

ANDREA FARNEZE BERENGUER

SELEÇÃO INDIRETA EM GENÓTIPOS DE TOMATEIRO PARA TOLERÂNCIA
AO ESTRESSE HÍDRICO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia – Mestrado, área de concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. Gabriel Mascarenhas Maciel

UBERLÂNDIA
MINAS GERAIS – BRASIL
2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

B488s
2016 Berenguer, Andrea Farneze, 1989
 Seleção indireta em genótipos de tomateiro para tolerância ao
 estresse hídrico / Andrea Farneze Berenguer. - 2016.
 20 p.

 Orientador: Gabriel Mascarenhas Maciel.
 Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
 Programa de Pós-Graduação em Agronomia.
 Inclui bibliografia.

 1. Agronomia - Teses. 2. Tomate - Seleção - Teses. 3. Seleção de
 plantas - Melhoramento genético - Teses. I. Maciel, Gabriel
 Mascarenhas. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-
 Graduação em Agronomia. III. Título.

CDU: 631

ANDREA FARNEZE BERENGUER

SELEÇÃO INDIRETA EM GENÓTIPOS DE TOMATEIRO PARA TOLERÂNCIA
AO ESTRESSE HÍDRICO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de
Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-
graduação em Agronomia – Mestrado, área de concentração
em Fitotecnia, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 18 de janeiro de 2016.

Prof. Dr. Eusímio Felisbino Fraga Junior UFU

Prof. Dr. Everson Reis Carvalho UFU

Prof. Dr. Ernani Clarete da Silva UFSJ

Prof. Dr. Gabriel Mascarenhas Maciel
ICIAG-UFU
(Orientador)

UBERLÂNDIA
MINAS GERAIS – BRASIL
2015

AGRADECIMENTOS

A minha família: meus pais, meus irmãos, pela presença constante em todas as etapas de minha vida e enorme apoio.

Ao meu marido Leôncio, por todo apoio, dedicação, amor e paciência.

Ao meu orientador prof. Dr. Gabriel Mascarenhas Maciel, pelos ensinamentos e por ter acreditado no meu potencial, me ajudando em todos os momentos na realização do projeto.

A equipe do GenHort, em especial à Debora, a Camila, a Vanessa e ao Rafael, por terem se dedicado tanto em me ajudar.

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT.....	ii
INTRODUÇÃO.....	1
MATERIAL E MÉTODOS	2
Determinação da concentração de manitol	2
Obtenção dos genótipos F ₂ RC ₁	4
Seleção indireta de genótipos segregantes ao estresse hídrico	5
RESULTADOS E DISCUSSÃO	7
Determinação da concentração de manitol	7
Seleção indireta de genótipos segregantes ao estresse hídrico	9
CONCLUSÃO	12
REFERÊNCIAS	13

RESUMO

BERENGUER, ANDREA FARNEZE. Proposta metodológica para seleção indireta em genótipos de tomateiro tolerantes ao estresse hídrico. 2016. 18p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia¹.

Resumo - O objetivo do trabalho foi definir uma metodologia de seleção indireta para tolerância ao estresse hídrico em tomateiro. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Análise de Sementes e Recursos Genéticos e na Estação Experimental de Hortaliças, da Universidade Federal de Uberlândia, Campus Monte Carmelo, MG. No primeiro momento foi avaliado a melhor concentração de Manitol capaz de identificar dois genótipos contrastantes (acesso selvagem LA-716, *Solanum pennellii* e cultivar Santa Clara) sabidamente tolerante e suscetível ao estresse hídrico, respectivamente. O nível de potencial osmótico de -0,3 MPa obtido a partir da utilização de 22,29 L⁻¹ de Manitol apresentou maior eficiência para seleção. Esta concentração foi utilizada para seleção em sete famílias segregantes F₂RC₁, comparando com a testemunha resistente, acesso selvagem LA-716 (*Solanum pennellii*) e suscetível (cultivar Santa Clara). Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade (teste de Lilliefors). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Foram realizados contrastes ortogonais de interesse comparando cada grupo para cada característica avaliada empregando o teste Scheffé (α = 0,05 e 0,01). A família UFU80 - F2RC1#1 se destacou entre as demais apresentando diferenças significativas em relação à testemunha suscetível ao estresse hídrico (cv Santa Clara).

Termos para indexação: *Solanum lycopersicum*; potencial osmótico; plântulas; método indireto.

¹Orientador: Gabriel Mascarenhas Maciel – UFU.

ABSTRACT

BERENGUER, ANDREA FARNEZE. **Methodological proposal for indirect selection in tomato genotypes tolerant to water stress**. 2016. 18p. Uberlândia: UFU, 2004. 26 p. Dissertation (Master Program Agronomy/Crop Science) – Federal University of Uberlândia, Uberlândia.¹

Abstract - The objective was to define an efficient method of indirect selection for tolerance to water stress and use it as a screening method in tomato genotypes F₂RC₁. The experiments were conducted at the Seed Analysis Laboratory and Genetic Resources and the Experimental Station of vegetables, the Federal University of Uberlândia in Monte Carmelo. At first it was assessed how best concentration of Mannitol able to identify two genotypes (wild access LA-716, *Solanum pennellii* and cv Santa Clara) known to be tolerant and susceptible to water stress, respectively. The potential level of -0.3 MPa osmotic obtained from the use of 22.29 g L⁻¹ Mannitol presented selection efficiency. This methodology was used for selection in seven F₂RC₁ families, wild accession *Solanum pennellii* and cv Santa Clara. Was used a completely randomized design. The data were submitted to normality test (Lilliefors test). To compare means, we used the Tukey test at a significance level of 5% probability (p < 0.05). Orthogonal contrasts of interest were performed comparing each group for each characteristic evaluated using the Scheffé test ($\alpha = 0.05$ and 0.01). The family UFU80-F₂RC₁ # 1 differed statistically in relation to check susceptible to water stress.

Index terms: *Solanum lycopersicum*; osmotic potential; seedlings; indirect method.

¹Major Professor: Gabriel Mascarenhas Maciel – UFU.

INTRODUÇÃO

O cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) no Brasil ocorre em todas as regiões geográficas, em épocas distintas, sob sistemas de cultivo e condições edafoclimáticas diferentes. Além da importância econômica e nutricional, o cultivo do tomateiro demanda elevada mão-de-obra, exercendo importante influência social pela geração de empregos diretos e indiretos em toda a sua cadeia produtiva (ALVARENGA, 2004).

Um dos grandes entraves durante o cultivo do tomateiro está relacionado com a alta demanda hídrica durante as irrigações (ALVARENGA, 2004). Há relatos que a prática da irrigação deve sofrer mudanças nos próximos anos em função da crescente competição e impactos ambientais proporcionados pelo uso da água na agricultura (FRIZZONE, 2004; RAMOS et al., 2012). Em tomateiro, a deficiência hídrica é considerada o fator de maior relevância e afeta diretamente a produção (SANTANA et al., 2009). Ademais, em períodos de seca prolongada ou o manejo incorreto da irrigação pode proporcionar abortamento de flores refletindo na produtividade (MAROUELLI; SILVA, 2006; SILVA et al., 2013).

Atualmente, são escassas pesquisas que visem à obtenção de genótipos de tomateiro tolerantes a estresses abióticos. Entre os vários fatores abióticos que limitam a produtividade, tem-se destaque o estresse hídrico, pois afeta as relações hídricas, resultando em alterações no metabolismo das plantas. Atualmente não estão disponíveis genótipos de tomateiro com boas características comerciais aliado a níveis satisfatórios de tolerância à seca. Diante disso, o melhoramento genético do tomateiro para tolerância à seca é de fundamental importância, especialmente para regiões sujeitas ao estresse hídrico. Há relatos de métodos eficientes de seleção direta (NAHAR; ULLAH, 2011; SHAMIM et al., 2014) e indireta em tomateiro (KULKARNI; DESHPANDE, 2007; AAZAMI et al., 2010; MORALES et al., 2015) visando tolerância ao estresse hídrico. Várias pesquisas têm demonstrado a eficiência de seleção de genótipos tolerantes ao estresse hídrico a partir da utilização de soluções osmóticas submetidas em sementes e plântulas. Dentre as substâncias mais utilizadas para selecionar genótipos tolerantes ao estresse hídrico, o Manitol P.A ($C_6H_{14}O_6$) – P.M. 182,17 possui eficiência comprovada para várias espécies (COSTA et al., 2004; MACHADO NETO et al., 2006; ÁVILA et

al., 2007; ECHER et al., 2010; GIROTTO et al., 2012), não havendo ainda relatos do uso em tomateiro.

O gênero *Solanum*, apresenta ampla distribuição geográfica, presente em diferentes habitats e diversas condições ambientais (ALVARENGA, 2004). Espécies selvagens de tomateiro ocorrem espontaneamente em ambientes com escassez de água (ROUSSEAUX et al., 2005), o que possibilita fomentar programas de melhoramento. Entre as espécies selvagens de tomateiro tolerantes ao estresse hídrico tem-se destacado o acesso LA-716, *S. pennellii*, que possui habitat natural oriundo de regiões quente e seca, situado no oriente dos Andes até o oeste da Costa Pacífica (HOLTAN; HAKE, 2003).

Este trabalho se baseia na hipótese de que, é possível criar uma proposta metodológica utilizando manitol, capaz de selecionar de forma indireta genótipos de tomateiro tolerantes ao estresse hídrico. Diante disso, o objetivo do trabalho foi definir um método eficiente de seleção indireta quanto à tolerância ao estresse hídrico em tomateiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Análise de Sementes e Recursos Genéticos (LAGEN) e na Estação Experimental de Hortaliças (altitude 873 m, 18°42'43,19" S, 47°29'55,8" O), da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), em Monte Carmelo-MG, entre os meses de maio de 2013 a agosto de 2015.

Determinação da concentração de manitol

Este primeiro experimento foi realizado no laboratório com intuito de definir a melhor concentração de Manitol P.A ($C_6H_{14}O_6$) – P.M. 182,17. Foram utilizadas sementes de dois genótipos de tomateiro: acesso selvagem LA-716, *Solanum pennellii*, sabidamente tolerante ao estresse hídrico (ROUSSEAUX et al., 2005) e cultivar Santa Clara, suscetível ao estresse hídrico. Realizou-se a semeadura de ambos genótipos em caixas plásticas transparentes de 11 x 11 x 3,0, com tampa sobre duas folhas de papel tipo Germitest. O substrato foi previamente umedecido na proporção equivalente a 2,5

vezes o peso do substrato seco, com água destilada (controle) e onze soluções de Manitol (Tabela 1).

TABELA 1. Concentrações de Manitol para se obter diferentes níveis de potencial osmótico da solução de embebição.

Níveis de Potenciais Osmótico (MPa)	Manitol (g L ⁻¹)
0	0
-0,05	3,71
-0,1	7,43
-0,2	14,86
-0,3	22,29
-0,4	29,13
-0,5	37,15
-0,6	44,58
-0,7	52,01
-0,8	59,44
-0,9	66,87
-1,0	74,43

As diferentes condições de estresse hídrico foram calculadas pela fórmula de Van't Hoff (Taiz; Zeiger, 2004), ou seja: $\psi_{os} = -RTC$, em que: ψ_{os} = potencial osmótico (atm); R= constante geral dos gases perfeitos (8,32 J mol⁻¹ K⁻¹); T = temperatura (K); C = concentração (mol L⁻¹), onde T (K) = 273+T (°C). As caixas plásticas foram vedadas com Parafilm® para reduzir a perda de umidade, e acondicionadas em câmara de germinação tipo BOD, a 25°C, com fotoperíodo de 12 horas. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições de 25 sementes. A melhor concentração capaz de detectar os efeitos de tolerância e susceptibilidade ao estresse hídrico foi avaliada comparando os dois genótipos utilizados [(*S. pennellii*, acesso selvagem LA-716, tolerante ao estresse hídrico e *S. lycopersicum*, cultivar comercial Santa Clara, suscetível ao estresse hídrico) por meio dos seguintes testes:

Germinação - realizado no décimo dia após a semeadura, por ocasião do final do experimento, considerando-se germinadas as sementes que emitiram raiz primária. Os resultados foram expressos em porcentagem média com base no número de plântulas normais (BRASIL, 2009).

Primeira contagem de germinação - conduzida juntamente com o teste de germinação, computando-se a porcentagem de plântulas normais no quarto dia após a instalação do ensaio, conforme recomendado por Brasil (2009).

Comprimento inicial (mm) - Medida realizada no oitavo dia após semeadura, nas 25 plântulas consideradas normais (BRASIL, 2009) contidas nas caixas plásticas transparente com auxílio de régua milimetrada. Os valores foram somados e obtido a média de cada parcela.

Massa Fresca inicial (g) - Medida realizada no oitavo dia após semeadura, nas 25 plântulas consideradas normais (BRASIL, 2009) contidas nas caixas plásticas transparente com auxílio de balança analítica digital com precisão de 0,0001g. Os valores foram somados e obtido a média de cada parcela.

Obtenção dos genótipos F₂RC₁

A geração F₁ foi obtida a partir do cruzamento interespecífico entre *Solanum lycopersicum*, UFU- 650 versus acesso selvagem LA-716, *S. pennelli*. O genótipo UFU- 650 pertence ao Banco de Germoplasma de Hortaliças da Universidade Federal de Uberlândia-UFU, e apresenta hábito de crescimento determinado, frutos graúdos (180g) do tipo Santa Cruz, porém suscetível ao estresse hídrico. O acesso selvagem, LA-716 (*S. pennellii*) possui hábito de crescimento indeterminado, frutos pequenos (12g) baixo potencial agrônomo e tolerante ao estresse hídrico (ROUSSEAU et al., 2005).

Em 30/07/2013 foi realizado a semeadura dos genitores UFU- 650 e LA-716 em bandejas de poliestireno de 200 células preenchidas com substrato comercial à base de fibra de coco. As mudas foram produzidas em casa de vegetação revestida com plástico transparente de 150 micra. Foram realizadas irrigações diárias em função da necessidade das mudas. Decorridos 30 dias após semeadura (DAS), foi realizado o transplântio para vasos plásticos de cinco litros preenchidos com substrato comercial à base de fibra de coco. As hibridações foram realizadas quando as plantas iniciaram o período reprodutivo efetuando-se o cruzamento artificial a partir da emasculação seguida de polinização das flores do genitor UFU- 650 utilizando pólen do genitor LA-716. Após realizado o cruzamento, cada flor foi previamente identificada utilizando lã vermelha. Após maturação dos frutos previamente identificados foi realizado a extração das sementes, as quais foram secas em temperatura ambiente, armazenadas em sacos de papel Kraft, identificadas e acondicionadas em câmara fria.

Após a obtenção da geração F₁ (UFU- 650 x LA-716), foi realizado o primeiro retrocruzamento utilizando o genitor recorrente UFU-650. Para tanto, foi realizado a

semeadura do híbrido F_1 (UFU- 650 x LA-716) e do genitor recorrente em 14/01/2014 seguindo os mesmos procedimentos para produção de mudas adotados na etapa anterior. Aos 35 dias após semeadura, foi realizado o transplântio das mudas para vasos plásticos de cinco litros previamente preenchidos com substrato comercial à base de fibra de coco. Os retrocruzamentos foram realizados quando as plantas iniciaram o período de florescimento mediante cruzamento artificial após emasculação das flores do genitor recorrente UFU-650 utilizando pólen do genótipo F_1 (UFU-650 x LA-716). Após confirmação da fertilização e desenvolvimento dos frutos, foram obtidas sementes da geração F_1RC_1 , as quais foram extraídas dos frutos, sendo em seguida secas e armazenadas.

Em 20/06/2014 foi realizado a semeadura da geração F_1RC_1 [UFU-650 x (UFU-650 x LA-716)], seguindo os mesmos procedimentos para produção de mudas adotados nas etapas anteriores, sendo o transplântio realizado aos 30 DAS, em canteiros previamente preparados com rotoencanteirador. Esta etapa foi realizada para obtenção da geração F_2RC_1 . Por ser uma planta autógama, não foi necessário intervir com emasculações e cruzamentos artificiais. Após a maturação, foram colhidos os frutos e extraído as sementes para a próxima etapa.

Seleção indireta de genótipos segregantes ao estresse hídrico

Este segundo experimento foi realizada no laboratório com intuito de selecionar famílias F_2RC_1 tolerantes ao estresse hídrico. Foi realizado a semeadura dos genótipos segregantes F_2RC_1 [UFU-650 x (UFU-650 x LA-716)], acesso selvagem LA-716 (*S. pennellii*) tolerante ao estresse hídrico e a cultivar Santa Clara (Susceptível ao estresse hídrico) seguindo a mesma metodologia já descrita. No entanto, foi utilizado apenas a concentração de Manitol que possui maior eficiência de seleção previamente identificada (-0,3 MPa). Além dos testes de primeira contagem, porcentagem de germinação e comprimento inicial, foram realizados outros testes nesta etapa conforme descrito a seguir:

Porcentagem de germinação padrão (%GP) - ausente de solução osmótica (testemunha).

Comprimento inicial (mm) - Medida realizada no oitavo dia após semeadura, nas 25 plântulas consideradas normais (Brasil, 2009) contidas nas caixas plásticas

transparente com auxílio de régua milimetrada. Os valores foram somados e obtido a média de cada parcela.

Comprimento final (mm) - Medida realizada no décimo quarto dia após sementeira, nas 25 plântulas consideradas normais (Brasil, 2009) contidas nas caixas plásticas transparente com auxílio de régua milimetrada. Os valores foram somados e obtido a média de cada parcela.

Índice de velocidade de germinação - calculado pelo somatório do número de sementes germinadas a cada dia, dividido pelo número de dias decorridos entre a sementeira e a germinação.

Tempo médio de germinação: obtido através de contagens diárias das sementes germinadas até o décimo dia após a sementeira e calculado através da fórmula abaixo.

$TMG = \sum(n_i t_i) / \sum n_i$, em que: TMG: tempo médio de germinação (dias); n_i : número de sementes germinadas no intervalo entre cada contagem; t_i : tempo decorrido entre o início da germinação e a i -ésima contagem.

Adotou-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições de 25 sementes, tendo como tratamentos sete genótipos F₂RC₁ (UFU80 - F₂RC₁ #2, UFU102 -F₂RC₁#7, UFU102 -F₂RC₁#3, UFU102-F₂RC₁#10, UFU80 - F₂RC₁#1, UFU83 - F₂RC₁#2 e UFU69 - F₂RC₁#4), acesso selvagem LA-716 (*S. pennellii*) (tolerante ao estresse hídrico) e a cultivar Santa Clara (suscetível ao estresse hídrico), totalizando nove tratamentos e 36 parcelas representadas pelas caixas plásticas transparente. Foram ajustadas equações de regressão das características avaliadas como variáveis dependentes dos níveis dos estresses na determinação da concentração de manitol para seleção de genótipos resistentes. A análise de variância foi realizada através do teste F, a 1% de probabilidade em ambos os experimentos. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade (teste de Lilliefors). Para comparação entre as médias, utilizou-se o teste de Tukey em nível de significância de 5% de probabilidade ($p < 0,05$). Foram realizados contrastes ortogonais de interesse comparando cada grupo para cada característica avaliada empregando o teste Scheffé ($\alpha = 0,05$ e $0,01$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Determinação da concentração de manitol

Houve efeito significativo entre os tratamentos avaliados para todas as variáveis analisadas (comprimento inicial, massa fresca inicial, primeira contagem e porcentagem de germinação) (Tabela 2).

TABELA 2. Comprimento inicial (mm), massa fresca inicial (g), primeira contagem (%) e porcentagem de germinação (%G) em genótipos de tomateiro após submetidos a diferentes níveis de potencial osmótico (MPa).

Genótipos	Níveis de Potenciais osmótico (MPa)	Comprimento inicial (mm)	Massa fresca inicial (g)	Primeira contagem (%)	Porcentagem de germinação (%)
LA-716	0	12,93bc	3,60defg	66,25a	70,75a
	-0.05	12,75cde	3,49defh	54,00ba	66,75ab
	-0.1	9,55de	2,40fghi	36,00bcd	53,00bcd
	-0.2	7,94efg	2,03fghi	29,25cde	53,50bcd
	-0.3	8,79def	2,03fghi	44,75bc	64,00abc
	-0.4	3,12gh	0,79ghi	18,75def	43,25de
	-0.5	4,43ghf	0,86ghi	15,00ef	40,00def
	-0.6	2,10h	0,40ghi	11,50ef	25,75fgh
	-0.7	0,61h	0,33ghi	7,75f	27,50fgh
	-0.8	1,45h	0,31ghi	7,25f	26,00fgh
	-0.9	0,72h	0,12hi	9,25ef	22,75ghi
	-1	0,40h	0,05i	0,75f	15,00hijk
Santa Clara	0	29,91 ^a	19,77a	55,75ab	70,00a
	-0.05	19,30b	21,42a	41,25bc	51,00cd
	-0.1	1,63h	13,93b	47,50abc	59,50abc
	-0.2	16,40bc	15,75b	40,50bc	54,25bcd
	-0.3	1,38h	5,40cdef	14,25ef	19,00ghij
	-0.4	1,85h	6,18cde	38,00bcd	31,50efg
	-0.5	3,69gh	7,76c	19,50def	31,75efg
	-0.6	2,87h	6,84cd	13,00ef	32,25efg
	-0.7	0,14h	0,86ghi	0,00f	28,50fgh
	-0.8	0,28h	2,97efghi	4,75f	11,00ijk
	-0.9	0,21h	0,57ghi	0,00f	5,25jk
	-1	0,00h	0,00i	0,00f	1,00k
Média Geral		5,93	4,91	23,96	36,64
CV%		30,71	26,02	31,25	14,46

*Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de significância

Apesar dos efeitos significativos, apenas a primeira contagem (%) e germinação (%) permitiram identificar, de forma eficiente, tanto o genótipo tolerante ao estresse hídrico (*S. pennellii*) quanto o genótipo suscetível ao estresse hídrico (cultivar Santa Clara). Tal eficiência pode ser observada especialmente quando analisado o nível de potencial osmótico de -0,3 MPa que proporcionou maior intervalo para a primeira contagem e germinação entre ambos genótipos contrastantes (*S. pennellii* e cultivar Santa Clara) quanto à tolerância ao estresse hídrico. Nesta concentração (-0,3 Mpa) o acesso selvagem LA-716 (*S. pennellii*) foi 30,5% superior em relação a cultivar Santa Clara na primeira contagem e 45% superior em relação à germinação. Ademais, vale ressaltar os valores não significativos quando comparado ambos genótipos (*S. pennellii* e cultivar Santa Clara) no mesmo nível de potencial osmótico (0 Mpa) na primeira contagem (66,25 e 55,75%, respectivamente) e germinação (70,75 e 70%, respectivamente) é um indicativo que o lote de sementes utilizado estava com o mesmo padrão de germinação (Tukey 5% de probabilidade), conforme a Tabela 2.

A eficiência observada para o genótipo tolerante ao estresse hídrico pode estar relacionada à primeira etapa na sequência de eventos que culminam com a retomada do crescimento do embrião (emissão da radícula), isto é, a embebição, um tipo de difusão que ocorre quando as sementes absorvem água. Desta maneira, as sementes do tomateiro, dotadas de tegumento impermeável, tornam-se reidratadas, quando expostas à água.

Outro fator que pode ter influenciado a primeira contagem, refere-se ao potencial hídrico do meio, o gradiente hídrico (meio-semente) pode ser modificado pela alteração do potencial hídrico das sementes através da mudança no teor de água inicial, o que basicamente acontece com o processo de absorção de água, onde o gradiente diminui à medida que as sementes vão se hidratando. Genótipos com baixo teor de água embebem mais rapidamente que os com alto teor de água, pois o gradiente hídrico é muito elevado para as sementes secas e diminui exponencialmente quando as sementes são umedecidas. Assim, reduzindo-se o teor de água da semente, diminuiu-se o potencial hídrico dessa e ocorrem mudanças em sua permeabilidade, além da possibilidade haver uma variação em diferentes escalas do potencial osmótico do meio ao longo do tempo. Além disso, vários fatores podem limitar a embebição: entre eles, a composição e permeabilidade do tegumento, disponibilidade de água no ambiente, área de contato solo-semente, temperatura, pressão hidrostática e condição fisiológica da semente (MIAN; NAFZIGER, 1994).

O comprimento inicial e massa fresca inicial, não foram eficientes na identificação de genótipos de tomateiro tolerantes ao estresse hídrico. Um dos entraves pode estar relacionado com o tamanho da semente. O acesso selvagem *S. pennellii* apresenta sementes menores que 1,0 mm enquanto que a cultivar Santa clara possui sementes três vezes maior. Sugere-se que a avaliação do comprimento inicial seja antecipada para reduzir os possíveis efeitos do tamanho da semente, pois tal dificuldade é potencializada quando as avaliações ocorrem em fases mais avançadas após germinação. Em contrapartida, estes efeitos não afetaram a eficiência de seleção após realizado a primeira contagem e a percentagem e germinação. O tamanho de semente pode influenciar a qualidade fisiológica (BEKERT et al., 2000), no entanto são escassas pesquisas específicas em tomateiro.

O nível de potencial osmótico acima de -0,7 Mpa refletiu em baixo desempenho de germinação expressos na primeira contagem. Pode-se considerar que níveis acima de -0,7 Mpa para germinação e posterior desenvolvimento pode ser crítico em tomateiro. O alongamento celular pode ser afetado pelo potencial hídrico que é expresso distintamente para cada espécie na forma de um valor de potencial hídrico crítico (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). Ávila et al. (2007) demonstraram que em canola, o nível crítico foi considerado -1,0 Mpa. Tais resultados corroboram com Bewley e Black (1994) que concluíram que após ser submetido à condição de estresse hídrico, sementes de diferentes espécies podem apresentar respostas variáveis quanto ao aspecto germinativo em detrimento do metabolismo reduzido em função da menor disponibilidade de água nas sementes.

Seleção indireta de genótipos segregantes ao estresse hídrico

Houve efeito significativo entre os genótipos avaliados para todas as variáveis analisadas (Tabela 3).

Estes resultados são reforçados pela não significância após realizado a porcentagem de geminação padrão (%) que revelou similaridade entre os lotes de sementes utilizados permitindo explorar de forma majoritária os efeitos de tolerância ao estresse hídrico.

Referente ao comprimento inicial pode-se observar que o acesso selvagem LA-716 (*S. pennellii*) se diferenciou estatisticamente da cultivar Santa Clara (5,68 e 1,91

mm, respectivamente). Vale ressaltar que esta avaliação foi realizada no quarto dia após semeadura resultando em maior eficiência de seleção. Os genótipos UFU80 - F₂RC₁ #2, UFU102 - F₂RC₁#7, UFU102 - F₂RC₁#3 não se diferenciaram significativamente da testemunha tolerante ao estresse hídrico (*S. pennellii*). Vale ressaltar a superioridade do genótipo UFU80 - F₂RC₁#1 que se diferenciou significativamente (Tukey, 5% de probabilidade) da testemunha tolerante ao estresse hídrico (*S. pennellii*). Os genótipos UFU80 - F₂RC₁ #2, UFU102 - F₂RC₁#7, UFU102 - F₂RC₁#3 e UFU80 - F₂RC₁#1 se diferenciaram significativamente da testemunha comercial (cultivar Santa Clara, suscetível ao estresse hídrico). O teste de comprimento inicial, quando realizado no quarto dia após semeadura, pode ser considerado um bom estimador para seleção de genótipos tolerantes ao estresse hídrico em tomateiro.

Uma das dificuldades já relatada no presente estudo está relacionada com o tamanho das sementes que supostamente pode interferir nas avaliações em função da maior capacidade de armazenamento de reservas em sementes maiores. Em sementes de soja há relatos que o tamanho da semente influenciou a absorção de água (BECKERT et al., 2000). Os valores obtidos ao avaliar o comprimento final (mm) podem ter sido influenciados pelo tamanho da semente inviabilizando a execução de testes em estádios avançados após a germinação, devido a competição interespecífica entre indivíduos. Esta variável (comprimento final) foi analisada no décimo quarto dia após semeadura e não foi eficiente na seleção de genótipos tolerantes ao estresse hídrico (Tabela 3).

Os valores obtidos referentes à germinação (%) demonstram ser eficientes na seleção indireta de genótipos de tomateiro. No referido teste, foi possível confirmar a tolerância ao estresse hídrico do acesso selvagem LA-716 (*S. pennellii*) que se diferenciou significativamente da testemunha suscetível. Ademais, Os genótipos UFU80 - F₂RC₁ #2, UFU102 - F₂RC₁#7, UFU102 - F₂RC₁#3 e UFU80 - F₂RC₁#1 se diferenciaram significativamente da testemunha comercial.

Como informação auxiliar ao teste de germinação, foi utilizado o IVG. Pelos resultados obtidos após avaliação do IVG, também foi possível identificar uma eficiência na seleção indireta de genótipos tolerantes ao estresse hídrico, sendo que o acesso LA-716 (*S. pennellii*) diferenciou significativamente da testemunha suscetível. Os genótipos UFU80 - F₂RC₁#2, UFU102 - F₂RC₁#7, UFU102 - F₂RC₁#3 e UFU80 - F₂RC₁#1 foram superiores a testemunha comercial.

TABELA 3. Comprimento inicial (mm), comprimento final (mm), primeira contagem (%), porcentagem de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de germinação (dias) em genótipos de tomateiro após submetidos ao nível de potencial osmótico de -0,3 MPa induzido por Manitol e porcentagem de germinação padrão (%GP) ausente de solução osmótica.

Genótipo ^(x)		CI	CF	PC	%GP	%G	IVG	TMG (dias)
T1=	UFU80 - F2RC1 #2	3,94bcd	28,86a	23,00d	80,0a	74,20b	16,81d	6,7a
T2=	UFU102 -F2RC1#7	4,97bc	23,58bc	42,00c	81,3a	84,60a	24,33ab	6,4ab
T3=	UFU102 -F2RC1#3	4,89bc	26,27ab	43,80c	80,7a	71,50b	19,32cd	6,0ab
T4=	UFU102-F2RC1#10	1,76e	12,99e	22,50d	79,5a	46,30c	10,15e	5,3ab
T5=	UFU80 - F2RC1#1	10,88a	26,84ab	54,20b	84,0a	70,20b	21,00bc	5,6ab
T6=	UFU83 - F2RC1#2	2,16de	14,23de	28,70d	82,5a	47,20c	9,76e	5,7ab
T7=	UFU69 - F2RC1#4	3,26cde	18,72cd	19,70ed	78,7a	46,60c	12,79e	6,8a
T8=	Santa Clara	1,91de	17,70de	11,60e	80,0a	44,60c	9,12e	5,9a
T9=	LA-716	5,68b	6,55f	68,40a	81,0a	73,20b	27,69a	4,9b
Média Geral		4,38	19,53	34,88	80,8	62,04	16,78	5,92
CV%		34,49	18,31	18,16	2,71	10,36	15,88	20,93
Contrastes ^(y)		Contrastes de interesse						
C1=	[(T1+T2+T3+T4+T5+T6+T7)/7] – (T8)	2,64 ^{**}	3,94 [*]	21,81 ^{**}	0,96 ^{ns}	18,34 ^{**}	7,18 ^{**}	0,17 ^{ns}
C2=	[(T1+T2+T3+T4+T5+T6+T7)/7] – (T9)	-1,13 [*]	15,09 ^{**}	-34,98 ^{**}	-0,05 ^{ns}	-10,25 ^{**}	-11,39 ^{**}	1,17 [*]

[^(x) Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (p=0,05)]

^(y) **, * , ns = significativo $\alpha=0,01$, $\alpha=0,05$ e não significativo, respectivamente, pelo teste Scheffé.

O tempo médio de germinação (TMG) não proporcionou eficiência na seleção indireta e genótipos tolerantes ao estresse hídrico. O acesso selvagem LA-716 se diferenciou significativamente da testemunha suscetível, porém os genótipos UFU80 - F₂RC₁ #2, UFU102 - F₂RC₁#7, UFU102 - F₂RC₁#3, UFU102- F₂RC₁#10 e UFU80 - F₂RC₁#1 não se diferenciaram das testemunhas.

Após analisado a significância dos contrastes de interesse (C1 e C2) pode-se observar que Os genótipos F₂RC₁ de tomateiro foram majoritariamente superiores em relação à testemunha comercial e possuem potencial genético para fomentar futuros programas de melhoramento. Os resultados obtidos pelos contrastes reforçam a eficiência de seleção de genótipos de tomateiro tolerantes ao estresse hídrico.

O acesso selvagem LA-716 (*S. pennellii*) se diferenciou significativamente em relação a testemunha comercial em todas as variáveis analisadas demonstrando que a indução de estresse hídrico por Manitol proporcionou eficiência de seleção em genótipos de tomateiro. Estes resultados foram confirmados não só pela capacidade de selecionar o acesso selvagem, sabidamente tolerante ao estresse hídrico, mas também pelo fato de auxiliar a seleção em famílias F₂RC₁. De fato, durante o melhoramento convencional ao aplicar métodos de seleção indireta requer em etapas mais avançadas a utilização de testes diretos. No entanto, apesar de eficiente, a seleção direta requer maior demanda de tempo e recursos (NAHAR; ULLAH, 2011; SHAMIM et al., 2014).

CONCLUSÃO

1. A proposta metodológica da qual utilizou-se o nível de potencial osmótico de -0,3 MPa obtido a partir da utilização de 22,29 g L⁻¹ de Manitol P.A (C₆H₁₄O₆) – P.M. 182,17 mostrou-se eficiente para seleção indireta de genótipos de tomateiro tolerante ao estresse hídrico.

2. Dos parâmetros avaliados, a primeira contagem (%) e germinação (%), foram os que melhor permitiram identificar, de forma eficiente, tanto o genótipo tolerante ao estresse hídrico (*S. pennellii*) quanto o genótipo suscetível ao estresse hídrico (cultivar Santa Clara).

REFERÊNCIAS

- AAZAMI, M.A.; TORABI, M.; JALILI, E. In vitro response of promising tomato genotypes for tolerance to osmotic stress. **African Journal of Biotechnology**, v.9, p.4014-4017, 2010. Quênia
- ALVARENGA, M.A.R. **Tomate**: Produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia. Lavras: UFLA, 2004. 400p.
- ÁVILA, M.R.; BRACCINI, A. de L.; SCAPIM, C.A.; FAGLIARI, J.R.; SANTOS, J.L. dos. Influência do estresse hídrico simulado com manitol na germinação de sementes e crescimento de plântulas de canola. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, p.98-106, 2007. Londrina- PR
- BECKERT, O.P.; MIGUEL, M.H.; MARCOS FILHO, J. Absorção de água e potencial fisiológico em sementes de soja de diferentes tamanhos. **Scientia Agricola**, v.57, p. 671-675, 2000. Piracicaba - SP
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds**: physiology of development and germination. New York: Plenum, 1994, 445p.
- BRASIL. Ministério da agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária, 2009. 395p. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/2946_regras_analise__sementes.pdf> Acesso em: 20 abr. 2015.
- CARVALHO, N.; NAKAGAWA, J. **Sementes**: ciência, tecnologia e produção. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.
- COSTA, P.R.; CUSTÓDIO, C.C.; MACHADO NETO, N.B., MARUBAYASHI, O.M. Estresse hídrico induzido por manitol em sementes de soja de diferentes tamanhos. **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, p.105-113, 2004. Londrina- PR
- ECHER, F.R.; CUSTÓDIO, C.C.; HOSSOMI, S.T.; DOMINATO, J.C.; MACHADO NETO, N.B. Estresse hídrico induzido por manitol em cultivares de algodão. **Revista Ciência Agronômica**, v.41, p.638-645, 2010. Fortaleza - CE
- FRIZZONE, J.A. Otimização do uso da água na agricultura irrigada: perspectivas e desafios. **Engenharia Rural**, v.15, p.37-56, 2004. Jaboticabal - SP
- GIROTTI, L.; ALVES, J. D.; DEUNER, S.; ALBUQUERQUE, A. C. S.; TOMAZONI, A. P. Tolerância à seca de genótipos de trigo utilizando agentes indutores de estresse no processo de seleção. **Revista Ceres**, v.59, p.192-199, 2012. Viçosa - MG
- HOLTAN, H.E.E.; HAKE, S. Quantitative trait locus analysis of leaf dissection in tomato using lycopersicon pennellii segmental introgression lines. **Genetics**, v.165, p.1541-1550, 2003. Ribeirão Preto - SP

KULKARNI, M.; DESHPANDE, U. In Vitro screening of tomato genotypes for drought resistance using polyethylene glycol. **African Journal of Biotechnology**, v.6, p.691-696, 2007. Quênia

MACHADO NETO, N.B.; CUSTÓDIO, C.C.; COSTA, P.R.; DONÁ, F.L. Deficiência hídrica induzida por diferentes agentes osmóticos na germinação e vigor de sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, p.142-148, 2006. Londrina - PR

MAROUELLI, W.A.; SILVA, W.L.C. Irrigação por gotejamento do tomateiro industrial durante o estágio de frutificação, na região do cerrado. **Horticultura Brasileira**, v.24, p.342-346, 2006. Vitória da Conquista - BA

MIAN, M. A. R.; NAFZIGER, E. D. Seed size and water potential effects on germination and seedling growth of winter wheat. **Crop Science**, v.34, p.169-171, 1994. Madison – WI, Estados Unidos

MORALES, R.G.F.; RESENDE, L.V.; MALUF, W.R.; PERES, L.E.P.; BORDINI, I.C. Selection of tomato plant families using characters related to water deficit resistance. **Horticultura Brasileira**, v.33, p.27-33, 2015. Vitória da Conquista - BA

NAHAR, K.; ULLAH, S.M. Effect of Water Stress on Moisture Content Distribution in Soil and Morphological Characters of Two Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) Cultivars. **Journal of Scientific Research**, v.3, p. 677-682, 2011. Rajshahi - Bangladesh

RAMOS, H.M.M.; BASTOS, E.A.; ANDRADE JÚNIOR, A.S. de; MAROUELLI, W.A. Estratégias ótimas de irrigação do feijão-caupi para produção de grãos verdes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.47, p.576-583, 2012. Brasília - DF

ROUSSEAU, M.C.; JONES, C.M.; ADAMS, D.; CHETELAT, R.; BENNETT, A.; POWELL, A. QTL analysis of fruit antioxidants in tomato using *Lycopersicon pennellii* introgression lines. **Theoretical and Applied Genetics**, v.111, p.1396-1408, 2005. Philadelphia - PA, Estados Unidos

SANTANA, M.J.; VIEIRA, T.A.; BARRETO, A.C. Efeito dos níveis de reposição de água no solo na produtividade do tomateiro. **Horticultura Brasileira**, v.27, p.1378-1384, 2009. Vitória da Conquista - BA

SHAMIM, F.; FAROOQ, K.; WAHEED, A. Effect of different water regimes on biometric traits of some tolerant and sensitive tomato genotypes. **The Journal of Animal & Plant Sciences**, v.24, p. 1178-1182, 2014. Philadelphia - PA, Estados Unidos

SILVA, J.M. da; FERREIRA, R.S.; MELO, A.S. de; SUASSUNA, J.F.; DUTRA, A.F.; GOMES, J.P. Cultivo do tomateiro em ambiente protegido sob diferentes taxas de reposição da evapotranspiração. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.17, p.40-46, 2013. Campina Grande - PB

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.