



**DANIELE FÁTIMA DE OLIVEIRA**

**CONTROLE GENÉTICO DA TOLERÂNCIA À  
TERMOINIBIÇÃO EM SEMENTES DE ALFACE**

**LAVRAS – MG**

**2017**

**DANIELE FÁTIMA DE OLIVEIRA**

**CONTROLE GENÉTICO DA TOLERÂNCIA À TERMOINIBIÇÃO EM SEMENTES  
DE ALFACE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/ Fitotecnia, área de concentração em produção vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Prof. Dr. Luiz Antônio Augusto Gomes

**LAVRAS – MG**

**2017**

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

Oliveira, Daniele Fátima de.

Controle genético da tolerância à termoinibição em sementes de  
alface / Daniele Fátima de Oliveira. - 2017.

25 p.

Orientador (a): Luiz Antônio Augusto Gomes.

.  
Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2017.

Bibliografia.

1. Lactuca sativa L. 2. Germinação. 3. Termoinibição. I.  
Gomes, Luiz Antônio Augusto. . II. Título.

**DANIELE FÁTIMA DE OLIVEIRA**

**CONTROLE GENÉTICO DA TOLERÂNCIA À TERMOINIBIÇÃO EM SEMENTES  
DEALFACE**

**GENETIC CONTROL OF THERMOINHIBITION IN LETTUCE SEEDS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/ Fitotecnia, área de concentração em produção vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 06 de abril de 2017.

Dr. Renato Mendes Guimarães      UFLA

Dr. Antônio Rodrigues Vieira      EPAMIG

Prof. Dr. Luiz Antônio Augusto Gomes

Orientador

**LAVRAS – MG**

**2017**

*A Deus pela dádiva da vida.*

*Aos meus pais Antônio e Vilma pelo esforço e dedicação despendidos para que eu pudesse  
chegar até aqui.*

*Aos meus professores pela generosidade em compartilhar seus conhecimentos.*

*Aos meus familiares e amigos pelo apoio que torna minha caminhada mais leve.*

*Ao meu esposo, Germano, pelo amor, dedicação e companheirismo.*

DEDICO

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia pela oportunidade de realização do mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), à Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão das bolsas de estudos.

Ao professor Dr. Luiz Antônio Augusto Gomes pela orientação, paciência, amizade e dedicação. Seus ensinamentos foram essenciais para a realização deste trabalho e para a minha formação profissional.

À HortiAgro Sementes S.A. pelas instalações e pelos materiais utilizados na condução dos ensaios experimentais que compõem este trabalho. E em especial aos seus funcionários pelo auxílio nas atividades.

Ao Laboratório de Análise de Sementes da Universidade Federal de Lavras e à sua equipe pela realização dos testes.

À secretária do programa de pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia, Marli, pela constante dedicação e presteza em nos ajudar.

À doutoranda Natalia Oliveira pelo companheirismo, amizade e pelos conhecimentos compartilhados. Sua presença foi essencial para o sucesso deste trabalho.

Aos colegas do grupo de Melhoramento de Hortaliças, Gabriel, Giuliana, Raisla, Vitor, Andrei, Renê, Pedro, Deborah, Roberta, Inês, Sylmara, Joana, aos membros egressos Dr. Cleiton e Dra. Márcia e aos amigos externos ao grupo, Bruno, Ayhama e Miryan, pela boa vontade, amizade e paciência em ajudar nos trabalhos muitas vezes árduos.

**MUITO OBRIGADA!**

## RESUMO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça folhosa de maior expressividade no mercado mundial e nacional, tanto por seu volume de produção quanto pela sua importância econômica. Devido à grande aceitação dessa hortaliça pelos brasileiros, apresenta demanda constante, sendo produzida durante todo o ano e em quase todas as regiões do país. Considerando-se as variações climáticas existentes entre as regiões do Brasil e a ampla distribuição geográfica dessa cultura, é comum a ocorrência de problemas com a germinação em locais com temperatura mais elevada. Normalmente, a temperatura ideal para a germinação das sementes de alface é de aproximadamente 20°C, sendo que temperaturas acima dos 28°C podem inibir a germinação. Um dos principais aspectos que afetam a germinação das sementes de alface em temperaturas elevadas diz respeito à termoinibição. A termoinibição consiste na perda da capacidade de germinar das sementes quando expostas a altas temperaturas, sendo esse um processo reversível, uma vez que a germinação pode ser retomada com a diminuição da temperatura a níveis adequados. A maioria das cultivares de alface utilizadas no Brasil é sensível à termoinibição, porém, encontram-se na literatura registros de genótipos tolerantes, a exemplo da cultivar Everglades, capaz de germinar acima de 70% a uma temperatura de 35°C. Contudo, os mecanismos envolvidos na herança dessa característica ainda não foram suficientemente estudados para essa cultura. O objetivo deste trabalho foi estudar os mecanismos envolvidos no controle genético da tolerância à termoinibição em sementes de alface obtidas do cruzamento entre as cultivares de alface contrastantes Everglades e Verônica. A partir dos resultados obtidos, foi possível inferir que a tolerância à termoinibição em sementes de alface é um caráter controlado por um ou poucos genes com efeito aditivo predominante e com uma herdabilidade relativamente alta no sentido restrito, permitindo antever o sucesso com a seleção. Sendo assim, conclui-se que o melhoramento convencional da alface visando à tolerância à termoinibição é viável.

**Palavras-chave:** *Lactuca sativa* L. Germinação. Termoinibição.

## ABSTRACT

Lettuce (*Lactuca sativa* L.) is the most expressive leafy vegetable in the world and national markets, both for its production volume and for its economic importance. Due to the great acceptance of this vegetable by the Brazilians, it presents constant demand, being produced throughout the year and in almost all regions of the country. Considering the climatic variations between the regions of Brazil and the wide geographic distribution of this crop, it is common the occurrence of problems with the germination in places with higher temperature. Normally, the ideal temperature for the germination of lettuce seeds is approximately 20°C, and temperatures above 28°C can inhibit germination. One of the main aspects affecting the germination of lettuce seeds at high temperatures concerns the thermoinhibition. Thermoinhibition consists of the loss of the germination capacity of the seeds when exposed to high temperatures, which is a reversible process, since the germination can be resumed with the decrease of the temperature to adequate levels. Most of the lettuce cultivars used in Brazil is sensitive to thermoinhibition, but in the literature there are records of tolerant genotypes, such as the Everglades cultivar, capable of germinating above 70% at a temperature of 35°C. However, the mechanisms involved in inheriting this trait have not yet been sufficiently studied for this crop. The objective of this work was to study the mechanisms involved in the genetic control of the tolerance to thermoinhibition in lettuce seeds obtained from the crossing between the contrasting lettuce cultivars Everglades and Verônica. From the results obtained, it was possible to infer that the tolerance to the thermoinhibition in lettuce seeds is controlled by one or a few genes with predominant additive effect and with a relatively high heritability in the restricted sense, allowing to anticipate the success with the selection. Thus, it is concluded that the conventional improvement of the lettuce aiming at the tolerance to the thermoinhibition is viable.

**Keywords:** *Lactuca sativa* L. Germination. Thermoinhibition.



## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Dispersão da porcentagem de germinação de sementes de alface a 35°C dos genitores “Everglades” (1) e “Veronica” (2) e das gerações F1 (3); F2(4) e 26 progênies F2:3 (5 a 30). (Numeração dos genótipos inicia-se da esquerda para direita)..... 16

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Análise de variância da porcentagem de germinação de sementes de alface à 35°C. ....	15
Tabela 2 - Estimativa dos componentes de média da porcentagem de germinação de sementes de alface a 35°C. ....	17
Tabela 3 - Estimativa dos componentes de variância da porcentagem de germinação de sementes de alface à 35°C. ....	18
Tabela 4 - Segregação da geração F2 da porcentagem de germinação a 35°C e teste Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) para a proporção 1:2:1. ....	18
Tabela 5 - Análise de variância da porcentagem de germinação de sementes de alface colhidas em plantas da geração F2 {(progênies F2:3("Everglades" x "Verônica"))} à 35°C. ....	19

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	1
2.	REFERENCIAL TEÓRICO.....	2
3.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	6
4.	ARTIGO - CONTROLE GENÉTICO DA TOLERÂNCIA À TERMOINIBIÇÃO EM SEMENTES DE ALFACE .....	8
4.1	Introdução.....	8
4.2	Material e métodos.....	10
4.3	Resultados e discussão .....	14
4.4	Conclusões.....	19
4.5	Agradecimentos .....	19
5.	CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	20
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	22

## 1. Introdução

Dentre as hortaliças folhosas, a alface (*Lactuca sativa* L.) se destaca como a de maior importância no mercado mundial e nacional, sendo no Brasil a mais consumida. Por apresentar um sabor suave é geralmente consumida *in natura* na forma de salada, podendo ser utilizada também para o preparo de sanduíches e como ingrediente secundário em diversos pratos. Seu consumo aumenta significativamente nas épocas quentes, quando os consumidores buscam alimentos mais frescos e de maior digestibilidade.

Devido à sua alta perecibilidade, procura-se normalmente produzir a alface em áreas próximas aos centros consumidores, sendo hoje produzida praticamente o ano todo, em quase todo o território nacional, facilitando sua distribuição. Devido à grande extensão territorial do Brasil e a diversidade climática existente, há a necessidade de semeadura em épocas ou regiões com temperaturas mais elevadas, embora a alface seja uma espécie oriunda de regiões de clima temperado.

Sabe-se que a temperatura ideal para a germinação das sementes gira em torno dos 20°C, sendo que a maioria das cultivares não germina acima dos 30°C, o que pode ser atribuído a dois fenômenos distintos, a termoinibição, que é a suspensão temporária da germinação, posto que as sementes voltam a germinar com a redução da temperatura e a termdormência, que é também uma suspensão temporária da capacidade germinativa, entretanto, nesse caso, é necessário que se faça um tratamento de quebra de dormência para que a germinação ocorra.

O impedimento ou a redução da germinação das sementes quando a embebição ocorre sob temperaturas elevadas, torna-se um relevante problema, pois reduz a emergência de plântulas, ocasionando desuniformidade no estande final em campo, o que resulta em perdas econômicas e de produção. Por outro lado, sabe-se que existe variabilidade genética para tolerância à germinação em temperaturas elevadas e que alguns genótipos, como é o caso da cultivar Everglades, chegam a germinar mais de 70% de suas sementes em temperaturas acima de 30°C. Estes genótipos, no entanto, não apresentam características comerciais desejáveis e não estão ainda bem elucidados na literatura os mecanismos genéticos envolvidos no controle da tolerância à termoinibição.

Assim, visando disponibilizar informações que garantam maior sucesso em programas de melhoramento para o desenvolvimento de novas cultivares comerciais de alface tolerantes à

termoinibição, o objetivo neste trabalho foi estudar o controle genético desta característica na cultivar Everglades.

## 2. Referencial teórico

A alface é uma planta de porte herbáceo cujas folhas podem ser lisas ou crespas, crescendo em forma de roseta ao redor de um caule diminuto e podendo formar ou não cabeça. É uma planta pertencente à família *Asteraceae* que originou-se de espécies silvestres (FILGUEIRA, 2008). Apresenta uma inflorescência capituliforme, com três brácteas que abrigam de 10 a 25 flores cada. Suas sementes são do tipo aquênio ou fruto seco, tendo tamanho e massa bastante reduzidos (SALA E NASCIMENTO, 2014).

As temperaturas ótimas para o desenvolvimento vegetativo da alface situam-se entre 15 e 18°C, com máximas entre 21 e 24°C (BRUNINI et al., 1976) sendo que temperaturas acima dos 22°C favorecem o início da fase reprodutiva, provocando o florescimento precoce e a antecipação da colheita (MOTA et al., 2003), sobretudo quando associadas a dias longos (RYDER E MILLIGAN, 2005). O início do crescimento da haste floral determina o fim do estágio comercial da alface (MALUF, 1994) devido ao aumento do teor de látex em suas folhas, o que as torna amargas e impróprias para a comercialização (CÁSSERES, 1980).

Estudos realizados por Silva et al. (1999) acerca da herança da tolerância ao pendoamento precoce, demonstraram que essa característica apresenta alta herdabilidade no sentido amplo e restrito. Constatou-se também a ocorrência de segregação transgressiva, o que possibilita a obtenção de linhagens superiores quanto à tolerância ao pendoamento precoce, por meio da seleção de genótipos oriundos do cruzamento entre pais contrastantes para a característica em questão.

De acordo com Ryder e Milligan (2005) seis genes são descritos na literatura como os responsáveis pelo controle genético do tempo de florescimento no gênero *Lactuca* L. Cinco destes genes foram identificados no referido trabalho através do estudo de herança de cruzamentos entre nove genótipos de *Lactuca* L., os quais foram classificados como muito tardio, tardio, precoce, muito precoce e super precoce. Foram identificados dois genes com dominância tardia, sendo o gene Ef-2ef-2 na cultivar “Vanguard 75” e o gene Ef-4ef-4 na linhagem 09-960796-0 e quatro genes com dominância precoce, sendo o gene Ef-3ef-3 na linhagem mutante 87-41M-7, o gene Ef-5ef-5 no acesso PI 175735 e o gene Ef-6ef-6 nos acessos PI 236396 e PI 250020.

O ciclo vital das alfaces cultivadas no Brasil visando à produção de sementes apresenta duração média de 120 a 170 dias, podendo esse período variar de acordo com a temperatura, a cultivar utilizada e a região de plantio. A duração do ciclo pode ainda ser reduzida para um período de 100 a 120 dias quando adotado um sistema de cultivo protegido. Embora haja cultivares mais adaptadas às nossas condições e regiões de clima propício para a produção, boa parte das sementes de alface utilizadas no Brasil ainda são importadas, em virtude da falta de incentivo e da carência de tecnologias apropriadas para a produção de sementes (MENEZES et al., 2001).

Com relação à germinação das sementes, existem três fatores ambientais que exercem maior influência sobre esse parâmetro, são eles o oxigênio, a temperatura e a umidade. A temperatura tem efeito sobre a germinação total, a velocidade de germinação, a velocidade de absorção de água e as reações bioquímicas, que determinam todo o processo germinativo (CARVALHO E NAKAGAWA, 1988). A temperatura ideal para a germinação das sementes de alface situa-se próximo aos 20°C (NASCIMENTO E CANTLIFFE, 2002), sendo que a maioria das cultivares utilizadas são suscetíveis à termoinibição, tendo sua germinação suspensa acima dos 28°C (YOONG et al., 2016).

A termoinibição consiste na incapacidade das sementes de germinar sob altas temperaturas, sendo considerado um fenômeno reversível, uma vez que esta capacidade pode ser restabelecida após a redução da temperatura a níveis adequados. Ao contrário da termodormência, onde, mesmo ocorrendo temperaturas favoráveis, a retomada da germinação só se dá através de um tratamento para a quebra de dormência. Ambos os fenômenos podem ocorrer de diversas maneiras, por meio de alterações nas estruturas que envolvem o embrião, impedindo a protrusão da radícula, pela interação de diversos fatores ou pela provável expressão de genes inibidores da germinação que podem ser regulados pela temperatura (HILLS et al., 2003).

Nos ensaios realizados por Nascimento (2003) constatou-se que o período crítico para a germinação de sementes de alface da cultivar Dark Green Boston, concentra-se nas primeiras horas de embebição. Sementes desta cultivar foram osmoticamente condicionadas por meio de embebição à temperatura de 20°C, por períodos de 8 e 16 horas e posteriormente foram submetidas a testes de germinação a 20 e 35°C. A 20°C, a germinação foi 100% para ambos os períodos de embebição e a 35°C, constatou-se 89 e 97% de germinação para os períodos de embebição de 8 e 16 horas, respectivamente. Foram avaliadas também duas temperatura de

incubação 20 e 35°C, para as quais a germinação foi 97% e 0%, respectivamente. Concluindo-se que altas temperaturas de incubação e de embebição promovem a ausência de germinação.

Catão et al. (2016) a fim de estudar a qualidade fisiológica e perfil isoenzimático de sementes de alface, realizaram ensaios com 6 cultivares, Everglades, Babá de Verão, Elisa, Grand Rapids, Hortência e Salinas 88, com períodos de armazenamento de 30, 60, 90 e 120 dias, sob temperaturas de armazenamento de 15, 25 e 35°C. Constatou-se que a associação de altas temperaturas e longos períodos de armazenamento, ocasionou perdas na qualidade fisiológica e alterações nos padrões das enzimas catalase, esterase, álcool desidrogenase e malato desidrogenase. Ambas as características mantiveram-se inalteradas nas sementes armazenadas a 15°C, para quaisquer períodos de armazenamento e cultivar. Constatou-se ainda que a cultivar Everglades apresentou certo nível de tolerância ao armazenamento sob altas temperaturas e que as enzimas catalase e esterase, apresentam potencial para utilização como marcadores bioquímicos da qualidade fisiológica em sementes de alface.

Argyris et al. (2008), comparando um genótipo de *Lactuca sativa* cultivar Salinas (cuja germinação das sementes é inibida acima de 25°C) e um genótipo de *Lactuca serriola* acesso UC96US23 (cujas sementes germinam sob temperaturas próximas aos 37°C), constataram que esses genótipos apresentaram sensibilidades diferentes ao ácido abscísico (ABA) e à giberelina (GA), para a germinação sob temperaturas elevadas. Sementes da cultivar Salinas que sofreram termoinibição, apresentaram teores elevados de ABA. A expressão gênica também variou entre os genótipos, sendo que, os genes relacionados com ABA foram mais altamente expressos quando a germinação foi inibida e os genes relacionados com GA e etileno foram mais altamente expressos quando a germinação ocorreu.

O sucesso na obtenção de genótipos superiores em programas de melhoramento, depende da ocorrência de variabilidade genética (SOUZA et al., 2008). Embora a maioria das cultivares de alface utilizadas sejam sensíveis à termoinibição, encontram-se na literatura diversos relatos de genótipos cujas sementes são capazes de germinar sob temperaturas adversas, como o acesso primitivo de *Lactuca sativa* L. PI251246, capaz de germinar acima de 33°C (YOONG et al., 2016), o acesso de *Lactuca serriola* UC96US23, capaz de germinar em temperaturas próximas aos 37°C (ARGYRIS et al., 2011) e a cultivar de alface do tipo lisa, Everglades, cuja germinação das sementes é superior a 70% à temperatura de 35°C (CATÃO et al., 2014; SUNG et al., 2008), demonstrando que há variabilidade genética para tal característica.

A identificação de genótipos tolerantes à terminibição é de suma importância, uma vez que esses materiais podem ser utilizados como fonte de alelos em programas de melhoramento, visando à obtenção de cultivares de alface que possuam bons atributos agronômicos e sejam tolerantes à terminibição. Entretanto, os mecanismos que controlam a herança dessa característica na cultura ainda não foram suficientemente estudados (NASCIMENTO E CANTLIFFE, 2002), tornando-se necessária a realização de novos estudos que visem elucidar os mecanismos envolvidos no controle genético da tolerância à terminibição em sementes de alface.



### 3. Referências bibliográficas

- ARGYRIS, J.; DAHAL, P.; HAYASHI, E.; STILL, D. W.; BRADFORD, K. J. Genetic variation for lettuce seed thermoinhibition is associated with temperature-sensitive expression of abscisic acid, gibberellin, and ethylene biosynthesis, metabolism, and response genes. **Plant Physiology**, v. 148, n. 2, p. 926-947, 2008.
- ARGYRIS, J.; TRUCO, M. J.; OCHOA, O.; MCHALE, L.; DAHAL, P.; VAN DEYNZE, A.; BRADFORD, K. J. A gene encoding an abscisic acid biosynthetic enzyme (LsNCED4) colocalizes with the high temperature germination locus Htg6. 1 in lettuce (*Lactuca* sp.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 122, n. 1, p. 95-108, 2011.
- BRUNINI, O.; LISBÃO, R. S.; BERNAR-DI, J. B.; FORNASIER, J. B.; PEDRO JÚNIOR, M. J. Temperatura-base para alface cultivar "White Boston", em um sistema de unidades térmicas. **Bragantia**, v. 35, n. 1, p. 213-219, 1976.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 1988.
- CÁSSERES, E. **Producción de hortalizas**. Bib. Orton IICA/CATIE, 1980.
- CATÃO, H. C. R. M.; GOMES, L. A. A.; DOS SANTOS, H. O.; GUIMARÃES, R. M.; FONSECA, P. H. F.; CAIXETA, F. Aspectos fisiológicos e bioquímicos da germinação de sementes de alface em diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 4, p. 316-322, 2014.
- CATÃO, H. C. R. M.; GOMES, L. A. A.; GUIMARÃES, R. M.; FONSECA, P. H. F.; CAIXETA, F.; MARODIN, J. C. Physiological and isoenzyme alterations in lettuce seeds under different conditions and storage periods. **Journal of Seed Science**, v. 38, n. 4, p. 305-313, 2016.
- FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: UFV, 2008.
- HILLS, P. N.; VAN STADEN, J.; THOMAS, T. H. Thermoinhibition of seed germination. **South African Journal of Botany**, v. 69, n. 4, p. 455-461, 2003.
- MALUF, W. R. Melhoramento genético da alface (*Lactuca sativa* L.). **Melhoramento genético de hortaliças**. Lavras: UFLA, 1994.

MENEZES, N. L.; SANTOS, O. S.; SCHMIDT, D. Produção de sementes de alface em cultivo hidropônico. **Ciência Rural**, v. 31, n. 4, p. 705-706, 2001.

MOTA, J. H.; YURI, J. E.; FREITAS, S. D.; RODRIGUES JUNIOR, J. C.; RESENDE, G. D.; SOUZA, R. D. Avaliação de cultivares de alface americana durante o verão em Santana da Vargem, MG. **Horticultura Brasileira**, v. 21, n. 2, p. 234-237, 2003.

NASCIMENTO, W. M.; CANTLIFFE, D. J. Germinação de sementes de alface sob altas temperaturas. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 1, p. 103-106, 2002.

NASCIMENTO, W. M. Preventing thermoinhibition in a thermosensitive lettuce genotype by seed imbibitions at low temperature. **Scientia Agricola**, v. 60, n. 3, p. 477-480, 2003.

RYDER, E. J.; MILLIGAN, D. C. Additional genes controlling flowering time in *Lactuca sativa* and *L. serriola*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 130, n. 3, p. 448-453, 2005.

SALA, F. C; NASCIMENTO, M. W. Produção de sementes de alface. **Produção de sementes de hortaliças**. Brasília, DF: Embrapa, v. 1, p. 17-42, 2014.

SILVA, E. C.; MALUF, W. R.; LEAL, N. R.; GOMES, L. A. A. Inheritance of bolting tendency in lettuce *Lactuca sativa* L. **Euphytica**, v. 109, n. 1, p. 1-7, 1999.

SOUZA, M. C. M; RESENDE, L. V.; MENEZES, D.; LOGES, V.; SOUTE, T. A; SANTOS, V. F. Variabilidade genética para características agrônômicas em progênes de alface tolerantes ao calor. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 3, p. 354-358, 2008.

SUNG, Y.; CANTLIFFE, D. J.; NAGATA, R. T.; NASCIMENTO, W. M. Structural changes in lettuce seed during germination at high temperature altered by genotype, seed maturation temperature and seed priming. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 133, n. 2, p. 300-311, 2008.

YOONG, F. Y.; O'BRIEN, L. K.; TRUCO, M. J.; HUO, H.; SIDEMAN, R.; HAYES, R.; MICHELMORE, R. W.; BRADFORD, K. J. Genetic variation for thermotolerance in lettuce seed germination is associated with temperature-sensitive regulation of Ethylene Response Factor 1 (ERF1). **Plant Physiology**, v. 170, n. 1, p. 472-488, 2016.

## 4. Artigo - Controle genético da tolerância à termoinibição em sementes de alface

### 4.1 Introdução

A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma hortaliça folhosa cultivada em diversos países. Em 2013, estima-se que o Brasil produziu cerca de 525.602 toneladas de alface, o que representa 11% da produção de hortaliças do país (HORTIBRASIL, 2013). No ano seguinte, o setor de sementes de hortaliças movimentou cerca de 4,6 bilhões de dólares em todo o mundo. A comercialização de sementes de alface correspondeu a 3% desse valor, indicando a importância econômica dessa cultura (ABRASEM, 2014).

A alface pertence à família *Asteraceae* e é originária da região próxima ao Mar Mediterrâneo, região de clima ameno com inverno frio e úmido e verão quente e seco (FILGUEIRA, 2000). Até a década de 1970, as sementes de alface plantadas no Brasil eram importadas dos Estados Unidos e França e adaptadas apenas para o plantio de inverno. No Brasil, o melhoramento da alface foi feito inicialmente por instituições públicas e posteriormente por instituições privadas e disponibilizou para os produtores de alface algumas cultivares de alface recomendadas para o cultivo no verão (NAGAI, 1993).

A temperatura ideal para germinação das sementes de alface é de 20°C. Se no momento da embebição das sementes a temperatura for maior que 30°C podem ocorrer dois fenômenos: a termoinibição, que é reversível, pois a semente pode germinar se houver redução da temperatura ou a termodormência, em que as sementes não germinarão mesmo com a redução da temperatura e se trata de dormência secundária (KHAN, 1980; NASCIMENTO E PEREIRA, 2007). Porém, no caso da termodormência, a germinação pode ser retomada se as sementes forem submetidas a um tratamento para a quebra de dormência (HILLS et al., 2003).

A alface é propagada por sementes e a germinação é influenciada por diversos fatores ambientais como umidade, temperatura (BERTAGNOLLI et al., 2003) e luz. A temperatura pode atuar diretamente na germinação das sementes ou indiretamente por afetar a dormência e a viabilidade das sementes (DENG E SONG, 2012).

A inibição ou retardamento da germinação em altas temperaturas pode ocorrer porque o endosperma atua como uma barreira física impedindo a protrusão da radícula. Foi estudada a atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase e a influência do etileno na regulação dessa enzima na

germinação de sementes de alface a 35°C. Na cultivar termosensível, a adição de etileno promoveu um aumento na ação da enzima endo- $\beta$ -mananase, o que leva ao enfraquecimento do endosperma e conseqüentemente, aumento na germinação sob alta temperatura (NASCIMENTO et al., 2004).

Em estudos anatômicos com sementes de alface visando caracterizar a termotolerância, foi observado que germinação de sementes de alface sob altas temperaturas é influenciada por diversos fatores como genótipo, temperatura de maturação das sementes e pelo priming (SUNG et al., 2008).

Quantitative trait loci, os chamados QTL's, são regiões do genoma responsáveis pela expressão de caracteres fenotípicos que apresentam distribuição contínua, por exemplo, a altura e peso de plantas, a produção de grãos e o teor de óleo (DE TOLEDO et al., 2008). Em um estudo envolvendo o acesso PI 251246, a cultivar Salinas e 161 linhagens isogênicas recombinantes, foi identificado o QTL Htg 9.1. A análise da expressão dos 44 genes codificados nessa região gênica diferenciou apenas um alelo entre as linhagens, associando o alelo Htg9.1 à germinação em temperatura alta. Esse gene é homólogo de *Arabidopsis thaliana*. O fator de transcrição Ethylene Response Factor1 (LsERF1) explicou 56% da variância fenotípica observada para germinação a 30°C (YOONG et al., 2016).

A estimação de parâmetros genéticos e fenotípicos é uma importante ferramenta que vem auxiliar no entendimento de dada característica. Em espécies autógamas, a estimação de tais parâmetros, bem como o teste da hipótese de herança monogênica, tem, em geral, sido feitos utilizando-se dados observados em plantas das linhagens contrastantes "P<sub>1</sub>" e "P<sub>2</sub>", da geração "F<sub>1</sub>" (cruzamento entre P<sub>1</sub> e P<sub>2</sub>) e "F<sub>2</sub>" (autofecundação de plantas F<sub>1</sub>), e dos retrocruzamentos "RC1" (entre indivíduos F<sub>1</sub> e P<sub>1</sub>) e "RC2" (entre indivíduos F<sub>1</sub> e P<sub>2</sub>) (MATOS FILHO et al., 2014; SILVA-LOBO et al., 2005). No caso da alface, devido à dificuldade de se obter sementes seguramente advindas de retrocruzamento, normalmente faz-se a opção pela utilização de sementes de populações F<sub>2:3</sub> (CARVALHO FILHO et al., 2011; CASSETARI, 2015; GOMES et al., 2000; MALUF et al., 2002).

O conhecimento da natureza e da magnitude dos efeitos gênicos que controlam um caráter é primordial para o processo de seleção e para a predição do comportamento das gerações segregantes (CRUZ et al., 2004). As informações sobre caracteres quantitativos podem ser obtidas a partir da estimativa dos componentes de média e variância e este, possibilita

estimar a herdabilidade e o ganho esperado com a seleção (RAMALHO et al., 2012). Para testes de hipótese de herança monogênica, em estudos sobre controle genético de dada característica quantitativa contínua, normalmente se utiliza a aderência à distribuição de qui-quadrado (FREITAS et al., 2002; SOUZA SOBRINHO et al., 1998).

Na literatura poucos são os relatos encontrados sobre genótipos de alface cujas sementes são capazes de germinar sob temperaturas altas. Argyris et al. (2011) cita o acesso de *Lactuca serriola* UC96US23, capaz de germinar em temperaturas próximas aos 37°C e Yoong et al. (2016) comenta sobre o acesso primitivo de *Lactuca sativa* L. PI251246, que é capaz de germinar até em temperatura acima de 33°C. Este acesso foi obtido a partir do cruzamento do acesso UC96US23 com a cultivar Salinas (SCHWEMBER E BRADFORD, 2010). Verifica-se que informações sobre o controle genético da tolerância à termoinibição em sementes de alface (*Lactuca sativa*) praticamente inexitem na literatura. Torna-se relevante o seu conhecimento para a tomada de decisões quanto ao estabelecimento de metodologias adequadas em programas de melhoramento de alface, particularmente para regiões de clima quente.

Objetivou-se com esse trabalho determinar o(s) mecanismo(s) de ação de gene(s) envolvido(s) no processo de tolerância à termoinibição em sementes de alface a partir do cruzamento entre as cultivares Everglades e Verônica.

## 4.2 Material e métodos

As sementes utilizadas no trabalho foram produzidas na Estação Experimental da HortiAgro Sementes Ltda, localizada junto ao Centro de Desenvolvimento e Transferência de Tecnologia da Universidade Federal de Lavras, na fazenda Palmital, município de Ijaci, MG.

Inicialmente foi feito o cruzamento entre as cultivares de alface Everglades e Verônica. A cultivar Everglades apresenta folhas lisas e é considerada tolerante à termoinibição (CATÃO et al., 2014; SUNG et al., 2008), enquanto a cultivar Verônica possui folhas crespas e é sensível à termoinibição.

Os cruzamentos foram realizados pela manhã, com emasculação feita antes do nascer do sol para evitar o corte de estigmas, seguindo a metodologia de emasculação e despolinização por jato de água (NAGAI, 1980).

A partir daí foram obtidas as sementes das gerações F<sub>1</sub> (“Everglades” x “Verônica”), F<sub>2</sub> (“Everglades” x “Verônica”) e F<sub>2:3</sub> (“Everglades” x “Verônica”).

É importante observar que após a obtenção das sementes da geração F<sub>2</sub>, acima descritas, procedeu-se novamente à obtenção das sementes das gerações objeto do estudo, para que fossem obtidas à mesma época e nas mesmas condições, a fim de se evitar qualquer efeito que diferentes condições ambientais poderiam causar nas sementes a serem analisadas. Desta forma, semearam-se ao mesmo tempo sementes dos genitores (cultivares Everglades e Verônica), da geração F<sub>1</sub> (“Everglades” x “Verônica”) e da geração F<sub>2</sub> (“Everglades” x “Verônica”).

A partir destes materiais colheram-se as sementes das cultivares genitoras Everglades e Verônica e das gerações F<sub>1</sub> (“Everglades” x “Verônica”); F<sub>2</sub> (“Everglades” x “Verônica”) colhidas em bulk a partir de plantas F<sub>1</sub> e das progênes F<sub>2:3</sub> (“Everglades” x “Verônica”) a partir da colheita em plantas individuais F<sub>2</sub>.

A confirmação da pureza das sementes F<sub>1</sub> foi feita mediante a semeadura dos genitores e da geração F<sub>1</sub>, em bandeja de polipropileno, verificando-se a ocorrência de contaminação, de acordo com as diferenças da borda das folhas. Cultivar Verônica borda repicada, cultivar Everglades borda lisa e F<sub>1</sub> borda intermediária.

A utilização das sementes de progênes F<sub>2:3</sub> se justifica pela necessidade de se identificar a proporção de segregação existente em F<sub>2</sub>, proporção esta que permite inferir sobre o número de genes envolvidos na característica.

Os testes de germinação foram realizados no Laboratório de Análise de Sementes da UFPA. O delineamento utilizado foi o de distribuição inteiramente casualizada com quatro repetições de 50 sementes, para cada tratamento.

Assim, para cada tratamento foram utilizadas 50 sementes por repetição, sendo 4 repetições para cada um dos genitores; 8 repetições para a F<sub>1</sub> (“Everglades” x “Verônica”) e 4 repetições para cada uma das 26 progênes F<sub>2:3</sub> (“Everglades” x “Verônica”). A média da população F<sub>2</sub> (“Everglades” x “Verônica”) foi considerada como a média da amostra das 26 progênes.

As sementes foram distribuídas em papel mata borrão dentro de caixas tipo gerbox. O papel mata borrão foi previamente umedecido com água destilada na proporção de 2,5 vezes a massa do papel. As caixas gerbox foram colocadas em câmaras tipo BOD na temperatura de 35°C com fotoperíodo de 12 horas. Foi feita a primeira contagem no quarto dia e a segunda contagem no sétimo dia. Após a segunda contagem, a temperatura foi reduzida para 20°C e

foram feitas novas contagens no quarto e no sétimo dia, para se confirmar o efeito de termoinibição, mediante a germinação das sementes nesta temperatura.

Ao término do teste, as sementes remanescentes, ou seja, aquelas que não germinaram, mesmo a 20° C, tiveram seus tegumentos retirados e foram submetidas ao teste de tetrazólio (2,3,5-trifenil cloreto de tetrazólio). Os eixos embrionários foram imersos na solução de tetrazólio a 1% durante três horas no escuro na temperatura de 30°C. Após esse tempo, as sementes foram classificadas em vivas ou mortas dependendo da coloração do eixo embrionário. O teste de germinação foi feito de acordo com os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), e os resultados, expressos em percentagem de sementes viáveis.

Os dados foram submetidos à análise de variância de acordo com o teste F. Foram obtidas as médias e as variâncias de cada tratamento. A partir dessas estimativas foram obtidos os componentes genéticos de média e variância. As análises de variâncias de cada tratamento foram feitas utilizando o programa estatístico SISVAR versão 5.0 (FERREIRA, 2011) e os componentes de média e de variância foram estimados pelo programa R versão 3.1.3 (2015). O teste de Dunnet foi realizado utilizando o programa Genes.

Os componentes de média  $m$ ,  $a$  e  $d$  foram estimados pelo método dos quadrados mínimos ponderados considerando o modelo aditivo e dominante sem epistasia (RAMALHO et al., 2012), segundo a expressão:

$$\hat{\beta} = (C'NS^{-1}C)^{-1}(C'NS^{-1}Y)$$

$$\hat{\beta} = \begin{vmatrix} \hat{m} \\ \hat{a} \\ \hat{d} \end{vmatrix} \quad C = \begin{vmatrix} 1 & -1 & 0 \\ 1 & 1 & 0 \\ 1 & 0 & 1 \\ 1 & 0 & 0,5 \end{vmatrix} \quad Y = \begin{vmatrix} \bar{P}_1 \\ \bar{P}_2 \\ \bar{F}_1 \\ \bar{F}_2 \end{vmatrix}$$

$$N = \begin{vmatrix} n_1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & n_2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & n_3 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & n_4 \end{vmatrix} \quad S = \begin{vmatrix} VP_1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & VP_2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & VF_1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & VF_2 \end{vmatrix}$$

Em que:

$\beta$  é o vetor das estimativas, sendo: m: estimador da média; a: estimador dos desvios do homozigoto em relação à média e d: desvio do heterozigoto em relação à média.

C é a matriz do modelo e se refere às populações P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub>.

Y é o vetor dos valores médios observados em cada população:

N é a matriz associada ao número de plantas avaliadas, sendo n<sub>1</sub>, n<sub>2</sub>, n<sub>3</sub> e n<sub>4</sub> o número de plantas das populações P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub>, respectivamente.

S é a matriz de variâncias associadas às populações e VP<sub>1</sub>, VP<sub>2</sub>, VF<sub>1</sub> e VF<sub>2</sub> são as variâncias entre as plantas das gerações P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub>, respectivamente.

Os componentes de variância fenotípica  $\hat{V}_E$ ,  $\hat{V}_A$  e  $\hat{V}_D$  foram estimados pelo método dos quadrados mínimos ponderados, conforme Ramalho et al. (2012) e Cruz et al. (2012), considerando as mesmas populações e segundo a expressão:

$$\hat{\beta} = (C'NS^{-1}C)^{-1}(C'NS^{-1}Y)$$

$$\hat{\beta} = \begin{vmatrix} \hat{V}_A \\ \hat{V}_E \\ \hat{V}_D \end{vmatrix} \quad C = \begin{vmatrix} 1 & -1 & 0 \\ 1 & 1 & 0 \\ 1 & 0 & 1 \\ 1 & 1 & 1 \end{vmatrix} \quad Y = \begin{vmatrix} VP_1 \\ VP_2 \\ VF_1 \\ VF_2 \end{vmatrix}$$

$$N = \begin{vmatrix} GL P_1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & GL P_2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & GL F_1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & GL F_2 \end{vmatrix} \quad S = \begin{vmatrix} VP_1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & VP_2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & VF_1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & VF_2 \end{vmatrix}$$

Em que:

$\beta$  é o vetor das estimativas, onde:  $\hat{V}_E$ : variância ambiental;  $\hat{V}_A$ : variância genética aditiva e  $\hat{V}_D$ : variância genética de dominância.

Y é o vetor das variâncias estimadas a partir das observações das diferentes populações.

C é a matriz do modelo.



A matriz N é construída de acordo com a matriz do modelo, sendo GL correspondente aos graus de liberdade associados a cada fonte de variação.

A matriz de ponderação S corresponde às variâncias observadas de cada população.

Por meio das estimativas dos componentes de variância foi obtida a herdabilidade no sentido restrito ( $h_r^2$ ) para o caráter porcentagem de germinação.

$$h_r^2 = \frac{\hat{V}_A}{\hat{V}_A + \hat{V}_D + \hat{V}_E}$$

A acurácia ( $rgg'$ ) foi estimada pela fórmula:

$$rgg' = \sqrt{1 - (1/F)}$$

A proporção fenotípica da população F2 foi testada pelo teste Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) (STEEL E TORRIE, 1980).

### 4.3 Resultados e discussão

Inicialmente apresenta-se a análise de variância (Tabela 1), cujo teste F mostra que os genótipos diferem entre si ao nível de 1% de probabilidade, confirmando que existe variabilidade para o caráter de tolerância à termoinibição (germinação a 35°C) em sementes de alface das cultivares Everglades e Verônica e das gerações oriundas do cruzamento entre elas. Foram feitas também as análises de variância de cada população separadamente e obtidas as médias de germinação a 35°C de cada população. De acordo com a classificação do coeficiente de variação (CV) proposta por Pimentel-Gomes (2009), o experimento apresenta média precisão experimental (Tabela 1).

Tabela 1 - Análise de variância da porcentagem de germinação de sementes de alface a 35°C.

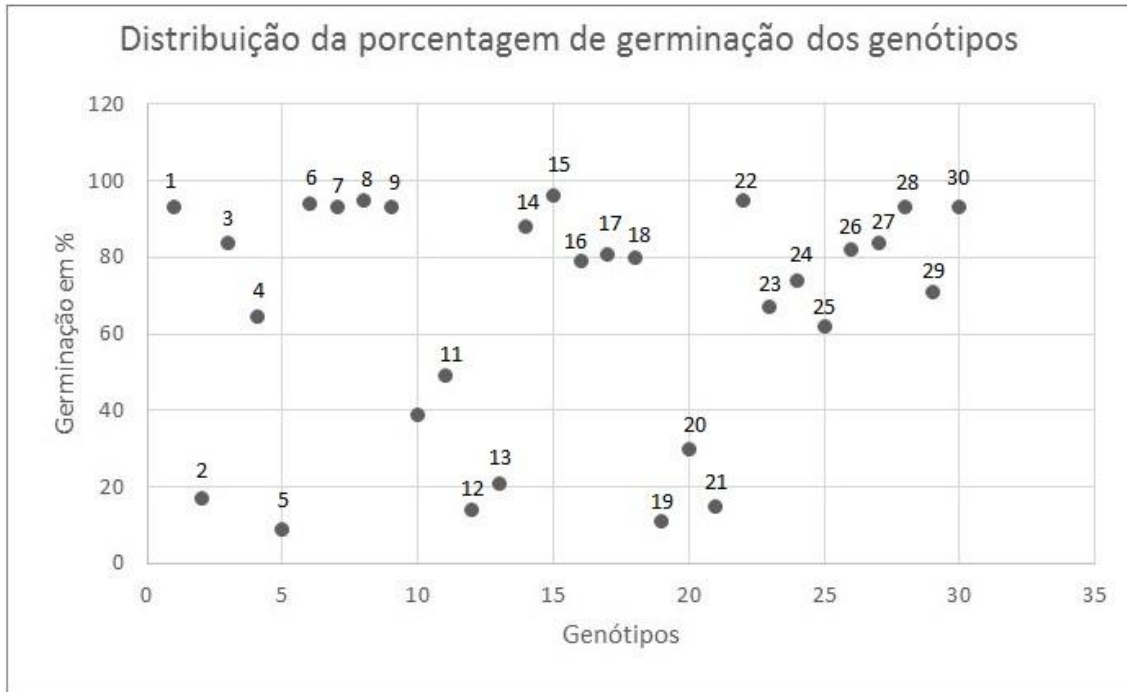
FV	GL	SQ	QM	Fc	Médias
Genótipos	29	110703,5577	3817,3641	62,99**	-
Erro	90	5454,3506	60,6039	-	-
Total	119	116157,9083	-	-	-
Dentro de pai 1	3	36,6656	12,2219	-	93
Dentro de pai 2	3	212,5025	70,8342	-	17
Dentro da F <sub>1</sub>	7	295,6821	42,2403	-	81
Dentro da F <sub>2</sub>	103	100975,0404	980,3402	-	65
CV (%)				-	11,89
Média Geral				-	66

As cultivares Everglades e Verônica apresentaram 93 e 17% de germinação a 35°C, respectivamente, e encontram-se representadas pelos genótipos 1 e 2 (Gráfico 1), valores que caracterizam a divergência entre estes parentais quanto à tolerância à termoinibição. As gerações F<sub>1</sub>, representada pelo genótipo 3 e F<sub>2</sub>, representada pelo genótipo 4, apresentaram valores de germinação intermediários em relação aos genitores, sendo 81% para F<sub>1</sub> e 65% para F<sub>2</sub>, indicando que o tipo de interação alélica predominante, que condiciona a tolerância à termoinibição, é aditiva. Interações alélicas do tipo aditiva são comuns para diversas características em espécies autógamas.

Todas as sementes que não haviam germinado após os sete dias do teste de germinação a 20° C foram submetidas ao teste de tetrazólio e todas foram consideradas mortas. Constatou-se que não houve termodormência, pois a capacidade germinativa das sementes que estavam vivas e não germinaram a 35° C, foi retomada a 20° C.

As progênies F<sub>2:3</sub> que correspondem aos 26 genótipos enumerados de 5 a 30 (Gráfico 1) apresentaram médias de germinação variando de 9 a 96%, com média geral de 65%, valor semelhante à geração F<sub>2</sub>.

Gráfico 1 - Dispersão da porcentagem de germinação de sementes de alface a 35°C dos genitores “Everglades” (1) e “Verônica” (2) e das gerações F1 (3); F2(4) e 26 progênes F2:3 (5 a 30). (Numeração dos genótipos inicia-se da esquerda para direita).



Os resultados da análise dos componentes de média (Tabela 2) mostram que os efeitos aditivos ( $a = 38,78$ ) são mais expressivos que os efeitos não aditivos ( $d = 26,28$ ) para o caráter de tolerância à termoinibição. O grau médio de dominância (GMD) foi de 0,68 indicando que existe um componente de dominância relativamente alto, porém inferior aos efeitos aditivos no controle desse caráter. Esses resultados são importantes para a cultura da alface, já que é uma espécie autógama explorada pelos programas de melhoramento principalmente na forma de linhagens.

Tabela 2 - Estimativa dos componentes de média da porcentagem de germinação de sementes de alface a 35°C.

Parâmetro do modelo	Estimativa	Erro padrão	Prob> t
m	53,98	8,38	0,0000
a	38,78	8,63	0,0000
d	26,28	12,60	0,0199
GMD	0,68	-	-

População	Germinação em %	
	Observada	Estimada
Everglades	92,92	92,76
Verônica	16,14	15,19
F1	80,82	80,26
F2	65,12	67,12
$\chi^2$	0,54	P(0,4624)
$R^2$	99,99	-

O modelo aditivo dominante sem epistasia explicou as médias observadas, pois o  $\chi^2$  foi não significativo e a estimativa de  $R^2$  entre as médias observada e estimada foi praticamente um.

Observando os componentes de variância, verifica-se que a variância aditiva foi bastante expressiva indicando facilidade para o melhoramento desse caráter, já que os efeitos aditivos podem ser fixados e há possibilidade de se prever com segurança o desempenho da próxima geração. O baixo valor de  $V_D$  pode ser confirmado pelo baixo valor de d (Tabela 3).

A estimativa da herdabilidade no sentido restrito foi considerada alta, isso significa que a maior parte da variabilidade fenotípica desse caráter se deve à variância aditiva, ou seja, a porção da variância genética que pode ser fixada com a seleção. Além disso, o caráter deve ser controlado por poucos genes. Dessa forma, a seleção baseada no fenótipo deve ser eficiente (Tabela 3).

De acordo com a classificação da acurácia seletiva proposta por Resende e Duarte (2007) o experimento pode ser considerado de muito alta precisão, que pode ser explicada pela estimativa de herdabilidade do caráter em estudo ser alta e além disso o experimento foi conduzido em condições de temperatura e luminosidade controladas (Tabela 3).

Tabela 3 – Estimativa dos componentes de variância da porcentagem de germinação de sementes de alface a 35°C.

Parâmetros	Estimativas	Erro	Teste t	Prob. t>0
<b>Variância genética (V<sub>G</sub>)</b>	<b>966,423846</b>			
Variância aditiva (V <sub>A</sub> )	938,0999	15,289921	61,35414	1,5879e-75
Variância de dominância (V <sub>D</sub> )	28,323946	2,3835914	11,88289	1,9405e-20
Variância do erro (V <sub>E</sub> )	13,916352	0,8516326	16,34079	5,6721e-29
h <sup>2</sup>	98,5805			
rgg'	0,99			
R <sup>2</sup>	97,318982	0	0	0
χ <sup>2</sup>	1,662231	0	0	0

De acordo com o teste Qui-quadrado as plantas das progênes F<sub>2:3</sub> segregaram na proporção 1:2:1 (Tabela 4) o que comprova que o caráter é controlado por um gene com dominância incompleta.

Tabela 4 – Segregação da geração F<sub>2</sub> da porcentagem de germinação a 35°C e teste Qui-quadrado (χ<sup>2</sup>) para a proporção 1:2:1.

Germinação em %	Frequência observada	Frequência esperada
0,00 - 23,50	5	6,50
23,50 – 52,50	3	6,50
52,50 – 81,50	7	6,50
81,50 – 100,00	11	6,50
Total	26	26
	χ <sup>2</sup> t = 5,99	χ <sup>2</sup> c = 4,15

A análise de variância em relação à germinação das sementes colhidas em plantas da geração F<sub>2</sub> {(progênes F<sub>2:3</sub> (“Everglades” x “Verônica”))} mostrou haver diferença significativa para germinação entre as plantas dessa população ao nível de 1% de probabilidade. Essa variabilidade genética é indispensável para programas de melhoramento e pode ser explorada para obtenção de linhagens de alface termotolerantes (Tabela 5).

Tabela 5 – Análise de variância da porcentagem de germinação de sementes de alface colhidas em plantas da geração F2 {(progênies F2:3 (“Everglades” x “Verônica”)} a 35°C.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Plantas da geração F2	25	95978,2286	3839,1291	59,93**	0,00
Erro	78	4996,8119	64,0617		
Total	103	100975,0404			
CV	12,29%				

Vários hormônios como etileno, giberelina e ácido abscísico estão relacionados com a germinação das sementes de alface (ARGYRIS et al., 2008). Segundo Yoong et al. (2016), a identificação de genes e vias regulatórias associadas com a variação genética na sensibilidade à temperatura de germinação poderia esclarecer melhor o papel dos hormônios na regulação da dormência de sementes. Novos estudos envolvendo o controle de genes relacionados à germinação em sementes de alface seriam importantes para melhor esclarecer o controle da termoinibição.

#### 4.4 Conclusões

A tolerância à termoinibição em sementes de alface é uma característica controlada por um ou poucos genes.

Os efeitos aditivos foram mais expressivos do que os efeitos não aditivos para o caráter de tolerância à termoinibição em sementes de alface.

A herdabilidade no sentido restrito é relativamente alta para a característica de tolerância à termoinibição em sementes de alface, o que permite antever sucesso com a seleção.

O melhoramento convencional da alface visando à tolerância à termoinibição é viável, a partir de cruzamento entre genótipos contrastantes.

#### 4.5 Agradecimentos

Agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), à Universidade Federal de Lavras (UFLA) e à HortiAgro Sementes S.A. pelo apoio.

## 5. Considerações gerais

Características relacionadas às sementes podem apresentar efeito materno, o que eventualmente poderia influenciar na interpretação de resultados relacionados à geração F<sub>1</sub>. A expressão dessas diferenças em sementes pode ser esperada, uma vez que é influenciada pelo genótipo de três tecidos com composição genética variável: a parte feminina da planta, que porta o fruto e que contém as sementes em desenvolvimento contribui com a testa; o endosperma, triploide, que nutre o embrião em desenvolvimento e o embrião, diploide (ORSI E TANKSLEY, 2009).

Alguns trabalhos citam que a termoinibição em sementes de alface pode ser devida à dificuldade de rompimento do endosperma. Nas condições que favorecem a termoinibição parece que o endosperma atua como uma barreira física dificultando ou impedindo a protrusão da radícula. A adição de etileno na germinação de uma cultivar sensível à termoinibição promoveu um aumento na ação da enzima endo-β-mananase, o que leva ao enfraquecimento do endosperma e conseqüentemente a um aumento na germinação sob alta temperatura (NASCIMENTO et al., 2004). Sendo o endosperma de origem triploide, o resultado da germinação em sementes F<sub>1</sub> poderia ser em parte ou totalmente influenciado pelo genótipo materno.

O resultado de germinação a 35°C (81%) obtido para a geração F<sub>1</sub> (Everglades x Verônica) mostrou um valor intermediário entre os genitores feminino “Everglades” (93%) e masculino “Verônica” (17%), com uma tendência de se aproximar do genitor feminino tolerante “Everglades”, já que foi superior à média dos dois. Este resultado é típico de característica com efeito aditivo que apresenta uma dominância parcial.

A dominância parcial que é dada pelo valor “d”, é caracterizada pelos desvios da média da geração F<sub>1</sub> (81%) em relação à média dos genitores (55%).

$$d = \frac{mF_1 - m(P_1 + P_2)}{2}$$

No caso, este valor foi de 28, ou seja, houve uma contribuição no sentido de aumentar o valor da germinação na geração F<sub>1</sub> em 50,90% em relação à média dos genitores. Em princípio, não havendo efeito materno, pode-se atribuir somente ao efeito de dominância esta contribuição no aumento do valor da germinação. Por outro lado, caso haja efeito materno, parte

deste valor ou mesmo sua totalidade poderia ser atribuída a efeito materno, o qual não chegaria a 100%, já que a germinação não se igualou à do genitor feminino “Everglades”.

De toda forma, mesmo que haja efeito materno, pode-se concluir que o mesmo não contribui com a totalidade dos desvios em relação à média dos genitores, sendo parte destes realmente devido a efeitos de dominância. Esta conclusão pode ser inferida a partir dos resultados de germinação das sementes da geração F2 e das progênes F2:3, (65%) cujos valores indicam que prevalece uma tendência de maior germinação em relação à média dos genitores.

O efeito materno é um caso especial de herança controlada por genes da mãe, onde os resultados do cruzamento direto e do cruzamento recíproco se mostram diferentes (RAMALHO et al., 2001). No presente trabalho não foi possível testar o cruzamento recíproco, pois não se obteve sementes suficientes a partir da utilização da cultivar Verônica como genitor feminino.

Desta forma, a característica de termoinibição em sementes de alface tem um componente aditivo predominante, além de uma dominância parcial no sentido do maior valor de germinação. Esta dominância parcial pode ser maior ou menor, conforme haja ou não efeito materno e, se houver, dependendo de sua intensidade.

Estes resultados indicam a necessidade de se continuar estudando as características envolvidas na termoinibição em sementes de alface, incluindo a realização de cruzamentos recíprocos entre as cultivares Everglades e Verônica, o que permitirá maiores esclarecimentos em relação ao controle genético do caráter.



## 6. Referências bibliográficas

- ABRASEM. Associação Brasileira de Sementes e Mudanças. **Anuário 2014**. Brasília, 2014. 52 p.
- ARGYRIS, J.; DAHAL, P.; HAYASHI, E.; STILL, D. W.; BRADFORD, K. J. Genetic variation for lettuce seed thermoinhibition is associated with temperature-sensitive expression of abscisic acid, gibberellin, and ethylene biosynthesis, metabolism, and response genes. **Plant Physiology**, v. 148, n. 2, p. 926-947, 2008.
- ARGYRIS, J.; TRUCO, M. J.; OCHOA, O.; MCHALE, L.; DAHAL, P.; VAN DEYNZE, A.; BRADFORD, K. J. A gene encoding an abscisic acid biosynthetic enzyme (LsNCED4) colocalizes with the high temperature germination locus Htg6. 1 in lettuce (*Lactuca* sp.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 122, n. 1, p. 95-108, 2011.
- BERTAGNOLLI, C. M.; MENEZES, N. L.; STORCK, L.; SANTOS, O. S.; PASQUALLI, L. L. Desempenho de sementes nuas e peletizadas de alface (*Lactuca sativa* L) submetidas a estresses hídrico e térmico. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 25, n. 1, p. 7-13, 2003.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: Mapa/ACS, 399p., 2009.
- CARVALHO FILHO, J. L. S.; GOMES, L. A. A.; MALUF, W. R.; OLIVEIRA, R. R.; COSTA, D. S.; FERREIRA, S.; MONTEIRO, A. B.; CARVALHO, R. R. Resistance to *Meloidogyne incognita* race 1 in the lettuce cultivars Grand Rapids and Salinas-88. **Euphytica**, Wageningen, v. 182, n. 2, p. 199-208, 2011.
- CASSETARI, L. S. **Controle genético dos teores de clorofila e carotenóides em folhas de alface**. 2015.78 f. Tese (doutorado em fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2015.
- CATÃO, H. C. R. M.; GOMES, L. A. A.; DOS SANTOS, H. O.; GUIMARÃES, R. M.; FONSECA, P. H. F.; CAIXETA, F. Aspectos fisiológicos e bioquímicos da germinação de sementes de alface em diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 49, n. 4, p. 316-322, 2014.

- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. **Métodos biométricos aplicados ao melhoramento genético**, 4. ed. Viçosa, UFV, 2012, 414 p.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**, 3. ed. Viçosa: UFV, 2004, 480 p.
- DE TOLEDO, E. R. et al. Mapeamento de QTL's: uma abordagem bayesiana. **Rev. Bras. Biom.**, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 107-114, 2008.
- DENG, Z.; SONG, S. Sodium nitroprusside, ferricyanide, nitrite and nitrate decrease the thermo-dormancy of lettuce seed germination in a nitric oxide-dependent manner in light. **South African Journal of Botany**, v. 78, p. 139-146, 2012.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: UFV, 2000.
- FREITAS, A. F.; WILCOX, C. J.; COSTA, C. N. Breed Group Effects on Milk Production of Brazilian Crossbred Dairy Cows<sup>1</sup>. **Journal of dairy science**, v. 81, n. 8, p. 2306-2311, 1998.
- GOMES, L. A. A.; MALUF, W. R.; CAMPOS, V. P. Inheritance of the resistant reaction of the lettuce cultivar 'Grand Rapids' to the Southern root-knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. **Euphytica**, Wageningen, v. 114, n. 1, p. 37-46, 2000.
- HILLS, P. N.; VAN STADEN, J.; THOMAS, T. H. Thermoinhibition of seed germination. **South African Journal of Botany**, v. 69, n. 4, p. 455-461, 2003.
- HORTIBRASIL 2013. Instituto Brasileiro de Qualidade em Horticultura. Alface em números. Disponível em: <http://www.hortibrasil.org.br/frutas-e-hortalicas-frescas>. Acesso em: 26-dez.-2016.
- KHAN, A. A. Hormonal regulation of primary and secondary seed dormancy. **Israel Journal of Botany**, v. 29, n. 1-4, p. 207-224, 1980.
- MALUF, W. R.; AZEVEDO, S. M.; GOMES, L. A. A.; OLIVEIRA, A. C. B. Inheritance of resistance to the root knot nematode *Meloidogyne javanica* in lettuce. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 1, n. 1, p. 64-71, 2002.

- MATOS FILHO, C. H. A.; GOMES, R. L. F.; FREIRE FILHO, F. R.; ROCHA, M. M.; LOPES, A. C. A.; NUNES, J. A. R. Herança de caracteres relacionados à arquitetura da planta em feijão-caupi. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 4, p. 599-604, 2014.
- NAGAI, H. Alface tipo Manteiga In: FURLANI, A. M. C.; VIÉGAS, G. P. (Ed.). **O Melhoramento de plantas no Instituto Agronômico**. Campinas: Instituto Agronômico, 1993, p. 204-221.
- NAGAI, H. Obtenção de novos cultivares de alface (*Lactuca sativa* L.) resistente ao mosaico e ao calor: Brasil-303 e 311. **Revista de Olericultura**, Campinas, v. 18, p. 14-21, 1980.
- NASCIMENTO, W. M.; CANTLIFFE, D. J.; HUBER, D. J. Ethylene evolution and endo- $\beta$ -mannanase activity during lettuce seed germination at high temperature. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 61, n. 2, p. 156-163, 2004.
- NASCIMENTO, W. M.; PEREIRA, R. S. Testes para avaliação do potencial fisiológico de sementes de alface e sua relação com a germinação sob temperaturas adversas. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 29, n. 3, p. 175-179, 2007.
- ORSI, C. H.; TANKSLEY, S. D. Natural variation in an ABC transporter gene associated with seed size evolution in tomato species. **PLoS Genet**, v. 5, n. 1, p. e1000347, 2009.
- PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**, 15. ed. Piracicaba: FEALQ, 2009.
- RCORE, T. E. A. M. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. **Online: [http://www. R-project. org](http://www.R-project.org)**, 2015.
- RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. D. F.; SANTOS, J. D.; NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. D. Melhoramento de espécies autógamas. **Recursos genéticos e melhoramento de plantas. Fundação MT, Rondonópolis**, p. 201-230, 2001.
- RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B.; SANTOS, J. B.; NUNES, J. A. R. **Aplicações da genética quantitativa no melhoramento de plantas autógamas**. 1. ed. Lavras: Ed. UFLA, 2012.
- RESENDE, M. D. V.; DUARTE, J. B. Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 37, n. 3, p. 182-194, 2007.

- SCHWEMBER, A. R.; BRADFORD, K. J. A genetic locus and gene expression patterns associated with the priming effect on lettuce seed germination at elevated temperatures. **Plant Molecular Biology**, v. 73, n. 1-2, p. 105-118, 2010.
- SILVA-LOBO, V. L.; GIORDANO, L. B.; LOPES, C. A. Herança da resistência à mancha bacteriana em tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 4, p. 343-349, 2005.
- SOUZA SOBRINHO, F. S.; RAMALHO, M. A. P.; SOUZA, J. C. Heterose de alguns híbridos em uso na Região Sudeste. In: **Congresso Nacional de Milho e Sorgo**, 22., 1998. Recife. **Resumos...** Sete Lagoas: ABMS/IPA/EMBRAPA MS, 1998.
- STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H. **Principles and procedures of statistics** – a biometrical approach, 2. ed. New York: Mc Graw-Hill, 1980.
- SUNG, Y.; CANTLIFFE, D. J.; NAGATA, R. T.; NASCIMENTO, W. M. Structural changes in lettuce seed during germination at high temperature altered by genotype, seed maturation temperature and seed priming. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 133, n. 2, p. 300-311, 2008.
- YOONG, F. Y.; O'BRIEN, L. K.; TRUCO, M. J.; HUO, H.; SIDEMAN, R.; HAYES, R.; MICHELMORE, R. W.; BRADFORD, K. J. Genetic variation for thermotolerance in lettuce seed germination is associated with temperature-sensitive regulation of Ethylene Response Factor 1 (ERF1). **Plant Physiology**, v. 170, n. 1, p. 472-488, 2016.