

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS**  
**CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ENVOLVIMENTO DAS GIBERELINAS NAS  
RESPOSTAS À DEFICIÊNCIA DE CÁLCIO EM  
PLANTAS DE TOMATEIRO**

**Jean Carlos Muniz Júnior**

**Orientador:** Prof. Dr. Rogério Falleiros Carvalho  
**Coorientador:** Dr. Lucas Aparecido Gaion

Trabalho apresentado à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, para graduação em Agronomia.

**JABOTICABAL – SP**

**1º SEMESTRE DE 2018**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS**  
**CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**ENVOLVIMENTO DAS GIBERELINAS NAS  
RESPOSTAS À DEFICIÊNCIA DE CÁLCIO EM  
PLANTAS DE TOMATEIRO**

**Jean Carlos Muniz Júnior**

**Orientador:** Prof. Dr. Rogério Falleiros Carvalho  
**Coorientador:** Dr. Lucas Aparecido Gaion

**JABOTICABAL – SP**

**1º SEMESTRE DE 2018**

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus, por tudo que ele me proporcionou durante a vida, pelas conquistas e sempre me dando forças para superar os desafios.

Aos meus pais, Jean Carlos Muniz e Lucilene Felix Botelho Muniz que fizeram todos os esforços possíveis, para que eu hoje tenha conquistado tudo que conquistei.

Às minhas irmãs que sempre estiveram ao meu lado me apoiando em qualquer situação, me incentivando e sendo meu porto seguro.

Ao Prof. Dr. Rogério Falleiros Carvalho pela oportunidade de estagiar com sua equipe e a disponibilidade e orientação nesse trabalho. Assim também como ao meu coorientador Lucas Aparecido Gaion e a ajuda do Rafael Ferreira Barreto pelo apoio e disposição concedidos para a realização deste trabalho e aos conhecimentos passados durante o tempo que estagiei no grupo.

A toda equipe do Departamento de Biologia Aplicada a Agropecuária que contribuíram para a realização deste trabalho durante todas as atividades.

A CAPES pela oportunidade de bolsa de estudos durante o período de um ano.

A todos os meus amigos de longa data que me acompanharam e sempre estiveram comigo e que muitas vezes me proporcionaram risadas e momentos de muita felicidade durante toda minha vida.

A República Tôa-Tôa que me mostrou como é ter uma outra família fora de casa, proporcionando momentos inesquecíveis e me ensinando a lidar e conviver com pessoas que possuem idéias e conceitos diferentes dos meus.

Agradeço a todos do Unesp 015 e Agro 015 pelas grandes amizades construídas, pelos momentos compartilhados e por todo aprendizado que adquirimos juntos.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	2
2. REVISÃO BIBLIOGRAFICA.....	5
2.1. Tomateiro .....	5
2.2. A cultivar Micro-Tom e a mutação <i>procera</i> .....	6
2.3. Ca e deficiência.....	6
2.4. Interação entre Ca e hormônios .....	8
2.4.1. Ácido Abscísico (ABA).....	8
2.4.2. Giberelinas (GAs).....	9
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	11
3.1. Local de desenvolvimento do trabalho.....	11
3.2. Material vegetal.....	11
3.3. Condições de cultivo .....	12
3.4. Ensaio I.....	13
3.4.1. Acúmulo da biomassa fresca da raiz e parte aérea:.....	13
3.4.2. Acúmulo da biomassa seca da raiz e parte aérea: .....	13
3.4.3. Comprimento, área, diâmetro e densidade da raiz: .....	14
3.4.4. Área foliar: .....	14
3.4.5. Teores de clorofilas e carotenóides foliares:.....	14
3.4.6. Análise de estresse oxidativo: .....	15
3.5. Ensaio II .....	16
3.5.1. Determinação dos teores de Ca nas raízes, na parte aérea e nos frutos.....	17
3.6. Forma de análise dos resultados .....	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	19
5. CONCLUSÕES .....	31
6. LITERATURA CITADA.....	32

## ENVOLVIMENTO DAS GIBERELINAS NAS RESPOSTAS À DEFICIÊNCIA DE CÁLCIO EM PLANTAS DE TOMATEIRO

**RESUMO:** A ocorrência de podridão estilar é um dos principais distúrbios fisiológicos da cultura do tomateiro (*Solanum lycopersicum L.*), especialmente em cultivo protegido. Apesar de ter sua ocorrência associada à deficiência de cálcio (Ca), recentemente tem sido demonstrado o envolvimento das giberelinas (GAs) no desenvolvimento da podridão estilar. Por isso, o objetivo do presente trabalho foi estudar o papel das GAs no controle do metabolismo do Ca e a ocorrência de podridão estilar em tomateiro. Para tanto, utilizou-se o tomateiro cv. Micro-Tom (MT) e um mutante com resposta aumentada às GAs (*procera* ou *pro*) cultivado em sistema hidropônico com ou sem fornecimento de Ca. Posteriormente, foi avaliado o crescimento, como massa fresca e seca da parte aérea e raízes, diâmetro, comprimento, densidade e área das raízes, área foliar e altura das plantas, bem como conteúdo de clorofilas totais, carotenoides, malondialdeído (MDA), e peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Além disso, também foi analisada a massa fresca, seca e o número de frutos por planta bem como a incidência de podridão estilar ao longo do ciclo reprodutivo. Os resultados demonstraram que em condição de deficiência de Ca houve redução do crescimento em ambos os genótipos e um evidente aumento do estresse oxidativo representado pelos níveis elevados de MDA e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em folhas e raízes de MT e *pro*. Além disso, embora a omissão de Ca tenha afetado negativamente a produção de frutos em ambos os genótipos, esta foi mais pronunciada em plantas de *pro* indicada pela forte redução da biomassa de frutos e pelo surgimento precoce de podridão estilar em frutos de *pro* sob condição de deficiência de Ca quando comparado ao MT. Assim, concluímos que a deficiência de Ca afeta negativamente todas as etapas do desenvolvimento do tomateiro e que a maior sensibilidade à GA em plantas de *pro* favorece a ocorrência de podridão estilar em frutos de tomateiro em função da deficiência de Ca.

**Palavras chave:** *Solanum lycopersicum L.*, podridão estilar, cálcio, giberelina

## INVOLVEMENT OF THE GIBBERELINS IN RESPONSES TO CALCIUM DEFICIENCY IN TOMATO PLANTS.

**ABSTRACT:** The occurrence of blossom-end rot is one of the main physiological disturbances of the tomato growing (*Solanum lycopersicum L.*), especially in protected cultivation. Despite its occurrence associated with calcium (Ca) deficiency, the involvement of gibberellins (GAs) in the development of blossom-end rot has recently been demonstrated. Therefore, the objective of the present work was to study the role of GAs in the control of Ca metabolism and the occurrence of blossom-end rot in tomato. For this purpose, the cv. Micro-Tom (MT) and a mutant with constitutive response to GAs (*procera* or *pro*) grown in hydroponic system with or without Ca. Afterwards, the growth, as fresh and dry mass of the aerial part and roots, diameter, length, density and area of the roots, leaf area and height of the plants, as well as content of total chlorophylls, carotenoids, malondialdehyde (MDA), and hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). In addition, it was also analyzed the fresh, dry mass and the number of fruits per plant as well as the incidence of blossom-end rot throughout the reproductive cycle. The results showed that in Ca deficiency condition there was a reduction of growth in both genotypes and an evident increase of the oxidative stress represented by the high levels of MDA and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in leaves and roots of MT and *pro*. In addition, although the omission of Ca had a negative effect on fruit yield in both genotypes, it was more pronounced in *pro* plants indicated by the strong reduction of fruit biomass and by the early emergence of stylized rot in fruits of *pro* under the condition of Ca deficiency when compared to MT. Thus, we conclude that Ca deficiency negatively affects all stages of tomato development and increased sensitivity to GA in *pro* plants favors the occurrence of blossom-end rot in tomato fruits as a function of Ca deficiency.

**Keywords:** *Solanum lycopersicum L.*, blossom-end rot, calcium, gibberellin

## **1. INTRODUÇÃO**

A produção mundial de tomate alcançou cerca de 100 milhões de toneladas em 2003, sendo que o Brasil ocupa a oitava posição no ranking mundial, com aproximadamente 3% da produção (Cançado Junior, 2003). No entanto, apesar do emprego de tecnologias como fertirrigação, cultivo protegido e híbridos com alto potencial produtivo, a cultura do tomateiro é afetada por diversos fatores limitantes como estresses bióticos, tais como patógenos de solo, viroses e insetos praga, bem como estresses abióticos, por exemplo, salinidade, alta temperatura e deficiência nutricional (ALVARENGA, 2013). Dentre estes, a ocorrência de podridão estilar ou podridão apical, um distúrbio fisiológico caracterizado pelo surgimento de lesões coriáceas de coloração escura e secas no ápice do fruto, é um dos principais fatores de perda de produtividade especialmente em cultivo protegido. A ocorrência deste distúrbio é tradicionalmente associada à deficiência de cálcio (Ca) (SAURE, 2001).

Recentemente tem sido evidenciado que as giberelinas (GAs) podem modular o surgimento de sintomas de podridão estilar em diversas culturas, como macieira, goiabeira, entre outros. De fato, os fitohormônios, como as GAs, são importantes mensageiros químicos que controlam direta ou



indiretamente todas as etapas do desenvolvimento vegetal, desde a germinação até a frutificação (GALSTON; DAVIES, 1972; RAVEN et al., 2001). Dessa forma, é plausível hipotetizar a existência de um forte controle hormonal da nutrição de plantas desde a absorção e o transporte de íons até o metabolismo nutricional, incluindo estresses impostos pela deficiência ou excesso nutricional (GAION; CARVALHO, 2016.). Por exemplo, podemos ver a ação da aplicação de ácido abscísico (ABA) na regulação da ocorrência da podridão estilar em frutos de tomateiro (FREITAS et al., 2011; SAURE, 2001).

As GAs, por sua vez, são um importante fator regulando o crescimento e o desenvolvimento dos frutos, podendo, sua participação, comprometer a funcionalidade do xilema e/ou diluir o Ca presente no fruto e, assim, proporcionar o aparecimento de sintomas de deficiência (MIQUELOTO, 2011). Da mesma maneira, o maior alongamento do caule promovido pelas GAs pode acarretar em maior competição entre os órgãos vegetativos e os frutos pelo Ca disponível (COSGROVE; SOVONICK, 1989). A quantidade de Ca ligada a membrana plasmática aumenta proporcionalmente quanto maior a distância das células colapsadas no tecido danificado com podridão estilar (SUZUKI; SHONO; EGAWA, 2003). Além disso, as GAs podem regular a atividade de transportadores de Ca, Ca-ATPase, associados as membranas plasmática e do tonoplasto (FREITAS e MITCHAM, 2010).

Por exemplo, a aplicação de Prohexadiona-Ca, um inibidor da biossíntese de GAs, em macieiras cv. 'Fuji' e 'Catarina' reduziu significativamente o surgimento de podridão estilar, enquanto a aplicação de GAs aumentou o aparecimento deste distúrbio (SILVEIRA et al., 2012). Contudo, o uso de inibidores não específicos da biossíntese de GAs, como o

Prohexadiona-Ca que pode interferir na biossíntese de outras classes hormonais, bem como a aplicação exógena de hormônios pode desfavorecer a homeostase hormonal vegetal e mascarar o real papel de determinada classe hormonal nas respostas a fatores ambientais. o objetivo do presente trabalho foi estudar o papel das GAs no controle do metabolismo do Ca e a ocorrência de podridão estilar em tomateiro

## **2. REVISÃO BIBLIOGRAFICA**

### **2.1. Tomateiro**

O centro de origem do tomateiro está em sua maior parte localizado no território do Peru, de onde foi levado pelos colonizadores espanhóis para o México (SANTIN, 2012). Após sua domesticação, o tomateiro foi introduzido na Europa onde foi disseminado para o restante do planeta (RICK, 1978; ESQUINAS-ALCAZAR, 1981; KINET; PEET, 1997; RUBATZKY; YAMAGUCHI, 1997). O tomate, dentre outras maneiras, pode ser consumido “in natura”, ou industrializado na forma de molhos e sucos. O tomateiro se adapta muito bem às condições climáticas brasileiras, sendo uma das principais olerícolas cultivadas no Brasil. O sistema de produção do tomateiro pode ser em campo, casas de vegetação ou hidroponia (ALVARENGA; LIMA; FAQUIN, 2004), sendo todas essas condições de cultivo suscetíveis à ocorrência de distúrbios fisiológicos, tal como a podridão estilar, causada pela deficiência de Ca (SAURE, 2000).

## **2.2. A cultivar Micro-Tom e a mutação *procera***

A grande importância socioeconômica do tomateiro bem como seu amplo cultivo em todo o mundo, torna o tomateiro uma espécie de grande relevância para o desenvolvimento de pesquisas científicas. No entanto, o seu tamanho e o longo ciclo de cultivo são empecilhos ao seu uso mais amplo, principalmente em pesquisas básicas. Dessa forma, o mutante Micro-Tom (MT), inicialmente empregado como planta ornamental (SCOTT; HARBAUGH, 1989), caracteriza-se por uma compacta constituição genética já seqüenciada, ciclo curto bem como tamanho reduzido constituindo em uma interessante opção como planta modelo (MEISSNER et al., 1997). Dessa forma, o MT vem sendo amplamente empregado em pesquisas sobre bioquímica, fisiologia e genética vegetal. Além disso, independentemente da presença de mutações, como *dwarf* e *self-pruning*, que causam o seu tamanho reduzido, o MT tem se mostrado uma notável ferramenta de estudo, principalmente sobre as interações hormonais, graças a grande variedade de mutações hormonais introgrididas em MT (LE et al., 2010; CAMPOS et al., 2009). Dentre estes, podemos destacar o mutante *procera* (pro), a qual foi encontrada primeiramente na cv. Condine Red, o mutante apresenta um fenótipo característico de resposta constitutiva às GAs, como aumento da altura, maior distancia entrenós, borda das folhas lisas e desenvolvimento de frutos partenocárpicos (VAN et al., 1999).

## **2.3. Ca e deficiência**

O Ca é um macronutriente muito importante para as plantas, apresenta baixa mobilidade e é transportado através do fluxo transpiracional na planta. Entretanto, não há movimento de Ca dos tecidos mais velhos para os recentemente desenvolvidos (KLEEMANN, 1999).

Em frutíferas, o Ca tem papel fundamental sobre a qualidade do produto final e sua capacidade de armazenamento pós colheita. Por exemplo, há uma relação direta entre o teor de Ca nos frutos e a firmeza, amolecimento e tempo de vida útil de prateleira. Quando o teor de Ca no fruto é baixo, o metabolismo respiratório aumenta e acelera a maturação e a senescência (PRATELLA, 2003). Outro aspecto da importância do Ca na estabilidade da membrana, é que seu baixo teor em órgãos de reserva da planta, induz à alta permeabilidade da membrana e permite a difusão de solutos desses tecidos (MARSCHNER, 1995).

Os sintomas visuais da deficiência de Ca em frutos iniciam-se como lesões encharcadas, mais escuras do que o tecido ao redor, seguido pela desintegração e desidratação do tecido, que resulta na formação de lesões marrom-escuras e deprimidas na superfície do fruto (SIMON, 1978; FULLER, 1980). Há cerca de 124 anos, a podridão estilar do tomate foi identificada como uma desordem fisiológica e há 78 anos é chamada de desordem relacionada à deficiência de Ca (SAURE, 2000). Apesar de intensamente estudada nos últimos 100 anos, a podridão estilar não é ainda completamente entendida (ADAMS; HO, 1995). Estudos realizados em tomate mostraram que as células na área com lesão encharcada tem ruptura da membrana plasmática e do tonoplasto, paredes celulares onduladas, rompimento do retículo endoplasmático e plastídios inchados (SUZUKI et al., 2000).

Os autores Suzuki et al, (2000) observaram que as células ao redor do tecido necrótico exibiam estrutura normal, porém a membrana plasmática estava separada da parede celular, indicando a ocorrência de plasmólise celular que não ocorreu em outras partes do fruto ou em células de frutos

normais. Por exemplo, nos frutos de tomateiro, foi notado que durante a fase de rápida expansão, há um aumento crescente na quantidade de Ca ligado a membrana plasmática em frutos saudáveis e uma diminuição em frutos com sintomas visuais de podridão estilar (SUZUKI et al., 2003).

## **2.4. Interação entre Ca e hormônios**

### **2.4.1. Ácido Abscísico (ABA)**

O ABA é conhecido pelo seu efeito nos estômatos, induzindo o fechamento estomático (VERSLUES; ZHU 2007). Além disso, estudos demonstraram que a redução da abertura estomática e, conseqüentemente, da transpiração das folhas pode induzir uma maior alocação de Ca no fruto e, assim, reduzir a suscetibilidade a deficiência de Ca, mais até do que o aumento do Ca disponível no solo (PAIVA et al., 1980; ABDAL; SULEIMAN 2005; GUICHARD et al., 2005). Sugeriu-se que as folhas e os frutos competem por água e nutrientes do xilema, e a taxa final de absorção é determinada pelo crescimento e a taxa de transpiração desses órgãos (CLARKSON 1984; HO 1989; HO et al., 1993; PASSAM et al., 2007). Desse modo, as folhas que exibem taxas de transpiração muito maiores do que os frutos, concentram níveis de Ca mais elevado quando comparado ao tecido dos frutos (CLARKSON 1984; HO 1989; FREITAS et al., 2011). Estudos demonstraram que a podridão estilar é completamente inibida pela pulverização semanal de ABA em plantas de tomate, ao passo que plantas pulverizadas com água exibiram 30 a 45% de incidência de podridão estilar (FREITAS et al. 2011a). O tratamento com ABA reduziu a condutância estomática e o teor de Ca nas folhas em 50%, ao mesmo tempo que aumentou o teor de Ca solúvel no

apoplasto dos frutos em até 10 vezes, em comparação com o tratamento de água (FREITAS et al., 2011b).

#### **2.4.2. Giberelinas (GAs)**

As GAs constituem-se em uma importante classe hormonal capaz de regular desde a germinação de sementes até o desenvolvimento dos frutos. Com efeito, estudos têm demonstrado que plantas de tomate tratadas com GA se tornaram mais suscetíveis à podridão estilar em 35% (BANGERTH, 1973, CASTRO, 1980). Recentemente, Freitas et al, (2011) observaram que quando plantas de tomateiro eram cultivadas sob baixas condições de Ca e tratadas semanalmente com GAs exibiram 100% de incidência de podridão estilar cerca de 50 dias após a polinização. Além disso, os autores verificaram que, quando as plantas foram tratadas com um inibidor da biossíntese de GA (Prohexadione-Ca) não desenvolveram podridão estilar (FREITAS et al., 2011). Além disso, a ocorrência de podridão estilar tem sido correlacionada com aumento do extravazamento de eletrólitos, baixos níveis de Ca no fruto, e alta expressão no tonoplasto de transportadores de Ca, como as  $\text{Ca}^{2+}$ ATPases, responsáveis pela imobilização de Ca no vacúolo celular (FREITAS et al., 2011). Estes resultados demonstram que as GAs afetam o metabolismo do Ca, induzindo a maior susceptibilidade do fruto à podridão estilar (SAURE 1996, 2001, 2005).

Uma outra possível explicação para o efeito das GAs é que a maior expansão celular do fruto induzido pelas GAs dilui a concentração de Ca, o que pode acarretar o surgimento de sintomas de deficiência de Ca (SAURE, 2001).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Local de desenvolvimento do trabalho

O trabalho foi desenvolvido no departamentos de biologia aplicada à agropecuária e no setor de olericultura e plantas aromático-medicinais da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, campus de Jaboticabal.

#### 3.2. Material vegetal

Foram utilizadas plantas de tomateiro cv. Micro-Tom e de um mutante com alta sensibilidade às GAs (*procera* ou *pro*) (Tabela 1) cultivados na presença ou ausência de cálcio (Carvalho et al., 2014).

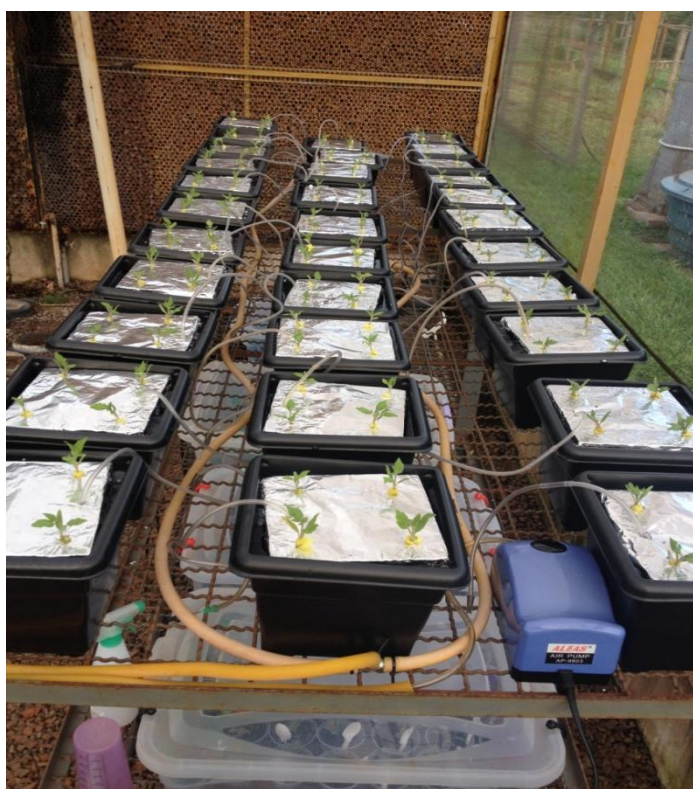
**Tabela 1.** Mutantes hormonais presentes no cv. Micro-Tom.

<b>Mutante</b>	<b>Alteração hormonal</b>	<b>Referência</b>
<i>procera</i>	Alta sensibilidade à GA/	Bassel et al., 2008
( <i>pro</i> )	proteínas DELLA não funcionais	



### 3.3. Condições de cultivo

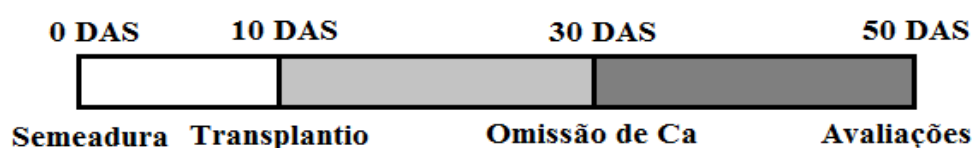
As sementes de cada genótipo foram semeadas em bandejas de poliestireno expandido preenchidas com substrato comercial BioPlant e vermiculita na proporção de 1:1 suplementado com 1g/L de NPK 10:10:10 e 4 g/L de calcário. 10 dias após a semeadura (DAS) as plantas foram transplantadas para um sistema de hidroponia presente em casa de vegetação. A partir do transplântio as plantas foram divididas em dois lotes para avaliação do crescimento, pigmentos fotossintetizantes e estresse oxidativo durante a fase vegetativa, e para avaliação da produção de frutos e incidência de sintomas de deficiência de Ca.



**Figura 1.** Sistema hidropônico no qual foram crescidas plantas com suficiência e deficiência de Ca.

### 3.4. Ensaio I

Plantas de MT e *pro* aos 10 DAS foram transplantadas para um sistema hidropônico. Após o transplante as plantas permaneceram por mais 20 dias em 50% da solução de Hoagland e Arnon (1950) aerada constantemente com compressor de ar para aquário. O pH foi corrigido diariamente ( $5,7 \pm 0,3$ ) e as soluções substituídas a cada cinco dias. A deficiência de Ca foi induzida com soluções sem Ca aplicada a partir de 30 DAS até os 50 DAS (Figura 2). Posteriormente, quatro plantas de cada tratamento foram utilizadas para realizar as análises de crescimento como matéria fresca e seca de parte aérea e raízes, comprimento, densidade e área de raízes, área foliar, e análises bioquímicas como teor de clorofila, carotenóides, peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e malondialdeído (MDA).



**Figura 2.** Representação do cultivo e indução da deficiência de Cálcio em dias após a semeadura (DAS).

**3.4.1. Acúmulo da biomassa fresca da raiz e parte aérea:** assim que foram coletadas as plantas foram seccionadas em parte aérea e raiz, ambas foram pesadas utilizando uma balança analítica (Denver Instrument Company AA-200) com precisão de 0,0001g.

**3.4.2. Acúmulo da biomassa seca da raiz e parte aérea:** para obtenção de massa seca, o material foi mantido em saco de papel e levado à estufa com renovação forçada de ar a 55 °C por 72 horas. Posteriormente, foi obtida a

massa seca da raiz e da parte aérea utilizando-se uma balança analítica (Denver Instrument Company AA-200) com precisão de 0,0001g.

**3.4.3. Comprimento, área, diâmetro e densidade da raiz:** para a determinação do comprimento, área e densidade da raiz utilizou-se o sistema de análise Delta T Devices LTD. O sistema radicular permaneceu em solução de azul de metileno por aproximadamente 2 minutos. Em seguida, as raízes foram dispostas em bandeja com água destilada para o início das leituras de imagem utilizando-se um digitalizador Hewlett Packard modelo 125C. A imagem de cada sistema radicular foi analisada pelo software Delta-T Scan para obtenção dos dados.

**3.4.4. Área foliar:** a área foliar total foi obtida através da digitalização das folhas e subsequente análise das imagens através do software “Quant” (Vale et al., 2003).

**3.4.5. Teores de clorofilas e carotenóides foliares:** a partir da terceira folha de plantas com 50 dias, discos foram retirados com um furador e colocados no interior de tubos eppendorf com 1,5 mL de metanol. Seguidamente, em condições de penumbra, os tubos foram envolvidos com papel alumínio para permanecerem por 48 horas sob agitação em baixa temperatura. O processo de extração foi realizado em triplicatas. Após agitação, os tecidos foliares foram retirados e a solução de extração contendo os pigmentos levada para leitura nos seguintes comprimentos de onda: Ca – 661,6 nm; Cb – 644,8 nm e Carotenóides (Cc + c) – 470 nm, e para o cálculo da concentração de clorofila

e carotenoides foram utilizadas as seguintes fórmulas (LINCHTENTHALER, 1987):  $Ca = 11,24 \cdot A_{661,6} - 2,04 \cdot A_{644,8}$ ;  $Cb = 20,13 \cdot A_{644,8} - 4,19 \cdot A_{661,6}$ ;  $Ca+b = 7,05 \cdot A_{661,6} + 18,09 \cdot A_{644,8}$  e  $Cc+x = (1000 \cdot A_{470} - 1,90 \cdot Ca - 63,14 \cdot Cb) / 214$ . O teor de clorofilas e carotenóides dos tecidos é expresso em  $\mu\text{g}$  do pigmento pela área do disco cotiledonar ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ).

**3.4.6. Análise de estresse oxidativo:** Raízes e parte aérea foram coletadas e imediatamente conservadas em nitrogênio líquido. Posteriormente, o material vegetal foi armazenado em temperatura de  $-80^\circ\text{C}$  para que as atividades enzimáticas, quantificação de MDA e  $\text{H}_2\text{O}_2$  fossem realizadas.

A) *Peroxidação Lipídica:* obtida através do teste de TBA (ácido 2-tiobarbitúrico) descrito por Heath e Packer (1968). Os metabólitos reativos das membranas celulares, principalmente o malondialdeído (MDA) reagem com o TBA e podem ser quantificados através da espectrofotometria. As amostras frescas foram maceradas com 1 mL de TCA (ácido tricloroacético – 0,1%) juntamente com 20% de PVPP. Após a perfeita homogeneização, foram transferidas para tubos e centrifugados a 10000 g por 5 min. Do sobrenadante, foi retirado 250  $\mu\text{L}$  ao qual foi adicionado 1 mL de TCA 20% e TBA 0,5%. A mistura foi colocada em banho seco por 30 min, a  $95^\circ\text{C}$  e resfriada em gelo, na sequência. As amostras foram centrifugadas por 10 min a 10000 g. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 535 e 600 nm. A quantidade de MDA foi expressa em nmol/g de matéria fresca.

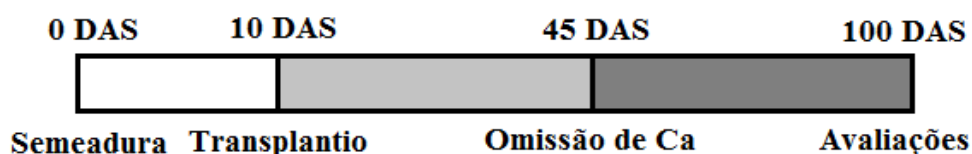
B) *Concentração de Peróxido de Hidrogênio:* o teor de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) foi determinado através da reação com iodeto de potássio (KI), segundo Alexieva et al. (2001). As amostras frescas foram maceradas

com 1mL de TCA 0,1%. Após a perfeita homogeneização, foram transferidas para tubos e centrifugados a 10000 g por 15 min, a 4 °C. Do sobrenadante, foi retirado 200 µL ao qual foi adicionado 200 µL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) e 800 µL de solução 1 M de KI (a solução foi preparada com água ultrapura). O branco consistiu na mesma mistura descrita acima, porém, ao invés do sobrenadante da amostra, colocou-se 200 µL de TCA 01,%. Os tubos com a reação foram colocados em gelo e permaneceram no escuro durante uma hora. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 390 nm. A quantidade de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi expressa em µmol/g de matéria fresca.

### **3.5. Ensaio II**

Para avaliação dos frutos de MT e *pro* em condição de suficiência e deficiência de Ca, sementes de ambos os genótipos foram semeados nas mesmas condições descritas do ensaio I e as plantas de 10 dias foram então transferidas para um sistema hidropônico presente em casa de vegetação. Após o transplante, diferente do ensaio I, as plantas permaneceram por mais 35 dias (até o início da antese, quando pelo menos 50% das plantas possuíam flores abertas) em 50% da solução de Hoagland e Arnon (1950) aerada constantemente com compressor de ar para aquário. Assim como no Ensaio I, o pH foi corrigido diariamente e as soluções substituídas a cada cinco dias. A deficiência de Ca foi obtida com soluções ausentes em Ca. Após a aplicação da solução sem Ca, as plantas permaneceram por mais 55 dias nessas condições, até a maturação dos frutos (Figura 3), sendo que ao longo do período reprodutivo semanalmente foi realizada a contagem dos frutos por planta e o número de frutos com sintoma de deficiência de Ca. Posteriormente,

ao final do ciclo, os frutos de 12 plantas de cada tratamento foram utilizados para realizar as análises, respectivamente.



**Figura 3.** Representação do cultivo e indução da deficiência de Cálcio em dias após a semeadura (DAS).

### **3.5.1. Determinação dos teores de Ca nas raízes, na parte aérea e nos frutos**

Após obter a biomassa seca das raízes, da parte aérea e dos frutos, foi feita a moagem, em moinho tipo Willey e realizadas análise química das amostras, determinando-se os teores de Ca (BATAGLIA et al., 1983). A partir dos teores de Ca e o acúmulo de biomassa seca, foi calculado o acúmulo de Ca nas raízes, na parte aérea e nos frutos.

Com base no acúmulo de massa seca e de Ca em cada parte da planta, foram calculados os índices: (I) eficiência de absorção = (conteúdo total de Ca na planta)/(matéria seca de raízes), de acordo com Swiader et al. (1994); (II) eficiência de transporte para a parte aérea = ((conteúdo do nutriente na parte aérea)/(conteúdo total do nutriente na planta)) x 100; (III) eficiência de transporte para o fruto = ((conteúdo do nutriente no fruto)/(conteúdo total do nutriente na planta)) x 100, segundo Li et al. (1991); (IV) eficiência de utilização = (matéria seca total produzida)/(conteúdo total de Ca na planta), conforme Siddiqi e Glass (1981).

### **3.6. Forma de análise dos resultados**

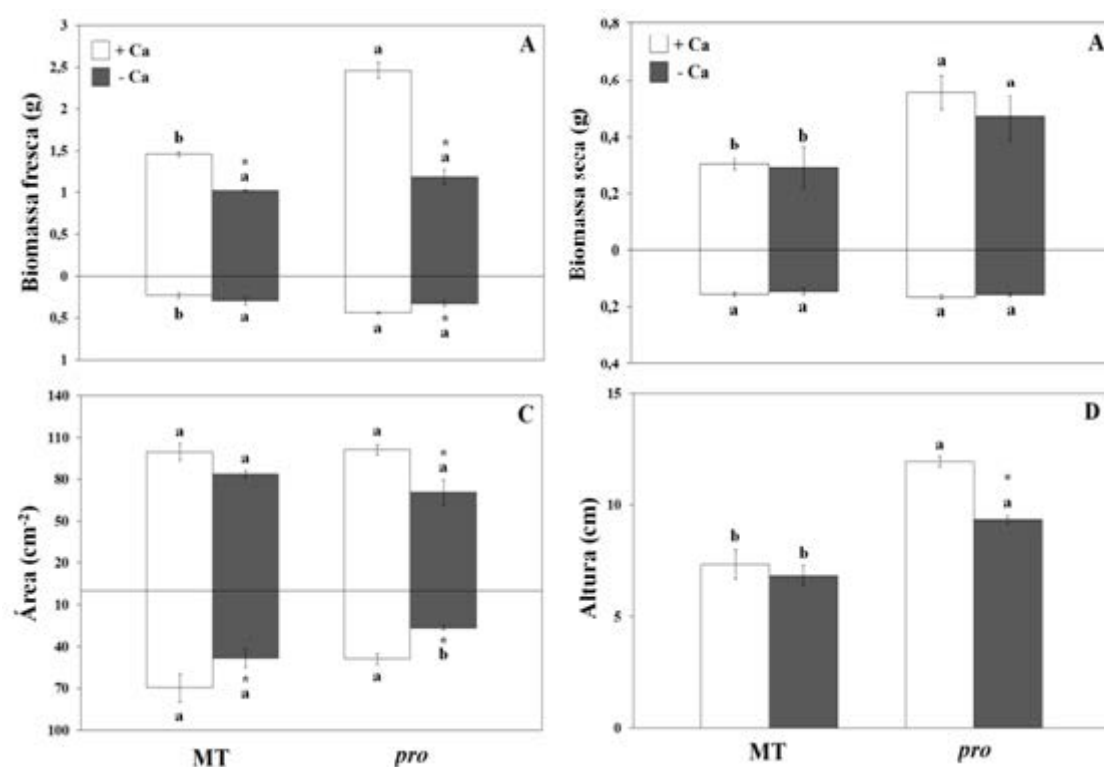
Foi empregado o delineamento em blocos ao acaso em esquema fatorial 2x2 constituído por dois genótipos, MT e *pro*, e duas condições, com e sem Ca, utilizando-se quatro repetições para o Ensaio I e 12 repetições para o Ensaio II. Os dados foram submetidos a Análise de Variância (ANOVA) e Teste de média (Tukey) à 5% de probabilidade, utilizando o programa Assistat 7.7 Beta.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Podemos observar que em condição de suficiência de Ca, plantas de *pro* apresentavam maior biomassa fresca tanto da parte aérea quanto de raízes em relação a MT (Figura 4A). Por outro lado, não se verificou diferença entre os genótipos quanto à biomassa fresca da parte aérea ou de raízes quando estes foram cultivados em condição de deficiência de Ca, no entanto, a deficiência de Ca causou redução do crescimento, representada pela menor biomassa fresca da parte aérea em MT e *pro*, e do sistema radicular em *pro* (Figura 4A). Curiosamente, a biomassa seca tanto da parte aérea quanto das raízes de MT e *pro* não foram significativamente alteradas pela omissão de Ca, entretanto, observou-se maior acúmulo da massa seca da parte aérea em plantas de *pro*, independentemente da condição (Figure 4B). Os valores da biomassa seca das raízes foram similares em ambos os genótipos, independentemente da condição de cultivo (Figura 4B). No que diz respeito à área foliar e radicular em plantas supridas com Ca, não se observou diferença entre MT e *pro* (Figura 4C). Entretanto, sob deficiência de Ca, embora não haja diferença entre os genótipos MT e *pro* com relação à área foliar, apenas plantas de *pro* apresentaram redução da área foliar em função da omissão de



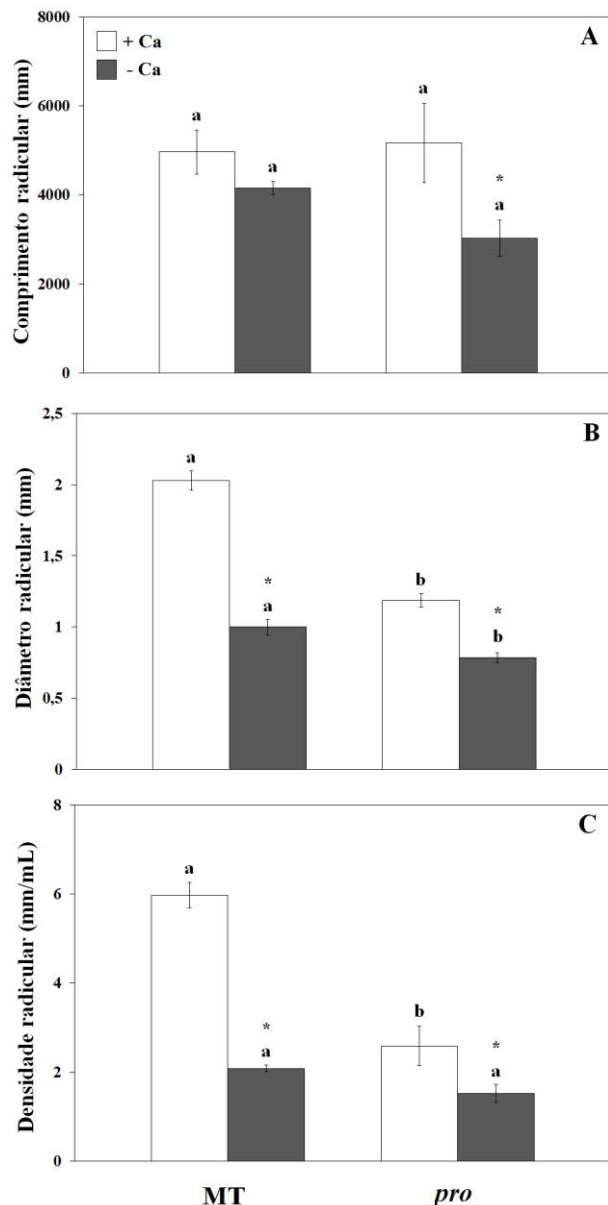
Ca. Ademais, a área radicular foi fortemente afetada pela omissão de Ca, uma vez que a deficiência deste elemento induziu redução da área radicular tanto em MT quanto em *pro* (Figura 4C). Em relação à altura das plantas, como esperado, em função da alta sensibilidade às GAs, plantas de *pro* exibiram alturas superiores à MT em ambas as condições, entretanto, a altura das plantas de *pro* foi negativamente regulada pela omissão de Ca (Figura 4D).



**Figura 4.** Análises fisiológicas da parte aérea e das raízes de MT e *pro* cultivados em condição suficiência ou deficiência de cálcio. A) no eixo da coordenada, valores acima e abaixo de 0 correspondem a massa fresca da parte aérea e de raízes, respectivamente; B) no eixo da coordenada, valores acima e abaixo de 0 correspondem a biomassa seca; C) no eixo da coordenada, valores acima e abaixo de 0 correspondem a área foliar e de raízes, respectivamente; D) altura das plantas. Os valores são as médias de cada tratamento (n= 4) e as barras são o erro padrão de cada tratamento. As letras sobre as barras representam as diferenças das médias entre os tratamentos dentro da condição de suficiência ou deficiência de Ca, e os asteriscos as diferenças do mesmo tratamento entre as condições, calculadas por teste de Tukey a 5%.

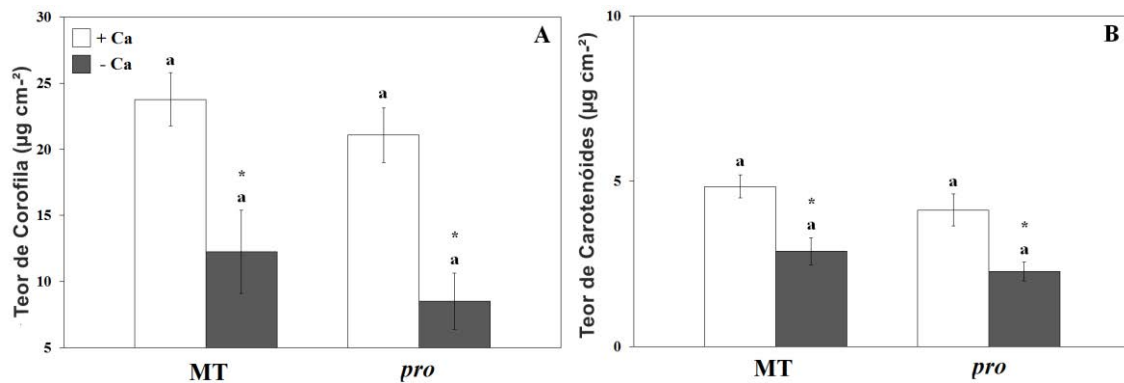
O comprimento radicular foi semelhante em MT e *pro*, independente da condição (Figura 4A). No entanto, somente plantas de *pro* exibiram grande redução do comprimento radicular quando exposto a deficiência de Ca (Figura 5A). Além disso, houve uma nítida redução do diâmetro médio das raízes em

função da deficiência de Ca, independente do genótipo (Figura 5B). Ademais, podemos observar que tanto em suficiência quanto em omissão Ca, plantas de *pro* induziram menor diâmetro radicular (Figura 5B). Da mesma forma, a densidade radicular também foi negativamente regulada pela deficiência de Ca em ambos os genótipos (Figure 5C). Entretanto, não houve diferença entre MT e *pro* sob condição de deficiência de Ca, embora a redução da densidade radicular tenha sido mais pronunciada em plantas de MT (Figura 5C). Por outro lado, plantas de MT tratadas com Ca apresentaram maior densidade de raízes em relação à *pro* na mesma condição (Figura 5C).



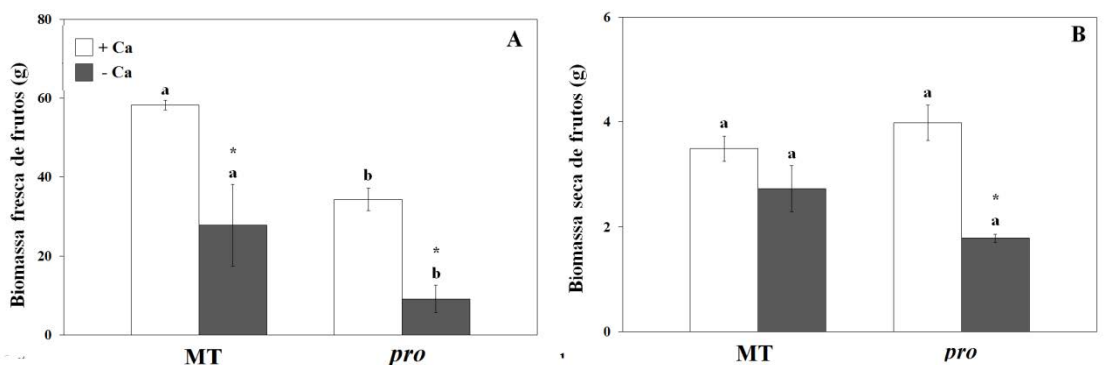
**Figura 5.** Análises fisiológicas das raízes de MT e *pro* cultivados em condição suficiência ou deficiência de cálcio. A) comprimento total das raízes; B) diâmetro das raízes; C) densidade radicular. Os valores são as médias de cada tratamento (n= 4) e as barras são o erro padrão de cada tratamento. As letras sobre as barras representam as diferenças das médias entre os tratamentos dentro da condição de suficiência ou deficiência de Ca, e os asteriscos as diferenças do mesmo tratamento entre as condições, calculadas por teste de Tukey a 5%.

Com relação ao teor total de clorofila, não se observou diferença entre MT e *pro*, entretanto os níveis de clorofila foram fortemente reduzidos pela omissão de Ca (Figura 6A). Da mesma forma, o teor de carotenóides foi negativamente influenciado pela deficiência de Ca, independentemente do genótipo (Figura 6B).



**Figura 6.** Análises bioquímicas das folhas de MT e *pro* cultivados em condição suficiência ou deficiência de cálcio. A) teor total de clorofila; B) teor de carotenóides. Os valores são as médias de cada tratamento (n= 4) e as barras são o erro padrão de cada tratamento. As letras sobre as barras representam as diferenças das médias entre os tratamentos dentro da condição de suficiência ou deficiência de Ca, e os asteriscos as diferenças do mesmo tratamento entre as condições, calculadas por teste de Tukey a 5%.

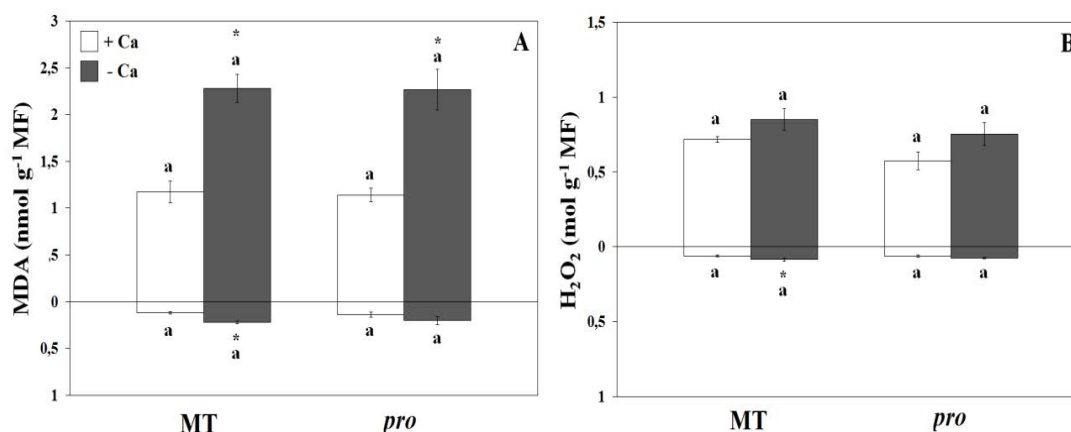
Observou-se maior biomassa fresca dos frutos em plantas de MT em comparação a *pro* quando ambos foram tratados com Ca (Figure 7A). Além disso, podemos notar que a omissão de Ca provocou redução da biomassa de frutos em ambos os genótipos, mas os menores valores de massa fresca frutos foram obtidos de plantas de *pro* sob condição de deficiência desse elemento (Figura 7A). Por outro lado, ainda que a massa seca de frutos tenha sido semelhante entre MT e *pro* em ambas as condições, as plantas de *pro* apresentaram maior redução da biomassa de frutos em função da deficiência de Ca comparado ao MT (Figure 7B).



**Figura 7.** Análises fisiológicas da parte aérea e das raízes de MT e *pro* cultivados em condição suficiência ou deficiência de cálcio. A) biomassa fresca de frutos; B) biomassa seca dos frutos.

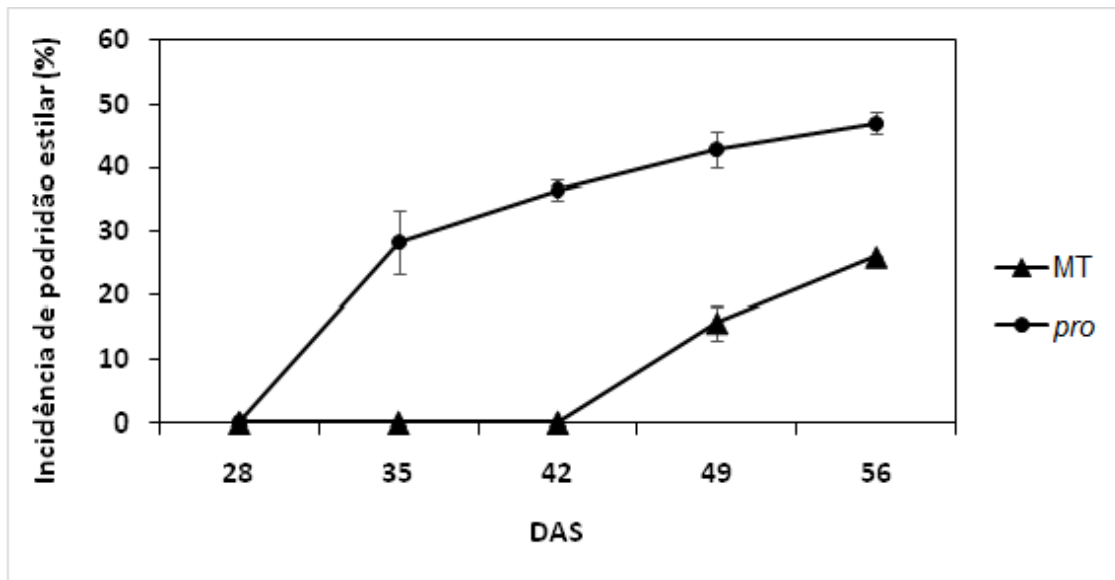
Os valores são as médias de cada tratamento (n= 4) e as barras são o erro padrão de cada tratamento. As letras sobre as barras representam as diferenças das médias entre os tratamentos dentro da condição de suficiência ou deficiência de Ca, e os asteriscos as diferenças do mesmo tratamento entre as condições, calculadas por teste de Tukey a 5%.

A peroxidação lipídica, representada pelos níveis de MDA, foi fortemente aumentada pela omissão de Ca tanto em MT quanto em *pro*, embora plantas de *pro* tenha apresentado aumento dos níveis de MDA apenas nas folhas, e MT em ambas as folhas e raízes (Figura 8A). Por outro lado, os níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> não diferiram entre os genótipos e as condição, exceto para MT, que exibiu aumento dos níveis de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nas raízes após a omissão de Ca (Figura 8B).

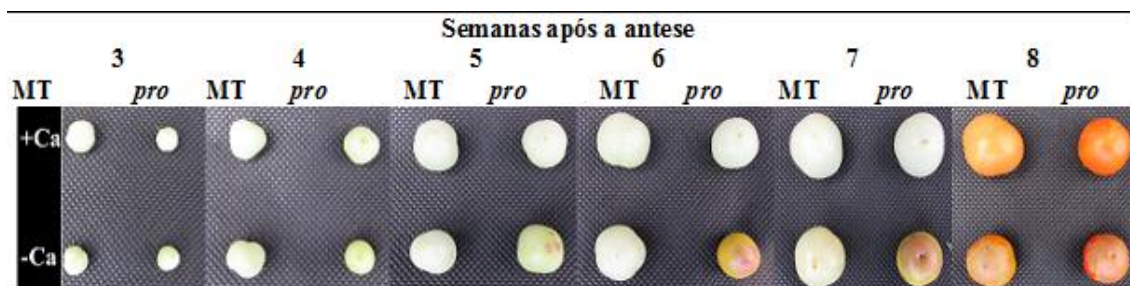


**Figura 8.** Análises fisiológicas da parte aérea e das raízes de MT e *pro* cultivados em condição de suficiência ou deficiência de cálcio. A) no eixo da coordenada, valores acima e abaixo de 0 correspondem ao teor de malondialdeído da parte aérea e de raízes, respectivamente; B) no eixo da coordenada, valores acima e abaixo de 0 correspondem ao teor de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) da parte aérea e de raízes, respectivamente. Os valores são as médias de cada tratamento (n= 4) e as barras são o erro padrão de cada tratamento. As letras sobre as barras representam as diferenças das médias entre os tratamentos dentro da condição de suficiência ou deficiência de Ca, e os asteriscos as diferenças do mesmo tratamento entre as condições, calculadas por teste de Tukey a 5%.

Podemos observar o surgimento de frutos com sintomas de podridão estilar primeiramente em plantas de *pro*, a partir da quinta semana após a antese, ao passo que em planta de MT frutos sintomáticos foram encontrados apenas na sétima semana após a antese em plantas expostas a deficiência de Ca (Figura 9). Além disso, ao final do ciclo, a porcentagem de frutos com sintomas de deficiência de Ca foi significativamente maior em plantas de *pro* (Figura 9).

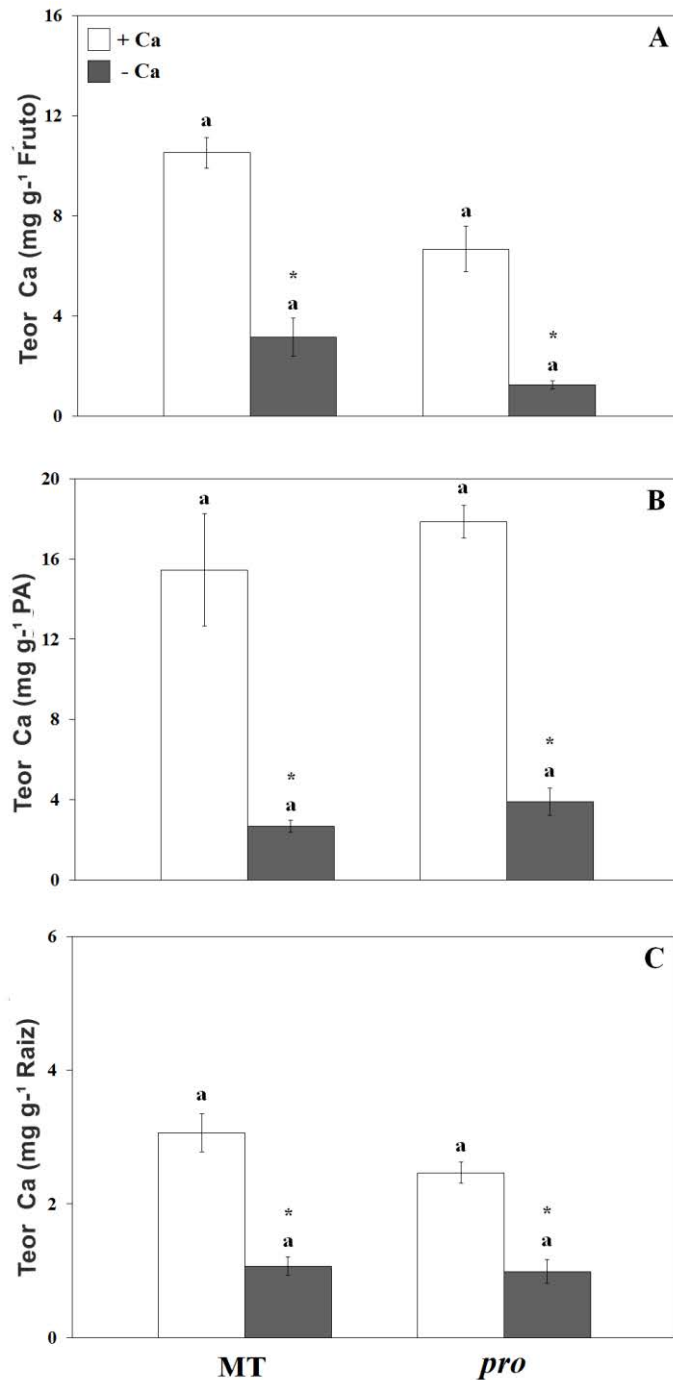


**Figura 9.** Análise de frutos sintomáticos por planta, bem como porcentagem de frutos com sintoma de deficiência de cálcio em relação ao total de frutos por planta de MT e *pro* cultivados em condição de deficiência de cálcio. Os valores são as médias de cada tratamento (n= 12), calculadas por teste de Tukey a 5%.



**Figura 10.** Diferenças na visualização entre procera e MT com deficiência de Ca. É possível notar que a partir 7ª semana, os sintomas na condição de estresse por deficiência de Ca são evidentes em *pro* quando comparado a MT.

Observou-se que em frutos de ambos os genótipos, o teor de Ca foi maior em condição de suficiência de Ca, se comparado com frutos que foram expostos a deficiência do mesmo (Figura 11A). Ambos os genótipos tiveram redução do teor de Ca na parte aérea com a omissão do mesmo (Figura 11B). Entretanto, embora não haja diferença entre os genótipos MT e *pro* com relação a a deficiência de Ca, em função da alta sensibilidade às GAs, raízes de *pro* exibiram teor inferior em relação ao MT em condição de suficiência de Ca (Figura 11C)

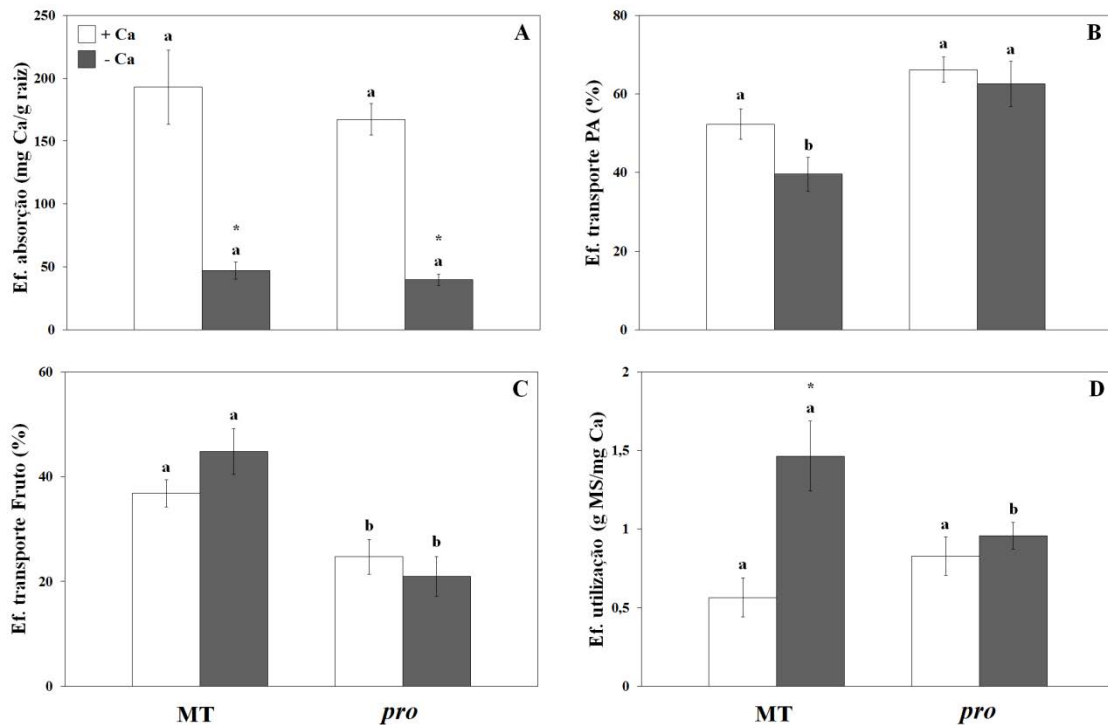


**Figura 11.** Teor de Ca nas raízes, na parte aérea e nos frutos por planta de MT e *pro* cultivados em condição de deficiência de cálcio. A) TeorAcúmulo de Ca no fruto. B) Teor de Ca na parte aérea. C) Teor de Ca na raiz. Os valores são as médias de cada tratamento (n= 12). As letras sobre as barras representam as diferenças das médias entre os tratamentos dentro da condição de suficiência ou deficiência de Ca e época de avaliação, calculadas por teste de Tukey a 5%.

A eficiência de absorção diminuiu na condição de deficiência de Ca no MT e no *pro* (Figura 12A), indicando que a capacidade dos genótipos em absorver o nutriente depende do seu adequado fornecimento no meio de cultivo. A



eficiência de transporte para a parte aérea foi menor no MT, em relação ao *pro* na deficiência de Ca na condição de suficiência de Ca (Figura 12B). Além disso, a eficiência de transporte para o fruto foi menor no *pro*, com ou sem a deficiência de Ca (Figura 12C). Ou seja, independente do fornecimento de Ca na solução nutritiva, o *pro* é menos eficiente em transportar o Ca que foi absorvido para os frutos, sugerindo que a maior sensibilidade a GAs são responsáveis pela maior susceptibilidade do *pro* a ocorrência da podridão estilar. Dessa forma, os nossos resultados estão de acordo com a relevante revisão de literatura de Saure (2005), o qual indica que a deficiência de Ca não é a causa primária da podridão estilar nos frutos de tomateiro. Com a omissão de Ca, a eficiência de utilização foi maior em plantas de MT (Figura 12D), sugerindo que esse genótipo tem maior capacidade de converter o nutriente absorvido em matéria seca total.



**Figura 12.** A) Eficiência de absorção; B) Eficiência do transporte na parte aérea; C) Eficiência do transporte no fruto; D) Uso da eficiência. Os valores são as médias de cada tratamento (n=4) e as barras são o erro padrão de cada tratamento. As letras sobre as barras representam as diferenças das médias entre os tratamentos dentro da condição de suficiência ou deficiência de Ca, e os asteriscos as diferenças do mesmo tratamento entre as condições, calculadas por teste de Tukey a 5%.

Neste experimento, ambos os genótipos avaliados, MT e *pro*, apresentaram reduções de crescimento e pigmentos fotossintetizantes bem como aumento do estresse oxidativo em condição de deficiência de Ca (Figuras 4, 5, 6 e 7). O estresse oxidativo, por exemplo, resulta em danos às membranas, redução na atividade enzimática e na fotossíntese e clorose (BAIER et al., 2005). Por outro lado, plantas de *pro*, com alta sensibilidade às GAs, apresentaram maior acúmulo de biomassa fresca em condição controle, o que poderia ocasionar maior competição entre folhas e frutos, pelo Ca. Da mesma maneira plantas de macieira ‘Catarina’ tratadas com GAs exibiram aumento do crescimento vegetativo e maior ocorrência de sintomas de deficiência de Ca nos frutos (BANGERTH, 1976).

Sob condição de deficiência de Ca, apenas plantas de *pro* exibiram redução da biomassa seca de frutos e surgimento precoce de sintomas de podridão estilar (Figuras 8 e 9). No entanto, o que não tem sido demonstrado é que, além de modificar o transporte de Ca à nível celular, a sinalização das GAs negativamente afeta a eficiência de transporte de Ca para o fruto e de utilização deste elemento (Figura 11). Estes resultados explicam o menor teor de Ca nos frutos e o surgimento precoce de sintomas de podridão estilar em plantas de *pro*, sob deficiência de Ca e mostram de fato que as GAs afetam o metabolismo do Ca, induzindo a maior susceptibilidade do fruto à podridão estilar.

## **5. CONCLUSÕES**

A sinalização de GA altera tanto a capacidade de transporte como de utilização do Ca, principalmente nos frutos. Desse modo, plantas de *pro*, com sensibilidade às GAs aumentada, apresentam menores teores de Ca nos frutos e, assim, são mais suscetíveis à ocorrência de sintomas de deficiência de Ca nos frutos.

## 6. LITERATURA CITADA

ABDAL, M.; SULEIMAN, M. Blossom end rot occurrence in calcareous soil of Kuwait. **Acta Horticulturae**, Leuven, v.695, p.63–65, 2005.

ADAMS, P.; HO, LC. Uptake and distribution of nutrients in relation to tomato fruit quality. **Acta Horticulturae**, Leuven, n.412, p.374-387, 1995.

ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I.; MAPELLI, S.; KARANOV, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.24, p.1337-1344, 2001.

ALONI, R. Foliar and axial aspects of vascular differentiation: Hypotheses and evidence. **Journal Plant Growth Regulation**, New York, v.20, p.22–34, 2001.

ALVARENGA, M. A. R. **Tomate**: produção em campo, casa de vegetação e hidroponia. Lavras: Editora UFLA. p.455, 2013.

ALVARENGA, M.A.R.; LIMA L.A.; FAQUIN V. Fertirrigação. In: ALVARENGA, M.A.R. (Ed.). **Tomate**: produção em campo, em casa de vegetação e em hidroponia. Lavras: Ed. UFLA, 2004.

ASKEW, H.O.; CHITTENDEN, E.T.; MONK, R.J.; WATSON, J. Chemical investigation on bitter pit of apples. III. Chemical composition of affected and neighboring healthy tissue. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, Wellington, v.3, p.169–178, 1960.

BANGERTH, F. Investigations upon Ca related physiological disorders. **Phytopathologische Zeitschrift**, Berlin, v.77, p.20–37,1973.

BANGERTH, F. A role for auxin and auxin transport inhibitors on the Ca content of artificially induced parthenocarpic fruits. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.37, n.3, p.191-194, 1976.

BASSEL, G.W.; MULLEN, R.T.; BEWLEY, J. D. *procera* is a putative DELLA mutant in tomato (*Solanum lycopersicum*): effects on the seed and vegetative plant. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v.59, p.585-593, 2008.

BATAGLIA, O.C.; FURLANI, A.M.C.; TEIXEIRA, J.P.F.; FURLANI, P.R.; GALLO, J.R. **Métodos de análise química de plantas**. Campinas: Instituto Agrônômico de Campinas, P.48, 1983.

BATES, T.R.; LYNCH, J.P. Stimulation of root hair elongation in *Arabidopsis thaliana* by low phosphorus availability. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v.19, p.529–538, 1996.

CANÇADO JUNIOR FL; CAMARGO FILHO, WP; ESTANISLAU MLL; PAIVA BM; MAZZEI AR; ALVES HS. **Aspectos econômicos da produção e comercialização do tomate para mesa**. Informe Agropecuário 24: p.7-18, 2003.

CHAMEL, A.R.; BOSSY, J.P. Electron-microprobe analysis of apple fruit tissues affected with bitter pit. **Scientia Horticulturae**, New York, v.15, p.155–163, 1981.

CLARKSON, D.T. Calcium transport between tissues and its distribution in the plant. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v.7, p.449–456, 1984.

COLLIER GF; TIBBITTS TW. Tipburn of lettuce. **Horticultural Reviews** v.4, p.49-65, 1982.

COSGROVE, D.S.; SOVONICK-DUNFORD, S.A. Mechanism of gibberellin-dependent stem elongation in peas. **Plant Physiology**, Washington, v.89, n.1, p.184–191, 1989.

ESQUINAS-ALCAZAR, J.T. **Genetic resource of tomatoes and wild relatives**. Roma: IBPGR, 1981. P.65, 1981

FREITAS, S.T.; MITCHAM, E.J. Effects of growth regulators on calcium deficiency disorders. In: MEETING WESTERN PLANT GROWTH REGULATOR SOCIETY, p.22, 2010.

FREITAS, S.T. de; SHACKEL, K.A.; MITCHAM, E.J. Abscisic acid triggers whole-plant and fruit-specific mechanisms to increase fruit calcium uptake and prevent blossom end rot development in tomato fruit. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.62, p.2645–2656, 2011a.

FREITAS, S.T. de; PADDA, M.; WU, Q.; PARK, S.; MITCHAM, E. Dynamic alterations in cellular and molecular components during blossom-end rot development in tomatoes expressing sCAX1, a constitutively active Ca<sup>2+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter from Arabidopsis. **Plant Physiology**, Washington, v.156, n.2, p.844-855, 2011b.

FREITAS, S.T. de; JIANG, C.Z.; MITCHAM, E.J. Mechanisms involved in calcium deficiency development in tomato fruit in response to gibberellins. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v.31, p.221-234, 2012.

GAION, L.A.; CARVALHO, R.F. Controle hormonal da nutrição de plantas. In: PRADO, R.M.; CECÍLIO FILHO, A.B. **Nutrição e adubação de hortaliças**. São Paulo: Editora Santa Terezinha, p.197-220, 2016.

GUICHARD, S.; GARY, C.; LEONARDI, C.; BERTIN, N. Analysis of growth and water relations of tomato fruit in relation to air vapor pressure deficit and plant fruit load. **Journal Plant Growth Regulation**, New York, v.24, p.201–213, 2005.

HO, L.C. Environmental effects on the diurnal accumulation of  $^{45}\text{Ca}$  by young fruit and leaves of tomato plants. **Annals of Botany**, London, v.63, p.281–288, 1989.

HO, L.C.; BELDA, R.; BROWN, M.; ANDREWS J.; ADAMS, P. Uptake and transport of calcium and the possible causes of blossom-end rot in tomato. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v.44, p.509–518, 1993.

HOAGLAND, D.; ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soil. In: \_\_\_\_\_. **The water culture method for growing plants without soil**. Berkeley: University California, Agricultural Experiment Station, p.34, 1950.

KINET, J.M.; PEET, M.M. Tomato. In: WIEN, H.C. (Ed.). **The psychology of vegetables crops**. New York: CAB International, p.207-258, 1997.

KLEEMANN, M. Development of calcium deficiency symptoms in chervil (*Anthriscus cerefolium* (L.) Hoffm.) and curled parsley (*Petroselinum crispum* (Mill.) Nym. Convar. *Crispum*). **Natural and Economic Importance of Alternative Plants**, Warsaw, v.468, p.335-348, 1999.

LACERDA, C. F. et al. Influência do cálcio sobre o crescimento e solutos em plântulas de sorgo estressadas com cloreto de sódio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 28, n. 02, p. 289-295, 2004.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic, p.674, 1995.

MATOS, J.K. de. A podridão apical em tomate. **Cerrado**, Brasília, DF, v.5, n.17, p.20, 1972.

MEISSNER, R.; JACOBSON, Y.; MELAMED, S.; LEVYATUV, S.; SHALEV, G.; ASHRI, A.; ELKIND, Y.; LEVY, A. A new model system for tomato genetics. **Plant Journal**, Barcelona, v.12, p.1465-1472, 1997.



MEYER, B.R.; PEISACH, M.; KOTZE, A.G. Analysis of sound and pitted tissue of apple fruit by proton-induced x-ray spectrometry. **Scientia Horticulturae**, New York, v.10, p.57–61, 1979.

MIQUELOTO, A. **Atributos minerais e aspectos fisiológicos relacionados com a ocorrência de “bitter pit” em maçãs**. 2011. 56 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2011.

PAIVA, E.A.S.; MARTINEZ, H.E.P.; CASALI, V.W.D.; PADILHA, L. Occurrence of blossomend rot in tomato as a function of calcium dose in the nutrient solution and air relative humidity. **Journal Plant Nutrition**, Tokyo, v.21, p.2663–2670, 1980.

PASSAM, H.C.; KARAPANOS, I.C.; BEBELI, P.J.; SAVVAS, D. A review of recent research on tomato nutrition, breeding and postharvest technology with references to fruit quality. **European Journal of Plant Science and Biotechnology**, London, v.1, p.1–21, 2007.

PINO L.E.; LOMBARDI-CRESTANA, S.; AZEVEDO, M.S.; SCOTTON, D.C.; BORGIO, L.; QUECINI, V.; FIGUEIRA, A.; PERES, L.E.P. The Rg1 allele as a valuable tool for genetic transformation of the tomato Micro-Tom model system. **Plant Methods** London, v.6, p.23, 2010.

PRATELLA G.C. Note di biopatologia e tecnica di conservazione e trasporto dei frutti: l'effetto del calcio in post-raccolta. **Rivista di Frutticoltura**, Bologna, v.6, p.70-71, 2003.

RICK, C.M. The tomato. **Scientific American**, New York, v.239, n.8, p.67-76, 1978.

RODRIGUES, B. N., ALMEIDA, F. S. de. **Guia de herbicidas**. 4. ed. Edição dos Autores, p.648, 1998.

RUBATZKY V.E.; YAMAGUCHI, M. **World vegetables: principles, production and nutritive values**. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Chapman e Hall, p.843, 1997.

SANTIN, M. R. **Uso de fertilizantes organominerais e indutores de resistência no desempenho agrônômico do tomateiro estaqueado**. 2012. 114f. Tese Universidade de Brasília, Distrito Federal, 2012.

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

SAURE, M.C. Calcium translocation to fleshy fruit: Its mechanism and endogenous control. **Scientia Horticulturae**, New York, v.105, p.65–89, 2005.

SAURE, M.C. Reassessment of the role of calcium in development of bitter pit in apple. **Australian Journal of Plant Physiology**, Collingwood, v.23, p.237–243, 1996.

SCOTT J.; HARBAUGH, B. **Micro-Tom**: a miniature dwarf tomato. Gainesville: Agricultural Experiment Station, University of Florida, p.1-6, 1989.

SERRANI, J.C.; CARRERA, E.; RUIZ-RIVERO, O.; GALLEGO-GIRALDO, L.; PERES, L.E.P.; GARCIA-MARTINEZ, J.L. Inhibition of auxin transport from the ovary or from the apical shoot induces parthenocarpic fruit-set in tomato mediated by gibberellins. **Plant Physiology**, Washington, v.153, p.851-862, 2010.

SILVEIRA, J.P.G.; AMARANTE, C.V.T.; STEFFENS, C.A.; MIQUELOTO, A.; KATSURAYAMA, J.M. A inibição na síntese de giberelina reduz o crescimento vegetativo em macieiras e proporciona controle de “bitter pit” nos frutos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.34, n.2, p.328-335, 2012.

SIMON, E.W. The symptoms of calcium deficiency in plants. **New Phytologist**, London, v.80, p.1–15, 1978.

Siddiqi MY e Glass ADM. Utilization index: a modified approach to the estimation and comparison of nutrient efficiency in plants. **Journal of Plant Nutrition**, 4:289-302, 1981.

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

SUZUKI, K.; TAKEDA, H.; EGAWA, Y. Morphological aspect of blossom-end rot fruits of tomato. **Acta Horticulturae**, Leuven, v.511, p.257–264, 2000.

Swiader JM, Chyan Y e Freiji FG. Genotypic differences in nitrate uptake and utilization efficiency in pumpkin hybrids. **Journal of Plant Nutrition**, 17:1687-1699, 1994.

TAKAZAKI, P.E.; VECCHIA, P.T.D. Problemas nutricionais e fisiológicos no cultivo de hortaliças em ambiente protegido. In: FERREIRA, M.E.; CASTELLANE, P.D.; CRUZ, M.C.P. da (Ed.). **Nutrição e adubação de hortaliças**. Piracicaba: Potafos, p.481-486, 1993.

TOMATE. Belo Horizonte: Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais Subsecretaria do Agronegócio, 2016. Disponível em: [http://www.agricultura.mg.gov.br/images/documentos/perfil\\_tomate\\_mai\\_2016\[1\].pdf](http://www.agricultura.mg.gov.br/images/documentos/perfil_tomate_mai_2016[1].pdf). Acesso em: 31 maio 2017

VALE, F.X.R.; FERNANDES FILHO, E.I.; LIBERATO, J.R.Q. A software plant disease severity assessment. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT PATHOLOGY, 8., New Zealand. **Anais...** p.105, 2003.

VAN TUINEN, A.; PETERS, A.H.L.J.; KENDRICK, R.E.; ZEEVAART, J.A.D.; KOORNNEEF, M. Characterization of the procera mutant of tomato and the interaction of gibberellins with end-of-day far-red light treatments. **Physiology Plantarum**, Lund, v.106, p.121-128, 1999.

VERSLUES, P.E.; ZHU, J.K. New developments in abscisic acid perception and metabolism. **Current Opinion Plant Biology**, Oxford, v.10, p.447–452, 2007.

WANG, H.; SCHAUER, N.; USADEL, B.; FRASSE, P.; ZOUINE, M.; HERNOULD, M.; LATCHE, A.; PECH, J.C.; FERNIE, A.R.; BOUZAYEN, M. Regulatory features underlying pollination-dependent and -independent tomato fruit set revealed by transcript and primary metabolite profiling. **Plant Cell**, Rockville, v.21, p.1428-1452, 2009.