



**CARLOS EDUARDO MILLONES CHANAMÉ**

**HERANÇA DA TOLERÂNCIA AO ESTRESSE HÍDRICO EM  
TOMATEIRO**

**LAVRAS-MG**

**2016**

**CARLOS EDUARDO MILLONES CHANAMÉ**

**HERANÇA DA TOLERÂNCIA AO ESTRESSE HÍDRICO EM  
TOMATEIRO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas para a obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. Wilson Roberto Maluf

Orientador

**LAVRAS-MG**

**2016**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Chanamé, Carlos Eduardo Millones.

Herança da tolerância ao estresse hídrico em tomateiro / Carlos  
Eduardo Millones Chanamé. – Lavras : UFLA, 2016.

56 p. : il.

Tese(doutorado)–Universidade Federal de Lavras, 2016.

Orientador(a): Wilson Roberto Maluf.

Bibliografia.

1. Solanum lycopersicum. 2. Estresse hídrico. 3. Podridão  
apical. 4. Densidade estomática. I. Universidade Federal de Lavras.  
II. Título.

**CARLOS EDUARDO MILLONES CHANAMÉ**

**HERANÇA DA TOLERÂNCIA AO ESTRESSE HÍDRICO EM  
TOMATEIRO**

**INHERITANCE OF TOLERANCE TO WATER-STRESS IN  
TOMATO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 01 de dezembro de 2016.

Dr. Sebastião Márcio de Azevedo	SAKATA
Dr. Evaristo Mauro de Castro	UFLA
Dr. Luiz Antônio Augusto Gomes	UFLA
Dra. Flávia Barbosa Silva Botelho	UFLA

Prof. Dr. Wilson Roberto Maluf  
Orientador

**LAVRAS-MG**

**2016**

*A Deus, por guiar-me em todo momento, concedendo saúde, perseverança e coragem para a realização de estudos de doutorado.*

*Aos meus pais, José Aníbal e Juana Rosa, pelo exemplo, ensinamento de os verdadeiros valores da vida e apoio durante toda minha vida profissional. Igualmente, aos meus irmãos Gloria, Luis e Oscar, e aos demais familiares pelo apoio para a concretização das metas traçadas.*

*A minha esposa Ernestina e minha filha Carla, pelo amor, carinho, compreensão e forças nesses momentos tão importantes em nossas vidas.*

**DEDICO**

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Lavras, ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pela oportunidade de realizar o curso e, ao Departamento de Biologia, pela estrutura, pelos serviços prestados pelos funcionários.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Programa de Bolsas OEA-GCUB 2013 pela seleção entre os candidatos das Américas para realizar estudos de doutorado na Universidade Federal de Lavras.

A meu orientador, Dr. Wilson Roberto Maluf pela amizade, apoio e boa vontade em orientar, ensinar e corrigir.

Ao Dr. Evaristo Mauro de Castro, pela atenção, ensinamentos e receptividade no Laboratório de Anatomia Vegetal.

Aos professores do Departamento de Biologia e Departamento de Agricultura pelos ensinamentos recebidos durante o curso.

À Hortiagro Sementes S.A., pela ajuda e apoio na execução dos experimentos, em especial Vicente Licursi, Paulo Moretto e ao Ná.

Ao técnico Italo, pela amizade e disponibilidade para auxiliar-me no laboratório de Anatomia Vegetal.

Aos colegas Allison, Alex, Marcela, Monik, Regis, Douglas, Beatriz, Betsabé, Daniela, Juliana, Jessica F., Jessica N., Gustavo, João, Natália, Rodolfo, Thabata e Leo.

Às secretárias Lilian, Zélia e Rafaela pelo auxílio e amizade.

## RESUMO

A mudança climática deve afetar a demanda de água para irrigação pelas possíveis mudanças nos padrões de precipitação, altas temperaturas e transpiração das culturas. No tomateiro foram obtidas linhagens com altos níveis de tolerância à podridão apical dos frutos induzidas por estresse hídrico. No entanto, fazem-se necessários estudos do controle genético de caracteres associados à esta tolerância ao estresse hídrico, que permita-se desenvolver estratégias nos programas de melhoramento para a seleção de novos genótipos tolerantes. Assim, na primeira parte deste trabalho, objetivou-se estudar a herança da tolerância à podridão apical de frutos de tomateiro induzida por estresse hídrico. Os resultados indicaram que a incidência de podridão apical é controlada por um gene de efeito maior, com dominância parcial do alelo que confere menor incidência, e cuja ação gênica é influenciada por poligenes (modificadores), também com efeitos gênicos predominantemente dominantes. Na segunda parte do trabalho, objetivou-se estudar a herança as densidades estomáticas abaxial e adaxial, e estimar a correlação entre a tolerância à podridão apical induzida por estresse hídrico e as densidades estomáticas. Os resultados indicaram que a densidade estomática adaxial é controlada por um único loco gênico, com efeitos gênicos predominantemente aditivos, não existindo evidência de poligenes modificadores. Os valores de médias de estômatos na face adaxial mostraram-se altamente correlacionados às médias das percentagens de podridão apical, das populações estudadas. As altas correlações registradas dos caracteres em estudo indicam que a seleção para menores densidades estomáticas na face adaxial dos folíolos poderá ser efetiva no sentido de conferir maior tolerância do tomateiro à podridão apical induzida por estresse hídrico.

Palavras-chave: *Solanum lycopersicum*. WELL. Estresse hídrico. Podridão apical. Densidade estomática.

## ABSTRACT

Climate change is expected to affect the demand for irrigation water by possible changes on rainfall patterns, temperature extremes and crop transpiration. Tomato lines were obtained with high levels of tolerance to fruit blossom-end rot induced by water stress. Nevertheless, a study of the inheritance is needed in order to develop suitable strategies for the development of tolerant genotypes. Thus, the first part of this work was to study the inheritance of incidence to blossom-end rot in tomato fruit induced by water stress, showing that a major gene with dominance effect, whose gene action is influenced by polygenes (modifiers), also predominantly dominant gene effects, controls the incidence to blossom - end rot. In the second part of the work was to study the inheritance of tolerance water stress in tomato, related with the abaxial and adaxial stomatal density, and to estimate the correlation between tolerance to blossom-end rot induced by water stress and stomatal densities. The inheritance of adaxial stomatal density is controlled by a single gene locus with predominantly additive effects, with no evidence of poligenes modifiers. The mean stomata values in the adaxial surface were highly correlated to the mean of the blossom-end rot percentages of the populations studied. The high correlations recorded of traits in study indicate that selection for lower stomatal density in adaxial surface of the leaflets may be effective in order to provide greater tolerance to tomato blossom-end rot induced by water stress.

Keywords: *Solanum lycopersicum*. WELL. Water stress. Blossom-end rot. Stomatal density.



## LISTA DE FIGURAS

### SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

#### ARTIGO 1

Figura 1. Distribuição de frequências, relativa à podridão apical, a) genitores TOM-760 ( $P_1$ ), BPX-441D-88 ( $P_2$ ), ponto de truncagem (PT), b)  $F_1$  (TOM-760 x BPX-441D-88), c)  $F_2$  (TOM-760 x BPX-441D-88), d) retrocruzamentos  $F_1RC_{1(1)}$  ( $F_1$  x TOM-760) e  $F_1RC_{1(2)}$  ( $F_1$  x BPX-441D-88). .....29

Figura 2. Testes das hipóteses de herança monogênica, sob diferentes graus de dominância presumidos, relativos à podridão apical de frutos em TOM-760 ( $P_1$ ), BPX-441D-88 ( $P_2$ ), populações  $F_1$  (TOM-760 x BPX-441D-88),  $F_2$  (TOM-760 x BPX-441D-88),  $F_1RC_{1(1)}$  ( $F_1$  x TOM-760),  $F_1RC_{1(2)}$  ( $F_1$  x BPX-441D-88)..... 30

#### ARTIGO 2

Figura 1. Distribuição de frequências, relativa à densidade estomática adaxial, a) genitores TOM-760 ( $P_1$ ), BPX-441D-88 ( $P_2$ ), ponto de truncagem (PT), b)  $F_1$  (TOM-760 x BPX-441D-88), c)  $F_2$  (TOM-760 x BPX-441D-88), d) retrocruzamentos  $F_1RC_{1(1)}$  ( $F_1$  x TOM-760) e  $F_1RC_{1(2)}$  ( $F_1$  x BPX-441D-88) ..... 46

Figura 2. Estrutura anatômica da epiderme adaxial em tomateiro. a) TOM-760 ( $P_1$ ) (genitor suscetível ao estresse hídrico), b) BPX-441D-88 ( $P_2$ ) (genitor tolerante ao estresse hídrico). .....47

Figura 3. Testes das hipóteses de herança monogênica, sob diferentes graus de dominância presumidos, relativos à densidade estomática adaxial em TOM-760 ( $P_1$ ), BPX-441D-88 ( $P_2$ ), populações  $F_1$  (TOM-760 x BPX-441D-88),  $F_2$  (TOM-760 x BPX-441D-88),  $F_1RC_{1(1)}$  ( $F_1$  x TOM-760),  $RC_{1(2)}$  ( $F_1$  x BPX-441D-88). ..... 49

## LISTA DE TABELAS

### SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

#### ARTIGO 1

- Tabela 1. Modelos de herança avaliados para a podridão apical utilizando a função de máxima verossimilhança ..... 27
- Tabela 2. Estimativas das médias em TOM-760 ( $P_1$ ), BPX-441D-88 ( $P_2$ ), populações  $F_1$  (TOM-760 x BPX-441D-88),  $F_2$  (TOM-760 x BPX-441D-88),  $F_1RC_{1(1)}$  ( $F_1$  x TOM-760),  $F_1RC_{1(2)}$  ( $F_1$  x BPX-441D-88) para a podridão apical em frutos de tomate ..... 28
- Tabela 3. Testes de hipóteses de modelos genéticos hierárquicos para a podridão apical em frutos de tomate ..... 31

#### ARTIGO 2

- Tabela 1. Modelos de herança avaliados para a densidade estomática adaxial utilizando a função de máxima verossimilhança ..... 44
- Tabela 2. Estimativas das médias e efeitos genéticos nas densidades estomáticas abaxial e adaxial no modelo aditivo-dominante, avaliados em plantas TOM-760 ( $P_1$ ), BPX-441D-88 ( $P_2$ ), populações  $F_1$  (TOM-760 x BPX-441D-88),  $F_2$  (TOM-760 x BPX-441D-88),  $F_1RC_{1(1)}$  ( $F_1$  x TOM-760),  $F_1RC_{1(2)}$  ( $F_1$  x BPX-441D-88) ..... 45
- Tabela 3. Testes de hipóteses de modelos genéticos hierárquicos para a densidade estomática adaxial ..... 50
- Tabela 4. Valores de médias da podridão apical, densidade estomática abaxial, adaxial nos genitores TOM-760 ( $P_1$ ), BPX-441D-88 ( $P_2$ ) e nas populações  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $F_1RC_{1(1)}$  e  $F_1RC_{1(2)}$  ..... 50
- Tabela 5. Coeficientes de correlação de Pearson entre as médias de densidade estomática abaxial, adaxial versus médias de podridão apical nos genitores TOM-760 ( $P_1$ ), BPX-441D-88 ( $P_2$ ) e nas populações  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $F_1RC_{1(1)}$  e  $F_1RC_{1(2)}$  ..... 51

## SUMÁRIO

<b>PRIMEIRA PARTE</b>	
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO ..... 11</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO ..... 13</b>
<b>2.1</b>	<b>Estresse hídrico e eficiência no uso de água ..... 13</b>
<b>2.2</b>	<b><i>Solanum pennellii</i> e sua resistência ao estresse hídrico ..... 13</b>
<b>2.3</b>	<b>Podridão apical em tomateiro ..... 14</b>
<b>2.4</b>	<b>Desenvolvimento de linhagens de tomateiro tolerantes ao estresse hídrico ..... 15</b>
<b>2.5</b>	<b>Densidade estomática na tolerância ao estresse hídrico ..... 15</b>
	<b>REFERÊNCIAS ..... 17</b>
<b>SEGUNDA PARTE – ARTIGOS</b>	
	<b>ARTIGO 1 - Herança da tolerância à podridão apical causada por estresse hídrico em tomateiro ..... 20</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO ..... 22</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS ..... 24</b>
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO ..... 28</b>
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO ..... 33</b>
	<b>REFERÊNCIAS ..... 34</b>
	<b>ARTIGO 2 - Herança da densidade estomática em tomateiro tolerante ao estresse hídrico ..... 36</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO ..... 38</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS ..... 40</b>
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO ..... 45</b>
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO ..... 52</b>
	<b>REFERÊNCIAS ..... 53</b>

## PRIMEIRA PARTE

### 1 INTRODUÇÃO GERAL

A mudança climática é uma ameaça sem precedentes com impactos potenciais na segurança alimentar para uma população mundial em constante crescimento. É esperado que ela afete a demanda de água para irrigação pelas possíveis mudanças nos padrões de precipitação, temperatura e transpiração da cultura. Por isso, o conhecimento sobre como o estresse hídrico afeta o processo de crescimento e desenvolvimento de uma cultura são fundamentais para o entendimento dos mecanismos de adaptação das plantas ao estresse hídrico.

Os programas de melhoramento genético que visam à seleção de plantas com maior eficiência no uso da água e tolerância ao estresse hídrico têm obtido menor sucesso devido à complexidade da característica, que é controlada por muitos genes com diferentes efeitos e é afetada pela intensidade do estresse (MORALES et al., 2015).

O acesso de tomateiro selvagem resistente à seca *Solanum pennellii* “LA716” foi utilizado em cruzamentos e retrocruzamentos com a cultivar Micro-Tom, tendo-se obtido exemplo de sucesso uma linhagem (denominada WELL “*Water Economy Locus in Lycopersicon*”) com tolerância ao estresse hídrico. A linhagem WELL por sua vez foi utilizada em cruzamentos com linhagens comerciais, tendo sido obtidas duas linhagens com tolerância à podridão apical induzida por estresse hídrico, entre as quais BPX-441D-88 a qual apresenta qualidades próximas a uma cultivar comercial, possui tolerância à podridão apical de frutos induzida por estresse hídrico, e é possivelmente portadora do locus WELL, responsável pela maior eficiência no uso de água (MORALES et al., 2015).

A podridão apical (*Blossom-End Rot*) do tomateiro é uma desordem fisiológica comum que afeta a qualidade e valor comercial dos frutos de tomateiro. O sintoma característico aparece externamente como uma área pequena e úmida ao redor do ápice do fruto formando uma necrose deprimida, coriácea que se transforma gradualmente de marrom a quase preta (SAURE, 2001), e é comumente induzida por estresse hídrico e baixo nível de cálcio em os frutos (ADAMS; HO, 1993; BARICKMAN; KOPSELL; SAMS, 2014; SAURE, 2001; TONETTO et al., 2014; UOZOMI et al., 2012).

Modificações nos caracteres morfológicos das folhas podem conduzir à otimização de suas funções sob estresse hídrico, tendo como resposta uma maior produtividade de matéria seca e um eficiente uso de água (TANAKA et al., 2010). Uma abordagem a esta questão é

avaliar os caracteres de uso eficiente de água em genótipos ou populações que exibem caracteres anatômicos e morfológicos contrastantes na folha, os quais possam influenciar em uma menor perda de água (NERKAR; WILSON; LAWES, 1981). Em cevada, *Vicia faba* e soja, a frequência estomática (número de estômatos por unidade de área foliar) tem atraído a atenção como um recurso facilmente quantificável que responde rapidamente à seleção e que, em conjunto com as dimensões estomáticas, pode influenciar na contribuição da condutância estomática e transpiração da folha (BUTTERY et al., 1993; MISKIN; RASMUSSEN; MOSS, 1972; NERKAR; WILSON; LAWES, 1981).

No entanto, a complexidade dos caracteres que envolve o estresse hídrico tem limitado o desenvolvimento de cultivares tolerantes. O estudo do controle genético dos caracteres morfológicos e fisiológicos associados com tolerância ao estresse hídrico se faz necessário para seu uso na seleção indireta de genótipos tolerantes ao estresse hídrico de modo a aumentar a eficiência dos programas de melhoramento genético.

O presente trabalho teve como objetivos, estudar a herança da tolerância à podridão apical de frutos de tomateiro induzida por estresse hídrico, e sua relação com a densidade estomática.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Estresse hídrico e eficiência no uso de água

O estresse hídrico em plantas é uma moderada perda de água que conduz ao fechamento de estômatos e limitação da troca gasosa. Caracteriza-se pela redução do conteúdo de água, da turgência, do potencial hídrico total, com murcha, fechamento de estômatos e descenso no alongamento e crescimento celular (OLIVEIRA; ALENCAR; GOMÉS-FILHO, 2013).

Plantas submetidas a diferentes estresses abióticos e bióticos, desenvolvem adaptações para lidar com tais estresses, por meio de mudanças bioquímicas e fisiológicas, sintetizando moléculas adaptativas dentro de estruturas organizadas. Em consequência, iniciam-se uma série de transduções de sinais originadas pelo estresse, que envolvem diferentes tipos de genes (ZIAF et al., 2011). Desta forma, as plantas desenvolvem mecanismos que lhes permitem perceber o início do estresse hídrico, e rapidamente regulam sua fisiologia e metabolismo diminuindo a perda de água por meio de fechamento parcial dos estômatos, crescimento foliar reduzido, diminuição da perda de turgência foliar ou evitando danos irreversíveis relacionados com o sistema de membranas (OLIVEIRA; ALENCAR; GOMÉS-FILHO, 2013).

Uma abordagem amplamente adotada no melhoramento para tolerância ao estresse hídrico tem sido o aumento da eficiência no uso da água (*Water-Use-Efficiency* – WUE) das culturas. A eficiência do uso de água é um parâmetro útil que relaciona os fluxos de CO<sub>2</sub> total fixado (benefício) por unidade de água perdida (custo). O WUE é definido em vários níveis espaço-temporais, onde as expressões de WUE mais frequentemente encontradas são intrínsecas, e é definido como o índice entre a assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A) e da condutância estomática (gs), termo introduzido para comparar as propriedades independentes da fotossíntese com os da demanda de evaporação (ZSÖGÖN, 2011).

### 2.2 *Solanum pennellii* e sua resistência ao estresse hídrico

Alguns acessos de espécies selvagens relacionadas ao tomateiro (como *S. cheesmaniae* de frutos alaranjados, *S. pimpinellifolium* de frutos vermelhos, e *S. pennellii* de fruto verde) possuem alto grau de tolerância à salinidade e ao estresse hídrico. Os estudos comparativos das espécies selvagens de tomateiro podem ajudar a identificar fatores genéticos chave envolvidos na domesticação, assim como genes envolvidos na tolerância ao estresse abiótico (ATARÉS et al., 2011). O parente selvagem do tomate, *S. pennellii*, é originário dos desertos do Peru, sendo

capaz de crescer e reproduzir-se em uma quantidade mínima de água, resistindo à murcha em seu ambiente nativo. *S. pennellii* requer menos água que o tomateiro cultivado e tem uma maior eficiência no uso da água quando se descreve o crescimento em termos de consumo de água por grama de peso fresco (KAHN et al., 1993).

### **2.3 Podridão apical em tomateiro**

A podridão apical é uma desordem fisiológica causada por deficiência de cálcio nos frutos e comumente induzida por estresse hídrico (ADAMS; HO, 1993; SAURE, 2001). Ocorre comumente em pimenta (*Capsicum annuum*), berinjela (*Solanum melongena*), melancia (*Citrullus lunatus*), e em tomate é registrado em todas as áreas produtoras do mundo, gerando perdas de até 50% (TAYLOR; LOCASCIO; ALLIGOOD, 2004). Essa desordem fisiológica afeta a qualidade e o valor comercial dos frutos do tomateiro, sendo seu sintoma característico o aparecimento externo de uma área pequena e úmida ao redor do ápice do fruto, perto ao estilete da flor, que gradualmente se escurece, aumenta de tamanho e se contrai à medida que os tecidos infectados perdem água (SAURE, 2001).

Suzuki, Shono e Egawa (2003) indicaram que na etapa de maior desenvolvimento do fruto de tomate há um maior teor de precipitados de cálcio nas membranas dos frutos normais, comparados com os frutos com podridão apical, sugerindo que a deficiência do teor de cálcio na membrana plasmática ocasiona a necrose durante o desenvolvimento da podridão apical. A deficiência local do Ca em frutos de tomateiro pode ser causada pela seca ou fornecimento insuficiente de Ca na zona da raiz, que ocorre com frequência quando a umidade e teores de Ca do substrato não são adequadas. Nestas circunstâncias, ocorre a menor absorção de Ca pelas raízes ou distribuição inadequada de Ca no fruto nos períodos de maior demanda de Ca (ADAMS; HO, 1993). Há evidências de que a deficiência de Ca é a causa primária da podridão apical, asseveração derivada a partir de observações de que o ápice do fruto afetado pela podridão apical tem sempre menor teor de Ca que os frutos normais (SAURE, 2001). Existe uma clara influência genética na susceptibilidade de diferentes cultivares à podridão apical; frutos de cultivares suscetíveis à podridão apical geralmente têm menor concentração de cálcio que aqueles de cultivares não suscetíveis, imediatamente após da antese (HO; WHITE, 2005).

## 2.4 Desenvolvimento de linhagens de tomateiro tolerantes ao estresse hídrico

Zsögön (2011) relata o desenvolvimento da linhagem WELL (*Water Economy Locus in Lycopersicon*) por meio do cruzamento do cultivar Micro-Tom com a espécie selvagem *S. pennelli* acesso LA-716, potencial doadora de genes para tolerância ao estresse hídrico e uso eficiente de água (WUE). A linhagem WELL foi obtida por retrocruzamentos sucessivos para a cultivar de microtomateiro Micro-Tom, efetuando-se em cada geração seleções de plantas mais tolerantes ao murchamento sob estresse hídrico. Análises fisiológicas mostraram que as folhas do WELL possuem menor condutância estomática sob estresse hídrico do que sua linha quase isogênica Micro-Tom, apesar da densidade estomática semelhante ou ligeiramente aumentada, o que implica mais estômatos fechados, ou seja, um aumento da sensibilidade estomática ao déficit de água nas folhas de WELL (ZSÖGÖN, 2011). Contudo, uma vez que WELL ainda não está num *background* comercial, foram efetuados cruzamentos com linhagens comerciais, visando a obtenção de cultivares de tomateiro com maior eficiência no uso de água e tolerância a seca. Desta forma, foi obtida a linhagem BPX-441D-88 (a partir de duas autofecundações do cruzamento [TOM-684 x (WELL x M-82)], a qual apresenta baixos níveis de podridão apical induzida por déficit hídrico (MORALES et al., 2015). Oliveira (2016), verificou que a menor incidência de podridão apical na linhagem BPX-441D-88 sob estresse hídrico está associada à menor densidade estomática nas duas faces dos folíolos, e principalmente, na face adaxial.

## 2.5 Densidade estomática na tolerância ao estresse hídrico

Os estômatos desempenham um papel importante no controle da evaporação de água e troca gasosa nas folhas das plantas. A transpiração e fotossíntese são reguladas pelas mudanças do tamanho dos poros estomáticos. O funcionamento do aparelho estomático é influenciado pelo ambiente da planta e, portanto, a regulação estomática da transpiração é exercida por fatores internos e externos (CAMARGO; MARENCO, 2011; HAWORTH; ELLIOTT-KINGSTON; McELWAIN, 2011). Os estômatos controlam a condutância estomática sob diversas condições ambientais como luz, umidade relativa, concentração de CO<sub>2</sub> e condição hídrica da planta, para otimizar a absorção de CO<sub>2</sub> e taxa de transpiração. Cultivares com diferentes densidades estomáticas ou tamanho por unidade de área foliar podem ter diferentes capacidades de controle da troca gasosa (AMINIAN et al., 2010).



O estudo da densidade, distribuição, herança e interação com o ambiente dos estômatos favoreceria o desenvolvimento de plantas com um eficiente uso de água e mais produtivas (LIANG et al., 1975). Uma reduzida densidade estomática, bem como a redução da taxa absoluta de perda de água, seria esperada incrementar a taxa de fotossínteses em relação à transpiração, o que teria alguns benefícios adaptativos sob condições de estresse hídrico (BUTTERY et al., 1993). Portanto, é esperado que as culturas possam ser melhoradas através da modificação dos caracteres morfológicos da folha que conduzam à otimização de sua função de otimizar o uso eficiente de água (OHSUMI et al., 2007; TANAKA; FUJII; SHIRAIWA, 2010; TANZARELLA; DePACE; FILIPPETTI, 1984).

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, P.; HO, L.C. Effects of environment on the uptake and distribution of calcium in tomato and the incidence of blossom-end rot. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 154, n. 1, p. 127-132, 1993.
- AMINIAN, R. et al. The genetic analysis of stomatal frequency and size, stomatal conductance, photosynthetic rate and yield in wheat (*Triticum aestivum* L.) using substitution lines series. **Wheat Inf. Serv.**, Japan, v. 110, n. 1, p. 25–34, 2010.
- ATARÉS, A. et al. An insertional mutagenesis programme with an enhancer trap for the identification and tagging of genes involved in abiotic stress tolerance in the tomato wild-related species *Solanum pennellii*. **Plant Cell Rep.**, Heidelberg, v. 30, n. 10, p. 1865-1879, 2011.
- BARICKMAN, T.C.; KOPSELL, D.A.; SAMS, C.E. Foliar applications of abscisic acid decrease the incidence of blossom-end rot in tomato fruit. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 179, n. 1, p. 356-362, 2014.
- BUTTERY, B.R. et al. Stomatal numbers of soybean and response to water stress. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 149, n. 2, p. 283-288, 1993.
- CAMARGO, M.A.B.; MARENCO, R.A. Density, size and distribution of stomata in 35 rainforest tree species in Central Amazonia. **Acta Amazonica**. Manaus, v. 41, n. 2, p. 205-212, 2011.
- HAWORTH, M.; ELLIOTT-KINGSTON, C.; McELWAIN, J.C. Stomatal control as a driver of plant evolution. **Journal of Experimental Botany**. Oxford, v. 62, n. 8, p. 2419-2423, 2011.
- HO, L.C.; WHITE, P.J. A cellular hypothesis for the induction of blossom-end rot in tomato fruit. **Annals of Botany**, Oxford, v. 95, n. 4, p. 571-581, 2005.
- KAHN, T.L. et al. Characterization of expression. Of drought-and abscisic acid-regulated tomato genes in the drought-resistant species *Lycopersicon pennellii*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 103, n. 2, p. 597-605, 1993.

LIANG, G.H.; DAYTON, A.D.; CHU, C.C.; CASADY, A.J. Heritability of stomatal density and distribution on leaves of grain sorghum. **Crop Science**. Madison, v. 15, n. 4, p. 567-573, 1975.

MISKIN, K.E.; RASMUSSEN, D.C.; MOSS, D.N. Inheritance and physiological effects of stomatal frequency in barley. **Crop Science**, Madison, v. 12, n. 6, p. 780-783, 1972.

MORALES RG.F. et al. Selection of tomato plant families using characters related to water deficit resistance. **Horticultura Brasileira**, Brasilia, v.33, n. 1, p. 27-33, 2015.

NERKAR, Y.S.; WILSON, D.; LAWES, D.A. Genetic variation in stomatal characteristics and behavior, water use and growth of five *Vicia faba* L. genotypes under contrasting soil moisture regimes. **Euphytica**, Wageningen, v. 30, n. 2, p. 335-345. 1981.

OHSUMI, A. et al. Genotypic variation of stomatal conductance in relation to stomatal density and length in rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Production Science**. Kyoto, v. 10, n. 3, p. 322-328, 2007.

OLIVEIRA, A.B.; ALENCAR, N.L.M.; GOMÉS-FILHO, E. Comparison between the water and salt stress effects on plant growth and development. In: AKINCI, S. (Ed.) **Responses of organisms to water stress**. INTECH, 2013, p. 67-94.

OLIVEIRA, A.M. **Resistência de tomateiros a geminivírus e a estresse hídrico**. 2016. 80p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SAURE, M.C. Blossom-end rot of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) – a calcium – or a stress-related disorder?. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 90, n. 4, p. 193-208, 2001.

SUZUKI, K.; SHONO, M.; EGAWA, Y. Localization of calcium in the pericarp cells of tomato fruits during the development of blossom-end rot. **Protoplasma**, Vienna, v. 222, n. 4, p. 149-156, 2003.

TANAKA, Y.; FUJII, K.; SHIRAIWA, T. Variability of leaf morphology and stomatal conductance in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] cultivars. **Crop Science**, Madinson, v. 50, n. 6, p. 2525-2532. 2010.

TANZARELLA, O.A.; DePACE, C.; FILIPPETTI, A. Stomatal frequency and size in *Vicia faba* L. **Crop Science**. Madison, v. 24, n. 6: 1070-1076, 1984.

TAYLOR, M.D.; LOCASCIO, S.J.; ALLIGOOD, M.R. Blossom-end rot incidence of tomato as affected by irrigation quantity, calcium source, and reduced potassium. **HortScience**, Alexandria, v. 39, n. 5, p. 1110-1115, 2004.

TONETTO, S. et al. Calcium partitioning and allocation and blossom-end rot development in tomato plants in response to whole-plant and fruit-specific abscisic acid treatments. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 65, n. 1, p. 235-247, 2014.

UOZOMI, A. et al. Tolerance to salt stress and blossom-end rot in an introgression line, IL8-3, of tomato. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 138, n. 1, p. 1-6. 2012.

ZIAF, K. et al. A multiple stress-responsive gene ERD15 from *Solanum pennellii* confers stress tolerance in tobacco. **Plant Cell Physiology**, Oxford, v. 52, n. 6, p. 1055-1067, 2011.

ZSÖGÖN, A. **Identification and characterization of a tomato introgression line with reduced wilting under drought**. 2011, 188 p. Thesis (Doctor in Agronomy) – University of Canberra, Canberra-Australia.

## **Artigo 1: Herança da tolerância à podridão apical causada por estresse hídrico em tomateiro**

### **RESUMO**

O conhecimento do controle genético dos caracteres relacionados à tolerância ao estresse hídrico é de interesse para os programas de melhoramento genético que visam à seleção de genótipos tolerantes. O objetivo da presente pesquisa foi estudar a herança da tolerância à podridão apical de frutos de tomateiro induzida por estresse hídrico. Utilizou-se uma linhagem padrão suscetível ao estresse hídrico TOM-760 ( $P_1$ ) em cruzamento com a linhagem tolerante BPX-441D-88 ( $P_2$ ). Obteve-se a população  $F_1$  ( $P_1 \times P_2$ ), e posteriormente por autofecundação e por retrocruzamento com cada um dos genitores obtiveram-se as populações  $F_2$ ,  $F_1RC_{1(1)}$  ( $= F_1 \times P_1$ ) e  $F_1RC_{1(2)}$  ( $= F_1 \times P_2$ ), respectivamente. Os genitores mostraram-se divergentes quanto a incidência de podridão apical: BPX-441D-88 registrou percentagem de podridão apical 35 vezes menor que a registrada pelo genitor TOM-760. O teste de  $\chi^2$  aplicado às gerações estudadas, com diferentes graus de dominância presumidos, bem como os testes envolvendo a função de verossimilhança confirmaram que a incidência à podridão apical é controlada por um gene de efeito maior, com dominância parcial, cuja ação gênica é influenciada por poligenes (modificadores), também com efeitos gênicos predominantemente dominantes.

Palavras-chave: *Solanum lycopersicum*. WELL, Herança. Estresse hídrico. Podridão apical.

## ABSTRACT

Knowledge of the genetic control of traits related to resistance to water stress is of interest to breeding programs aimed at selection of tolerant genotypes. The objective of this work was to study the inheritance of tolerance to blossom-end rot in tomato fruit induced by water stress. The susceptible line to water stress TOM-760 ( $P_1$ ) was crossed with the tolerant line BPX-441D-88 ( $P_2$ ). Produced  $F_1$  population ( $P_1 \times P_2$ ), which were selfing and backcrossing with each parent to produce the  $F_2$ ,  $F_1RC_{1(1)}$  ( $= F_1 \times P_1$ ) and  $F_1RC_{1(2)}$  ( $= F_1 \times P_2$ ) populations, respectively. The parents showed to be divergent with relation to blossom-end rot incidence; BPX-441D-88 parent the percentage of blossom-end rot was found to be 35 times lower than that of the TOM-760 parent. The  $\chi^2$  test was applied to the generations studied under different presumed degrees of dominance, along with a test based on maximum likelihood estimators. Both tests indicated the presence of a single major gene, with partial dominance, controlling blossom-end rot tolerance, whose action is nevertheless influenced by polygenes (modifiers) also with predominantly dominant gene effects.

Keywords: *Solanum lycopersicum*. WELL. Inheritance. Water deficit. Blossom-end rot.

## 1 INTRODUÇÃO

O estresse hídrico é considerado o estresse abiótico que mais limita a produtividade das culturas no mundo, e seu efeito é economicamente devastador porque pode ocorrer nas diferentes etapas de desenvolvimento da cultura (CHEN et al., 2013; PATANÉ, 2011). O tomateiro também é sensível ao estresse hídrico em diferentes etapas de desenvolvimento, desde a germinação até a formação do fruto, podendo experimentar mudanças em nível molecular, morfológico, fisiológico e celular (FLORIDO; BAO, 2014).

A podridão apical está principalmente associada a uma insuficiência da umidade do solo, e é um fator serio na etapa inicial de desenvolvimento do fruto, na qual a limitada umidade do solo pode ser agravada por uma maior taxa de transpiração da planta (SAURE, 2001). É uma desordem fisiológica comum que afeta a qualidade e o valor comercial dos frutos do tomateiro. O sintoma característico da podridão apical aparece em forma externa como uma área pequena e úmida ao redor do ápice do fruto, perto ao estilete da flor, que gradualmente escurece, aumenta de tamanho e se contrai à medida que os tecidos infectados perdem água (ADAMS; HO, 1993).

Há evidências de que a deficiência de Ca é a causa principal da podridão apical, asseveração derivada a partir de observações de que o extremo distal do fruto tem sempre o menor conteúdo de Ca dentro dos frutos de tomateiro, e de que o teor de Ca no fruto afetado pela podridão apical é menor do que em frutos saudáveis (SAURE, 2001). A podridão apical é portanto uma deficiência local do Ca em frutos de tomateiro, que pode ser causada pelo estresse hídrico ou por um fornecimento insuficiente de Ca na zona de raiz, uma vez que ocorre com frequência quando a umidade e teores de Ca do substrato não são totalmente adequadas. Nestas circunstâncias, as mais prováveis causas do distúrbio são baixas absorções de Ca pelas raízes e a distribuição inadequada de Ca para o fruto em um período de alta demanda de Ca (ADAMS; HO, 1993).

Existem acessos de espécies selvagens relacionadas ao tomateiro [como *S. cheesmaniae* (de frutos alaranjados) *S. pimpinellifolium* (de frutos vermelhos) e *S. pennellii* (de frutos verdes)], que possuem alto grau de tolerância à salinidade e à seca, com genes envolvidos na tolerância aos estresses abióticos (ATARÉS et al., 2011). O parente selvagem do tomate, *S. pennellii*, é capaz de desenvolver e reproduzir com uma quantidade mínima de água, e resiste à murcha em seu ambiente nativo. *S. pennellii* requer menos água do que o tomateiro cultivado e tem uma maior eficiência no uso da água quando se descreve o crescimento em termos de consumo de água por grama de peso fresco (KAHN et al., 1993).

Foi desenvolvida a linhagem WELL (*Water Economy Locus in Lycopersicon*) por meio do cruzamento da cultivar Micro-Tom com a espécie selvagem *S. pennelli* acesso LA-716, potencial doadora de genes para tolerância ao estresse hídrico e uso eficiente de água (WUE) (ZSÖGÖN, 2011). A linhagem WELL foi obtida por retrocruzamentos sucessivos para a cultivar de microtomateiro Micro-Tom, efetuando-se em cada geração seleções de plantas mais resistentes ao murchamento sob estresse hídrico. Análises fisiológicas mostraram que as folhas do WELL possuem menor condutância estomática sob estresse hídrico do que sua linha quase isogênica Micro-Tom, apesar da densidade estomática semelhante ou ligeiramente aumentada, o que implica mais estômatos fechados, ou seja, um aumento da sensibilidade estomática ao déficit de água nas folhas de WELL (ZSÖGÖN, 2011). Contudo, uma vez que WELL ainda não está num *background* comercial, foram efetuados cruzamentos com linhagens comerciais, visando à obtenção de cultivares de tomateiro com maior eficiência no uso de água e resistência a seca. Desta forma, foi obtida a linhagem pre-comercial BPX-441D-88 (a partir de duas autofecundações do cruzamento [TOM-684 x (WELL x M-82)], a qual apresenta baixos níveis de podridão apical induzida por estresse hídrico (MORALES et al., 2015). Oliveira (2016), verificou que a menor incidência de podridão apical na linhagem BPX-441D-88 sob estresse hídrico está associada à menor densidade estomática nas duas faces dos folíolos, e principalmente, na face adaxial.

Bhargava; Sawant (2013), indicam que os caracteres fenotípicos associados a culturas tolerantes ao estresse hídrico servem como uma ferramenta importante para os programas de melhoramento na identificação de genótipos tolerantes ao estresse e sua introgressão em genótipos comerciais. Portanto, a compreensão da regulação genética da podridão apical para determinar a resposta do tomateiro a uma reduzida disponibilidade de água permitiria desenvolver estratégias nos programas de melhoramento para selecionar genótipos tolerantes ao estresse hídrico. O presente trabalho teve como objetivo estudar a herança da tolerância a podridão apical em frutos de tomateiro induzida por estresse hídrico na linhagem resistente BPX-441D-88.



## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na Estação Experimental da Empresa HortAgro Sementes S.A. em Ijaci, MG. Brasil (21°14'16" de latitude sul e 45°08'00" de longitude, com altitude de 918 m). Para estudo do controle genético foram utilizados dos genitores, a linhagem TOM-760 (P<sub>1</sub>) suscetível à podridão apical, é uma linhagem de *background* genotípico comum à linhagem comercial TOM-684, com a mesma gama de resistência a patógenos, mas possuidora adicionalmente de alto teor de acilaçúcares nos folíolos, o que lhe confere uma resistência a amplo espectro de pragas de importância (SILVA, 2012; MARCHESE, 2013). A linhagem BPX-441D-88 (P<sub>2</sub>) foi obtida por seleção a partir de duas autofecundações do cruzamento [TOM-684 x (WELL x M-82)], e relatada como tolerante à podridão apical causada por estresse hídrico (MORALES et al., 2015). TOM-684 e M-82 são linhagens comerciais de tomateiro de mesa e indústria, respectivamente.

As hibridações foram realizadas entre a linhagem TOM-760 (P<sub>1</sub>) e a linhagem BPX-441D-88 (P<sub>2</sub>), para a obtenção de sementes F<sub>1</sub>. O genitor feminino foi a linhagem TOM-760 (P<sub>1</sub>) e o masculino a linhagem BPX-441D-88 (P<sub>2</sub>). A geração F<sub>2</sub> foi obtida pela autofecundação de plantas F<sub>1</sub>, as quais foram também utilizadas na obtenção de retrocruzamentos, obtendo-se as populações F<sub>1</sub>RC<sub>1(1)</sub> (= P<sub>1</sub> x F<sub>1</sub>) e F<sub>1</sub>RC<sub>1(2)</sub> (= P<sub>2</sub> x F<sub>1</sub>).

Sementes dos genitores TOM-760 (P<sub>1</sub>) e BPX-441D-88 (P<sub>2</sub>) e das gerações F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, F<sub>1</sub>RC<sub>1(1)</sub> e F<sub>1</sub>RC<sub>1(2)</sub>, foram semeadas em bandejas de isopor de 128 células, preenchidas com substrato comercial. As irrigações foram realizadas de acordo com as exigências das plântulas até o ponto de transplante. Foram transplantadas 42, 42, 42, 204, 96 e 96 plântulas das populações P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, F<sub>1</sub>RC<sub>1(1)</sub>, F<sub>1</sub>RC<sub>1(2)</sub>, respectivamente, com 3 a 4 folhas verdadeiras, para vasos em casa de vegetação dispostos de maneira inteiramente casualizada na área experimental, sendo a distância entre vasos de 0,4 m e de 1,1 m entre linhas. Os vasos, com 4L de capacidade, continham 20% de substrato comercial e 80% de solo retirado de área não cultivada. A esta mistura foi adicionada uma adubação básica, de 260 kg/ha de 16-20-0, de 260 kg/ha de 15-15-15 na floração e de 195 kg/ha de ureia na fase de formação de frutos, sendo esta última fracionada para o segundo, terceiro e quarto rácimo formado.

O sistema de irrigação foi por gotejamento com um índice de fluxo de 3L/hora, definindo a irrigação em função de uma percentagem da reposição de água consumida. Três dias antes do início do estresse hídrico (30 dias após o transplante para vasos) foi suspensa a irrigação até que as plantas do progenitor TOM-760 apresentassem sintomas iniciais de murcha. Para efetuar a reposição de água, saturou-se com volume de água conhecido quatro vasos

selecionados ao acaso no experimento, tomando-se a média de água drenada e a partir desses dados foi calculada a média de capacidade de campo. Utilizou-se reposição equivalente a 40% da capacidade de campo no experimento todo. O procedimento de reposição foi efetuado uma única vez, até que se atingisse o final do experimento, que se deu quando as plantas tinham 4 cachos. Plantas foram tutoradas com estacas de bambu, e as brotações foram eliminadas semanalmente. A capina foi realizada de forma que a cultura permanecesse limpa até o início da colheita. Cada planta foi conduzida com um haste e 4 racimos em cada uma das populações  $P_1$ ,  $P_2$ ,  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $F_1RC_{1(1)}$  e  $F_1RC_{1(2)}$ , respectivamente. Anotou-se a incidência de frutos normais e frutos com podridão apical, e os resultados foram expressos em percentagem de podridão apical por planta avaliada.

Os dados de podridão apical obtidos foram utilizados para a determinação do tipo de herança envolvida na expressão dessa característica. Foram utilizadas duas metodologias: teste de hipóteses de herança monogênica (sob diferentes graus médios de dominância presumidos), e teste de modelos genéticos utilizando a função de máxima verossimilhança.

No teste de hipóteses de diferentes graus de dominância (GD) presumidos foi adaptado do procedimento de Menezes et al (2005), utilizando o nível de 10% de podridão apical como ponto de truncagem (PT) (Figura 1a). A hipótese de herança monogênica foi testada sob vários GD, partindo das seguintes pressuposições:

- a. os dados nos genitores  $P_1$  e  $P_2$  e na população  $F_1$  e  $F_2$  foram assumidas seguir uma distribuição de frequências, ao invés de estimativas de ponto;
- b. o ponto de truncagem (PT) foi estabelecido como sendo 10% de podridão apical, correspondente a um valor de podridão apical acima do qual se situou a maior parte das plantas de  $P_1$  e abaixo da qual se situou a maior parte das plantas de  $P_2$ ;
- c. para cada uma das gerações parentais, a média populacional ( $\bar{P}_1$  e  $\bar{P}_2$ ) foi considerada igual à respectiva média estimada, e a variância verdadeira considerada igual à respectiva variância estimada;
- d. com base nas respectivas curvas de distribuição normais, foram estimadas as porcentagens esperadas de plantas em  $P_1$  e  $P_2$  com média menor ou igual ao ponto de truncagem (PT);
- e. a média da geração  $F_1$  foi admitida como sendo:  $\bar{F}_1 = \frac{(\bar{P}_1 + \bar{P}_2)}{2} + GD \cdot \frac{(\bar{P}_2 - \bar{P}_1)}{2}$ , sendo o GD o grau de dominância presumido e  $\bar{P}_1$  e  $\bar{P}_2$  as médias dos respectivos parentais. A variância verdadeira para a população  $F_1$  foi admitida como sendo igual à respectiva variância estimada;

- f. sob um dado grau médio de dominância presumido, a frequência esperada em  $F_2$  de plantas com % podridão apical  $\leq PT$ , sob a hipótese de herança monogênica, foi calculada como sendo a média ponderada das frequências esperadas em  $P_1$ ,  $F_1$  e  $P_2$ , com ponderações de 1:2:1 respectivamente;
- g. sob hipótese de herança monogênica, calcularam-se, para  $F_1RC_{1(1)}$  e  $F_1RC_{1(2)}$ , as frequências esperadas do número de plantas com média da podridão apical  $\leq PT$  como sendo a média ponderada das frequências esperadas em  $P_1$  e  $F_1$ , com ponderações de 1:1, respectivamente, para  $F_1RC_{1(1)}$ , e a média ponderada das frequências esperadas em  $F_1$  e  $P_2$ , com ponderações de 1:1, respectivamente, para  $F_1RC_{1(2)}$ ;
- h. as frequências esperadas das plantas com média da podridão apical  $\leq PT$  obtidas para  $P_1$  (item c),  $P_2$  (item c),  $F_1$  (item e),  $F_2$  (item f),  $F_1RC_{1(1)}$  e  $F_1RC_{1(2)}$  (item g) foram multiplicadas pelo número de plantas avaliadas por geração, obtendo-se, assim, o número esperado de plantas com média de podridão apical  $\leq PT$  sob hipótese de herança monogênica com o grau de dominância GD considerado;
- i. os números esperados de plantas em  $P_1$ ,  $P_2$ ,  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $F_1RC_{1(1)}$  e  $F_1RC_{1(2)}$  com médias de podridão apical  $\leq PT$  foram comparados aos números efetivamente obtidos, computando-se o valor de chi-quadrado. Para a obtenção dos valores de chi-quadrado as classes  $P_1$  e  $P_2$  foram somadas de modo a evitar frequências esperadas inferiores a 5. Desta forma foram computados valores de chi-quadrado com 4 graus de liberdade;
- j. a significância do valor de chi-quadrado obtido levará à rejeição da hipótese de herança monogênica sob o grau de dominância considerado. Por outro lado, a não significância do valor de chi-quadrado obtido levará à não rejeição dessa hipótese, admitindo-se, então, a possibilidade de tratar-se de herança monogênica sob o GD considerado.

A hipótese de herança monogênica, com possível presença de poligenes modificadores, foi também testada por meio de modelos empregando a função de máxima verossimilhança proposta por Silva (2003). A função da máxima verossimilhança foi constituída considerando uma característica que pode apresentar um gene com efeito maior, bem como variação entre indivíduos com um mesmo genótipo devido à ação de efeitos ambientais e ou de genes de efeitos menores. A partir das funções de verossimilhança para cada modelo foi possível compor testes de interesse, considerando diferentes hipóteses. Os testes foram realizados utilizando-se um software estatístico denominado “Monogen v 0.1” desenvolvido por Silva (2003), que utiliza os modelos de herança descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Modelos de herança avaliados para a podridão apical utilizando a função de máxima verossimilhança.

<b>Modelo</b>	<b>Parâmetros</b>
1 = gene maior com efeito aditivo e de dominância + poligenes com efeitos aditivo e de dominância	$\mu, A, D, [a], [d], V_A, V_D, S_{AD}, \sigma^2$
2 = gene maior com efeitos aditivo e de dominância + poligenes com efeito aditivo apenas	$\mu, A, D, [a], V_A, \sigma^2$
3 = gene maior com efeito aditivo apenas + poligenes com efeitos aditivo e de dominância	$\mu, A, [a], [d], V_A, V_D, S_{AD}, \sigma^2$
4 = gene maior com efeito aditivo apenas + poligenes com efeito aditivo apenas	$\mu, A, [a], V_A, \sigma^2$
5 = poligenes com efeitos aditivo e de dominância	$\mu, [a], [d], V_A, V_D, S_{AD}, \sigma^2$
6 = poligenes com efeito aditivo apenas	$\mu, [a], V_A, \sigma^2$
7 = gene maior com efeitos aditivo e de dominância	$\mu, A, D, \sigma^2$
8 = gene maior com efeito aditivo apenas	$\mu, A, \sigma^2$
9 = apenas efeito do ambiente	$\mu, \sigma^2$

sendo:

$\mu$ : constante de referência;

A: efeito aditivo do gene de efeito maior;

D: efeito de dominância do gene de efeito maior;

[a]: componente poligênico aditivo;

[d]: componente poligênico de dominância;

$V_A$ : variância aditiva;

$V_D$ : variância de dominância;

$S_{AD}$ : componente de variação relativa aos produtos dos efeitos poligênicos aditivos pelos efeitos poligênicos de dominância;

$\sigma^2$ : variância ambiental.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O genitor P<sub>2</sub> (BPX-441D-88), linhagem tolerante ao estresse hídrico, registrou uma média de podridão apical de 0,88%, 35 vezes menor que a percentagem de podridão apical registrada no genitor P<sub>1</sub> (TOM-760) (30,73%), linhagem suscetível ao estresse hídrico. Essa menor podridão registrada no genitor P<sub>2</sub> influenciou no sentido de uma menor percentagem de podridão apical nas populações F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, F<sub>1</sub>RC<sub>1(1)</sub> e F<sub>1</sub>RC<sub>1(2)</sub>, respectivamente (Tabela 2, Figura 1).

Tabela 2. Estimativas das médias em TOM-760 (P<sub>1</sub>), BPX-441D-88 (P<sub>2</sub>), populações F<sub>1</sub> (TOM-760 x BPX-441D-88), F<sub>2</sub> (TOM-760 x BPX-441D-88), F<sub>1</sub>RC<sub>1(1)</sub> (F<sub>1</sub> x TOM-760), F<sub>1</sub>RC<sub>1(2)</sub> (F<sub>1</sub> x BPX-441D-88) para a podridão apical em frutos de tomate.

<b>Parâmetro</b>	<b>Podridão apical (% ± desvio padrão)</b>
$\bar{P}_1$ (TOM-760)	30,73 ± 28,83
$\bar{P}_2$ (BPX-441D-88)	0,88 ± 3,35
$\bar{F}_1$ (TOM-760 x BPX-441D-88)	13,95 ± 19,18
$\bar{F}_2$ (TOM-760 x BPX-441D-88)	9,80 ± 16,14
$\bar{F}_1RC_{1(1)}$ (F <sub>1</sub> x TOM-760)	23,61 ± 25,75
$\bar{F}_1RC_{1(2)}$ (F <sub>1</sub> x BPX-441D-88)	5,49 ± 14,48

Na faixa de graus de dominância (GD), entre -0,4 e -1,0 aproximadamente as percentagens de podridão apical foram coerentes com a hipótese de segregação de um loco gênico, uma vez que, dentro destes limites o valor de  $\chi^2$  encontrado após as simulações foi inferior ao do nível  $\alpha = 0,05$  (Figura 2). Assim, a incidência de podridão parece ser controlada por apenas um locus gênico, com dominância parcial no sentido de menor podridão apical. O grau de dominância -0,70 foi o que mostrou menores valores de  $\chi^2$ , reforçando a hipótese de que a ação gênica é de dominância incompleta (Figura 2) no sentido de menores percentagens de podridão apical.

Na determinação de modelos genéticos pela função de verossimilhança (SILVA, 2003), o teste que compara o modelo 7 ao modelo 9 (Tabela 1 e 3) indicou a presença de um gene maior com efeitos aditivos e de dominância. O teste que compara o modelo 3 ao modelo 5 mostrou que os efeitos aditivos do gene maior não são significativos (Tabela 3). O teste que compara o modelo 7 ao modelo 8 indicou que os efeitos de dominância do gene maior são significativos. O teste que compara o modelo 1 ao modelo 7 indica o efeito de poligenes

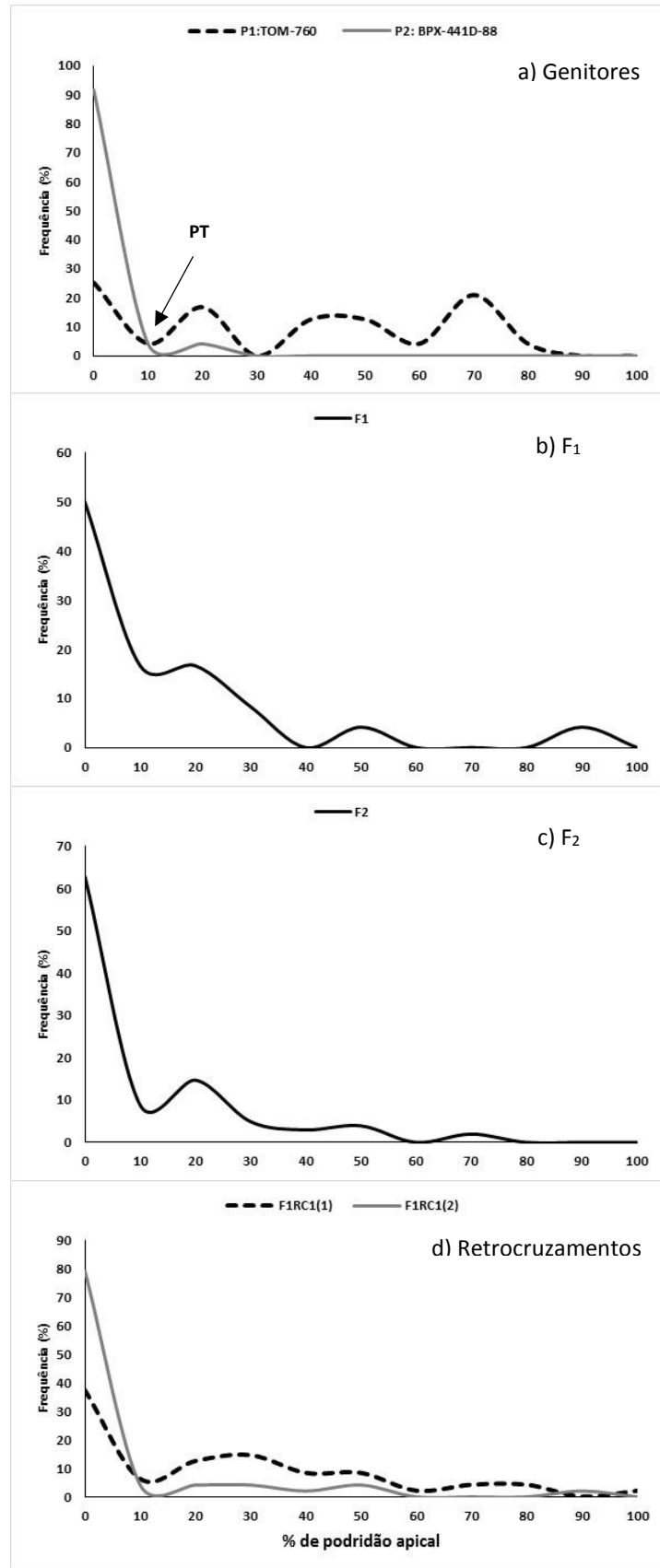


Figura 1. Distribuição de frequências, relativa à podridão apical, a) genitores TOM-760 ( $P_1$ ), BPX-441D-88 ( $P_2$ ), ponto de truncagem (PT), b)  $F_1$  (TOM-760 x BPX-441D-88), c)  $F_2$  (TOM-760 x BPX-441D-88), d) retrocruzamentos  $F_1RC_{1(1)}$  ( $F_1$  x TOM-760) e  $F_1RC_{1(2)}$  ( $F_1$  x BPX-441D-88).

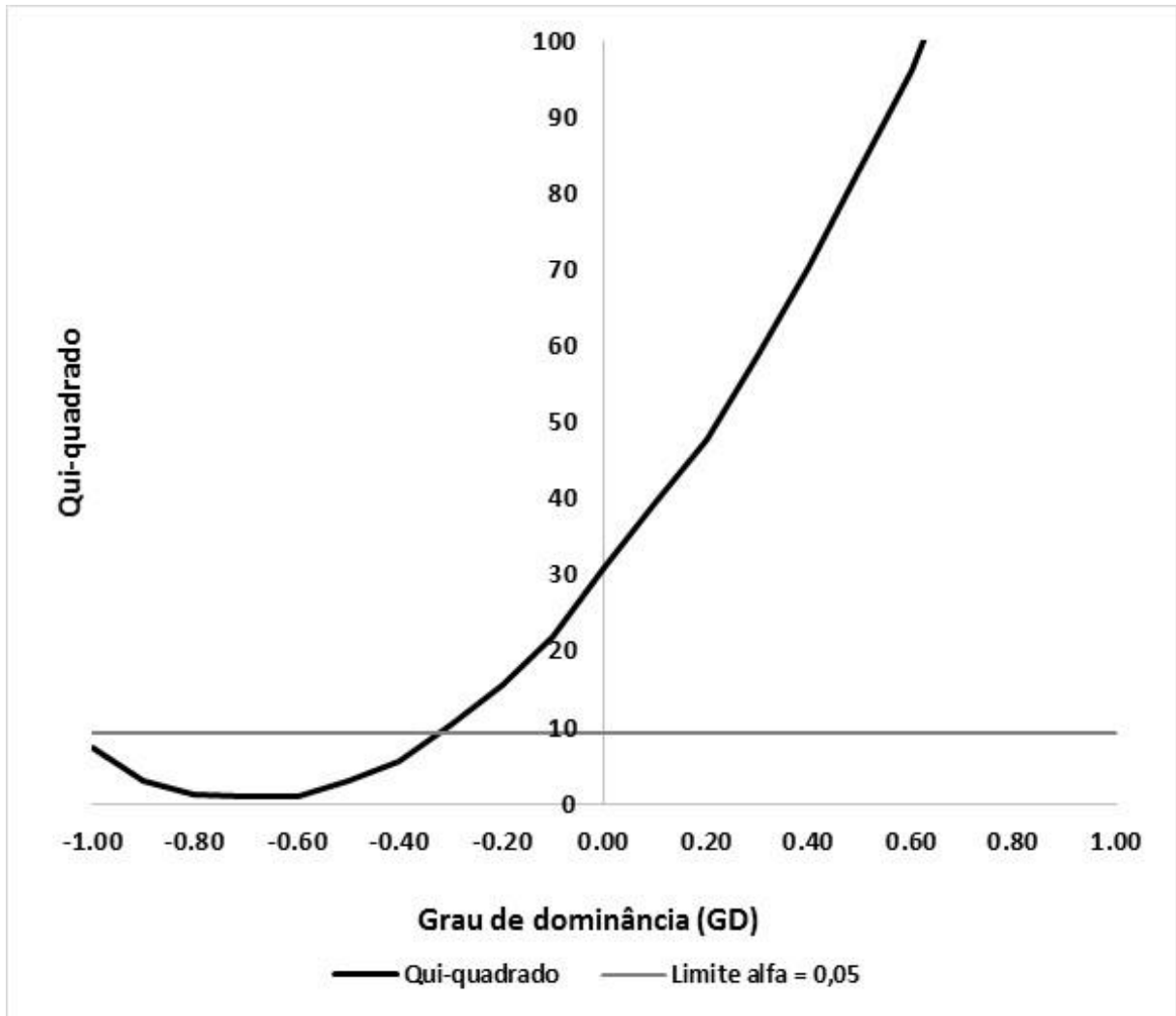


Figura 2. Testes das hipóteses de herança monogênica, sob diferentes graus de dominância presumidos, relativos à podridão apical de frutos em TOM-760 ( $P_1$ ), BPX-441D-88 ( $P_2$ ), populações  $F_1$  (TOM-760 x BPX-441D-88),  $F_2$  (TOM-760 x BPX-441D-88),  $F_1RC_{1(1)}$  ( $F_1$  x TOM-760),  $F_1RC_{1(2)}$  ( $F_1$  x BPX-441D-88).

(modificadores) com efeitos aditivos e de dominância, enquanto a comparação do modelo 1 ao modelo 2 indica que os efeitos de dominância dos poligenes modificadores são significativos, e a comparação do modelo 2 ao modelo 7 indicou que os efeitos poligênicos aditivos não são significativos (Tabela 3).

Tabela 3. Testes de hipóteses de modelos genéticos hierárquicos para a podridão apical em frutos de tomate.

<b>Modelos <sup>1</sup></b>	<b>Graus de liberdade (GL)</b>	<b>Chi-quadrado calculado (<math>\chi^2c</math>)</b>	<b>Probabilidade (P)</b>
7 vs 9	2	92,8238966	0,00000042
3 vs 5	1	0,0000022	0,99882270
7 vs 8	1	27,4554894	0,00000025
1 vs 7	5	18,8162217	0,00207978
1 vs 2	3	18,7534576	0,00030755
2 vs 7	2	0,0627641	0,96910524

<sup>1</sup>: Testes de razão de verossimilhança, feitos por meio da estatística LR, com o programa estatístico Monogen v. 0.1 (SILVA, 2003).

Conclui-se pois que a tolerância à podridão apical é controlada por um gene de efeito maior, com dominância, cuja ação gênica é influenciada por poligenes (modificadores), também com efeitos gênicos predominantemente dominantes.

Ambas metodologias utilizadas permitem aceitar a hipóteses da ocorrência de um gene maior controlando a incidência de podridão apical. A menor percentagem de podridão apical em frutos de tomate parece pois controlada por um gene maior com efeito de dominância, cuja ação gênica é no entanto influenciada por poligenes.

Saure (2001) relata que a podridão apical ocorre quando o estresse sob qual encontra-se submetida a planta excede sua tolerância, mais frequentemente em frutos jovens que começam o alongamento de células. Neste trabalho observou-se que o genitor BPX-441D-88 mostrou uma alta tolerância ao estresse hídrico registrando uma menor taxa de podridão apical (0,88%) mostrando uma divergência com o genitor TOM-760 suscetível ao estresse hídrico (30,73%). Menor percentagem de podridão apical na linhagem BPX-441D-88 foi relatada por Morales et al (2015) indicando que a podridão apical é uma característica promissora que se manifesta quando o tomateiro se encontra em condições de estresse hídrico. Oliveira (2016) indica também que essa linhagem é eficiente em reduzir a incidência de podridão apical. A alta tolerância ao estresse hídrico pela menor percentagem de podridão apical na linhagem BPX-



441D-88 parece estar associada ao locus WELL caracterizado por conferir uma maior tolerância ao estresse hídrico (ZSÖGÖN, 2011), uma vez que ela foi obtida a partir de cruzamentos envolvendo o microtomateiro WELL.

#### **4 CONCLUSÃO**

A incidência da podridão apical no cruzamento entre TOM-760 (suscetível ao estresse hídrico) e BPX-441D-88 (tolerante ao estresse hídrico) é controlada por um gene de efeito maior com dominância incompleta no sentido de menor incidência, e cuja ação gênica é influenciada por poligenes.

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, P.; HO, L.C. Effects of environment on the uptake and distribution of calcium in tomato and the incidence of blossom-end rot. **Plant and Soil**. Dordrecht, v. 154, n. 1, p. 127-132, 1993.
- ATARÉS, A. et al. An insertional mutagenesis programme with an enhancer trap for the identification and tagging of genes involved in abiotic stress tolerance in the tomato wild-related species *Solanum pennellii*. **Plant Cell Rep.**, Heidelberg, v. 30, n. 10, p. 1865-1879, 2011.
- BHARGAVA, S.; SAWANT, K. Drought stress adaptation: metabolic adjustment and regulation of gene expression. **Plant Breeding**. Berlin, v. 132, n. 1, p. 21-32. 2013.
- CHEN, C.H. et al. Heritability and genetic relationships for drought-related traits in peanut. **Crop Science**. Madison, v. 53, n. 4, p. 1392-1402, 2013.
- FLORIDO, M.; BAO, L. Tolerancia a estrés por déficit hídrico en tomate (*Solanum lycopersicum* L.). **Cultivos Tropicales**. La Habana, v. 35, n. 3, p. 70-88, 2014.
- KAHN, T.L. et al. Characterization of expression. Of drought-and abscisic acid-regulated tomato genes in the drought-resistant species *Lycopersicon pennellii*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 103, n. 2, p. 597-605, 1993.
- MARCHESE, A. **Resistência à mosca-branca e ao ácaro-rajado mediada por acilaçúcares e pelo gene Mi em tomateiro**. 2013, 63p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- MENEZES, C.B. et al. Inheritance of parthenocarpy in summer squash (*Cucurbita pepo* L.). **Genetics and Molecular Research**, v. 4, p. 39-46, 2005.
- MORALES RG.F. et al. Selection of tomato plant families using characters related to water deficit resistance. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 1, p. 27-33, 2015.
- OLIVEIRA, A.M. **Resistência de tomateiros a geminivírus e a estresse hídrico**. 2016. 80p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PATANÈ, C. Leaf area index, leaf transpiration and stomatal conductance as affected by soil water deficit and VPD in processing tomato in semi arid Mediterranean climate. **J. Agronomy & Crop Science**. Malden, v. 197, n. 3, p. 165-176, 2011.

SAURE, M.C. Blossom-end rot of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) – a calcium – or a stress-related disorder?. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 90, n. 4, p. 193-208, 2001.

SILVA, A.A. **Resistência de genótipos de tomateiro com teores foliares contrastantes de aleloquímicos a *Liriomyza trifolii* (Burgess) (Diptera: Agromyzidae) e a *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae)**. 2012. 81p. Tese (Mestrado/Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SILVA, J.A. **Estimadores de máxima verossimilhança em misturas de densidade normais: uma aplicação em genética**. 2003, 60p. Tese (Mestrado em Agronomia/Estatística e Experimentação Agropecuária) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

ZSÖGÖN, A. **Identification and characterization of a tomato introgression line with reduced wilting under drought**. 2011, 188 p. Thesis (Doctor in Agronomy) – University of Canberra, Canberra-Australia.

**Artigo 2: Herança da densidade estomática em tomateiro tolerante ao estresse hídrico****RESUMO**

O conhecimento do controle genético dos caracteres relacionados à tolerância ao estresse hídrico é de interesse essencial para os programas de melhoramento genético na seleção de genótipos tolerantes ao estresse hídrico nas populações segregantes. Os objetivos da presente pesquisa foram, estudar a herança das densidades estomáticas abaxial e adaxial, e estimar a correlação entre a tolerância à podridão apical induzida por estresse hídrico e as densidades estomáticas. Utilizou-se a linhagem padrão suscetível ao estresse hídrico TOM-760 ( $P_1$ ) em cruzamento com uma linhagem tolerante à podridão apical induzida por estresse hídrico BPX-441D-88 ( $P_2$ ). Obteve-se a população  $F_1$  ( $P_1 \times P_2$ ), e posteriormente por autofecundação e por retrocruzamento com cada um dos genitores, obtiveram-se as populações  $F_2$ ,  $F_1RC_{1(1)}$  ( $= F_1 \times P_1$ ) e  $F_1RC_{1(2)}$  ( $= F_1 \times P_2$ ), respectivamente. Realizaram-se cortes paradérmicos nos folíolos de plantas das populações em estudo, expressando os resultados em número de estômatos por  $mm^2$  nas faces adaxial e abaxial, respectivamente. Os genitores mostraram-se divergentes quanto à densidade estomática na face adaxial, mas não na abaxial. O genitor BPX-441D-88 registrou a densidade estomática adaxial cerca de 35% menor que o genitor suscetível ao estresse hídrico. Testes de  $\chi^2$  sob diferentes graus médios de dominância presumidos, e modelos envolvendo função de máxima verossimilhança indicaram que a densidade estomática adaxial é controlada por um único loco gênico, com efeitos predominantemente aditivos, não existindo evidência de poligenes modificadores. Os valores de médias da densidade estomática na face adaxial, mostraram-se altamente correlacionados às médias das percentagens de podridão apical, das populações estudadas. As altas correlações registradas dos caracteres em estudo indicam que a seleção para menores densidades estomáticas na face adaxial dos folíolos pode ser efetiva no sentido de conferir maior tolerância do tomateiro à podridão apical induzida por estresse hídrico.

Palavras-chave: *Solanum lycopersicum*. WELL. Herança. Estresse hídrico. Densidade estomática.

## ABSTRACT

Knowledge of the genetic control of traits related to tolerance to water stress is of essential interest to the breeding programs for selection of tolerant genotypes in segregating populations. The objectives of this work were to study the inheritance the abaxial and adaxial stomatal density, and to estimate the correlation between tolerance to blossom-end rot induced by water stress and those stomatal densities. The water stress susceptible line TOM-760 ( $P_1$ ) was crossed with blossom-end rot tolerant line BPX-441D-88 ( $P_2$ ). Produced the  $F_1$  population ( $P_1 \times P_2$ ), which were selfing and backcrossing with each parent to produce the  $F_2$   $F_1RC_{1(1)}$  ( $= F_1 \times P_1$ ) and  $F_1RC_{1(2)}$  ( $= F_1 \times P_2$ ) populations, respectively. Epidermal cuts were made in leaflets from individual plants from each population, and the counts were expressed as number of stomata per  $mm^2$  adaxial and abaxial leaf surfaces. The parents showed to be divergent with relation in the adaxial surface, but not on the abaxial surface. The BPX-441D-88 parent had the lowest adaxial stomatal density, about 35% less than the susceptible parent TOM-760. The  $\chi^2$  tests under different presumed degrees of dominance, and method based on maximum likelihood estimators indicated that the adaxial stomatal density is controlled by a single gene locus with predominantly additive effects, with no evidence of polygene modifiers. The mean values in the adaxial surface were highly correlated to mean of the blossom-end rot percentages of the populations studied. The high correlations recorded of traits in study indicate that selection for lower stomatal density in adaxial surface of the leaflets may be effective in order to provide greater tolerance to tomato blossom-end rot induced by water stress.

Keywords: *Solanum lycopersicum*. WELL. Inheritance. Water deficit. Stomatal density.

## 1 INTRODUÇÃO

A escassez de água para irrigação tende a aumentar drasticamente a curto prazo, principalmente, devido às mudanças climáticas e ao aumento da demanda por produção agrícola para alimentar a população mundial em crescimento (ZIMMERMANN, 2013). O conhecimento sobre como o estresse hídrico afeta o processo de crescimento e desenvolvimento de uma cultura são fundamentais para o entendimento dos mecanismos de adaptação das plantas à seca. Esforços têm sido dedicados à seleção das plantas a uma menor perda de água, e a obter maior eficiência no uso de água por meio do desenvolvimento de genótipos tolerantes ao estresse hídrico (MORALES et al., 2015; ZSÖGÖN, 2011). Assim, o acesso de tomateiro selvagem resistente à seca *Solanum pennellii* “LA716” foi utilizado em cruzamentos e retrocruzamentos com a cultivar de micro tomateiro Micro-Tom, tendo-se obtido uma linhagem denominada WELL (“*Water Economy Locus in Lycopersicon*”), com tolerância a estresse hídrico. Contudo, WELL, um micro-tomateiro, não está num background agrônômico apropriado para produção comercial de tomate, de modo que o valor prático dessa tolerância ao estresse hídrico não pode ser facilmente avaliado. A linhagem WELL foi então utilizada em cruzamentos com linhagens comerciais, tendo sido obtidas duas linhagens, entre as quais BPX-441D-88 que apresentou maior tolerância à podridão apical induzida por estresse hídrico (MORALES et al., 2015). Estudos posteriores de Millones et al (2016, em publicação) demonstraram que esta tolerância é controlada por um gene maior, muito provavelmente o locus WELL, relatado por Zsögön (2011) como responsável pela maior eficiência no uso de água.

Uma abordagem ao melhoramento genético visando à tolerância ao estresse hídrico seria avaliar os caracteres relacionados ao uso eficiente de água em genótipos ou populações que exibem caracteres anatômicos e morfológicos contrastantes na folha, os quais possam influenciar em uma menor perda de água (NERKAR; WILSON; LAWES, 1981).

A perda de água pela planta, via transpiração, bem como a absorção de CO<sub>2</sub> durante a fotossíntese, são reguladas por estômatos, estruturas especializadas da epiderme foliar (CAMARGO; MARENCO, 2011; HAWORTH; ELLIOTT-KINGSTON; McELWAIN, 2011). A condutância estomática tem um papel crítico na regulação dos fluxos de água e CO<sub>2</sub>. Ela é responsável pela eficiência no uso de água pela planta, e é determinada pelas características morfológicas, tamanho e densidade dos estômatos (GALMÉS et al., 2013; TANAKA; FUJII; SHIRAIWA, 2010). O estudo da densidade, distribuição, herança e interação com o ambiente dos estômatos resultaria no desenvolvimento de plantas com um eficiente uso de água e mais produtivas (LIANG et al., 1975).

Uma reduzida densidade estomática, bem como a redução da taxa absoluta de perda de água, seria esperada incrementar a taxa de fotossínteses em relação à transpiração, o que teria alguns benefícios adaptativos sob condições de estresse hídrico (BUTTERY et al., 1993). Por outro lado, plantas com maior densidade estomática, têm maiores taxas de condutância estomática e de fotossínteses (WOODWARD; LAKE; QUICK, 2002), no entanto, sob condições de limitação de água nas culturas a produtividade diminui, portanto o maior número de estômatos é esperado para obter maior taxa de fotossínteses, mas com menor tamanho de estômato que permita abrir e fechar rapidamente, proporcionando uma capacidade de aumento rápido da condutância estomática, maximizando a difusão de CO<sub>2</sub> no interior da folha durante as condições favoráveis da fotossínteses (HETHERINGTON; WOODWARD, 2003).

Portanto, é esperado que as culturas possam ser melhoradas através da modificação dos caracteres morfológicos da folha que conduzam à otimização de sua função de otimizar o uso eficiente de água (OHSUMI et al., 2007; TANAKA; FUJII; SHIRAIWA, 2010; TANZARELLA; DePACE; FILIPPETTI, 1984).

Em cevada, soja, feijão-fava, sorgo, trigo, feijão, arroz a densidade estomática é um caráter facilmente quantificável que responde rapidamente à seleção e que se espera influenciar na condutância estomática e transpiração da folha (BHAGWAT; BHATIA, 1993; BUTTERY et al., 1993; MISKIN; RASMUSSEN; MOSS, 1972; MUCHOW; SINCLAIR, 1989; NERKAR, WILSON; LAWES, 1981; OHSUMI et al., 2007; TANZARELLA; DePACE; FILIPPETTI, 1984;). É possível que a maior tolerância ao estresse hídrico da linhagem BPX-441D-88 descrita por Morales et al (2015) seja consequência de modificações nos caracteres morfológicos da folha, que conduzam à maior produtividade de matéria seca e a um eficiente uso de água, conforme o sugerido por Tanaka et al (2010). Oliveira (2016), determinou que a menor incidência de podridão apical em BPX-441D-88 está associada à menor densidade estomática nas duas faces dos folíolos, e principalmente, na face adaxial.

A compreensão da regulação genética da densidade estomática para determinar a resposta da cultura a uma reduzida disponibilidade de água permitiria desenvolver estratégias nos programas de melhoramento para selecionar genótipos tolerantes ao estresse hídrico. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivos estudar a herança das densidades estomáticas abaxial e adaxial em genótipos de tomateiro contrastantes quanto à tolerância à podridão apical induzida por estresse hídrico, e estimar a correlação genética entre a tolerância à podridão apical e densidade estomática.



## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na Estação Experimental da Empresa HortAgro Sementes S.A. em Ijaci, MG. Brasil (21°14'16" de latitude sul e 45°08'00" de longitude, com altitude de 918 m). A linhagem TOM-760 (P<sub>1</sub>) suscetível à podridão apical, é uma linhagem de *background* genotípico comum à linhagem comercial TOM-684, com a mesma gama de resistência a patógenos, mas possuidora adicionalmente de alto teor de acilaçúcares nos folíolos, o que lhe confere uma resistência a amplo espectro de pragas de importância (SILVA, 2012; MARCHESE, 2013). A linhagem BPX-441D-88 (P<sub>2</sub>) foi selecionada a partir de duas autofecundações do cruzamento [TOM-684 x (WELL x M-82)], e relatada previamente como tolerante à podridão apical causada por estresse hídrico (MORALES et al., 2015).

As hibridações foram realizadas entre a linhagem TOM-760 (P<sub>1</sub>) e a linhagem BPX-441D-88 (P<sub>2</sub>), para a obtenção de semente F<sub>1</sub>. O genitor feminino foi a linhagem TOM-760 (P<sub>1</sub>) e o masculino a linhagem BPX-441D-88 (P<sub>2</sub>). A geração F<sub>2</sub> (P<sub>1</sub> x P<sub>2</sub>) foi obtida pela autofecundação de plantas F<sub>1</sub>, as quais foram também utilizadas na obtenção de retrocruzamentos para os genitores P<sub>1</sub> e P<sub>2</sub>, obtendo-se as populações F<sub>1</sub>RC<sub>1(1)</sub> (= P<sub>1</sub> x F<sub>1</sub>) e F<sub>1</sub>RC<sub>1(2)</sub> (= P<sub>2</sub> x F<sub>1</sub>).

Obtidas as sementes dos genitores BPX-441D-88 e TOM-760 e as populações F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, F<sub>1</sub>RC<sub>1(1)</sub> e F<sub>1</sub>RC<sub>1(2)</sub>, as mudas foram produzidas em bandejas de isopor de 128 células, preenchidas com substrato comercial. As irrigações foram realizadas de acordo com as exigências das plântulas. Foram transplantadas 42, 42, 42, 204, 96 e 96 plântulas das populações P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, F<sub>1</sub>RC<sub>1(1)</sub>, F<sub>1</sub>RC<sub>1(2)</sub>, respectivamente. Uma amostra ao acaso de 24, 24, 24, 102, 48, 48 plantas dessas respectivas populações foi tomada para estudos de herança de densidade estomática. Plântulas com 3 a 4 folhas verdadeiras foram transplantadas para vasos em casa de vegetação, e dispostas de maneira inteiramente casualizada na área experimental, com a distância entre plantas de 0,4 m e de 1,1 m entre linhas.

As plantas foram conduzidas em vasos de 4L de capacidade, contendo 20% de substrato comercial e 80% de solo de área não cultivada. A esta mistura foi adicionada uma adubação básica, de 260 kg/ha de 16-20-0, de 260 kg/ha de 15-15-15 na floração e de 195 kg/ha de ureia na fase de formação de frutos, sendo esta última fracionada para o segundo, terceiro e quarto racimo formado. O sistema de irrigação foi por gotejamento com um índice de fluxo de 3L/hora, definindo a irrigação em função de uma percentagem da reposição de água consumida. Três dias antes do início do estresse hídrico (30 dias após o transplante para vasos) foi suspensa a

irrigação até que as plantas do progenitor TOM-760 suscetível ao estresse hídrico apresentassem sintomas iniciais de murcha. Para efetuar a reposição de água, saturou-se com volume de água conhecido quatro vasos selecionados ao acaso no experimento, tomando-se a média de água drenada e a partir desses dados foi calculada a média de capacidade de campo. Utilizou-se reposição equivalente a 40% da capacidade de campo no experimento todo. O procedimento de reposição foi efetuado uma única vez, até que se atingisse o final do experimento, que se deu quando as plantas tinham 4 cachos. Plantas foram tutoradas com estacas de bambu, e as brotações foram eliminadas semanalmente. A capina foi realizada de forma que a cultura permanecesse limpa até o início da colheita.

Aos 75 dias após a sementeira, folíolos maduros do terço médio da planta foram coletados e colocados em etanol 70%. Quando os folíolos perderam clorofila, apresentando cor esbranquiçada, foram realizados cortes paradérmicos nas suas faces abaxial e adaxial, os quais foram clarificados em hipoclorito de sódio 2,5%, lavados com água destilada e coloridos com safranina 1%. Posteriormente, os cortes foram montados em lâminas com glicerina 50% para posterior obtenção das fitomicrografias utilizando microscópio de luz (Olympus CX31, com câmara adaptada Olympus U-TV1x-2).

Na determinação da densidade estomática, os estômatos foram contados em dez diferentes campos tanto na face abaxial como na adaxial dos folíolos de cada planta, utilizando-se 10X de magnificação. Os resultados foram expressos em número de estômatos por mm<sup>2</sup> nas faces abaxial ou adaxial.

A análise das médias das gerações para estudos da herança de densidade estomática foi avaliada levando-se em conta o modelo aditivo-dominante (m, [a], [d]).

$$\hat{m} = \frac{1}{2} \bar{P}_1 + \frac{1}{2} \bar{P}_2 + 4 \bar{F}_2 - 2 \overline{F_1 RC_{1(1)}} - 2 \overline{F_1 RC_{1(2)}};$$

$$[a] = \frac{1}{2} \bar{P}_1 - \frac{1}{2} \bar{P}_2$$

$$[d] = -\frac{3}{2} \bar{P}_1 - \frac{3}{2} \bar{P}_2 - \bar{F}_1 - 8 \bar{F}_2 + 6 \overline{F_1 RC_{1(1)}} + 6 \overline{F_1 RC_{1(2)}};$$

Para testar a significância das hipóteses dos parâmetros  $\hat{m}$ , [a], [d] foi utilizado o aplicativo computacional em genética e estatística, GENES, versão Windows (CRUZ, 2013).

Os dados de densidade estomática abaxial e adaxial também foram utilizados na determinação do tipo de herança envolvida na expressão dessa característica, avaliada sob duas metodologias: teste de hipóteses de herança monogênica (sob diferentes graus médios de dominância presumidos), e teste de modelos genéticos utilizando a função de máxima verossimilhança.

O teste de hipóteses de diferentes graus de dominância (GD) presumidos foi adaptado do procedimento de Menezes et al (2005), utilizando um número de 90 estômatos x mm<sup>2</sup> na face adaxial como ponto de truncagem (PT) (Figura 1a). A hipótese de herança monogênica foi testada sob vários GD, partindo das seguintes pressuposições:

- a. distribuição dos dados nos genitores P<sub>1</sub> e P<sub>2</sub> e na população F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub> foram assumidas seguir uma distribuição normal;
- b. o ponto de truncagem (PT) foi estabelecido como sendo 90 estômatos x mm<sup>2</sup> na face adaxial, correspondente a um valor de densidade estomática acima do qual se situou a maior parte das plantas de P<sub>1</sub> e abaixo da qual se situou a maior parte das plantas de P<sub>2</sub>;
- c. para cada uma das gerações parentais, a média populacional ( $\bar{P}_1$  e  $\bar{P}_2$ ) foi considerada igual à respectiva média estimada, e a variância verdadeira, considerada igual à respectiva variância estimada;
- d. com base nas respectivas curvas normais, foram estimadas as densidades estomáticas adaxiais esperadas de plantas em P<sub>1</sub> e P<sub>2</sub> com média menor ou igual ao ponto de truncagem (PT);
- e. a média da geração F<sub>1</sub> foi admitida como sendo:  $\bar{F}_1 = \frac{(\bar{P}_1 + \bar{P}_2)}{2} + \text{GD} \cdot \frac{(\bar{P}_2 - \bar{P}_1)}{2}$ , sendo o GD o grau de dominância presumido e  $\bar{P}_1$  e  $\bar{P}_2$  as médias dos respectivos parentais. A variância verdadeira para a população F<sub>1</sub> foi admitida como sendo igual à respectiva variância estimada;
- f. sob um dado grau médio de dominância presumido, a frequência esperada em F<sub>2</sub> de plantas com densidade estomática adaxial  $\leq$  PT, sob a hipótese de herança monogênica, foi calculada como sendo a média ponderada das frequências esperadas em P<sub>1</sub>, F<sub>1</sub> e P<sub>2</sub>, com ponderações de 1:2:1 respectivamente;
- g. sob hipótese de herança monogênica, calcularam-se, para F<sub>1</sub>RC<sub>1(1)</sub> e F<sub>1</sub>RC<sub>1(2)</sub>, as frequências esperadas do número de plantas com média da densidade estomática adaxial  $\leq$  PT como sendo a média ponderada das frequências esperadas em P<sub>1</sub> e F<sub>1</sub>, com ponderações de 1:1, respectivamente, para F<sub>1</sub>RC<sub>1(1)</sub>, e a média ponderada das frequências esperadas em F<sub>1</sub> e P<sub>2</sub>, com ponderações de 1:1, respectivamente, para F<sub>1</sub>RC<sub>1(2)</sub>;
- h. as frequências esperadas das plantas com média da densidade estomática adaxial  $\leq$  PT obtidas para P<sub>1</sub> (item c), P<sub>2</sub> (item c), F<sub>1</sub> (item e), F<sub>2</sub> (item f), F<sub>1</sub>RC<sub>1(1)</sub> e F<sub>1</sub>RC<sub>1(2)</sub> (item g) foram multiplicadas pelo número de plantas avaliadas por geração,

obtendo-se, assim, o número esperado de plantas com média de densidade estomática adaxial  $\leq$  PT sob hipótese de herança monogênica com o grau de dominância GD considerado;

- i. os números esperados de plantas em  $P_1$ ,  $P_2$ ,  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $F_1RC_{1(1)}$  e  $F_1RC_{1(2)}$  com médias de densidade estomática adaxial  $\leq$  PT foram comparados aos números efetivamente obtidos, computando-se o valor de chi-quadrado com 5 graus de liberdade;
- j. a significância do valor de chi-quadrado obtido levará à rejeição da hipótese de herança monogênica sob o grau de dominância considerado. Por outro lado, a não significância do valor de chi-quadrado obtido levará à não rejeição dessa hipótese, admitindo-se, então, a possibilidade de tratar-se de herança monogênica sob o GD considerado.

A hipótese de herança monogênica, com possível presença de poligenes modificadores, foi testada através de modelos empregando a função de máxima verossimilhança proposta por Silva (2003). A função da máxima verossimilhança foi constituída considerando uma característica que pode apresentar um gene com efeito maior, bem como variação entre indivíduos de um mesmo genótipo devido à ação de efeitos ambientais e ou de genes de efeitos menores. A partir das funções de verossimilhança para cada modelo foi possível compor testes de interesse, considerando diferentes hipóteses. Os testes foram realizados utilizando-se um software estatístico denominado “Monogen v 0.1” desenvolvido por Silva (2003), que utiliza os modelos de herança descritos na Tabela 1.

Para as análises de correlação entre a tolerância à podridão apical induzida por estresse hídrico e densidade estomática, utilizaram-se uma amostra ao acaso dos dados de percentagem de podridão apical encontrados por Millones et al (2016, em publicação) e os encontrados no presente trabalho relativos às densidades estomáticas adaxial e abaxial nos genitores  $P_1$ ,  $P_2$ , e das populações  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $F_1RC_{1(1)}$  e  $F_1RC_{1(2)}$ . Foram obtidos os coeficientes de correlação de Pearson ( $r$ ), cuja significância a 1 e 5% foi testada pelo teste de  $t$ .

Tabela 1. Modelos de herança avaliados para densidade estomática adaxial utilizando a função de máxima verossimilhança.

<b>Modelo</b>	<b>Parâmetros</b>
1 = gene maior com efeito aditivo e de dominância + poligenes com efeitos aditivo e de dominância	$\mu, A, D, [a], [d], V_A, V_D, S_{AD}, \sigma^2$
2 = gene maior com efeitos aditivo e de dominância + poligenes com efeito aditivo apenas	$\mu, A, D, [a], V_A, \sigma^2$
3 = gene maior com efeito aditivo apenas + poligenes com efeitos aditivo e de dominância	$\mu, A, [a], [d], V_A, V_D, S_{AD}, \sigma^2$
4 = gene maior com efeito aditivo apenas + poligenes com efeito aditivo apenas	$\mu, A, [a], V_A, \sigma^2$
5 = poligenes com efeitos aditivo e de dominância	$\mu, [a], [d], V_A, V_D, S_{AD}, \sigma^2$
6 = poligenes com efeito aditivo apenas	$\mu, [a], V_A, \sigma^2$
7 = gene maior com efeitos aditivo e de dominância	$\mu, A, D, \sigma^2$
8 = gene maior com efeito aditivo apenas	$\mu, A, \sigma^2$
9 = apenas efeito do ambiente	$\mu, \sigma^2$

sendo:

$\mu$ : constante de referência;

A: efeito aditivo do gene de efeito maior;

D: efeito de dominância do gene de efeito maior;

[a]: componente poligênico aditivo;

[d]: componente poligênico de dominância;

$V_A$ : variância aditiva;

$V_D$ : variância de dominância;

$S_{AD}$ : componente de variação relativa aos produtos dos efeitos poligênicos aditivos pelos efeitos poligênicos de dominância;

$\sigma^2$ : variância ambiental.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As densidades estomáticas na face abaxial dos folíolos foram semelhantes para todas as populações estudadas (Tabela 2), indicando que não estão relacionados aos níveis de tolerância à podridão apical induzida por estresse hídrico (Tabela 5). A análise dos componentes de médias no modelo aditivo-dominante, a densidade estomática abaxial foi altamente significativa só para os efeitos de média pelo teste t (Tabela 2), indicando pouca divergência para o caráter entre as gerações estudadas.

Tabela 2. Estimativas das médias e efeitos genéticos nas densidades estomáticas abaxial e adaxial no modelo aditivo-dominante, avaliados em plantas TOM-760 ( $P_1$ ), BPX-441D-88 ( $P_2$ ), populações  $F_1$  (TOM-760 x BPX-441D-88),  $F_2$  (TOM-760 x BPX-441D-88),  $F_1RC_{1(1)}$  ( $F_1$  x TOM-760),  $F_1RC_{1(2)}$  ( $F_1$  x BPX-441D-88).

Parâmetro	Densidade estomática abaxial (estômatos/mm <sup>2</sup> ± desvio padrão)	Densidade estomática adaxial (estômatos/mm <sup>2</sup> ± desvio padrão)
$\bar{P}_1$ (TOM-760)	168,0 ± 30,96	108,5 ± 22,30
$\bar{P}_2$ (BPX-441D-88)	162,7 ± 30,92	70,2 ± 18,74
$\bar{F}_1$ (TOM-760 x BPX-441D-88)	177,9 ± 21,38	90,6 ± 18,63
$\bar{F}_2$ (TOM-760 x BPX-441D-88)	177,1 ± 33,21	98,1 ± 25,29
$\bar{F}_1RC_{1(1)}$ ( $F_1$ x TOM-760)	177,1 ± 29,34	107,1 ± 27,75
$\bar{F}_1RC_{1(2)}$ ( $F_1$ x BPX-441D-88)	172,4 ± 32,97	83,4 ± 22,90
m	174,9 **	100,6 **
[a]	2,6 ns	19,1 **
[d]	5,8 ns	-0,2 ns
GMD	2,2	-0,01

\*\* : significativo pelo teste t ao 1% de probabilidade; ns: não significativo.

As médias de densidades estomáticas nas faces adaxiais dos dois genitores foram divergentes: BPX-441D-88, linhagem tolerante ao estresse hídrico, registrou na face adaxial dos folíolos densidade estomática (70,2 estômatos por mm<sup>2</sup>) (Figura 2b) cerca de 35% menor do que genitor suscetível ao estresse hídrico TOM-760 (108,5 estômatos por mm<sup>2</sup>) (Figura 2a). A distribuição de frequências da população  $F_2$  segregou em menor, intermediário e maior densidade estomática adaxial (Figura 1c), a população  $F_1RC_{1(1)}$  segregou no sentido de maior densidade estomática adaxial, e a população  $F_1RC_{1(2)}$  segregou no sentido de menor densidade

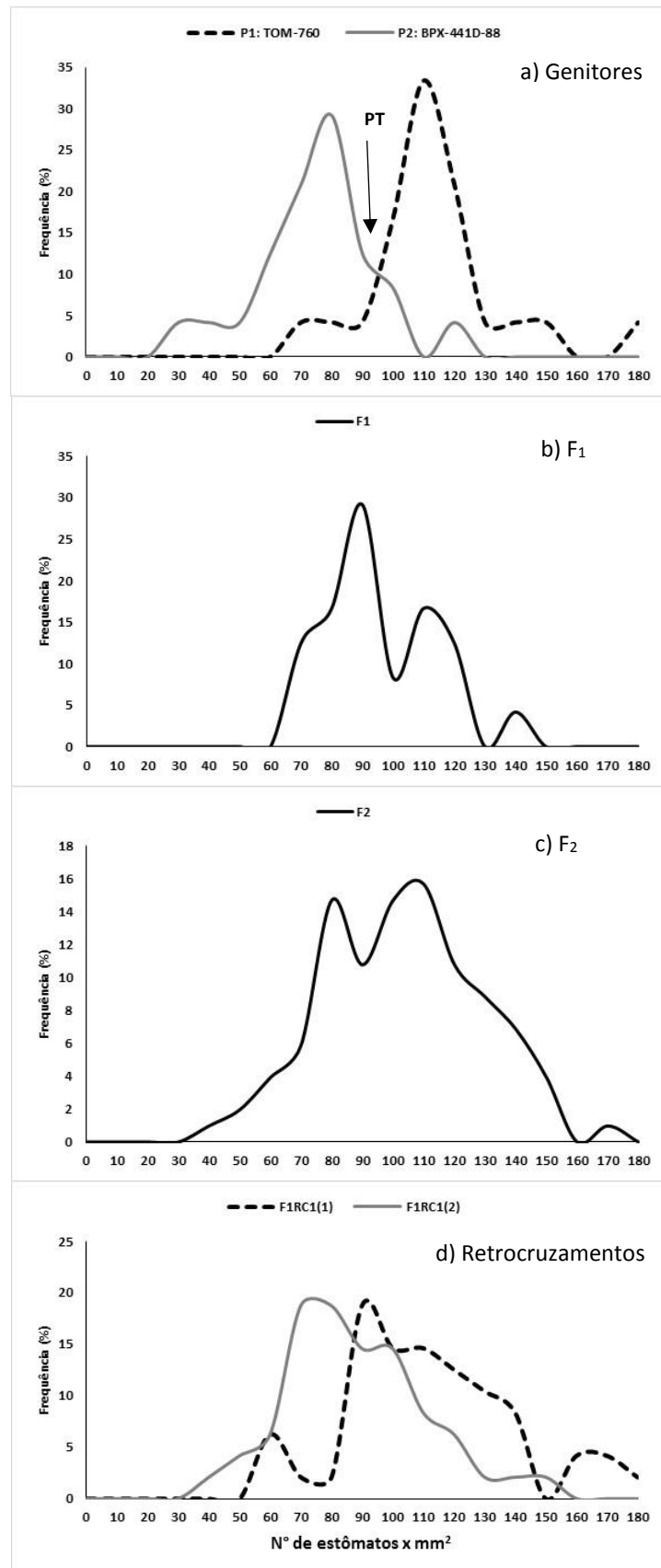


Figura 1. Distribuição de frequências, relativa à densidade estomática adaxial, a) genitores TOM-760 ( $P_1$ ), BPX-441D-88 ( $P_2$ ), mostrando ponto de truncagem (PT), b)  $F_1$  (TOM-760 x BPX-441D-88), c)  $F_2$  (TOM-760 x BPX-441D-88), d) retrocruzamentos  $F_1RC_{1(1)}$  ( $F_1$  x TOM-760) e  $F_1RC_{1(2)}$  ( $F_1$  x BPX-441D-88).

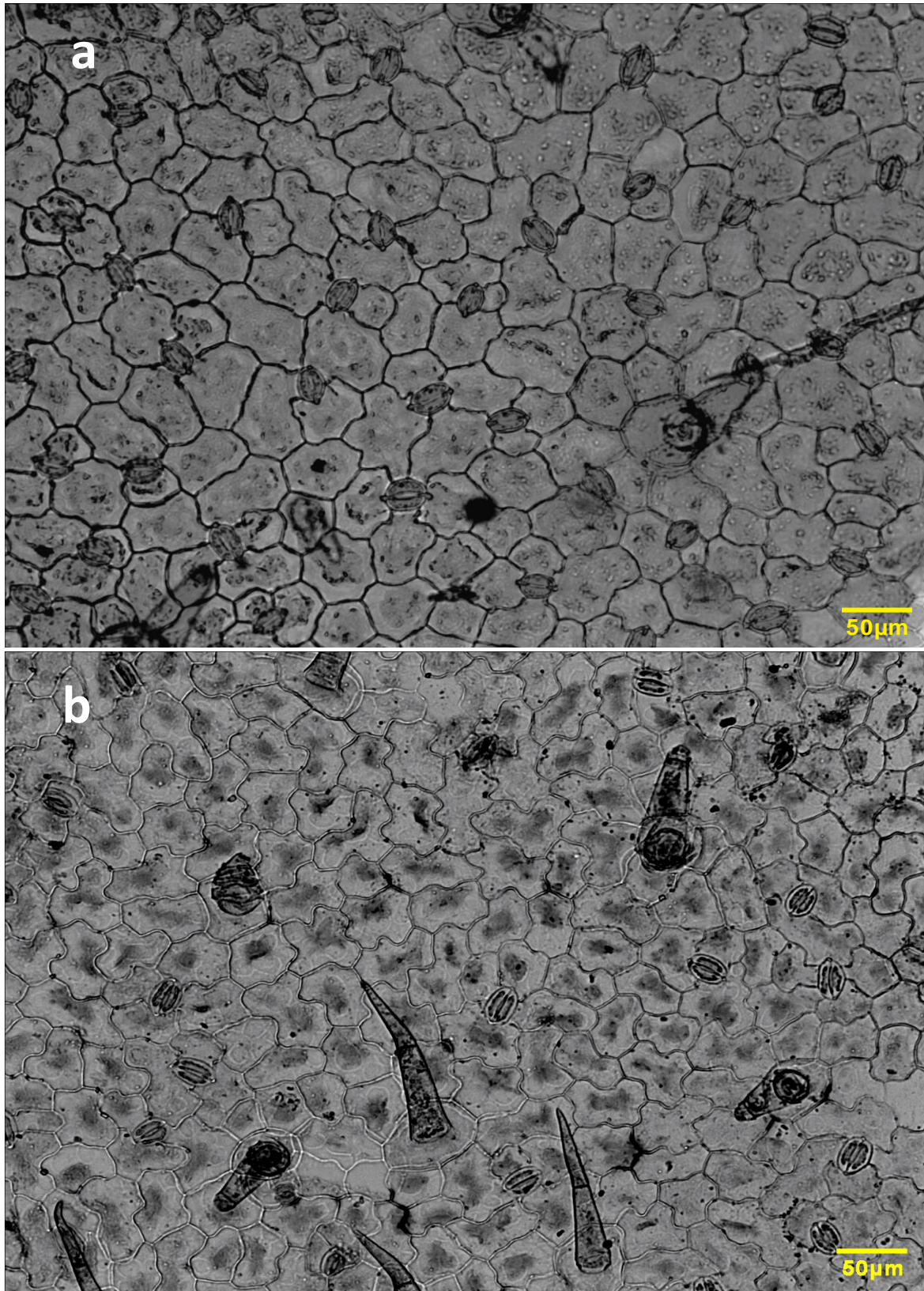


Figura 2. Estrutura anatômica da epiderme adaxial em tomateiro. a) TOM-760 (P<sub>1</sub>) (genitor suscetível ao estresse hídrico), b) BPX-441D-88 (P<sub>2</sub>) (genitor tolerante ao estresse hídrico).



estomática adaxial (Figura 1d). Esse padrão de segregação indica uma herança monogênica de um loco gênico que controla a densidade estomática adaxial.

Na densidade estomática adaxial tanto os efeitos da média quanto os aditivos foram altamente significativos, porém os efeitos de dominância foram não significativos. O modelo aditivo-dominante verificou ausência de dominância no cruzamento TOM-760 e BPX-441D-88 para densidade estomática adaxial: o grau médio de dominância (GMD) com base em [a] e [d] foi de -0,01, valor próximo de zero (Tabela 2), que corrobora também o efeito aditivo desse caráter.

Nos testes de hipótese de herança monogênica sob diferentes graus de dominância presumidos, as distribuições fenotípicas encontradas da densidade estomática adaxial foram coerentes com a segregação de um loco gênico, dentro da faixa de graus médios de dominância (GMD), entre 0,1 e 0,5 aproximadamente, uma vez que, dentro destes limites os valores de  $\chi^2$  encontrados foram inferiores ao do nível  $\alpha = 0,05$  (Figura 3). Assim, a densidade estomática adaxial parece ser controlada por apenas um locus gênico, com dominância parcial, em pequeno grau, do alelo que controla a menor densidade estomática. O grau de dominância estimado é apenas ligeiramente superior a zero: o menor valor de  $\chi^2$  encontrado corresponde à hipótese de herança monogênica com  $GD = 0,30$  aproximadamente (Figura 3), indicando a predominância de efeitos aditivos na expressão do caráter, como indicou a análise de componentes de médias.

Na determinação de modelos genéticos pela função de máxima verossimilhança (SILVA, 2003) (Tabela 1), o teste que compara o modelo 7 ao modelo 9 indicou que existe um gene maior com efeito aditivo e de dominância (Tabela 3), mas a comparação entre os modelos 7 e 8 mostrou que os efeitos de dominância do gene, mais são não significativos. O teste que compara o modelo 1 ao modelo 7 indicou não haver evidências de poligenes com efeitos aditivos e de dominância. Conclui-se que a densidade estomática adaxial é controlada por um único loco gênico, com efeitos aditivos, não havendo evidência de poligenes modificadores.

As metodologias utilizadas permitem conjuntamente aceitar a hipótese de herança monogênica da densidade estomática adaxial: a menor densidade estomática adaxial é controlada por um gene com dominância incompleta em pequeno grau. A linhagem BPX-441D-88 tolerante ao estresse hídrico registrou menor densidade estomática adaxial, essas baixas densidades estomáticas adaxiais foram registradas também em WELL (ZSÖGÖN, 2011) e em *Solanum pennellii* (CHITWOOD et al, 2013; KEBEDE et al, 1994; HEICHEL; ANAGNOSTAKIS, 1978). Por outro lado, a linhagem TOM-760 suscetível ao estresse hídrico registrou alta densidade estomática adaxial, essa alta densidade estomática adaxial foi também

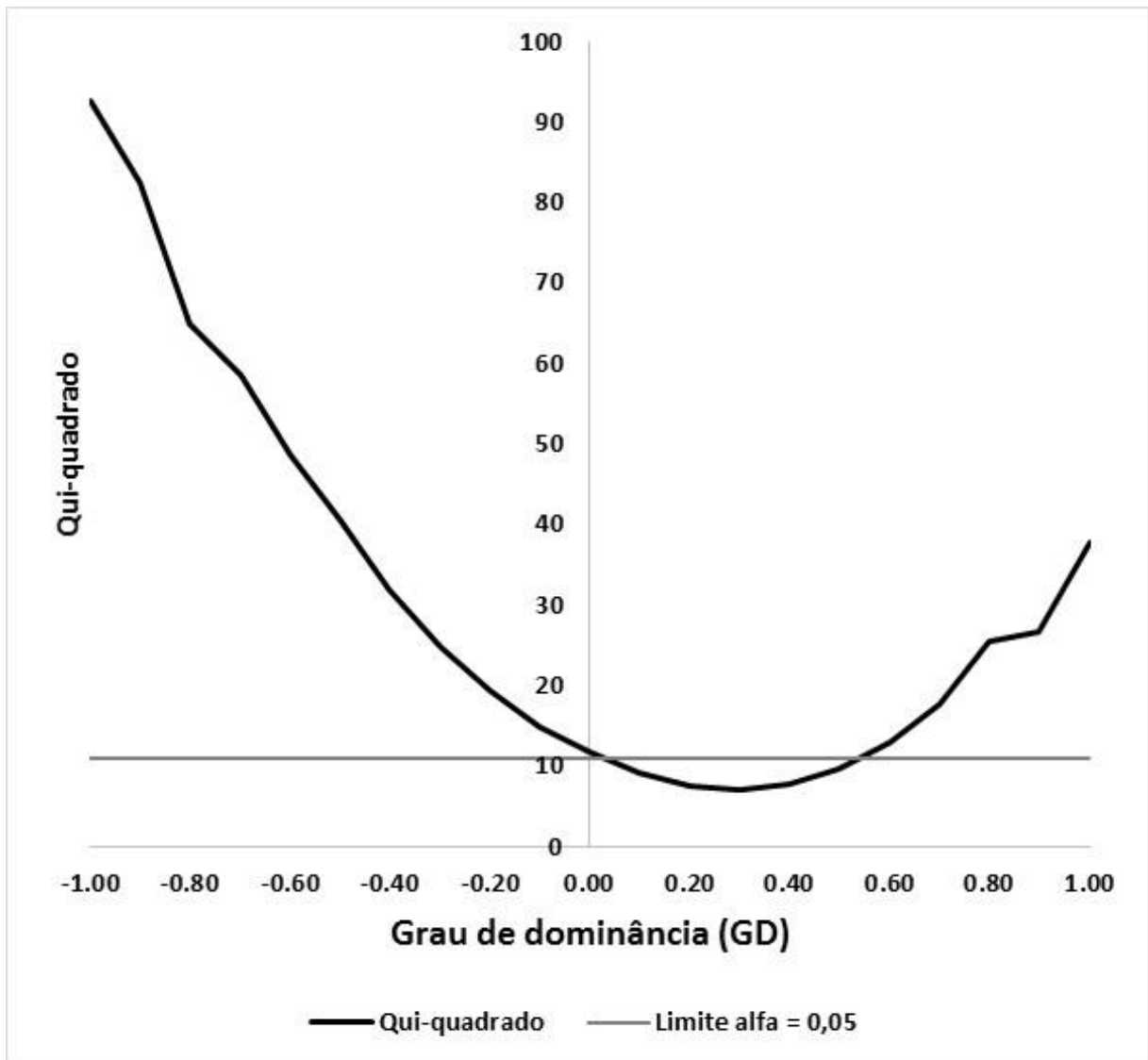


Figura 3. Testes das hipóteses de herança monogênica, sob diferentes graus de dominância presumidos, relativos à densidade estomática adaxial em TOM-760 ( $P_1$ ), BPX-441D-88 ( $P_2$ ), populações  $F_1$  (TOM-760 x BPX-441D-88),  $F_2$  (TOM-760 x BPX-441D-88),  $F_1RC_{1(1)}$  ( $F_1$  x TOM-760),  $F_1RC_{1(2)}$  ( $F_1$  x BPX-441D-88).

registrada em *S. lycopersicum* (HEICHEL; ANAGNOSTAKIS, 1978) e tomateiro comercial UC82B (KEBEDE et al, 1994).

Tabela 3. Testes de hipóteses de modelos genéticos hierárquicos para a densidade estomática adaxial.

<b>Modelos</b> <sup>1</sup>	<b>Graus de liberdade (GL)</b>	<b>Chi-quadrado calculado (<math>\chi^2c</math>)</b>	<b>Probabilidade (P)</b>
1 vs 7	5	4,0016	0,5492
7 vs 8	1	0,0347	0,8522
7 vs 9	2	52,3545	0,000000244

<sup>1</sup>: Testes de razão de verossimilhança, feitos por meio da estatística LR, com o programa estatístico Monogen v. 0.1 (SILVA, 2003).

A percentagem de podridão apical e a densidade estomática abaxial (Tabela 4) não se mostraram correlacionadas, enquanto, a percentagem de podridão apical e densidade estomática adaxial mostraram-se altamente correlacionadas com base em suas médias ( $r = 0,88^*$ ) nas populações estudadas (Tabela 5). O controle essencialmente monogênico da resistência à podridão apical (MILLONES et al., 2016, em publicação), e da densidade estomática na face adaxial, assim como a magnitude das correlações encontradas entre estas características, parecem indicar que esses caracteres possam estar relacionados ao locus WELL descrito por Zsögön (2011) que permite uma maior eficiência no uso da água, e que possivelmente esteja presente na linhagem BPX-441D-88.

Tabela 4. Valores de médias da podridão apical, densidade estomática abaxial, adaxial nos genitores TOM-760 (P<sub>1</sub>), BPX-441D-88 (P<sub>2</sub>) e nas populações F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, F<sub>1</sub>RC<sub>1(1)</sub> e F<sub>1</sub>RC<sub>1(2)</sub>.

<b>Genitor/ População</b>	<b>Nº de Plantas</b>	<b>Média Podridão apical (%)</b> <sup>1</sup>	<b>Média Densidade estomática abaxial (mm<sup>2</sup>)</b>	<b>Média Densidade estomática adaxial (mm<sup>2</sup>)</b>
P <sub>1</sub> (TOM-760)	24	33,3	168,0	108,4
P <sub>2</sub> (BPX-441D-88)	24	0,9	162,7	70,2
F <sub>1</sub> (TOM-760 x BPX441D-88)	24	12,2	177,9	90,7
F <sub>2</sub> (TOM-760 x BPX441D-88)	102	8,5	177,1	98,2
F <sub>1</sub> RC <sub>1(1)</sub> (F <sub>1</sub> x TOM-760)	48	22,6	177,1	106,9
F <sub>1</sub> RC <sub>1(2)</sub> (F <sub>1</sub> x BPX441D-88)	48	6,4	172,4	83,4

<sup>1</sup>: valores registrados por Millones et al (2016).

Tabela 5. Coeficientes de correlação de Pearson entre as médias de densidade estomática abaxial, adaxial versus médias de podridão apical nos genitores TOM-760 (P<sub>1</sub>), BPX-441D-88 (P<sub>2</sub>) e nas populações F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, F<sub>1</sub>RC<sub>1(1)</sub> e F<sub>1</sub>RC<sub>1(2)</sub>.

<b>Densidade estomática/ Podridão apical</b>	<b>Densidade estomática abaxial (mm<sup>2</sup>)</b>	<b>Densidade estomática adaxial (mm<sup>2</sup>)</b>
Podridão apical (média)	0,12 ns	0,88 *

\* Significativo a 5% pelo teste t.

Autores relatam em cevada, trigo e sorgo que a menor densidade estomática reduz a condutância estomática, e também proporcionalmente a taxa de transpiração (MISKIN; RASMUSSEN; MOSS, 1972; MEHRI et al., 2009; MUCHOW; SINCLAIR, 1989), em soja a menor densidade estomática reduz a condutância estomática sob estresse hídrico, no entanto diminui a produção de grão (BUTTERY et al., 1993), em arroz a abertura estomática é o principal fator que produz as diferenças da condutância estomática entre arroz japônica, indica e o híbrido japônica-indica, sendo que a densidade estomática ligeiramente influencia na condutância estomática (MARUYAMA; TAJIMA, 1990; OHSUMI et al., 2007), em *S. pennellii* a menor condutância estomática é devida pela menor densidade estomática com contribuição da abertura estomática (KEBEDE et al., 1994), a linhagem BPX-441D-88 a menor densidade estomática possui maior condutância estomática, menor taxa de transpiração, e maior taxa de fotossínteses (OLIVEIRA, 2016). No presente trabalho a linhagem BPX-441D registrou uma alta correlação entre a menor densidade estomática adaxial e a menor percentagem de podridão de frutos de tomate induzida por estresse hídrico, e que possivelmente tenha algum mecanismo para a maior eficiência no uso de água.

Não se espera que um único mecanismo de resposta fisiológica explique toda as características da conduta dos estômatos em plantas sob estresse hídrico (JONES, 1998); as plantas desenvolvem diferentes mecanismos de evasão frente ao estresse, o que dificulta a medição a partir de características fisiológicas supostamente universais associados ao estresse hídrico na folha (EASLON; RICHARDS, 2009).

No presente trabalho, a alta correlação encontrada entre a menor densidade estomática adaxial e a menor percentagem de podridão apical induzida por estresse hídrico indica a possibilidade de uso da densidade estomática como ferramenta na seleção indireta de genótipos tolerantes ao estresse hídrico.

#### 4 CONCLUSÕES

A densidade estomática adaxial, no cruzamento entre TOM-760 (suscetível ao estresse hídrico) e BPX-441D-88 (tolerante ao estresse hídrico) é controlada por um único loco gênico, com efeitos predominantemente aditivos, não existindo evidencia de poligenes modificadores.

A incidência de podridão apical sob estresse hídrico encontra-se altamente correlacionada à densidade estomática adaxial e à relação da densidade estomática adaxial/abaxial.

As correlações entre a tolerância à podridão apical induzida por estresse hídrico e a menor densidade estomática na face adaxial do folíolo indicam uma provável ação pleitrópica de um mesmo locus que controla ambas características, possivelmente o locus WELL relatado por Zsögön (2011).

## REFERÊNCIAS

- BHAGWAT, S.G.; BHATIA, C.R. Selection for flag leaf stomatal frequency in bread wheat. **Plant Breeding**. Berlin, v. 110, n. 2, p. 129-136, 1993.
- BUTTERY, B.R. et al. Stomatal numbers of soybean and response to water stress. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 149, n. 2, p. 283-288, 1993.
- CAMARGO, M.A.B.; MARENCO, R.A. Density, size and distribution of stomata in 35 rainforest tree species in Central Amazonia. **Acta Amazonica**. Manaus, v. 41, n. 2, p. 205-212, 2011.
- CHITWOOD, D.H. et al. A quantitative genetic basis for leaf morphology in a set of precisely defined tomato introgression lines. **The Plant Cell**, Waterbury, v. 25, n. 7, p. 2465-2481, 2013.
- CRUZ, CD. Genes – a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum Agronomy**. Maringá, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.
- EASLON, H.M.; RICHARDS, J.H. Drought response in self-compatible of tomato (*Solanaceae*). **American Journal Botany**. Saint Louis, v. 96, n. 3, p. 605-611, 2009.
- GALMÉS, J. et al. Leaf responses to drought stress in Mediterranean accessions of *Solanum lycopersicum*: anatomical adaptations in relation to gas exchange parameters. **Plant Cell and Environment**. Oxford, v. 36, n. 5, p. 920-935, 2013.
- HAWORTH, M.; ELLIOTT-KINGSTON, C.; McELWAIN, J.C. Stomatal control as a driver of plant evolution. **Journal of Experimental Botany**. Oxford, v. 62, n. 8, p. 2419-2423, 2011.
- HEICHEL, G.H.; ANAGNOSTAKIS, S.L. Stomatal response to light of *Solanum pennellii*, *Lycopersicon esculentum*, and a Graft-induced chimera. **Plant Physiology**, Rockville, v. 62, n. 3, p. 387-390. 1978.
- HETHERINGTON, A.M.; WOODWARD, F.I. The role of stomata in sensing and driving environmental change. **Nature**, New York, v. 424, n. 6951, p. 901-908, 2003.
- JONES, H.G. Stomatal control of photosynthesis and transpiration. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, Special Issue, p. 387-398, 1998.

KEBEDE, H. et al. Leaf anatomy of two *lycopersicon* species with contrasting gas exchange properties. **Crop Science**, Madison, v. 34, n. 1, p. 108-113, 1994.

LIANG, G.H.; DAYTON, A.D.; CHU, C.C.; CASADY, A.J. Heritability of stomatal density and distribution on leaves of grain sorghum. **Crop Science**, Madison, v. 15, n. 4, p. 567-573, 1975.

MARUYAMA, S.; TAJIMA, K. Leaf conductance in japonica and indica rice varieties. I. Size, frequency, and aperture of stomata. **Japanese Journal Crop Science**, Tokyo, v. 59, n. 4, p. 801-808, 1990.

MARCHESE, A. **Resistência à mosca-branca e ao ácaro-rajado mediada por acilaçúcares e pelo gene Mi em tomateiro**. 2013, 63p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MEHRI, et al. Variation of stomata dimensions and densities in tolerant and susceptible wheat cultivars under drought stress. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, Helsinki, v. 7, n. 1, p. 167-170, 2009.

MENEZES, C.B. et al. Inheritance of parthenocarpy in summer squash (*Cucurbita pepo* L.). **Genetics and Molecular Research**, v. 4, p. 39-46, 2005.

MILLONES, C.E. et al. Herança da resistência à podridão apical causada por estresse hídrico em tomateiro (em publicação). 2016.

MISKIN, K.E.; RASMUSSEN, D.C.; MOSS, D.N. Inheritance and physiological effects of stomatal frequency in barley. **Crop Science**, Madison, v. 12, n. 6, p. 780-783, 1972.

MORALES RG.F. et al. Selection of tomato plant families using characters related to water deficit resistance. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.33, n. 1, p. 27-33, 2015.

MUCHOW, R.C.; SINCLAIR, T.R. Epidermal conductance, stomatal density and stomatal size among genotypes of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. **Plant, Cell and Environment**. Oxford, v. 12, n. 4, p. 425-431, 1989.

NERKAR, Y.S.; WILSON, D.; LAWES, D.A. Genetic variation in stomatal characteristics and behavior, water use and growth of five *Vicia faba* L. genotypes under contrasting soil moisture regimes. **Euphytica**, Wageningen, v. 30, n. 2, p. 335-345. 1981.

OHSUMI, A. et al. Genotypic variation of stomatal conductance in relation to stomatal density and length in rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Production Science**. Kyoto, v. 10, n. 3, p. 322-328, 2007.

OLIVEIRA, A.M. **Resistência de tomateiros a geminivírus e a estresse hídrico**. 2016. 80p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SILVA, A.A. **Resistência de genótipos de tomateiro com teores foliares contrastantes de aleloquímicos a *Liriomyza trifolii* (Burgess) (Diptera: Agromyzidae) e a *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae)**. 2012. 81p. Tese (Mestrado/Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SILVA, J.A. **Estimadores de máxima verossimilhança em misturas de densidade normais: uma aplicação em genética**. 2003, 60p. Tese (Mestrado em Agronomia/Estatística e Experimentação Agropecuária) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

TANAKA, Y.; FUJII, K.; SHIRAIWA, T. Variability of leaf morphology and stomatal conductance in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] cultivars. **Crop Science**, Madinson, v. 50, n. 6, p. 2525-2532. 2010.

TANZARELLA, O.A.; DePACE, C.; FILIPPETTI, A. Stomatal frequency and size in *Vicia faba* L. **Crop Science**. Madison, v. 24, n. 6, p. 1070-1076, 1984.

WOODWARD, F.I.; LAKE, J.A.; QUICK, W.P. Stomatal development and CO<sub>2</sub>: ecological consequences. **New Phytologist**, Oxford, v. 153, n. 3, p. 477-484, 2002.

ZIMMERMANN, U. The future of water relations of plants. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, Campo dos Goytacazes, v. 25, n. 4, p. 241-243, 2013.

ZSÖGÖN, A. **Identification and characterization of a tomato introgression line with reduced wilting under drought**. 2011, 188 p. Thesis (Doctor in Agronomy) – University of Canberra, Canberra-Australia.