



GABRIELLA COSTA GOMES

**AS INTERAÇÕES ENTRE SINALIZAÇÃO
DO ETILENO E TEMPERATURA AFETAM A
GERMINAÇÃO DE TOMATE**

LAVRAS – MG

2023

GABRIELLA COSTA GOMES

**AS INTERAÇÕES ENTRE SINALIZAÇÃO
DO ETILENO E TEMPERATURA AFETAM A GERMINAÇÃO DE TOMATE**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Ciências Biológicas, para a obtenção do título de Bacharel.

Prof. Dr. Vitor de Laia Nascimento

Orientador

Msc. Beatriz Costa de Oliveira Queiróz de Souza

Coorientadora

LAVRAS – MG

2023

GABRIELLA COSTA GOMES

**AS INTERAÇÕES ENTRE SINALIZAÇÃO
DO ETILENO E TEMPERATURA AFETAM A GERMINAÇÃO DE TOMATE**

**THE INTERACTIONS BETWEEN SIGNAGE OF ETHYLENE AND
TEMPERATURE AFFECT TOMATO GERMINATION**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Ciências Biológicas, para a obtenção do título de Bacharel.

APROVADA em 7 de dezembro de 2023.

Msc. Mateus Moreira Bernardes - UFLA

Prof. Dr. Nilo Cesar Queiroga Silva - UFU

Prof. Dr. Vitor de Laia Nascimento

Orientador

Msc. Beatriz Costa de Oliveira Queiróz de Souza

Coorientadora

LAVRAS – MG

2023

*Aos meus pais Alexandre e Lúcia,
Aos meus irmãos Isabella e Gabriel,
Por todo amor, apoio e compreensão.*

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Especialmente a Deus e a Nossa Senhora Aparecida, pela vida e saúde.

Aos meus pais, Alexandre e Lúcia, aos meus irmãos, Isabella e Gabriel, meus sinceros agradecimentos pela paciência e apoio nesses últimos 5 anos, que não foram fáceis. Obrigada por tudo!

Ao meu Tio Erá pelo seu incentivo desde sempre em cursar Ciências Biológicas, muito obrigada.

Ao Pr. Dr. Vitor de Laia Nascimento, pela dedicada orientação, pela paciência e compreensão.

A Msc. Beatriz Costa O. Q. de Souza, pela dedicada coorientação, pelos ensinamentos, pela paciência, pelo apoio durante a realização do trabalho e pela amizade.

As minhas amigas Milena e Ana Cláudia pelos 5 anos que compartilhamos na faculdade.

A Prof.^a Dr.^a Elisa Monteze Bicalho, por permitir que utilizasse seu espaço laboratorial e equipamentos para a conclusão da minha pesquisa. Em especial, ao Msc. Mateus Moreira Bernardes pela paciência e compreensão em resolver o empréstimo dos materiais para a conclusão da minha pesquisa.

Ao meu namorado Patrick, pela paciência em me levar aos finais de semana na Ufla.

Por fim, agradeço Universidade Federal de Lavras, ao Departamento de Biologia, pelos ensinamentos durante a graduação.

RESUMO

A germinação é um processo fisiológico crucial para o ciclo de vida de uma planta, e ela pode ser influenciada por altas e baixas temperaturas. O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é uma planta modelo e das suas cultivares, a Micro-Tom (MT), tem sido uma das mais utilizadas. Seu genótipo mutante *Never ripe* apresenta uma mutação que reduz a percepção do etileno, fitormônio envolvido em vários processos fisiológicos, inclusive a germinação. Dessa forma, neste trabalho testa-se se a interação entre o etileno e a temperatura afetam a germinação da cultivar Micro-Tom do genótipo *Never ripe*. Foram avaliadas a germinação das sementes de tomate da cultivar Micro-tom em dois genótipos diferentes x três temperaturas, sendo estes o genótipo selvagem (WT) e o mutante de etileno (*Never ripe*) onde foram submetidas a três temperaturas constantes: (i) 20 °C; (ii) 25 °C; (iii) 30 °C, e a três temperaturas variáveis entre o dia e a noite: (iv) 30-20 °C; (v) 30-15 °C; (vi) 35-15 °C, totalizando 12 tratamentos (dois genótipos x seis temperaturas), onde foram calculados a porcentagem de germinação (%), do Índice de Velocidade de Germinação (IVG). Houve diferença nas porcentagens de germinação do mutante *Never ripe* em relação ao genótipo selvagem (WT) nas temperaturas constantes, enquanto não houve nas temperaturas variáveis. A temperatura variável 30-20° C apresentou uma melhor germinação nos genótipos WT e Nr, em relação às outras duas, por conta da sua menor faixa de amplitude térmica. O IVG de Nr foi menor em relação a WT, demonstrando um atraso na germinação das sementes desse genótipo, mostrando uma influência do etileno sobre o processo germinativo. Dessa forma, estudos adicionais são necessários, para identificar especificamente onde o etileno age no processo germinativo e quais os mecanismos que fazem com o que o mutante *Never ripe* possua um atraso na germinação de suas sementes.

Palavras chaves: Germinação; Tomate; *Never Ripe*; Temperatura; Etileno

ABSTRACT

Germination is a crucial physiological process for a plant's life cycle, and high and low temperatures can influence it. The tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is a model plant and of its cultivars, Micro-Tom (MT), has been one of the most used. Its *Never ripe* mutant genotype presents a mutation that reduces the perception of ethylene, a phytohormone involved in several physiological processes, including germination. Therefore, this work tests whether the interaction between ethylene and temperature affects the germination of the Micro-Tom cultivar of the *Never ripe* genotype. The germination of tomato seeds of the Micro-tom cultivar was evaluated in two different genotypes x three temperatures, these being the wild genotype (WT) and the ethylene mutant (*Never ripe*) where they were subjected to three constant temperatures: (i) 20 °C; (ii) 25° C; (iii) 30 °C, and three variable temperatures between day and night: (iv) 30-20 °C; (v) 30-15 °C; (vi) 35-15 °C, totaling 12 treatments (two genotypes x six temperatures), where the germination percentage (%) and the Germination Speed Index (GSI) was calculated. There was a difference in the germination percentages of the *Never ripe* mutant in relation to the wild genotype (WT) at constant temperatures, while there was no difference at variable temperatures. The variable temperature of 30-20° C showed better germination in the WT and *Nr* genotypes, in relation to the other two, due to their smaller range of thermal amplitude. The IVG of *Nr* was lower compared to WT, demonstrating a delay in seed germination of this genotype, showing an influence of ethylene on the germination process. Therefore, additional studies are necessary to specifically identify where ethylene acts in the germination process and what mechanisms cause the *Never ripe* mutant to have a delay in the germination of its seeds.

Keywords: Germination; Tomato; *Never Ripe*; Temperature; Ethylene

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. REFERÊNCIAL TEÓRICO	11
2.1 Germinação e Temperatura.....	11
2.2 Hormônio Etileno e Mutante <i>Never Ripe</i>	12
3. OBJETIVOS.....	13
3.1 Objetivo geral.....	13
3.2 Objetivos específicos.....	13
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	14
4.1 Condução do experimento.....	14
4.2 Análise de germinação.....	14
4.3 Análise de dados.....	15
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
5.1 Porcentagem de Germinação.....	16
5.2 Índice de Velocidade de Germinação (IVG).....	22
6. CONCLUSÃO.....	23
REFERÊNCIAS.....	24

1. INTRODUÇÃO

A germinação é um processo fisiológico crucial para o ciclo de vida de uma planta, pois é uma fase de transição que determinará o estabelecimento e sobrevivência do vegetal (Finch-Savage e Leubner-Metzger, 2006). A germinação inicia-se com a embebição das sementes em água, e pode ser dividida em três fases principais: (i) rápida absorção de água, com a retomada do metabolismo da semente e reparos nas mitocôndrias e no DNA; (ii) platô de absorção de água, onde há menor absorção e as sementes estão altamente ativas fisiológica e metabolicamente, havendo a mobilização de macromoléculas estocadas, que culminará com a protusão da radícula; (iii) fase pós germinativa, onde a germinação está completa e a plântula inicia o crescimento da raiz primária, havendo grande absorção de água e requerimento de nutrientes para que haja seu estabelecimento (Bewley, 1997; Varier et al., 2010; Dalil, 2014; Pawar e Laware, 2018).

A germinação pode ser controlada por fatores internos, como níveis hormonais, e por fatores externos, como luminosidade, temperatura, disponibilidade de água e nitrato (Yan e Chen, 2020). A temperatura é considerada como o fator abiótico que mais influencia os ciclos de dormência e germinação das sementes (Chahtane et al., 2017). Sua influência é parcialmente mediada pelo metabolismo e sinalização dos fitormônios giberelina e ácido abscísico, visto que em baixas temperaturas há um aumento dos níveis de ABA e decréscimo nos níveis de GA (Kendall et al., 2011; He et al., 2014). Entretanto, altas temperaturas também podem afetar a germinação, sendo este efeito conhecido como termoinibição (Reynolds e Thompson, 1971), sendo que sementes podem ser termoinibidas em diferentes temperaturas, dependendo da espécie vegetal (Yan e Chen, 2020).

Muitos estudos têm focado no papel da temperatura sobre a germinação de sementes, principalmente de plantas voltadas para o consumo alimentício, como o tomate, alface, feijão, trigo e milho (Dahal et al., 1996; Gonai et al., 2004; Machado-Neto et al., 2006; Buriro et al., 2011; Khaeim et al., 2022). Dentre estas, o tomate (*Solanum lycopersicum* L.) tem sido amplamente utilizado como um modelo para estudos fisiológicos e bioquímicos, devido ao seu genoma relativamente pequeno, mapas cromossômicos bem estabelecidos e alta ocorrência de variações alélicas e mutantes (LIMA et al., 2009). De suas várias cultivares, a Micro-Tom tem se destacado, por conta de seu tamanho reduzido, o que permite seu crescimento em tubos de ensaio e vasos de 100 mL e seu ciclo de vida curto, com duração de 70-90 dias (SCOTT E HARBAUGH, 1989).

Mutantes de tomateiros tem sido utilizados para compreender as funções dos genes das plantas, principalmente relacionados a produção e sensibilidade de hormônios. O etileno é um fitormônio que participa de processos fisiológicos ligados à germinação de sementes, ao crescimento e desenvolvimento das plantas, à senescência e ao amadurecimento de frutos (IQBAL et al., 2017), além de atuar em processos de respostas ao estresse (DUBOIS et al., 2018). Por produzir uma resposta tríplice nos vegetais, como a inibição do hipocótilo e alongamento da raiz, aumento do crescimento horizontal e curvatura exagerada do meristema apical em mudas estioladas, há a rápida identificação de plantas com genótipos mutantes para o fitohormônio (GUZMAN e ECKER, 1990).

O genótipo mutante *Never ripe* (*Nr*) da cultivar Micro-Tom possui pouca sensibilidade na percepção de etileno, devido a uma mutação no receptor ETR3 (WILKINSON et al., 1995). Sua identificação visual se dá pela falha em apresentar a resposta tríplice, pelo atraso em sua senescência e pelo não-amadurecimento completo dos frutos de tomate (LAHANAN et al., 1994). Sabe-se que esta mutação pode ocasionar interferências sobre a germinação de sementes e sobre o crescimento radicular das plantas, além de possivelmente afetar seus estados nutricionais e bioquímicos (KUCERA et al., 2005; LIMA et al., 2009; MONTEIRO et al., 2012). Entretanto, existem lacunas de conhecimento sobre as interrelações entre o etileno e a temperatura, e como estas variáveis, juntas, podem afetar a germinação e o crescimento inicial de plântulas.

Dessa forma, nesse trabalho hipotetiza-se que a associação do etileno com a variável abiótica de temperatura afeta drasticamente a germinação de sementes de tomate, principalmente do genótipo mutante *Never ripe*, reduzindo sua porcentagem de germinação e aumentando o tempo médio necessário para completar esse processo fisiológico, em resposta ao aumento de temperatura no ambiente.

2. REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1 Germinação e Temperatura

Germinação envolve uma sequência ordenada de eventos metabólicos que resulta no reinício do desenvolvimento do embrião (Marcos-Filho, 1986), desse modo completando emissão da raiz primária, sendo uma fase crítica, pois além de estar associada aos processos fisiológicos da semente, depende de fatores ambientais (FERREIRA e BORGHETTI, 2004), envolvendo água, luz, temperatura e oxigênio (BEWLEY e BLACK, 1994; CARVALHO e NAKAGAWA, 2000; BRASIL, 2009).

A germinação ocorrer dentro de determinados limites de temperatura, onde a temperatura ótima é considerada a temperatura ideal em que ocorre um maior número de germinação no menor espaço de tempo (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000; MARCOS FILHO, 2005).

Alteração de temperatura no ambiente pode afetar a permeabilidade das membranas e ocorre uma redução na velocidade da germinação quando exposta em temperaturas sub ou supra ótimas e expondo as sementes a fatores adversos pode ocorrer a redução da germinação (Bewley et al., 2013). Algumas espécies exigem a luz durante a germinação, onde é influenciada pela temperatura, podendo assim ocorrer a determinação das temperaturas mínima, ótima e máxima de cada espécie (BEWLEY; BLACK, 1994).

Para o desenvolvimento das primeiras estruturas iniciais da plântula, como a raiz primária, a temperatura é fundamental durante a germinação, onde essa estrutura é a primeira a ocorrer. Assim, na germinação temperatura é fundamental, pois age sobre a velocidade de absorção de água e nas reações bioquímicas que determina a esse processo. A temperatura pode afeta a uniformidade, afeta a velocidade, como também a germinação total (CARVALHO & NAKAGAWA, 2000). Temperaturas inadequadas afetam essa estrutura, tendo uma diminuição da capacidade do seu desenvolvimento (LARCHER, 2003).

2.2 Hormônio Etileno e Mutante *Never Ripe*

O etileno é um hormônio vegetal gasoso, onde é sintetizado nos tecidos dos vegetais em respostas ao estresse. Esse hormônio controla uma série de processos desenvolvimento,

incluindo germinação de sementes, floração, epinastia, abscisão de folhas e fruto, amadurecimento dos frutos.

Segundo Nascimento (2003), o etileno durante a germinação das sementes é um fato aceito, mas os mecanismos são pouco compreendidos. Estudos do etileno sobre a resposta das propriedades de germinação das sementes, são fundamentais para entender melhor os mecanismos envolvidos nesse processo.

Em plantas transgênicas como o tomate (*Lycopersicon esculentum*), ocorre uma inibição anti-sentido dos genes biossintéticos que resulta numa maturação inibida ou retardada (Hackett et al 2000). O mutante dominante de tomate *Never Ripe (Nr)* é insensível ao etileno, devido a uma mutação no receptor ETR3 (WILKINSON et al., 1995), essa mutação resulta em amadurecimento prejudicado dos frutos, senescência das pétalas, abscisão floral, as sementes possui uma germinação inibida ou retardada quando expostas em temperaturas baixas ou altas.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Compreender as interações entre o etileno e a temperatura na germinação de sementes de tomate (*Solanum lycopersicum* L. cv. Micro-Tom) dos genótipos selvagem e mutante de etileno (*Never Ripe*).

3.2 Objetivos específicos

Avaliar a porcentagem total de germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG), onde foram submetidas a três temperaturas constantes: (i) 20 °C; (ii) 25° C; (iii) 30 °C, e a três temperaturas variáveis entre o dia e a noite: (iv) 30-20 °C; (v) 30-15 °C; (vi) 35-15 °C.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Condução do experimento

O estudo foi conduzido em sala de crescimento no Setor de Fisiologia Vegetal (21°13'40" S e 44°57'50" W GRW), Departamento de Biologia, Instituto de Ciências Naturais, da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no município de Lavras - MG, entre os meses de fevereiro de 2023 e outubro de 2023. As sementes de tomate (*Solanum lycopersicum* L. cv. Micro-Tom) dos genótipos selvagem e mutante de etileno (*Never Ripe*) foram desinfetadas usando uma solução de hipoclorito de sódio a 5% por 10 minutos, sendo lavadas primeiramente em água corrente e depois em água destilada, e postas para germinar em placas de Petri. Previamente, as placas e os papéis germitest foram esterilizados, sendo os papéis colocados em estufa a 105° C por um período de duas horas. As sementes foram colocadas em solução de água destilada com Nistatina a 0,5%, para evitar contaminação por fungos, com dois papéis germitest por placa.

As sementes, de ambos os genótipos, foram igualmente distribuídas nas placas de Petri, contabilizando quatro repetições com 25 sementes cada (100 sementes no total por tratamento). As placas foram colocadas em estufas incubadora BOD (EL101/4/ ELETROlab, São Paulo, Brasil) com controle acurado de temperatura, em período de claro (40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e escuro, com fotoperíodo de 12/12 h, onde foram submetidas a três temperaturas constantes: (i) 20 °C; (ii) 25° C; (iii) 30 °C, e a três temperaturas variáveis entre o dia e a noite: (iv) 30-20 °C; (v) 30-15 °C; (vi) 35-15 °C, totalizando 12 tratamentos (dois genótipos x seis temperaturas). No caso das temperaturas alternadas, o período luminoso correspondeu à temperatura mais elevada.

Foram realizados dois experimentos similares para cada temperatura, sendo que cada um durou sete dias. As placas de Petri foram molhadas de acordo com a necessidade de água, para que houvesse a manutenção da umidade, e os papéis germitest foram trocados quando houve contaminação por fungos.

4.2 Análise de germinação

A germinação das sementes de tomate foi avaliada diariamente, sendo utilizada a protusão da radícula como critério para contabilização. Ao final da avaliação da germinação,

foram calculadas a porcentagem de germinação (%) e o Índice de Velocidade de Germinação (IVG), estabelecido por Maguire (1962).

4.3 Análise de dados

A análise estatística foi realizada seguindo o delineamento inteiramente casualizado (DIC), em fatorial 2 (genótipos) x 6 (temperaturas), com 4 repetições. Os dados obtidos foram analisados pelo software R, versão 4.0.0 (R Core Team, 2020). As características avaliadas foram submetidas a análise da variância (ANOVA) pelo Teste F, e quando houver efeito significativo nos parâmetros analisados, foi aplicado o Teste Tukey ($p < 0,05$), no pacote ExpDes.pt (Ferreira et al., 2013). Todas as figuras foram feitas no pacote ggplot2 (Wickham, 2016).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Porcentagem de germinação

De acordo com o teste F, as médias das temperaturas 30°C e 25°C são estatisticamente iguais em relação aos genótipos WT e *Nr*. Já na temperatura de 20°C, o genótipo *Nr* obteve uma média maior que o WT (**TABELA 1**). As médias de temperatura do genótipo *Nr* foram estatisticamente iguais, e dentro do genótipo WT, obteve-se diferença nas médias de germinação (**TABELA 1**).

Nas temperaturas de 20 °C e 25 °C, observou-se que o genótipo *Nr* obteve um pico de germinação após o quinto dia, ultrapassando o genótipo WT (**FIGURAS 1A e 1B**). Na temperatura 30 °C, o genótipo *Nr* obteve uma germinação lenta (**FIGURA 1C**). Já o genótipo WT obteve uma germinação alta e rápida a partir do primeiro dia, porém ambos os genótipos obtiveram uma similaridade na porcentagem germinativa ao sétimo dia (**FIGURA 1C**).

Segundo Labouriau e Osborn (1984), a germinação das sementes de tomate são dependentes da temperatura. Ainda de acordo com os autores, a faixa de temperatura ótima para a germinação da espécie varia entre 25.9 e 29.5 °C, o que está muito próximo com as temperaturas que foram utilizadas no presente trabalho e está de acordo com os resultados obtidos. Decrescendo essa faixa de temperatura reduz a germinação de sementes, como pode ser observada com a porcentagem de germinação do genótipo selvagem a 20 °C.

Entretanto, o genótipo *Nr* não foi afetado pela menor temperatura fixa, o que indica que a baixa percepção de etileno fez com que essas sementes não percebessem esse estresse térmico de forma similar à WT. Dessa forma, nota-se que o etileno possui papel na germinação e na percepção de estresses abióticos pela semente e pela planta. Entretanto, estudos posteriores são necessários para averiguar melhor esses processos.

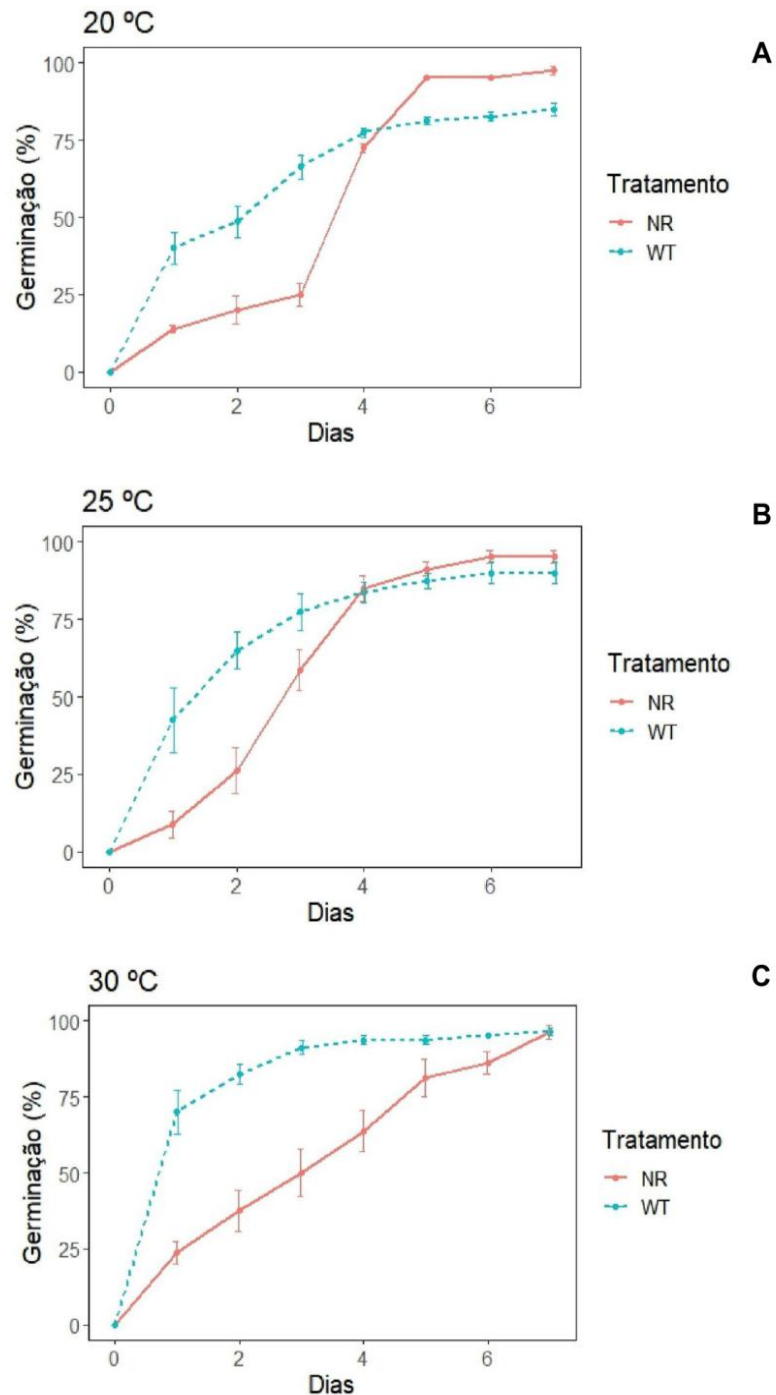
Tabela 1 - Percentual de germinação e Índice de velocidade de germinação em diferentes genótipos (Wild type e *Never ripe*) de tomateiro e diferentes temperaturas (20, 25 e 30 °C).

	Wild type			<i>Never ripe</i>		
	20 °C	25 °C	30 °C	20 °C	25 °C	30 °C
Germinação (%)	85.0 ± 2.04 Bb	90.0 ± 3.54 Aab	96.3 ± 2.39 Aa	97.5 ± 1.44 Aa	95.0 ± 2.04 Aa	96.3 ± 2.39 Aa
IVG	10.9 ± 0.55 Aa	12.3 ± 1.24 Aa	16.0 ± 0.75 Aa	10.3 ± 3.24 Ba	7.4 ± 0.60 Ba	8.8 ± 0.85 Ba

As letras maiúsculas representam o genótipo e as minúsculas, a temperatura. Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Fonte: Vitor Nascimento; da autora (2023).

Figura 1 - Porcentagem de germinação de sementes de tomate dos genótipos selvagem (WT) e *Never ripe* (Nr) em relação aos dias, nas temperaturas de 20 °C (A), 25 °C (B) e 30° (C).



Wild type é representado por linha azul, enquanto *Never ripe* é representado por linha vermelha. Os valores representados são as porcentagens de germinação ao decorrer dos dias.

Fonte: Vitor Nascimento; da autora (2023).

Nas temperaturas alternadas, o genótipo WT germinou em todos os dias, visto que ele apresenta uma germinação antecipada em relação ao genótipo *Nr*. As médias entre as três temperaturas dos genótipos *Nr* e WT variaram, demonstrando que há diferença na porcentagem de germinação para as temperaturas diferenciadas, sendo maior no tratamento de 30-20 °C (**TABELA 2**).

Nas temperaturas de 30-20 e 30-15 °C, ambos os genótipos apresentaram uma germinação acima de 70% ao final dos sete dias (**FIGURA 2A e 2B**). Entretanto, as sementes expostas à temperatura alternada de 35-15 °C apresentaram uma baixa germinação, por volta de 50% em ambos os genótipos (**FIGURA 2C**).

Na temperatura de 30-20 °C observou-se que o genótipo *Nr* obteve um pico na sua germinação após o quarto dia, ultrapassando o WT (**FIGURA 2A**). Já para a temperatura alternada de 35-15 °C, ambos os genótipos obtiveram uma similaridade na germinação, sendo baixa e lenta (**FIGURA 2C**).

Diversos estudos, como o de Ozden et al. (2021) sugerem que a alternância de temperaturas possui um efeito de estimulação de uma maior taxa germinativa das plantas, atuando na quebra de dormência, por refletir as condições de maior temperatura durante o dia e menor durante a noite, que são encontradas em campo. Entretanto, pelo fato de o tomate ser uma espécie documentada como sensível a altas temperaturas e a mudanças térmicas bruscas (Hazra et al., 2007), tal característica não pode ser refletida nos resultados encontrados no presente estudo.

Isso pode ser observado no tratamento térmico com a menor faixa de amplitude (30/20 °C), que foi o que proporcionou a melhor germinação das sementes de ambos os genótipos, indicando que quanto menor a variação de temperatura entre o dia e a noite, melhor para a germinação dessa espécie como um todo, visto que não houve diferenças genotípicas.

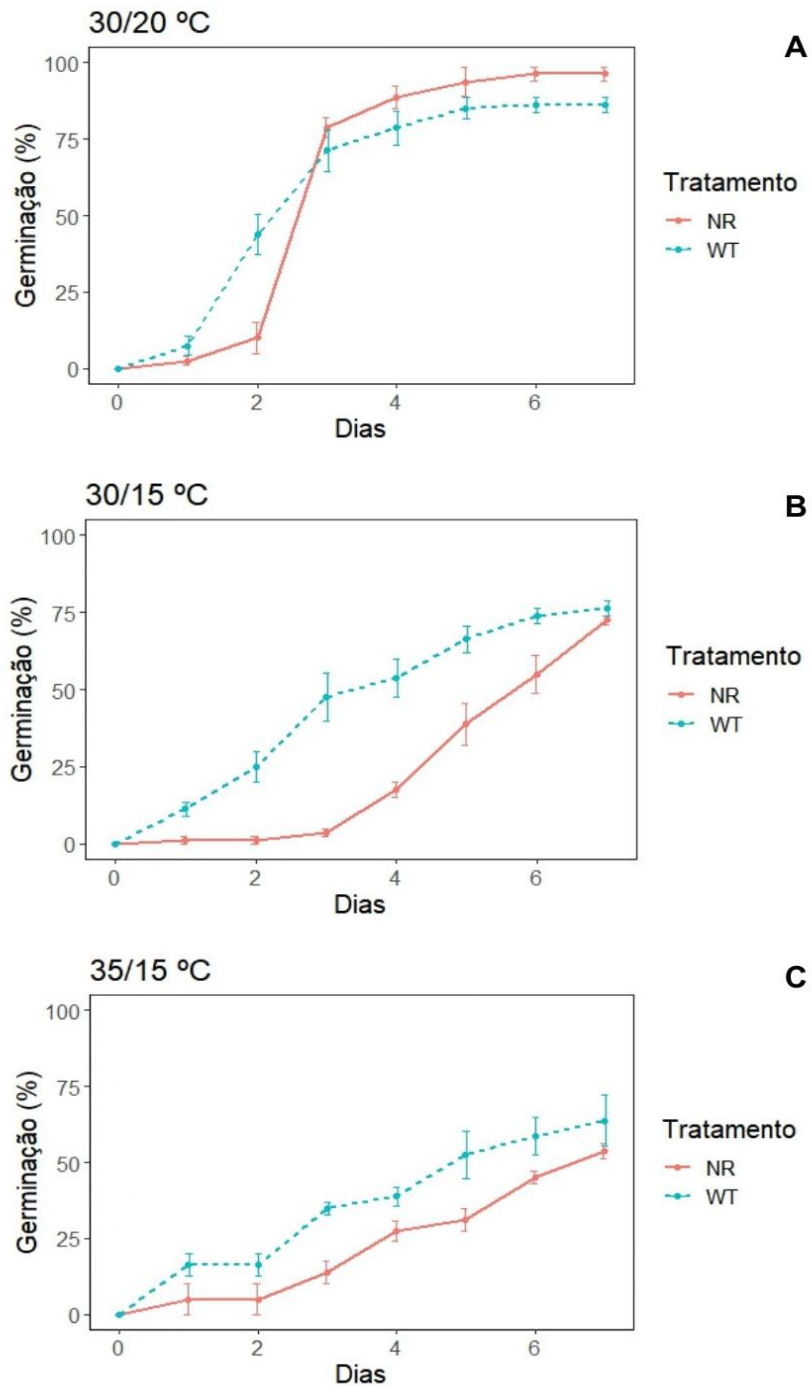
Tabela 2 - Valores da porcentagem de germinação e IVG para os genótipos selvagem (WT) e *Never ripe* em temperaturas de 30-20, 30-15 e 35-15 °C.

	Wild type			<i>Never ripe</i>		
	30/20 °C	30/15 °C	35/15 °C	30/20 °C	30/15 °C	35/15 °C
Germinação (%)	86.3 ± 2.39 Aa	76.3 ± 2.39 Ab	63.8 ± 8.51 Ac	96.3 ± 2.39 Aa	72.5 ± 1.44 Ab	53.8 ± 2.39 Ac
IVG	7.6 ± 0.38 Aa	6.3 ± 0.35 Ab	5.6 ± 0.57 Ab	6.6 ± 3.24 Ba	3.0 ± 0.28 Bb	3.1 ± 0.71 Bb

As letras maiúsculas representam o genótipo e as minúsculas, a temperatura. Letras diferentes representam diferenças significativas entre as médias pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Fonte: Vitor Nascimento; da autora (2023).

Figura 2 - Porcentagem de germinação de sementes de tomate dos genótipos selvagem (WT) e *Never ripe* (Nr) em relação aos dias, nas temperaturas de 30/20 °C (A), 30/15 °C (B) e 35/15 °C (C).



Wild type é representado por linha azul, enquanto *Never ripe* é representado por linha vermelha. Os valores representados são as porcentagens de germinação ao decorrer dos dias.

Fonte: Vitor Nascimento; da autora (2023).

5.2 Índice de Velocidade de Germinação (IVG)

O genótipo WT obteve um índice de velocidade de germinação maior que o genótipo *Nr*, entretanto, de acordo com o teste F, as médias dessa variável entre as temperaturas demonstraram-se estatisticamente iguais (**TABELA 1**). Para as temperaturas alternadas, obteve-se o mesmo padrão (**TABELA 2**).

O menor IVG de *Never ripe* está correlacionado com um atraso na sua germinação, como notado por Souza et al. (2022). Segundo Matilla e Matilla-Vázquez (2008), isso possivelmente dá-se por conta da interação do etileno (ET) com o ácido abscísico (ABA) no controle da dormência. Como esse mutante não possui uma via de sinalização de ET totalmente funcional, ele não consegue atuar contra os efeitos de indução de dormência provocados pelo ABA, o que ocasiona um prolongamento de seu estado dormente. Entretanto, desconhece-se ainda quais mecanismos atuam especificamente para que a germinação desse mutante possua esse *delay*. Dessa forma, mais estudos são necessários para elucidar esses processos completamente e descrevê-los.

A temperatura alternada de 30-20 °C proporcionou um maior IVG em relação aos outros tratamentos, por possuir menor amplitude térmica (10 °C), evidenciando que quanto menor a variação de temperatura, mais rápida será a germinação desses genótipos, o que está de acordo com os dados de porcentagem de germinação para o mesmo tratamento (**TABELA 2**).

6. CONCLUSÃO

Houve diferença nas porcentagens de germinação do mutante *Never ripe* em relação ao genótipo selvagem (WT) em diferentes temperaturas fixas, mostrando uma influência do etileno sobre a germinação nessa condição abiótica. Já para as temperaturas alternadas, não houve diferença entre os genótipos, somente entre os tratamentos térmicos. Dessa forma, percebe-se que quanto mais baixa e quanto maior a diferença das faixas de temperatura, maior será a influência de interação do etileno sob a germinação. O *Nr* possuiu um menor índice de velocidade de emergência para todos os tratamentos, evidenciando um atraso na germinação de suas sementes, mas obteve uma porcentagem de germinação maior comparado ao WT, o que indica que essa mutação pode afetar os estágios iniciais germinativos e pós-germinativos, porém não afetando a germinação total.

Dessa forma, estudos adicionais são necessários, para identificar especificamente onde o etileno age no processo germinativo e quais os mecanismos que fazem com o que o mutante *Never ripe* possua um atraso na germinação de suas sementes.

REFERÊNCIAS

- BEWLEY, J. D. Seed germination and dormancy. **Plant Cell**, v. 9, p. 1055–1066, 1997.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. Seeds: physiology of development and germination. 2nd ed. New York and London: **Plenum Press**, 1994. 445p.
- BEWLEY, J.D.; BRADFORD, K.J.; HILHORST, H.W.M.; NONOGAKI, H. Seeds: physiology of development, germination and dormancy. 3rd ed. New York: Springer, 2013. 392p.
- BURIRO, M.; WADHAYO-GANDAH, A.; CHAND-OAD, F.; IBRAHIM KEERIO, M.; TUNIO, S.; WASEEM HASSAN, S. U.; SONO MAL, O. Wheat seed germination under the influence of temperature regimes. **Sarhad Journal of Agriculture**, v. 27, p. 539-543, 2011.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 4 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.
- DALIL, B. Response of Medicinal plants to Seed priming: A Review. **International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences**, v. 4, n. 2, p. 741-745, 2014.
- DAHAL, P.; KIM, N. S.; BRADFORD, K. J. Respiration and germination rates of tomato seeds at suboptimal temperatures and reduced water potentials. **Journal of Experimental Botany**, v. 47, n. 300, p. 941-947, 1996.
- DUBOIS, M.; VAN DEN BROECK L.; INZÉ, D. The pivotal role of ethylene in plant growth. **Trends in Plant Science**, v. 23, p. 311–323, 2018.
- FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. Germinação: do básico ao aplicado . Porto Alegre: Artmed , 2004. 323p.
- FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. **ExpDes.pt**: Experimental Designs package (Portuguese). R package version 1.1.2, 2013.
- FINCH-SAVAGE, W. E.; LEUBNER-METZGER, G. Seed dormancy and the control of germination. **New Phytologist**, v. 171, p. 501-523, 2006.
- GONAI, T.; KAWAHARA, S.; TOUGOU, M.; SATOH, S.; HASHIBA, T.; HIRAI, N.; KAWAIDE, H.; KAMIYA, Y.; YOSHIOKA, T. Abscisic acid in the thermoinhibition of lettuce seed germination and enhancement of its catabolism by gibberellin. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, p. 111–118, 2004.
- GUZMÁN, P.; ECKER, J. R. Exploiting the triple response of *Arabidopsis* to identify ethylene-related mutants. **Plant Cell**, v. 2, p. 513–523, 1990.
- GRAY, D.; WURR, D.C.E.; WARD, J.A.; FELLOWS, J.R. Influence of post-flowering temperature on seed development, and subsequent performance of crisp lettuce. **Annals of Applied Biology**, v. 113, p. 391-402, 1988.

- HAZRA, P.; ANSARY, S. H.; SIKDER, D.; PETER, K. V. Breeding tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) resistant to high temperature stress. **International Journal of Plant Breeding**, v. 1, n. 1, p. 31-40, 2007.
- HE, H.; SOUZA-VIDIGAL, D.; SNOEK, L. B.; SCHNABEL, S.; NIJVEEN, H.; HILHORST, H.; BENTSINK, L. Interaction between parental environment and genotype affects plant and seed performance in *Arabidopsis*. **Journal Experimental Botany**, v. 65, p. 6603–6615, 2014.
- IQBAL, N.; KHAN, N. A.; FERRANTE, A.; TRIVELLINI A.; FRANCINI, A.; KHAN M. I. R. Ethylene Role in Plant Growth, Development and Senescence: Interaction with Other Phytohormones. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, e475, p. 1-19, 2017.
- KHAEIM, H.; KENDE, Z.; JOLÁNKAI, M.; KOVÁCS, G.P.; GYURICZA, C.; TARNAWA, Á. Impact of Temperature and Water on Seed Germination and Seedling Growth of Maize (*Zea mays* L.). **Agronomy**, v. 12, 397, 2022.
- KENDALL, S. L.; HELLWEGE, A.; MARRIOT, P.; WHALLEY, C.; GRAHAM, I. A.; PENFIELD, S. Induction of dormancy in *Arabidopsis* summer annuals requires parallel regulation of *DOG1* and hormone metabolism by low temperature and CBF transcription factors. **Plant Cell**, v. 23, p. 2568–2580, 2011.
- KUCERA, B.; COHN, M. A.; LEUBNER-METZGER G. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. **Seed Science Research**, v. 15, p. 281-307, 2005.
- LABOURIAU, L. G.; OSBORN, J. H. Temperature dependence of the germination of tomato seeds. **Journal of Thermal Biology**, v. 9, n. 4, p. 285-294, 1984.
- LARCHER, W. Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups. Berlin; Springer, 2003. 533p.
- LANAHAN, M. B.; YAN, H. C.; GIOVANNONI, J. J.; KLEE, H. J. The Never ripe mutation blocks ethylene perception in tomato. **Plant Cell**, v. 6, p. 521-53, 1994.
- LIMA, J. E.; BENEDITO, V. A.; FIGUEIRA, A.; PERES, L. E. P. Callus, shoot and hairy root formation in vitro as affected by the sensitivity to auxin and ethylene in tomato mutants. **Plant Cell Reports**, v. 28, p. 1169–1177, 2009.
- MACHADO-NETO, N. B.; PRIOLI, M. R.; GATTI, A. B.; CARDOSO, V. J. M. Temperature effects on seed germination in races of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 28, n. 2, p. 155-164, 2006.
- MARCOS FILHO, J. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p
- MARCOS FILHO, J. Germinacao de sementes. 1986, Anais.. Campinas: **Fundacao Cargill**, 1986. . Acesso em: 20 dez. 2023.
- MATILLA, A. J.; MATILLA-VÁSQUEZ, M. A. Involvement of ethylene in seed physiology. **Plant Science**, v. 175, p. 85-97, 2008.

MONTEIRO, C. C.; ROLÃO, M. B.; FRANCO, M. R.; PETERS, L. P.; CIA, M. C.; CAPALDI, F. R.; CARVALHO, R. F.; GRATÃO, P. L.; ROSSI, M. L.; MARTINELLI, A. P.; PERES, L. E. P.; AZEVEDO, R. A. Biochemical and histological characterization of tomato mutants. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 84, n. 2, p. 573-585, 2012.

OZDEN, E.; LIGHT, M. E.; DEMIR, I. Alternating temperatures increase germination and emergence in relation to endogenous hormones and enzyme activities in aubergine seeds. **South Africa Journal of Botany**, v. 139, p. 130-139, 2021.

PAWAR, V. A.; LAWARE, S. L. Seed Priming: A Critical Review. **International Journal of Scientific Research in Biological Sciences**, v. 5, n. 5, p. 94-101, 2018.

Rachel M. Hackett, Chin-Wen Ho, Zhefeng Lin, Humphrey C.C. Foote, Rupert G. Fray, Don Grierson, Antisense Inhibition of the Nr Gene Restores Normal Ripening to the Tomato Never-ripe Mutant, Consistent with the Ethylene Receptor- Inhibition Model. **Plant Physiology**, Volume 124, Issue 3, November 2000, Pages 1079–1086

R CORE TEAM. **R**: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2020.

REYNOLDS, T.; THOMPSON, P. A. Characterization of the high temperature inhibition of germination of Lettuce (*Lactuca sativa*). **Physiology Plantarum**, v. 24, p. 544–547, 1971.

SCOTT, J. W.; HARBAUGH, B. K. Micro-Tom, a miniature dwarf tomato. **Florida Agricultural Sciences**, Circular S-370, p. 1–6, 1989.

VARIER, A.; VARI, A. K.; DADLANI, M. The subcellular basis of seed priming. **Current Science**, v. 99, n. 4, p. 450-456, 2010.

WICKHAM, H. **ggplot2**: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer-Verlag New York, 2016.

WILKINSON, J. Q.; LANAHAN, M. B.; YEN H. C.; GIOVANNONI, J. J.; KLEE, H. J. An ethylene-inducible component of signal transduction encoded by never-ripe. **Science**, v. 270, p. 1807–1809, 1995.

YAN, A.; CHEN, Z. The control of seed dormancy and germination by temperature, light and nitrate. **The Botanical Review**, v. 86, p. 39-75, 2020.