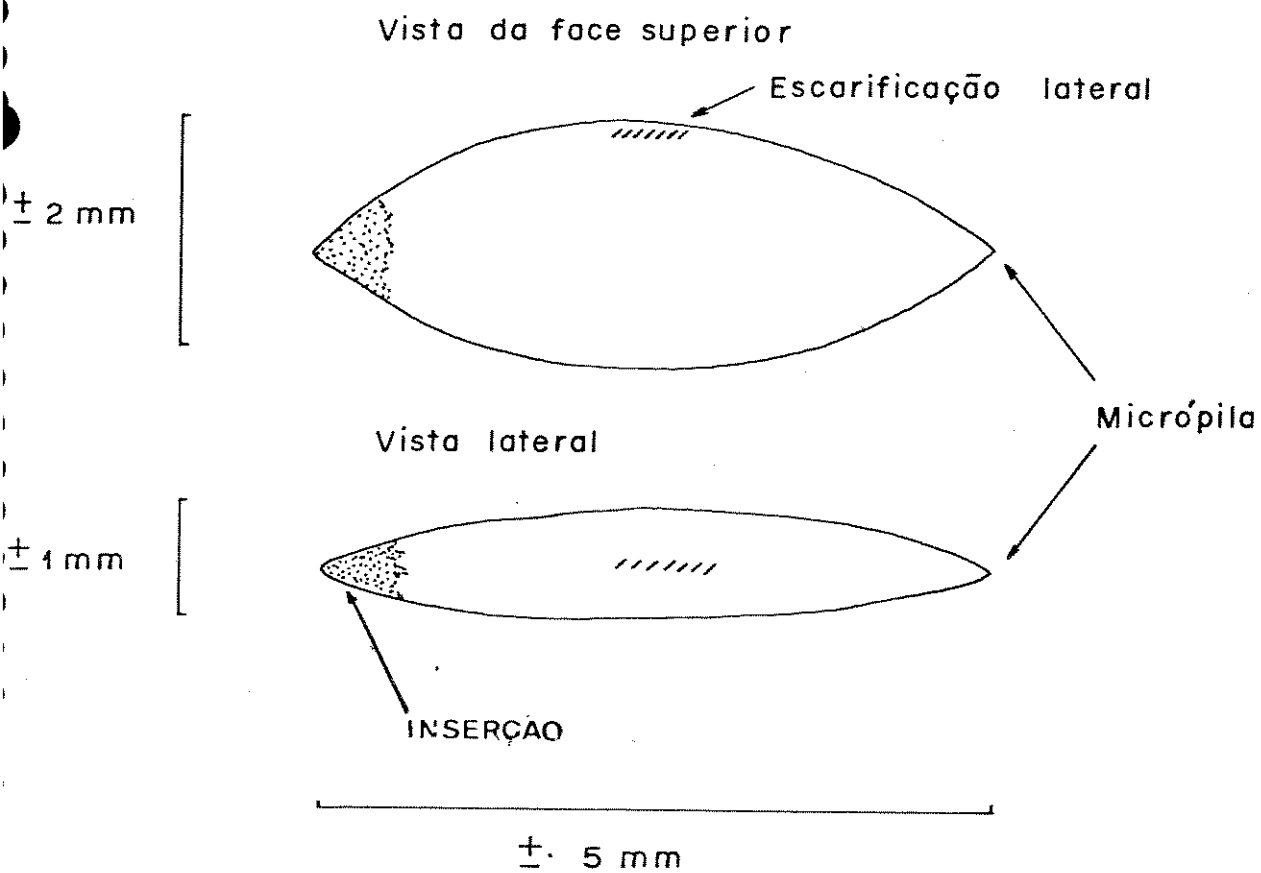


FIGURA 2. Desenho esquemático de uma semente de *Cucumis anguria*, mostrando as regiões em que foram feitas as escarificações.

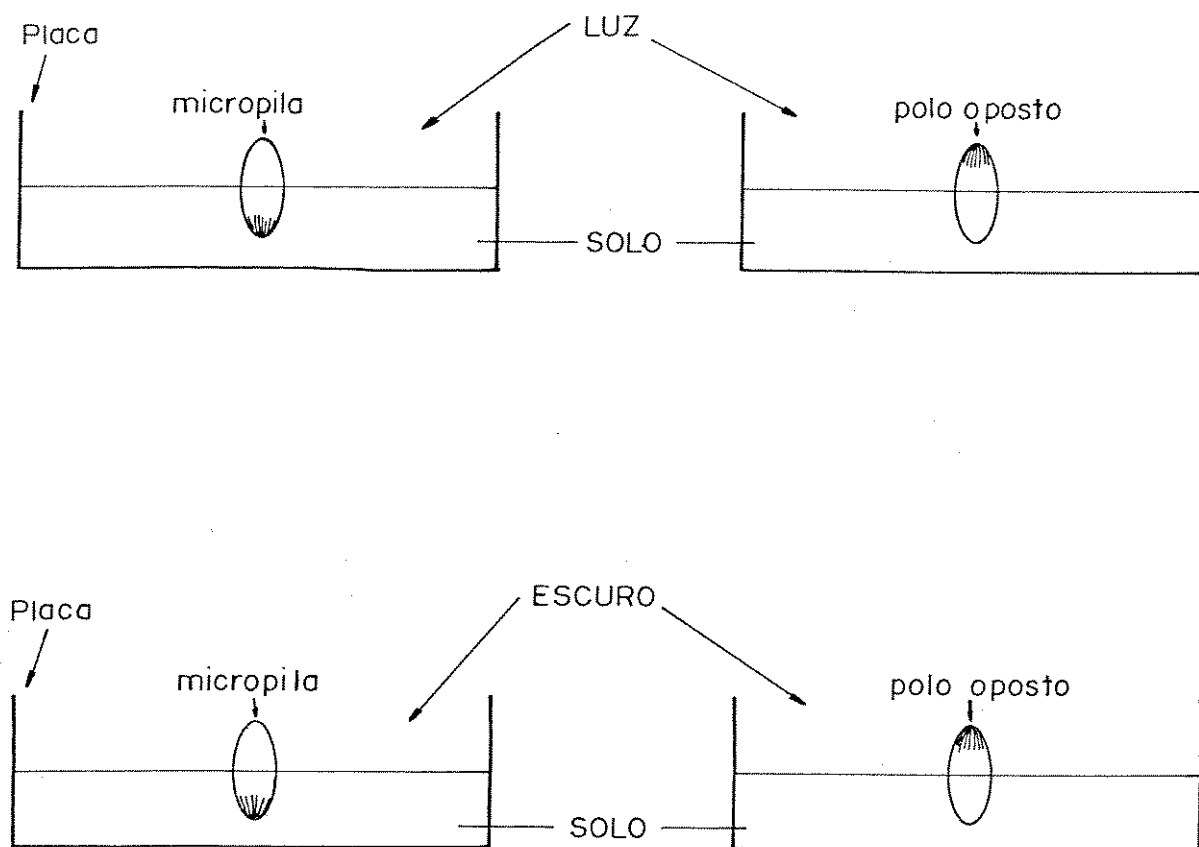


FIGURA 3. Esquema do experimento em que se testou o efeito da iluminação de duas regiões da semente de *Cucumis anguria*.

Foram utilizadas placas de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo cada qual 45 g de solo argiloso peneirado e 20 ml de água. As sementes foram colocadas cuidadosamente nas placas com auxílio de pinça, de modo a permanecerem semi enterradas.

No teste preliminar em que se verificou a qualidade da luz transmitida através da casca, foi adotado o procedimento de se remover as testas de cerca de 300 mg de sementes. As testas foram então misturadas com um pouco de sílica gel (tipo G) e prensadas em prensa hidráulica, formando pastilhas de aproximadamente 2 mm de espessura. Cada pastilha foi então colocada no espectrofotômetro "Mc Pherson" RS - 10 de feixe duplo, medindo-se a transmissão desde 200 até 800 nm.

3. Secagem e maturação das sementes.

3.1. Secagem

Nos experimentos em que foi testado o efeito das condições da luz durante a secagem das sementes, coletaram-se os frutos a partir da planta crescida em canteiro. A coleta deu-se em geral cerca de 50 dias após a sementeira, quando os frutos já estavam maduros. As sementes foram então removidas manualmente dos frutos, e espalhadas em bandejas forradas com papel de filtro e postas para secar sob

luz branca (fluorescente ou incandescente), luz vermelha e vermelho extremo, dependendo do tratamento. A luz incandescente foi proporcionada por 3 lâmpadas de 40 W cada, enquanto que a luz fluorescente foi conseguida com 3 lâmpadas de 40 W cada. As condições do vermelho extremo são as mesmas daquelas já citadas. A temperatura durante o processo de secagem geralmente oscilou em torno de 27°C. O período de secagem foi até se obter peso constante para as sementes. As sementes secas foram armazenadas em condições de escuro, em recipientes de vidro à temperatura ambiente (cerca de 25°C), onde permaneciam até serem colocadas para germinar. O tempo de armazenagem foi em geral de aproximadamente 3 semanas.

3.2. Efeito do fotoperíodo durante a maturação do fruto.

Neste experimento, sementes de *C. anguria* foram semeadas em vasos de polipropileno preenchidos com solo (latossolo vermelho), sendo mantidas 1 ou 2 plantas por vaso. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação, em condições de luz e fotoperíodo naturais. As polinizações foram feitas manualmente (polinizações cruzadas). Após o estabelecimento dos frutos, os vasos foram transferidos para condições de dias curtos (8 horas) e dias longos (18 horas), onde permaneciam até a coleta dos frutos quando estes já estavam maduros. O fotoperíodo de 18 horas foi obtido suple-

mentando-se o fotoperíodo natural com luz de lâmpadas incandescentes. A temperatura na casa de vegetação oscilou entre 20 e 37°C no decorrer dos experimentos.

A remoção das sementes dos frutos foi feita de modo já citado, sendo a secagem feita dentro das condições descritas no Ítem Material.

3.3. Germinação das sementes em estádios sucessivos de maturação dos frutos.

As condições de plantio, crescimento e polinização das plantas foram as mesmas do Ítem 3.2, excetuando-se que as plantas permaneceram em condições de luz e fotoperíodo natural mesmo após o estabelecimento dos frutos. No dia da polinização, os pedúnculos das flores foram marcados com pedaços de linhas coloridas, para se controlar a idade aproximada de cada fruto. Cada fruto dentro de uma determinada idade era coletado, sendo as sementes removidas, secas e postas para germinar logo após a secagem. Uma amostragem foi distribuída em frascos de 10 ml de volume para dosagem de etileno, tendo sido utilizadas 3 repetições por fruto. Os ensaios de germinação e produção de etileno foram mantidos em escuro contínuo. As contagens de germinação foram feitas após 7 dias de embebição, enquanto que as dosagens de etileno foram realizadas após 48 horas. A dosagem do conteúdo de água foi feita em sementes recém-colhidas

e limpas, antes portanto de serem submetidas à secagem. Uma amostra das sementes extraídas de cada fruto foi pesada e, em seguida, colocada em estufa a 100°C durante 24 horas, após o que procedia-se novamente à pesagem. A porcentagem de hidratação foi calculada pela fórmula:

$$\frac{\text{Peso fresco} - \text{Peso seco}}{\text{Peso fresco}} \cdot 100$$

Cada ponto no gráfico representa a média de 5 frutos.

Nos experimentos em que se verificou o efeito do tipo de luz durante a maturação dos frutos, estes foram envolvidos em filtros de papel celofane após cerca de 14 dias desde a polinização. Além de filtros para vermelho e vermelho extremo, alguns frutos foram envolvidos em saquinhos de plástico transparente (controle de luz branca) ou pretos (controle de escuro). A coleta deu-se após 45 dias desde o início dos tratamentos, quando os frutos estavam maduros, sendo a remoção e secagem das sementes realizadas em escuro. Os experimentos de germinação foram feitos após 60 dias do armazenamento das sementes em escuro.

4. Efeito da temperatura

4.1. Temperaturas constantes.

Os tratamentos foram feitos colocando-se as placas em câmaras de germinação com diferentes temperaturas cons-

tantes, sendo a variação média de aproximadamente $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Foram feitos tratamentos de luz branca e escuro. Foram testadas as temperaturas de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 e 45°C . Em alguns experimentos foram combinadas as temperaturas de 25 e 33°C e vermelho extremo de banda larga.

4.2. Períodos curtos de temperatura baixa ou alta.

Nos tratamentos submetidos à temperatura baixa, dois procedimentos básicos foram utilizados. Para obtenção de temperatura de 0°C , as placas contendo as sementes embebidas foram colocadas sobre gelo moído dentro de bandejas plásticas, as quais foram mantidas sob luz fluorescente branca. Para os tratamentos com temperaturas de 5°C , as placas foram colocadas diretamente em câmara de germinação à temperatura de 5°C .

Para os tratamentos curtos com temperatura alta, as placas foram colocadas em câmara de germinação a 40°C , em condições de luz fluorescente branca.

Nos tratamentos de frio, as placas permaneceram a 0°C por 1 hora e 24 horas, e a 5°C por 3 horas. Nos tratamentos de períodos curtos de temperatura alta, as placas permaneceram a 40°C por 2, 4 e 6 horas. De acordo com FELIPPE (1978), ocorre um intervalo de tempo de aproximadamente 10 minutos para o interior da placa de Petri alcançar 40°C , 55 minutos para atingir 0°C e 45 minutos para atingir

5°C, a partir do momento em que as placas são colocadas nas respectivas temperaturas.

5. Etileno e Germinação.

Os ensaios foram realizados em frascos de vidro com volume de 110 ml, dotados de tampa de borracha. Dentro de cada frasco eram colocados 2 retângulos de papel de filtro os quais foram umedecidos com 2 ml de água destilada. Em seguida colocavam-se as sementes e os frascos eram tampados e transferidos para câmara de germinação.

Periodicamente foram coletadas amostras de 0,5 ml de gás do interior de cada frasco por intermédio de seringas de polietileno descartáveis de 1 ml, cuja agulha era introduzida através da tampa. A amostra era então injetada no cromatógrafo a gás para se determinar a presença de etileno no interior do frasco. A metodologia baseou-se, em geral, em WARD *et al.* (1978).

Foi utilizado o cromatógrafo a gás "Varian - modelo 2440" equipado com detetor de ionização de chama. Utilizou-se coluna "Pyrex" de 6' x 1/4'', sendo a fase sólida constituída de Porapak T com malha de 80/100. Como fase móvel usou-se o gás nitrogênio, na velocidade de 0,7 ml.seg⁻¹. As temperaturas do aparelho foram as seguintes: coluna, 100°C; injetor, 140°C e detetor, 190°C. Como padrão foi utilizado etileno (White Martins) na concentração de

$1 \mu\text{l} \cdot \text{l}^{-1}$. A avaliação quantitativa do etileno nos frascos foi feita comparando-se a altura do pico da amostra (caso esta contivesse etileno) com o pico do padrão.

Paralelamente a cada ensaio de etileno, foram montados frascos controle preparados da mesma maneira que os demais, mas sem sementes. Esses controles indicaram que não houve produção de etileno pelas tampas de borracha dos frascos. Foi montado outro ensaio para se verificar se os frascos deixavam escapar etileno. Neste ensaio foram injetados volumes conhecidos de etileno nos frascos, procedendo-se à leitura diária da concentração do gás durante os primeiros 5 dias. Observou-se que neste intervalo de tempo o escape de etileno em cada frasco foi insignificante.

5.1. Liberação de etileno pelas sementes.

Foram utilizados em geral 5 frascos por tratamento, sendo colocados 500 mg de sementes por frasco, ou seja, o equivalente a cerca de 106 sementes. Em alguns casos adotou-se o procedimento de se colocar 100 sementes por frasco, sendo que nesse caso expressava-se a quantidade de etileno produzido em relação ao número de sementes.

Nos experimentos em que se verificou o efeito do vermelho e vermelho extremo na produção de etileno pelas sementes, foram realizados os tratamentos apresentados na Tabela 1. A temperatura utilizada foi de 25°C . Foi também verificada a liberação em sementes sob luz fluorescente branca.

TABELA 1. Esquema dos tratamentos utilizados para o estudo da liberação de etileno por sementes de *C.anguria* mantidas sob diferentes comprimentos de onda.

| 1º período | 2º período | 3º período | 4º período |
|------------|------------|------------|------------|
| 12h LB | 6h V | LB | LB |
| 12h LB | 12h V | LB | LB |
| 12h LB | 24h V | LB | LB |
| 12h LB | 6h VE | LB | LB |
| 12h LB | 12h VE | LB | LB |
| 12h LB | 24h VE | LB | LB |
| 12h LB | 2h VE | 6h V | LB |
| 12h LB | 2h VE | 12h V | LB |
| 12h LB | 2h VE | 24h V | LB |
| 12h LB | 6h V | 2h VE | LB |
| 12h LB | 12h V | 2h VE | LB |
| 12h LB | 24h V | 2h VE | LB |
| 12h E | 0h VE | E | E |
| 12h E | 3h VE | E | E |
| 12h E | 9h VE | E | E |
| 12h E | 15h VE | E | E |
| 12h E | 24h VE | E | E |

LB = luz fluorescente branca; V = luz vermelha;
VE = vermelho extremo; E = escuro.

Foram feitos testes nos quais se verificou o efeito da aplicação de pressão negativa durante a embebição, sobre a liberação de etileno. O procedimento adotado foi colocarem-se as sementes não embebidas em bēqueres de 5 ml contendo 2 ml de água destilada. Os bēqueres foram então colocados em dessecador acoplado a uma bomba de vācuo que foi ligada, regulando-se o vacuômetro até a marca de 30 po legadas. A bomba permaneceu ligada durante alguns minutos até que se observassem bolhas no interior dos bēqueres. O dessecador foi então fechado por 2,5 horas, apōs o que foi aberto e as sementes transferidas para os frascos nos quais se fariam as dosagens de etileno.

5.2. Germinação em frascos vedados.

Esses experimentos foram realizados em frascos semelhantes āqueles utilizados para dosagens de etileno. Estes frascos tem volume de 110 ml, medindo aproximadamente 6 x 4,5 x 9,5 cm. Eles permaneciam tombados no sentido de seu comprimento (9,5 cm), apresentando assim "largura" de 6 cm e "altura" de 4,5 cm. No gargalo do frasco foi adaptada uma tampa de borracha, do mesmo tipo utilizado em frascos de soro. Estando o frasco posicionado, a superfície interna inferior foi forrada com 2 retângulos de papel de filtro, os quais foram umedecidos com 2 ml de água destilada. Em seguida 80 sementes foram espalhadas sobre papel de

filtro. Feito isso, cada frasco foi tampado e colocado na câmara de crescimento sob luz fluorescente branca ou escuro, à temperatura constante de 25°C.

Em alguns tratamentos foi colocado dentro de cada frasco, juntamente com as sementes, um pequeno recipiente de vidro contendo 1 ml de uma solução de perclorato de mercúrio, que é um captador de etileno (ABELES, 1973). A solução foi preparada de acordo com ABELES (1973), misturando-se 2,7 g de óxido vermelho de mercúrio em 21 ml de ácido perclórico 70% e completando-se para 50 ml com água destilada. Em geral, colocava-se um pedaço de papel de filtro no interior do recipiente com perclorato de mercúrio, de modo a aumentar a superfície de contato entre a solução e a atmosfera no interior do frasco. Tomava-se a precaução de evitar o contato entre as sementes e o perclorato de mercúrio. Nos frascos controle foram colocados recipientes com as mesmas dimensões daqueles dos tratamentos, contendo cada qual apenas 1 ml de água destilada.

5.3. Efeito de substâncias inibidoras da produção de etileno.

As substâncias utilizadas foram: aminoetoxivinil glicina (AVG) a 20 mM e cloreto de cobalto (CoCl_2) também a 20 mM. O procedimento adotado foi primeiramente embeber as sementes em água destilada durante 4 horas à temperatura

de 5°C (KARSSSEN, 1976), sob luz fluorescente branca. Em seguida, as sementes foram transferidas para bēqueres de 5ml contendo cada qual 2 ml de soluçāo de AVG ou cloreto de cobalto, onde permaneceram imersas durante o perīodo de 3 horas em luz branca a 25°C, antes de serem colocadas nos frascos nos quais foram realizadas as dosagens de etileno. Durante as dosagens, os experimentos foram mantidos em escuro constante, ā temperatura de 25°C. Foram utilizadas em geral 5 repetiçōes por tratamento, com 100 sementes por repetiçāo. Apōs a ūltima dosagem de etileno os frascos foram abertos, procedendo-se entāo ā contagem de germinaçāo e mediçāo do comprimento das radīculas com auxīlio de papel milimetrado.

6. Anālise Estatīstica.

Os valores de germinaçāo foram transformados em arco seno $\sqrt{\%}$. Os experimentos foram examinados por anālise de variāncia entre e dentro de colunas e por anālise fatorial. Calculou-se a DMS 5% pelo mētodo de TUKEY, modificado por SNEDECOR (1962). Em alguns casos foi realizado o teste T ou determinados os intervalos de confiança, sempre para probabilidade de 5%.

A velocidade de germinaçāo foi estimada pelo coeficiente de regressāo b . Em alguns experimentos foi determinado o coeficiente de correlaçāo r , como tambēn determinada a regressāo (SNEDECOR, 1962).

RESULTADOS

1. Interação entre luz vermelha e reguladores de crescimento.

Os resultados de dois experimentos são apresentados nas Figuras 4 e 5. No experimento da Figura 4 foram testadas apenas reguladores de crescimento, sem o fator luz vermelha, enquanto que na Figura 5 ocorreu também a aplicação de vermelho. A análise de variância fatorial mostrou que não houve interação entre os efeitos dos reguladores de crescimento testados, assim como não houve entre estes e a luz vermelha (Figura 5). Nos experimentos apresentados nas Figuras 4 e 5 verificou-se apenas um efeito promotor significativo do ácido 2-cloroetilfosfônico (CEPA) sobre a germinação, tanto isolado como quando aplicado misturado com os outros reguladores e a luz vermelha. Portanto, apenas o CEPA (etileno) promoveu a germinação de *C. an_gur_ia*.

2. Efeito da escarificação das sementes sobre a germinação.

Numa primeira série de experimentos, testou-se o efeito da escarificação em três regiões diferentes da se -

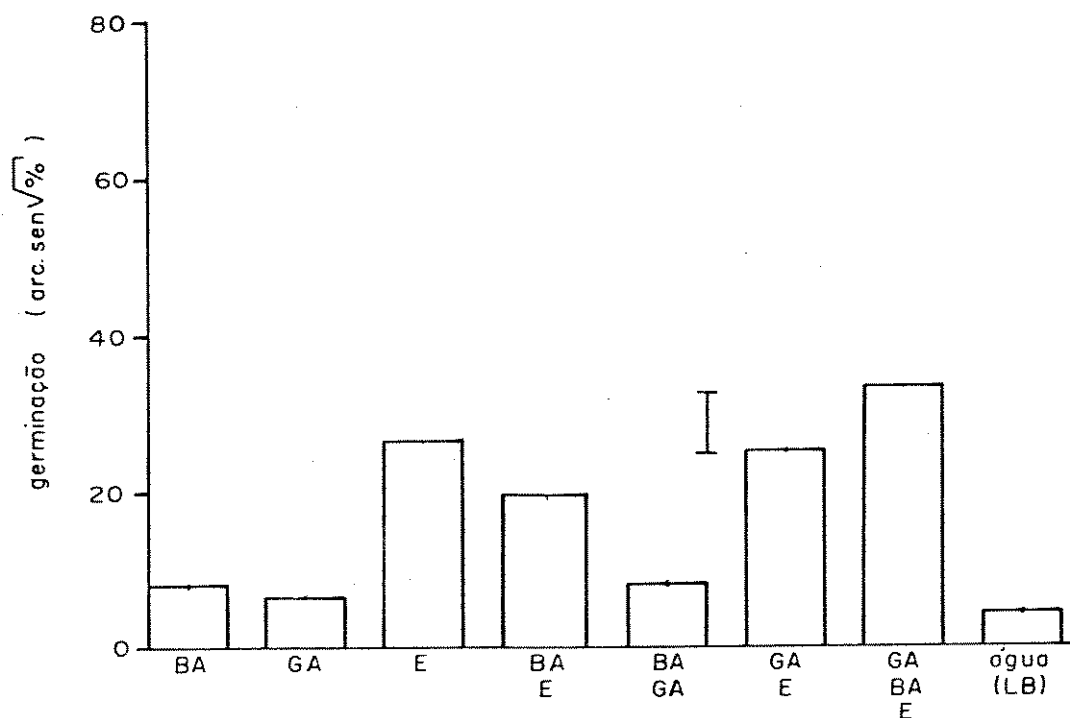


FIGURA 4. Interação entre 6-benziladenina (BA), ácido giberélico (GA) e ácido 2-cloroetilfosfônico (E) na germinação de *Cucumis anguria*, sob luz branca. Contagem após 72h. Barra vertical=DMS_{5%}.

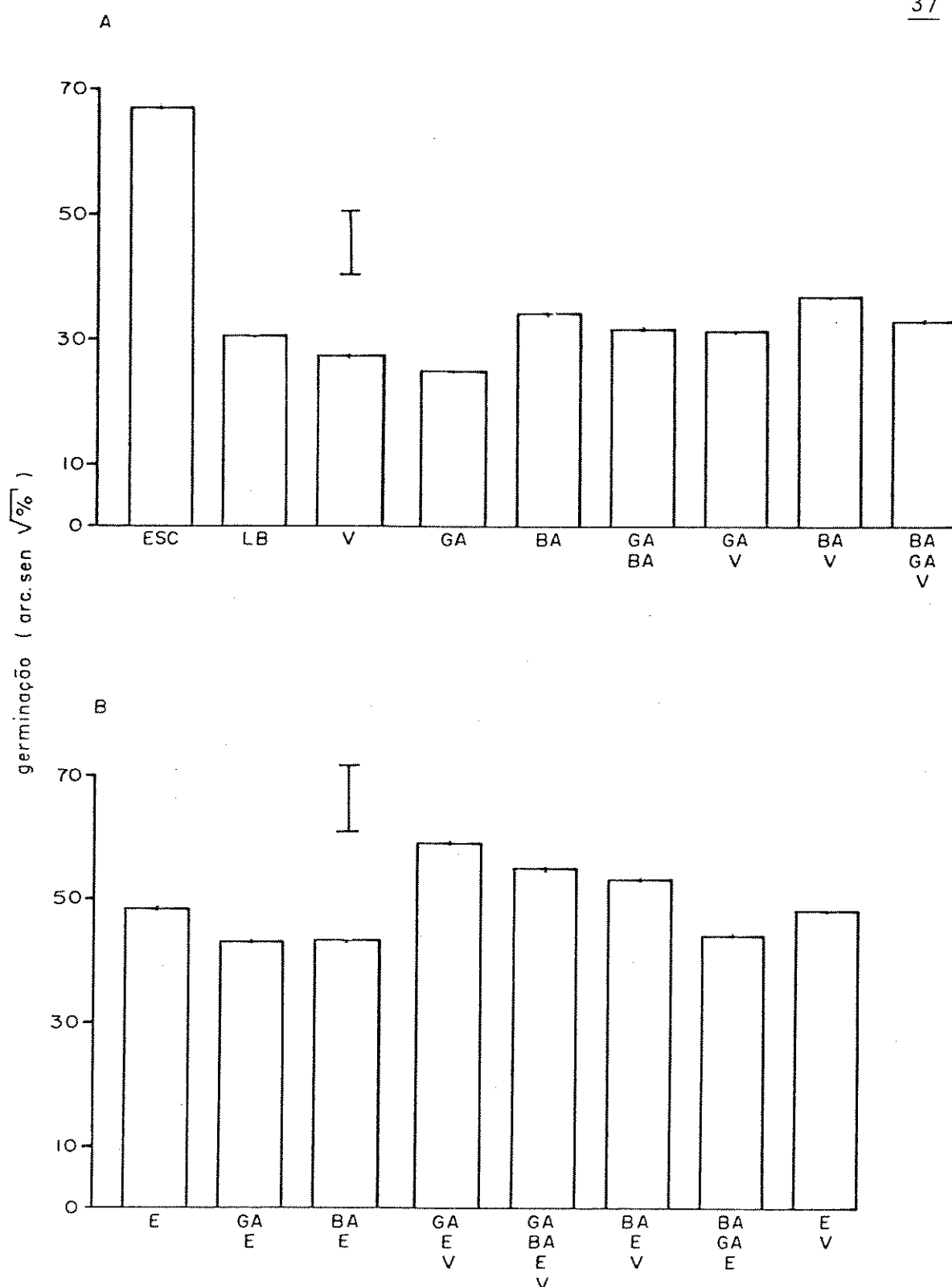


FIGURA 5. Interação entre luz vermelha (V), ácido giberélico (GA), 6-benziladenina (BA) e ácido 2-cloroetilfosfônico (E) na germinação de *Cucumis anguria*, sob luz branca.

Contagem após 7 dias. Barra vertical = DMS₅%. LB=água(luz) e ESC=água(escuro). A= tratamentos sem E; B= tratamentos com E.

mente sobre a germinação sob luz branca e escuro, sendo os resultados apresentados na Figura 6. Observa-se que a escarificação na região da micrôpila promoveu a germinação sob luz branca, alcançando esta valores semelhantes aquele do controle de escuro. Escarificações laterais ou na região oposta à micrôpila (aqui chamada inserção) apresentaram resultados semelhantes entre si, observando-se um efeito promotor em relação às sementes não escarificadas mantidas em luz branca. Por outro lado, essa promoção foi menor do que nos tratamentos de escuro. Ainda na Figura 6 pode-se observar que a germinação em escuro foi semelhante entre as sementes escarificadas e as não escarificadas. A análise de variância permite separar 3 grupos de curvas: o 1º grupo de sementes intactas sob luz; o 2º grupo com sementes escarificadas lateralmente e na inserção, sob luz; e o 3º grupo junta todos os tratamentos de escuro e as sementes escarificadas na micrôpila sob luz.

O efeito da escarificação também foi testado na germinação sob vermelho extremo e azul. Na Figura 7 observam-se os resultados de um experimento em que sementes foram escarificadas na região da micrôpila e na extremidade oposta à micrôpila (inserção) e colocadas para germinar sob luz fluorescente branca, escuro e vermelho extremo. Nos tratamentos mantidos em escuro, as sementes escarificadas na região da micrôpila apresentaram germinação mais rápida, o que pode ser visto na Figura 7 A, onde são mostrados os resultados após 48 horas. A germinação final (após 13 dias)

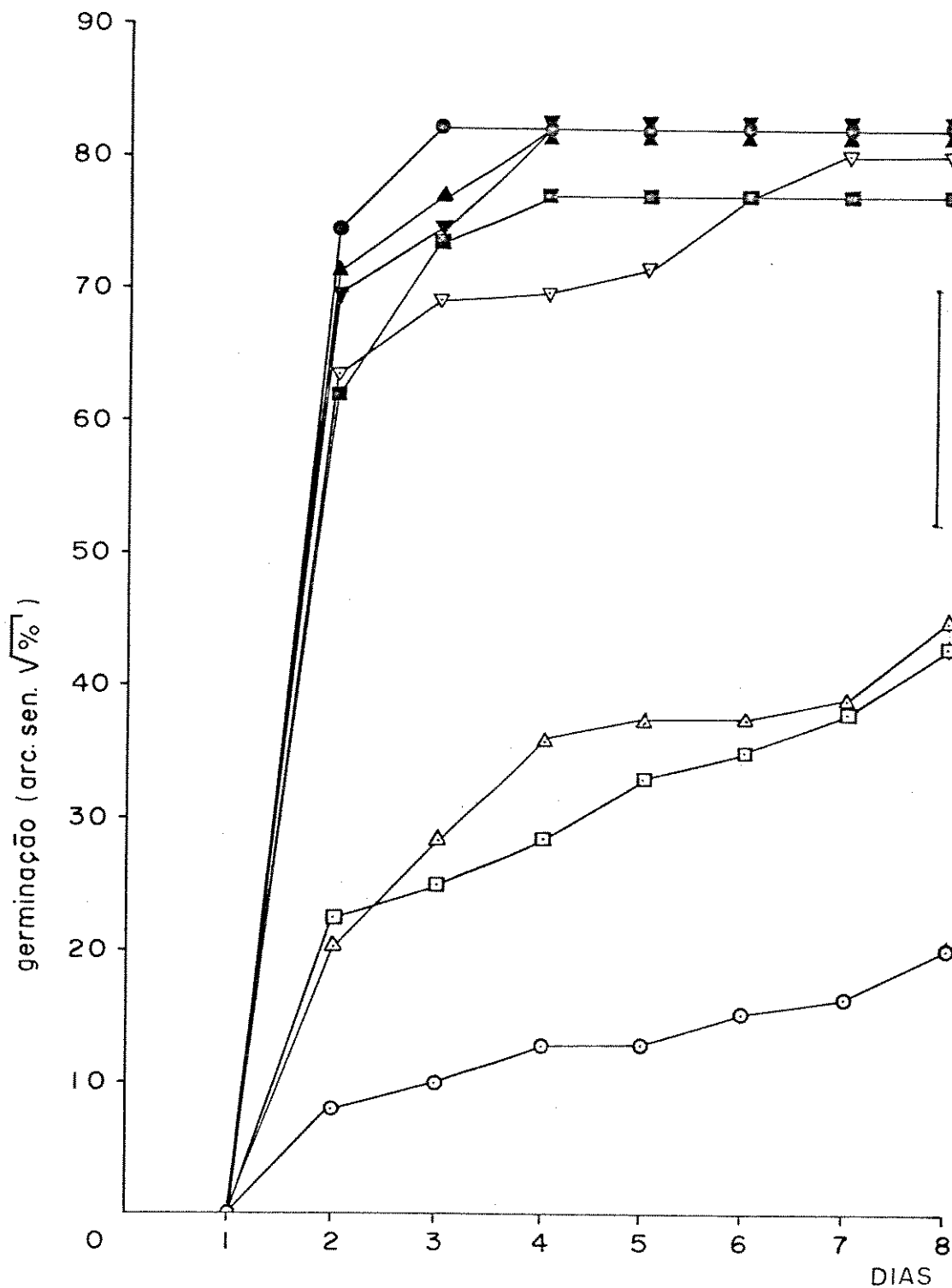


FIGURA 6. Efeito da escarificação no polo oposto à micropila (□), na região lateral (Δ) e na região da micropila (▽) sobre a germinação de *Cucumis anguria*.

Símbolos vazios= luz branca; símbolos cheios= escuro. Barra vertical= DMS_{5%}. (○) sementes intactas.

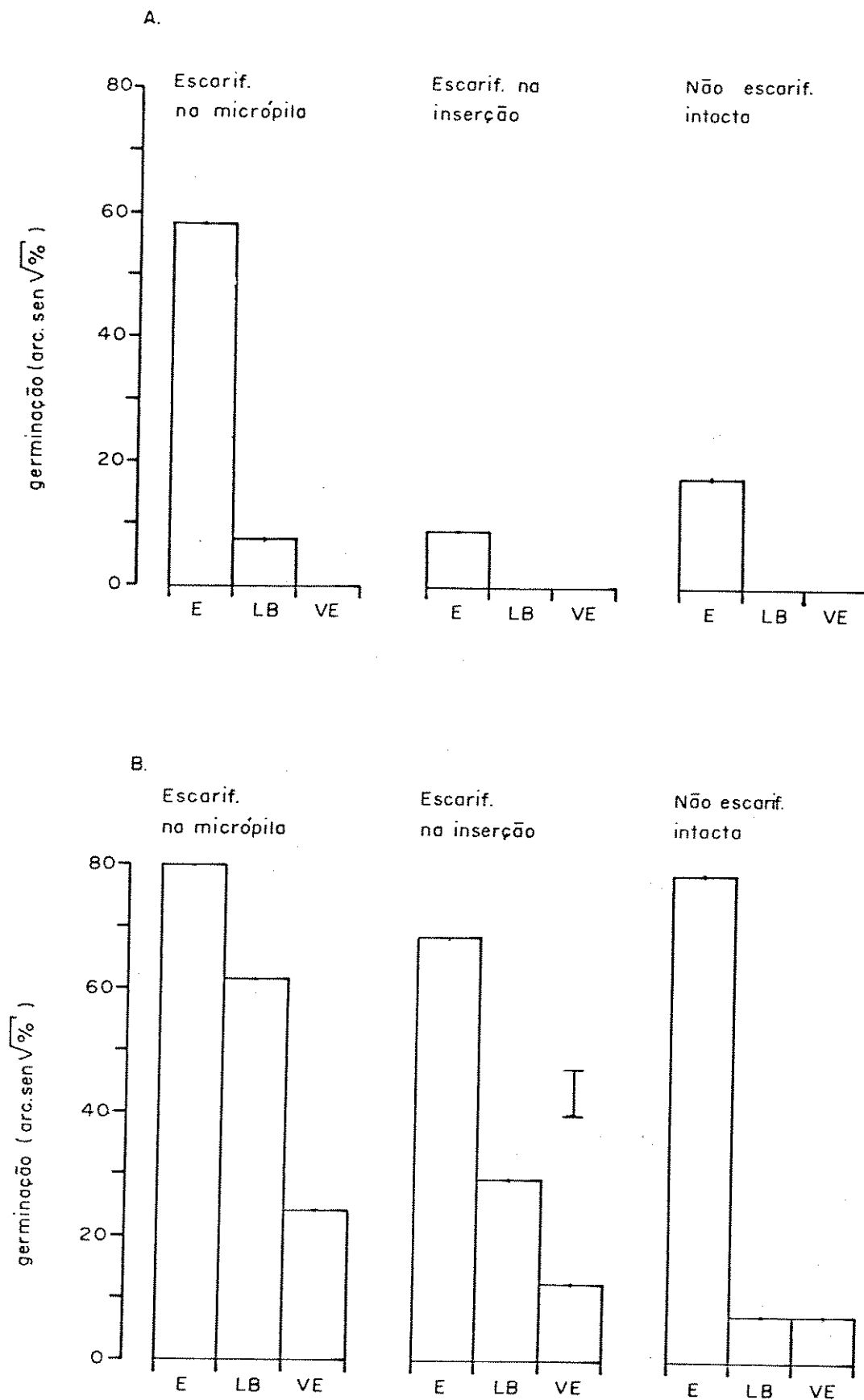


FIGURA 7. Efeito de escarificação na germinação de *Cucumis anguria* sob vermelho extremo (VE), após 2 dias (A) e após 13 dias (B). E= escuro; LB= luz fluorescente branca. Barra vertical= $DMS_{5\%}$.

é mostrada na Figura 7 B. Foi feita análise de variância fatorial, mostrando que houve interação entre o fator luz e o fator escarificação. Nos tratamentos mantidos sob luz branca, a maior promoção da germinação ocorreu no tratamento de escarificação na região da micrôpila (confirmando resultados do experimento mostrado na Figura 6), enquanto que escarificação na extremidade oposta à micrôpila (inserção) apresentou um efeito menor na promoção da germinação em relação às sementes não escarificadas mantidas em luz branca. A escarificação também teve um efeito positivo nas sementes germinadas sob vermelho extremo, sendo que o tratamento mais efetivo na promoção da germinação foi a escarificação na região da micrôpila. Sob vermelho extremo, a escarificação na inserção teve efeito promotor em relação às sementes não escarificadas, embora o efeito tenha sido menor do que a escarificação na micrôpila. Comparando-se os resultados finais nos tratamentos de escuro, observa-se que não houve diferença entre as sementes escarificadas na região da micrôpila e as não escarificadas, enquanto que nas sementes escarificadas na inserção, a germinação foi menor. Analisando-se as escarificações dentro do fator luz (desdobramento da interação), observa-se que nos lotes escarificados, na micrôpila e na inserção, os tratamentos de luz branca, vermelho extremo e escuro foram diferentes entre si, sendo que a germinação mais alta ocorreu em escuro e a mais baixa em vermelho extremo. No lote de sementes não escarificadas o tratamento de vermelho extremo apresentou re

sultados iguais ao tratamento de luz branca, sendo os resultados menores em relação ao tratamento de escuro.

Tendo em vista os resultados dos experimentos anteriores, os demais experimentos de escarificação foram feitos escarificando-se as sementes apenas na região da micropila. No experimento mostrado na Figura 8, observam-se os resultados do efeito da escarificação em sementes germinadas sob luz azul, vermelho extremo, luz branca e escuro. Concordando com resultados dos experimentos anteriores, os maiores índices de germinação ocorreram nos tratamentos de escuro. A escarificação promoveu a germinação nos tratamentos de luz branca e azul em relação às sementes não escarificadas sob esses tratamentos. Não houve diferença significativa entre sementes escarificadas e não escarificadas no tratamento de vermelho extremo. Observando-se apenas os tratamentos de escarificação, verifica-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos de luz branca e azul. Por outro lado, houve diferença entre luz branca e vermelho extremo e entre azul e vermelho extremo.

Também foi feito um teste para se avaliar a sensibilidade das duas extremidades da semente de *C. anguria* à luz. O experimento foi montado de acordo com o esquema mostrado na Figura 3, enterrando-se parcialmente as sementes em solo peneirado, ou com a micropila voltada para cima (exposta à luz) ou para baixo (escuro). Os resultados são apresentados na Figura 9, mostrando que o posicionamento da semente (micropila para cima ou para baixo) não alterou

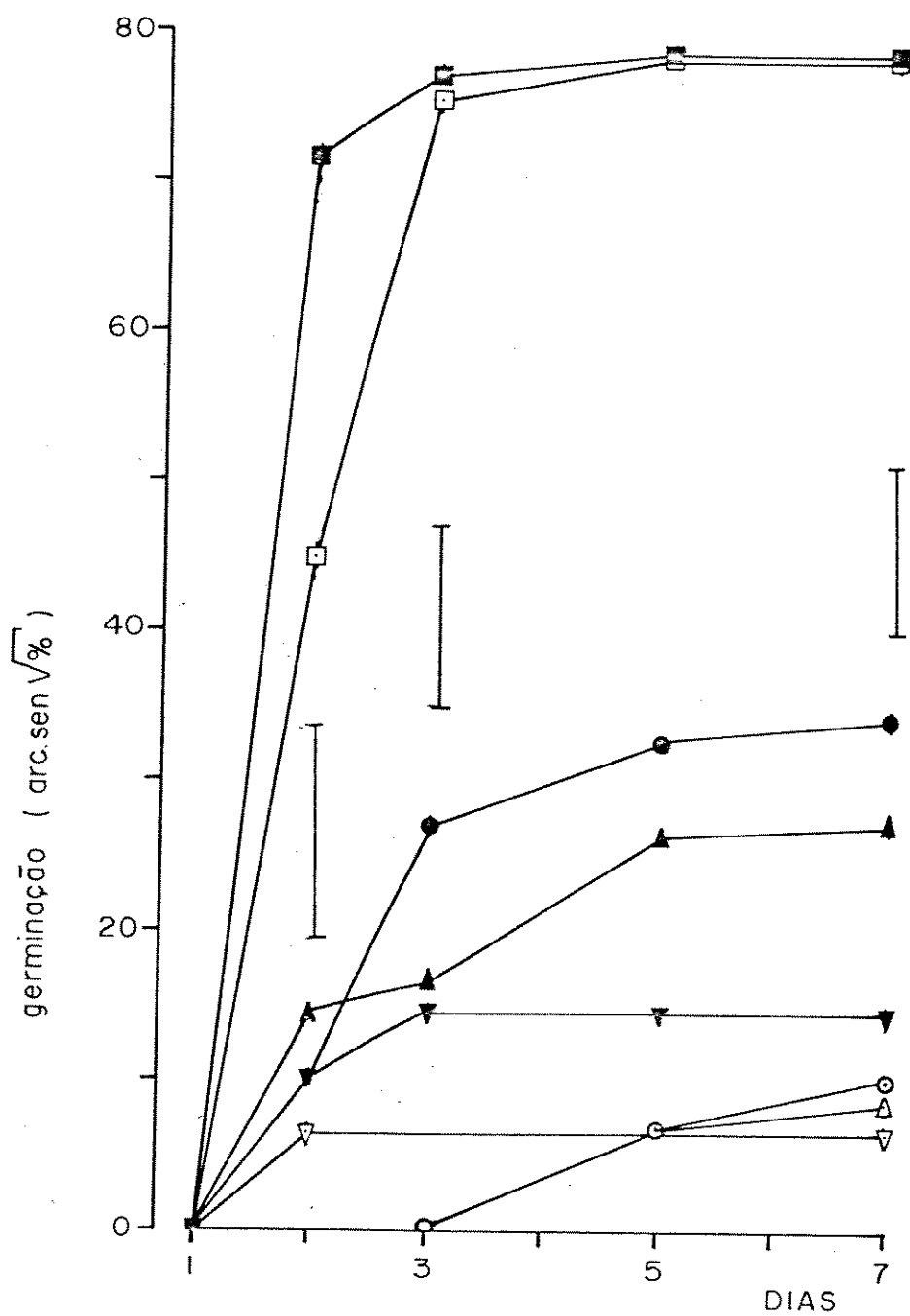


FIGURA 8. Efeito de escarificação sobre a germinação de *Cucumis anguria* sob vermelho extremo (∇), luz branca (\circ), escuro (\square) e azul (\triangle).

Símbolos cheios = escarificação na região da micropila; símbolos vazios = sementes intactas. Barras verticais = DMS5%.

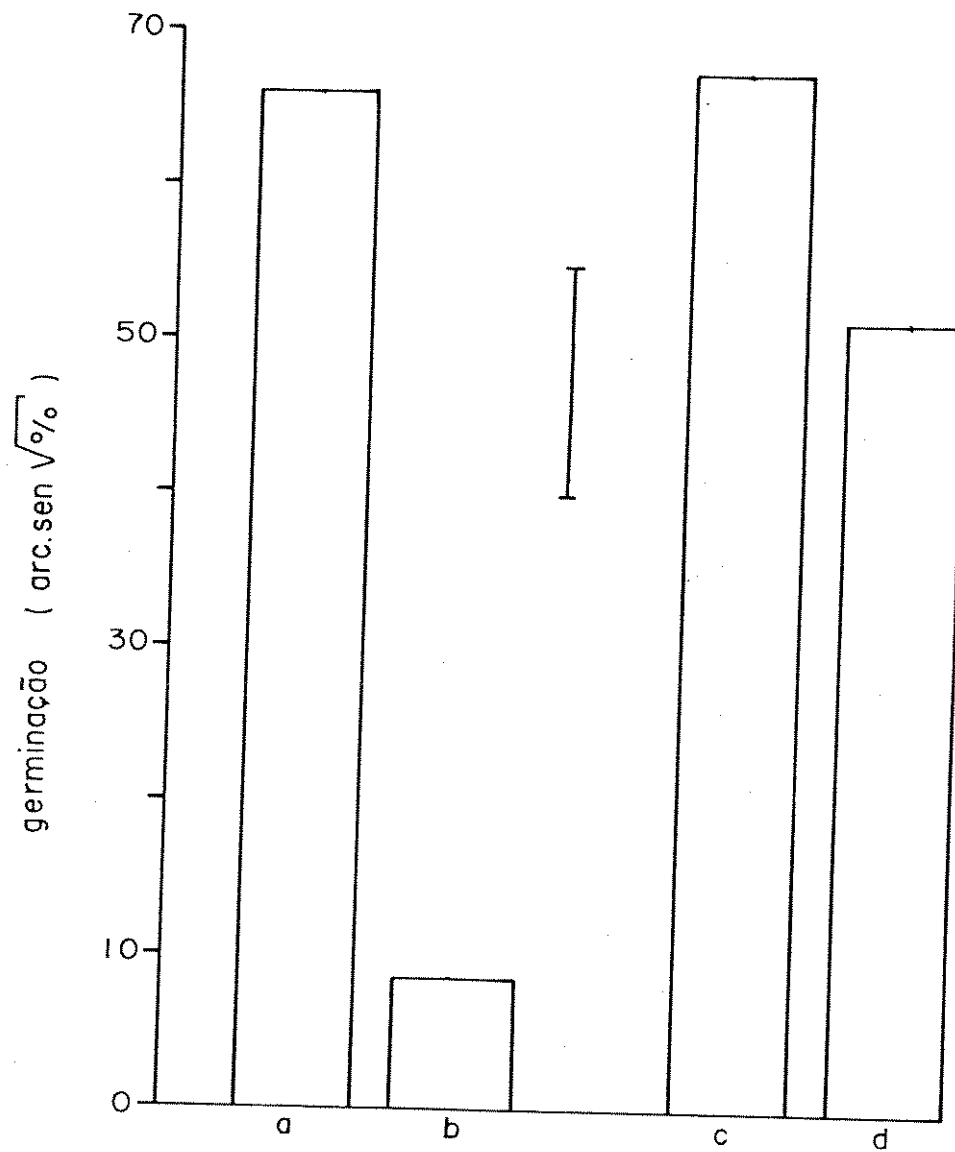


FIGURA 9. Posicionamento de sementes de *Cucumis anguria* com a micrôpila para cima, em escuro (a); micrôpila para cima, sob luz branca (b); micrôpila para baixo, em escuro (c); micrôpila para baixo, sob luz branca (d), e seu efeito sobre a germinação após 4 dias.

Barra vertical = DMS_{5%}.

a germinação nos tratamentos em que as placas com solo foram colocadas em escuro. Por outro lado, nos tratamentos de luz branca, a germinação foi significativamente maior quando as sementes foram posicionadas com a micrôpila voltada para baixo, ou seja, imersas no solo (e portanto em escuro).

Paralelamente a esta série de experimentos foi feito um teste preliminar em que cascas das sementes foram removidas e prensadas em forma de pastilhas de cerca de 2 mm de espessura, as quais foram colocadas para interceptar um feixe de luz. Os resultados são mostrados na Figura 10, observando-se que em cascas previamente embebidas em água a transmissão dos diferentes comprimentos de onda apresenta um pico no ultra violeta seguido de um decréscimo, aumentando gradualmente a partir de 4000 \AA em direção à região do infra vermelho. Em cascas não embebidas não ocorreu esse aumento.

3. Secagem e maturação de sementes.

3.1. Secagem

Testou-se o efeito da qualidade da luz durante o procedimento de secagem das sementes, após estas terem sido extraídas dos frutos, sobre sua posterior germinação em luz fluorescente branca e escuro. Os resultados de três experimentos são apresentados na Figuras 11, 12 e 13. Na Fi

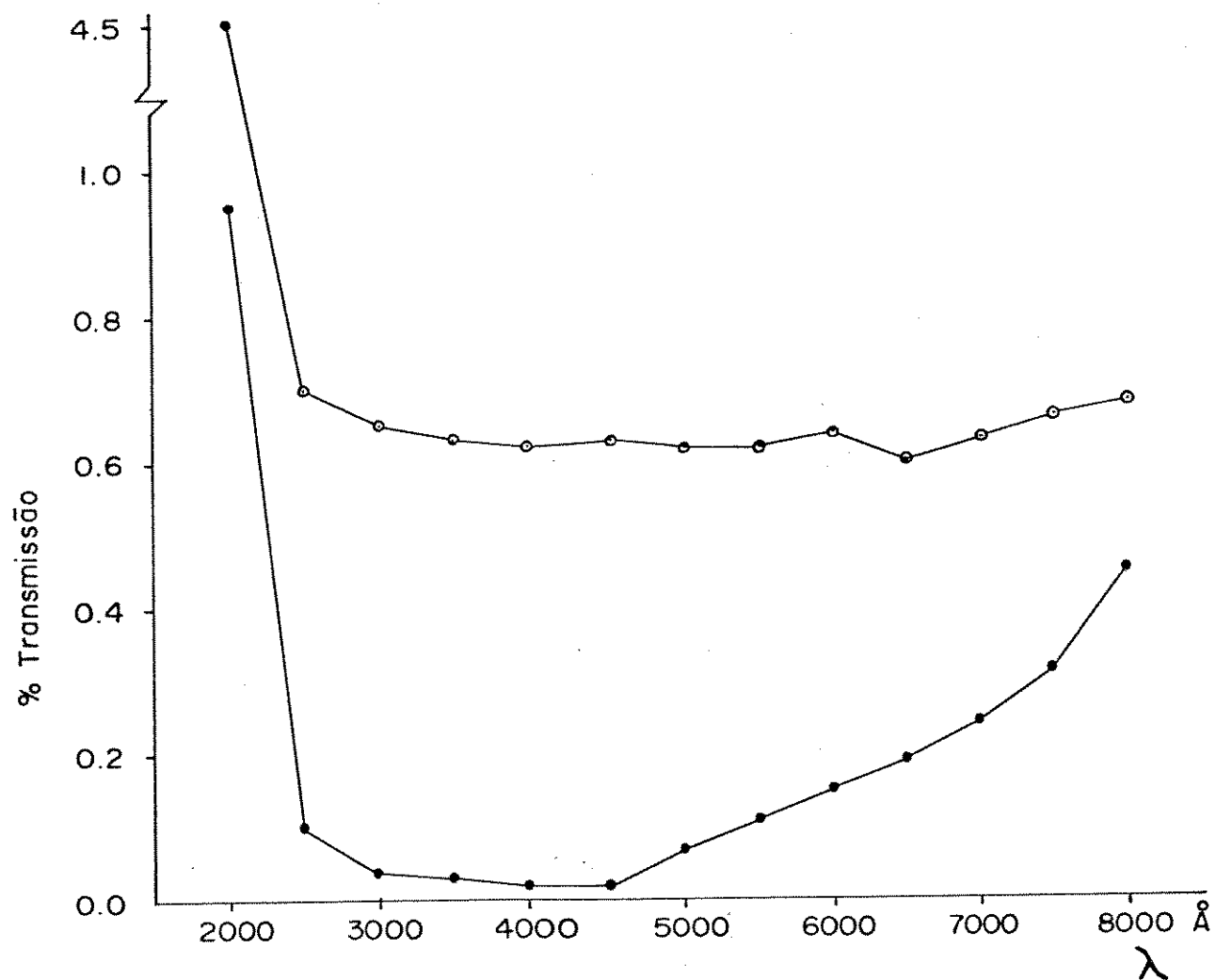


FIGURA 10. Espectro de transmissão de luz através da casca de sementes de *Cucumis anguria* embebidas (●) e não embebidas (○).

gura 11 é mostrado o efeito da luz emitida por lâmpadas fluorescentes e incandescentes brancas durante a secagem. Após a secagem, as sementes foram postas para germinar sob luz fluorescente branca e escuro. Observa-se que a germinação sob luz branca foi nula para ambos os tratamentos após 5 dias desde o início da embebição, enquanto que nas sementes embebidas sob escuro houve uma germinação significativamente maior no lote de sementes previamente seco sob luz fluorescente branca. Os índices da velocidade de germinação no escuro (índice b) para os dois tratamentos de secagem foram os seguintes: sementes secas sob luz fluorescente, $8,5 \text{ sementes.dia}^{-1}$; sementes secas sob luz incandescente, $3,6 \text{ sementes.dia}^{-1}$. Portanto, a secagem em luz fluorescente promoveu não só um aumento na porcentagem final como também uma maior velocidade de germinação.

Verificou-se também o efeito de luz vermelha e vermelho extremo durante a secagem de sementes recém coletadas, sobre a germinação em luz fluorescente branca e escuro. Na Figura 12 observa-se que na germinação sob luz fluorescente branca não houve diferença entre os lotes de sementes secos sob vermelho, vermelho extremo ou luz fluorescente branca, enquanto que na germinação em escuro houve uma germinação mais alta no lote seco sob luz vermelha no 2º e 4º dias de experimento. No 12º dia, a germinação foi menor no lote seco em luz fluorescente branca, enquanto que as sementes secas em vermelho extremo e vermelho apresentaram índices de germinação semelhantes entre si e maio

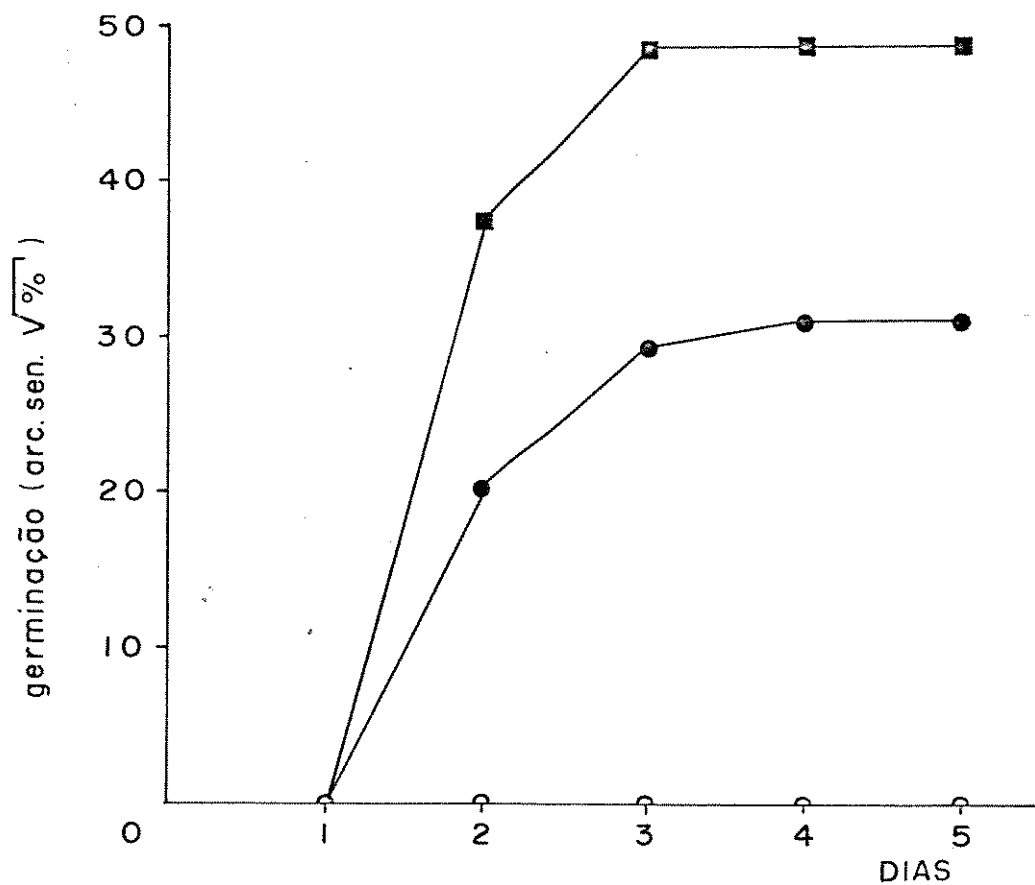


FIGURA 11. Efeito da secagem se sementes de *Cucumis anguria* sob luz incandescente (○) e luz fluorescente (□), sobre a germinação.

Símbolos cheios= germinação em escuro; símbolos vazios= luz fluorescente branca. T5%sig nificativo para o 5º dia (somente para tratamentos de escuro).

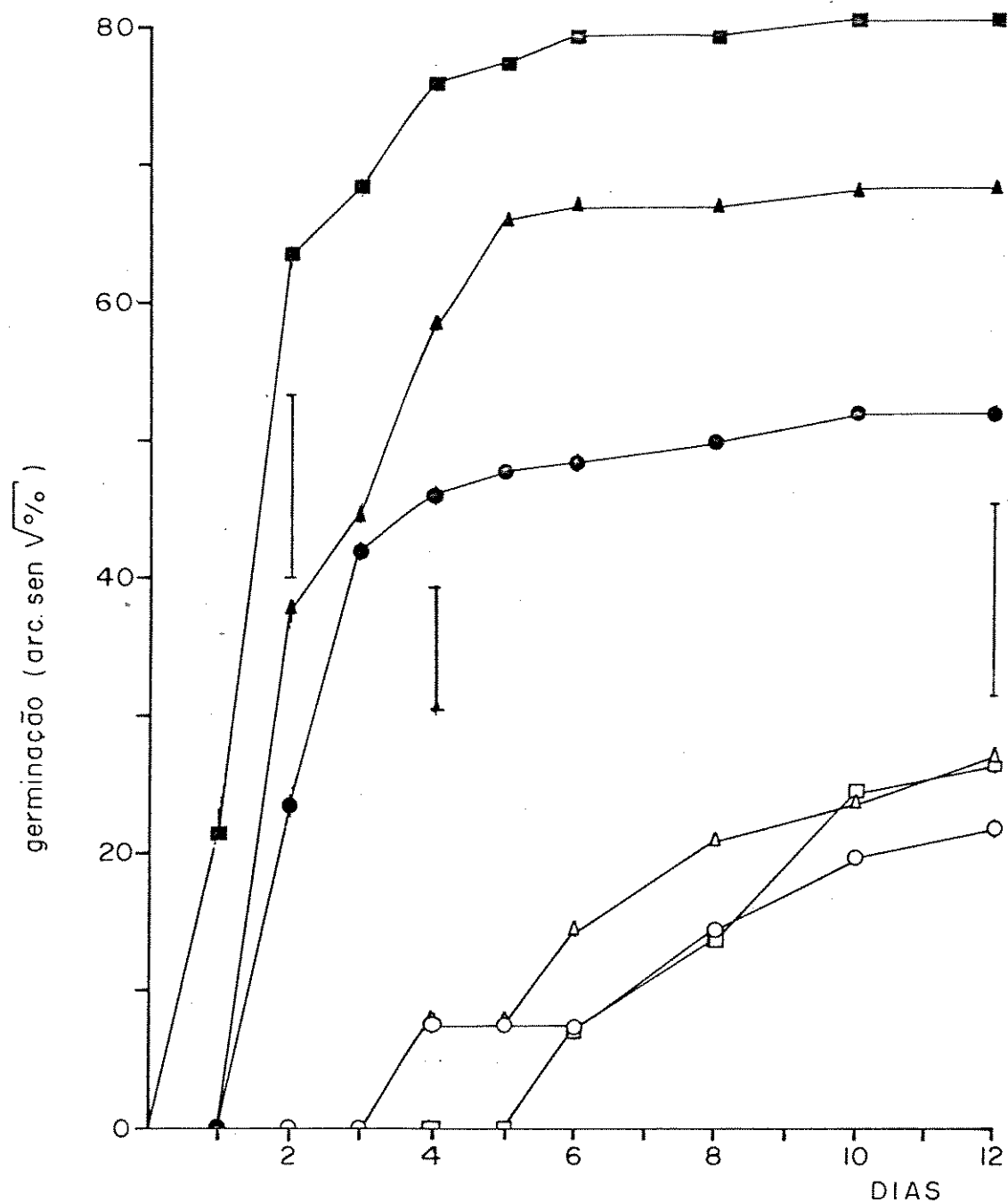


FIGURA 12. Germinação de sementes de *Cucumis anguria* secas sob luz fluorescente branca (○), vermelho extremo (△) e vermelho (□).

Símbolos cheios = germinação em escuro; símbolos vazios = luz fluorescente branca. Barras verticais = $DMS_{5\%}$.

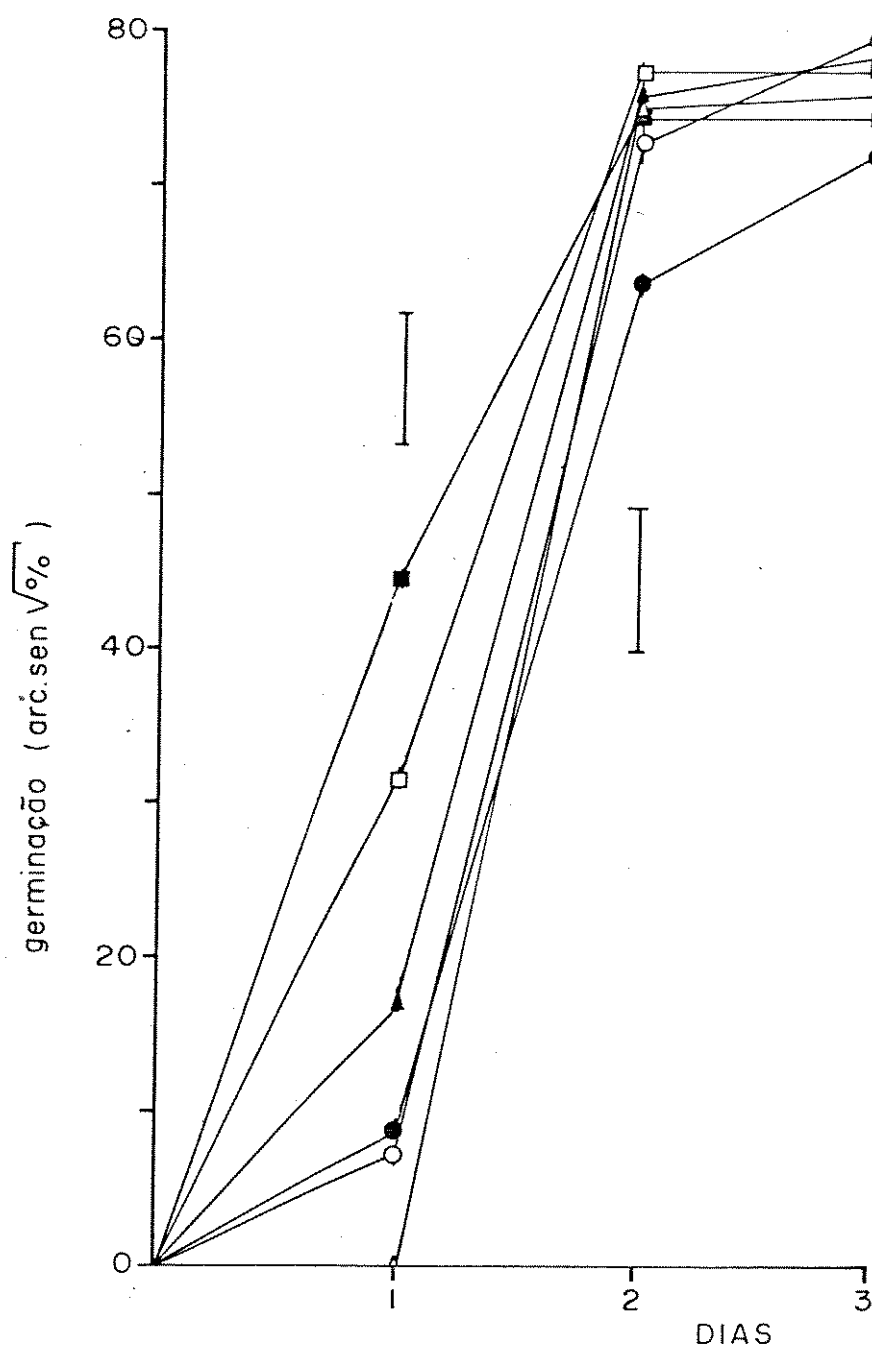


FIGURA 13. Germinação em escuro de sementes de *Cucumis an- guria* secas sob luz fluorescente branca (○), vermelho extremo (△) e vermelho (□).

Símbolos vazios= germinação a 25°C; símbolos cheios= germinação a 30°C. Barras verticais= DMS_{5%}.

res do que o lote seco sob luz fluorescente branca. Os índices de velocidade inicial (primeiros três dias) de germinação em escuro para os três tratamentos foram os seguintes: secagem sob luz vermelha = $7,2 \text{ sementes.dia}^{-1}$; secagem sob vermelho extremo = $5,0 \text{ sementes.dia}^{-1}$; secagem em luz fluorescente branca = $4,5 \text{ sementes.dia}^{-1}$. Desse modo, observa-se que o tratamento de secagem em luz vermelha acelerou a germinação sob escuro. Na Figura 13, comparou-se o efeito das temperaturas de 25 e 30°C sobre a germinação em condições de escuro, dos lotes de sementes secos sob diferentes condições luminosas (vermelho, vermelho extremo e luz branca). Nas sementes secas sob luz vermelha houve uma promoção da velocidade de germinação à temperatura de 30°C , o mesmo ocorrendo com o lote seco sob vermelho extremo. Não houve diferença entre a velocidade de germinação a 25 e 30°C no lote seco em luz fluorescente branca. As sementes secas em luz vermelha (a 25 e a 30°C) apresentaram germinação mais alta que os demais tratamentos no 10 dia de experimento. Por outro lado, não houve diferença significativa na germinação final (após 3 dias) entre todos os tratamentos ($F_{5\%}$ não significativo).

3.2. Efeito do fotoperíodo durante a maturação do fruto.

Sementes foram removidas de frutos amadurecidos na planta mãe, a qual era mantida sob condições de dias lon-

gos (DL) ou dias curtos (DC); as sementes eram secas sob lâmpadas fluorescentes e incandescentes, sendo em seguida colocados para germinar em luz fluorescente branca e escuro, a 25°C. Os resultados de um experimento são apresentados na Figura 14, mostrando que a germinação em escuro foi igual para ambos os tratamentos. Em luz branca o número de sementes germinadas foi muito pequeno, não ocorrendo diferença significativa entre os tratamentos de DL e DC no 16º dia.

3.3. Germinação das sementes em estádios sucessivos de maturação dos frutos.

Foram montados experimentos nos quais foram verificadas algumas características fisiológicas das sementes durante a maturação dos frutos na planta. No primeiro experimento, realizado entre janeiro e fevereiro de 1984, cujos resultados são mostrados na Figura 15, ocorreu um pico de germinação ao redor de 18 dias após a polinização, quando as sementes foram extraídas dos frutos, secas e colocadas para embeber em condições de escuro por 7 dias. As sementes extraídas de frutos com idades de 10, 14, 22, 26 ou 30 dias apresentaram germinação muito baixa ou nula. Esses resultados de germinação de sementes em processo de maturação foram semelhantes a outro experimento montado entre outubro e novembro de 1983, e cujos resultados são apresenta

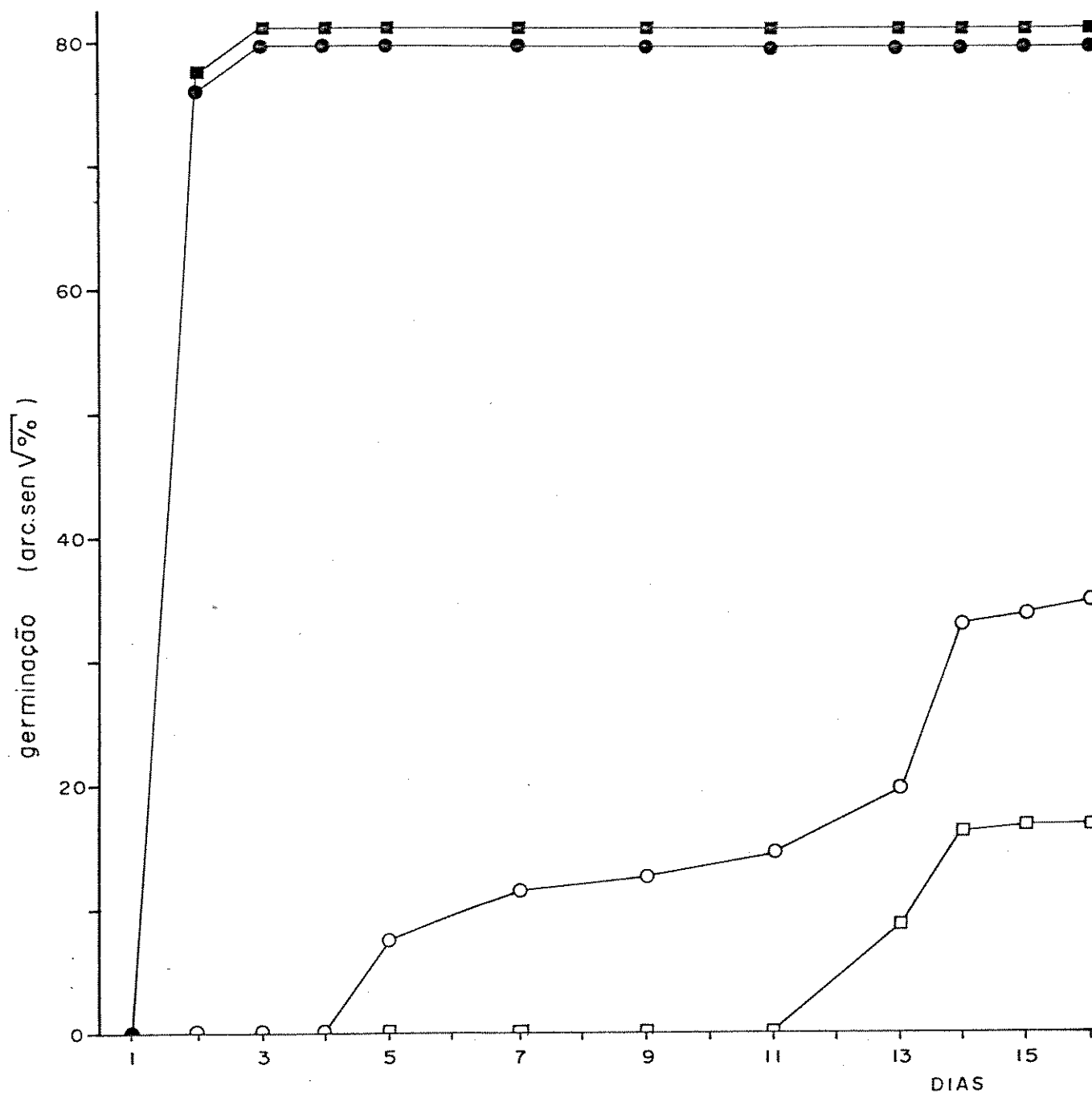


FIGURA 14. Germinação de sementes de *Cucumis anguria* provenientes de frutos amadurecidos sob dias curtos (●) e dias longos (□).

Símbolos cheios= escuro; símbolos vazios= luz fluorescente branca. T_{5%} não significativo para os tratamentos sob luz branca no 16º dia.

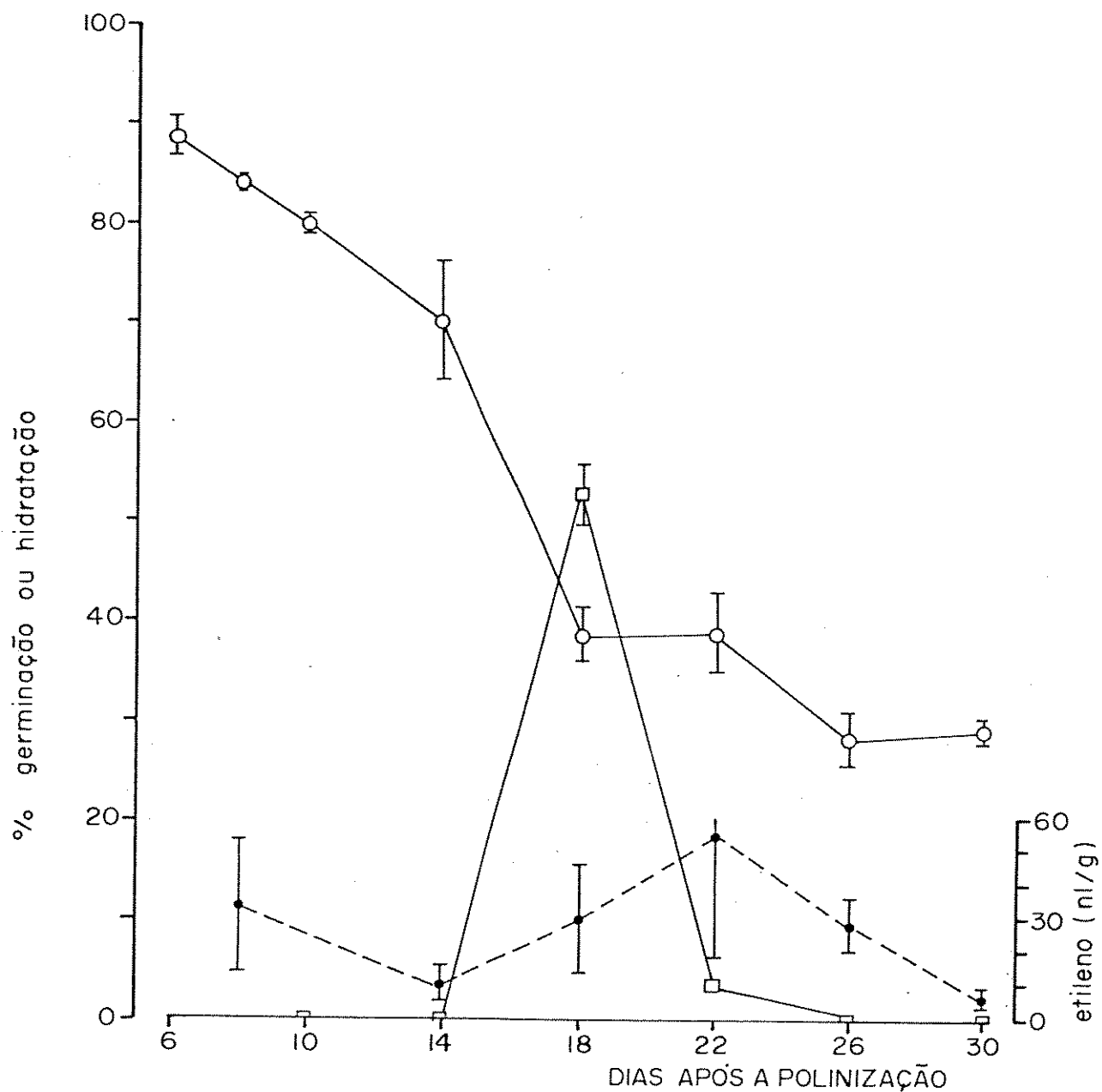


FIGURA 15. Germinação (□), conteúdo de água (○) e liberação de etileno (●) durante a maturação de sementes de *Cucumis anguria*.

Germinação após 7 dias em escuro a 25°C; dosagem de etileno após 48h em escuro a 25°C. Barras verticais = intervalo de confiança (5%). Plantio, Jan/84.

dos na Tabela 2. Observa-se nessa Tabela um pico de germinação de sementes extraídas de frutos com 18 e 20 dias de idade (a partir da polinização). Com relação ao conteúdo de água nas sementes em processo de maturação (Figura 15), houve uma queda acentuada até o 18º dia desde a polinização, seguindo-se uma queda menos acentuada até 30 dias. Na Figura 16 são apresentados os resultados de um experimento montado entre outubro e novembro de 1984, no qual a curva de hidratação (Figura 16 B) também pode ser dividida numa fase de queda mais rápida (até 19 dias desde a polinização) seguida de uma fase de queda mais lenta, ocorrendo uma certa estabilização após 26 dias. Com relação à germinação, houve um pico com 39 dias (Figura 16 B). Ocorreu também liberação de etileno pelas sementes durante o processo de maturação (Figuras 15 e 16 A), sendo os valores em geral semelhantes em sementes de diferentes idades.

No experimento mostrado na Figura 17, testou-se o efeito de diferentes comprimentos de onda durante o amadurecimento do fruto na planta mãe, sobre a germinação das sementes. Nesse ensaio, frutos com cerca de 14 dias de idade foram envolvidos em filtros de papel celofane. Nos tratamentos de escuro constante houve um ligeiro aumento na taxa de germinação das sementes de frutos amadurecidos sob luz natural e escuro, sendo a germinação máxima atingida com dois dias de embebição para todos os tratamentos, não havendo diferença entre eles. Nos tratamentos sob luz fluorescente branca, não se verificaram diferenças significati

TABELA 2 - Germinação de sementes de *C.anguríá* em relação à idade do fruto (a partir da polinização). Contagem após 7 dias de embebição em escuro. Plantio: out/83.

| idade do fruto (dias) | germinação (%) |
|--------------------------|-------------------|
| 6 | 0,0 |
| 8 | 0,0 |
| 11 | 0,0 |
| 14 | 0,0 |
| 18 | 61,0 |
| 20 | 61,5 |
| 25 | 0,0 |

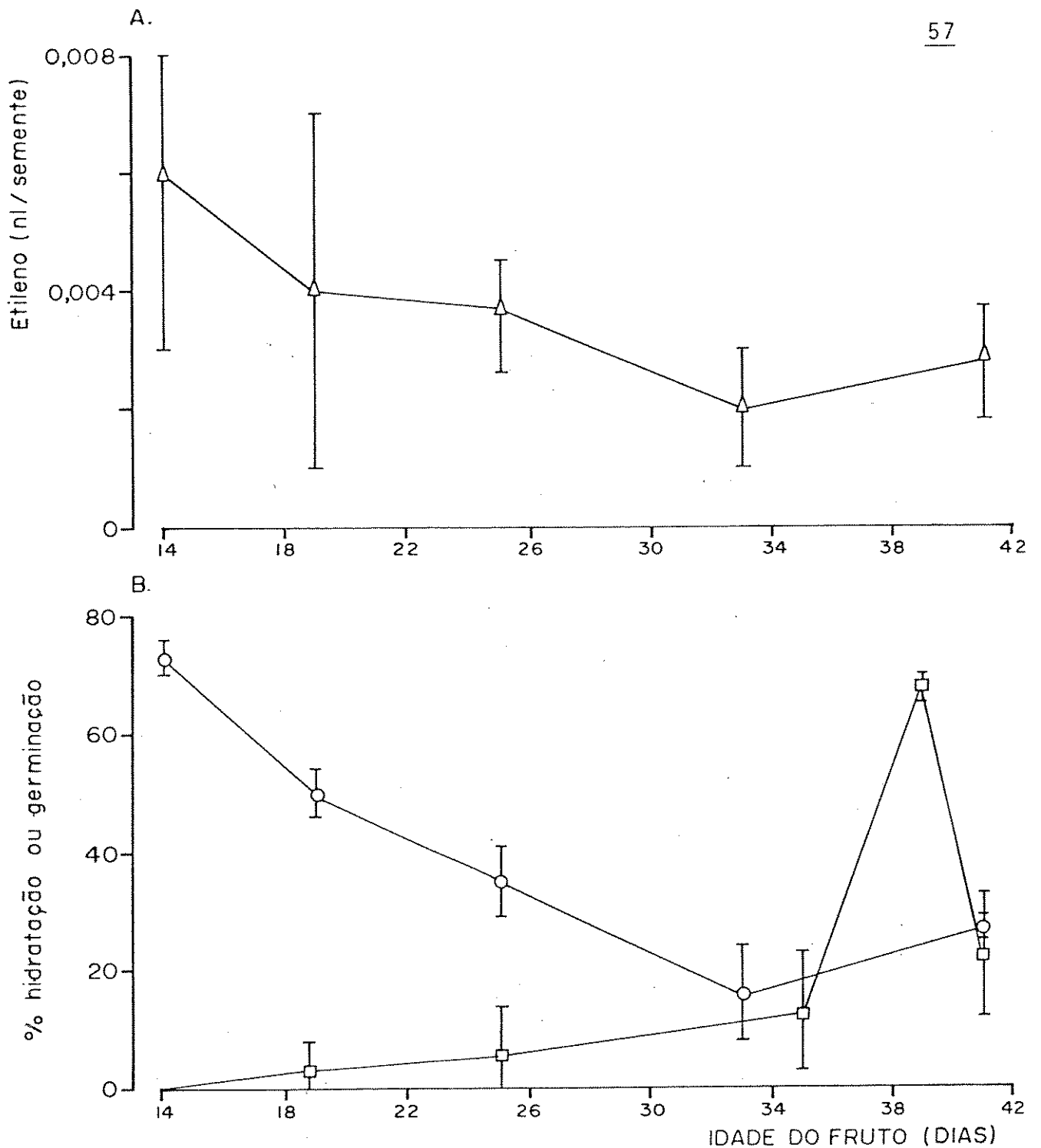


FIGURA 16. Germinação (□), conteúdo de água (○) e liberação de etileno (△) durante a maturação de sementes de *Cucumis anguria*.

A= etileno; B= hidratação e germinação. Germinação após 7 dias em escuro a 25°C; dosagem de etileno após 48h em escuro a 25°C. Barras verticais= intervalo de confiança (5%). Plantio, Out/84.

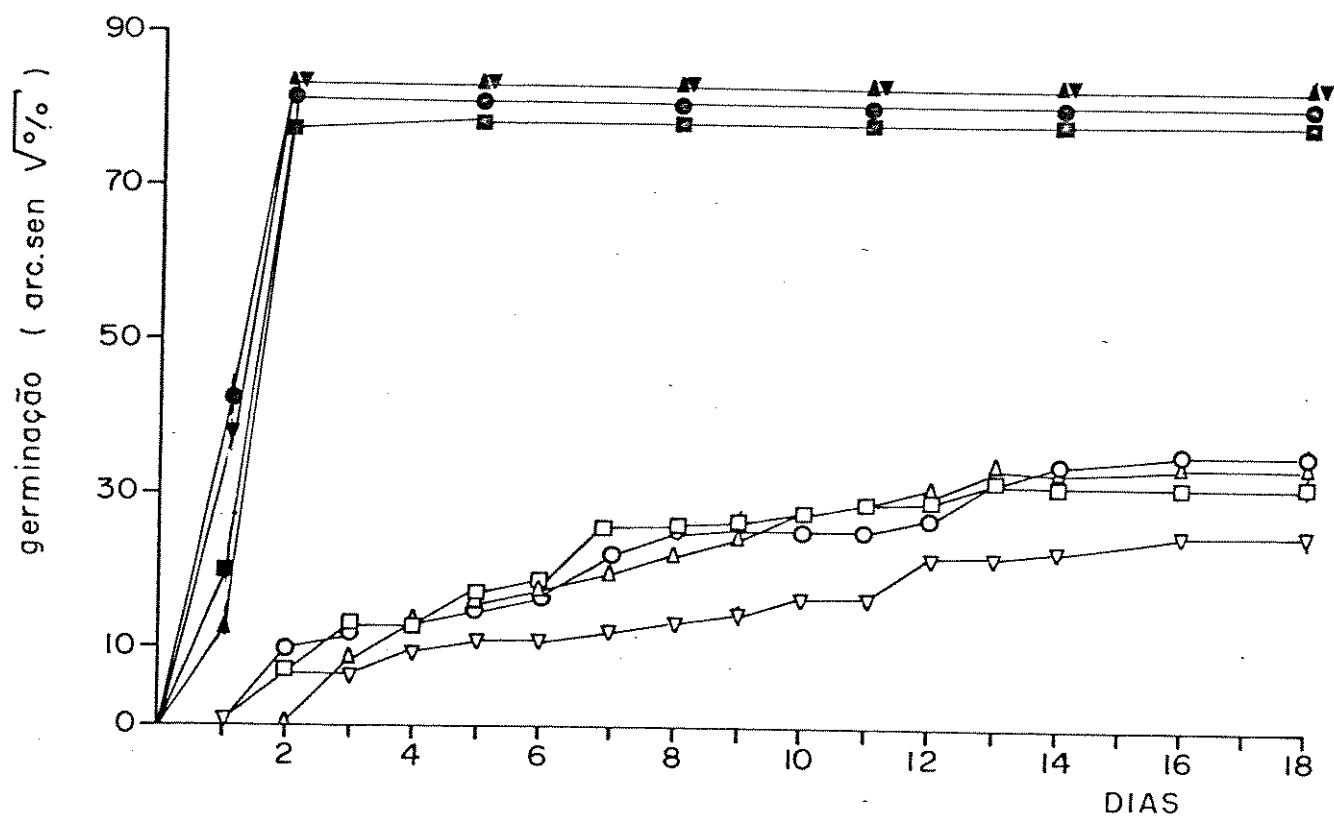


FIGURA 17. Germinação de sementes de *Cucumis anguria* obtidas de frutos maturados sob vermelho (□), vermelho extremo (△), luz natural (○) e escuro (▽).

Símbolos cheios = germinação em escuro; símbolos vazios = luz fluorescente branca. $F_{5\%}$ não significativo no 9º e 18º dia (tratamentos de luz branca).

vas entre eles, sendo a porcentagem de germinação mais baixa do que nos tratamentos de escuro.

4. Efeito de diferentes comprimentos de onda.

Primeiramente foram testados diferentes períodos de vermelho extremo após um intervalo pré estabelecido de 12 horas de embebição em escuro. Os resultados são apresentados nas Figuras 18 A e 18 B, mostrando que o vermelho extremo inibiu a germinação verificada após 72 horas desde o início da embebição. Aumentando-se o período de aplicação de vermelho extremo ocorreu de um modo geral um aumento da inibição ao lote não irradiado. Os tratamentos de 30', 35', 60', 90', 2 h e 3 h de vermelho extremo não diferiram estatisticamente entre si, sendo que a irradiação de 30 minutos não teve efeito inibitório significativo sobre a germinação. Também não houve diferença entre os tratamentos de 3 e 9 horas de vermelho extremo (Figura 18 B). Foi então escolhido o período de 3 horas de vermelho extremo, o qual foi então aplicado após diferentes períodos de escuro, sendo os resultados apresentados na Figura 19. Observa-se que, em linhas gerais, aumentando-se os períodos prévios de escuro ocorre um efeito menos acentuado do vermelho extremo. Assim, o vermelho extremo não teve efeito quando aplicado após 48 horas de embebição em escuro. O efeito do vermelho extremo foi semelhante quando a aplicação foi feita com pe

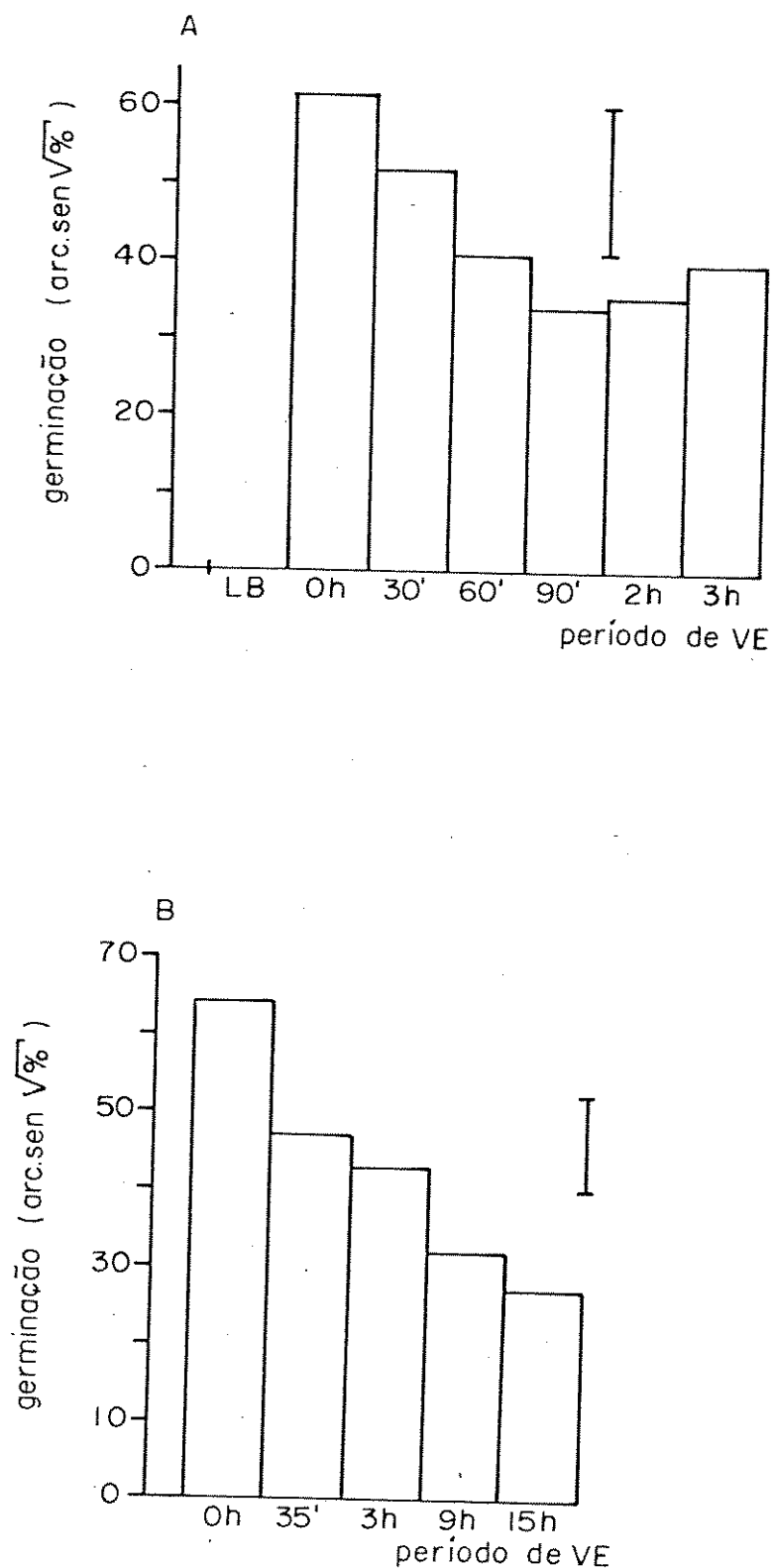


FIGURA 18. Efeito de vermelho extremo aplicado por períodos de 0h até 3h (A) e de 0h até 15h (B), sobre a germinação de *Cucumis anguria* após 72h.

Irradiação após 12h de embebição em es curo. Barras verticais = $DMS_{5\%}$.

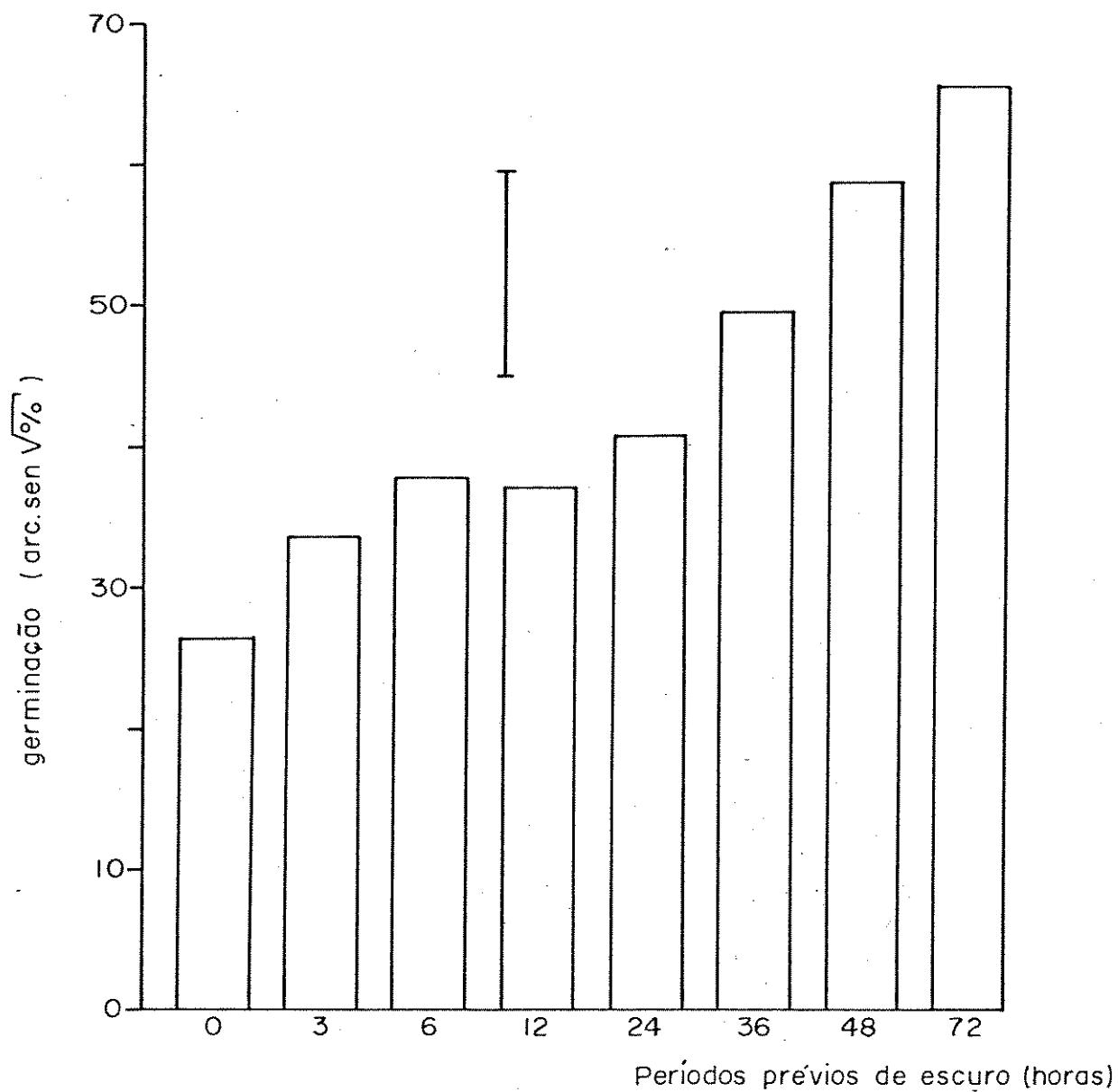


FIGURA 19. Efeito do período de 3h de vermelho extremo após diferentes períodos de escuro, sobre a germinação de *Cucumis anguria* após 72h.

Barra vertical = DMS_{5%}.

rīodos prēvios de escuro variando entre zero e 24 horas . Portanto, o vermelho extremo e efetivo inibindo a germinação de *C. anguria* quando aplicado principalmente nas primeiras 24 horas de experimento (uma vez que na aplicação com 36 horas o efeito foi muito pequeno).

Numa outra sērie de experimentos sobre o efeito da luz, testou-se o efeito de vermelho e vermelho extremo de baixa energia e banda estreita, sendo a aplicação feita por intermēdio de monocromador. Os resultados s̃o apresentados na Figura 20, indicando que o vermelho extremo inibiu a germinação nos 29 e 39 dias de experimento. Essa inibição praticamente desaparece em relação ao controle de escuro constante no 69 dia de experimento. Ño houve diferença entre os tratamentos em que o vermelho extremo foi aplicado ap̃s 1 ou 2 horas de luz fluorescente branca ou quando foi interposto um perīodo curto de luz vermelha entre os perīodos de luz branca (2 h) e vermelho extremo. Se por um lado o vermelho extremo teve algum efeito na germinação em escuro, a luz vermelha de baixa energia praticamente ño causou efeito algum com relação à promoção da germinação, quer com a embebição prēvia sendo feita em luz branca, quer em escuro. O choque de vermelho tambēn ño teve efeito quando, entre este e o perīodo de embebição prēvia, foi dado um perīodo de 1 hora de vermelho extremo.

Num outro grupo de experimentos, verificou-se a possibilidade de comprimentos de onda inibitōrios aplicados por um perīodo mais longo virem a causar um tipo de

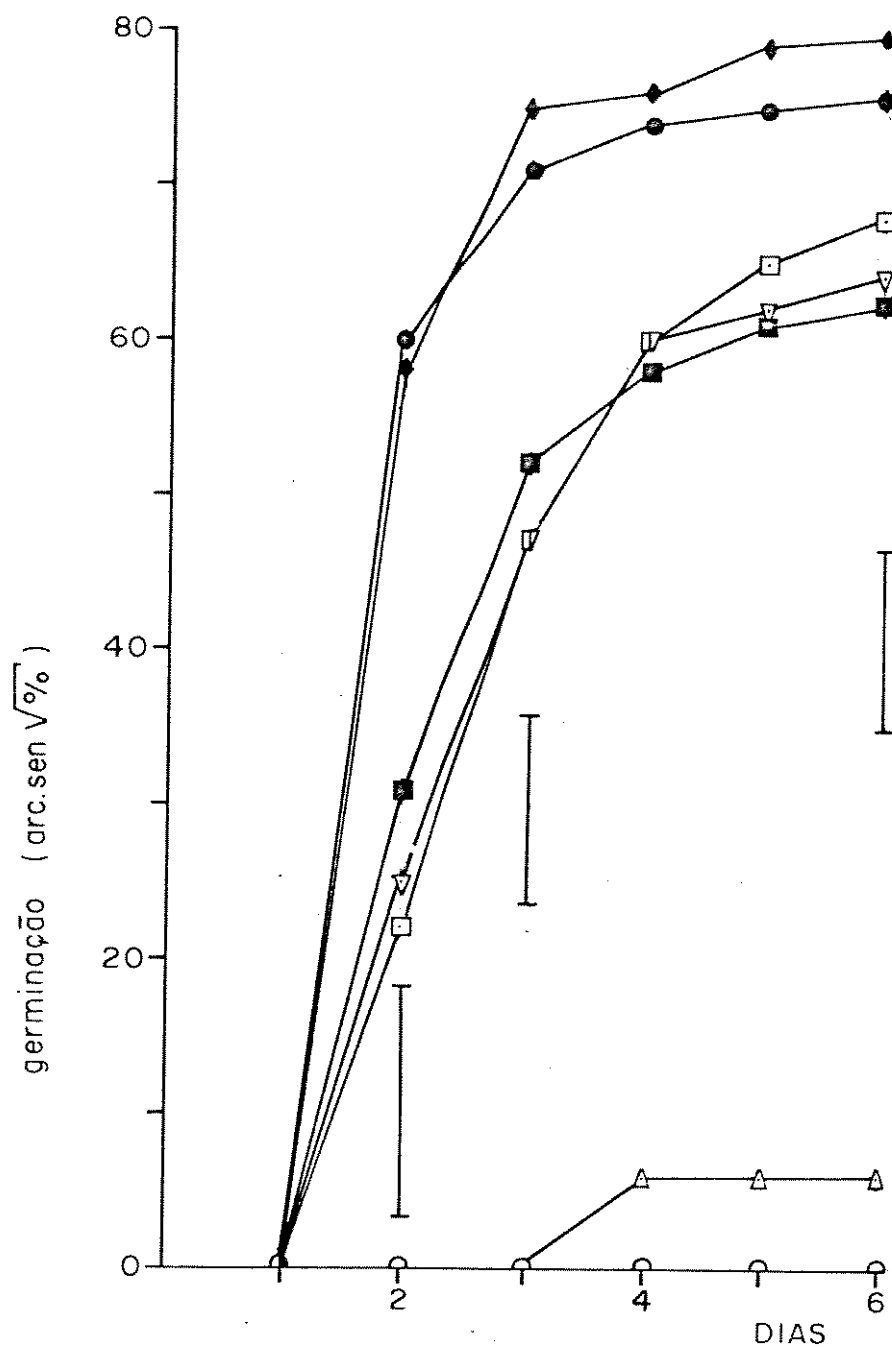


FIGURA 20. Germinação de sementes de *Cucumis anguria* sob escuro constante, E (●); luz branca LB (○); 2h LB → E (◆); 2h LB → 1h de vermelho extremo, VE. → E (▽); 2h LB → 1h de vermelho, V, → 1h VE → E (■); 1h LB → 1h VE → E (□); 2h LB → 1h V → LB (△).

Barra vertical = DMS_{5%}.

dormência secundária nas sementes, quando estas fossem transferidas para condições favoráveis. Assim, aplicaram-se luz fluorescente branca, azul e vermelho extremo durante 7 dias, seguindo-se tratamentos de luz fluorescente branca e escuro. Na Figura 21, observa-se que na germinação em escuro não houve diferença entre os tratamentos prévios em luz branca e azul, com relação à porcentagem final, embora o tratamento com azul tenha retardado o início da germinação. Por outro lado, houve uma grande inibição da germinação quando as sementes permaneceram em vermelho extremo antes de serem transferidas para escuro. Na germinação sob luz fluorescente branca o tratamento prévio com vermelho extremo provocou uma germinação mais alta do que os tratamentos prévios com azul e luz branca, no 7º dia de experimento. Não houve diferença na germinação final entre os tratamentos prévios de azul e luz fluorescente branca. Comparando-se os lotes germinados sob luz fluorescente branca e escuro, pode-se dizer que o escuro provocou uma germinação mais alta, exceto no tratamento prévio com vermelho extremo, que apresentou germinação final igual à dos lotes previamente embebidos sob luz azul e luz fluorescente branca e germinados sob luz branca.

5. Efeito de Temperatura.

5.1. Temperaturas constantes.

Os resultados são apresentados na Figura 22. Anali

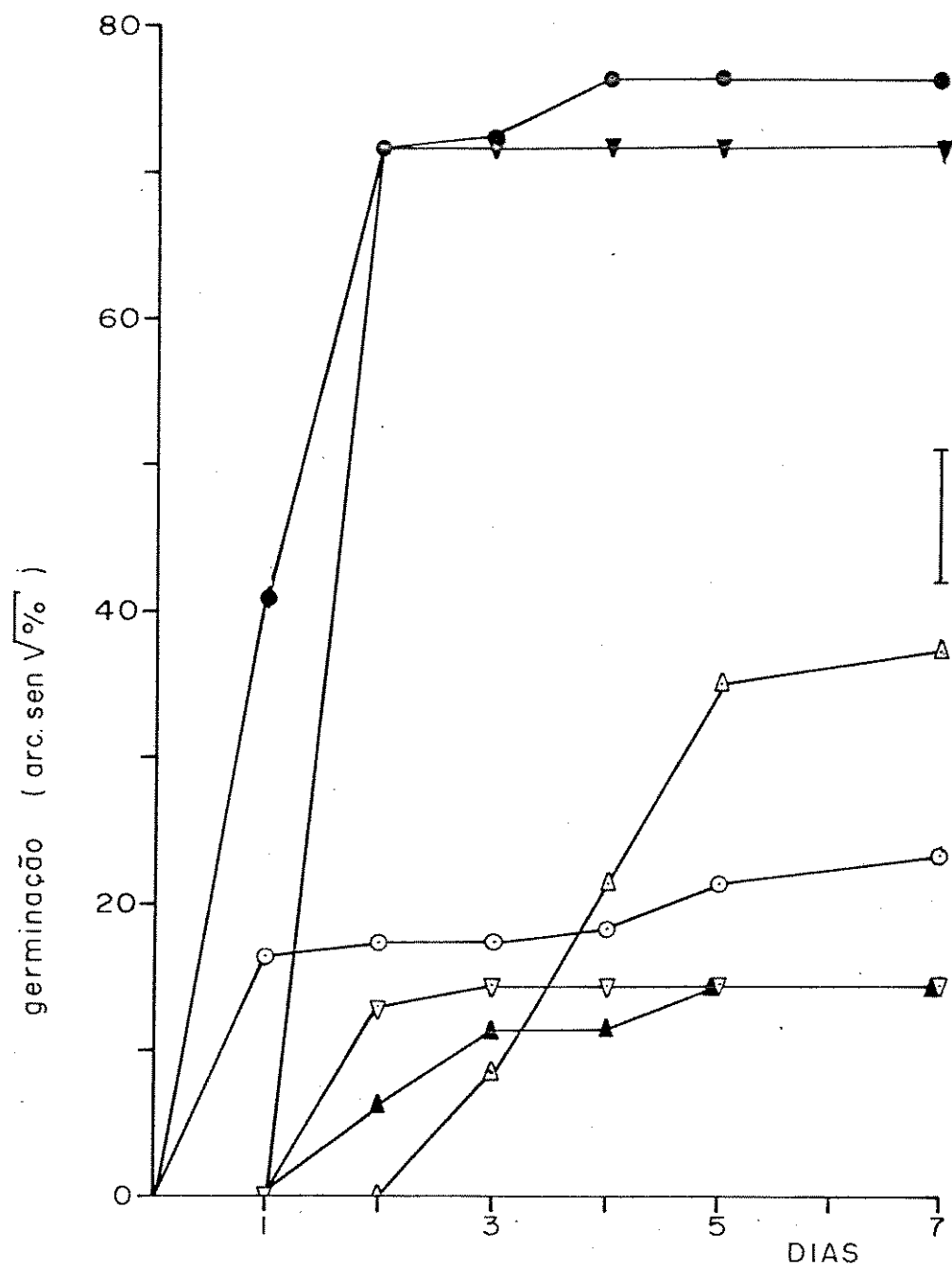


FIGURA 21. Germinação de sementes de *Cucumis anguria* previamente embebidas por 7 dias sob luz fluorescente branca (○), luz azul (▽) e vermelho extremo (△).

Símbolos vazios= germinação sob luz fluorescente branca; símbolos cheios= germinação em escuro. Barra vertical= $DMS_{5\%}$.

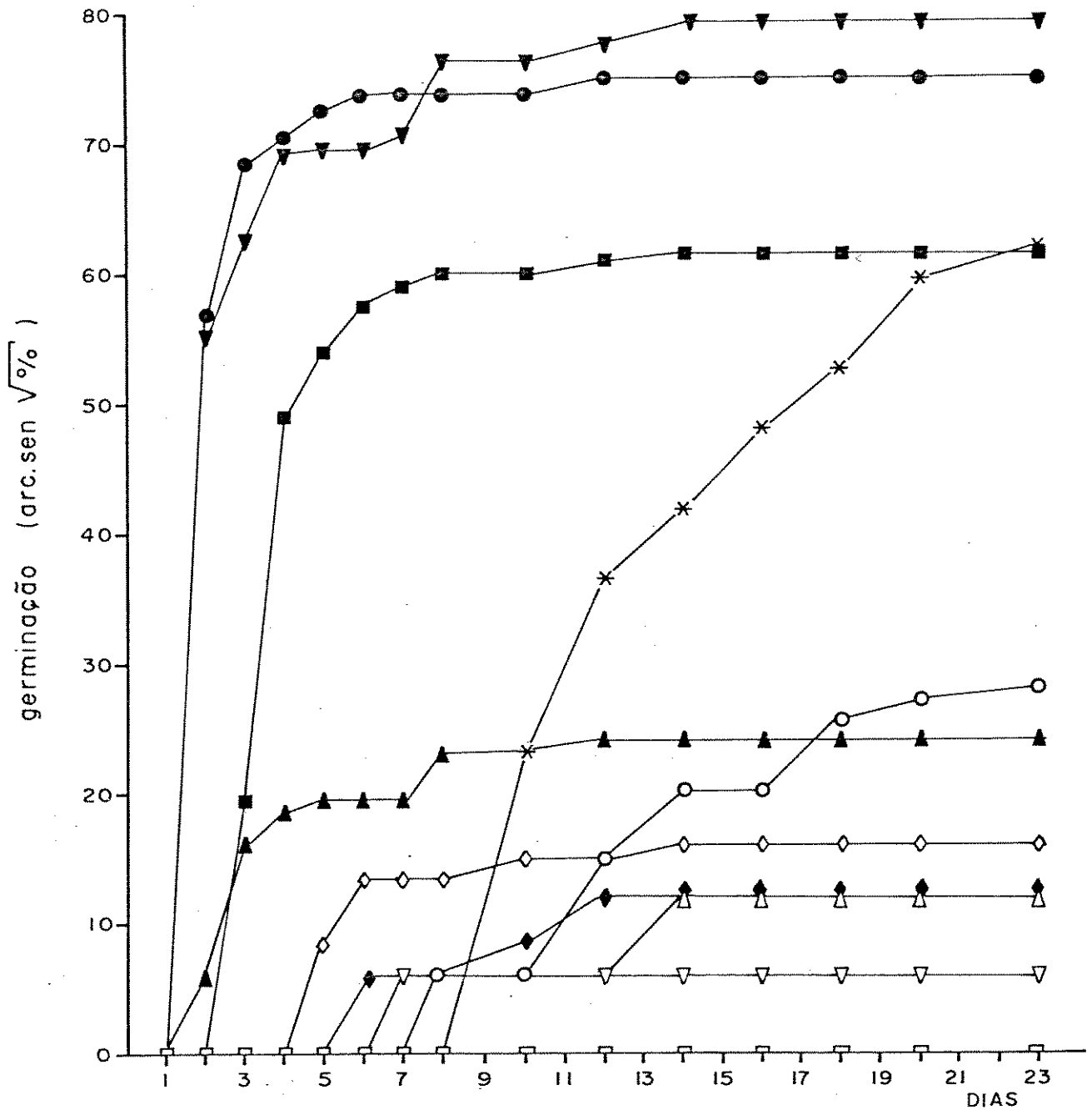


FIGURA 22. Efeito das temperaturas de 15°C (*), 20°C (□), 25°C (○), 30°C (▽), 35°C (△), e 40°C (◇) sobre a germinação de *Cucumis anguria*.

Símbolos vazios= luz fluorescente branca; símbolos cheios= escuro. O símbolo "*" indica apenas germinação em escuro.

sando-se apenas os tratamentos de escuro, observa-se que não houve diferença entre as temperaturas de 25 e 30°C com relação à germinação final (Figura 22 e Tabela 3), enquanto que as velocidades de germinação foram bem próximas (Tabela 4). A temperatura de 15°C e a de 20°C provocou uma redução da germinação final em relação aos tratamentos de 25 e 30°C, assim como uma redução acentuada na velocidade de germinação. A menor velocidade foi registrada no tratamento de 15°C, seguindo-se a temperatura de 20°C (Tabela 4). As temperaturas de 35 e 40°C reduziram a germinação em escuro, sendo o efeito mais acentuado do que aquele causado pelas temperaturas de 15 e 20°C. A temperatura de 40°C retardou o início da germinação em comparação com a temperatura de 35°C, verificando-se diferença significativa entre os dois tratamentos até o 10º dia de experimento. Por outro lado, não houve diferença entre 35 e 40°C com relação à germinação final.

Dentro dos tratamentos de luz branca, as temperaturas de 30, 35 e 40°C apresentaram resultados semelhantes ao longo de todo o experimento, sendo que a 30 e 35°C houve inibição da germinação em relação à temperatura de 25°C. Entretanto, não houve diferença significativa entre a germinação final a 25 e 40°C.

Comparando-se os tratamentos de luz branca e escuro em relação às diferentes temperaturas testadas, observa-se que às temperaturas de 15, 20, 25, 30 e 35°C a germinação sempre foi maior em escuro do que em luz branca (Figura 22

TABELA 3 - Efeito de temperaturas constantes na germinação de *C. anguria* em luz branca e escuro.

Valores em arco seno $\sqrt{\%}$. Letras = DMS_{5%} Tukey (análise fatorial); comparação horizontal e vertical.

| | | temperaturas (°C) | | | |
|---------|--------|-------------------|-------------------|--------------------|---------------------|
| | | 25 | 30 | 35 | 40 |
| 109 dia | luz | 6,9 ^a | 6,9 ^a | 6,9 ^a | 14,5 ^a |
| | escuro | 74,3 ^b | 77,6 ^b | 23,8 ^c | 8,7 ^a |
| 189 dia | luz | 25,2 ^a | 6,9 ^b | 11,9 ^{ab} | 16,7 ^{abd} |
| | escuro | 75,3 ^c | 80,4 ^c | 23,8 ^d | 12,3 ^d |
| 239 dia | luz | 27,7 ^a | 6,9 ^b | 11,9 ^b | 16,7 ^{abd} |
| | escuro | 75,3 ^c | 80,4 ^c | 23,8 ^d | 12,3 ^d |

TABELA 4 - Efeito de diferentes temperaturas constantes sobre a velocidade de germinação de *C. anguria*.

| | | Velocidade (sementes germinadas . dia ⁻¹) |
|------|--------|--|
| 15°C | luz | 0,0 |
| | escuro | 1,1 |
| 20°C | luz | 0,0 |
| | escuro | 6,7 |
| 25°C | luz | 0,17 |
| | escuro | 13,0 |
| 30°C | luz | 0,03 |
| | escuro | 12,3 |

e Tabela 4). Entretanto, a temperatura de 40°C a germinação sob luz branca e a germinação em escuro foram semelhantes (Tabela 3). Os tratamentos de 5, 10 e 45°C (luz branca e escuro) e 15 e 20°C (luz branca) apresentaram germinação nula.

Para se saber se temperaturas altas ou baixas estariam causando algum tipo de dano às sementes, foram feitos alguns testes com sementes embebidas em temperaturas baixas e altas que inibiram a germinação em condições de escuro. Após os tratamentos de temperatura as sementes foram transferidas para escuro a 25°C e a germinação verificada após 7 dias. Os resultados são mostrados na Tabela 5. As temperaturas de 5, 10 e 35°C não causaram decréscimo do valor da germinação após transferência para 25°C. Por outro lado, houve uma queda acentuada na germinação após tratamentos de 40 e 45°C, acompanhadas de uma queda de viabilidade (teste de tetrazólio).

Também foi feito um teste para se verificar se a embebição inicial em temperatura alta ou baixa provocava algum efeito sobre o comportamento germinativo das sementes. Os resultados apresentados na Figura 23 mostram que após 7 dias a 25°C, a germinação sob luz fluorescente branca e escuro dos lotes de sementes previamente embebidos a 8 e 40°C foi semelhante à dos controles de luz branca e escuro mantidos constantemente a 25°C.

5.2. Períodos curtos de temperatura baixa ou alta.

A ação de períodos curtos de temperatura baixa so -

TABELA 5 - Efeito de temperaturas alta e baixa sobre a viabilidade de sementes embebidas de *C.anguria*. Germinação em escuro constante.

| temperatura inicial | germinação (valor angular) 7 dias após transferência para 25°C | tetrazólio (% de viabilidade) |
|---------------------|--|-------------------------------|
| 5°C (23 dias) | 68,5 | * |
| 10°C(23 dias) | 77,1 | * |
| 35°C(14 dias) | 67,8 | * |
| 40°C(14 dias) | 20,7 | 7 |
| 45°C(23 dias) | 17,5 | 8 |

* não realizado

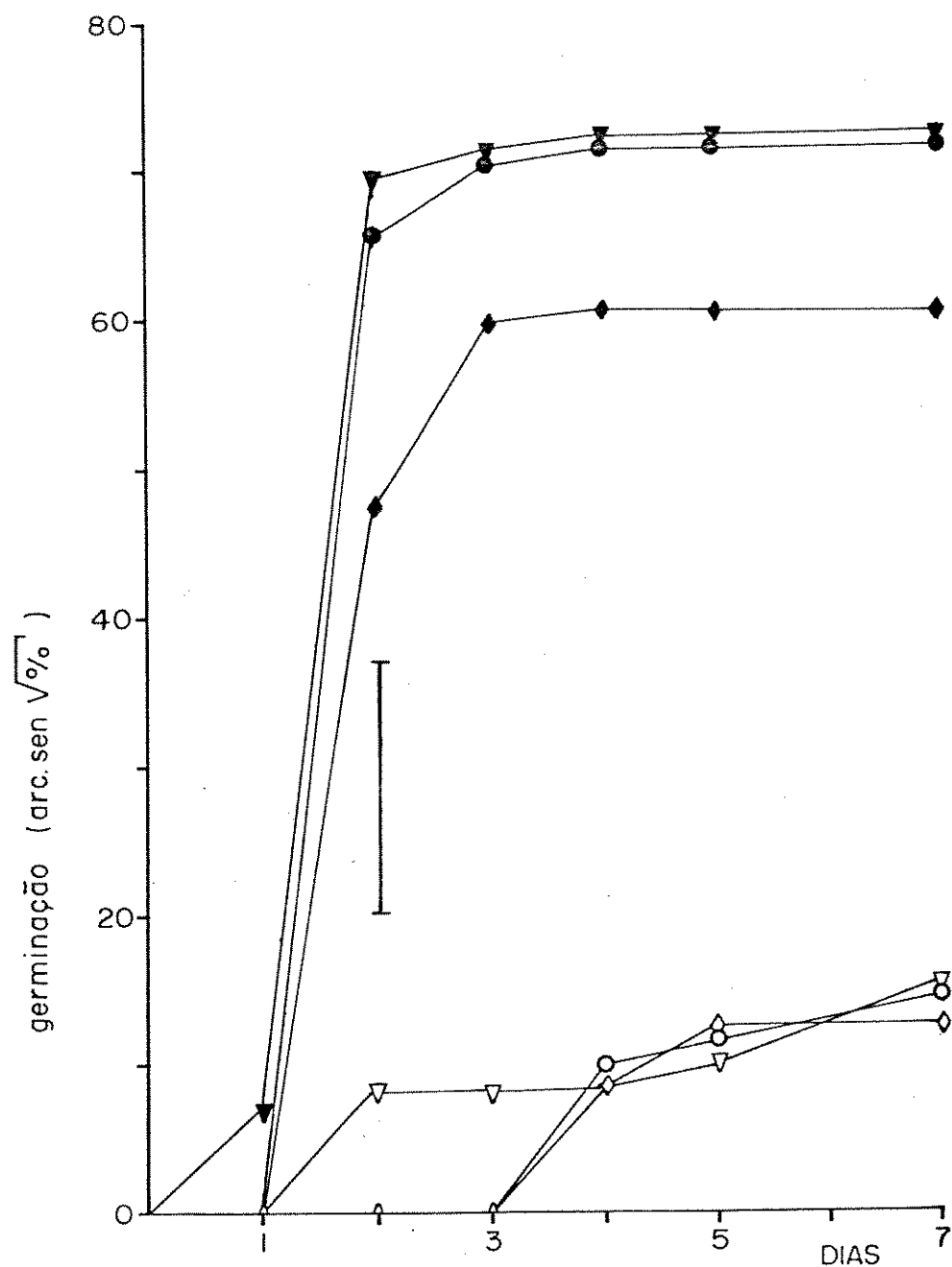


FIGURA 23. Germinação de sementes de *Cucumis anguria* previamente embebidas por 7 dias em escuro a 8°C (▽) e 40°C (◇), ou não submetidas a embebição prévia (○).

Símbolos vazios = germinação sob luz branca; símbolos cheios = germinação em escuro.
Barra vertical = $DMS_{5\%}$.

bre a germinação é mostrada nas Figuras 24, 25 e 26. Não houve promoção da germinação após 24 horas de exposição a 0°C (Figura 24), nem após 3 horas a 5°C, precedidas por diferentes períodos de embebição sob luz fluorescente branca a 25°C (Figura 25). A aplicação de 6 horas de luz vermelha complementando um período de 1 hora a 0°C também não teve efeito (Figura 26). Deve-se ressaltar que há um período de tempo para o interior da placa atingir as temperaturas de 0,5 ou 40°C (ver item 4.2 em Material e Métodos). Períodos curtos de 40°C não tiveram efeito na germinação sob luz branca (Figura 27).

6. Efeito de vermelho extremo e temperatura.

Neste experimento, sementes de *C. anguria* foram embebidas sob vermelho extremo à temperatura de 25°C, durante períodos de 3, 7 e 14 dias. Em seguida as sementes foram transferidas para escuro ou vermelho (que são tratamentos promotores da germinação de *C. anguria*) às temperaturas de 25, 28 ou 33°C.

Os resultados globais do experimento são apresentados nas Figuras 28, 29 e 30. Foi feita análise de variância fatorial para o 2º e 4º dias após transferência para escuro ou vermelho, mostrando que houve uma interação tríplice entre os fatores: embebição prévia em vermelho extremo, temperatura e luz (vermelho ou escuro).

Na Figura 28 as sementes permaneceram 3 dias em vermelho extremo, antes de serem transferidas para luz vermelha ou escuro. Comparando-se os efeitos do vermelho e do es

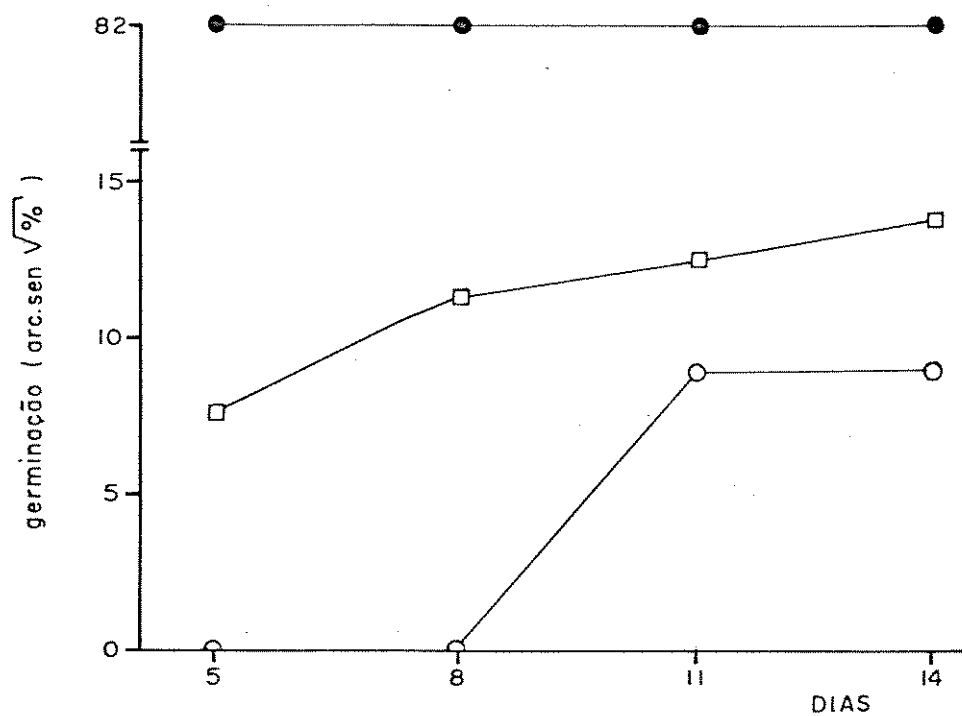


FIGURA 24. Germinação de sementes de *Cucumis anguria* tratadas por 24h a 0°C (□) e sementes não tratadas (○).

Símbolos vazios= luz branca; símbolos cheios= escuro. $T_{5\%}$ não significativo para luz branca (14º dia).

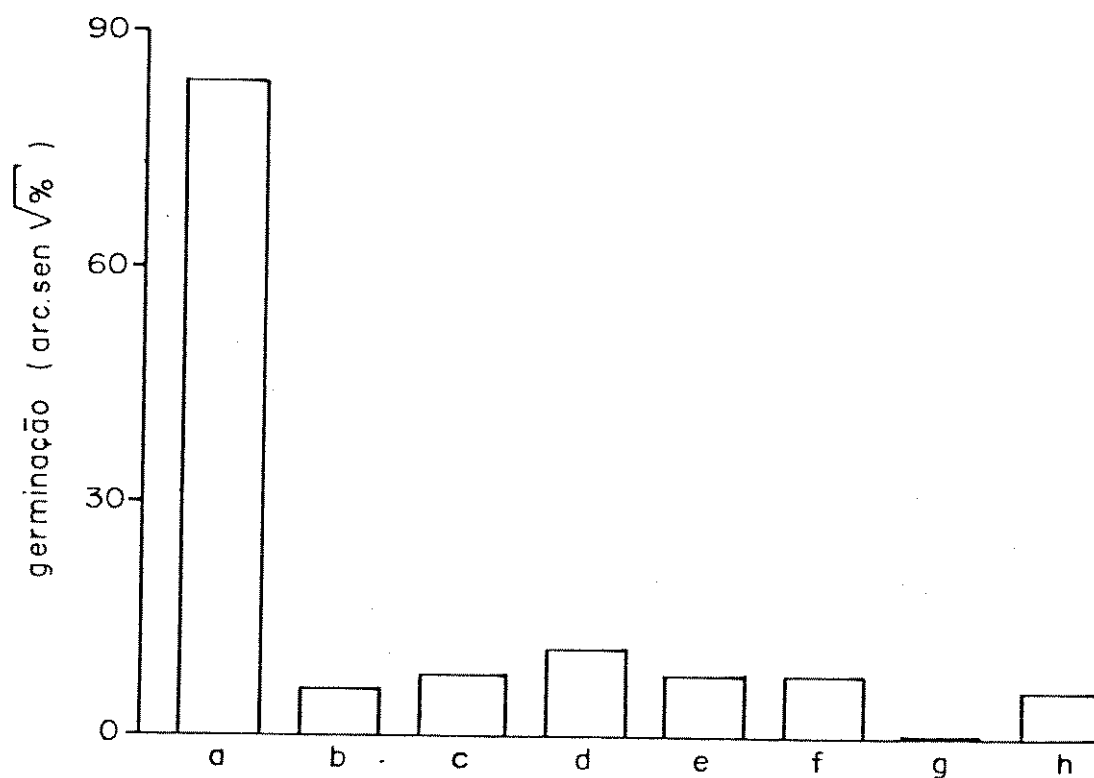


FIGURA 25. Germinação de sementes de *Cucumis anguria* tratadas com 5^oC durante 3h e que foram embebidas previamente sob luz branca a 25^oC por 3h (c), 6h (d), 12h (e), 18h (f), 24h (g) e 48h (h); e sementes mantidas a 25^oC constantes sob luz branca (b) e escuro (a).

Contagem após 82h. $F_{5\%}$ não significativo para os tratamentos de luz.

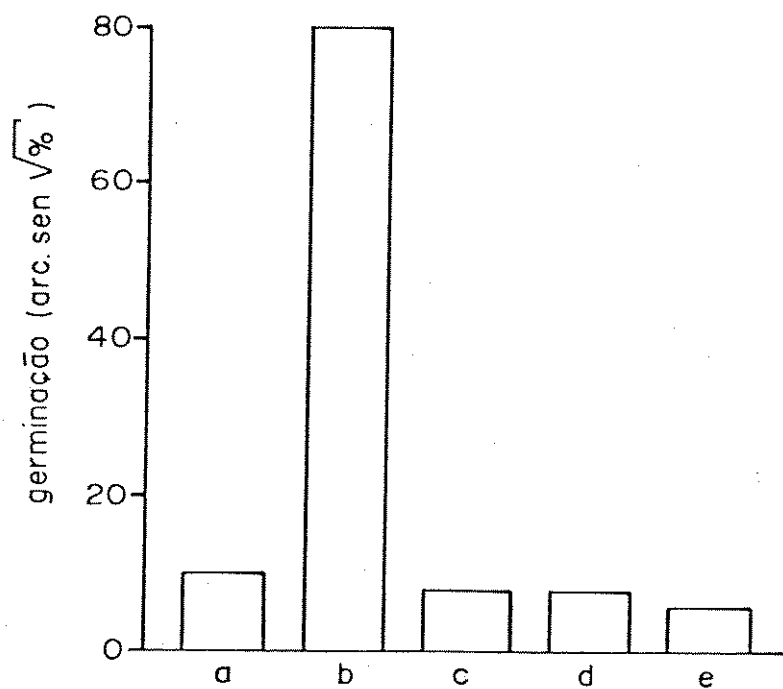


FIGURA 26. Germinação de *Cucumis anguria* sob luz branca a 25°C (a), em escuro a 25°C (b) e após os tratamentos de 1h a 0°C (c), 1h a 0°C seguido de 6h de vermelho (d) e 6h de vermelho (e).

Resultados após 6 dias. Aplicação dos choques de frio ou irradiação com vermelho após 24h de embebição sob luz branca a 25°C .

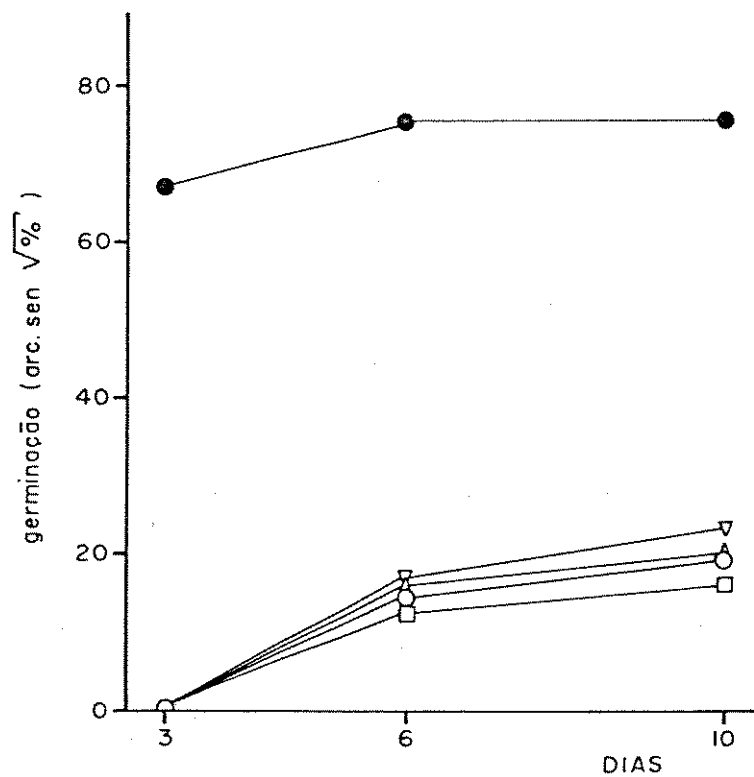


FIGURA 27. Germinação de *Cucumis anguria* a 25°C constantes sob luz branca (○) e escuro (●), e após tratamentos com 40°C por 2h (□), 4h (△) e 6h (▽).

Temperatura de 40°C aplicada após 24h de embebição sob luz branca a 25°C.

curo em relação às três temperaturas testadas, observa-se que a 25°C o vermelho é mais efetivo do que o escuro na reversão do efeito do vermelho extremo, causando germinação mais alta no 2º e 4º dias. A temperatura de 28°C (Figura 28 B), ocorreu no 2º dia uma germinação mais alta no tratamento de escuro, embora a porcentagem no 4º dia tenha sido mais alta no tratamento de luz vermelha. A 33°C (Figura 28 C), não houve diferença significativa entre os efeitos da luz vermelha e do escuro.

Aumentando-se para 7 dias o tempo de embebição em vermelho extremo (Figura 29), observa-se que o vermelho foi mais efetivo do que o escuro na promoção da germinação no 4º dia nas três temperaturas. A diferença entre ambos os tratamentos reduziu-se à medida em que se aumentou a temperatura. No 2º dia, o vermelho provocou uma germinação mais alta do que o escuro à temperatura de 25°C. Nesse dia não houve diferença entre os dois tratamentos nas temperaturas de 28 e 33°C. Na Figura 29 D é apresentada a curva de germinação de um lote de sementes que recebeu 1 hora de vermelho entre os tratamentos de vermelho extremo e escuro. Observa-se que o período curto de vermelho promoveu acentuadamente a germinação em relação ao tratamento em que as sementes foram transferidas diretamente para escuro.

Na Figura 30 observam-se as curvas de germinação em escuro e vermelho das sementes que permaneceram 14 dias em vermelho extremo. Vermelho promoveu uma germinação mais alta em relação ao escuro, apresentando efeitos mais acentua-

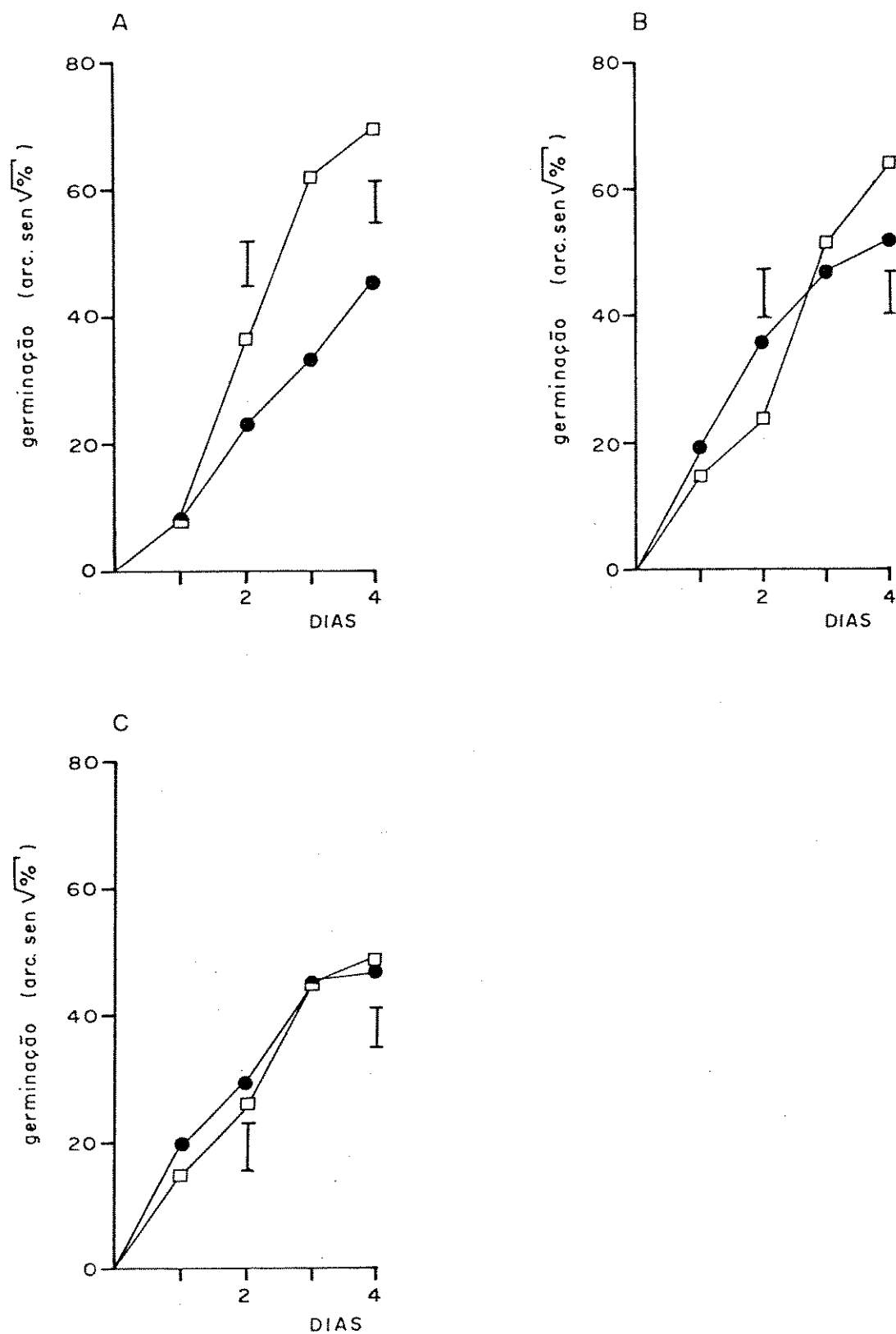


FIGURA 28. Germinação de *Cucumis anguria* sob luz vermelha (□) e escuro (●), às temperaturas de 25°C (A), 28°C (B) e 33°C (C), após tratamento prēvio com vermelho extremo por 3 dias a 25°C.

Barras verticais= DMS_{5%}.

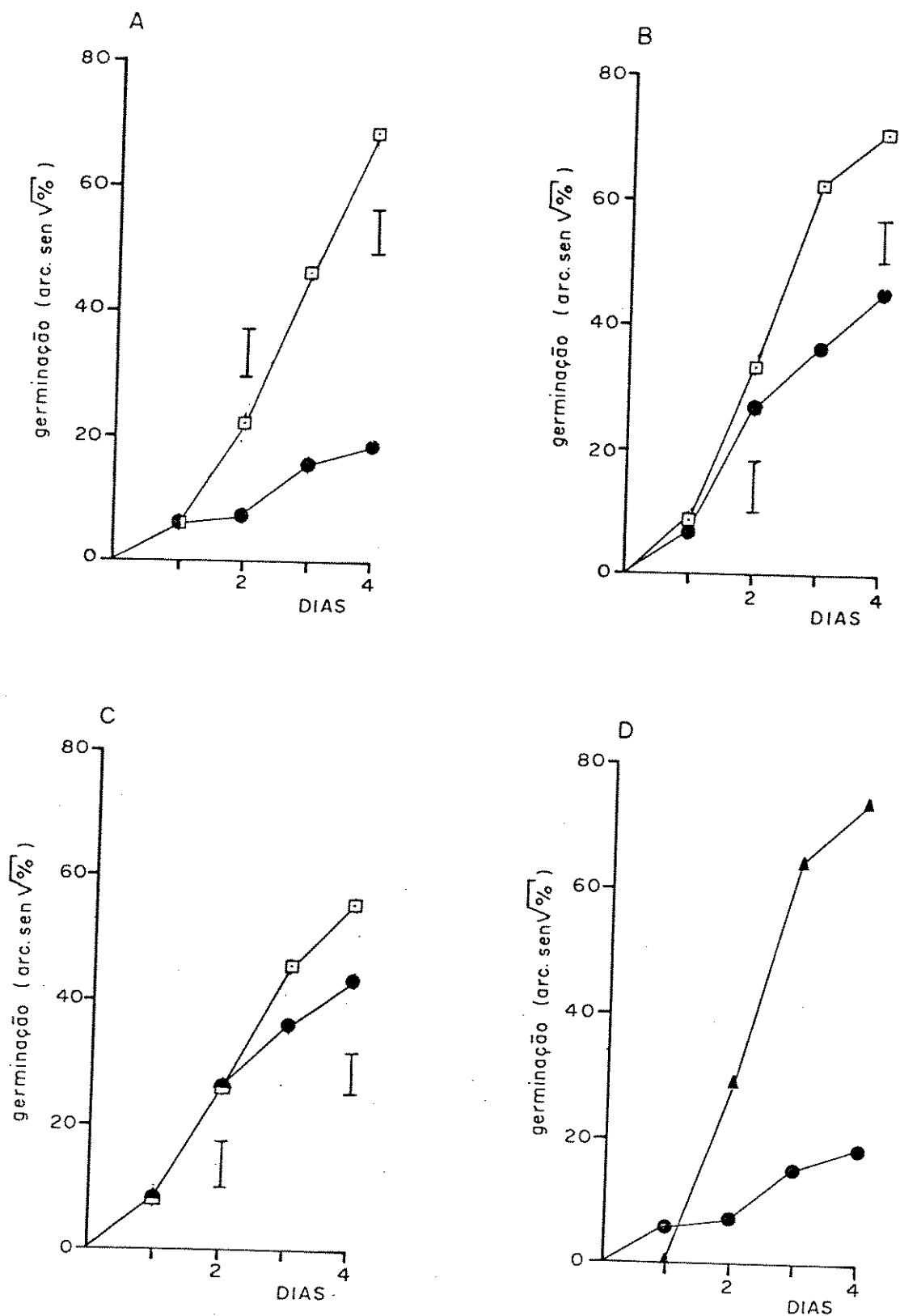


FIGURA 29. Germinação de *Cucumis anguria* sob luz vermelha (□) e escuro (●), às temperaturas de 25°C (A), 28°C (B) e 33°C (C), após tratamento prévio com 7 dias de vermelho extremo a 25°C.

Em 29 (D) foi aplicada 1h de vermelho (▲) antes das sementes serem transferidas para escuro, a 25°C. Barras verticais = DMS_{5%}.

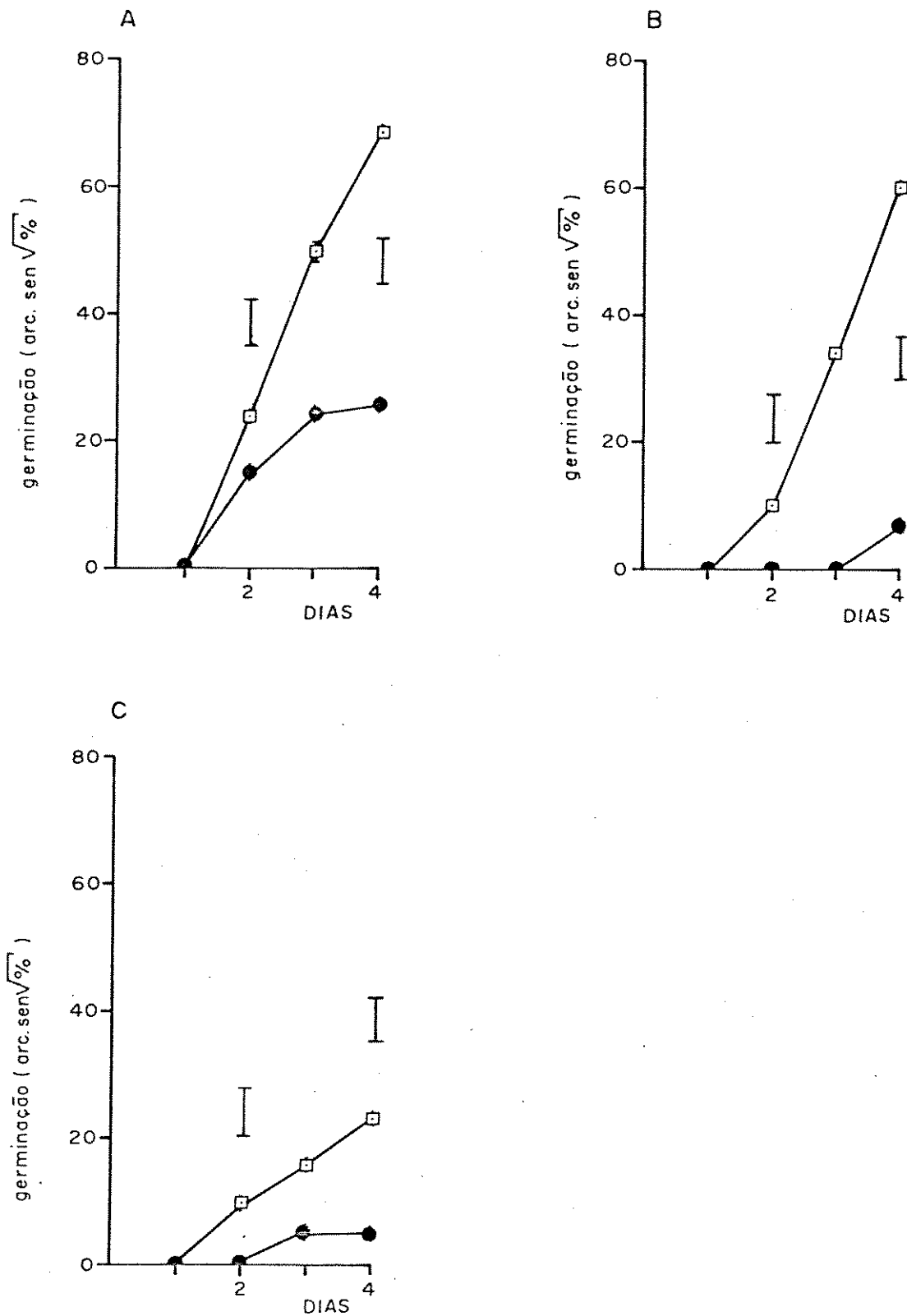


FIGURA 30. Germinação de *Cucumis anguria* sob luz vermelha (□) e escuro (●), às temperaturas de 25°C (A), 28°C (B) e 33°C (C), após tratamento prévio com 14 dias de vermelho extremo a 25°C.

Barras verticais = DMS_{5%}.

dos às temperaturas de 25 e 28°C nos 4 primeiros dias. Comparando-se os três tratamentos de embebição inicial sob vermelho extremo, observa-se que de um modo geral o vermelho foi mais efetivo em reverter o efeito do vermelho extremo do que o escuro, sendo que esse efeito tende a se tornar mais acentuado à medida em que se aumenta a duração do vermelho extremo prévio, nas três temperaturas testadas. A promoção causada pelo escuro é menor quanto maior o tempo em vermelho extremo.

Na Tabela 6 pode-se observar os índices de velocidade (índice b) para os tratamentos de vermelho e escuro, em função do período de embebição inicial sob vermelho extremo e das temperaturas de germinação. Por esses dados pode-se visualizar mais claramente o efeito mais acentuado do vermelho em aumentar a velocidade de germinação.

As Figuras 31 e 32 representam desdobramentos diferentes dos resultados, ou seja, a separação dos gráficos em relação ao período de embebição inicial em vermelho extremo, aos tratamentos de vermelho ou escuro, e ainda às temperaturas nas quais foram feitas as contagens de germinação.

Na Figura 31 é mostrado o efeito do vermelho extremo e da temperatura apenas nos tratamentos de escuro. Nas Figuras 31 A, 31 B e 31 C são mostradas as curvas de germinação nas três temperaturas para cada período prévio de vermelho extremo.

Após 3 dias de vermelho extremo, as temperaturas

TABELA 6 - Velocidade de germinação (b) de sementes de *C. an*
guria em diferentes tratamentos de luz e tempera
tura.
(VE = vermelho extremo; V = vermelho; E = escuro).

| T ^o C | tratamento | Embebição inicial sob VE (dias) | | |
|------------------|------------|---------------------------------|------|------|
| | | 3 | 7 | 14 |
| 25 | V | 11,6 | 10,4 | 11,5 |
| | E | 4,2 | 1,6 | 3,3 |
| 28 | V | 11,0 | 11,5 | 6,3 |
| | E | 8,3 | 5,1 | 0,0 |
| 33 | V | 8,5 | 7,3 | 1,6 |
| | E | 7,6 | 5,0 | 0,2 |

de 25 e 28⁰C apresentaram valores diferentes entre si no 29 dia, enquanto que no 49 dia não houve diferença significativa entre as três temperaturas. No tratamento de 7 dias de vermelho extremo, as temperaturas de 28 e 33⁰C apresentaram valores iguais no 29 e 49 dias, os quais foram mais altos do que os da temperatura de 25⁰C. Após 14 dias de vermelho extremo, a germinação foi mais alta à temperatura de 25⁰C no 29 e 49 dias, enquanto que entre as temperaturas de 28 e 33⁰C não houve diferença significativa. Nas Figuras 31 D, 31 E e 31 F são comparados os efeitos dos períodos prévios de vermelho extremo para cada temperatura, observando-se também os controles de escuro (que não receberam vermelho extremo). A 25⁰C (Figura 31 D), os três tratamentos prévios de vermelho extremo inibiram a germinação em relação ao lote não irradiado. No 29 dia, o tratamento de 7 dias de vermelho extremo causou uma maior inibição da germinação do que o tratamento de 3 dias. No 49 dia, os tratamentos de 7 e 14 dias de vermelho extremo apresentaram resultados iguais entre si, tendo causado uma inibição maior do que o tratamento de 3 dias de vermelho extremo. Comparando-se os períodos prévios de vermelho extremo na temperatura de 28⁰C (Figura 31 E), observa-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos de 3 e 7 dias de vermelho extremo no 29 e 49 dias. Por outro lado, a germinação foi praticamente suprimida no tratamento de 14 dias de vermelho extremo. Os três períodos prévios de vermelho extremo inibiram a germinação em relação ao con -

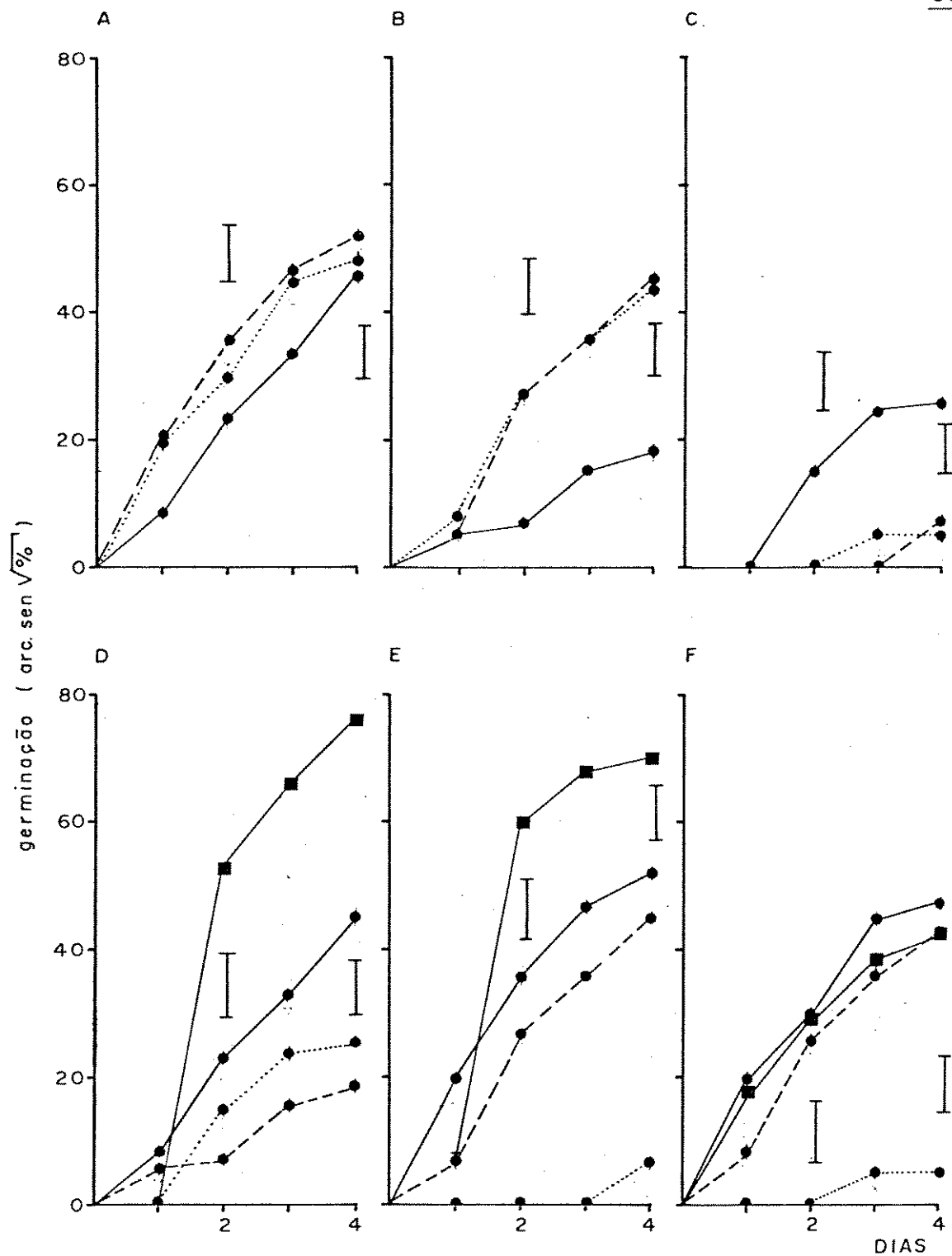


FIGURA 31. Germinação de *Cucumis anguria* em escuro, às temperaturas de 25°C (●—●), 28°C (●---●) e 33°C (●.....●), após 3 dias (A), 7 dias (B) e 14 dias (C) de vermelho extremo.

Em 31 (D), (E) e (F) os resultados são apresentados de outra maneira, ou seja, germinação a 25°C (D), 28°C (E) e 33°C (F), após 3 dias (●—●), 7 dias (●---●) e 14 dias (●.....●) de vermelho extremo. (■) = escuro constante.

Barras verticais = DMS_{5%}.

trole de escuro constante. À temperatura de 33°C (Figura 31 F), não houve diferença entre o controle de escuro e os tratamentos de 3 e 7 dias de vermelho extremo no 2º e 4º dias. Por outro lado, o tratamento de 14 dias de vermelho extremo inibiu fortemente a germinação nessa temperatura.

Na Figura 32 a apresentação dos resultados seguiu o mesmo esquema da Figura 31, tendo sido analisados os tratamentos com luz vermelha. No tratamento com 3 dias de vermelho extremo (Figura 32 A), a temperatura de 25°C causou uma germinação mais alta do que as temperaturas de 28 e 33°C no 2º dia. No 4º dia, as temperaturas de 25 e 28°C apresentaram valores semelhantes entre si, enquanto que a temperatura de 33°C inibiu a germinação em relação a esses tratamentos. Com 7 dias de vermelho extremo (Figura 32 B), 25 e 28°C foram iguais no 4º dia, enquanto que 33°C causou uma germinação mais baixa. No 2º dia, houve uma germinação mais alta a 28°C do que a 25°C . No tratamento com 14 dias de vermelho extremo (Figura 32 C), os índices mais altos de germinação no 2º e 4º dias ocorreram na temperatura de 25°C , sendo que no 4º dia a germinação mais baixa ocorreu na temperatura de 33°C . Desdobrando-se os períodos prévios de vermelho extremo dentro de cada temperatura observa-se que, a 25°C (Figura 32 D), a germinação no 2º dia foi maior no tratamento de 3 dias de vermelho extremo do que nos tratamentos de 7 e 14 dias. No 4º dia não houve diferença entre os diferentes tratamentos de vermelho extremo, sendo que esses tratamentos apresentaram germinação mais alta do

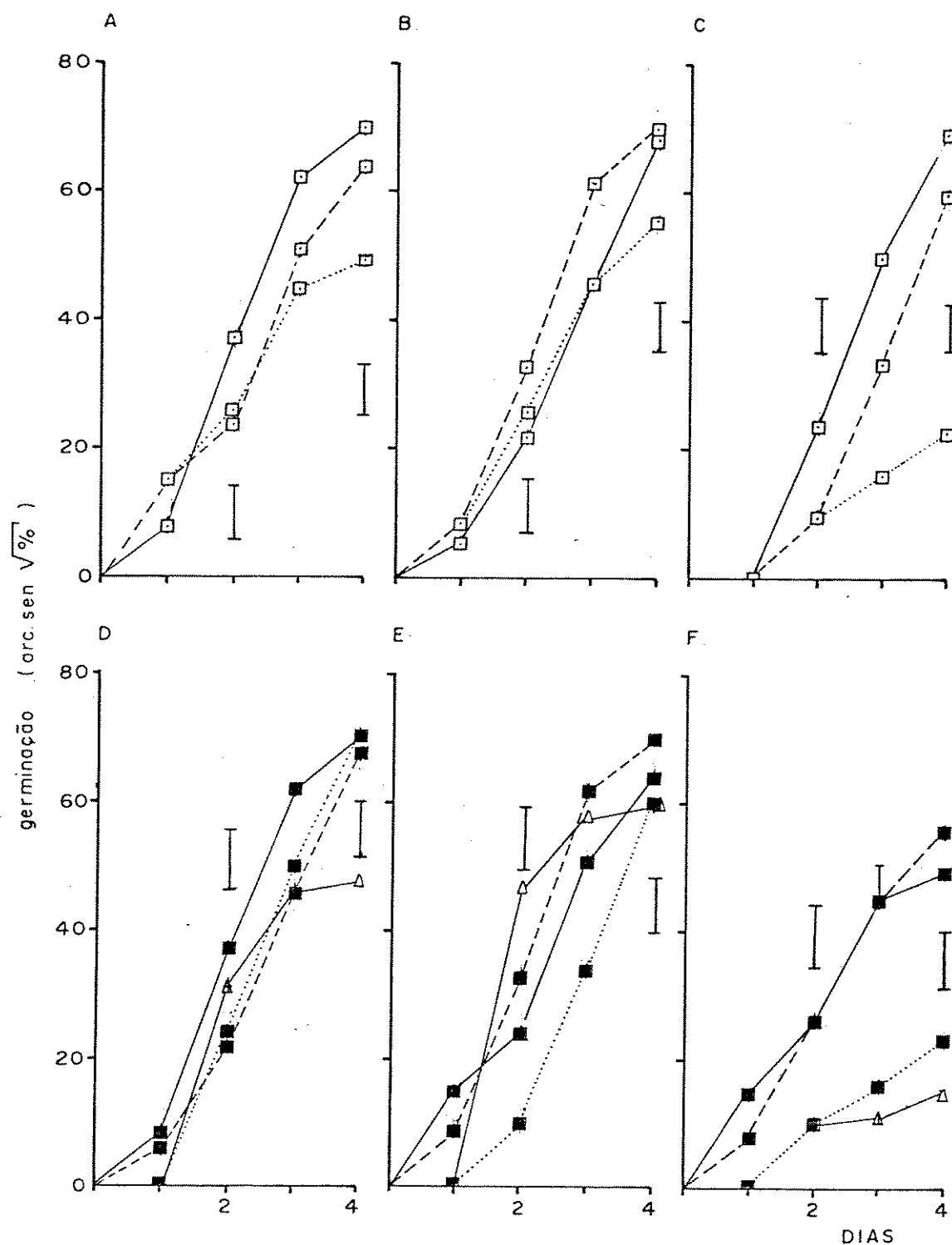


FIGURA 32. Germinação de *Cucumis anguria* sob luz vermelha a 25°C (□—□), 28°C (□--□) e 33°C (□.....□), após 3 dias (A), 7 dias (B) e 14 dias (C) de vermelho extremo.

Em 32 (D), (E) e (F), germinação a 25°C (D), 28°C (E) e 33°C (F), após 3 dias (■—■), 7 dias (■--■) e 14 dias (■.....■) de vermelho extremo. (Δ) = vermelho constante.

Barras verticais = DM.S 5%.

que o controle de vermelho constante. À temperatura de 28^oC (Figura 32 E), não ocorreu diferença entre os tratamentos de 3 e 14 dias de vermelho extremo e o controle de vermelho constante, e entre 3 e 7 dias de vermelho extremo. No 2^o dia houve uma germinação mais alta no tratamento de 3 dias de vermelho extremo, sendo que a germinação mais baixa ocorreu com 14 dias de vermelho extremo. À 33^oC (Figura 32 F), os tratamentos de 3 e 7 dias de vermelho extremo foram semelhantes entre si e apresentaram valores mais altos do que o tratamento de 14 dias de vermelho extremo e o controle de vermelho constante, tanto no 2^o como no 4^o dia.

Também foram montados experimentos para se verificar o efeito da aplicação prévia de vermelho extremo sobre a germinação em escuro, alternando-se as temperaturas durante os períodos de vermelho extremo e escuro. Os resultados (Figura 33) mostram que não houve diferença entre os controles de escuro às temperaturas de 25 e 32^oC constantes. A aplicação prévia de vermelho extremo inibiu a germinação em todos os tratamentos em relação a escuro constante, sendo que o efeito mais acentuado ocorreu quando vermelho extremo foi aplicado à temperatura de 25^oC, seguindo-se um período de escuro também a 25^oC. A exposição à temperatura de 32^oC, tanto durante o período de vermelho extremo como durante o período de escuro, causou um aumento da germinação em relação à temperatura de 25^oC constante, sem contudo se aproximar dos valores dos controles de escuro constante (tanto a 25 como a 32^oC).

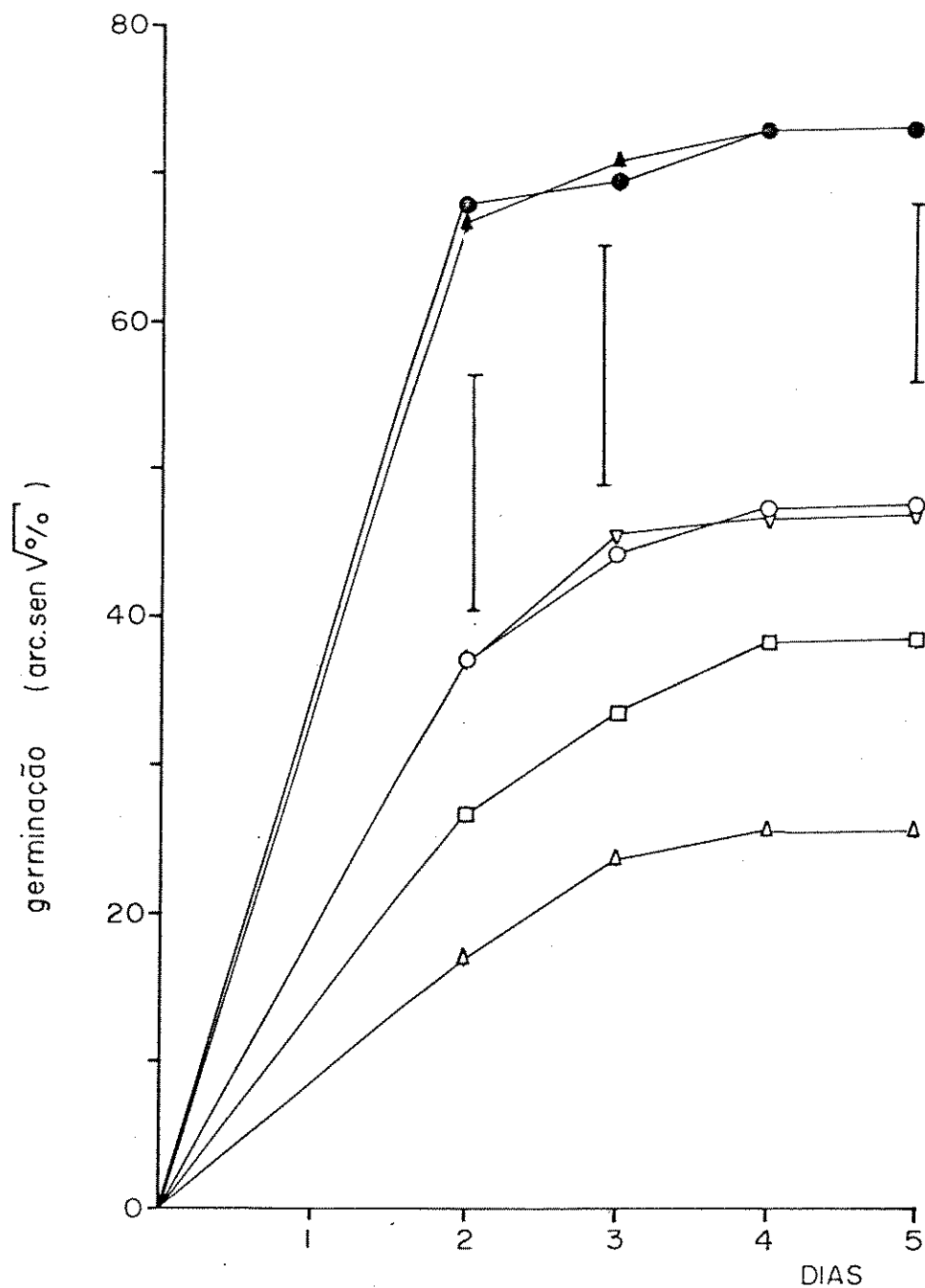


FIGURA 33. Germinação de *Cucumis anguria* após tratamento prévio com vermelho extremo por 72h, tendo sido aplicados os seguintes pares de temperaturas correspondentes aos tratamentos de vermelho extremo/escuro: 32/32°C (○); 32/25°C (□); 25/25°C (△); e 25/32°C (▽).

São também mostrados os controles de escuro constante a 25°C (▲) e 32°C (●). Barras verticais = DMS_{5%}.

7. Etileno e germinação.

7.1. Liberação de etileno em sementes mantidas sob vermelho, vermelho extremo e luz fluorescente branca.

A Figura 34 mostra o efeito da aplicação de períodos de 6, 12 e 24 horas de luz vermelha sobre a liberação de etileno em sementes mantidas sob luz fluorescente branca. Nos experimentos desta seção a germinação tornou-se visível entre 36 e 38 horas. O período de 24 horas de vermelho foi o mais efetivo na promoção da germinação, tendo também se verificado neste tratamento uma maior liberação de etileno em relação aos demais períodos de vermelho. Os tratamentos de 6 e 12 horas de vermelho não tiveram efeito significativo. Por outro lado, a luz vermelha não teve efeito promotor significativo quando precedida por um período de 2 horas de vermelho extremo (Figura 35). Também foi feito um teste para se verificar a efetividade do vermelho extremo, aplicando-o por 6, 12 e 24 horas em sementes mantidas em luz branca. Os resultados apresentados na Figura 36 mostram que não houve diferença significativa entre os tratamentos de vermelho extremo e o controle de luz branca. Entretanto, o vermelho extremo foi efetivo quando aplicado em sementes posteriormente mantidas em escuro; neste experimento (Figura 37) pode-se observar que os períodos de 3, 9, 15 e 24 horas de vermelho extremo inibiram a germinação

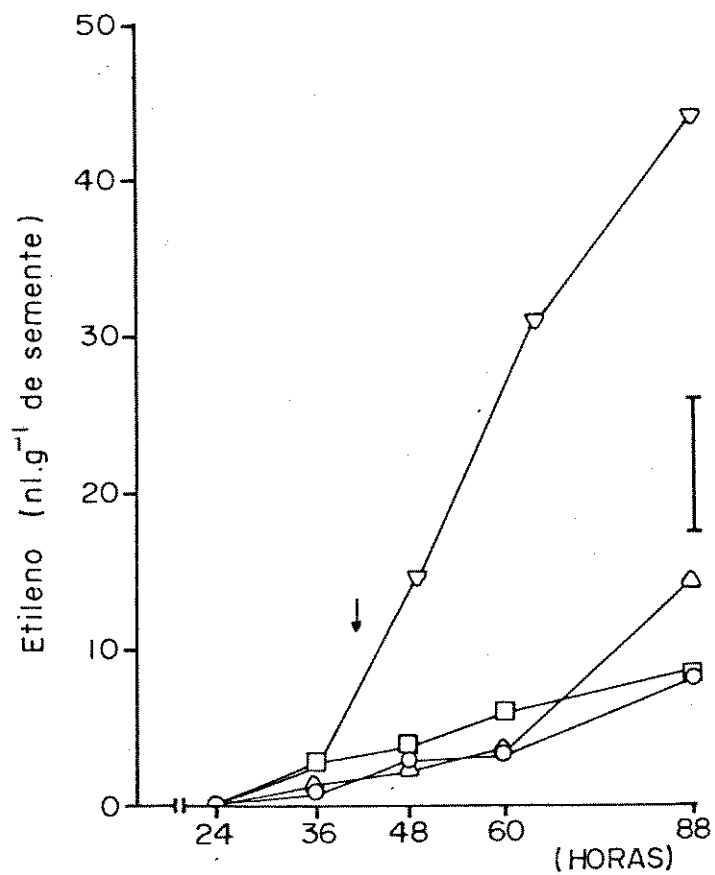


FIGURA 34. Liberação de etileno por sementes de *Cucumis an-gurá* mantidas sob luz branca e tratadas com 0h (○), 6h (□), 12h (△) e 24h (▽) de luz vermelha.

Barra vertical = DMS_{5%}. Seta indica início da germinação visível.

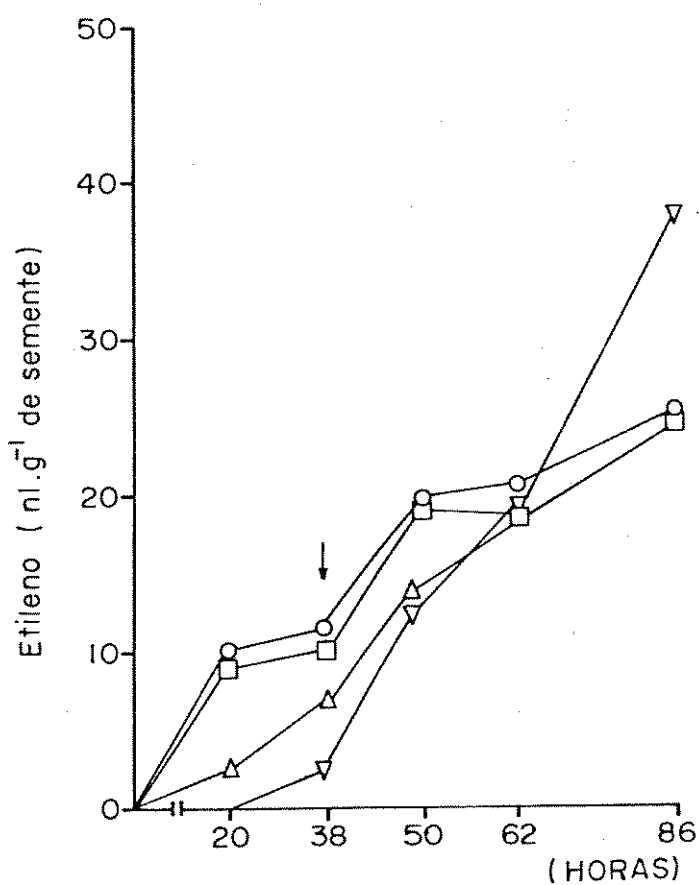


FIGURA 35. Liberação de etileno por sementes de *Cucumis anguria* irradiadas com 0h (○), 6h (□), 12h (△) e 24h (▽) de luz vermelha.

Os tratamentos com luz vermelha foram precedidos por 2h de vermelho extremo. $F_{5\%}$ não significativo após 86h de incubação. Seta indica início da germinação.

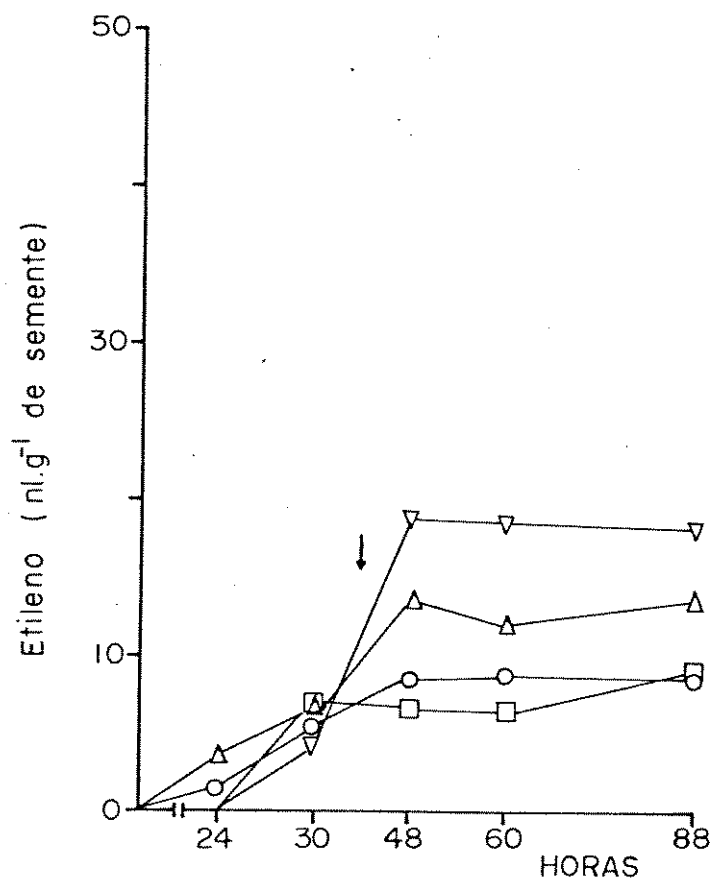


FIGURA 36. Liberação de etileno por sementes de *Cucumis anguria* mantidas sob luz branca e irradiadas com 0h (○), 6h (□), 12h (△) e 24h (▽) de vermelho extremo.

$F_{5\%}$ não significativo após 88h de incubação. Seta indica início da germinação.

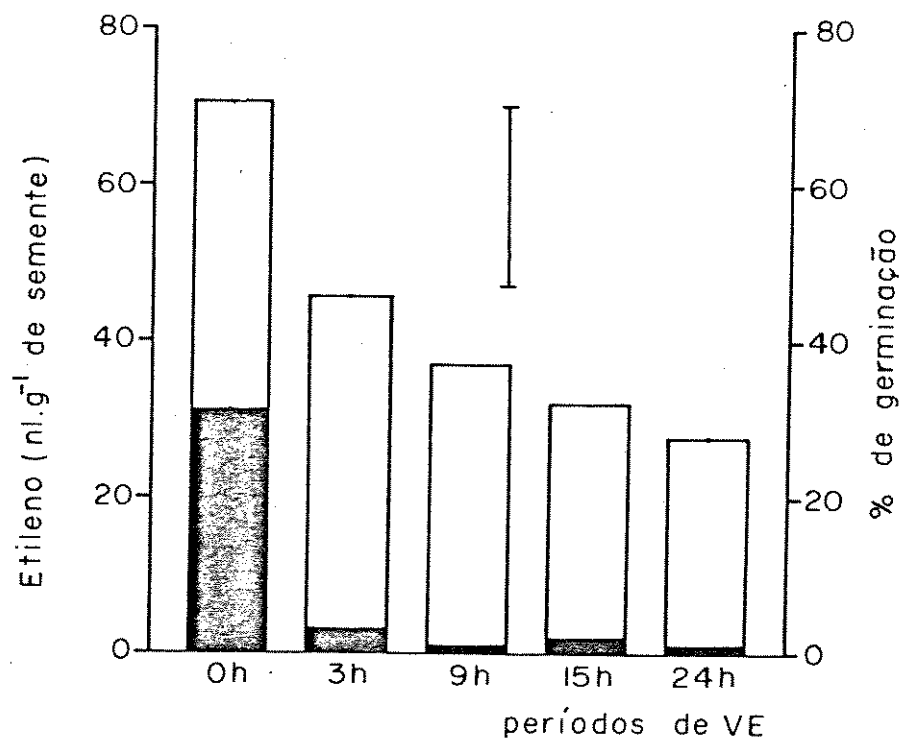


FIGURA 37. Germinação (■) e liberação de etileno (□) por sementes de *Cucumis anguria* mantidas em escuro e tratadas com diferentes períodos de vermelho extremo.

Leitura após 72h. Barra vertical = DMS_{5%}.

e a produção de etileno em relação ao controle de escuro constante, não tendo se observado diferenças entre os tratamentos de vermelho extremo. Finalmente, observa-se na Figura 38 que a aplicação de um período de 2 horas de vermelho extremo após 6, 12 ou 24 horas de vermelho não alterou o padrão de liberação de etileno em relação aos tratamentos em que foi aplicada apenas luz vermelha (Figura 34).

Na Figura 38 é mostrada a regressão entre a liberação de etileno e o tempo em sementes mantidas sob luz fluorescente branca. As dosagens foram feitas durante as primeiras sessenta horas desde o início da embebição. Etileno foi detectado após 8 horas, sendo que a germinação visível (protrusão da radícula) ocorreu a partir de 36 horas de experimento. Na Figura 40 observa-se a relação entre germinação e produção de etileno para cada uma das repetições do experimento da Figura 39, após 58 horas de embebição.

Além do experimento descrito acima, fez-se também outro tipo de experimento no qual foi observado o efeito da aplicação de pressão negativa durante as primeiras 2,5 horas de embebição sobre a liberação de etileno. Como é mostrado na Figura 41, a aplicação prévia de pressão negativa inibiu ligeiramente a liberação de etileno durante as primeiras 50 horas de embebição. Após 66 horas, a diferença observada entre tratamento e controle não foi significativa.

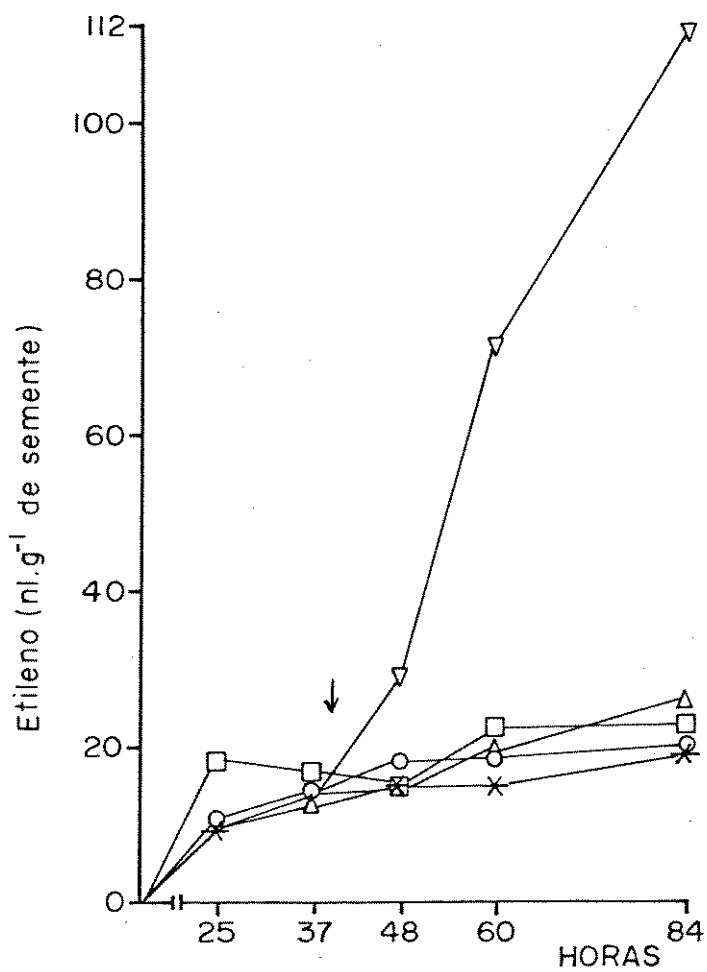


FIGURA 38. Liberação de etileno por sementes de *Cucumis an-guria* irradiadas com 0h (×), 6h (□), 12h (△) e 24h (▽) de vermelho, seguidos por 2h de vermelho extremo.

Também é mostrado o controle de luz branca constante (O). Seta indica início da germinação.

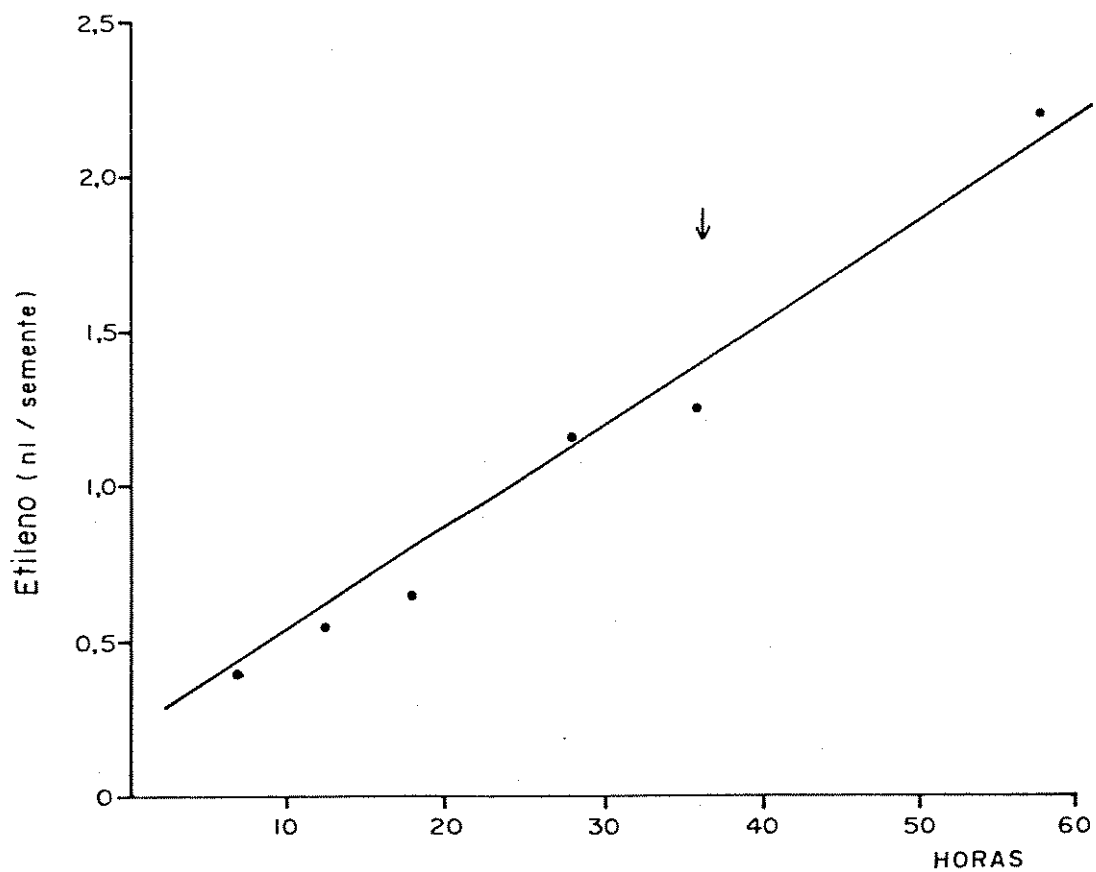


FIGURA 39. Relação entre liberação de etileno e tempo de embebição de sementes de *Cucumis anguria* mantidas sob luz branca.

Seta indica início da germinação.

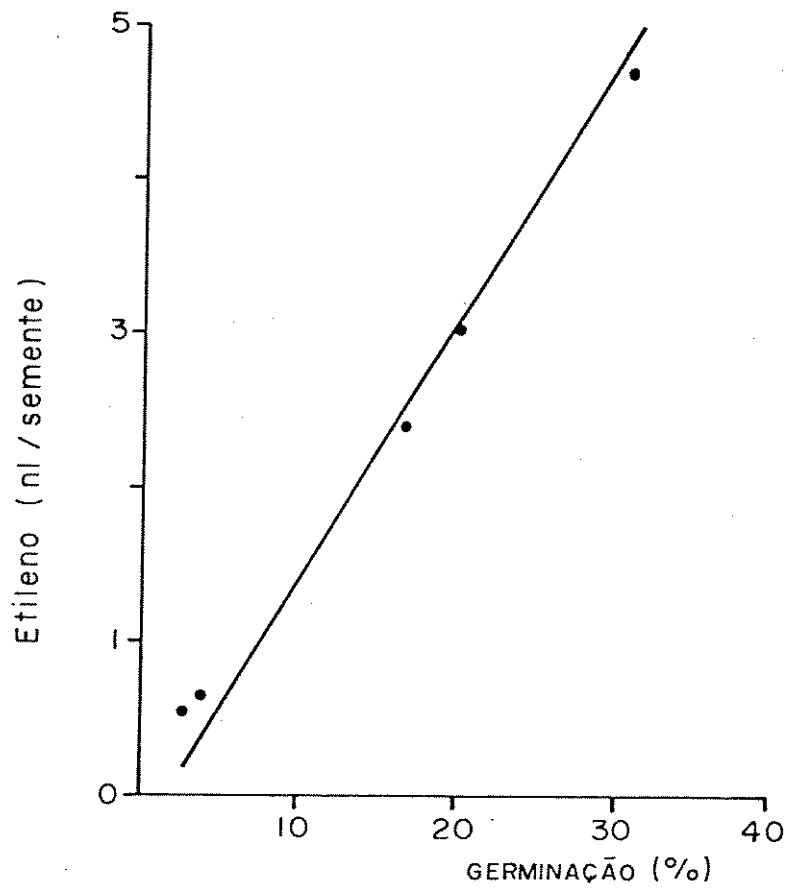


FIGURA 40. Relação entre germinação de *Cucumis anguria* e liberação de etileno sob luz branca, após 58h de embebição.

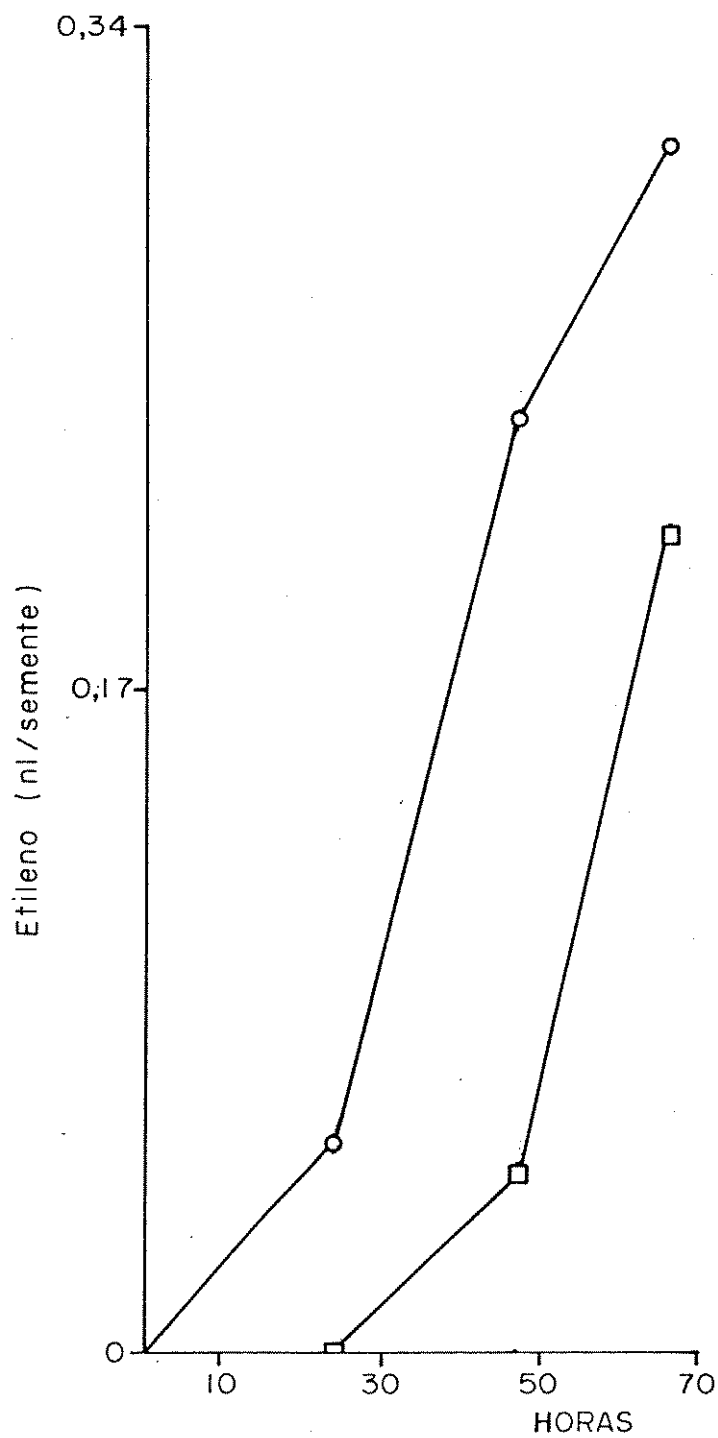


FIGURA 41. Liberação de etileno por sementes de *Cucumis anguria* embebidas sob luz fluorescente branca, em pressão negativa (□) e pressão normal (O).

$T_{5\%}$ significativo após 47h e não significativo após 66h.

7.2. Germinação em frascos vedados.

A Figura 42 mostra a germinação de *C. anguria* em frascos tampados, em luz branca e escuro. Testou-se ao mesmo tempo o efeito de uma substância captadora de etileno (perclorato de mercúrio). Observa-se que nos tratamentos mantidos em escuro não houve diferença quanto à germinação entre os frascos contendo recipientes com perclorato de mercúrio e aqueles contendo água. Por outro lado, nos tratamentos mantidos em luz branca constante, houve uma germinação significativamente maior nos frascos controle em comparação aos frascos com perclorato de mercúrio. Na Figura 43 comparou-se a germinação em frascos tampados e placas de Petri, testando-se também o efeito da densidade de sementes por placa. Com exceção do controle de escuro constante (tratamento a), os demais tratamentos foram mantidos sob luz fluorescente branca. A presença de perclorato de mercúrio nos frascos inibiu a germinação em relação aos frascos contendo água (tratamentos b e c). A germinação nas placas de Petri foi menor do que nos frascos contendo água, sendo que não houve diferença entre os tratamentos com 30 e com 80 sementes por placa. Também não houve diferença entre a germinação nas placas de Petri (em luz branca) e nos frascos contendo perclorato de mercúrio.

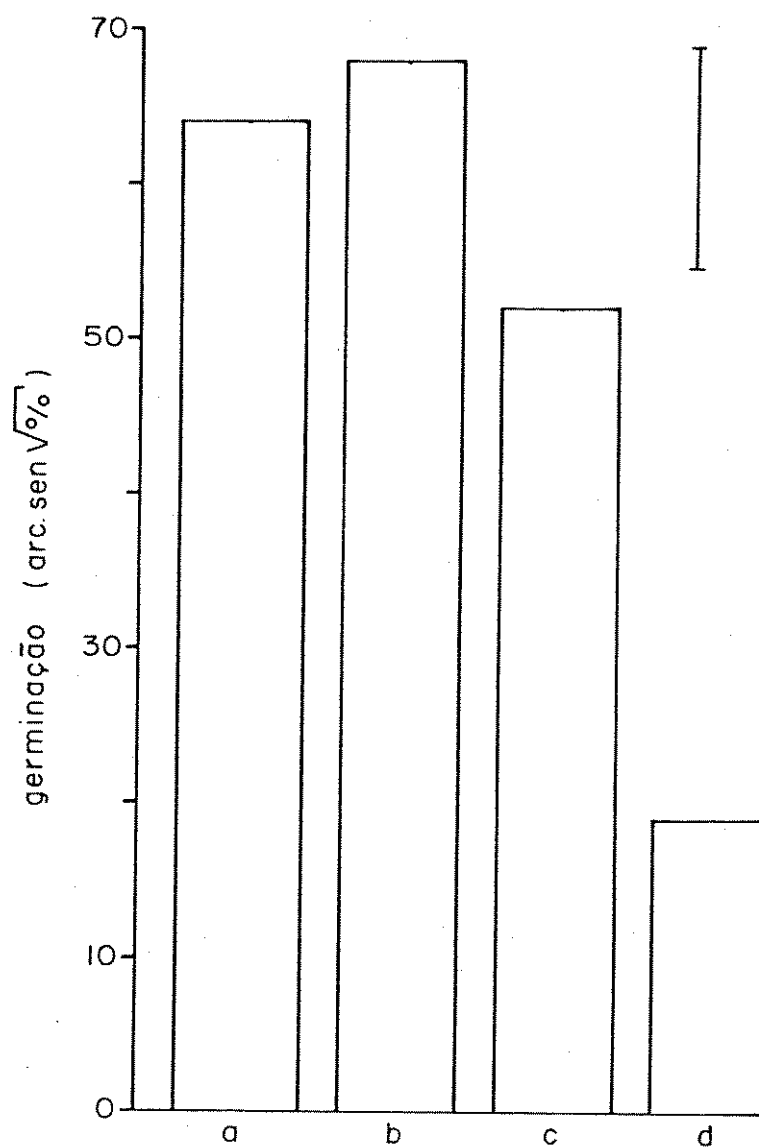


FIGURA 42. Germinação de *Cucumis anguria* em frascos vedados.

Contagem após 5 dias. Barra vertical =

$DMS_{5\%}$.

a = perclorato de mercúrio, escuro

b = água, escuro

c = água, luz branca

d = perclorato de mercúrio, luz branca.

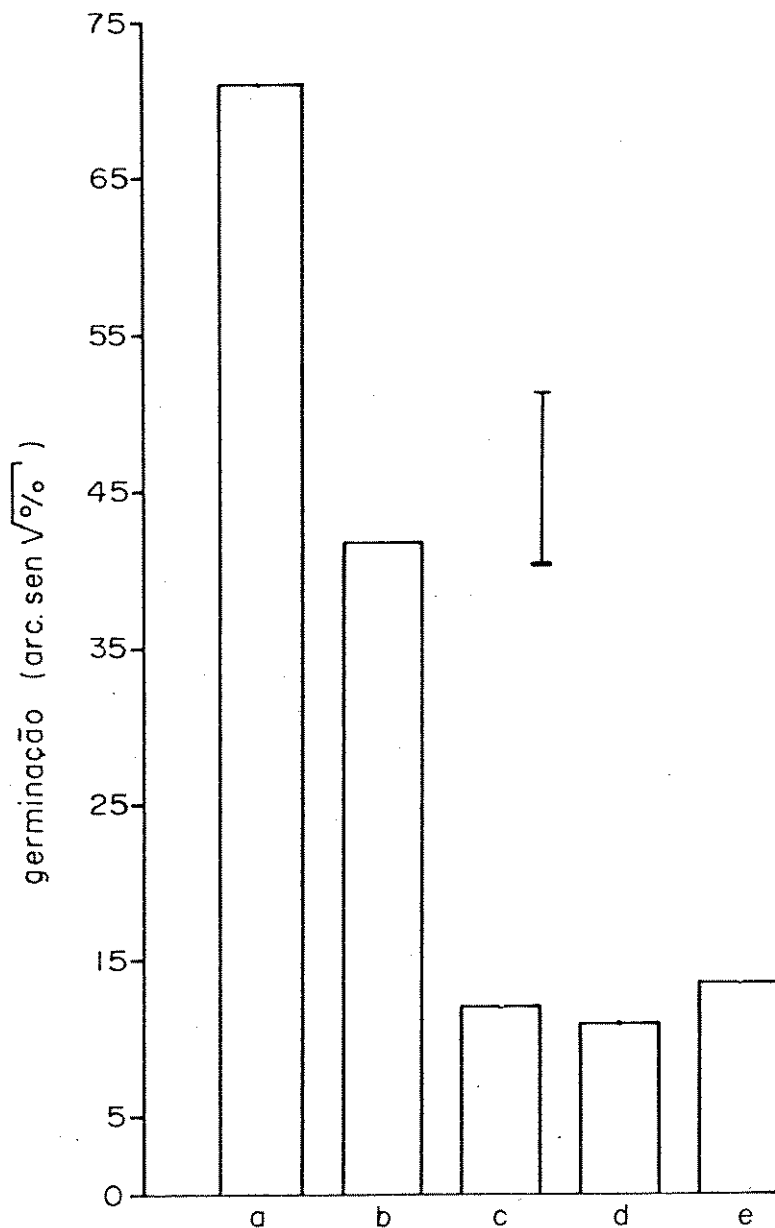


FIGURA 43. Efeito de perclorato de mercúrio (PHg) na germinação de *Cucumis anguria* após 5 dias.
a= placas com 30 sementes cada (água; escuro)
b= frascos com 80 sementes cada (água; luz branca)
c= frascos com 80 sementes cada (PHg; luz branca)
d= placas com 30 sementes cada (água; luz branca)
e= placas com 80 sementes cada (água; luz branca).

7.3. Efeito de substâncias inibidoras da produção de etileno.

Na Figura 44 aplicou-se aminoetoxivinilglicina (AVG), que é um inibidor da produção de etileno, após as sementes terem sido embebidas por 4 horas em água destilada à temperatura de 5^oC. AVG inibiu a germinação no dia 1^o, mas não teve efeito posterior no índice de germinação (dias 2, 3 e 4). Na Figura 45 observa-se que AVG não teve efeito sobre a germinação, quer quando aplicado após zero, 3 ou 6 horas de embebição em água destilada à temperatura de 25^oC.

AVG e cloreto de cobalto (CoCl₂) inibiram drasticamente a liberação de etileno após 68 horas de incubação (Figura 46 A), mas não tiveram efeito sobre a porcentagem final de germinação (Figura 46 B). Na Figura 46 C é apresentado o comprimento médio das radículas nos tratamentos com AVG e CoCl₂ e no controle. Não houve diferença significativa entre o controle (água destilada) e o tratamento de CoCl₂, enquanto que o tratamento com AVG inibiu o crescimento da radícula.

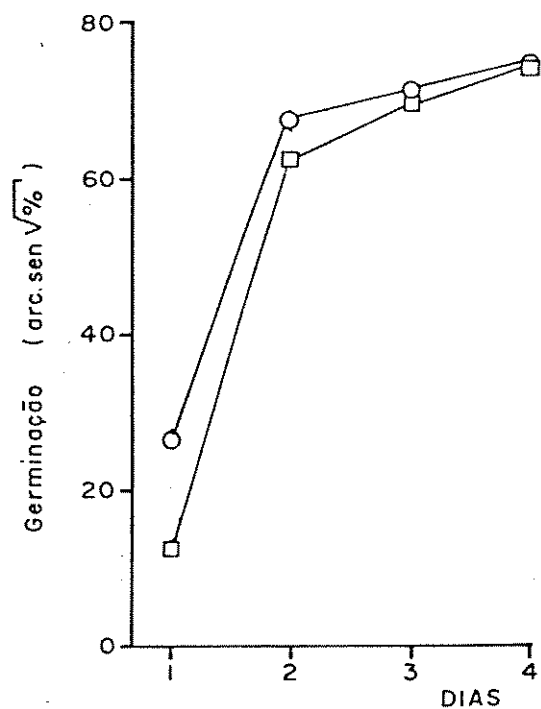


FIGURA 44. Germinação de sementes de *Cucumis anguria* embebidas por 4h em água e tratadas com AVG (□) ou com água (○). Germinação em escuro.

$T_{5\%}$ significativo para o 1º dia.

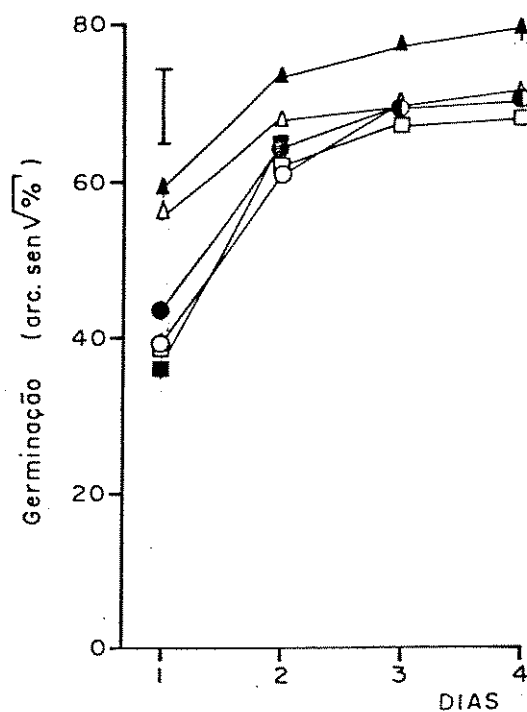


FIGURA 45. Efeito de AVG na germinação em escuro de sementes de *Cucumis anguria*, embebidas em água por 0h (○), 3h (□) e 6h (△).

Barra vertical = $DMS_{5\%}$. Símbolos cheios = AVG; símbolos vazios = água (controle).

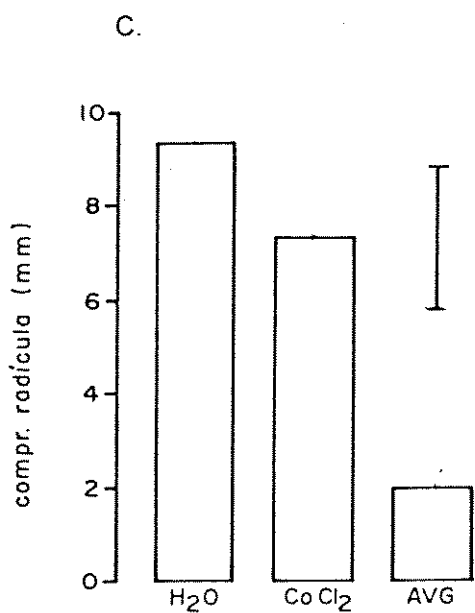
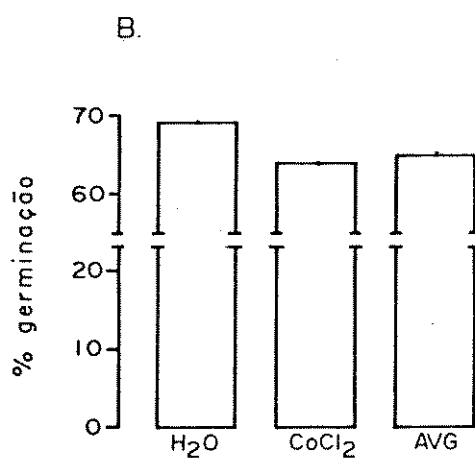
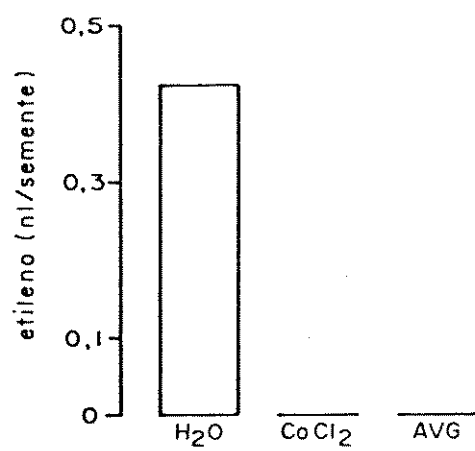


FIGURA 46. Efeito de cloreto de cobalto e AVG sobre a liberação de etileno (A), germinação (B) e comprimento da radícula (C), em *Cucumis anguria*.

Experimento mantido em condições de escuro. Barra vertical = DMS_{5%}.

DISCUSSÃO

Observou-se que não houve interação entre os tratamentos com 6-benziladenina (6-BA), ácido giberélico (GA_3), ácido 2-cloroetilfosfônico (CEPA) e luz vermelha (V), na germinação de *C. anguria* nos primeiros sete dias desde o início da embebição. Nesta série de experimentos apenas o CEPA causou uma promoção da germinação em relação aos controles de água, sob luz fluorescente branca. Esses resultados foram semelhantes àqueles obtidos por CARDOSO (1982) que, trabalhando com doses consideradas subpromotoras de 6-BA, GA_3 , CEPA e luz vermelha, mostrou que os efeitos promotores sobre a germinação de *C. anguria* foram devidos ou ao CEPA, ou à luz vermelha, ambos agindo isoladamente. Nos experimentos de interação entre reguladores de crescimento e luz vermelha aqui apresentados, foram utilizadas concentrações promotoras de 6-BA e GA_3 e uma concentração de CEPA subpromotora da germinação (FELIPPE & LITJENS, 1980). Utilizou-se também uma dose de luz vermelha que não causa promoção da germinação de *C. anguria* (CARDOSO, 1982). O lote de sementes utilizado nestes experimentos apresentou uma grande sensibilidade e concentrações relativamente baixas de CEPA ($1\mu\text{g/ml}$), enquanto que FELIPPE & LITJENS (1980) encontraram que concentrações de CEPA abaixo de $25\mu\text{g/ml}$ não causavam aumento da germinação. KARSSSEN (1976), trabalhando

com sementes de *Chenopodium album*, observou que a combinação de luz e GA₄₊₇ em sementes dormentes causava uma resposta sinérgica; por outro lado, num lote de sementes com menor dormência, cada fator induziu separadamente a germinação. Combinação de várias concentrações de GA₄₊₇ e vários períodos subpromotores de vermelho não causavam efeitos sinérgicos nessas sementes. KARSSSEN (1976) mostrou que a incubação de sementes de *Chenopodium album* em GA₄₊₇ durante os dois ou três primeiros dias causou a maior estimulação da germinação; a medida que se prolongava o período de incubação em tampão, ocorria uma diminuição da resposta ao GA₄₊₇. Em *C. anguria* ainda não foi feito um trabalho no qual procurou-se verificar o período de tempo, desde o início da embebição, em que os reguladores de crescimento apresentem a maior atividade, ou seja, determinar a fase em que as sementes sejam mais sensíveis ao regulador. FELIPPE & LITJENS (1980) e CARDOSO (1982) observaram que o CEPA promove a germinação dentro dos primeiros três dias de embebição, enquanto que 6-BA e GA₃ começam a promover a germinação de *C. anguria* após um período de aproximadamente treze dias de incubação na solução do regulador. Dessa maneira, aplicando-se conjuntamente esses reguladores, predominaria o efeito do CEPA sobre os demais. KARSSSEN (1976) divide a germinação numa fase de indução de crescimento e numa fase de crescimento propriamente dita que pode levar à protrusão da radícula. Assim, em *C. album*, GA₄₊₇ e etileno atuam como indutores da germinação; o crescimento resul

tante constitui o segundo sítio de ação hormonal, onde ácido abscísico inibe e GA_{4+7} , GA_3 , zeatina, cinetina e etileno antagonizam esta inibição. Em *C. anguria* pode estar ocorrendo algo semelhante com relação à atuação do CEPA e reguladores de crescimento; dessa maneira apenas o CEPA agiria na fase de indução da germinação, o que corresponderia às primeiras horas ou dias de embebição de *C. anguria*. Por outro lado, 6-BA e GA_3 começariam a agir numa etapa posterior, após vários dias de embebição sob luz fluorescente branca, num ambiente interno da semente ainda não totalmente caracterizado, mas que possivelmente envolva a população de fitocromo na forma Fve ou a taxa de ciclagem do fitocromo. Deve-se, por outro lado, ressaltar que o efeito relativamente lento do GA_3 e 6-BA não é provocado por deficiência de penetração desses reguladores no interior da semente, uma vez que CARDOSO (1982) mostrou que tanto GA_3 como 6-BA foram detectados nos extratos das sementes de *C. anguria* embebidas durante 24 horas em soluções desses reguladores. Com relação ao efeito da luz, KARSSSEN (1976) afirma que a forma ativa do fitocromo (Fve) tem efeito em ambas as fases da germinação de *Chenopodium album*; a indução requer um alto nível de Fve, enquanto que o crescimento da radícula requer uma quantidade menor de Fve. Em *C. anguria*, o aumento do conteúdo de Fve, induzido pela aplicação de 6 horas de luz vermelha após 24 horas de embebição sob luz fluorescente branca, não ampliou o efeito promotor do CEPA nem interagiu com 6-BA ou GA_3 . A aplicação do vermelho foi

feita após 24 horas, já que um trabalho anterior mostrou que dentro desse intervalo de tempo a luz vermelha é mais efetiva; aumentando-se o período de embebição prévia ocorre um gradativo decréscimo no efeito da luz vermelha (CARDOSO, 1982). Dessa maneira, parece que pelo menos durante as primeiras 48 horas desde o início da embebição, Fve e reguladores de crescimento (incluindo aqui o CEPA) parecem agir por caminhos diferentes na germinação de *C. anguria*. Dentro dessa linha, FELIPPE & LITJENS (1979) mostraram que em sementes de *Cucumis anguria*, o GA₃ foi inefetivo em reverter o efeito inibitório do vermelho extremo na germinação. Em sementes de alface, IKUMA & THIMANN (1963) determinaram que o GA₃ pode substituir a luz vermelha, embora seu efeito não seja revertido por vermelho extremo. Ainda em semente de alface, BURDETT & VIDAVER (1971) postularam que os fatores luz vermelha e etileno devem agir independentemente na promoção da germinação. DEDONDER *et al.* (1983) citam que, na germinação em escuro de sementes de *Kalanchoe*, ocorreu uma resposta sinérgica decorrente da aplicação de doses subpromotoras de V e GA₃, o que parece sugerir que esses fatores atuam por vias diferentes. Devido ao fato das sementes de *C. anguria* serem fotoblásticas negativas, e os experimentos de interação serem realizados sob luz branca, torna-se mais difícil testar a interação entre Fve e reguladores de crescimento, uma vez que a luz branca age sobre a população de fitocromo restabelecendo rapidamente o fotoequilíbrio entre Fv e Fve existente antes da aplica-

ção do período curto de vermelho, ou seja, no período de embebição prévia. De qualquer maneira, são necessários novos experimentos para se determinar o possível efeito da interação entre reguladores de crescimento, levando-se em conta principalmente o período de maior sensibilidade da semente a um determinado regulador, aplicado isoladamente.

O tegumento pode atuar como fator limitante da germinação de sementes de muitas espécies, como por exemplo em *Melochia corchorifolia*, na qual a escarificação mecânica da testa promove a germinação (EASTIN, 1983). Os mecanismos por meio dos quais o tegumento impõe a dormência são ainda pouco estudados, embora muitas evidências indiquem algumas possibilidades tais como: a) interferência na captação de água; b) interferência com trocas gasosas; c) fonte de inibidores químicos; d) restrição mecânica; e) barreira contra a saída de inibidores a partir do embrião; e f) modificação da qualidade da luz que atinge o embrião (BEWLEY & BLACK, 1982).

Em *C. anguria* observou-se que a escarificação mecânica do tegumento provocou alterações no comportamento germinativo das sementes, sendo mais efetiva quando realizada na região da micropila (por onde ocorre a protrusão da radícula). Sementes assim escarificadas perderam completamente seu fotoblastismo, germinando igualmente sob luz fluorescente branca e escuro. Resultados semelhantes foram obtidos por CORBINEAU & CÔME (1980) em sementes de *Oldenlandia corymbosa*. Escarificações realizadas na região lateral

ou na região oposta à micrôpila, embora não tenham apresentado germinação semelhante aos tratamentos de escuro e escarificação na região da micrôpila, promoveram a germinação em relação ao controle de luz branca. Por outro lado, LAGÔA (1983), trabalhando com sementes de *Ricinus communis* (fotoblástica negativa) observou que a escarificação na carúncula não alterou significativamente a resposta das sementes à luz, enquanto que escarificação na região oposta à carúncula eliminou o fotoblastismo das sementes. Essa autora também observou que a remoção total do tegumento causou os mais altos índices de germinação, tanto em luz fluorescente branca como em escuro. IKUMA & THIMANN (1963) observaram diferentes respostas de sementes de alface (cv. Grand Rapids) dependendo do local em que foram feitas as escarificações. Esses autores observaram também alguns casos de germinação anômala em sementes escarificadas. Em *C. anguria* ocorreram casos de germinação anômala (nesse caso, protrusão de parte do cotilédone através da região escarificada) quando foram feitas escarificações na região oposta à micrôpila e na região lateral (dados não apresentados). IKUMA & THIMANN (1963) discutem que, no caso de sementes de alface, o endosperma restringe mecanicamente o alongamento da radícula no escuro ou sob irradiação com vermelho extremo, e que esta restrição é de alguma maneira eliminada pela luz vermelha, ou em determinado grau pela injúria mecânica. Observou-se que a remoção do tegumento de alface causou pequena promoção na germinação em escuro, enquanto

que luz vermelha promoveu e vermelho extremo inibiu a germinação, tal como na semente intacta (IKUMA & THIMANN, 1963). Em *C. anguria* verificou-se também um efeito inibitório do vermelho extremo em comparação aos tratamentos sob luz fluorescente branca, considerando-se apenas as sementes escarificadas. Por outro lado, a escarificação na região da micrópila das sementes embebidas sob vermelho extremo causou uma germinação mais alta do que a das sementes não escarificadas mantidas sob esse mesmo tratamento luminoso, embora esse resultado não tenha sido constante. Dessa forma, mesmo estando escarificada, a semente de *C. anguria* tem sua germinação inibida por vermelho extremo em relação à luz branca, sugerindo a ação do sistema fitocromo. De qualquer maneira, não se deve descartar a possibilidade de que o tegumento esteja exercendo algum tipo de restrição ao crescimento do embrião, ou devido à presença de algum inibidor ou pelo seu efeito mecânico pura e simplesmente. Essa possibilidade é decorrente do fato de que, mesmo sob vermelho extremo, a escarificação na região da micrópila mostrou tendência a causar certa promoção da germinação em *C. anguria*. A protrusão da parte do cotilédone através do local escarificado, nas sementes mantidas sob luz fluorescente branca, também parece sugerir algum efeito do tegumento sobre o desenvolvimento do embrião.

Enquanto que o vermelho extremo inibiu a germinação mesmo nas sementes escarificadas, o efeito inibitório da luz azul em sementes de *C. anguria* foi parcialmente re-

vertido pelo tratamento de escarificação. Resultados semelhantes foram obtidos por TANNO (1983), em trabalho realizado com aquênios de *Laportea bulbífera* (fotoblásticos negativos). A germinação desses aquênios é inibida por luz azul e vermelho extremo contínuos. TANNO observou que o vermelho extremo inibiu igualmente a germinação tanto em aquênios intactos como em aquênios escarificados mecanicamente, enquanto que a luz azul apresentou efeito inibitório apenas em presença do tegumento. Esses resultados obtidos com sementes de *C. anguria*, juntamente com dados obtidos por outros autores (NORONHA *et al.*, 1978) com essa mesma espécie, parece sugerir que a luz azul atua por uma via diferente daquela do vermelho extremo, que possivelmente não envolve o pigmento fitocromo.

Tendo em vista o efeito inibitório do vermelho extremo sobre a germinação de sementes escarificadas, ao contrário do que ocorre com as sementes escarificadas mantidas sob luz branca, postulou-se que o tegumento da semente de *C. anguria* poderia atuar como um tipo de filtro para a luz branca, permitindo a incidência apenas de comprimentos de onda inibitórios sobre o embrião durante a embebição sob luz branca. Corroborando esta hipótese, MANCINELLI *et al.* (1967) observaram que o tegumento de sementes fotoblásticas negativas de tomate apresentam uma maior capacidade de transmissão do vermelho extremo do que de vermelho. Enquanto isso, TAYLORSON & HENDRICKS (1971) observaram que a porcentagem de transmissão de diferentes comprimentos de onda

através de tegumentos de sementes de *Amaranthus retroflexus*, aumentava quase que linearmente a partir da região do vermelho do espectro em direção ao infravermelho. Dessa maneira, o tegumento transmitia uma quantidade de vermelho extremo proporcionalmente maior em relação à quantidade de vermelho. Em tegumento de sementes de *C. anguria* observou-se uma característica semelhante, ou seja, uma maior transmissão de vermelho extremo do que de vermelho em tegumentos retirados de sementes embebidas. Assim, a embebição sob luz fluorescente branca manteria um valor de Fve no embrião abaixo do limiar necessário para induzir a germinação de *C. anguria*. As lâmpadas fluorescentes brancas utilizadas nas câmaras de crescimento, onde foram realizados os testes de germinação de *C. anguria*, apresentam um espectro de emissão amplo, verificando-se uma emissão considerável de comprimentos de onda da região do vermelho extremo (Figura 47). Portanto, uma grande proporção desse comprimento de onda estaria atravessando o tegumento e incidindo sobre o embrião e causando a inibição da germinação.

O sítio de fotopercepção nas sementes de *C. anguria* parece estar localizado no polo radicular, ou seja, na região da micrôpila, conforme sugeriram os experimentos com exposição do polo cotiledonar ou do polo radicular à luz fluorescente branca. Do mesmo modo, ESASHI *et al.* (1983), trabalhando com sementes de *Xanthium pennsylvanicum*, observaram que somente a irradiação do polo radicular era percebida pela semente, enquanto que irradiação do polo cotile-

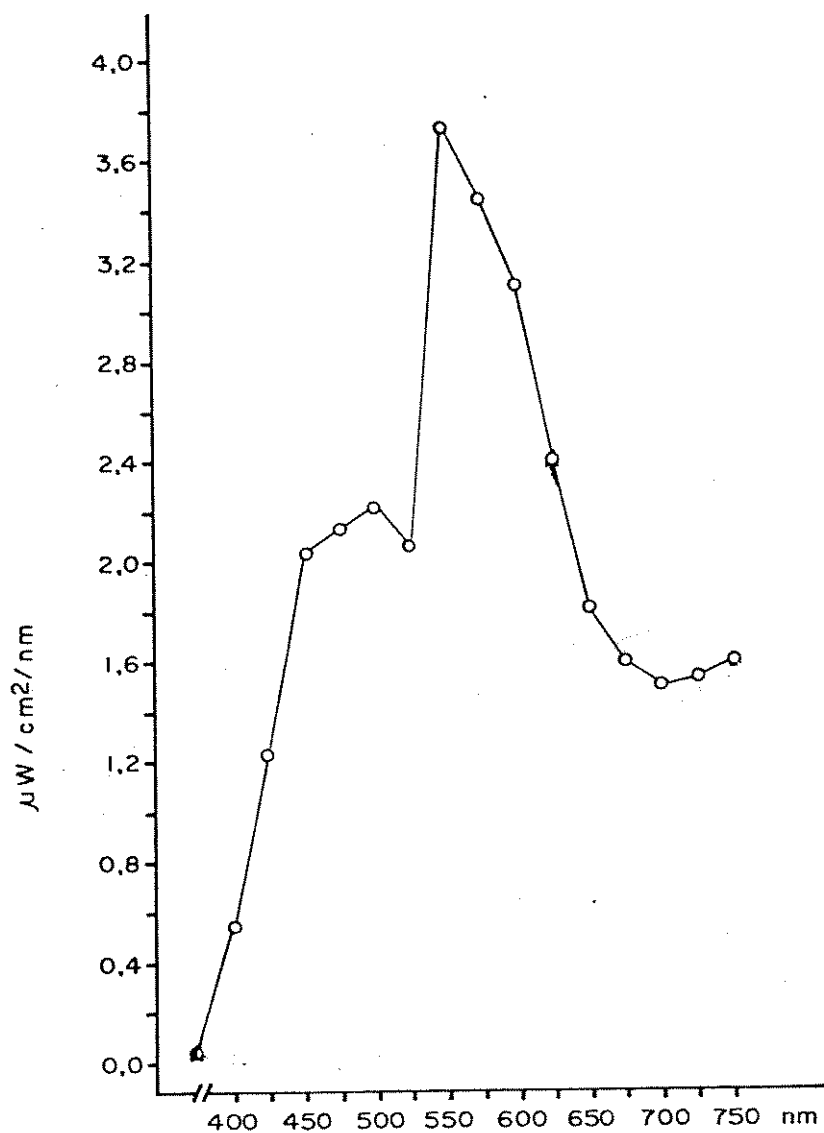


FIGURA 47. Espectro da luz fluorescente branca utilizada na germinação de *Cucumis anguria* (Adaptado de VÁLIO & JOLY, 1979).

donar não causava efeito sobre a germinação. Confirmando esses resultados, MALCOSTE *et al.* (1970), trabalhando com embriões isolados de sementes de abóbora, mostraram que havia um gradiente de concentração de fitocromo decrescendo a partir do eixo embrionário em direção aos cotilédones.

Foram feitos vários experimentos para se verificar o efeito das condições de luz durante a maturação e secagem das sementes de *C. anguria*. Maturação dos frutos de *C. anguria* na planta mãe sob dois diferentes fotoperíodos não alterou o comportamento germinativo das sementes provenientes desses frutos. Esse resultado é diferente daquele obtido com *Amaranthus retroflexus* (uma planta facultativa de dias curtos) cuja germinação é afetada pelas condições fotoperiódicas durante a maturação na planta mãe (KIGEL *et al.*, 1979). Por outro lado, GUTTERMAN & PORATH (1975) observaram que sementes de *Cucumis sativus* obtidas de frutos amadurecidos sob dias longos e dias curtos não mostraram diferença em relação à germinação final em escuro, embora a velocidade tenha sido ligeiramente maior nos tratamentos de dias curtos. Em *C. anguria*, considerada planta de dia curto para a floração, o tratamento de dias curtos durante a maturação dos frutos causou um ligeiro aumento na velocidade de germinação sob luz fluorescente branca, enquanto que no tratamento de escuro não houve diferença entre os lotes de dias curtos e dias longos. GUTTERMAN (1980) sugere que a influência do fotoperíodo em frutos de *Cucumis sativus* e *Cucumis prophetarum* não é mediada via fitocromo.

Em *C. anguria* fazem-se necessários novos experimentos para se concluir até que ponto a ação do fotoperíodo pode se manifestar no comportamento germinativo das sementes. Foi verificado também o efeito da aplicação da luz branca emitida por lâmpadas fluorescentes ou incandescentes durante a secagem das sementes. Essas sementes foram obtidas de frutos totalmente maduros, de plantas mantidas em canteiros sob condições naturais. Observou-se que as sementes secas sob luz fluorescente apresentaram germinação mais alta do que aquelas secas sob luz incandescente. A luz fluorescente tem máximo de energia na região do vermelho (é mais rica em vermelho), apresentando pouca energia acima de 700nm ou seja, contém pouco vermelho extremo (FELIPPE, 1979). Na lâmpada incandescente a maior proporção (até 90%) do fluxo total emitido está na região do infravermelho, com máximo a 1000nm (FELIPPE, 1979). Dessa maneira, a luz fluorescente durante a secagem de *C. anguria* é absorvida principalmente pelo fitocromo na forma Fv; então ocorre um desequilíbrio da reação $Fv \rightleftharpoons Fve$ em direção à formação de Fve, que é a forma fisiologicamente ativa do fitocromo, o que conduz à germinação. FRITTS & LOY (1981), trabalhando com sementes de melancia, observaram que a aplicação de luzes fluorescente, incandescente, vermelho ou vermelho extremo durante a secagem das sementes não afetou consideravelmente a germinação, embora as sementes secas sob luz vermelha e luz fluorescente branca germinassem mais rapidamente do que aquelas secas sob luz incandescente, vermelho extremo

e escuro. MC CULLOUGH & SHROPSHIRE (1970) testaram o efeito de luz fluorescente e incandescente, não durante a secagem, mas sim durante a maturação do fruto na planta mãe. Esse trabalho foi feito com sementes fotoblásticas positivas de *Arabidopsis thaliana* e os autores observaram que a germinação em escuro de sementes obtidas de plantas crescidas sob lâmpadas fluorescentes foi 45% contra 0% das sementes obtidas de plantas crescidas sob luz incandescente; mostrou-se também que a secagem sob comprimentos de onda maiores que 700nm produziram sementes mais sensíveis a subsequente indução por vermelho, embora esta sensibilidade tenha se alterado durante a estocagem. Em *C. anguria*, embora a luz incandescente aplicada durante a secagem tenha influenciado a germinação, não houve efeito da aplicação desse tipo de luz durante a maturação do fruto na planta mãe, conforme resultados de um experimento não mostrado aqui. Um trabalho de SHROPSHIRE (1973) com sementes de *Arabidopsis thaliana* mostrou que sementes obtidas de plantas crescidas sob razão alta de V/VE apresentaram germinação mais alta em escuro do que sementes de plantas crescidas sob baixa razão V/VE. Por outro lado, de acordo com SHROPSHIRE (1973), não há necessidade de experimentos em que a planta toda seja mantida sob determinados comprimentos de onda, uma vez que o sítio de percepção da luz está localizado na semente em maturação, não havendo transmissão de algum fator controlador a partir de outras partes da planta.

Verificou-se também o efeito de luz vermelha e verde

melho extremo durante a secagem de sementes recém-coletadas, sobre a germinação sob luz fluorescente branca e escuro. Na germinação sob luz fluorescente branca não houve diferença entre os três tratamentos de secagem, enquanto que na germinação em escuro as sementes secas sob vermelho germinaram mais rapidamente, sendo a germinação final igual entre os tratamentos de vermelho e vermelho extremo. A primeira conclusão que pode ser retirada deste experimento é que o fotoblastismo de *C. anguria* não foi modificado pelas condições de luz durante a secagem das sementes. As possíveis alterações na população de fitocromo estabelecidas pelos diferentes tipos de luz no período de secagem, foram de alguma maneira eliminadas pela embebição sob luz fluorescente branca, ao contrário do que ocorreu na germinação em escuro. Deve-se ressaltar aqui que experimentos dessa natureza são mais elucidativos numa semente fotoblástica positiva, que pode ser colocada em escuro após os tratamentos luminosos preliminares; por outro lado, uma semente fotoblástica negativa deve ser transferida para luz branca (que é a condição não indutora da germinação), a qual age prontamente sobre as populações de Fv e Fve, estabelecendo um determinado equilíbrio. KENDRICK & RUSSELL (1975) observaram que sementes fotoblásticas positivas de alface tratadas com luz vermelha durante a secagem, germinaram em escuro, enquanto que sementes tratadas com vermelho extremo requerem uma curta exposição à luz vermelha após o período de embebição para estimular a germinação. KENDRICK &

RUSSELL (1975) afirmaram que a secagem das sementes sob vermelho deve ser suficientemente rápida para prevenir a reversão em escuro. Esses autores concluíram que o lote de sementes de alface secas sob vermelho constante contém uma menor proporção do fitocromo total como Fve no estado não hidratado. Assim, a secagem sob vermelho contínuo produz uma porção de fitocromo bloqueada como intermediários, possivelmente meta-Rb. Este intermediário forma Fve durante a embebição e provoca a germinação em escuro (KENDRICK & RUSSELL, 1975). Em *C. anguria*, as sementes recém extraídas dos frutos contém aproximadamente 30% de água. Segundo TAKAKI *et al.* (1981) é necessário que haja 33% de água na semente de *Cucumis anguria* para que o fitocromo total pré existente seja totalmente fotoconversível. Durante o processo de secagem de *C. anguria* ocorre um decréscimo de aproximadamente 22% no conteúdo de água da semente, de modo que, nesse processo, a qualidade da luz pode induzir mudanças na população de fitocromo. A luz vermelha deve provocar um acúmulo de intermediários meta-Rb, o qual se converte em Fve durante a embebição em escuro, provocando assim a germinação. Isso explica a germinação mais rápida em escuro das sementes secas sob luz vermelha. O vermelho extremo retardou a germinação em escuro, mas a porcentagem final foi semelhante ao tratamento de vermelho. GUTTERMAN & PORATH (1975) testaram o efeito da luz durante o armazenamento de frutos de *Cucumis prophetarum* e *Cucumis sativus* (cujas sementes mostram fotoblastismo negativo), sobre a

germinação. O armazenamento de frutos sob luz vermelha induziu germinação mais rápida em escuro do que de frutos armazenados sob vermelho extremo, embora o conteúdo de fitocromo total tenha sido muito maior em sementes derivadas de frutos iluminados com vermelho extremo. Contudo, observaram que o fitocromo dos frutos irradiados com vermelho extremo estava praticamente todo sob a forma inativa (Fv), enquanto que o fitocromo dos frutos irradiados com vermelho continha uma grande proporção de Fve (53-93%). A irradiação com vermelho extremo durante a secagem de sementes deve produzir uma quantidade relativamente alta do intermediário meta-Fa (BARTLEY & FRANKLAND, 1985). Este intermediário, que absorve no vermelho, pode ser convertido de volta para Fve (KENDRICK & FRANKLAND, 1983). A embebição em escuro faz com que predominem as reações que levam à síntese de Fve a partir de compostos intermediários, os quais tinham ficado "imobilizados" durante o processo de secagem. É possível também, como discutem BARTLEY & FRANKLAND (1985), que alguma quantidade de Fve possa ser formada a partir de meta-Rb imobilizado durante o processo de maturação na planta mãe, o que poderia de algum modo mascarar o efeito da remoção de Fve devido à irradiação com vermelho extremo durante a secagem das sementes. Os resultados obtidos com secagem sob vermelho extremo, dessa forma, contrariam um pouco o que se esperaria de uma semente com quantidades significativas de Fve, uma vez que esse tipo de irradiação provocaria um acúmulo de intermediários

que levariam à formação de Fv durante a hidratação (BARTLEY & FRANKLAND, 1984). De um modo geral, vermelho extremo e vermelho causaram respostas semelhantes em *C. anguria*, tanto na germinação em escuro como na germinação sob luz fluorescente branca. A irradiação com vermelho extremo durante a secagem parece simplesmente ter atrasado o aparecimento de Fve em escuro, em relação ao tratamento de luz vermelha, retardando assim a germinação em escuro. Por outro lado, a secagem sob luz fluorescente branca causou uma inibição da germinação em escuro, em relação aos lotes secos sob vermelho e vermelho extremo. Uma possível explicação para isso seria o maior decréscimo no conteúdo de fitocromo total, por meio do processo de destruição, causado pela maior intensidade luminosa durante a secagem sob luz fluorescente branca. Na germinação sob luz fluorescente branca não houve diferença entre os três tratamentos de secagem, e as porcentagens de germinação foram menores que as dos tratamentos de escuro. Isso ocorreu devido à menor quantidade de Fve mantida sob luz branca do que em escuro, provavelmente por incremento dos processos de destruição ou reversão.

Comparando-se o efeito das temperaturas de 25^oC e 30^oC na germinação em escuro dos lotes de sementes secas sob vermelho extremo, luz vermelha e luz fluorescente branca, observou-se apenas um aumento da velocidade de germinação nos tratamentos de secagem, sob vermelho e vermelho extremo, à temperatura de 30^oC. Temperatura alta durante a

germinação de sementes fotoblásticas negativas de tomate, parece provocar uma diminuição da quantidade limiar de Fve capaz de induzir germinação (MANCINELLI *et al.*, 1967). A temperatura de 30°C também poderia provocar um aumento da síntese de Fve a partir dos intermediários, acelerando assim a resposta germinativa das sementes de *C. anguria*.

O acompanhamento de alguns parâmetros fisiológicos durante a maturação da semente revelou alguns dados interessantes. A maturidade fisiológica de sementes de *C. anguria* ocorreu no intervalo entre o 18º e o 25º dia desde a polinização. Em dois dos ensaios verificou-se um pico de germinação ao final do período de maturação, o que concorda com as observações de SANKHLA & CHAWAN (1980) segundo as quais a máxima capacidade de germinação de sementes de feijão ocorre na maturidade fisiológica. FIGUEIREDO (1984), por outro lado, observou que em sementes de feijão cultivar Goiano Precoce a capacidade de germinação aumenta à medida em que a semente avança em direção aos estádios finais de desenvolvimento. Este pico de germinação ao final do processo de maturação poderia ter alguma relação com o nível de inibidores endógenos. MORRIS (1978) observou que embriões de feijão isolados 12 a 15 dias após a polinização cresciam facilmente em meio de cultura sem necessidade de substâncias de crescimento; por outro lado, embriões isolados 20 a 30 dias após a polinização permaneceram dormentes no meio de cultura, mas cresciam se removidos e lavados com água. Assim, verificou-se que as sementes produ-

ziam um inibidor e que os embriões transferidos antes do acúmulo desse inibidor cresciam facilmente, enquanto que aqueles transferidos para o meio de cultura após o acúmulo do inibidor na semente somente cresciam se o meio fosse suplementado com cinetina (MORRIS, 1978). BLACK (1980) afirma que ao final do período de maturação da semente, quando começa a dormência do embrião, ocorre um grande aumento no nível de inibidores endógenos. Baseando-se nisso, é possível afirmar que nos experimentos em questão com *C.anguria*, o pico de germinação poderia corresponder a uma fase em que as sementes adquirem a capacidade de germinarem, ao término do processo de maturação, mas na qual ainda não estão sujeitas à ação de inibidores produzidos a nível das próprias sementes ou do fruto. Após esse breve intervalo de tempo, a germinação passa a ser inibida pelo acúmulo de substâncias inibidoras, embora fisiologicamente a semente esteja apta a germinar. Num outro experimento, o pico de germinação ocorreu mais tardiamente, sendo que nesse caso outros fatores podem estar envolvidos influenciando o experimento, como por exemplo a época de plantio e as condições ambientais reinantes no decorrer do experimento. Apoiando essa possibilidade, um trabalho de CHADOEUF-HANNEL & BARRALIS (1983) mostrou que há uma influência da época da colheita sobre a dormência de sementes de *Amaranthus retroflexus*, em plantas crescidas em condições naturais. Em todo caso, é interessante fazer um estudo mais detalhado sobre a possível evolução do conteúdo de inibidores durante

o desenvolvimento da semente de *C. anguria* e determinar sua relação com a capacidade de germinação. Nesse experimento acompanhou-se ainda a evolução de etileno endógeno durante o processo de maturação. Tendo em vista a variação relativamente grande entre as amostragens utilizadas, não foi possível demonstrar uma variação significativa na produção de etileno endógeno pelas sementes ao longo do processo de maturação. A produção desse hormônio durante o desenvolvimento de *C. anguria* ocorreu à semelhança da produção em sementes de soja em processo de maturação, nas quais se verificou o aparecimento de substâncias com atividade auxínica, giberelínica e citocinínica (AUNG *et al.*, 1982), embora na literatura ainda persistam dúvidas a respeito da função dessas substâncias nas sementes em desenvolvimento. Foi feito um teste em *C. anguria*, não apresentado aqui, que mostrou que a liberação de etileno foi maior em sementes recém extraídas do fruto do que em sementes submetidas a secagem antes da dosagem de etileno. FIGUEIREDO (1984) também observou diferenças na atividade giberelínica de sementes imaturas de feijão recém colhidas e sementes secas, tendo sido maior a atividade em sementes recém colhidas. Faz-se necessário estudos sobre o metabolismo e função do etileno em sementes imaturas de *C. anguria*, todavia parece que esse etileno não tem relação com a capacidade de germinação das sementes.

A aplicação de vermelho, vermelho extremo e escuro durante o desenvolvimento do fruto na planta mãe, não afe-

tou significativamente a germinação das sementes provenientes desses frutos. Assim, os tratamentos realizados não alteraram de um modo geral o balanço entre Fv e Fve nas sementes de *C. anguria* ao término do período de amadurecimento dos frutos. A secagem foi realizada em condições de escuro para se evitar interferência da luz branca sobre a população de fitocromo, embora não se possa negar que tenham havido mudanças significativas no balanço de fitocromo durante o período de secagem. Os resultados aqui obtidos foram diferentes daqueles obtidos por LADEIRA, TAKAKI e GUARDIA (comunicação pessoal), que trabalharam com sementes fotoblásticas positivas de *Plantago tomentosa*; esses autores observaram que a germinação foi totalmente suprimida quando os frutos foram maturados sob vermelho extremo, ao contrário dos tratamentos de luz natural e luz vermelha aplicados durante a maturação. Em *C. anguria* os frutos são carnosos, não se tendo nenhuma indicação do tipo de irradiação que atinge as sementes, embora um trabalho de GUTTERMAN & PORATH (1975) tenha mostrado a influência do tipo de luz durante o armazenamento de frutos de duas espécies de Cucurbitaceae sobre a posterior germinação das sementes. Em sementes fotoblásticas positivas de alface deve ocorrer uma maior proporção de Fv ou intermediários da via Fve → Fv, ao final do período de maturação da semente na planta mãe. A secagem dessas sementes sob luz vermelha deve ser suficientemente rápida para prevenir a reversão do Fve, ao contrário do que ocorre em sementes maturadas lentamente na plan

ta mãe (onde a reversão do Fve deve ocorrer mais intensamente) (KENDRICK & RUSSELL, 1975). Por outro lado, numa semente fotoblástica negativa, ao final de um período de maturação natural na planta mãe, a semente deve conter uma quantidade relativamente alta de Fve ou de intermediários que produzem Fve durante a hidratação. FRITZ & LOY (1981) discutem que a qualidade da luz durante a secagem da semente de melancia não afeta consideravelmente a germinação porque está ocorrendo continuamente síntese de Fve em escuro. Caso estivesse ocorrendo essa síntese de Fve em escuro em *C. anguria*, esperar-se-ia que sementes de frutos cobertos com plástico preto contivessem maior nível de Fve, mas isso não ficou comprovado experimentalmente.

Trabalhos anteriores tem mostrado que as sementes de *C. anguria* são fotoblásticas negativas, sendo a germinação inibida pelos comprimentos de onda azul e vermelho extremo, e promovida por escuro e luz vermelha (NORONHA *et al.*, 1971;1978). O vermelho extremo provocou uma inibição mais alta da germinação quanto maior foi o período de irradiação das sementes de *C. anguria*. Esse tipo de comportamento, ou seja, a necessidade de irradiações prolongadas com altas taxas de fluência, é característico das respostas de alta irradiância da fotomorfogênese (MANCINELLI & RABINO, 1978). Sementes de *C. anguria* apresentam resposta de alta irradiância, assim como outras sementes fotoblásticas negativas. Em sementes fotoblásticas negativas de *Xanthium pennsylvanicum*, a aplicação de vermelho extre

mo contínuo após 12 horas de embebição em escuro causou uma pequena inibição da germinação, sendo a curva de germinação igual ao lote irradiado com luz azul (ESASHI *et al.*, 1983). Por outro lado LAGÔA (1983), trabalhando com sementes de mamona (fotoblásticas negativas) observou que a curva de germinação sob vermelho extremo foi semelhante às curvas de germinação sob vermelho e escuro. Assim, mesmo a aplicação prolongada de vermelho extremo não inibiu a germinação de sementes fotoblásticas negativas de mamona. A necessidade de períodos longos de vermelho extremo em sementes fotoblásticas negativas parece estar relacionada ao comportamento do fitocromo nessas sementes. SPRUIT & MANCINELLI (1969) observaram que em condições de escuro ocorria o aparecimento de Fve em sementes de pepino durante a embebição. Na ocasião isso foi explicado como um processo de "reversão inversa" do fitocromo, ou seja, a síntese de Fve a partir de Fv em escuro. Trabalhos mais recentes, entretanto, sugerem que essa síntese de Fve em escuro ocorre a partir de intermediários da via $Fv \rightarrow Fve$, produto da constante ciclagem do fitocromo produzida pela irradiação contínua (KENDRICK & RUSSELL, 1975; KENDRICK, 1976; KENDRICK & FRANKLAND, 1983).

Em *C. anguria*, aumentando-se o período prévio de embebição em escuro ocorre uma gradativa diminuição do efeito inibitório do vermelho extremo sobre a germinação. Esses resultados foram semelhantes àqueles obtidos por NORONHA *et al.* (1978) em sementes de *C. anguria*, embora

esses autores tenham aplicado vermelho extremo por 72 horas, após 6, 12, 18 e 72 horas de escuro. Observaram ainda diferenças entre os tratamentos de 6, 12 e 18 horas de escuro, ao contrário dos resultados aqui obtidos, que mostraram que não houve diferença entre os tratamentos prévios de 3, 6, 12 e 24 horas de escuro. KENDRICK & FRANKLAND (1969), trabalhando com sementes de *Amaranthus caudatus*, observaram que a irradiação com vermelho extremo por 4 horas foi mais efetiva em inibir a germinação quando aplicada após 3, 6 e 9 horas de escuro, sendo que a medida em que se aumentou o período de escuro antes do vermelho extremo, menor foi o efeito inibitório. Em *C. anguria*, o vermelho extremo é mais efetivo quando aplicado dentro das primeiras horas de embebição. Aumentando-se o período prévio de escuro, aumenta-se a quantidade e o período de ação do Fve, o qual deve estar sendo sintetizado continuamente a partir de meta-Rb. Em consequência disso tem-se a indução da germinação antes da ação do vermelho extremo e em função disso a protrusão da radícula.

Com relação à aplicação de comprimentos de onda vermelho e vermelho extremo de banda estreita (660 e 730 nm, respectivamente, com desvio de aproximadamente 3 nm), o vermelho extremo causou uma inibição da taxa de germinação em relação aos controles de escuro. Por outro lado, o comprimento de onda de 660nm praticamente não teve efeito algum sobre a germinação sob luz fluorescente branca. Dessa maneira, parece que a necessidade de uma irradiação

prolongada ocorre mais no tratamento com luz vermelha do que no tratamento com vermelho extremo. Isso ocorre provavelmente devido à ação da luz branca (que segue o tratamento de vermelho) sobre o Fve produzido pela irradiação com vermelho. A luz branca deve provocar, como já foi dito, uma redução na quantidade de Fve abaixo do limiar necessário para provocar a indução da germinação. Assim a luz vermelha deve sempre ser dada por um período de tempo suficientemente longo para induzir a germinação. CARDOSO (1982), trabalhando com luz vermelha de banda larga, mostrou que em *C. anguria* é necessário um período de irradiação com vermelho entre 12 e 24 horas para que ocorra a indução da germinação. O vermelho extremo parece ser relativamente mais efetivo do que o vermelho, devido à reversão do efeito do vermelho extremo pelo escuro ser mais lenta do que a reversão do efeito do vermelho pela luz fluorescente branca. Dentro dessa linha, MALCOSTE *et al.* (1972) observaram que a irradiação de cotilédones de rabanete com vermelho extremo provocou um decréscimo imediato da concentração de fitocromo total, sendo que a transferência para escuro provocou novo aumento da quantidade de fitocromo detectável. Por outro lado, a irradiação dos cotilédones com vermelho provocou uma queda mais acentuada da quantidade de fitocromo, do que após irradiação com vermelho extremo.

Procurou-se também verificar se a embebição prolongada de sementes de *C. anguria* sob comprimentos de on-

da inibidores da germinação induzia dormência secundária. Com relação a isso, observou-se que sementes de alface (fotoblásticas positivas) tornaram-se dormentes quando em bebidas em escuro por sete dias a 25⁰C, sendo que a dormência podia ser quebrada por irradiação contínua ou intermitente com luz vermelha (GEORGHIOU & THANOS, 1983). Em *C. anguria* observou-se que o efeito inibitório da luz azul durante os primeiros sete dias de hidratação foi completamente revertido pelo escuro, assim como o efeito da luz branca. Por outro lado, nesse experimento, o escuro não reverteu o efeito do vermelho extremo. Resultados semelhantes foram obtidos por NORONHA *et al.* (1978), que observaram que o escuro reverteu facilmente o efeito inibitório da luz azul sobre a germinação de *C. anguria*, embora a embebição sob azul tenha sido feita por um período de tempo menor. KENDRICK *et al.* (1969) observaram que em sementes de *Amaranthus caudatus* a luz azul contínua (inibidora da germinação dessa semente) mantém uma proporção de F_{ve}/F_{total} intermediária entre as proporções mantidas sob luz vermelha (alta proporção F_{ve}/F_{total}) e sob vermelho extremo (baixa proporção F_{ve}/F_{total}). Isso pode explicar em parte o menor efeito do azul em provocar dormência de *C. anguria*, embora seja difícil explicar o efeito da luz azul somente em termos de fitocromo.

Um resultado interessante foi que a luz fluorescente branca reverteu parcialmente o efeito do vermelho extremo, causando uma germinação ainda mais alta do que o

tratamento sob luz fluorescente branca contínua. Assim, o vermelho extremo deve ter modificado o fotoequilíbrio entre $F_v \rightleftharpoons F_{ve}$ de tal maneira, ou seja, causando um aumento da quantidade de F_v , que a semente passou a se comportar (pelo menos parcialmente) como fotoblástica positiva, germinando sob a luz fluorescente branca. Todavia, há que se considerar o atraso que esse tratamento provocou na germinação e o fato de que a promoção da germinação ocorreu somente até o 5º dia, após a transferência para a luz branca.

O efeito da luz sobre a dormência de sementes é em geral fortemente dependente da temperatura. Isso é compreensível uma vez que o fitocromo sofre algumas reações térmicas, tais como a reversão em escuro e possivelmente destruição. A temperatura também pode influenciar outros processos relacionados à ação do F_{ve} (BEWLEY & BLACK, 1982). Em alguns casos, a quebra de dormência pela luz é aumentada em função de um aumento da temperatura; em outra categoria de sementes, por outro lado, uma necessidade de luz é imposta pelo aumento da temperatura durante o período de hidratação. CORBINEAU & CÔME (1982), por sua vez, observaram que em sementes de *Oldenlandia corymbosa* a luz branca inibe a germinação em temperaturas abaixo de 35°C, sendo a inibição maior à medida que se diminui a temperatura. Todavia, o modo pelo qual a temperatura age ainda é motivo de especulações, em se tratando de sementes sensíveis à luz. Alguns trabalhos com *Amaranthus* sugere

rem que o estado das membranas celulares é severamente mo dificado pela ação de temperaturas altas, dificultando as sim a ligação do Fve à membrana (BEWLEY & BLACK, 1982).

Em sementes de *C. anguria* embebidas em diferentes temperaturas constantes, os maiores índices de germinação ocorreram a 25 e 30°C. Temperaturas de 15 e 20°C atrasaram a germinação em escuro, sendo que a 15°C o efeito foi maior. FELIPPE *et al.* (1983) testaram o efeito de diversas temperaturas constantes sobre a germinação de *Hyptis suaveolens*, observando que a 15°C houve um atraso da germinação, sendo esta totalmente suprimida à temperatura de 5 e 45°C, do mesmo modo que em *C. anguria*. Em *C. anguria*, as temperaturas mais altas tendem a inibir mais drasticamente a germinação do que as temperaturas mais baixas, em relação à temperatura considerada ótima para a germinação (25°C). RILEY (1981), trabalhando com cariopses de milho, observou que a temperatura ótima para a germinação de diversas cultivares esteve entre 26 e 29°C; a 28°C a protrusão radicular inicia-se após 24-36 horas, tornando-se mais lenta em temperaturas mais baixas. Nesse trabalho RILEY observou também que temperaturas mais altas (36-40°C) reduziram drasticamente a germinação, enquanto que a aplicação de temperatura de 41°C pelo período de dois a quatro dias reduziu acentuadamente a viabilidade das cariopses. CORBINEAU & CÔME (1980) e FELIPPE *et al.* (1983) trabalhando respectivamente com sementes de *Oldenlandia corymbosa* e *Hyptis suaveolens*, observaram que incubação à temperatu

ra de 45°C ou acima provocava a morte das sementes. Em *C. anguria* observou-se também que a aplicação da temperatura de 40 e 45°C por período prolongado reduziu acentuadamente a viabilidade das sementes, enquanto que as temperaturas de 5, 10 e 35°C tiveram seu efeito inibitório completamente revertido pela temperatura de 25°C.

O fotoblastismo negativo de *C. anguria* manteve-se às temperaturas de 15, 20, 25, 30 e 35°C. Entretanto, à temperatura de 40°C, a germinação sob luz fluorescente branca e a germinação em escuro foram semelhantes. Esses resultados foram diferentes dos resultados obtidos por NORONHA *et al.* (1971), os quais observaram que a 15 e 35°C não houve diferença entre os tratamentos de luz branca e escuro sobre a germinação de sementes de *C. anguria*.

FORSYTH & VAN STADEN (1983), trabalhando com sementes de *Tagetes minuta*, observaram uma menor fotossensibilidade das sementes em temperatura acima da temperatura considerada ótima para a germinação dessa espécie.

A maior restrição à germinação imposta pelas temperaturas altas (isto é, acima da temperatura ótima para cada espécie) pode estar relacionada a inúmeros fatores tais como alterações em algumas reações do fitocromo, alterações na estrutura da membrana ou modificações no metabolismo geral da semente. Em *C. anguria* fazem-se necessários trabalhos mais aprofundados a fim de se obter respostas mais positivas com relação ao efeito de temperaturas constantes sobre as reações do fitocromo e metabolismo do

etileno na semente, uma vez que CARDOSO & FELIPPE (1983), sugerem que o etileno possa estar envolvido na germinação de *C. anguria*. Uma hipótese que não pode ser descartada é a ação da temperatura sobre a produção ou(e) ação do etileno nas sementes. Para se testar isso, seriam necessários novos experimentos para verificar o efeito do etileno em reverter o efeito inibitório de temperaturas altas ou baixas, assim como a dosagem de etileno produzido pelas sementes nessas temperaturas. Com relação a isso, BURDETT (1972), trabalhando com sementes de alface, sugere que a inibição da germinação causada por um tratamento prévio com temperatura alta (acima da temperatura ótima para a germinação) é devida à restrição da capacidade de síntese de etileno pelas sementes.

Em *C. anguria* a embebição prévia em temperatura baixa (8°C) e alta (40°C) não alterou a resposta das sementes à luz fluorescente branca e ao escuro após transferência para a temperatura de 25°C , com relação à germinação final. Por outro lado, ocorreu um pequeno adiantamento no início da germinação tanto sob luz branca como em escuro no lote de sementes previamente embebidas a 8°C . Além disso, a germinação a 25°C em escuro do lote previamente embebido a 8°C foi mais rápida do que a do lote previamente embebido a 40°C . Esse pequeno efeito da temperatura baixa poderia estar relacionado a alterações no equilíbrio e na dinâmica do fitocromo mantida sob essas condições. Por exemplo, WALL *et al.* (1984) observaram diferenças grandes nas reações de escuro nas temperaturas de 10

e 25°C; a 10°C, tanto a taxa de síntese como a de destruição do Fve foi muito mais baixa do que a 25°C, em cotilédones de mostarda.

Diversos trabalhos tem mostrado o efeito promotor de períodos curtos de temperatura alta ou baixa, sobre a germinação de sementes fotossensíveis (GAMBI, 1966; ROBERTS & NEILSON, 1982; SOLANGE *et al.*, 1983; TAKAKI & ZAIA, 1984). Por outro lado, tratamentos desse tipo não tiveram efeito sobre a germinação final de sementes de *C. anguria*. Esses resultados foram diferentes daqueles obtidos por FELIPPE (1980) que mostrou que choque de 0°C promoveu a germinação de *C. anguria*. LAGÔA (1983), por sua vez, observou que choques de 10°C e 40°C não tiveram efeito sobre a germinação das sementes fotoblásticas negativas de *Ricinus communis*. Assim parece que as temperaturas de 0, 5 ou 40°C, pelo menos nas condições em que foram feitos os experimentos, não modificaram a sensibilidade das sementes ao Fve, não alterando assim a resposta das sementes à luz fluorescente branca, a 25°C. Por outro lado, possíveis efeitos dos tratamentos de temperatura alta ou baixa sobre os teores de Fve nas sementes de *C. anguria* devem ter sido eliminados após transferência para luz branca. Mesmo a aplicação de um período de 6 horas de luz vermelha em seguida a um tratamento de 0°C não causou qualquer efeito sobre a germinação. Esses resultados sugerem que a embebição prolongada ou a aplicação de períodos curtos de temperatura baixa tem seu possível efeito sobre o fitocromo da semente

prontamente revertido pela luz branca. O efeito promotor de choque de 0°C relatado por FELIPPE (1980) em sementes de *C. anguria* pode ser devido a outros fatores que não envolvam necessariamente modificações na população de fitocromo. O mesmo parece se aplicar para o tratamento com temperatura alta. Dentro dessa linha, um trabalho recente de TAKAKI *et al.* (1985) com sementes de *Rumex obtusifolius*, mostra que não há mudança detectável no nível de Fve endógeno como resultado de um tratamento de temperatura alta (que promove a germinação de *Rumex* em escuro), assim como o tratamento de temperatura alta não aumenta a sensibilidade das sementes a um determinado nível de Fve.

Considerando-se o efeito do vermelho extremo sobre a germinação de *C. anguria*, procurou-se verificar se temperaturas acima de 25°C tem algum efeito na reversão do efeito inibitório desse tratamento por escuro ou luz vermelha, uma vez que a maioria dos ensaios anteriores foram realizados à temperatura de 25°C. NORONHA *et al.* (1978), trabalhando com temperatura constante de 25°C, mostraram que a luz vermelha foi mais efetiva do que o escuro em reverter o efeito do vermelho extremo. BEWLEY & BLACK (1982) afirmam que sementes fotoblásticas negativas que sofrem uma embebição prolongada sob vermelho extremo não germinam quando retornadas para o escuro. A razão disso seria uma queda na concentração de Fve nessas sementes, estabelecendo proporções de Fve/Ftotal com valores entre 0,02 - 0,03; assim, quando cessa a irradiação com vermelho

extremo, a baixa proporção F_{ve}/F_{total} impede a germinação a menos que ocorra uma irradiação com luz vermelha ao final do tratamento com vermelho extremo. Entretanto, quando se analisa a germinação de *C. anguria*, essa afirmação não pode ser feita tão categoricamente. NORONHA *et al.* (1978) observaram que o escuro reverteu prontamente o efeito de um período de 48 horas de vermelho extremo aplicado desde o início da embebição de *C. anguria*.

A necessidade de períodos longos de vermelho extremo parece indicar o aparecimento de F_{ve} em escuro durante um longo período de tempo, em sementes hidratadas (KENDRICK & FRANKLAND, 1983). Uma possível explicação para isso seria que o fitocromo na semente não está totalmente hidratado, sendo que após a transferência das sementes do vermelho extremo para o escuro ocorreria a formação de F_{ve} a partir de intermediários (KENDRICK & FRANKLAND, 1983). O aparecimento de fitocromo em escuro foi analisado por MALCOSTE *et al.* (1972), que observaram esse fato em cotilédones de rabanete após irradiação com períodos de até 36 horas de vermelho extremo. Observou-se aqui que o escuro promoveu a germinação de *C. anguria* após três dias de embebição sob vermelho extremo, à temperatura de 25°C. Aumentando o período de embebição prévia sob vermelho extremo para sete e quatorze dias, ocorreu uma diminuição do efeito do escuro a 25°C, embora ainda tenha ocorrido a germinação de uma pequena parte das sementes. Essa resposta foi modificada aumentando-se a temperatura

de escuro para 28 e 33^oC. A 28^oC em escuro houve uma diminuição do efeito do vermelho extremo aplicado previamente por sete dias, sendo que a 33^oC o efeito dos tratamentos de três e sete dias de vermelho extremo foram iguais ao controle de escuro constante. Também pode-se afirmar que a germinação em escuro após três dias de vermelho extremo foi igual para as três temperaturas; a germinação após sete dias de vermelho extremo foi mais alta às temperaturas de 28 e 33^oC do que a 25^oC; e a germinação em escuro após quatorze dias de vermelho extremo foi inibida às temperaturas de 28 e 33^oC em relação à temperatura de 25^oC. Por outro lado, observou-se um decrêscimo da germinação em escuro à medida em que se aumentou a temperatura, no lote de sementes não submetido a irradiação prévia com vermelho extremo. KENDRICK & FRANKLAND (1969), trabalhando com sementes de *Amaranthus caudatus* (fotoblásticas negativas), observaram que a resposta das sementes à irradiação com vermelho extremo contínuo é dependente da temperatura: em temperaturas de 25^oC ou abaixo há uma germinação muito pequena, enquanto que acima de 25^oC o efeito inibitório decresce, não ocorrendo diferença entre o tratamento com vermelho extremo e o controle de escuro à temperatura de 30^oC. TAYLORSON & HENDRICKS (1971) relataram que a temperatura durante a embebição afetou a resposta de sementes de *Amaranthus retroflexus* ao vermelho extremo aplicado posteriormente, o que levou esses autores a concluírem que a taxa de síntese de fitocromo foi aumentada com o au

mento da temperatura. Em *C. anguria*, ao contrário do que ocorreu com os tratamentos prévios de três e sete dias, a aplicação de quatorze dias de vermelho extremo causou um maior efeito inibitório quando as sementes foram transferidas para as temperaturas de 28 e 33^oC em escuro. YANIV & MANCINELLI (1967) e MANCINELLI *et al.*, 1967, trabalhando com sementes fotoblásticas negativas de tomate e analisando as relações entre luz e temperatura, concluíram que a quantidade de Fve requerida para induzir uma determinada porcentagem de germinação decresceu com o aumento da temperatura. Essa conclusão poderia ser aplicada no caso de *C. anguria* para o tratamento prévio de sete dias de vermelho extremo, mas não para os tratamentos de três e quatorze dias. Nesse caso, como afirmam WULFF & BRICEÑO (1976) em seu trabalho, a temperatura poderia estar afetando não só reações do fitocromo dependentes da temperatura (como destruição ou reversão) como também as reações controladas pelo fitocromo. WULFF & BRICEÑO (1976) concluem que a menor necessidade de luz para a germinação de sementes de *Ludwigia octovalis* em temperatura alta (40^oC) ocorre em função de uma promoção da taxa de reações promotoras da germinação, de modo que um nível relativamente baixo de fitocromo na forma ativa seria eficiente. HILTON (1984), trabalhando com a interação entre luz, temperatura e umidade na germinação de sementes de *Bromus sterilis* (fotoblásticas negativas), afirma que a temperatura também pode alterar a taxa de eventos metabólicos mediados

pelo Fve. TAKAKI *et al.* (1985), para *Rumex obtusifolius*, sugerem que o efeito da temperatura alta em promover a germinação em escuro não ocorre por intermédio do aumento da sensibilidade das sementes ao Fve nem pela indução de mudanças detectáveis no nível de Fve endógeno. Em *C. anguria* a temperatura alta teve efeito promotor sobre a germinação em escuro apenas no tratamento de sete dias de vermelho extremo. Esse efeito poderia ser causado pelo aparecimento lento de Fve no escuro a partir de formas intermediárias do fitocromo, induzido pela temperatura elevada, como sugerido por TAKAKI (1983) em trabalho realizado com sementes de *Rumex obtusifolius*. Por outro lado, a ação de temperaturas altas sobre o controle de escuro constante e sobre as sementes germinadas em escuro mas tratadas previamente com três e quatorze dias de vermelho extremo, sugerem que em *C. anguria* as temperaturas elevadas devem estar agindo principalmente sobre as reações metabólicas mediadas pelo fitocromo, comparando-se com sua ação sobre o equilíbrio ou reações envolvendo o próprio fitocromo.

A luz vermelha aplicada após os tratamentos de vermelho extremo apresentou efeitos menos acentuados do que o tratamento de escuro, em relação às três temperaturas testadas. Com relação à luz vermelha, dois aspectos principais podem ser considerados: a) o vermelho foi menos efetivo em reverter o efeito do vermelho extremo à temperatura de 33°C do que a 25 e 28°C, que apresentaram efeitos semelhantes entre si; e b) às temperaturas de 25

e 33°C, os tratamentos com luz vermelha aplicados após vermelho extremo foram em geral mais efetivos em promover a germinação do que os controles de luz vermelha contínua. A inibição da germinação ocorrida à temperatura de 33°C mostra que a temperatura alta deve estar agindo sobre as reações mediadas pelo Fve. Por outro lado, a maior efetividade da luz vermelha após tratamento com vermelho extremo, às temperaturas de 25 e 33°C pode ser devida a maior quantidade de Fv induzida pelo vermelho extremo, quer por reversão, quer por síntese "de novo" (MANCINELLI *et al.*, 1966; YANIV *et al.*, 1967).

Comparando-se os tratamentos de luz vermelha e escuro, observou-se que de um modo geral a luz vermelha foi mais efetiva do que o escuro em reverter o efeito do tratamento prévio com vermelho extremo, resultados esses também observados por NORONHA *et al.* (1978). Todavia, a diferença entre os efeitos da luz vermelha e do escuro foram menores à medida em que se aumentou a temperatura. Isto é consequência da diminuição da efetividade da luz vermelha à temperatura alta (provavelmente a restrições às reações mediadas pelo fitocromo) e(ou) ao efeito promotor das temperaturas altas sobre a síntese de Fve, sensibilidade das sementes ao Fve ou(e) atuação do Fve ao nível de membranas, na germinação em escuro de *C. anguria*. À temperatura de 25°C, uma única irradiação com uma hora de luz vermelha aplicada entre o tratamento prévio de sete dias de vermelho extremo e o escuro, reverteu completamente o efeito

do vermelho extremo. Resultados semelhantes foram obtidos por KENDRICK & FRANKLAND (1969) que mostraram que a dormência de sementes de *Amaranthus caudatus*, induzida por embebição sob vermelho extremo, foi quebrada por um choque de vermelho dado após esse tratamento. Os resultados obtidos com *C. anguria* confirmam que o vermelho extremo deve induzir uma quantidade relativamente alta de Fv nas sementes, de modo que elas se comportam como sementes fotoblásticas positivas em relação a um período curto de irradiação com vermelho.

Em outro experimento em que se testou a interação entre vermelho extremo e temperatura, observou-se que a aplicação de temperatura alta (32°C), quer no período de embebição prévia sob vermelho extremo, quer no período posterior de escuro, reverteu parcialmente o efeito inibitório do vermelho extremo em relação aos controles de escuro constante. Resultados semelhantes foram obtidos por TAYLORSON & HENDRICKS (1971), que observaram que a embebição em escuro em temperatura alta, revertia o efeito inibitório do vermelho extremo (aplicado em seguida por período curto) sobre a germinação de sementes de *Amaranthus retroflexus*.

Embora os dados obtidos neste trabalho sejam apenas indicativos, a ação conjunta da luz vermelha e temperatura na reversão do efeito do vermelho extremo em sementes de *C. anguria* parece ocorrer tanto sobre as reações do fitocromo como nas reações mediadas pelo fitocromo.

O etileno estimula a germinação de sementes de muitas espécies, sendo que inúmeros trabalhos tem mostrado uma relação entre germinação e produção de etileno pela semente (KETRING, 1977). Em geral tem-se observado que sementes dormentes liberam menos etileno do que sementes não dormentes (TAYLORSON & HENDRICKS, 1977). A luz é um dos fatores que influenciam a produção de etileno pelo tecido. GOESCHL *et al.* (1967), trabalhando com plântulas de ervilha, observaram que a luz vermelha causou um decréscimo transitório na produção de etileno, enquanto que o vermelho extremo provocou uma inibição menor. Em discos de folhas de tabaco, luz branca, vermelho e azul inibiram a produção de etileno, sendo que vermelho extremo não causou efeito algum, assim como não houve reversibilidade vermelho/vermelho extremo (LAAT *et al.*, 1981). CARDOSO & FELIPPE (1983) observaram liberação de etileno durante a germinação de sementes de *C. anguria*, tendo ocorrido germinação e produção de etileno mais altas em sementes embebidas em escuro do que sob luz fluorescente branca. Neste trabalho analisou-se a produção de etileno em sementes mantidas sob tratamentos de luz vermelha e vermelho extremo, para se verificar se o fitocromo estaria influenciando a liberação desse gás. A aplicação de vermelho ou de vermelho extremo não teve efeito sobre a liberação de etileno no período de pré germinação, isto é, no período que precedeu a protrusão da radícula, embora tenha sido observada uma relação entre germinação e liberação de etileno

sob os diferentes tratamentos luminosos. Em sementes de alface, ABELES & LONSKI (1969) mostraram que a produção de etileno (assim como a porcentagem de germinação) foi maior no tratamento com luz vermelha do que nas sementes tratadas com vermelho extremo, da mesma maneira que em sementes de *C. anguria*. Entretanto, esses autores calcularam a quantidade de etileno liberado, separadamente, para as sementes germinadas e não germinadas, obtendo assim valores semelhantes para os tratamentos de vermelho e vermelho extremo. Concluíram que o vermelho e o vermelho extremo não têm efeito sobre a taxa de produção de etileno pelas sementes de alface, assim como não há diferença entre os tratamentos de vermelho e vermelho extremo (ABELES & LONSKI, 1969). Esse tipo de análise não foi feita neste trabalho, mas pode-se concluir que o vermelho e vermelho extremo não tiveram efeito sobre a produção de etileno no período pré germinativo, em relação ao tratamento de luz branca. As variações na produção de etileno ocorreram no período pós germinatório, ou seja, após o início da protrusão da radícula. Entretanto, existe a possibilidade do fitocromo influenciar a ação do etileno, embora isso não possa ser demonstrado neste trabalho.

Diferentemente de CARDOSO (1982), observou-se neste trabalho o aparecimento de etileno nos frascos de incubação cerca de 25 horas antes do início da germinação visível. Assim, a liberação de etileno precedeu a protrusão da radícula durante a germinação de *C. anguria*. Todavia,

o gradativo aumento na liberação de etileno pelas sementes verificado nesse experimento parece ter decorrido de um efeito auto estimulatório, como destacado por TAYLORSON & HENDRICKS (1977), uma vez que a evolução do conteúdo de etileno nos frascos processou-se mais rapidamente nos frascos em que primeiro se observou a presença de etileno. Esse maior acúmulo de etileno, por sua vez, condicionou uma porcentagem de germinação mais alta nesses frascos. A auto estimulação da germinação (em relação a um grupo de sementes) por intermédio da produção de etileno parece ser o fator responsável pela germinação de sementes de *C. anguria* em frascos fechados mantidos sob luz fluorescente branca. Assim, a utilização de perclorato de mercúrio em alguns frascos vedados, inibiu consideravelmente a germinação em relação aos frascos contendo apenas água, sendo que esse efeito ocorreu apenas nos tratamentos mantidos sob luz fluorescente branca. A utilização de recipientes hermeticamente fechados pode provocar o acúmulo de produtos emanados da semente, sendo que KEYS *et al.* (1975) observaram nessas condições um acúmulo de CO₂ e etileno produzidos por sementes de alface. A origem do etileno liberado durante a fase pré germinatória ainda não foi determinada diretamente em *C. anguria*. Como mostrado anteriormente, sementes imaturas de *C. anguria* produzem etileno em quantidades relativamente altas, de modo que esse etileno poderia estar relacionado à sua detecção nas primeiras horas de embebição. Alguns autores acreditam que o fe

nômeno da liberação de etileno represente a liberação de etileno "compartimentado", que foi produzido endogenamente, estando a sua saída associada ao coeficiente de partição do gás no tecido (HALL *et al.*, 1979). Em *C. anguria*, a aplicação de pressão negativa durante a embebição causou um atraso na liberação de etileno em relação ao controle, sugerindo que esse gás possa ter sido removido do tecido durante a embebição. Entretanto, o tratamento com pressão negativa também poderia estar causando qualquer outro tipo de efeito sobre a produção e(ou) liberação de etileno.

Pouco é conhecido a respeito do metabolismo do etileno em sementes, assim como sobre a influência de inibidores da biossíntese de etileno. Diversos trabalhos tem mostrado o efeito inibitório do aminoetoxivinilglicina (AVG) sobre a produção de etileno em plantas (LAAT & LOON, 1981; MASSEI & VALIO, 1983; RIKIN *et al.*, 1984), o que indica que o etileno produzido é derivado da metionina. O cloreto de cobalto (CoCl_2), por sua vez, é relatado como inibidor da biossíntese de etileno em cotilédones de *Xanthium* (YANG & HOFFMAN, 1984) e coleoptiles de trigo (MACHACKOVÁ & ZMRHAL, 1981), atuando a nível da conversão de ACC para etileno. Em *C. anguria*, a aplicação de AVG não teve efeito sobre a germinação final, embora possa ter provocado uma germinação mais baixa após 24 horas. AVG e CoCl_2 inibiram totalmente a liberação de etileno pelas sementes de *C. anguria*, mas não causaram efeito algum sobre

a germinação final. Além disso, o AVG causou uma inibição do comprimento da radícula de plântulas de *C. anguria* cujas sementes foram embebidas na solução do inibidor. Esses resultados são semelhantes àqueles obtidos por HOFFMAN *et al.* (1983), que mostraram que embora o AVG tenha reduzido a produção de etileno por sementes de amendoim, não houve diminuição da porcentagem de germinação. Em *C. anguria*, provavelmente o AVG não é metabolizado rapidamente pelos tecidos da semente, uma vez que sua ação inibitória sobre a radícula persiste por vários dias após a embebição das sementes na solução do inibidor. O efeito dos inibidores sugere que o etileno produzido durante o processo de germinação de *C. anguria* é de origem metabólica, não estando todavia relacionado à indução da germinação propriamente dita. É claro que essa conclusão baseia-se em evidências circunstanciais, já que o inibidor pode estar agindo sobre outros processos metabólicos da semente. Por outro lado, sabe-se que substâncias liberadoras de etileno, como o CEPA quebram rapidamente a dormência de sementes de *C. anguria* embebidas sob luz branca (FELIPPE & LITJENS, 1980). Além disso, a maior germinação de *C. anguria* em frascos vedados parece estar relacionada ao acúmulo de etileno. Para resolver essa aparente contradição fazem-se necessários experimentos mais detalhados para se saber em que período, desde o início da embebição, a semente de *C. anguria* é mais sensível ao etileno, havendo também a necessidade de aprofundarem-se as pesquisas sobre o metabolismo do etileno exógeno na semente.

RESUMO

Não há interação entre luz e reguladores de crescimento na germinação de *C. anguria*, nos primeiros sete dias desde o início da embebição.

Escarificação na região da micrôpila elimina parcial ou totalmente o fotoblastismo negativo de *C. anguria*, embora mesmo estando escarificada a semente continue respondendo ao sistema fitocromo.

O tegumento parece agir como um filtro de luz, transmitindo uma maior quantidade de vermelho extremo em relação ao vermelho. Isso deve manter no embrião um valor de Fve abaixo do limiar necessário para induzir a germinação, quando as sementes são embebidas sob luz branca.

As condições de luz durante a secagem das sementes podem alterar o padrão de germinação em escuro, mas não tem efeito significativo sob luz branca. A qualidade da luz incidente sobre o fruto durante sua maturação parece não alterar o padrão de germinação das sementes. A resposta das sementes a diferentes tipos de luz durante a secagem pode ser influenciada pela temperatura durante a germinação.

Vermelho extremo de banda larga ou estreita inibe a germinação de *C. anguria*, sendo a inibição determinada não só pela quantidade de vermelho extremo aplicada, como

também pelo período prēvio de escuro. Vermelho extremo por períodos prolongados tende a induzir dormência secundária em maxixe, enquanto que irradiações prolongadas com luz azul não tem efeito quando as sementes são transferidas para escuro.

O fotoblastismo negativo de *C. anguria* mantém-se em temperaturas entre 15 e 35°C, sendo que a 40°C não há diferença entre a germinação sob luz branca e escuro. Temperaturas altas tendem a reduzir a viabilidade das sementes. Choques ou períodos curtos de temperatura alta ou baixa não tem efeito sobre a germinação de *C. anguria*.

Luz vermelha foi mais efetiva do que o escuro em reverter o efeito inibitório do vermelho extremo, sendo que a resposta germinativa dependeu não sō do período de embebição prēvia sob vermelho extremo, como também da temperatura na qual foram aplicados os tratamentos de vermelho e escuro. Temperaturas altas tendem a reduzir o efeito inibitório do vermelho extremo.

Sementes de *C. anguria* produzem etileno durante a sua maturação e germinação, tendo-se verificado que a produção de etileno pode preceder a protrusão da radícula. Por outro lado, embora o etileno produzido pareça ser de origem metabólica, possivelmente não está relacionado à indução da germinação.

BIBLIOGRAFIA.

- ABELES, F.B., 1973. *Ethylene in Plant Biology*. Academic Press, London.
- ABELES, F.B. & LONSKI, J., 1969. Stimulation of lettuce seeds germination by ethylene. *Plant Physiol.* 44: 277-280.
- ADAMS, D.O. & YANG, S.F., 1977. Methionine metabolism in apple tissue. *Plant Physiol.* 60: 892-896.
- AMRHEIN, N. & WENKER, D., 1979. Novel inhibitors of ethylene production in higher plants. *Plant and Cell Physiol.* 20 (8): 1635-1642.
- APELBAUM, A., WANG, S.Y., BURGOON, A.C., BAKER, J.E. & LIEBERMAN, M., 1981. Inhibition of the conversion of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid to ethylene by structural analogs, inhibitors of electron transfer, uncoupler of oxidative phosphorylation and free radical scavengers. *Plant Physiol.* 67: 74-79.
- AUNG, L.H., BUSS, G.R., CROSBY, K.E. & BROWN, S.S., 1982. Changes in hormonal levels of soybean fruit during ontogeny. *Phyton* 42(2): 151-164.
- BARTLEY, M.R. & FRANKLAND, B., 1984. Phytochrome intermediates and action spectra for light perception by dry seeds. *Plant Physiol.* 74: 601-604.
- BARTLEY, M.R. & FRANKLAND, B., 1985. Effects on phytochrome controlled germination produced by far red irradiation of seeds before and during rehydration. *Journal of Experimental Botany* 36(162): 149-158.

- BEWLEY, J.D. & BLACK, M., 1982. *Physiology and Biochemistry of the Seeds* Vol. II. Springer-Verlag, Berlin.
- BLACK, M., 1980. The role of endogenous hormones in germination and dormancy. *Israel Journal of Botany* 29: 181-192.
- BORTHWICK, H.A., HENDRICKS, S.B., PARKER, M.W., TOOLE, E.H. & TOOLE, V.K., 1952. A reversible photoreaction controlling seed germination. *Proc. Natn. Acad. Sci. USA* 39: 662-666.
- BURDETT, A.N., 1972. Antagonistic effects of high and low temperature pretreatments on the germination and pregermination ethylene synthesis of lettuce seeds. *Plant Physiol.* 50: 201-204.
- BURDETT, A.N. & VIDAVER, W.E., 1971. Synergistic action of ethylene with gibberellin or red light in germinating lettuce seeds. *Plant Physiol.* 48: 656-657.
- BUTLER, W.L., MORRIS, K.H., SIEGELMAN, H.W. & HENDRICKS, S. B., 1959. Detection, assay and preliminary purification of the pigment controlling photo-responsive development in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 45: 1703-1708.
- CARDOSO, V.J.M., 1982. Luz e Substâncias de Crescimento na Germinação de *C. anguria*. Tese de Mestrado, UNICAMP.
- CARDOSO, V.J.M. & FELIPPE, G.M., 1983. Endogenous hormones and the germination of *Cucumis anguria* L. *Revta. Brasil. Bot.* 6: 29-31.
- CHADOEUF-HANNEL, R. & BARRALIS, G., 1983. Evolution de l'amplitude à germer des graines d'*Amaranthus retrofléxus* L. récoltées dans différentes conditions, au cours de leur conservation. *Weed Research* 23: 109-117.

- CORBINEAU, F. & CÔME, D., 1980. Some particularities of the germination of *Oldenlandia corymbosa* L. seeds. *Israel Journal of Botany* 29: 157-167.
- CORBINEAU, F. & CÔME, D., 1982. Effect of the intensity and duration of light at various temperatures on the germination of *Oldenlandia corymbosa* L. seeds. *Plant Physiol.* 70: 1518-1520.
- DEDONDER, A., RETHY, R., FREDERICQ, H. & DE GREEF, J.A., 1983. Interaction between Pfr and growth substances in the germination of light requiring *Kalanchoe* seeds. *Physiol. Plant.* 59: 488-492.
- EASTIN, E.F., 1983. Red weed (*Melochia corchifolia*) germination as influenced by scarification, temperature and seeding depth. *Weed Science* 31: 229-231.
- ESASHI, Y., NOBUYORI, I., KURASHI, R. & KODAMA, H., 1983. Light actions in the germination of cocklebur seeds. *Journal of Experimental Botany* 34(144): 903-914.
- EVENARI, M., 1965. Light and seed dormancy. In: *Encyclopedia of Plant Physiology*, Vol. 15/2. Ruhland, W. (Ed.). Springer-Verlag, Berlin.
- FELIPPE, G.M., 1978. Effects of temperature on germination of *Rumex obtusifolius*. *Revta. do Museu Paulista* 25: 173-181.
- FELIPPE, G.M., 1979. Fotomorfogênese. In: *Fisiologia Vegetal* Vol. 2. Coord., Ferri, M.G. EPU-EDUSP, São Paulo.
- FELIPPE, G.M., 1980. Germination of light sensitive seeds of *Cucumis anguria* and *Rumex obtusifolius*: effects of temperature. *New Phytol.* 84: 439-448.

- FELIPPE, G.M. & LITJENS, M.H.M., 1979. Effect of growth regulators on overcoming the light inhibition on germination of *Cucumis anguria* L. *Biol. Plant.* 21: 407-411.
- FELIPPE, G.M. & LITJENS, M.H.M., 1980. Effects of growth regulators on germination of *Cucumis anguria* L. *Cien. e Cult.* 32(7): 875-877.
- FELIPPE, G.M., POLO, M., CARDOSO, V.J.M. & FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L., 1983. Germinação da unidade de dispersão da erva invasora *Hyptis suaveolens*. *An.Sem.Reg.Ecol.* III : 245-261, São Carlos - SP.
- FIGUEIREDO, P., 1984. Germinação de sementes imaturas de *Phaseolus vulgaris* L. cv. Goiano Precoce. Tese de Mestrado, UNICAMP.
- FLINT, L.H. & McALISTER, E.D., 1935. Wavelength of radiation in the visible spectrum inhibition the germination of light sensitive lettuce seeds. *Smithsonian Inst. Misc. Coll.* 94: 1-11.
- FLINT, L.H. & McALISTER, E.D., 1937. Wavelength of radiation in the visible spectrum promoting the germination of light sensitive lettuce seeds. *Smithsonian Inst. Misc. Coll.* 96: 1-8.
- FORSYTH, C. & VAN STADEN, J., 1983. Germination of *Tagetes minuta* L. I. Temperature effects. *Annals of Botany* 52 : 659-666.
- FRITTS, S.K. & LOY, J.B., 1981. Influence of light quality during seed development and drying on germination in watermelon. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 106(3): 262-266.
- GAMBI, O.V., 1966. Influence of light and temperature on the germination of some *Rumex* seeds. *Webbia* 21(1): 461-473.

- GEORGHIOU, K. & THANOS, C.A., 1983. Phytochrome control of skotodormancy release in Grande Rapids lettuce achenes. *Physiol. Plant.* 57: 352-356.
- GOESCHL, J.D., PRATT, H.K. & BONNER, B.A., 1967. An effect of light on the production of ethylene and the growth of the plumular portion of etiolated pea seedlings. *Plant Physiol.* 42: 1077-1080.
- GUTTERMAN, Y., 1980. Influences on seeds germinability : phenotypic maternal effects during seed maturation. *Israel Journal of Botany* 29: 105-117.
- GUTTERMAN, Y. & PORATH, D., 1975. Influences of photoperiodism and light treatments during fruit storage on the phytochrome and on the germination of *Cucumis prophetarum* and *Cucumis sativus* seeds. *Oecologia* 18: 37-43.
- HALL, M.A.; ACASTER, M.A.; BENGOCHEA, T.; DODDS, J.H.; EVANS, D.E.; JONES, J.F.; JERIE, P.H.; MUTUMBA, G.C.; NIEPEL, B. & SHAARI, A.R., 1979. Ethylene and seeds. In: *Plant Growth Substances 1979*. Ed. Skoog, F. Springer-Verlag, Berlin.
- HILTON, J.R., 1984. The influence of temperature and moisture status on the photoinhibition of seed germination in *Bromus sterilis* L. by the far-red absorbing form of phytochrome. *New Phytol.* 97: 369-374.
- HOFFMAN, N.E.; FU, J.R. & YANG, S.F., 1983. Identification and metabolism of 1-(Malonylamino) cyclopropane-1-carboxylic acid in germinating peanut seeds. *Plant Physiol.* 71: 197-199.
- IKUMA, H. & THIMANN, K.V., 1963. The role of the seed-coats in germination of photosensitive lettuce seeds. *Plant and Cell Physiol.* 4: 169-185.

- ISIKAWA, S. & FUJII, T., 1961. Photocontrol and temperature dependence of germination of *Rumex* seeds. *Plant and Cell Physiol.* 2: 51-62.
- KARSSEM, C.M., 1976. Two sites of hormonal action during germination of *Chenopodium album* seeds. *Physiol. Plant.* 36: 264-270.
- KENDRICK, R.E., 1976. Photocontrol of seed germination. *Sci. Prog. Oxf.* 63: 347-367.
- KENDRICK, R.E. & DE KOK, J., 1983. Intermediates in phytochrome phototransformation. *Science Progress* 68: 475-486.
- KENDRICK, R.E. & FRANKLAND, B., 1969. Photocontrol of germination in *Amaranthus caudatus*. *Planta* 85: 326-339.
- KENDRICK, R.E. & FRANKLAND, B., 1983. *Phytochrome and Plant Growth*. 2^a Ed., Edward Arnold, London.
- KENDRICK, R.E. & RUSSELL, J.H., 1975. Photomanipulation of phytochrome in lettuce seeds. *Plant Physiol.* 56: 332-334.
- KENDRICK, R.E.; SPRUIT, C.J.P. & FRANKLAND, B., 1969. Phytochrome in seeds of *Amaranthus caudatus*. *Planta* 88 : 293-302.
- KETRING, D.L., 1977. Ethylene and seeds germination. In: Khan, A.A. (Ed.). *The Physiology and Biochemistry of Seed Dormancy and Germination*. North Holland Publishing Co., Amsterdam.
- KEYS, R.D., SMITH, O.E., KUMAMOTO, J. & LYON, L., 1975. Effect of gibberellic acid, kinetin and ethylene plus carbon dioxide on the thermodormancy of lettuce seeds. *Plant Physiol.* 56: 826-829.

- KIGEL, J.; ARIELLA, G. & NEGBI, M., 1979. Seed germination in *Amaranthus retroflexus* L. as affected by the photo-period and age during flower induction of the parents plants. *Journal of Experimental Botany* 30(118): 997-1002.
- LAAT, A.M.M., BRANDENBURG, D.C.C. & LOON, L.C., 1981. The nodulation of the conversion of l-aminocyclopropane-l-carboxylic acid to ethylene by light. *Planta* 153: 193-200.
- LAAT, A.M.M. & LOON, L.C., 1981. Regulation of ethylene biosynthesis in virus-infected tobacco leaves. *Plant Physiol.* 68: 256-260.
- LAGÔA, A.M.M., 1983. Fatores que afetam a germinação de *Ricinus communis* L. Tese de Mestrado, UNICAMP.
- LAU, O.L. & YANG, S.F., 1976. Inhibition of ethylene production by cobaltous ion. *Plant Physiol.* 58: 114-117.
- LIEBERMAN, M., 1979. Biosynthesis and action of ethylene. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 30: 533-591.
- MACHÁCKOVÁ, I. & ZMARHAL, Z., 1981. Is peroxidase involved in ethylene biosynthesis? *Physiol. Plant.* 53: 479-482.
- MALCOSTE, R.; BOISARD, J.; SPRUIT, C.J.P. & ROLLIN, P. 1970. Phytochrome in seeds of some cucurbitaceae: in vivo spectrophotometry. *Meded. Landbouwhogeschool Wageningen* 70 - 16.
- MALCOSTE, R.; HUAULT, C.; LARCHER, G. & ROLLIN, P., 1972. Evolution du contenu en phytochrome des cotylédons de radis, à l'obscurité et à la lumière. Mesures par spectrophotométrie *in vivo*. *Physiol. Vég.* 10(3): 575-587.

- MANCINELLI, A.L.; BORTHWICK, H.A. & HENDRICKS, S.B., 1966. Phytochrome action in tomato seed germination. *Bot. Gaz.* 127: 1-5.
- MANCINELLI, A.L. & RABINO, I., 1978. The "high irradiance responses" of plant photomorphogenesis. *The Botanical Review* 44(2): 129-180.
- MANCINELLI, A.L.; YANIV, Z. & SMITH, P., 1967. Phytochrome and seed germination. I. Temperature dependence and relative Pfr levels in the germination of dark-germinating tomato seeds. *Plant Physiol.* 42: 333-337.
- MASSEI, M.S. & VÁLIO, I.F.M., 1983. The influence of growth regulators on adventitious root initiation on stems of tomato plants. *Z. Pflanzenphysiol.* 112: 403-410.
- MAYER, A.M. & POLJAKOFF-MAYBER, A.; 1975. *The germination of seeds*. Pergamon Press Ltd., Oxford.
- MCCULLOUGH, J.M. & SHROPSHIRE, W., 1970. Physiological pre-determination of germination responses in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Plant and Cell Physiol.* 11: 139-148.
- METIVIER, J.R., 1979. Dormência e Germinação. In: *Fisiologia Vegetal Vol.2*. Coord. FERRI, M.G. EPU-EDUSP, São Paulo.
- MOHR, H., 1972. *Lectures on Photomorphogenesis*. Springer-Verlag, Berlin.
- MORRIS, D.A., 1978. Germination inhibitors in developing seeds of *Phaseolus vulgaris* L. *Z. Pflanzenphysiol.* 86 : 433-441.
- NOGGLE, G.R. & FRITZ, G.J., 1976. *Introductory Plant Physiology*. Prentice-Hall, Inc, New Jersey.

- NORONHA, A., VICENTE, M. & FELIPPE, G.M., 1976. Effect of storage and growth conditions on photoblasticity of seeds of *Cucumis anguria* L. *Hoehnea* 6: 7-10.
- NORONHA, A.; VICENTE, M. & FELIPPE, G.M., 1978. Photocontrol of germination of *Cucumis anguria*. *Biologia Planta* ~~num~~ 20(4): 281-286.
- NORONHA, A.; VICENTE, M. & SILBERSCHMIDT, K., 1971. Observações sobre a germinação de sementes de *Cucumis anguria* L. *Ciência e Cultura* 23(3): 321-322.
- RANDI, A.M., 1980. Germinação de *Stevia rebaudiana* Bert. Tese de Mestrado, UNICAMP.
- RANDI, A.M. & FELIPPE, G.M., 1981. Efeito de temperatura, luz e reguladores de crescimento na germinação de *Stevia rebaudiana* Bert. *Cien. e Cult.* 33(3): 404-411.
- RIKIN, A.; CHALUTZ, E. & ANDERSON, J.D., 1984. Rhythmicity in ethylene production in cotton seedlings. *Plant Physiol.* 75: 493-495.
- RILEY, G.J.P., 1981. Effects of high temperature on the germination of maize (*Zea mays* L.). *Planta* 151: 68-74.
- ROBERTS, H.A. & NEILSON, J.E., 1982. Role of temperature in the seasonal dormancy of seeds of *Veronica hederifolia* L. *New Phytol.* 90: 745-749.
- ROLLIN, P., 1963. *Influence de la lumière et de la température sur la germination.* Montpellier, Paris.
- SANKHLA, R. & CHAWAN, D.D., 1980. Effects of different seed moisture levels on germination behavior of *Phaseolus vulgaris*. *Biol. Plant.* 22: 388-391.

- SOLANGE, M., CRUZ, D. & TAKAKI, M., 1983. Dormancy and germination of seeds of *Chloris orthothon*. *Seed. Sci. and Technol.* 11: 323-329.
- SHROPSHIRE, W., 1973. Photoinduced parental control of seed germination and the spectral quality of solar radiation. *Solar Energy* 15: 99-105.
- SNEDECOR, G.W., 1962. *Statistical Methods*. Iowa State University Press, Iowa.
- SPRUIT, C.J.P. & MANCINELLI, A.L., 1969. Phytochrome in cucumber seeds. *Planta* 88: 303-310.
- TAKAKI, M., 1983. O fitocromo na germinação de sementes fotossensíveis de *Rumex obtusifolius* L., *Cucumis anguria* L. e *Lactuca sativa* L. Tese de Doutorado, Escola Paulista de Medicina.
- TAKAKI, M.; HEERINGA, G.H.; CONE, J.W. & KENDRICK, R.E., 1985. Analysis of the effect of light and temperature on the fluence response curves for germination of *Rumex obtusifolius*. *Plant Physiol.* 77: 731-734.
- TAKAKI, M.; KENDRICK, R.E. & DIETRICH, S.M.C., 1981. Interaction of light and temperature on the germination of *Rumex obtusifolius*. *Planta* 152: 209-214.
- TAKAKI, M. & ZAIA, V.M., 1984. Effect of light and temperature on the germination of lettuce seeds. *Planta* 160 : 190-192.
- TANNO, N., 1983. Blue light induced inhibition of seed germination: The necessity of the fruit coats for the blue light response. *Physiol. Plant.* 58: 18-20.

- TAYLORSON, R.B. & HENDRICKS, S.B., 1971. Changes in phytochrome expressed by germination of *Amaranthus retroflexus* L. seeds. *Plant Physiol.* 47: 619-622.
- TAYLORSON, R.B. & HENDRICKS, S.B., 1977. Dormancy in seeds. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 28: 331-354.
- VÄLIO, I.F.M. & JOLY, C.A., 1978. Light sensitivity of the seeds on the distribution of *Cecropia glaziovii* Snethlage. *Z. Pflanzenphysiol.* 91: 371-376.
- VICENTE, M.; ENGELHARDT, M. & SILBERSCHMIDT, K., 1962. The influence of temperature on the germination response to light of seeds of *Rumex obtusifolius*. *Phyton* 19: 163-167.
- WALL, J.K.; KILSBY, C.A.H. & JOHNSON, C.B., 1984. Temperature and seed batch-related variation in the kinetic behavior of phytochrome under "high irradiance response conditions. *Planta* 161: 366-374.
- WARD, T.M.; WRIGHT, M.; ROBERTS, J.A.; SELF, R. & OSBORNE, D.J., 1978. Analytical procedures for the assay and identification of ethylene. In: *Isolation of Plant Growth Substances*. Ed. Hilman, J.R., Cambridge University Press, Cambridge.
- WAREING, P.F. & PHILLIPS, I.D.J., 1978. Dormancy. In: *The Control of Growth and Differentiation in Plants*. Cap.11. Pergamon Press, Oxford.
- WULFF, R. & BRICEÑO, M., 1976. Light and temperature interaction in the photocontrol of germination of seeds of *Ludwigia octovalvis*. *Planta* 128: 195-199.
- YANG, S.F. & HOFFMAN, N.E., 1984. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 35: 155-189.

- YANIV, Z. & MANCINELLI, A.L., 1967. Phytochrome and seed germination. II. Changes of Pfr requirement for germination in tomato seeds. *Plant Physiol.* 42: 1147-1148.
- YANIV, Z.; MANCINELLI, A.L. & SMITH, P., 1967. Phytochrome and seed germination. III. Action of prolonged far red irradiation on the germination of tomato and cucumber seeds. *Plant Physiol.* 42: 1479-1482.
- YOSHII, H.; WATANABE, A. & IMASEKI, H., 1980. Biosynthesis of auxin-induced ethylene in mung bean hypocotyls. *Plant and Cell Physiol.* 21(2): 279-291.
- YU, Y.B. & YANG, S.F., 1979. Auxin-induced ethylene production and its inhibition by aminoethoxyvinylglycine and cobalt ion. *Plant Physiol.* 64: 1074-1077.