

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**USO DE UM MUTANTE EM GIBERELINA NA ENXERTIA DE  
TOMATEIRO PARA ESTUDAR O PAPEL DESSE  
HORMÔNIO NA SINALIZAÇÃO ENTRE A RAIZ E PARTE  
AÉREA DURANTE O DÉFICIT HÍDRICO**

**Lucas Aparecido Gaion  
Engenheiro Agrônomo**

**2017**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**USO DE UM MUTANTE EM GIBERELINA NA ENXERTIA DE  
TOMATEIRO PARA ESTUDAR O PAPEL DESSE  
HORMÔNIO NA SINALIZAÇÃO ENTRE A RAIZ E PARTE  
AÉREA DURANTE O DÉFICIT HÍDRICO**

**Lucas Aparecido Gaion**

**Orientador: Prof. Dr. Rogério Falleiros Carvalho**

**Coorientador: Profa. Dra. Leila Trevisan Braz**

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências  
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de  
Jaboticabal, como parte das exigências para  
a obtenção do título de Doutor em  
Agronomia (Produção Vegetal)**

**2017**

Gaion, Lucas Aparecido  
G143u      Uso de um mutante em giberelina na enxertia de tomateiro para estudar o papel desse hormônio na sinalização entre a raiz e parte aérea durante o déficit hídrico / Lucas Aparecido Gaion. -- Jaboticabal, 2017  
ix, 76 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017  
Orientador: Rogério Falleiros Carvalho  
Coorientador: Leila Trevisan Braz  
Banca examinadora: Tiago Santana Balbuena, Sonia Marli Zingaretti, Paulo Roberto de Camargo e Castro, Lilian Ellen Pino  
Bibliografia

1. Estresse abiótico. 2. Hormônios vegetais. 3. Relações hídricas.  
I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 632.11:635.64

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: USO DE MUTANTE EM GIBERELINA NA ENXERTIA DE TOMATEIRO PARA ESTUDAR O PAPEL DESSE HORMÔNIO NA SINALIZAÇÃO ENTRE A RAIZ E PARTE AÉREA DURANTE O DÉFICIT HÍDRICO

AUTOR: LUCAS APARECIDO GAION

ORIENTADOR: ROGÉRIO FALLEIROS CARVALHO

COORIENTADORA: LEILA TREVISAN BRAZ

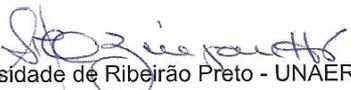
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AGRONOMIA (PRODUÇÃO VEGETAL), pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. ROGÉRIO FALLEIROS CARVALHO  
Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Prof. Dr. TIAGO SANTANA BALBUENA  
Departamento de Tecnologia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Prof. Dra. SONIA MARLI ZINGARETTI   
Departamento de Biotecnologia / Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP



Prof. Dr. PAULO ROBERTO DE CAMARGO E CASTRO  
Departamento de Ciências Biológicas / ESALQ/ USP - Piracicaba/SP



Pós-Doutoranda LILIAN ELLEN PINO  
Departamento de Ciências Biológicas / ESALQ/ USP - Piracicaba/SP

Jaboticabal, 07 de novembro de 2017

## DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Lucas Aparecido Gaion nascido em 12 de outubro de 1989 em Tabatinga-SP, possui graduação em Engenharia Agrônômica pela Universidade de Marília (UNIMAR) em 2010. Durante a graduação, foi bolsista do Programa Universidade para Todos (ProUni) e monitor da disciplina de Fertilidade do Solo. Recebeu o prêmio de honra ao mérito como melhor aluno da XXII Turma de Engenharia Agrônômica. Em 2011, ingressou no Mestrado em Agronomia (Produção Vegetal) pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Câmpus de Jaboticabal, sob orientação da Profa. Dra. Leila Trevisan Braz, concluído em 2013. Foi contemplado com bolsa de mestrado da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) com o projeto “Seleção de porta-enxertos resistentes ao *Fusarium solani* e seus efeitos na produção do meloeiro rendilhado”. Em março de 2014 ingressou como aluno de Doutorado pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Câmpus de Jaboticabal, no curso de Agronomia (Produção Vegetal), sob orientação do Prof. Dr. Rogério Falleiros Carvalho. Durante o doutorado, foi bolsista da FAPESP e teve a oportunidade de realizar três meses de doutorado sanduíche no “Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas”, “Universitat Politècnica de València”, Espanha, sob orientação da Dra. Isabel López-Díaz. De maneira geral, seus trabalhos têm focado temas como o papel hormonal nas respostas a fatores ambientais, principalmente o déficit hídrico, e a sinalização à longa distância empregando o uso da enxertia como ferramenta de pesquisa.

Aos meus pais **Arlindo** e **Selma** por todo apoio, oração, incentivo e ensinamentos, e à minha querida irmã **Isabela**. Também à minha avó **Rosa** (em memória) que segue ao meu lado em pensamento.

**Dedico**

À minha amada esposa Cristiana pela parceria e paciência.

**Ofereço**

## **AGRADECIMENTOS**

À DEUS pelo dom da vida e todas as benções concedidas.

Ao meu orientador Prof. Dr. Rogério Falleiros Carvalho pela amizade, ensinamentos e enorme paciência ao longo desses anos.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, bem como, ao programa de pós-graduação em Agronomia (Produção Vegetal) pela oportunidade de cursar o doutorado e pela estrutura disponibilizada.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos durante o curso de doutorado (01/03/2014 a 31/10/2014).

À FAPESP (2014/19165-2) pela concessão da bolsa de estudos durante o curso de doutorado (01/11/2014 a 31/10/2017).

À Profa. Dra. Leila Trevisan Braz por todos os ensinamentos e amizade.

À Dra. Isabel López-Díaz e à Dra. Esther Carrera, ambas do “Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas”, pela orientação durante o doutorado sandúiche na Espanha. Também à técnica Teresa por toda ajuda na realização das análises bioquímicas.

Ao Prof. Joni Lima, chefe do Laboratório de Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal, e ao seu aluno David dos Anjos pelo auxílio na realização nas análises moleculares.

À Susana Rojo por me fazer se sentir em casa mesmo estando tão distante da minha família.

Às professoras do Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária Dra. Durvalina Maria Mathias dos Santos e a Dra. Priscila Lupino Gratão pelos muitos ensinamentos.

Aos amigos do Laboratório de Fisiologia Vegetal da Unesp: Soninha, Jamil, Joel, Letícia, Victor, Leonardo, Carol, Marina, Antônio, Cássia, Denise, Priscilinha, Luiz, Rafael, Domingos, e tantos outros que passaram e sempre deixaram algum ensinamento.

Aos amigos do Setor de Olericultura: Inauro, Claudio, Reinaldo, Lucas Santos, Letícia, Edgar, Renato, Guilherme, Hudson, Willame, Rafa e Carol.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
RESUMO.....	viii
ABSTRACT .....	ix
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	4
2.1. Tomateiro.....	4
2.1.1. Origem, botânica e aspectos agrônômicos .....	4
2.1.2. Tomateiro como planta modelo .....	6
2.1.3. Mutante <i>procera</i> .....	8
2.2. Giberelinas.....	9
2.3. Controle hormonal do déficit hídrico.....	12
2.4. Enxertia em hortaliças.....	16
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	18
3.1. Material vegetal e enxertia .....	18
3.2. Déficit hídrico .....	19
3.3. Crescimento.....	19
3.4. Teores de clorofilas e carotenoides .....	20
3.5. Estresse oxidativo .....	21
3.5.1. Peroxidação lipídica .....	21
3.5.2. Peróxido de hidrogênio.....	21
3.5.3. Peroxidases totais (POD EC 1.11.1.7) .....	22
3.6. Análise da expressão gênica por PCR em Tempo Real (qPCR).....	22
3.7. Temperatura, conteúdo relativo de água e potencial hídrico da folha.....	24
3.8. Estômatos .....	25
3.9. Trocas gasosas.....	25

3.10. Hormônios vegetais .....	25
3.11. Folhas destacadas .....	26
3.12. Análise estatística .....	26
4. RESULTADOS .....	27
4.1. Crescimento .....	27
4.2. Teores de clorofilas e carotenoides .....	28
4.3. Conteúdo de MDA e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	29
4.4. Peroxidases totais.....	30
4.5. Análise da expressão gênica por qPCR.....	32
4.6. Temperatura, conteúdo relativo de água e potencial hídrico da folha.....	32
4.7. Densidade e abertura estomática .....	34
4.8. Trocas gasosas.....	34
4.9. Hormônios vegetais .....	37
4.10. Perda de água de folhas destacadas.....	41
5. DISCUSSÃO .....	42
6. CONCLUSÕES .....	49
7. REFERÊNCIAS.....	50
APÊNDICES.....	71

## USO DE UM MUTANTE EM GIBERELINA NA ENXERTIA DE TOMATEIRO PARA ESTUDAR O PAPEL DESSE HORMÔNIO NA SINALIZAÇÃO ENTRE A RAIZ E PARTE AÉREA DURANTE O DÉFICIT HÍDRICO

**RESUMO** - As plantas são organismos sésseis que devem perceber e responder a vários estímulos ambientais ao longo de seu ciclo de vida. Entre esses estímulos, o estresse causado pela seca vem se tornando o principal fator limitante à produção agrícola em todo o mundo. O déficit hídrico é percebido inicialmente pelas raízes, que deve sinalizar eficientemente a parte aérea e, assim, desencadear os mecanismos de adaptação à seca. Por isso, a fim de avaliar o papel das giberelinas (GAs) na comunicação entre a raiz e a parte aérea durante o déficit hídrico, o tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) mutante *procera* (*pro*), com resposta constitutiva à GA, e seu tipo selvagem Micro-Tom (MT), foram utilizados em enxertos recíprocos e cultivados sob condições irrigada e de déficit hídrico. Posteriormente, foi avaliado o crescimento, o estresse oxidativo, a expressão gênica, as relações hídricas e o conteúdo hormonal para fornecer informações sobre os ajustes mediados por GA durante o déficit hídrico. Todas as combinações de enxertia com *pro* (*i.e.* *pro/pro*, *MT/pro* e *pro/MT*) não exibiram redução do crescimento sob condições de estresse, embora não tenha evitado o aumento do estresse oxidativo. Além disso, os enxertos com *pro* induziram maior acúmulo de ácido abscísico (ABA) na parte aérea, independente do genótipo do porta-enxerto. A sensibilidade aumentada à GA no porta-enxerto modulou a condutância estomática (*gs*) e a eficiência intrínseca de uso da água (EUA<sub>i</sub>) sob déficit hídrico, ou seja, durante o déficit hídrico a resposta constitutiva às GAs presente no porta-enxerto induziu forte redução da *gs* e, conseqüentemente, aumento da EUA<sub>i</sub>, independentemente do enxerto empregado. Além disso, sob condição de déficit hídrico, verificou-se regulação positiva e negativa dos genes *SIDREB2*, envolvido na modulação de mecanismos de resposta à seca, e *SIDELLA*, repressor de GA, respectivamente. O tratamento de folhas destacadas de MT e *pro* com ABA induziu redução da perda de água de maneira mais pronunciada em folhas de *pro*. Estes resultados indicam a existência de interação entre a sensibilidade à GA e ABA regulando os mecanismos de reajuste do crescimento e economia de água durante o déficit hídrico. Em outras palavras, a resposta constitutiva às GAs, especialmente nas raízes, modula a sinalização entre a raiz e a parte aérea e, assim, as respostas ao déficit hídrico.

**Palavras-chave:** Enxertia, estresse abiótico, hormônios vegetais, movimento estomático, relações hídricas, sinalização raiz-parte aérea

## USE OF A GIBBERELLIN MUTANT IN GRAFTING OF THE TOMATO TO STUDY THE ROLE OF THIS HORMONE IN THE SIGNALING BETWEEN ROOT AND SHOOT DURING DROUGHT STRESS

**ABSTRACT** - Plants are sessile organisms that must perceive and respond to various environmental cues throughout their life cycle. Among these factors, drought stress has become the main limiting factor to crop production around the world. Water deprivation is perceived primarily by the roots, which should efficiently signal the shoot to trigger drought responses in order to maximize the ability of plants to survive. In this study, the *procera* (*pro*) mutant tomato (*Solanum lycopersicum* L.), with a constitutive response to gibberellin (GA), and its near-isogenic line cv. Micro-Tom (MT), were used in reciprocal grafting under well-watered and water stress conditions to evaluate the role of GA signaling in root-to-shoot communication during drought stress. Growth, oxidative stress, gene expression, water relations and hormonal content were measured in order to provide insights into GA-mediated adjustments to water stress. All graft combinations with *pro* (i.e. *pro/pro*, *MT/pro* and *pro/MT*) prevented the reduction of growth under stress conditions, but without a reduction in oxidative stress. Scions harboring the *pro* mutation tended to increase the abscisic acid (ABA) content, independent of the rootstock. Moreover, the GA sensitivity of the rootstock modulated stomatal conductance (*gs*) and intrinsic water use efficiency (WUEi) under drought stress, therefore, during the drought stress the constitutive response to the GAs present in the rootstock induced a strong reduction of the *gs* and, consequently, increase of the WUEi, regardless of the graft employed. Furthermore, after exposure to drought stress, there was positive and negative regulation of the *SIDREB2*, involved in the modulation of drought response mechanisms, and *SIDELLA* genes, GA repressor, respectively. The reduction of water loss was more pronounced on detached leaves of *pro* after treatment with ABA when compared to MT leaves. These results indicate the occurrence of crosstalk between sensitivity to GA and ABA regulating the mechanisms of growth and water economy readjustment during water deficit. On the other words, the constitutive response to GAs, especially in roots, modulates signaling between root and shoot, and thus responses to water deficit.

**Keywords:** Grafting, abiotic stress, plant hormones, stomatal movement, water relations, root-to-shoot signaling

## 1. INTRODUÇÃO

O déficit hídrico é uma das principais ameaças à produção agrícola ao redor do mundo. Além disso, estimativas preveem o seu agravamento nos próximos anos devido às mudanças climáticas, que irão induzir mudanças no regime de distribuição de chuvas, expansão das áreas áridas e, conseqüentemente, aumento das áreas consideradas marginais à atividade agrícola (BORNMAN et al., 2015; TRNKA; HLAVINKA; SEMENOV, 2015). De modo que as plantas poderão ser expostas à seca de maneira cada vez mais frequente e, portanto, exigindo maior capacidade de aclimação às condições adversas. Durante o déficit hídrico, as plantas tendem a reduzir a condutância estomática e a fotossíntese, bem como redistribuir assimilados que podem se tornar escassos em condições extremas de estresse (GRANIER; TARDIEU, 1999; SKIRY CZ; INZÉ, 2010; TRAMONTINI et al., 2013; DE OLLAS; ARBONA; GÓMEZ-CADENAS, 2015). Estas modificações são coordenadas por uma intrincada cascata de respostas moleculares e bioquímicas (STOLL; LOVEYS; DRY, 2000; MCADAM; SUSSMILCH; BRODRIBB, 2016; VERMA; RAVINDRAN; KUMAR, 2016). Por exemplo, sob déficit hídrico, ocorre a indução de genes de resposta à seca (JANIAK; KWASNIEWSKI; SZAREJKO, 2016; CANTALAPIEDRA et al., 2017), aumento da produção de moléculas do estresse oxidativo (FAROOQ et al., 2009; GOLLDACK et al., 2014; LEÓN et al., 2014) e complexa modulação do metabolismo hormonal (POSPISILOVÁ, 2003; DE OLLAS; DODD, 2016; JIN et al., 2016).

Além disso, todas essas alterações em resposta à seca começam a partir da percepção do estresse pelas raízes e da sinalização entre a raiz e a parte aérea que irá disparar as respostas ao déficit hídrico na parte aérea (AUGÉ; MOORE, 2002; HOLBROOK et al., 2002; TRAMONTINI et al., 2013; MARTORELL et al., 2015). Assim, a fim de reduzir a perda de água durante o déficit hídrico, a planta deve, por exemplo, controlar a abertura e o fechamento dos estômatos inibindo a perda de água, mesmo antes que haja declínio do “status” hídrico na parte aérea (STOLL; LOVEYS; DRY, 2000; AUGÉ; MOORE, 2002; HOLBROOK et al., 2002; OSAKABE et al., 2014). Para isso, está claro que sinais bioquímicos proveniente das raízes desencadeiam mecanismos de aclimação na parte aérea (AUGÉ; MOORE, 2002; JIA; ZHANG 2008; OSAKABE et al., 2014). Dentre esses sinais, tem sido postulado que o ácido

abscísico (ABA) exerceria importante função no controle das respostas ao déficit hídrico a partir da raiz até a parte aérea. De fato, o fechamento estomático durante o estresse hídrico tem sido relacionado ao aumento dos níveis de ABA tanto nas folhas como na seiva do xilema (JACOBSEN; LIU; JENSEN, 2009; CARVALHO et al., 2011a; VIJAYALAKSHMI et al., 2014; DE OLLAS; DODD, 2016). No entanto, Holbrook et al. (2002) realizaram vários ensaios utilizando combinações de enxertia entre tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) tipo selvagem e seus mutantes com reduzida biossíntese de ABA (*flacca* e *sitiens*) e revelaram que o fechamento estomático ocorria independentemente da produção de ABA pelas raízes, mas era essencial a sua biossíntese nas folhas. Além disso, recentemente foi demonstrado que a biossíntese de ABA e o controle da condutância estomática podem ser regulados pela proteína “GIBBERELLIN-INSENSITIVE DWARF 1” (GID1), sob estresse hídrico (DU et al., 2015). GID1 é um receptor nuclear das giberelinas (GAs), e o mutante de arroz (*Oryza sativa* L.) *gid1*, exibindo uma sinalização de GA prejudicada, induz níveis reduzidos de ABA e manutenção de elevada condutância estomática sob condições de déficit hídrico (DU et al., 2015). Com efeito, inúmeros trabalhos têm evidenciado o envolvimento das GAs com os mecanismos de adaptação a vários estresses abióticos, como baixa e alta temperatura, salinidade, inundação e seca (ACHARD et al., 2008; COLEBROOK et al., 2014; KHAN; WAQAS; LEE, 2015). Entretanto, o papel que as GAs desempenham durante o déficit hídrico ainda permanece elusivo e em certa medida contraditório.

Por exemplo, os danos causados pela seca em plantas de milho (*Zea mays* L.), trigo (*Triticum aestivum* L.) e rami [*Boehmeria nivea* (L.) Gaud] têm sido relacionados à redução dos níveis de GA (WANG et al., 2008; COELHO FILHO et al., 2013; LIU et al., 2013). Além disso, a aplicação de GA pode induzir a recuperação do crescimento vegetativo e a manutenção da fotossíntese, bem como a redução do estresse oxidativo, sob condição de déficit hídrico (KAYA; TUNA; ALVES, 2006; AKTER et al., 2014; KHAN; WAQAS; LEE, 2015). Por outro lado, há uma série de trabalhos demonstrando que a sensibilidade reduzida às GAs pode favorecer a tolerância ao déficit hídrico. Por exemplo, plantas mutantes de trigo, *Rht8*, *Rht-1b* e *Rht-D1b*, com sensibilidade reduzida à GA, exibiram maior tolerância à seca em comparação ao tipo selvagem (LANDJEVA et al., 2008; ALGHABARI et al., 2014). Da mesma forma, as

plantas com níveis reduzidos de GAs ativas, como os mutantes de *Arabidopsis thaliana* (*ga20ox1/2* e *ga3ox1/2*) e plantas transgênicas de tomate superexpressando o gene *AtGAMT1*, gene de *Arabidopsis* que codifica uma enzima que induz a desativação de GA, também apresentaram maior tolerância ao déficit hídrico (COLEBROOK et al., 2014; NIR; MOSHELION; WEISS, 2014). Dessa forma, esses eventos fortemente indicam que GA é parte fundamental das respostas ao déficit hídrico, contudo o papel da sinalização de GA a partir das raízes à parte aérea durante o déficit ainda permanece elusivo. Até agora, é conhecido que a mobilidade da GA<sub>12</sub>, um intermediário das GAs com atividade biológica, ocorre também por meio do sistema vascular vegetal (REGNAULT et al., 2015), mas muitos questionamentos ainda podem ser levantados. Por exemplo: i) As GAs modulam a percepção pelas raízes e a sinalização à longa distância do déficit hídrico? ii) Elas são o sinal bioquímico transportado da raiz para a parte aérea controlando as respostas à seca? iii) Se sim, GAs desempenham papel negativo ou positivo durante o déficit hídrico?

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Tomateiro

#### 2.1.1. Origem, botânica e aspectos agronômicos

O tomateiro é uma planta originada da região andina, em uma área compreendida entre a Colômbia e o Chile (JENKINS, 1948). Domesticada inicialmente no México, foi levada à Europa pelos navegadores espanhóis e, a partir de então, se disseminou tanto pela Europa quanto pelo resto do mundo (JENKINS, 1948; NUEZ, 1995). Atualmente, o tomateiro é uma das principais hortaliças cultivadas ao redor do planeta. China, Índia e Estados Unidos são os maiores produtores mundiais dessa olerícola (FAO, 2017). O Brasil, por sua vez, foi o 8º maior produtor mundial de tomate em 2014, produzindo 4.145.553 t em uma área de 62.050 ha, produtividade média de 66.809 kg ha<sup>-1</sup> (AGRIANUAL, 2017; FAO, 2017). São Paulo, Goiás e Minas Gerais, maiores produtores nacionais, produziram, em 2015, cerca de 1.035.251, 907.603 e 715.890 t de tomate, respectivamente (AGRIANUAL, 2017).

O tomateiro é uma planta perene, de porte arbustivo, cultivada como anual tanto em ambiente protegido como em campo (FILGUEIRA, 2008). Os cultivares utilizados podem apresentar dois hábitos de crescimento: i) crescimento indeterminado e; ii) crescimento determinado. Plantas com crescimento indeterminado caracterizam-se pela ocorrência de dominância apical na haste principal que, por sua vez, cresce mais do que as ramificações laterais (ALVARENGA, 2013). As flores do tipo racimo são emitidas na haste principal a cada três folhas, que servirão como fonte de fotoassimilados para o desenvolvimento dos frutos (dreno) (BERTIN; GAUTIER; ROCHE, 2001). Por outro lado, plantas com crescimento determinado caracterizam-se pela ausência de dominância apical na haste principal, sendo que cada ramificação apresenta um ramo floral apical, o qual limita o seu desenvolvimento vegetativo (ALVARENGA; COELHO, 2013). De maneira geral, os cultivares empregadas para a produção de tomate para consumo *in natura* apresentam hábito de crescimento indeterminado, podendo ser cultivadas tanto em ambiente protegido quanto em campo, exigindo a realização de podas e tutoramento

(FONTES; SILVA, 2005). Por outro lado, os cultivares destinadas à produção de tomate para processamento normalmente exibem crescimento determinado, característica que facilita a mecanização da colheita, principalmente pela concentração do período de colheita.

O tomate é considerado um alimento funcional devido aos seus efeitos benéficos à saúde, além de seu valor nutritivo inerente à composição química do fruto. Por exemplo, o tomate é rico em substâncias antioxidantes (e.g. licopeno e carotenoides), sais minerais (e.g. cálcio e potássio) e vitaminas (e.g. vitaminas A e C) (SOUSA et al., 2011; BARANKEVICZ et al., 2015). O tomate pode ser consumido tanto *in natura* quanto processado como suco, purês e molhos, vale ressaltar que o tratamento térmico aumenta a disponibilidade de licopeno e, conseqüentemente, seus efeitos benéficos (SOUSA et al., 2011). De fato, vários estudos têm demonstrado as propriedades protetoras do consumo regular de tomate contra doenças vasculares e alguns tipos de câncer, como de estômago e de próstata (ABREU; BARCELOS, 2012; RAIOLA et al., 2014; VIUDA-MARTOS et al., 2014).

Além disso, a produção de tomate em campo, bem como em ambiente protegido, está sob influência de diversos fatores ambientais, como temperatura, umidade, fotoperíodo e luminosidade. Dentre estes, a temperatura e a umidade relativa do ar (UR, %) são os principais fatores que afetam a produção do tomateiro (HAREL et al., 2014). A temperatura média ótima para a produção de frutos de tomate situa-se entre 20-24 °C, sendo de 14-17 °C durante à noite e 19-24 °C durante o dia (ALVARENGA; COELHO, 2013). Todavia, a suscetibilidade ao estresse térmico pode variar dependendo do genótipo empregado (SANTOS et al., 2014). A temperatura do ar é um fator-chave na biossíntese de licopeno e no desenvolvimento do grão de pólen e das anteras (PRESSMAN et al., 2002; DUMAS et al., 2003; BRANDT et al., 2006). Por exemplo, temperatura média diária do ar de 29 °C induz redução da fixação de frutos e da massa de frutos por planta em comparação com plantas cultivadas a 25 °C (SATO; PEET; THOMAS, 2002; SATO et al., 2006). Outro fator importante é a UR (%). A UR (%) ótima para a polinização está entre 50-70% (HAREL et al., 2014), entretanto, o aumento da UR(%) torna o grão de pólen mais suscetível à alta temperatura (PEET et al., 2002).

Além dos fatores ambientais, o estado nutricional das plantas é um importante aspecto que influencia tanto a produtividade quanto a ocorrência de distúrbios fisiológicos. Por exemplo, o surgimento da podridão apical, lesão deprimida de coloração parda acinzentada no ápice do fruto, está associado à oscilação da disponibilidade hídrica no solo e altas temperaturas do ar (BASTOS et al., 2013). Além disso, há evidências de que estes sintomas estão correlacionados com a deficiência de cálcio (Ca), principalmente no ápice do fruto (PLESE et al., 1998; FONTES, 2003; ARRUDA et al., 2011). Contudo, alguns trabalhos têm demonstrado o envolvimento das giberelinas (GAs) na ocorrência da podridão apical (FREITAS; MITCHAM, 2012; SILVEIRA et al., 2012). O lóculo aberto, outro importante distúrbio fisiológico da cultura do tomateiro, o qual caracteriza-se pela exposição da placenta dos frutos, tem sua ocorrência associada à deficiência de boro (B) (MAGALHÃES; SILVA; MONNERAT, 1981; CHOI et al., 2015).

O tomateiro é considerado uma das hortaliças mais exigentes e responsivas à aplicação de fertilizantes químicos (BASTOS et al., 2013). Embora o acúmulo de nutrientes dependa de inúmeros fatores como cultivar, sistema de produção e disponibilidade de nutrientes, as plantas de tomateiro tendem a exibir maior taxa de absorção de nutrientes durante o florescimento e a frutificação, normalmente entre os 50 e 100 dias após o transplante (PRADO et al., 2011). O acúmulo de macronutrientes na parte aérea, ao final do ciclo, em ordem decrescente é K>N>Ca>P>Mg>S e de micronutrientes Cu>Mn>Fe>Zn (FAYAD et al., 2002; PRADO et al., 2011; LUCENA et al., 2013). Os frutos são o principal dreno da planta, acumulando ao final do ciclo cerca de 50% do total da massa seca da planta, e o principal dreno para K, N e P (PRADO et al., 2011; LUCENA et al., 2013).

### **2.1.2. Tomateiro como planta modelo**

Ao longo dos anos, temas da biologia, como por exemplo, a fisiologia, a bioquímica e a genética têm avançado, predominantemente, por meio da utilização de sistemas ou organismos modelos, tais como o rato (*Mus musculus*), a mosca das frutas (*Drosophila melanogaster*) e bactérias (e.g. *Escherichia coli*) (BECKINGHAM et al., 2005; JEIBMANN; PAULUS, 2009; TAJ et al., 2014). Esses organismos

apresentam características, como alta capacidade multiplicativa, tamanho reduzido e fácil manutenção em laboratório, que facilitam seu uso experimental e, além disso, a sua ampla utilização permite a comparação entre trabalhos realizados ao redor do mundo (HEDGES, 2002; BOLKER, 2012). Na biologia vegetal não tem sido diferente, a *Arabidopsis*, planta pertencente à família Brassicaceae, vem sendo largamente utilizada em pesquisas básicas sobre processos biológicos fundamentais em plantas (KOORNNEEF; MEINKE, 2010). Por outro lado, características como frutos carnosos, diversidade de metabólitos secundários, grande diversidade genética, protocolos de transformação eficientes bem como sua importância econômica tornam o tomateiro um forte candidato à planta modelo em alternativa à *Arabidopsis* (ARUMUGANATHAN; EARLE, 1991; HAMILTON et al., 1999; MUELLER, 2005). De fato, o tomateiro tem sido empregado tanto em pesquisas básicas quanto aplicadas. Por exemplo, no ano de 2017 foram registrados 2.402 artigos científicos na base de dados “Web of Science” contendo a palavra “tomato” no título e/ou resumo (webofknowledge.com). Entretanto, o seu longo ciclo de vida e o hábito de crescimento indeterminado são grandes desvantagens à sua ampla utilização na ciência vegetal.

Desse modo, a obtenção do cultivar de tomateiro Micro-Tom (MT), desenvolvido inicialmente para fins ornamentais (SCOTT; HARBAUGH, 1989), tem sido proposto como modelo genético, por agregar tanto as características já mencionadas bem como ciclo de vida curto, porte reduzido e ter seu genoma sequenciado (YANO et al., 2006; CAMPOS; CARVALHO; BENEDITO, 2010; CARVALHO et al., 2011b). O tamanho reduzido e o ciclo de vida curto de MT são devido à presença de duas mutações recessivas, uma no gene *dwarf* (*d*), uma mutação relacionada à classe hormonal dos brassinosteroides (BR) e outra no gene *self-pruning* (*sp*), responsável pelo hábito de crescimento determinado (PNUELI et al., 1998; MARTÍ et al., 2006). Além disso, Carvalho et al. (2011b) realizaram a introgressão em MT de uma ampla gama de mutações hormonais (em biossíntese ou sensibilidade) provenientes de outros cultivares ou espécies afins, caracterizando-se como uma importante ferramenta para o estudo do papel das principais classes hormonais, como auxina (AUX), citocininas (CKs), etileno (ET), ABA, BRs e GA, no desenvolvimento vegetal e nas respostas a fatores ambientais. Por exemplo, o

mutante *procera*, com resposta constitutiva às GAs, tem sido amplamente utilizado em pesquisas sobre a relação entre o metabolismo das GAs e o desenvolvimento vegetal (PERES et al., 2005; CARRERA et al., 2012; LOMBARDI-CRESTANA et al., 2012).

### 2.1.3. Mutante *procera*

As giberelinas são hormônios vegetais que regulam inúmeros processos nas plantas, como germinação de sementes, alongamento do caule, expansão foliar, indução de florescimento e desenvolvimento de frutos (VAN TUINEN et al., 1999; CARRERA et al., 2012; HEDDEN; SPONSEL, 2015; HEDDEN; THOMAS, 2016). No entanto, as respostas à GA são negativamente reguladas pela proteína DELLA, pertencente à família de fatores de transcrição GRAS (CLAEYS; DE BODT; INZÉ, 2014). Dessa forma, para que as respostas controladas por GA ocorram, primeiramente precisa ocorrer a degradação de DELLA. Para tanto, moléculas de GA com atividade biológica devem se ligar ao seu receptor, *GID1*, formando o complexo GA-*GID1* que ao se ligar à DELLA induzirá sua marcação para posterior degradação via proteassomo 26S (UEGUCHI-TANAKA et al., 2005; HIRANO et al., 2010). O mutante de tomateiro *procera* (*pro*) apresenta uma mutação (presente no domínio GRAS) no gene (*SIDELLA*) que codifica a proteína DELLA, o que resulta na formação de proteínas DELLA não funcionais e resposta constitutiva às GAs (BASSEL; MULLEN; BEWLEY, 2008). Por isso, embora apresentem níveis reduzidos de GA, plantas do mutante *pro* exibem fenótipo semelhante às plantas tratadas com GA exógena, como alongamento dos entrenós, folhas com bordas lisas, estiletos mais longos e formação de frutos partenocárpicos (VAN TUINEN et al., 1999; CARRERA et al., 2012; LIVNE et al., 2015). Todavia, de forma diferente de outras plantas que também possuem apenas um gene codificador de DELLA, como arroz e cevada (*Hordeum vulgare* L.), plantas de tomateiro *pro* respondem à aplicação de GA, indicando que pode haver manutenção parcial das funções de DELLA ou devido a respostas independentes à DELLA (VAN TUINEN et al., 1999). De fato, Livne et al. (2015) demonstraram que ao menos 5% das respostas controladas por GA são independentes de DELLA, por exemplo, a regulação dos genes *GA2oxidase* e

*EXPANSINS* envolvidos na desativação de GAs e na expansão celular, respectivamente. Além disso, a caracterização morfológica, fisiológica bem como molecular faz do mutante *pro* uma interessante ferramenta em trabalhos que visam desvendar a participação das GAs nas respostas a estímulos tanto endógenos quanto ambientais.

## 2.2. Giberelinas

A descoberta das GAs remonta ao final do século 19, quando foi observado que plantas de arroz infectadas por *Gibberella fujikuroi* (reclassificado como *Fusarium fujikuroi*) apresentavam sintomas como alongamento anormal do caule e supressão da produção de sementes (STOWE; YAMAKI, 1957). No entanto, apenas em 1912, o pesquisador Kenkichi Sawada sugeriu que o fungo era responsável pelo composto indutor do crescimento exagerado das plantas, fato comprovado em 1926 (HEDDEN; SPONSEL, 2015). Posteriormente, o isolamento e a determinação estrutural do composto ativo foi realizado na década de 1950, de maneira quase que concomitante por pesquisadores dos Estados Unidos, Reino Unido e Japão que denominaram esses compostos de giberelina-X, ácido giberélico e giberelina A, respectivamente (HEDDEN; SPONSEL, 2015). Na verdade, os pesquisadores japoneses haviam separado três componentes distintos de uma giberelina A, previamente isolada, chamando-os de giberelina A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> e A<sub>3</sub>, sendo que tanto o ácido giberélico quanto a giberelina A<sub>3</sub> (GA<sub>3</sub>) eram a mesma molécula (HEDDEN; THOMAS, 2016). Além disso, por convenção, adotou-se o modelo japonês de classificação das GAs, de modo que as GAs são classificadas numericamente de acordo com a ordem cronológica de sua descoberta (GA<sub>1</sub>-GA<sub>n</sub>) (HEDDEN; SPONSEL, 2015).

Após o seu isolamento de culturas de *F. fujikuroi*, foi demonstrado que as GAs, além de estimular o alongamento caulinar, poderiam afetar diversos outros aspectos do desenvolvimento vegetal, como induzir o pendoamento e o florescimento em plantas com crescimento em forma de roseta e o estabelecimento de frutos (LANG, 1956; STOWE; YAMAKI, 1957). Atualmente, sabe-se que as GAs afetam ampla gama de processos ao longo do ciclo vegetal, como germinação de sementes, iniciação floral, desenvolvimento do pólen, estabelecimento e crescimento de frutos, dentre

muitos outros eventos que podem ter a participação das GAs (HEDDEN; THOMAS, 2016). Além disso, esses efeitos podiam também ser obtidos através do uso de extratos vegetais, indicando que as GAs eram um componente endógeno do metabolismo vegetal (LANG; SANDOVAL; BEDRI, 1957; PHINNEY et al., 1957). De fato, em 1958, pesquisadores conseguiram isolar GA<sub>1</sub> a partir de sementes imaturas de feijão (*Phaseolus coccineus* L.) (MACMILLAN; SUTER, 1958). Desde então, as pesquisas sobre as GAs têm apresentado grande evolução principalmente com relação à sua biossíntese e metabolismo. Estas pesquisas levaram à descoberta de que as GAs são sintetizadas pela rota dos terpenoides e tem como precursor moléculas de geranylgeranyl difosfato (GGPP) (GRAEBE, 1987; YAMAGUCHI, 2008). A via de biossíntese das GAs pode ser dividida em três etapas distintas, cada uma ocorrendo em um compartimento celular distinto, plastídios, retículo endoplasmático e citosol (YAMAGUCHI, 2008). Na etapa final, no citosol, a via de biossíntese se divide em duas rotas diferentes, em uma rota os intermediários têm um grupo hidroxila (OH) adicionado ao carbono 13 (rota da 13-hidroxilação), enquanto os intermediários da segunda rota não o possuem (rota da não hidroxilação no carbono 13). A rota da 13-hidroxilação produzirá a GA bioativa GA<sub>1</sub>, enquanto a rota da não hidroxilação no carbono 13 origina a GA bioativa GA<sub>4</sub> (YAMAGUCHI, 2008; HEDDEN; SPONSEL, 2015). Na maioria das plantas estudadas, a GA<sub>1</sub> é a principal GA endógena com atividade biológica, embora possa depender do órgão e condições de desenvolvimento (HEDDEN; KAMIYA, 1997; OGAWA et al., 2003; YAMAGUCHI, 2008).

Há uma série de enzimas-chave envolvidas na biossíntese das GAs, entretanto, as enzimas que catalisam as últimas etapas antes da formação das GAs bioativas, GA 20-oxidase (GA20ox) e GA 3-oxidase (GA3ox), parecem estar mais sujeitas a ajustes em função das condições de crescimento (YAMAGUCHI; KAMIYA, 2000; RICHARDS et al., 2001; YAMAGUCHI, 2008). Além disso, a GA 2-oxidase, responsável pela desativação das GAs bioativas e de alguns intermediários, também está sob estrita regulação de fatores endógenos e ambientais (KAMIYA; GARCÍA-MARTÍNEZ, 1999; YAMAGUCHI; KAMIYA, 2000). Dessa forma, a fim de reduzir os níveis endógenos de GAs ativas, as plantas podem, por exemplo, regular negativamente os genes GA20ox e/ou GA3ox, ou positivamente os genes da GA2ox

em um mecanismo conhecido como regulação por retroalimentação negativa (RICHARDS et al., 2001; SCHWECHHEIMER, 2012; PAPARELLI et al., 2013). As GAs com atividade biológica atuam por meio da degradação de seu repressor, a proteína DELLA (DAVIÈRE; ACHARD, 2013; CLAEYS; DE BODT; INZÉ, 2014). A proteína DELLA pertence ao subgrupo da família GRAS de reguladores de transcrição. Assim como as demais proteínas da família GRAS, DELLA apresenta um domínio funcional GRAS na extremidade C-terminal, este domínio está envolvido com a interação proteína-proteína e na regulação transcricional (AN et al., 2015; LOR; OLSZEWSKI, 2015; CENCI; ROUARD, 2017). Além disso, DELLA ainda possui o domínio funcional DELLA, que dá origem ao nome da proteína, e VHYNP na extremidade N-terminal (DAVIÈRE; ACHARD, 2016). Mutações no domínio DELLA ou VHYNP interferem na habilidade da proteína interagir com o receptor de GA, “GIBBERELLIN-INSENSITIVE DWARF 1” (GID1), levando à estabilização de DELLA e na ocorrência de uma mutação semi-dominante insensível à GA (SUN; GUBLER, 2004; WANG; DENG, 2014). Na verdade, as GAs induzem à degradação de DELLA via ubiquitinação e posterior degradação pelo proteassomo 26S (UEGUCHI-TANAKA et al., 2005). No entanto, para que isso ocorra moléculas de GA com atividade biológica devem se ligar ao seu receptor, GID1, formando o complexo GA-GID1 que ao se ligar à DELLA induzirá sua marcação para posterior degradação (UEGUCHI-TANAKA et al., 2005; HIRANO et al., 2010).

Embora DELLA regule a expressão de um grande número de genes e sua degradação seja um passo essencial, e atualmente bem estabelecido, para a ação de GA, até o momento não foi identificado nenhum sítio de ligação ao DNA em DELLA (DAVIÈRE; ACHARD, 2013, 2016). Dessa forma, foi proposto um modelo no qual DELLA atua como coativador transcricional por meio de outros fatores de transcrição que possuem domínio de ligação ao DNA (DAVIÈRE; ACHARD, 2016). Até o momento, já foi demonstrado haver interação entre DELLA e vários fatores de transcrição, como PIFs (“PHYTOCHROME-INTERACTING FACTORS”, inibidores da fotomorfogênese), ABIs (“ABSCISIC ACID INSENSITIVE”, componentes da via de transdução de sinal do ácido abscísico), BZR1 (“BRASSINAZOLE RESISTANT 1”, componente da via de transdução de sinal dos brassinosteroides), EIN3 (“ETHYLENE INSENSITIVE 3”, fator de transcrição que regula positivamente as respostas ao

etileno), JAZ (“JASMONATE ZIM DOMAIN”, inibidor das respostas ao ácido jasmônico), “XERICO” (um indutor da biossíntese de ABA), entre outros (DAVIÈRE; ACHARD, 2016). A interação de DELLA com diversos reguladores de transcrição integrando vias de transdução de sinal das principais classes hormonais explica como GA é capaz de influenciar o desenvolvimento vegetal, desde a germinação até a frutificação bem como as respostas a fatores ambientais como luz, temperatura, salinidade e déficit hídrico (CLAYES; DE BODT; INZÉ, 2014; COLEBROOK et al., 2014; DAVIÈRE; ACHARD, 2016).

### **2.3. Controle hormonal do déficit hídrico**

Diante do cenário atual e futuro o déficit hídrico é a principal ameaça à produção agrícola no mundo (LI et al., 2009; STOCKER et al., 2013; LESK; ROWHANI; RAMANKUTTY, 2016). Entre 1964 e 2007, o déficit hídrico foi responsável por perdas anuais de cerca de 10% da produção mundial de cereais (e.g. cevada, milho, trigo e arroz), reduzindo tanto a área colhida como a produtividade (LESK; ROWHANI; RAMANKUTTY, 2016). Curiosamente, quando considerada a metade final (1985-2007), as perdas de produção foram notavelmente superiores ao período anterior (1964-1984), sendo de 13,7 e 6,7%, respectivamente (LESK; ROWHANI; RAMANKUTTY, 2016). Estes resultados demonstram aumento da severidade dos eventos de seca e/ou maior suscetibilidade dos cultivos. De fato, modelos de previsão estimam que, na ausência de medidas compensatórias, as perdas da produção agrícola em decorrência de eventos prolongados de seca podem chegar a 50% até 2100 (LI et al., 2009; GORNALL et al., 2010). Além disso, o aumento da temperatura média global e, conseqüentemente, da demanda evapotranspirativa da atmosfera pode resultar no aumento de até 10% das áreas consideradas áridas e marginais para os cultivos agrícolas bem como na redução da disponibilidade de água para uso em irrigação (SHERWOOD; FU, 2014; DÖLL et al., 2015).

Dessa forma, as plantas estarão vulneráveis aos eventos cada vez mais frequentes e severos de déficit hídrico. Em contrapartida, as plantas têm evoluído um complexo e intrincado conjunto de processos fisiológicos, bioquímicos e moleculares de adaptação ao déficit hídrico (CLAEYS; INZÉ, 2013; OSAKABE et al., 2014).

Exemplificando, a partir da percepção da seca é disparada uma série de sinais físicos e químicos que induzem à reprogramação do desenvolvimento vegetal através de mecanismos, como regulação da expressão gênica, modificação da homeostase hormonal, reajuste da parede celular e fechamento estomático (AUGÉ; MOORE, 2002; SKIRYCZ; INZÉ, 2010; GOLLDACK et al., 2014). Curiosamente, as respostas à seca na parte aérea, principalmente o fechamento estomático, podem iniciar mesmo antes da redução do “status” hídrico foliar (AUGÉ; MOORE, 2002; HOLBROOK et al., 2002; SCHACHTMAN; GOODGER, 2008; MARTORELL et al., 2015). Em outras palavras, a redução do potencial hídrico do solo é suficiente para disparar as respostas adaptativas na parte aérea. Tais efeitos indicam a existência de um eficiente sistema de sinalização do déficit hídrico entre o sistema radicular e a parte aérea.

Inicialmente, pensou-se que o ácido abscísico (ABA) poderia ser esse sinal, devido à relação entre os níveis de ABA foliar e o fechamento estomático sob condição de déficit hídrico (JACOBSEN; LIU; JENSEN, 2009; VIJAYALAKSHMI et al., 2014; DE OLLAS; DODD, 2016). Contudo, Holbrook et al. (2002) realizaram vários experimentos utilizando combinações de enxertia entre o tomateiro tipo selvagem e dois mutantes com reduzida biossíntese de ABA (*flacca* e *sitiens*) e verificaram que o ABA não era a molécula sinalizadora entre a raiz e a parte aérea. Os autores demonstraram que, sob déficit hídrico, o fechamento estomático ocorre de maneira independente da biossíntese de ABA pelas raízes, mas dependente da produção foliar de ABA. Além disso, quando isolado o componente hidráulico, também sugerido atuar como sinal entre a raiz e a parte aérea sob déficit hídrico, as plantas ainda eram capazes de responder à desidratação do solo com o fechamento estomático, desde que as folhas fossem capazes de sintetizar ABA (HOLBROOK et al., 2002). De maneira similar, experimentos com espécies arbóreas (*Nyssa sylvatica*, *Acer saccharum*, *Quercus alba*, *Q. rubra*, *Q. prinus* e *Q. acutissima*) foram conduzidos a fim de verificar a resposta estomática a sinais não hidráulicos provenientes do sistema radicular (AUGÉ; MOORE, 2002). As plantas foram cultivadas com o sistema radicular dividido entre dois recipientes permitindo, assim, submeter parte do sistema radicular ao déficit hídrico sem, no entanto, afetar o potencial hídrico foliar. Os autores observaram que a imposição da seca à parte do sistema radicular causou redução da condutância estomática, independentemente do conteúdo de água na parte aérea

(AUGÉ; MOORE, 2002). Estes resultados indicam que as respostas de adaptação à seca parecem ser, ao menos parcialmente, mediadas por um fluxo de sinais bioquímicos da raiz para a parte aérea.

Por sua vez, estes sinais devem ser capazes de modular a biossíntese de ABA na parte aérea. Uma vez que, embora a sinalização raiz-parte aérea possa ocorrer de modo independente de ABA, há inúmeras evidências que a concentração de ABA nas folhas é essencial para a regulação das respostas ao déficit hídrico, por exemplo, o movimento estomático (HOLBROOK et al., 2002; DASZKOWSKA-GOLEC; SZAREJKO, 2013; GOLLDACK et al., 2014; VERMA; RAVINDRAN; KUMAR, 2016). O aumento dos níveis de ABA foliar é percebido pelos seus receptores ("PYRABACTIN-RESISTANCE 1", PYR; "PYRABACTIN-RESISTANCE LIKE", PYL; "REGULATORY COMPONENT OF ABA RECEPTORS", RCARs) induzindo, assim, a degradação via complexo ubiquitina proteassomo 26S da "PROTEIN PHOSPHATASE 2C" (PP2C), um regulador negativo das respostas à ABA (MA et al., 2009; NISHIMURA et al., 2010). A degradação de PP2C ativa o acúmulo das SnRK2s ("SUCROSE NON-FERMENTING 1-RELATED SUBFAMILY 2 PROTEIN KINASES") que regulam positivamente fatores de transcrição responsivos à ABA (e.g. "ABRE-BINDING PROTEIN", AREB; "ABRE-BINDING FACTOR", ABF) (UMEZAWA et al., 2009; KIM et al., 2011; WANG et al., 2017). Estes fatores de transcrição induzem a expressão de genes responsivos à ABA, seguido pelas respostas fisiológicas, como o fechamento estomático (GOLLDACK et al., 2014; HU et al., 2016; SUSSMILCH; BRODRIBB; MCADAM, 2017).

Portanto, depois da exposição ao déficit hídrico, o acúmulo de ABA induz a inibição da H<sup>+</sup>-ATPase e a ativação de canais de íons na membrana plasmática das células guardas. A ativação de canais de íons induz o efluxo de malato<sup>-2</sup> e Cl<sup>-</sup> (XU; ZHOU; SHIMIZU, 2010; KIM et al., 2011). Assim, tanto o efluxo de ânions como a inibição da H<sup>+</sup>-ATPase resulta na despolarização da membrana e no efluxo de K<sup>+</sup> (JEANGUENIN et al., 2008; MAK et al., 2014). Ao mesmo tempo, há aumento da concentração de Ca<sup>2+</sup> no citosol das células guardas devido à entrada de Ca<sup>2+</sup> através dos canais localizados na membrana plasmática e no tonoplasto (WARD; SCHROEDER, 1994; DASZKOWSKA-GOLEC, SZAREJKO, 2013). Em conjunto, estes eventos resultam na perda de turgor das células guardas e, conseqüentemente,

no fechamento estomático (ARAÚJO; FERNIE; NUNES-NESI, 2011; MAK et al., 2014; JEZEK; BLATT, 2017).

Além disso, recentemente foi demonstrado que a biossíntese de ABA e o controle da condutância estomática são regulados pela proteína receptora de GA, *GID1* (DU et al., 2015). Os autores demonstraram que, plantas de arroz mutante (*gid1*), com a sinalização de GA prejudicada, exibiam níveis reduzidos de ABA e maior condutância estomática em relação às plantas tipo selvagem, após exposição ao déficit hídrico (DU et al., 2015). Estes resultados indicam a existência de uma intrincada via de sinalização a partir da percepção do estresse pelas raízes até o reajuste do desenvolvimento na parte aérea. De fato, diversos trabalhos têm evidenciado o envolvimento de praticamente todas as classes hormonais nas respostas à seca (DASZKOWSKA-GOLEC; SZAREJKO, 2013; OSAKABE et al., 2014; PANDEY et al., 2017). Entretanto, apenas recentemente as GAs têm recebido maior atenção quanto ao seu papel durante a aclimatação ao déficit hídrico. Nas últimas décadas, embora contraditórios, muitos trabalhos têm investigado o papel das GAs nas respostas ao déficit hídrico (COLEBROOK et al., 2014). Por exemplo, sob condição de déficit hídrico, é comum haver redução da altura das plantas, da massa seca da parte aérea em decorrência da realocação de fotoassimilados para as raízes (LITVIN; VAN IERSEL; MALLADI, 2016). A redução do crescimento da parte aérea está normalmente associada ao menor conteúdo de GA na parte aérea sob déficit hídrico. A menor disponibilidade hídrica parece regular negativamente a expressão de genes, como a *GA 20-oxidase* que codifica enzimas-chaves para a biossíntese de GA (ZHOU; UNDERHILL, 2015). Além disso, quando aplicada, a GA pode restaurar, ao menos parcialmente, o crescimento das plantas cultivadas em condição de déficit hídrico (KAYA; TUNA; ALVES, 2006; AKTER et al., 2014). Por outro lado, há uma série de estudos demonstrando que a sensibilidade reduzida às GAs pode favorecer a maior tolerância ao déficit hídrico. Por exemplo, os mutantes *Rht8*, *Rht-1b* e *Rht-D1b* de trigo, com sensibilidade reduzida à GA, eram mais tolerantes ao déficit hídrico em comparação ao tipo selvagem (LANDJEVA et al., 2008; ALGHABARI et al., 2014). Da mesma forma, as plantas com níveis reduzidos de GAs ativas, como os mutantes de *Arabidopsis* (*ga20ox1/2* e *ga3ox1/2*) e as plantas de tomate transgênicas superexpressando o gene *AtGAMT1*, gene de *Arabidopsis* que codifica uma enzima

que induz à desativação de GA, também exibiram maior tolerância à restrição hídrica (COLEBROOK et al., 2014; NIR; MOSHELION; WEISS, 2014).

#### 2.4. Enxertia em hortaliças

A enxertia pode ser definida como o processo que visa unir partes de duas plantas diferentes para a formação de uma única planta. A porção que irá originar a parte aérea é conhecida como enxerto ou cavaleiro e o sistema radicular como porta-enxerto ou cavalo. O sucesso da união entre o enxerto e o porta-enxerto depende de diversos fatores morfológicos, fisiológicos e bioquímicos (ALONI et al., 2010; MARTÍNEZ-BALLESTA et al., 2010; MILIEN et al., 2012; FAN et al., 2015), apesar disso, é relativamente comum a realização de enxertias tanto intra quanto interespecíficas e até mesmo intergenéricas (LOHAR; VANDENBOSCH, 2005; LEE et al., 2010; GOLDSCHMIDT, 2014; MARŠIĆ; MIKULIČ-PETKOVŠEK; ŠTAMPAR, 2014). Embora a enxertia seja uma técnica ancestral com relatos de seu uso há mais de 3.000 anos, principalmente em frutíferas, o seu emprego em plantas hortícolas ganhou maior relevância, apenas, a partir do século XX (MIGUEL, 2009; MUDGE et al., 2009; MELNYK; MEYEROWITZ, 2015). A primeira descrição do uso da enxertia em hortaliças de maneira comercial ocorreu em 1920 no Japão, quando plantas de melancia (*Citrullus lanatus* L.) foram enxertadas sobre porta-enxertos de abóbora (*Cucurbita moschata* L.) a fim de prevenir a ocorrência de murcha de *Fusarium* (SAKATA; OHARA; SUGIYAMA, 2007; MUDGE et al., 2009). Desde então, vários estudos têm demonstrado que a enxertia é uma poderosa ferramenta para aumentar a eficiência agrônômica bem como prover tolerância a inúmeros fatores bióticos e abióticos limitantes à produção agrícola (COLLA et al., 2010; LOUWS; RIVARD; KUBOTA, 2010; SCHWARZ et al., 2010).

Todavia, além do seu uso aplicado à produção agrícola, a enxertia tem ganhado notória importância como ferramenta de pesquisa, sendo empregada na investigação de diversos processos do desenvolvimento vegetal, principalmente aqueles relacionados à comunicação entre a raiz e a parte aérea e vice-versa, por exemplo, o transporte de moléculas (IVANCHENKO et al., 2015; JIN et al., 2015; ALI et al., 2016), a sinalização entre órgãos (NOTAGUCHI, 2014; NOTAGUCHI; OKAMOTO, 2015) e

absorção de nutrientes (BAUTISTA et al., 2011; TABATA et al., 2014; OKAMOTO; KAWAGUCHI, 2015).

A partir da descoberta que enxerto e porta-enxerto se influenciam mutuamente, grande número de experimentos tem tentado estabelecer as bases do transporte de moléculas e sinais entre ambas as partes. Por exemplo, plantas de tomateiro mutante *diageotropica* (*dgt*), com reduzida sensibilidade à AUX, podem ter seu desenvolvimento normal restaurado através da enxertia com plantas de tomateiro MT (IVANCHENKO et al., 2015). Os autores relataram que a restauração do desenvolvimento normal das plantas mutantes está associada ao transporte da proteína Diageotropica, essencial tanto à sinalização como à regulação do transporte de AUX a partir da parte aérea para as raízes e vice-versa. De fato, a partir do estabelecimento de protocolos adequados de enxertia e microenxertia para plantas modelo, por exemplo, o tomateiro e a Arabidopsis, a enxertia tem adquirido um proeminente papel como importante ferramenta na pesquisa vegetal (TURNBULL; BOOKER; LEYSER, 2002; MARSCH-MARTÍNEZ et al., 2013; TURNBULL; LOPEZ-COBOLLO, 2013). Além da combinação em uma mesma planta de parte aérea e sistema radicular diferentes, o emprego da enxertia também permite a construção de modelos de pesquisa com dois sistemas radiculares (enxertia em  $\Lambda$ ) ou duas partes aéreas (enxertia em Y) (TURNBULL; BOOKER; LEYSER, 2002).

Os estudos recentes utilizando a enxertia como método de pesquisa têm enfatizado a detecção do transporte de moléculas à longa distância, especialmente hormônios (DODD et al., 2009; KIBA et al., 2013; SETO; YAMAGUCHI, 2014; IVANCHENKO et al., 2015; REGNAULT et al., 2015), RNAs (BHOCALE et al., 2014; NOTAGUCHI; HIGASHIYAMA; SUZUKI, 2015; ALI et al., 2016), peptídeos (HUAULT et al., 2014; TABATA et al., 2014; OKAMOTO; KAWAGUCHI, 2015) e proteínas (NOTAGUCHI et al., 2008; JIN et al., 2015; SPIEGELMAN et al., 2015). Tais estudos têm permitido grande avanço sobre o entendimento dos mecanismos implicados na regulação do desenvolvimento vegetal bem como nas respostas aos fatores ambientais.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Material vegetal e enxertia

No presente experimento, foram utilizados dois genótipos de tomateiro, o cultivar Micro-Tom (MT) e o mutante *procera* (*pro*), com resposta constitutiva às GAs em função de uma mutação no gene *SIDELLA* (BASSEL; MULLEN; BEWLEY, 2008; CARRERA et al., 2012). Sementes de ambos os genótipos foram colocadas para germinar em bandejas de poliestireno contendo mistura na proporção de 1:1 de substrato comercial (BioPlant) e vermiculita expandida, suplementado com 1 g L<sup>-1</sup> de NPK 10:10:10 e 4 g L<sup>-1</sup> de calcário dolomítico. 15 dias após a sementeira (DAS), as plantas foram transferidas para copos plásticos de 200 mL preenchidos com o mesmo substrato utilizado anteriormente, e os genótipos MT e *pro* foram combinados (MT/MT, *pro/pro*, MT/*pro*, *pro*/MT; o primeiro genótipo indica o enxerto, e o segundo o porta-enxerto) por meio da enxertia em bisel (Figuras 1 e 2). Imediatamente, as plantas enxertadas foram acondicionadas em câmara úmida tipo “floating”, onde permaneceram até a completa cicatrização da região da enxertia (c. 15 dias), e então foram transplantadas para vasos de 350 mL e transferidas para a casa de vegetação.

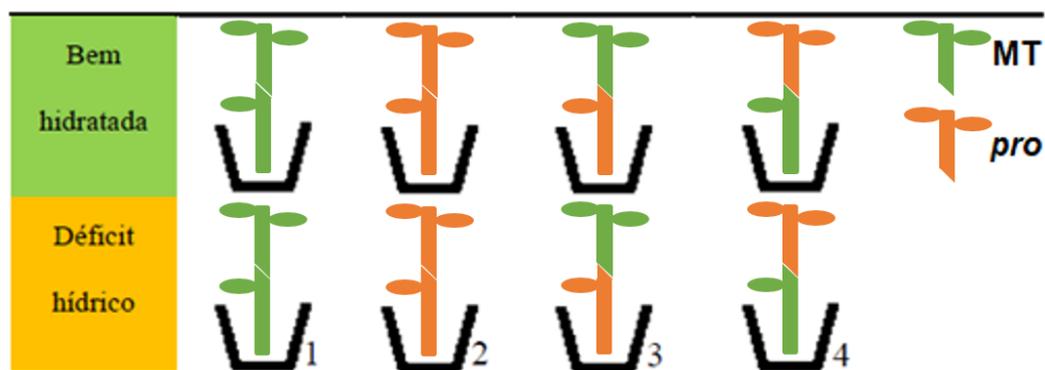


Figura 1. Combinações enxerto/porta-enxerto entre Micro-Tom (MT) e *procera* (*pro*) utilizadas para o estudo da importância da sinalização de GA durante o déficit hídrico: (1) MT/MT, (2) *pro/pro*, (3) MT/*pro*, (4) *pro*/MT.

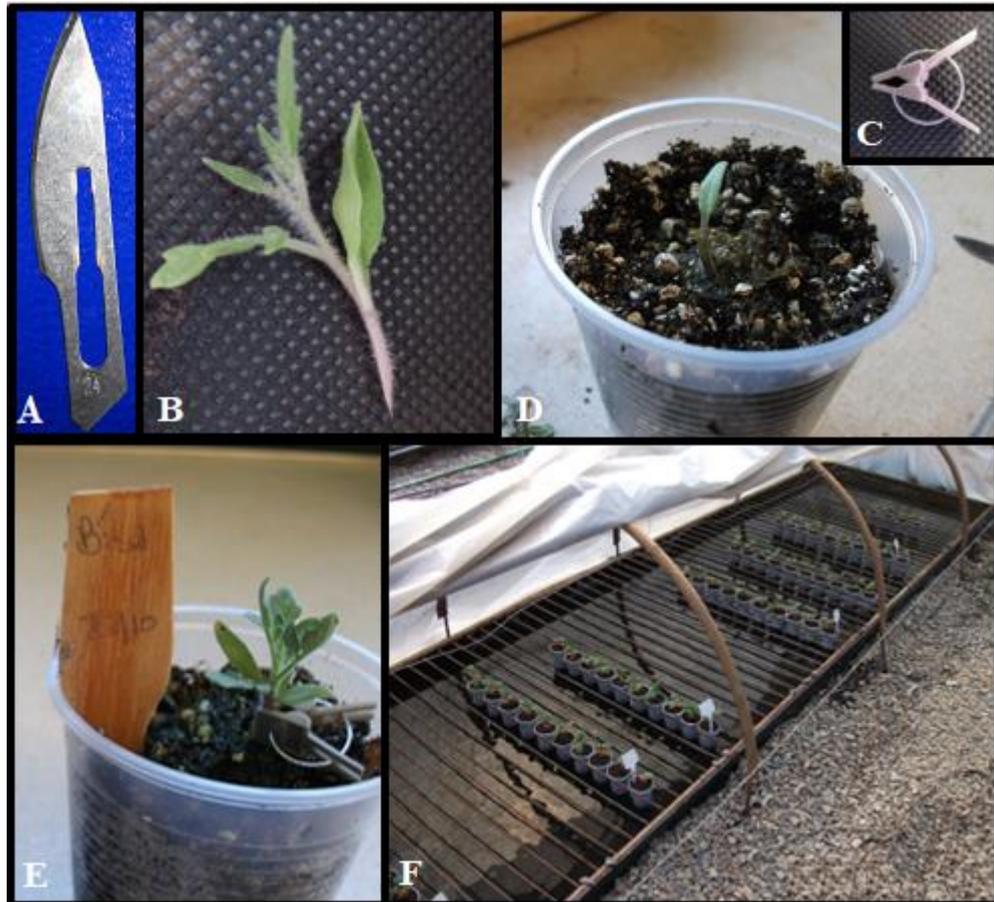


Figura 2. Procedimentos para realização da enxertia por bisel. Lâmina de bisturi (A) utilizada para cortar o enxerto (B) e o porta-enxerto (D) os quais foram unidos com auxílio de grampos de enxertia específicos para solanáceas (C e E). Detalhe da câmara úmida utilizada para acondicionar as plantas enxertadas (F).

### 3.2. Déficit hídrico

Todas as plantas foram diariamente irrigadas até o início do déficit hídrico, 37 DAS. A fim de induzir o déficit hídrico, a irrigação foi suspensa em parte das plantas por um período de sete dias. Plantas-controle foram irrigadas continuamente. Depois de sete dias nas respectivas condições (irrigada e déficit hídrico), as plantas (45 DAS) foram coletadas para a realização das análises como descrito abaixo.

### 3.3. Crescimento

A altura das plantas foi determinada usando uma régua graduada. A área foliar total foi obtida através da digitalização das folhas e subsequente análise das imagens

através do software Quant (VALE; FERNANDES FILHO; LIBERATO, 2003), enquanto a área radicular foi medida através do sistema de análise Delta-T Devices Ltd. Para tal, o sistema radicular de cada planta 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 digitalizador Hewlett Packard modelo 125C. A imagem de cada sistema radicular foi analisada pelo software Delta-T Scan para obtenção dos dados. A massa fresca (MF) tanto da parte aérea como das raízes foi determinada em balança analítica (Denver Instrument Company AA-200) com precisão de 0,0001 g. Em seguida, o material foi mantido em saco de papel e levado à estufa com circulação forçada de ar a 60 °C por 72 horas e, em seguida, determinada a massa seca (MS) da parte aérea e das raízes utilizando-se balança analítica (Denver Instrument Company AA-200) com precisão de 0,0001 g.

#### **3.4. Teores de clorofilas e carotenoides**

O conteúdo dos pigmentos fotossintetizantes foi determinado através do método de Lichtenthaler (1987). Para isso, com o auxílio de furador foram retirados discos foliares de folíolos da terceira folha completamente expandida e colocados em tubos de 2 mL contendo acetona (80%). Posteriormente, em condições de penumbra, os tubos permaneceram 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: Clorofila a – 661,6 nm; Clorofila b – 644,8 nm e Carotenoides (caroteno (c) + xantofilas (x)) – 470 nm, e para o cálculo da concentração de clorofila e carotenoides foram utilizadas as seguintes fórmulas (LICHTENTHALER, 1987):  $C_a = 11,24 A_{662} - 2,04 A_{645}$ ;  $C_b = 20,13 A_{645} - 4,19 A_{662}$ ;  $C_a + b = 7,05 A_{662} + 18,09 A_{645}$  e  $C_c + x = (1000 A_{470} - 1,90 C_a - 63,14 C_b) / 214$ . O conteúdo de clorofilas e carotenoides dos tecidos é expresso em  $\mu\text{g}$  do pigmento pela área do disco foliar ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ ).

### **3.5. Estresse oxidativo**

Raízes e folhas foram coletadas e imediatamente conservadas em nitrogênio líquido. Posteriormente, o material vegetal foi armazenado em temperatura de -80 °C para quantificação da peroxidação lipídica, expresso como malondialdeído (MDA), peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e da atividade das peroxidases totais.

#### **3.5.1. Peroxidação lipídica**

A peroxidação lipídica foi determinada por meio do teste do ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) 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 ácido tricloroacético 0,1% (TCA) juntamente com 20% de polivinilpirrolidona, em banho de gelo. Após a perfeita homogeneização, foram transferidas para tubos e centrifugadas a 10.000 g por 5 minutos. Do sobrenadante, foi retirado 250 µL ao qual foi adicionado 1 mL de TCA 20% e TBA 0,5%, a reação foi realizada em triplicatas. A mistura foi colocada em banho seco por 30 minutos, a 95 °C e resfriada em gelo, na sequência. As amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 10.000 g. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 535 e 600 nm. A quantidade de MDA foi expressa em nmol g<sup>-1</sup> de MF.

#### **3.5.2. Peróxido de hidrogênio**

O conteúdo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi determinado através da reação com iodeto de potássio (KI), segundo Alexieva et al. (2001). As amostras frescas foram maceradas com 1 mL de TCA 0,1% e acrescidas de 20% de polivinilpirrolidona, em banho de gelo. Após a perfeita homogeneização, foram transferidas para tubos e centrifugadas a 10.000 g por 15 minutos a 4 °C. Do sobrenadante, foram retirados 200 µL aos quais foram adicionados 200 µL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) e 800 µL de solução 1 M de KI, sendo a reação realizada em triplicatas. O branco consistiu na mesma mistura descrita acima, porém, ao invés do sobrenadante da amostra,

colocou-se 200  $\mu\text{L}$  de TCA 0,1%. 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  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi expressa em  $\mu\text{mol g}^{-1}$  de MF.

### 3.5.3. Peroxidases totais (POD EC 1.11.1.7)

As amostras de folhas e raízes, aproximadamente 500 mg foram maceradas com nitrogênio líquido e homogeneizadas com 5 mL de tampão fosfato de potássio (pH 6,7) e 20% de polivinilpirrolidona, em banho de gelo. Em seguida, o homogeneizado foi centrifugado a 10.000 g por 20 minutos a 4 °C. O sobrenadante obtido de cada amostra foi coletado para determinação da atividade enzimática.

A atividade das PODs foi determinada de acordo com Lima et al. (1999). O sistema de reação, em triplicatas, foi composto de 1 mL de extrato enzimático; 0,5 mL de solução de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30%) e 0,5 mL de solução contendo fenol e aminoantipirina, totalizando volume de 2,0 mL. A reação foi conduzida em banho-maria a 30 °C por 5 minutos, a reação foi interrompida adicionando-se 2 mL de álcool etílico absoluto. A formação de purpurogalina resultante da reação foi medida em espectrofotômetro a 505 nm, e seu coeficiente de extinção molar ( $2,5 \text{ mmol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) foi usado para calcular a atividade específica da enzima, expressa em  $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2$  degradado  $\text{min}^{-1}$ .

### 3.6. Análise da expressão gênica por PCR em Tempo Real (qPCR)

Análise da expressão dos genes *SIDREB2* (Solyc12g008350) e *SIDELLA* (Solyc11g011260) foi realizada por qPCR relativa. Foram utilizados os primers: *SIDREB2-F* [5'-GCA AGA GGA CTT CCA CTT CT-3'], *SIDREB2-R* [5'-GCC ATG TTG CCA ATG CAC CAA-3'], *SIDELLA-F* [5'-TCC TCA ACC TCC GGT GAA CAA-3'] e *SIDELLA-R* [5'-CGC ATT TGA ACC CAG ATG AAC C-3'] para os genes alvo; *actina-F* [5'-GGG ATG ATA TGG AGA AGA TAT GG-3'] e *actina-R* [5'-AAG CAC AGC CTG GAT AGC-3'] para o controle endógeno que serviu como padrão normalizador da análise.

O RNA foi extraído em solução Trizol® (Thermo Fisher Scientific) seguindo as recomendações do fabricante. Em 100 mg de tecido foliar, previamente macerado

com nitrogênio líquido, foi adicionado 1 mL de Trizol, homogeneizado em vortex e incubado por 5 minutos em temperatura ambiente. Os tubos foram centrifugados a 13.000 g por 15 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi transferido a outro tubo e adicionado 200 µL de clorofórmio, sendo agitado vigorosamente por 15 segundos e incubados novamente em temperatura ambiente por 3 minutos. Em seguida, os tubos foram centrifugados a 13.000 g por 15 minutos a 4 °C. A mistura separou-se em uma fase vermelha ao fundo tubo, que é a fase fenol/clorofórmio, e uma fase aquosa acima, que continha o RNA, com volume de aproximadamente 60% do volume de Trizol utilizado no início. A fase aquosa foi transferida para um novo tubo e o RNA foi precipitado utilizando 250 µL de isopropanol gelado e 250 µL de citrato de sódio a 0,8 M com cloreto de sódio a 1,2 M, preparados em água tratada com DEPC 0,01%. As amostras foram misturadas e incubadas à temperatura ambiente por 10 minutos. Os tubos foram novamente centrifugados a 13.000 g por 10 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi removido e o “pellet” lavado com 1 mL de etanol gelado a 75%, sendo posteriormente centrifugado a 13.000 g por 5 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi descartado e o “pellet” de RNA seco ao ar por 5-15 minutos. Então, o RNA foi ressuspenso em água tratada com DEPC 0,01% e incubado por 10 minutos a 55 °C.

Todas as amostras de RNA extraídas foram quantificadas em espectrofotômetro. Para isso, utilizou-se 1 µL do RNA extraído e ressuspenso em água. Os valores obtidos em  $\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$ , e as razões  $A_{260}/A_{280\text{nm}}$  e  $A_{260}/A_{230\text{nm}}$  foram anotadas para verificar a qualidade do RNA extraído.

As amostras de RNA tratadas com DNase I foram então retrotranscritas, de acordo com Tomasi et al. (2012). O kit utilizado para esse procedimento foi da Sinapse Biotecnologia, seguindo o protocolo do fabricante. O protocolo consiste em adicionar 10 µL do RNA tratado com a DNase I (1 µg) em 2 µL de tampão RT 10X, 2 µL de Random Primers RT 10X, 0,8 µL de dNTP Mix (100 mM), 1 µL de enzima MultiScribe™ Reverse Transcriptase (50 U  $\mu\text{L}^{-1}$ ), completando o volume final com água DEPC 0,01% para 20 µL. Os tubos foram colocados em um termociclador seguindo os passos recomendados pelo fabricante: 10 minutos a 25 °C, 120 minutos a 37 °C, 5 minutos a 85 °C e indefinidamente a 4 °C. Os tubos foram congelados em freezer - 20 °C até o momento das reações de qPCR.

O sistema SYBR Green foi usado como repórter nas análises de qPCR. Para quantificação relativa foram utilizados 1 µl de cDNA (1 µg µL<sup>-1</sup>), 0,3 µg de cada primer (Forward e Reverse), 6 µL de FastStart SYBR Green Master (Roche Diagnostica Brasil Ltda) e água isenta de nucleases q.s.p. 2,4 µL. O experimento de quantificação relativa, em duas réplicas técnicas, foi executado em placas ópticas e conduzido em um aparelho ABI 7500 (Applied Biosystems). A análise dos dados gerados e a quantificação relativa dos níveis de expressão dos genes foram executadas através do método comparativo do Ct (“threshold cycle”), calculando automaticamente a variação na expressão do gene alvo em relação ao controle endógeno. Este método baseia-se no algoritmo 2-ΔΔCt (“ABI Prism 7700 Sequence detection System User Bulletin #2”). O ΔCt consiste no valor do Ct do alvo menos o valor do Ct do controle endógeno. De posse dos valores de ΔCt, calcula-se o ΔΔCt, que é o ΔCt da amostra a ser analisada (situações experimentais) menos o ΔCt do calibrador (amostra de referência) (LIVAK; SCHMITTGEN, 2001).

### **3.7. Temperatura, conteúdo relativo de água e potencial hídrico da folha**

As leituras da temperatura foliar ( $T_{\text{folha}}$ ) foram realizadas às 13 h do último dia de condução do experimento utilizando termômetro de infravermelho (Fluke 59 Max), no folíolo terminal da terceira folha completamente expandida contada a partir do ápice. O potencial hídrico da folha ( $\Psi_{\text{folha}}$ ) foi determinado entre 7 e 9 h utilizando a terceira folha completamente expandida acondicionada no interior de uma câmara de pressão modelo m670 (Pms Instrument Co., Albany, USA) (SCHOLANDER et al., 1964). O conteúdo relativo de água (CRA) foi obtido usando discos foliares, aproximadamente 200 mg de MF. Para tanto, após a coleta e pesagem, os discos foliares foram acondicionados em placas de petri acrescidas de água deionizada, e mantidas na ausência de luminosidade por cinco horas. Após esse período, foi retirado o excesso de água superficial dos discos utilizando-se papel toalha e foram pesados para a obtenção da massa túrgida (MT). Sequencialmente, a massa seca (MS) dos discos foi obtida através da secagem em estufa de circulação forçada a 60 °C, por um período de 48 h. Assim, o CRA foi determinado pela seguinte fórmula:  $(MF-MS)/(MT-MS) \times 100$  (TURNER, 1981).

### 3.8. Estômatos

O número de estômatos e a porcentagem de estômatos abertos foram obtidos a partir da terceira folha das plantas de cada tratamento usando “super-cola” (Super Bonder®) para obter impressões da face abaxial da epiderme em lâminas de vidro para microscópio e contados utilizando microscópio óptico (MARTIN; STIMART, 2005).

### 3.9. Trocas gasosas

A assimilação de carbono ( $A$ ) e a transpiração foliar ( $E$ ) foram mensuradas utilizando-se sistema de trocas gasosas (LCpro, Analytical Development Co., Hoddeston, U.K.), auxiliado por fonte de luz led com intensidade luminosa de  $1.400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Além disso, a condutância estomática ( $g_s$ ) foi medida usando porômetro de difusão (Model AP4; Delta-T Devices Ltd.). Essas medidas foram tomadas da face abaxial da terceira folha completamente expandida a partir do ápice, entre 8 e 11 h. Também foi calculada a eficiência intrínseca do uso de água ( $EUA_i$ ), dividindo  $A$  por  $g_s$  (LARCHER, 2003).

### 3.10. Hormônios vegetais

Amostras de caule, porção inferior e superior, e folhas, aproximadamente 50 mg, foram maceradas em nitrogênio líquido com adição de 1,8 mL da solução de extração (80% de metanol, 1% de ácido acético e 19% de água destilada) e acondicionadas em tubos de 2 mL. Posteriormente, foram adicionados os padrões internos dos respectivos hormônios a serem quantificados [30  $\mu\text{L}$  de uma mistura contendo os hormônios deuterados GAs, ABA, AUX, ácido jasmônico (JA) e ácido salicílico (SA)]. Essa mistura permaneceu sob agitação por 1 h a 4 °C, após agitação foram centrifugadas a 10.000 g por 4 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi retirado e acondicionado em novo tubo de 2 mL e mantido em repouso por 24 h a -20 °C para precipitação das proteínas, então as amostras foram novamente centrifugadas a 10.000 g por 4 minutos a 4 °C e o sobrenadante transferido para tubos de vidro de 5

mL, as amostras foram concentradas em rotovapor por 3 h. As amostras concentradas foram completadas para 1 mL com 1% de ácido acético, após rápida agitação a mistura foi filtrada em colunas Oasis HLB® (fase reversa). Os hormônios foram recuperados aplicando 1 mL de metanol 95%. Novamente as amostras foram secas em rotovapor (Thermo Scientific®) e posteriormente dissolvidas com 150 µL de 5% acetilnitrilo + 1% de ácido acético. Finalmente as leituras foram feitas em espectrômetro de massas de alta resolução acoplado a “Ultra-high Performance Liquid Chromatography” (UHPLC) (Thermo Scientific®) (SEO; JIKUMARU; KAMIYA, 2011).

### 3.11. Folhas destacadas

A perda de água das folhas destacadas foi determinada utilizando a terceira folha completamente expandida de quatro plantas (45 DAS). Para tanto, o pecíolo de cada folha foi inserido em tubos para centrífuga de 2 mL, contendo solução de seiva artificial do xilema (XA), constituída de 3 mm KNO<sub>3</sub>, 1 mm CaCl<sub>2</sub>, 1 mm KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 mm K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,1 mm MnSO<sub>4</sub> e 0,1 mm MgSO<sub>4</sub> (CARVALHO et al., 2011a). As folhas destacadas acondicionadas em tubos contendo XA foram mantidas "overnight" à temperatura ambiente. A partir da primeira avaliação realizada às 6 h, as folhas foram submetidas ao tratamento hormonal e ao estresse osmótico (-0,6 MPa) por meio da adição à XA de 10 µM de ABA e PEG 6000 (polietilenoglicol), respectivamente, seguindo pesagens em intervalos de 2 h até às 18 h. Os valores de perda de água foram obtidos a partir da soma da massa de água perdida a cada intervalo.

### 3.12. Análise estatística

Empregou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 × 2; constituído por quatro combinações de enxertia (MT/MT, *pro/pro*, MT/*pro* e *pro*/MT) e duas condições (irrigada e déficit hídrico), e três repetições. Todos os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $P \leq 0.05$ ), utilizando o programa AgroEstat ([www.agroestat.com](http://www.agroestat.com)).

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Crescimento

Em condição irrigada, todas as plantas enxertadas de tomateiro (45 DAS) exibiram crescimento similar, exceto plantas de *pro*/MT que apresentaram menor crescimento em comparação à *pro/pro* (Figura 3). Contudo, plantas de *pro* enxertadas sobre MT apresentaram menor área foliar, massa fresca e seca da parte aérea comparadas a plantas autoenxertadas de *pro/pro* e menor área radicular, massa fresca e seca de raízes em relação à *pro/pro* e MT/MT (Figuras 3A, 3C e 3D). Quanto à altura das plantas, embora esta não tenha sido afetada pela condição de crescimento, verificou-se que o uso de *pro* como enxerto proporcionou maior altura das plantas, entretanto, esta foi dependente também do porta-enxerto, uma vez que plantas enxertadas sobre MT exibiram altura intermediária entre *pro/pro* e MT/MT (Figura 3B). Sob condição de estresse, apenas plantas autoenxertadas de MT/MT demonstraram redução do crescimento devido ao déficit hídrico, baseado nos menores valores de área foliar e radicular, massa fresca e seca da parte aérea e das raízes. Além disso, plantas autoenxertadas de MT/MT, sob déficit hídrico, proporcionaram significativamente menor crescimento quando comparado a plantas de *pro/pro*, especialmente em relação à parte aérea (Figuras 3A, 3C e 3D).

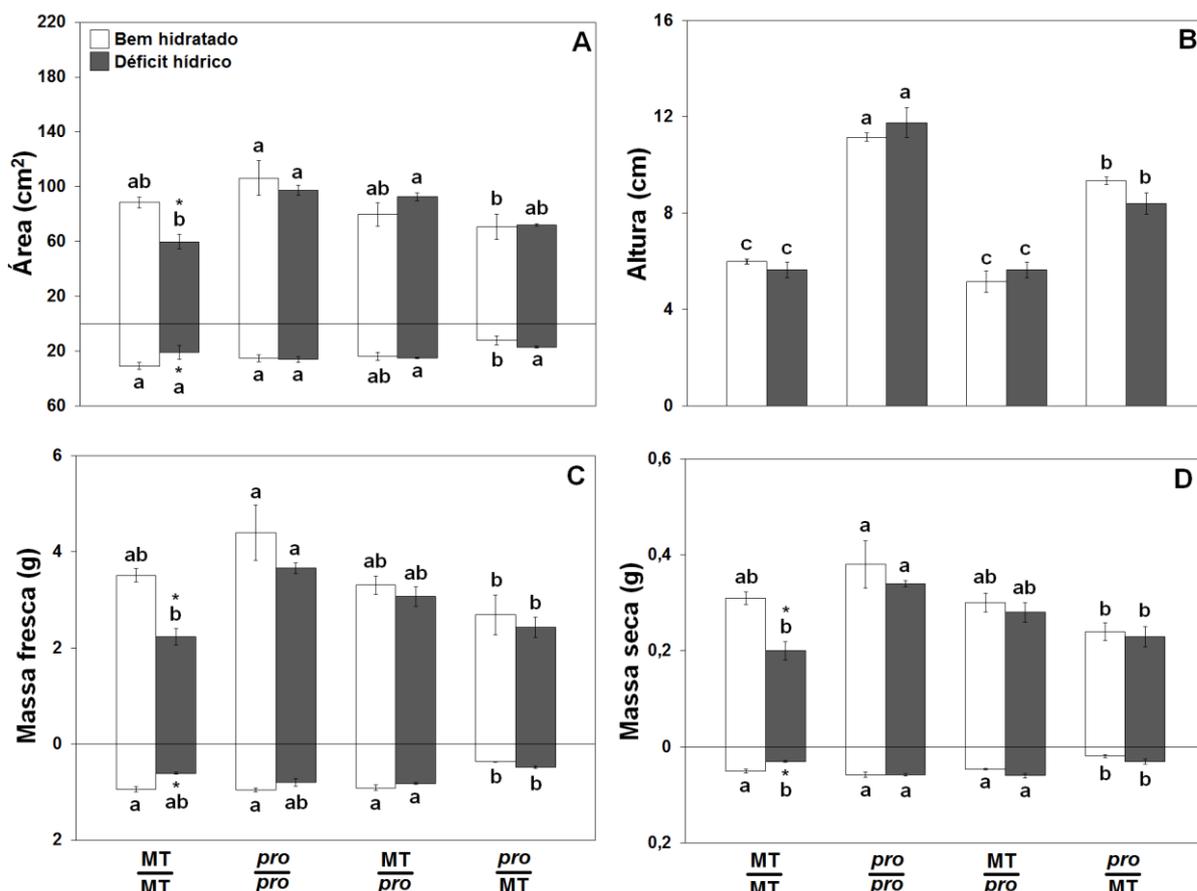


Figura 3. Análise de crescimento de plantas enxertadas de Micro-Tom (MT) e *procera* (*pro*) cultivadas em condição bem hidratada ou déficit hídrico. A) no eixo da ordenada, valores acima e abaixo de 0 correspondem a área foliar e radicular, respectivamente; B) altura de plantas; C) no eixo da ordenada, valores acima e abaixo de 0 correspondem a massa fresca da parte aérea e de raízes, respectivamente; D) no eixo da ordenada, valores acima e abaixo de 0 correspondem a massa seca da parte aérea e de raízes, respectivamente. Os valores correspondem às médias de cada tratamento (n= 3) seguidas do erro padrão. As letras sobre as barras representam as diferenças entre as combinações de enxertia em cada condição, e os asteriscos as diferenças entre condições em uma mesma combinação de enxertia, calculadas por meio do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

#### 4.2. Teores de clorofilas e carotenoides

O conteúdo de clorofilas e carotenoides não foi afetado pelo déficit hídrico em relação ao controle irrigado (Figuras 4A e 4B). No entanto, observou-se menores conteúdos de carotenoides nos enxertos de MT (*i.e.* MT/MT e MT/*pro*) comparado à *pro/pro*, sob déficit hídrico (Figura 4B).

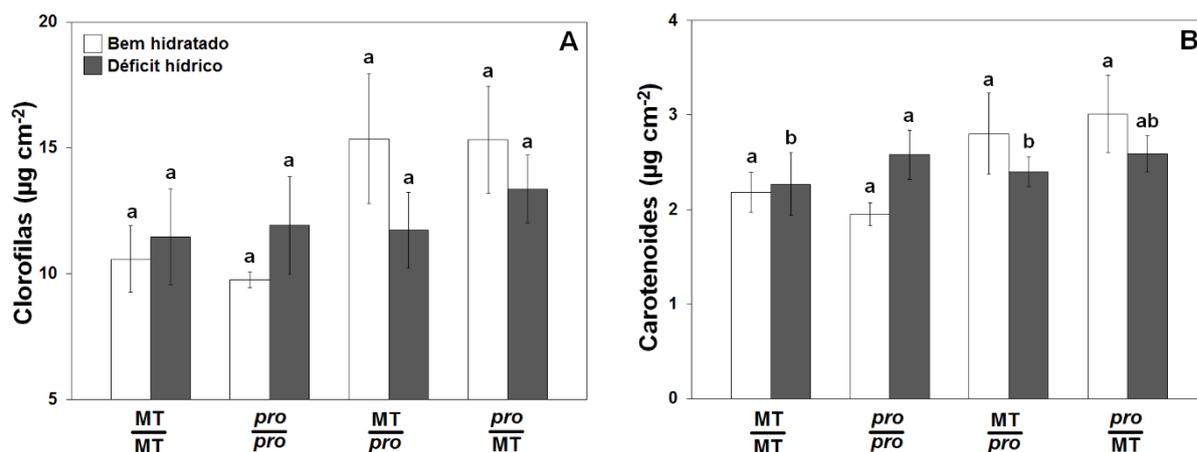


Figura 4. Teores de clorofilas e carotenoides de plantas enxertadas de Micro-Tom (MT) e *procera* (*pro*) cultivadas em condição bem hidratada ou déficit hídrico. A) conteúdo de clorofilas totais; B) conteúdo de carotenoides. Os valores correspondem às médias de cada tratamento ( $n = 3$ ) seguidas do erro padrão. As letras sobre as barras representam as diferenças entre as combinações de enxertia em cada condição, e os asteriscos as diferenças entre condições em uma mesma combinação de enxertia, calculadas por meio do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

#### 4.3. Conteúdo de MDA e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Em condição irrigada, a peroxidação lipídica, expressado como conteúdo de MDA, pôde-se observar maiores níveis de MDA na parte aérea de plantas de *pro* enxertadas sobre MT, comparado às demais combinações de enxertia (Figura 5A). Além disso, o déficit hídrico induziu forte aumento do acúmulo de MDA tanto na parte aérea como nas raízes, de maneira independente do genótipo (Figura 5A). Todavia, assim como observado na parte aérea, enxertos de *pro* enxertados sobre MT exibiram os maiores de níveis de MDA no sistema radicular, sob déficit hídrico, não diferindo apenas de MT/*pro* (Figura 5A). Ao contrário do MDA, não se verificou diferença no conteúdo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na parte aérea e nas raízes de plantas irrigadas (Figura 5B). Por outro lado, o uso de *pro* como porta-enxerto resultou no acúmulo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na parte aérea em resposta ao déficit hídrico, independentemente do genótipo do enxerto (*i.e.* *pro/pro* e MT/*pro*) (Figura 5B). Entretanto, no sistema radicular, não se observou influência do estresse sobre o acúmulo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, exceto MT/*pro*, o qual exibiu redução do conteúdo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sob déficit hídrico (Figura 5B).

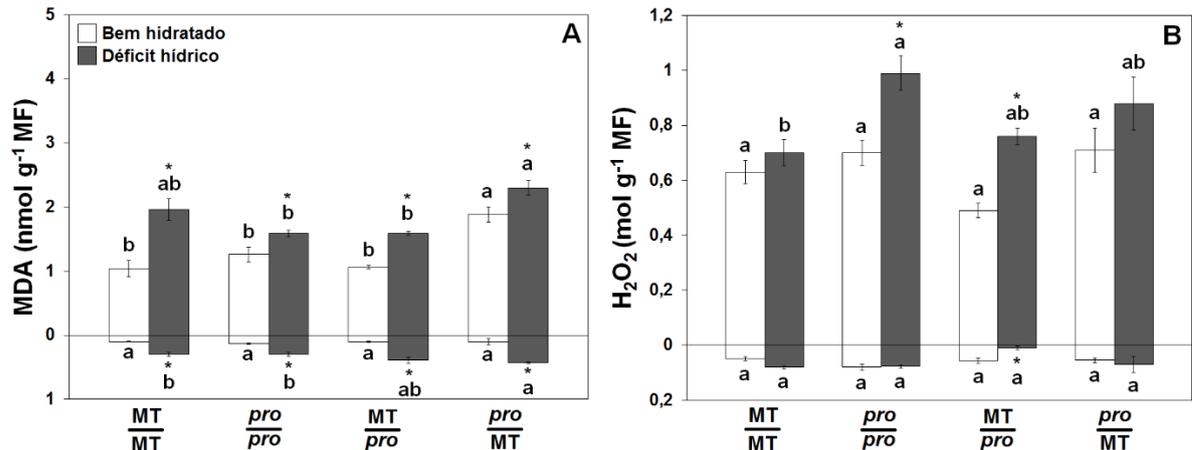


Figura 5. Análise do estresse oxidativo de plantas enxertadas de Micro-Tom (MT) e *procera* (*pro*) cultivadas em condição bem hidratada ou déficit hídrico. A) no eixo da ordenada, valores acima e abaixo de 0 correspondem ao conteúdo de malondialdeído (MDA) das folhas e raízes, respectivamente; B) no eixo da ordenada, valores acima e abaixo de 0 correspondem ao conteúdo de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) das folhas e raízes, respectivamente. Os valores correspondem às médias de cada tratamento (n= 3), sendo cada repetição composta por três plantas, seguidas do erro padrão. As letras sobre as barras representam as diferenças entre as combinações de enxertia em cada condição, e os asteriscos as diferenças entre condições em uma mesma combinação de enxertia, calculadas por meio do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

#### 4.4. Peroxidases totais

A atividade foliar das POD não foi afetada pelas combinações de enxertia e pela condição de cultivo (Figura 6). Por outro lado, verificou-se grande variabilidade da atividade das POD nas raízes, sendo que, em condição irrigada, a maior e a menor atividade das POD foi observada em plantas autoenxertadas de *pro/pro* e MT/MT, respectivamente (Figura 6). Sob déficit hídrico, houve inibição da atividade das POD nas raízes de plantas de *pro/pro* e *pro/MT*, mas principalmente em *pro/MT* (Figura 6).

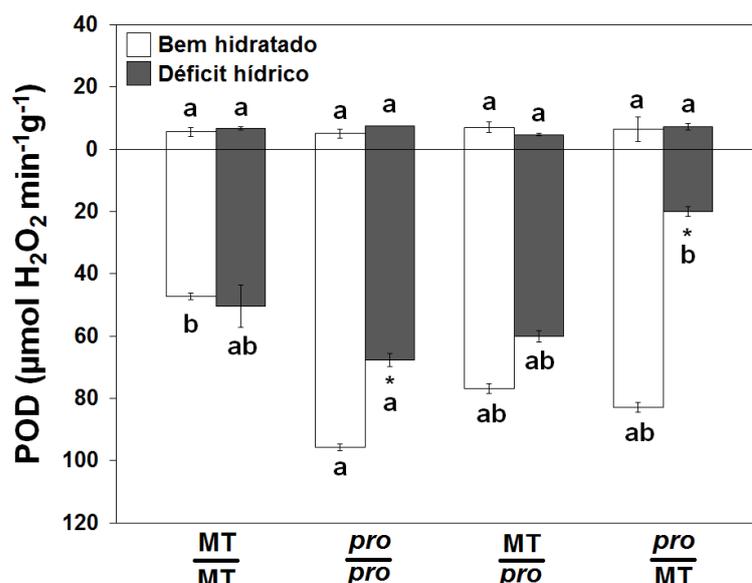


Figura 6. Análise bioquímica de plantas enxertadas de Micro-Tom (MT) e *procera* (*pro*) cultivadas em condição bem hidratada ou déficit hídrico. No eixo da ordenada, valores acima e abaixo de 0 correspondem a atividade das peroxidases (POD) nas folhas e raízes, respectivamente. Os valores correspondem às médias de cada tratamento (n= 3), sendo cada repetição composta por três plantas, seguidas do erro padrão. As letras sobre as barras representam as diferenças entre as combinações de enxertia em cada condição, e os asteriscos as diferenças entre condições em uma mesma combinação de enxertia, calculadas por meio do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

#### 4.5. Análise da expressão gênica por qPCR

Em condição irrigada, a expressão relativa do gene *SIDREB2* foi semelhante em todas as combinações de enxertia (Figura 7A). Além disso, a expressão de *SIDREB2* foi positivamente regulada pela exposição ao déficit hídrico, sendo os menores níveis de expressão observados em plantas de MT enxertadas sobre *pro* (Figura 7A). A expressão de *SIDELLA* foi dependente da combinação de enxertia (Figura 7B). Plantas autoenxertadas de *pro* exibiram as maiores expressões de *SIDELLA* em comparação com MT/MT e MT/*pro* em condição irrigada, ao passo que plantas de *pro*/MT apresentaram expressão intermediária de *SIDELLA* (Figura 7B). Sob déficit hídrico, observou-se inibição da expressão de *SIDELLA* apenas em enxertos de *pro* (i.e. *pro/pro* e *pro*/MT), mas ainda apresentavam maior expressão de *SIDELLA* comparados à MT/MT e MT/*pro* (Figura 7B).

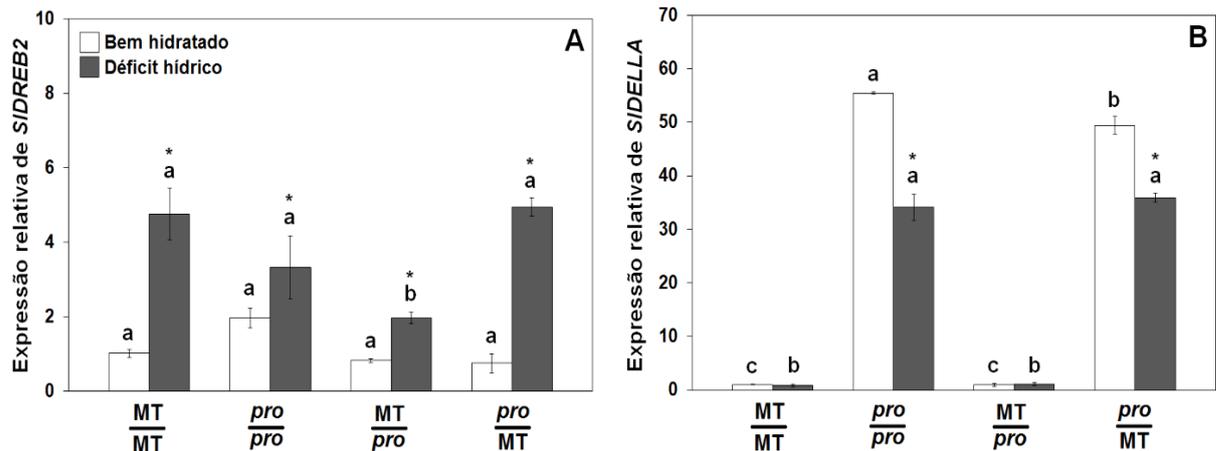


Figura 7. Análise da expressão gênica em folhas de plantas enxertadas de Micro-Tom (MT) e *procera* (*pro*) cultivadas em condição bem hidratada ou déficit hídrico. A) expressão relativa do gene *SIDREB2*; B) expressão relativa do gene *SIDELLA*. Os valores correspondem às médias de cada tratamento (n= 3), sendo cada repetição composta por três plantas, seguidas do erro padrão. As letras sobre as barras representam as diferenças entre as combinações de enxertia em cada condição, e os asteriscos as diferenças entre condições em uma mesma combinação de enxertia, calculadas por meio do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

#### 4.6. Temperatura, conteúdo relativo de água e potencial hídrico da folha

As plantas apresentaram  $T_{\text{folha}}$  semelhante, sob condição irrigada (Figura 8A). No entanto, em condição de déficit hídrico, todas as combinações de enxertia exibiram intenso aumento da  $T_{\text{folha}}$  (Figura 8A). Assim como a  $T_{\text{folha}}$ , o CRA foi semelhante em plantas irrigadas, demonstrando não haver influência da enxertia (Figura 8B). Além disso, sob déficit hídrico, o CRA foi severamente reduzido, excetuando-se MT/MT (Figura 8B). O  $\Psi_{\text{folha}}$  também não variou entre os tratamentos, sob condição irrigada (Figura 8C). Entretanto, o  $\Psi_{\text{folha}}$  foi fortemente reduzido sob déficit hídrico, sendo esta redução mais pronunciada em plantas de *pro*/MT (Figura 8C).

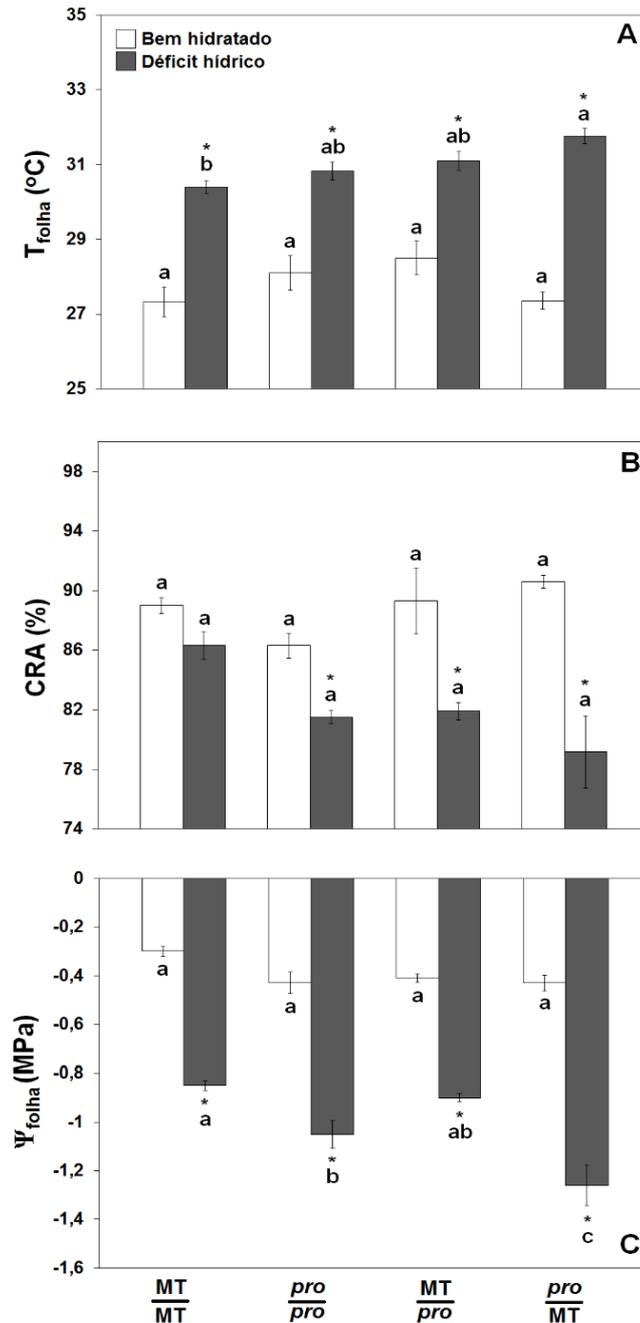


Figura 8. Análise das relações hídricas de plantas enxertadas de Micro-Tom (MT) e *procera* (*pro*) cultivadas em condição bem hidratada ou déficit hídrico. A) temperatura foliar ( $T_{folha}$ ); B) conteúdo relativo de água foliar (CRA); C) potencial hídrico das folhas ( $\Psi_{folha}$ ). Os valores correspondem às médias de cada tratamento ( $n=3$ ) seguidas do erro padrão. As letras sobre as barras representam as diferenças entre as combinações de enxertia em cada condição, e os asteriscos as diferenças entre condições em uma mesma combinação de enxertia, calculadas por meio do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

#### 4.7. Densidade e porcentagem de estômatos abertos

A densidade estomática, sob condição controle, foi maior em plantas de *pro/pro* comparado à *MT/MT*, ao passo que *MT/pro* e *pro/MT* exibiram valores intermediários de densidade estomática (Figura 9A). Sob déficit hídrico, observou-se maior densidade de estômatos em plantas de *MT/MT* e *MT/pro* (Figura 9A). Com relação à abertura estomática, não se verificou diferença entre as plantas em cada condição de crescimento (Figura 9B), contudo, o déficit hídrico causou severa redução da abertura estomática em todos os genótipos (Figura 9B).

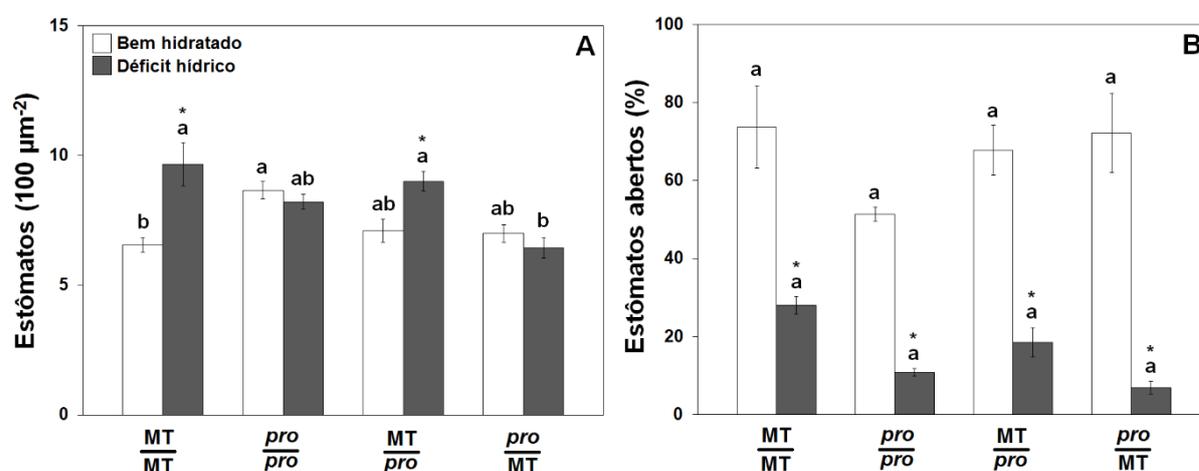


Figura 9. Análise morfológica de plantas enxertadas de Micro-Tom (*MT*) e *procera* (*pro*) cultivadas em condição bem hidratada ou déficit hídrico. A) densidade estomática; B) porcentagem de estômatos abertos. Os valores correspondem às médias de cada tratamento (n= 3) seguidas do erro padrão. As letras sobre as barras representam as diferenças entre as combinações de enxertia em cada condição, e os asteriscos as diferenças entre condições em uma mesma combinação de enxertia, calculadas por meio do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

#### 4.8. Trocas gasosas

Foi observada a existência de variação da *gs* entre as plantas, sob condição irrigada, sendo os maiores valores de *gs* observados em plantas de *MT/pro* (Figura 10A). Por outro lado, o déficit hídrico induziu forte redução da *gs* em todas as combinações de plantas enxertadas comparadas às respectivas combinações irrigadas. Além disso, plantas enxertadas sobre porta-enxertos de *pro* (*i.e.* *pro/pro* e

MT/*pro*) exibiram reduções mais pronunciadas de *gs* em função do estresse (Figura 10A). Por exemplo, sob condição de déficit hídrico, observou-se que folhas de plantas enxertadas sobre porta-enxerto de MT (*i.e.* MT/MT e *pro*/MT), mas principalmente MT/MT, apresentaram aspecto de murcha mais severo quando comparado às plantas enxertadas sobre *pro* (*i.e.* *pro/pro* e MT/*pro*) (Figura 11).

As avaliações de *E* demonstraram que, plantas irrigadas apresentavam valores similares de *E*, independente da combinação de enxertia. No entanto, sob déficit hídrico, plantas enxertadas exibiram redução de *E*, exceto plantas autoenxertadas de MT/MT (Figura 10B). Ademais, plantas de *pro/pro* proporcionaram as maiores reduções de *E* em decorrência do déficit hídrico (Figura 10B). Quanto à *A*, todas as combinações de enxertia resultaram em valores semelhantes de *A*, sob condição irrigada (Figura 10C). Entretanto, depois de sete dias em condição não irrigada, verificou-se forte redução de *A*, a qual foi maior em plantas de *pro/pro* seguido por MT/*pro* (Figura 10C). A  $EUA_i$  diferiu significativamente entre as plantas irrigadas (Figura 10D). Em condição irrigada, o uso de *pro* como porta-enxerto proporcionou menor  $EUA_i$ , de forma independente do genótipo utilizado como enxerto, mas principalmente com enxertos de MT (*i.e.* MT/*pro*). Por outro lado, o déficit hídrico causou aumento da  $EUA_i$  apenas em plantas enxertadas com *pro* (*i.e.* *pro/pro*, MT/*pro* e *pro*/MT) (Figura 10D). Contudo, não se verificou diferença de  $EUA_i$  entre as plantas enxertadas expostas ao déficit hídrico (Figura 10D).

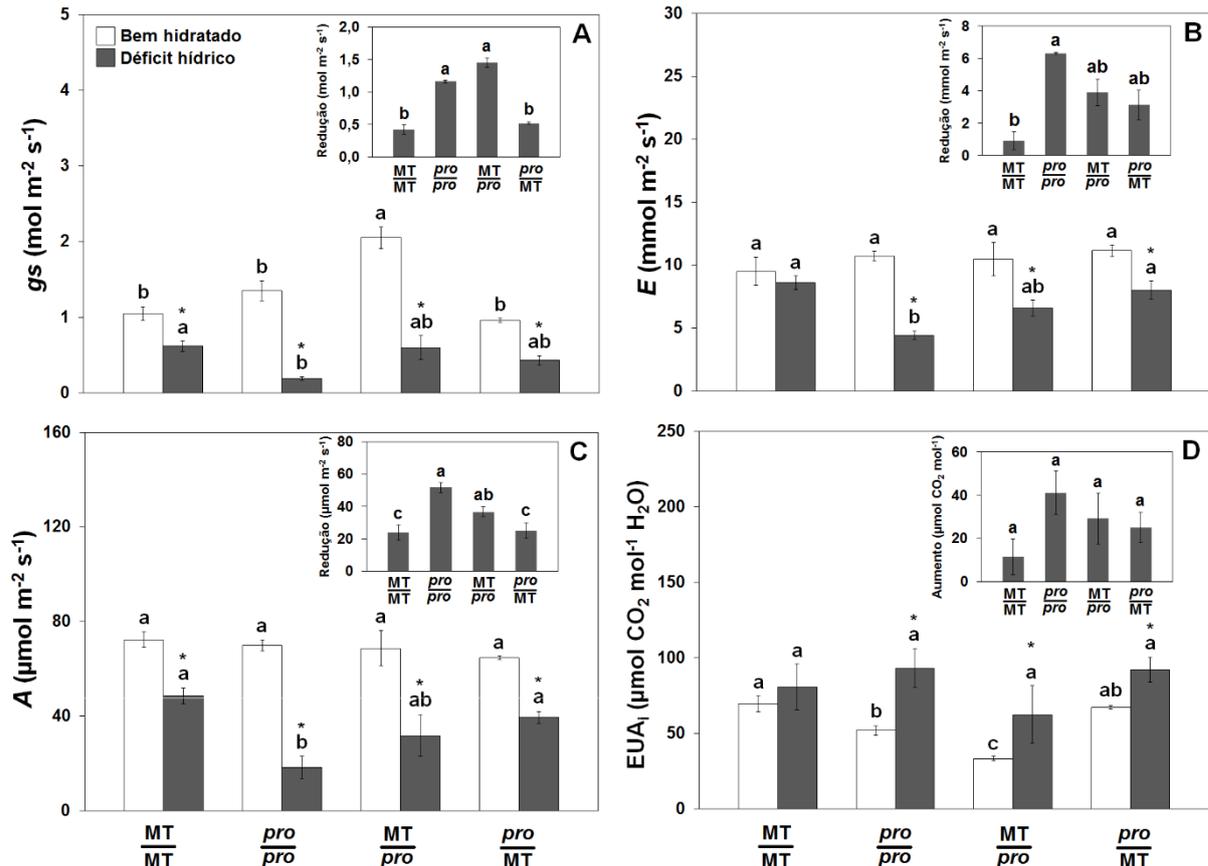


Figura 10. Análise de trocas gasosas de plantas enxertadas de Micro-Tom (MT) e *procera* (*pro*) cultivadas em condição bem hidratada ou déficit hídrico. A) condutância estomática ( $gs$ ); B) taxa transpiratória ( $E$ ); C) assimilação de  $\text{CO}_2$  ( $A$ ); D) eficiência intrínseca de uso da água ( $\text{EUA}_i$ ). Os sub-gráficos dentro de cada gráfico indica a redução de  $gs$ ,  $E$  e  $A$  e o aumento de  $\text{EUA}_i$  em decorrência do déficit hídrico. Os valores correspondem às médias de cada tratamento ( $n=3$ ) seguidas do erro padrão. As letras sobre as barras representam as diferenças entre as combinações de enxertia em cada condição, e os asteriscos as diferenças entre condições em uma mesma combinação de enxertia, calculadas por meio do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

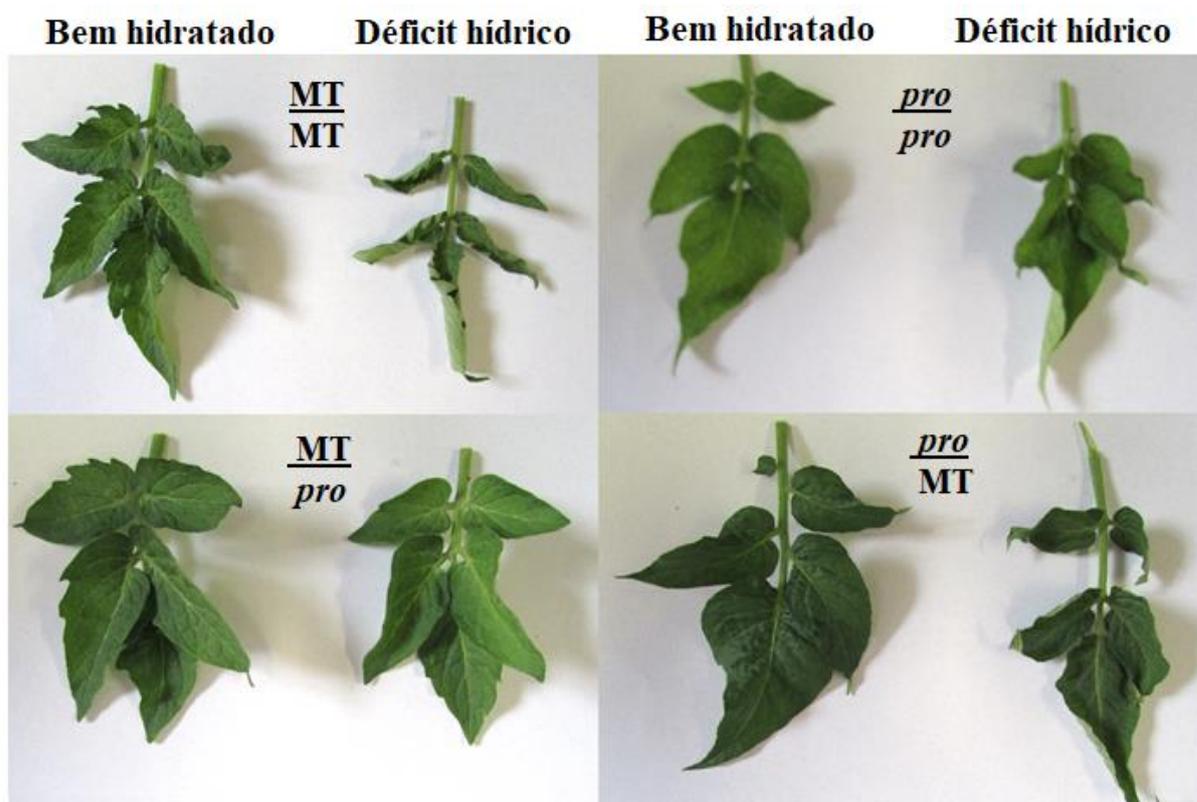


Figura 11. Aspecto das folhas ao término do experimento (45 dias após a sementeira) das respectivas combinações de enxertia (MT/MT, *pro/pro*, MT/*pro* e *pro/MT*) cultivadas em condição irrigada e déficit hídrico. Note que as combinações de enxertia com *pro* apresentam um aspecto mais túrgido do que MT/MT.

#### 4.9. Hormônios vegetais

Os níveis de GA<sub>1</sub> foram semelhantes entre todos os genótipos sob condição irrigada e de déficit hídrico, com exceção à MT/*pro* que, quando irrigado, exibiu valores elevados de GA<sub>1</sub>, mas uma forte redução sob déficit hídrico. Com relação aos níveis de GA<sub>4</sub> foliar de plantas irrigadas, observou-se valores semelhantes entre os tratamentos e, assim como GA<sub>1</sub>, conteúdo elevado de GA<sub>4</sub> em folhas de MT/*pro* (Figura 12B). Em contrapartida, de maneira diferente da GA<sub>1</sub>, o teor de GA<sub>4</sub> foi fortemente inibido pelo déficit hídrico em todas as combinações de enxerto/porta-enxerto (Figura 12B). Sob condição irrigada, as plantas exibiram grande variabilidade dos níveis de GA<sub>12</sub> em folhas de plantas enxertadas (Figura 12C). Os teores de GA<sub>12</sub> em ordem decrescente foram verificados em MT/*pro* > MT/MT > *pro/pro* > *pro/MT* (Figura 12C). O déficit hídrico causou redução dos níveis de GA<sub>12</sub>, exceto em *pro/pro*

que exibiu aumento deste hormônio (Figura 12C). Além disso, o déficit hídrico promoveu forte acúmulo de ABA foliar em todas as combinações de enxertia, no entanto, o uso de *pro* como enxerto (*i.e.* *pro/pro* e *pro/MT*) induziu os maiores níveis de ABA tanto em condição irrigada como em déficit hídrico (Figura 12D).

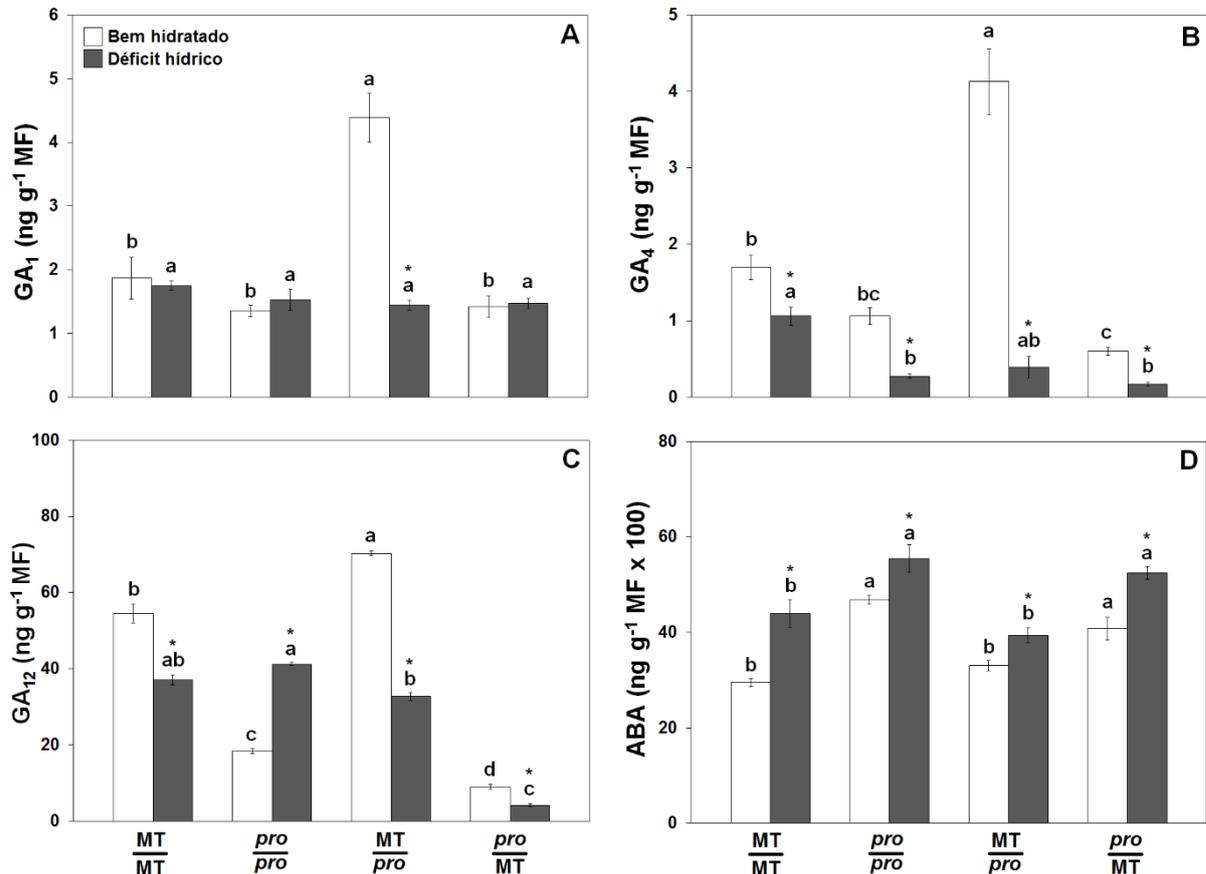


Figura 12. Análise hormonal de folhas de plantas enxertadas de Micro-Tom (MT) e *procera* (*pro*) cultivadas em condição bem hidratada ou déficit hídrico. A) giberelina A<sub>1</sub> (GA<sub>1</sub>); B) GA<sub>4</sub>; C) GA<sub>12</sub>; D) ácido abscísico (ABA). Os valores correspondem às médias de cada tratamento (n= 3), sendo cada repetição composta por três plantas, seguidas do erro padrão. As letras sobre as barras representam as diferenças entre as combinações de enxertia em cada condição, e os asteriscos as diferenças entre condições em uma mesma combinação de enxertia, calculadas por meio do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Com relação ao conteúdo de AUX, pôde-se observar que folhas de *pro/pro* e *MT/pro* exibiram os maiores conteúdos de AUX comparados aos demais tratamentos, sob condição controle (Figura 13A). Além disso, plantas *pro/pro* e *MT/pro*, quando submetidas ao déficit hídrico, sofreram redução dos teores foliares de AUX,

entretanto, apesar da redução, plantas de *pro/pro* mantiveram os maiores valores de AUX (Figura 13A). De maneira similar à AUX, os maiores teores de JA foram observados em plantas de *pro/pro* e *MT/pro*, sob condição irrigada (Figura 13B). Da mesma maneira, o déficit hídrico induziu redução do teor de JA nas folhas tanto de *pro/pro* como de *MT/pro*, no entanto, os valores não diferiram das demais combinações (Figura 13B). Quanto ao teor de SA, verificou-se os maiores valores em plantas de *MT/pro*, sob condição controle (Figura 13C). Com efeito, assim como para auxina e JA, o déficit hídrico causou redução do conteúdo de SA apenas em plantas de *pro/pro* e *MT/pro*, sem, contudo, diferir das demais combinações de enxertia (Figura 13C).

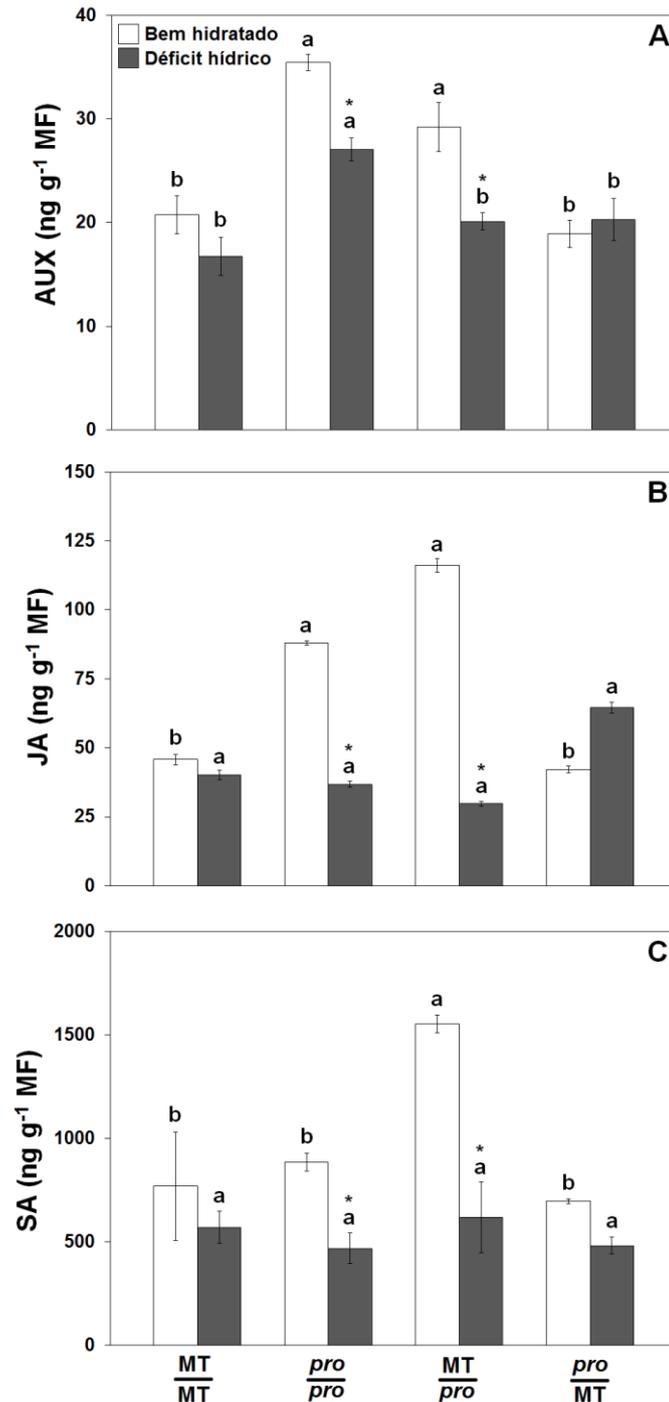


Figura 13. Análise hormonal de folhas de plantas enxertadas de Micro-Tom (MT) e *procera* (*pro*) cultivadas em condição bem hidratada ou déficit hídrico. A) auxina (AUX); B) ácido jasmônico (JA); C) ácido salicílico (SA). Os valores correspondem às médias de cada tratamento (n= 3), sendo cada repetição composta por três plantas, seguidas do erro padrão. As letras sobre as barras representam as diferenças entre as combinações de enxertia em cada condição, e os asteriscos as diferenças entre condições em uma mesma combinação de enxertia, calculadas por meio do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

#### 4.10. Perda de água de folhas destacadas

As folhas destacadas de MT e *pro* apresentaram perda de água semelhante ao longo do período de avaliação (Figura 14). No entanto, quando tratadas com ABA, folhas de *pro* reduziram intensamente a perda de água, quando comparadas a folhas de MT na mesma condição (Figura 14). Além disso, a fim de simular o déficit hídrico, a perda de água de folhas destacadas de MT e *pro* também foi avaliada com a adição de polietilenoglicol (-0,6 MPa). Nesta condição, as folhas exibiram reduzida perda de água, especialmente as folhas de *pro* (Figura 14).

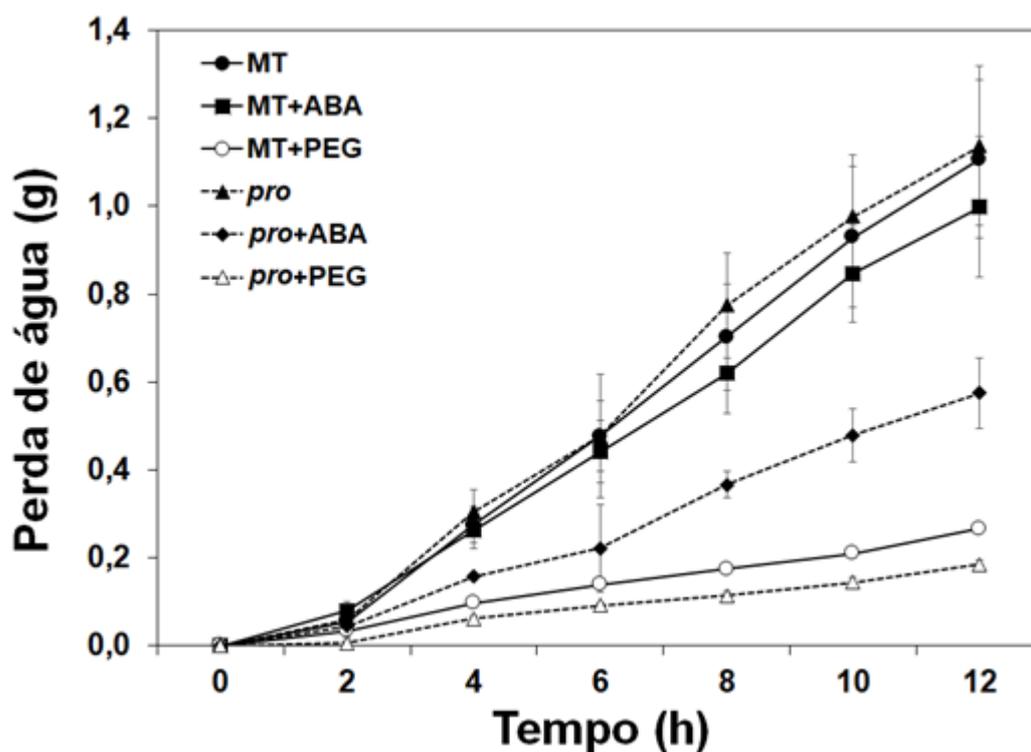


Figura 14. Perda de água em folhas destacadas de MT e *pro* com o pecíolo imerso em solução de xilema artificial, a qual foi preparada com 10  $\mu$ M de ABA ou polietilenoglicol (-0,6 MPa). As folhas foram pesadas em intervalos de 2 h, a partir das 6 h até às 18 h. Os valores correspondem às médias de cada tratamento ( $n=4$ ), seguidas do erro padrão.

## 5. DISCUSSÃO

As GAs constituem uma importante classe hormonal capaz de integrar vários sinais hormonais durante o desenvolvimento vegetal. Por exemplo, a proteína DELLA, inibidor das respostas à GA, interage com componentes da via de sinalização de diversos hormônios, como ABA, AUX, CKs, JA e BRs (DAVIÈRE; ACHARD, 2016). Além disso, estudos recentes têm evidenciado o envolvimento das GAs nas respostas a vários estresses abióticos, especialmente o estresse por seca (COLEBROOK et al., 2014). Todavia, até agora, os mecanismos pelos quais GA é parte das respostas ao déficit hídrico permanecem obscuros, principalmente no que diz respeito à comunicação entre a raiz e a parte aérea (AKTER et al., 2014; NIR; MOSHELION; WEISS, 2014). Por isso, a fim de obter informações sobre a sinalização à longa distância mediada por GA durante o déficit hídrico, utilizou-se o tomateiro mutante com resposta constitutiva à GA (*pro*) e seu tipo selvagem (MT) combinados por meio de enxertia e cultivados sob condições irrigada e déficit hídrico.

Observou-se que, após a indução do déficit hídrico por sete dias, somente plantas autoenxertadas de MT/MT apresentaram redução da área foliar e radicular bem como menor acúmulo de massa fresca e seca tanto na parte aérea quanto nas raízes (Figura 3). Em contrapartida, o crescimento da parte aérea e das raízes, de plantas de *pro* autoenxertadas (*i.e. pro/pro*) ou enxertadas reciprocamente com MT (*i.e. MT/pro* e *pro/MT*), não foi afetado pelo déficit hídrico, quando comparado aos correspondentes tratamentos irrigados (Figura 3). De fato, tem sido demonstrado que a aplicação de GA em plantas sob condições de déficit hídrico pode induzir a recuperação do crescimento a níveis similares a condições irrigadas (KAYA; TUNA; ALVES, 2006; AKTER et al., 2014). Nestes trabalhos, os pigmentos fotossintetizantes foram preservados e o estresse oxidativo inibido após o tratamento com GA exógena (KAYA; TUNA; ALVES, 2006; AKTER et al., 2014). Entretanto, neste experimento, não se observou efeito do estresse sobre o conteúdo de pigmentos fotossintéticos (Figura 4). Por outro lado, todas as plantas, sob déficit hídrico, sofreram um nítido aumento da peroxidação lipídica tanto na parte aérea como nos tecidos radiculares quando comparada à condição irrigada (Figura 5A), ao passo que o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, outro indicador de estresse oxidativo (GRATÃO et al., 2005; ZAMOJC et al., 2016), aumentou apenas nas folhas de plantas enxertadas sobre o porta-enxerto de *pro* (*pro/pro* e *MT/pro*) em

condições de déficit hídrico (Figura 5B). O maior conteúdo de  $H_2O_2$  em *pro/pro* e *MT/pro* poderia ser o resultado da atividade reduzida das POD, responsável pela degradação do  $H_2O_2$  (PASSARDI et al., 2005). No entanto, não houve diferença na atividade das POD nas folhas das plantas enxertadas ao comparar as condições de crescimento (Figura 6). Contudo, plantas de *pro/pro* e *pro/MT* apresentaram redução significativa na atividade das POD nas raízes devido à exposição à seca, mas não foi notado qualquer acúmulo de  $H_2O_2$  nas raízes de *pro/pro* e *pro/MT* (Figuras 5B e 6).

Além disso, POD e espécies reativas de oxigênio (ERO), particularmente o  $H_2O_2$ , são importantes compostos envolvidos em mecanismos de ajuste celular em resposta a vários estresses abióticos (PASSARDI; PENEL; DUNAND, 2004; PASSARDI et al., 2005; PANDEY; SHUKLA, 2015). Por exemplo, o  $H_2O_2$ , pela sua alta permeabilidade através das membranas celulares, pode mediar a comunicação célula a célula e exercer papel central como mensageiro secundário durante o déficit hídrico, por exemplo, intermediando o fechamento estomático e a remodelação da parede celular (RHEE et al., 2010; GALL; PHILIPPE; DOMON, 2015; AN et al. 2016). Durante o déficit hídrico, o enrijecimento da parede celular pode limitar a expansão celular e induzir maior estabilidade mecânica e turgor celular, auxiliando na manutenção da arquitetura vegetal (PASSARDI et al., 2005; TENHAKEN, 2015). Curiosamente, pôde-se observar que o uso de *pro* como porta-enxerto induziu o acúmulo de  $H_2O_2$  na parte aérea quando submetido ao déficit hídrico (Figura 5B), mas a ligação entre a alteração de  $H_2O_2$  e a tolerância ao estresse em *pro* ainda é elusiva. Até agora, é possível levantar a hipótese de que a resposta constitutiva à GA presente em plantas de *pro* utilizadas como porta-enxerto (*i.e.* *pro/pro* e *MT/pro*) proporcionou uma eficiente percepção e/ou sinalização à parte aérea da redução da disponibilidade hídrica, desencadeando mecanismos, como o remodelamento e estabilidade mecânica da parede celular, e assim permitir a manutenção do crescimento com níveis reduzidos de água disponível. Isso possivelmente ocorreu por meio de mecanismos mediados por GA integrando um complexo sistema regulatório de respostas de adaptação à seca. Por outro lado, a ausência de efeitos do déficit hídrico sobre o crescimento de plantas de *pro/MT* é mais provável ser devido ao seu crescimento reduzido em condição irrigada (Figura 3).

Como esperado, o déficit hídrico induziu aumento da  $T_{folha}$ , bem como a redução do CRA e do  $\Psi_{folha}$  (Figura 8). No que diz respeito à CRA, verificou-se que todas as plantas foram afetadas negativamente pela seca, excetuando-se MT/MT (Figura 8B). Por outro lado, a utilização de *pro* como enxerto sobre MT resultou em grande redução do  $\Psi_{folha}$  em condição de déficit hídrico (Figura 8C). Assim, a manutenção e a redução do CRA e do  $\Psi_{folha}$  provavelmente explicam as  $T_{folha}$  mais baixas e elevadas em MT/MT e *pro*/MT, respectivamente, após a exposição ao déficit hídrico (Figura 8A). Na verdade, está bem estabelecido que o déficit hídrico causa redução do CRA e do  $\Psi_{folha}$  e, conseqüentemente, o fechamento estomático (Figura 9B) e a redução de  $g_s$  (DASZKOWSKA-GOLEC; SZAREJKO 2013; GOLLDACK et al., 2014; BLATT, 2016; Figura 10A). De fato, notou-se forte redução na porcentagem de estômatos abertos e da  $g_s$  em todas as plantas sob déficit hídrico (Figuras 9B e 10A). A abertura estomática e as reduções de  $g_s$  foram acompanhadas pela inibição de  $A$  em todas as plantas, mas principalmente em *pro/pro* (Figura 10). No entanto, apesar da redução da abertura estomática e da  $g_s$  em todas as plantas sob déficit hídrico, observou-se que a inibição de  $E$  bem como o aumento da  $EUA_i$  ocorreu apenas em combinações com *pro* (i.e. *pro/pro*, MT/*pro* e *pro*/MT) (Figura 10). Esses resultados indicam que, embora em condição irrigada o porta-enxerto *pro* tenha induzido menor  $EUA_i$ , quando exposto à seca, as raízes com sensibilidade aumentada à GA aparentemente são mais eficientes em ajustar o equilíbrio entre crescimento e economia de água.

Além disso, diversos estudos têm demonstrado que o controle do movimento estomático, sob condição de déficit hídrico, é fortemente modulado por sinais provenientes do sistema radicular (TRAMONTINI et al., 2013; MARTORELL et al., 2015; VISENTIN et al., 2016). Atualmente, o ABA é conhecido como sendo o principal fator hormonal modulando o movimento estomático em resposta aos estímulos ambientais (HOLBROOK et al., 2002; DASZKOWSKA-GOLEC; SZAREJKO 2013; GOLLDACK et al., 2014; VERMA; RAVINDRAN; KUMAR, 2016). Por essa razão, inicialmente pensou-se que ABA poderia ser o sinal bioquímico transportado das raízes à parte aérea responsável por disparar as respostas à seca (por exemplo, redução de  $g_s$ ). Efetivamente, observou-se que a imposição do déficit hídrico resultou na redução de  $g_s$  e aumento do conteúdo de ABA nas folhas de todas as combinações

de enxertia (Figuras 10A e 12D). Todavia, vale ressaltar que plantas enxertadas sobre porta-enxertos de *pro* (i.e. *pro/pro* e *MT/pro*) exibiram as maiores reduções de *gs* (85,93 e 70,74%, respectivamente) e *A* (73,72 e 53,49%, respectivamente), sob estresse, independentemente do genótipo empregado como enxerto (Figura 10). Contudo, as respostas observadas em *pro* não podem ser explicadas pela superprodução de GA, uma vez que têm sido observado níveis reduzidos de GA em *pro* (JONES, 1987; VAN TUINEN et al., 1999).

Além do acúmulo de ABA, as respostas à seca foram acompanhadas pela redução de conteúdo de GA, especialmente de GA<sub>4</sub>, nas folhas das plantas enxertadas, mas principalmente em plantas auto ou reciprocamente enxertadas com *pro* (Figura 12). Além disso, a redução dos níveis de GA após a exposição ao déficit hídrico pode estar associada a maior expressão do gene *SIDREB2*, que codifica o fator de transcrição DREB2 (Figura 7A). DREB2 tem sido associado com a regulação de mecanismos de resposta ao déficit hídrico bem como a inibição da expressão de genes de biossíntese de GA (LI et al., 2012; HICHRI et al., 2016). Entretanto, os mecanismos moleculares de resposta ao déficit hídrico podem ser bastante complexos considerando não apenas outros genes, mas também outras classes hormonais as quais podem interagir entre si. De fato, plantas enxertadas sobre *pro* apresentaram concentrações mais elevadas de AUX e JA, sob condição irrigada (Figuras 13A e 13B). O déficit hídrico induziu a redução de AUX, JA e SA somente em folhas de plantas enxertadas sobre *pro* (Figura 13). Por exemplo, o fechamento estomático em resposta ao déficit hídrico tem sido relacionado com a redução do conteúdo de AUX nas folhas de diversas espécies vegetais (POSPISILOVÁ, 2003; DODD; DAVIES, 2010). Estes resultados evidenciam o importante papel das raízes e da sinalização de GA na homeostase hormonal da parte aérea bem como nas respostas à seca.

Estudos recentes têm demonstrado que as GAs podem modular tanto o desenvolvimento estomático quanto o movimento estomático em resposta ao déficit hídrico (NIR; MOSHELION; WEISS, 2014; DU et al., 2015; PLAZA-WÜTHRICH et al., 2016). Por exemplo, plantas de Teff [*Eragrostis tef* (Zucc.) Trotter] tratadas com paclobutrazol, um inibidor da biossíntese de GA, apresentaram redução de *gs* e da densidade estomática (PLAZA-WÜTHRICH et al., 2016). Quanto aos efeitos da

resposta constitutiva à GA, plantas autoenxertadas de *pro/pro* exibiram maior densidade de estômatos comparado à MT/MT, sob condição irrigada (Figura 9A). Com efeito, o mutante de arroz *gid1*, com baixa sensibilidade às GAs, cultivado em condição de déficit hídrico, apresentou menor fechamento estomático e enrolamento das folhas quando comparado ao tipo selvagem (DU et al., 2015). O fechamento estomático e enrolamento das folhas são considerados mecanismos importantes associados, respectivamente, à redução da *gs* e da área de transpiração, respostas essenciais a fim de minimizar a perda de água sob déficit hídrico. Adicionalmente, embora o conteúdo de ABA foliar em plantas de *gid1* fosse inferior ao tipo selvagem, a aplicação exógena de ABA causou o fechamento estomático de maneira mais pronunciada em plantas de *gid1* (DU et al., 2015). Estes resultados sugerem que a interrupção da via de sinalização de GA em *gid1* torna as plantas mais suscetíveis ao déficit hídrico e mais responsivas à aplicação de ABA. Neste experimento, observou-se que, embora folhas destacadas de ambos os genótipos, MT e *pro*, tenham exibido níveis similares de perda de água, a redução da perda de água em resposta ao tratamento com ABA foi mais pronunciada em folhas de *pro* (Figura 14). Estes resultados indicam interação entre ABA e GA na modulação dos movimentos estomáticos.

Com efeito, o fator de correlação de Pearson ( $\rho$ ) entre *gs*, GA<sub>4</sub> e GA<sub>9</sub>, precursor de GA<sub>4</sub>, foi de 0,85 e 0,89, respectivamente, indicando forte correlação entre ambos, enquanto o valor de  $\rho$  entre *gs* e ABA foi de apenas -0,57, indicando uma moderada correlação negativa (Tabela 1A do Apêndice). Além disso, observou-se que a relação entre ABA e GAs ativas nas folhas foi maior nas plantas com *pro* como enxerto, e essa relação aumentou sob déficit hídrico, o que possivelmente foi uma tentativa do metabolismo vegetal de atingir a homeostase hormonal em resposta à seca (Tabela 1B do Apêndice). Juntos, esses resultados repetiram a interação clássica entre ABA e GA durante o crescimento da planta (GOLLDACK et al., 2013; CHIANG; SHEN; CHENG, 2015; LIU et al., 2016), mas uma análise molecular mais detalhada em *pro* é necessária para melhor esclarecer estes eventos, especialmente na modulação das respostas a fatores ambientais.

Neste trabalho, descobriu-se que o uso do porta-enxerto com resposta constitutiva às GAs induziu melhor ajuste das respostas estomáticas (Figura 10), bem

como maior tolerância ao déficit hídrico (Figura 3). Estes resultados, indicam a existência de complexos mecanismos regulatórios pelos quais GA atua, que inclui o sistema de estresse oxidativo (Figura 5B), homeostase hormonal pela regulação da via de biossíntese de GA (Tabelas 1C, 1D, 1E e 1F do Apêndice) e os níveis de outros hormônios, como AUX, JA e SA (Figura 13). No entanto, a base molecular da comunicação entre raiz e a parte aérea em *pro* ainda continua a ser explorada. Recentemente, tem sido gerada uma série de evidências demonstrando a complexidade das respostas de GA aos estímulos tanto endógenos como ambientais (SCHWECHHEIMER, 2012; WANG; DENG, 2014; DAVIÈRE; ACHARD, 2016). Esta intrincada rede de sinalização envolvendo GA reside na forte regulação do metabolismo das GAs com atividade biológica, dependendo do órgão, idade e espécie vegetal, bem como a existência de respostas dependentes e independentes de DELLA (VAN TUINEN et al., 1999; CARRERA et al., 2012; LIVNE et al., 2015). Além disso, a transdução do sinal de GA pode atuar integrando várias outras classes hormonais, como AUX, JA e SA por meio de proteínas DELLA (DAVIÈRE; ACHARD 2016). Até agora, sabe-se que as respostas diferenciais à GA em *pro* são devido à falta de proteína DELLA funcional, repressora das respostas à GA, a qual tem sido associada a respostas à seca. Por exemplo, há fortes evidências de que as proteínas DELLA induzem a síntese de ABA através da regulação positiva de *XERICO*, um indutor da síntese de ABA (KO; YANG; HAN, 2006; ARIIZUMI et al., 2013), e, além disso, o RNAm de genes codificadores de DELLA pode ser transportado das raízes para a parte aérea através da seiva do xilema (XU et al., 2010; WANG et al., 2012; XU et al., 2013; Figura 7B). Isso poderia explicar, ao menos em parte, porque os enxertos de *pro* enxertados sobre o porta-enxerto de MT exibiram padrão de resposta à seca mais similar à MT/MT em relação à *pro/pro* (Figuras 3 e 7B). Por outro lado, devido a mutação presente em *pro*, ainda que plantas autoenxertadas de *pro* apresentem elevada expressão do gene *SIDELLA*, o RNAm produzido originará proteínas DELLA não funcionais (Figura 7B). No entanto, os resultados obtidos nesse estudo fornecem evidências mais conclusivas de que a indução de tolerância por meio da amplificação das respostas à GA a partir do porta-enxerto depende da sinalização de ABA (Figura 15).

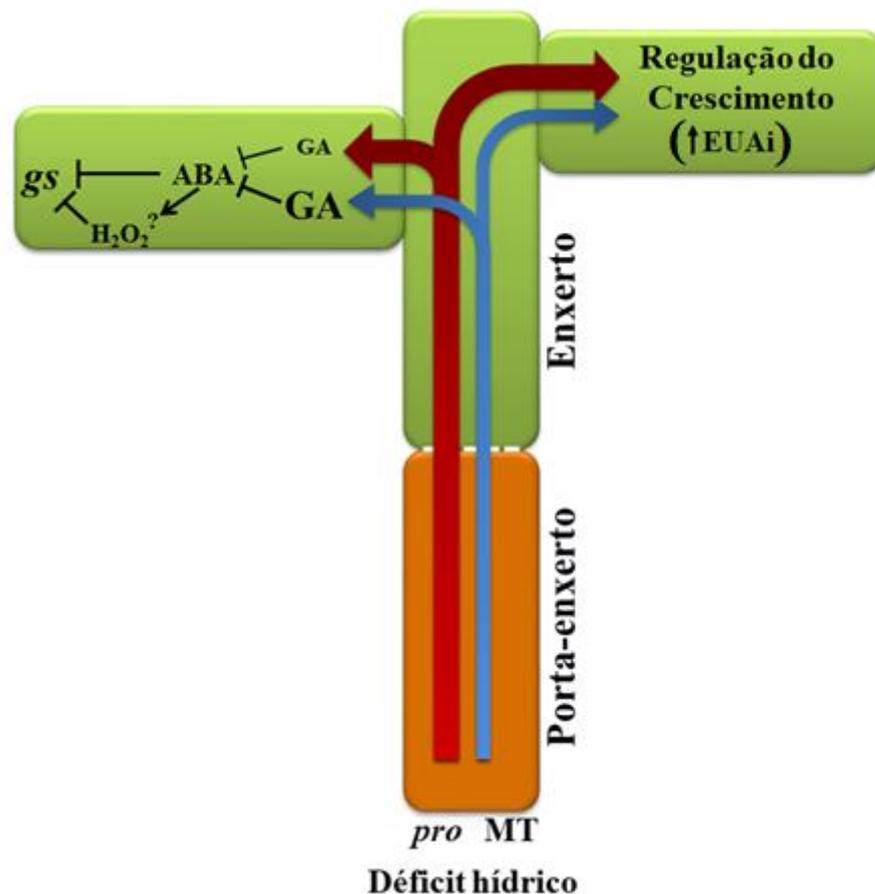


Figura 15. Representação esquemática da modulação do sinal entre a raiz e a parte aérea pela giberelina (GA) durante a ocorrência de déficit hídrico. Os resultados indicam que o porta-enxerto *procera* (*pro*), com resposta constitutiva às GAs, proporciona uma sinalização da redução da disponibilidade hídrica no solo mais eficiente entre a raiz e a parte aérea (indicada pela seta vermelha mais grossa). Portanto, sob condição de déficit hídrico, o uso de *pro* como porta-enxerto causou forte redução do conteúdo de GAs, aumento do ácido abscísico (ABA) e, conseqüentemente, redução da condutância estomática (*gs*), independentemente do genótipo do enxerto. Além disso, a regulação de GA em resposta à seca em plantas enxertadas sobre *pro*, aparentemente, foi mediada pelo peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) que pode atuar à jusante do ABA no controle do fechamento estomático e aumento da eficiência intrínseca de uso da água (EUAI) (AN et al., 2016; NIU; LIAO, 2016). Estas modificações levaram à ativação de mecanismos de ajuste e à manutenção do crescimento sob condição de déficit hídrico. Por outro lado, o uso de Micro-Tom (MT) como porta-enxerto induz uma comunicação menos efetiva da restrição hídrica (indicada pela seta azul mais fina), causando, assim, regulação deficiente dos níveis de GA e menor relação entre ABA/GA nas folhas, resultando em maior *gs*, principalmente quando autoenxertado (MT/MT). Juntos, esses resultados demonstraram que o porta-enxerto *pro* pode induzir maior tolerância ao déficit hídrico independentemente do enxerto.

## 6. CONCLUSÕES

A resposta constitutiva às GAs nas raízes, atua de maneira positiva sobre as respostas de aclimação à seca. Em outras palavras, o uso de *pro* como porta-enxerto e a sua capacidade de modular as respostas de crescimento, estresse oxidativo, relações hídricas e balanço hormonal, independentemente do genótipo do enxerto, permite concluir que a sensibilidade às GAs, especialmente no sistema radicular, é fator-chave nas respostas de adaptação à seca. A sensibilidade às GAs parece otimizar a sinalização à longa distância do déficit hídrico a partir das raízes até a parte aérea. Entretanto, a redução dos níveis de GA foliar, sob condição de estresse, indica que as GAs não agem diretamente como moléculas sinalizadoras, embora a sua redução também poderia funcionar como sinal bioquímico durante a restrição da disponibilidade hídrica no solo. Além disso, o uso de porta-enxertos com amplificação do sinal de GA, de maneira não dependente da maior biossíntese de GA, pode ser alternativa interessante para assegurar o equilíbrio necessário entre crescimento e a economia de água durante o déficit hídrico.

## 7. REFERÊNCIAS

ABREU, W. C. de; BARCELOS, M. F. P. Atividade antioxidante total da polpa de tomate submetida ao processamento térmico doméstico em diferentes tempos. **Unopar Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 14, n. 2, p. 71-76, 2012.

ACHARD, P.; GONG, F.; CHEMINANT, S.; ALIOUA, M.; HEDDEN, P.; GENSHIK, P. The cold-inducible CBF1 factor-dependent signaling pathway modulates the accumulation of the growth-repressing DELLA proteins via its effect on gibberellin metabolism. **The Plant Cell**, Rockville, v. 20, n. 8, p. 2117-2129, 2008.

AGRIANUAL 2017: anuário da agricultura brasileira. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2017. 392 p.

AKTER, N.; ISLAM, M. R.; KARIM, M. A.; HOSSAIN, T. Alleviation of drought stress in maize by exogenous application of gibberellic acid and cytokinin. **Journal of Crop Science and Biotechnology**, Seoul, v. 17, n. 1, p. 41-48, 2014.

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**, New York, v. 24, n. 12, p. 1337-1344, 2001.

ALGHABARI, F.; LUKAC, M.; JONES, H. E.; GOODING, M. J. Effect of *Rht* alleles on the tolerance of wheat grain set to high temperature and drought stress during booting and anthesis. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Berlin, v. 200, n. 1, p. 36-45, 2014.

ALI, E. M.; WALIULLAH, S.; KOBAYASHI, K.; YAENO, T.; YAMAOKA, N.; NISHIGUCHI, M. Transmission of RNA silencing signal through grafting confers virus resistance from transgenically silenced tobacco rootstocks to non-transgenic tomato and tobacco scions. **Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology**, New Delhi, v. 25, n. 3, p. 245-52, 2016.

ALONI, B.; COHEN, R.; KARNI, L.; AKTAS, H.; EDELSTEIN, M. Hormonal signaling in rootstock-scion interactions. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 127, n. 2, p. 119-26, 2010.

ALVARENGA, M. A. R. Origem, botânica e descrição da planta. In: \_\_\_\_\_. (Ed.). **Tomate: produção em campo, casa de vegetação e hidropônia**. 2. ed. Lavras: Editora Universitária de Lavras, 2013. p. 11-22.

ALVARENGA, M. A. R.; COELHO, F. S. Exigências Climáticas. In: ALVARENGA, M. A. R. **Tomate: produção em campo, casa de vegetação e hidropônia**. 2. ed. Lavras: Editora Universitária de Lavras, 2013. p. 31-38.

AN, J.; HOU, L.; LI, C.; WANG, C. X.; XIA, H.; ZHAO, C. Z.; LI, C. S.; ZHENG, Y. X.; ZHAO, Y. X.; WANG, X. J. Cloning and expression analysis of four DELLA genes in peanut. **Russian Journal of Plant Physiology**, Moscow, v. 62, n. 1, p. 116-126, 2015.

AN, Y.; LIU, L.; CHEN, L.; WANG, L. ALA inhibits ABA-induced stomatal closure via reducing H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and Ca<sup>2+</sup> levels in guard cells. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 7, 2016. Disponível em: < <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00482>.

ARAÚJO, W. L.; FERNIE, A. R.; NUNES-NESE, A. Control of stomatal aperture. **Plant Signaling and Behavior**, Georgetown, v. 6, n. 9, p. 1305-1311, 2011.

ARIIZUMI, T.; HAUVERMALE, A. L.; NELSON, S. K.; HANADA, A.; YAMAGUCHI, S.; STEBER, C. M. Lifting DELLA repression of Arabidopsis seed germination by nonproteolytic gibberellin signaling. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 162, n. 4, p. 2125-2139, 2013.

ARRUDA JÚNIOR, S. J.; BEZERRA NETO, E.; BARRETO, E. P.; RESENDE, L. V. Podridão apical e produtividade do tomateiro em função dos teores de cálcio e amônio. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 24, n. 4, p. 20-26, 2011.

ARUMUGANATHAN, K.; EARLE, E. D. Nuclear DNA content of some important plant species. **Plant Molecular Biology Reporter**, New York, v. 9, n. 3, p. 208-218, 1991.

AUGÉ, R. M.; MOORE, J. L. Stomatal response to nonhydraulic root-to-shoot communication of partial soil drying in relation to foliar dehydration tolerance. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 47, n. 3, p. 217-229, 2002.

BARANKEVICZ, G. B.; NOVELLO, D.; RESENDE, J. T. V.; SCHWARZ, K.; SANTOS, E. F. Características físicas e químicas da polpa de híbridos de tomateiro, durante o armazenamento congelado. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 1, p. 7-11, 2015.

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**, Oxford, v. 59, n. 3, p. 585-93, 2008.

BASTOS, A. R.R.; ALVARENGA, M. A. R.; CARVALHO, J. G.; PINHO, P. J. Nutrição mineral e adubação. In: ALVARENGA, M. A. R. **Tomate: produção em campo, casa de vegetação e hidropônia**. 2. ed. Lavras: Editora Universitária de Lavras, 2013. p. 63-130.

BAUTISTA, A. S.; CALATAYUD, A.; NEBAUER, S. G.; PASCUAL, B.; MAROTO, J. V.; LÓPEZ-GALARZA, S. Effects of simple and double grafting melon plants on mineral absorption, photosynthesis, biomass and yield. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 130, n. 3, p. 575-580, 2011.

BECKINGHAM, K. M.; ARMSTRONG, J. D.; TEXADA, M. J.; MUNJAAL, R.; BAKER, D. A. *Drosophila melanogaster* - the model organism of choice for the complex biology of multi-cellular organisms. **Gravitational and Space Biology Bulletin**, Alexandria, v. 18, n. 2, p. 17-29, 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16038090>>.

BERTIN, N.; GAUTIER, H.; ROCHE, C. Number of cells in tomato fruit depending on fruit position and source-sink balance during plant development. **Plant Growth Regulation**, Boston, v. 36, n. 2, p. 105-112, 2001.

BHOGALE, S.; MAHAJAN, A. S.; NATARAJAN, B.; RAJABHOJ, M.; THULASIRAM, H. V.; BANERJEE, A. K. *MicroRNA156*: a potential graft-transmissible microRNA that modulates plant architecture and tuberization in *Solanum tuberosum* ssp. *andigena*. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 164, n. 2, p. 1011-1027, 2014.

BLATT, M. R. Plant physiology: redefining the enigma of metabolism in stomatal movement. **Current Biology**, Cambridge, v. 26, n. 3, p. 107-109, 2016.

BOLKER, J. A. There's more to life than rats and flies. **Journal of Experimental Zoology**, Hoboken, v. 491, n. 2, p. 31-33, 2012.

BORNMAN, J. F.; BARNES, P. W.; ROBINSON, S. A.; BALLARÉ, C. L.; FLINT, S. D.; CALDWELL, M. M. Solar ultraviolet radiation and ozone depletion-driven climate change: effects on terrestrial ecosystems. **Photochemical and Photobiological Sciences**, Cambridge, v. 14, n. 1, p. 88-107, 2015.

BRANDT, S.; PÉK, Z.; BARNA, E.; LUGASI, A.; HELYES, L. Lycopene content and colour of ripening tomatoes as affected by environmental conditions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Chichester, v. 86, n. 4, p. 568–572, 2006.

CAMPOS, M. L.; CARVALHO, R. F.; BENEDITO, V. A. Small and remarkable. **Plant Signaling and Behavior**, Georgetown, v. 5, n. 3, p. 267-270, 2010.

CANTALAPIEDRA, C. P.; GARCÍA-PEREIRA, M. J.; GRACIA, M. P.; IGARTUA, E.; CASAS, N. M.; CONTRERAS-MOREIRA, B. Large differences in gene expression responses to drought and heat stress between elite barley cultivar Scarlett and a Spanish landrace. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 8, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00647>>.

CARRERA, E.; RUIZ-RIVERO, O.; PERES, L. E. P.; ATARES, A.; GARCIA-MARTINEZ, J. L. Characterization of the procera tomato mutant shows novel functions of the SiDELLA protein in the control of flower morphology, cell division and expansion, and the auxin-signaling pathway during fruit-set and development. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 160, n. 3, p. 1581-1596, 2012.

CARVALHO, R. F.; AIDAR, S. T.; AZEVEDO, R. A.; DODD, I. C.; PERES, L. E. P. Enhanced transpiration rate in the *high pigment 1* tomato mutant and its physiological significance. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 13, n. 3, p. 546-550, 2011a.

CARVALHO, R. F.; CAMPOS, M. L.; PINO, L. E.; CRESTANA, S. L.; ZSÖGÖN, A.; LIMA, J. E.; BENEDITO, V. A.; PERES, L. E. P. Convergence of developmental mutants into a single tomato model system: 'Micro-Tom' as an effective toolkit for plant development research. **Plant Methods**, London, v. 7, 2011b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/1746-4811-7-18>>.

CENCI, A.; ROUARD, M. Evolutionary analyses of GRAS transcription factors in angiosperms. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 8, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00273>>.

CHIANG, M-H.; SHEN, H-L.; CHENG, W-H. Genetic analyses of the interaction between abscisic acid and gibberellins in the control of leaf development in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Science**, Shannon, v. 236, p. 260-271, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.04.009>>.

CHOI, E-Y.; PARK, H-I.; JU, J-H.; YOON, Y-H. Boron availability alters its distribution in plant parts of tomato. **Horticulture Environment and Biotechnology**, Suwon, v. 56, n. 2, p. 145-151, 2015.

CLAEYS, H.; DE BODT, S.; INZÉ, D. Gibberellins and DELLAs: central nodes in growth regulatory networks. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 19, n. 4, p. 231-239, 2014.

CLAEYS, H.; INZÉ, D. The agony of choice : how plants balance growth and survival under water-limiting conditions. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 162, n. 4, p. 1768-1779, 2013.

COELHO FILHO, M. A.; COLEBROOK, E. H.; LLOYD, D. P. A.; WEBSTER, C. P.; MOONEY, S. J.; PHILLIPS, A. L.; HEDDEN, P.; WHALLEY, W. R. The involvement of gibberellin signalling in the effect of soil resistance to root penetration on leaf elongation and tiller number in wheat. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 371, n. 1-2, p. 81-94, 2013.

COLEBROOK, E. H.; THOMAS, S. G.; PHILLIPS, A. L.; HEDDEN, P. The Role of gibberellin signalling in plant responses to abiotic stress. **The Journal of Experimental Biology**, Cambridge, v. 217, n. 1, p. 67-75, 2014.

COLLA, G.; ROUPHAEL, Y.; LEONARDI, C.; BIE, Z. Role of grafting in vegetable crops grown under saline conditions. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 127, n. 2, p. 147-155, 2010.

DASZKOWSKA-GOLEC, A.; SZAREJKO, I. Open or close the gate - stomata action under the control of phytohormones in drought stress conditions. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 4, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00138>>.

DAVIÈRE, J-M.; ACHARD, P. A pivotal role of DELLAs in regulating multiple hormone signals. **Molecular Plant**, Cambridge, v. 9, n. 1, p. 10-20, 2016.

DAVIÈRE, J-M.; ACHARD, P. Gibberellin signaling in plants. **Development**, Cambridge, v. 140, n. 6, p. 1147-1151, 2013.

DE OLLAS, C.; ARBONA, V.; GÓMEZ-CADENAS, A. Jasmonic acid interacts with abscisic acid to regulate plant responses to water stress conditions. **Plant Signaling and Behavior**, Georgetown, v. 10, n. 12, e1078953, 2015.

DE OLLAS, C.; DODD, I. C. Physiological impacts of ABA-JA interactions under water-limitation. **Plant Molecular Biology**, Boston, v. 91, n. 6, p. 641-650, 2016.

DODD, I. C.; DAVIES, W. J. Hormones and the regulation of water balance. In: DAVIES, P. J. **Plant hormones**. Dordrecht: Springer, 2010. cap. 23, p. 519-548.

DODD, I. C.; THEOBALD, J. C.; RICHER, S. K.; DAVIES, W. J. Partial phenotypic reversion of ABA-deficient *flacca* tomato (*Solanum lycopersicum*) scions by a wild-type rootstock: normalizing shoot ethylene relations promotes leaf area but does not diminish whole plant transpiration rate. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 60, n. 14, p. 4029-4039, 2009.

DÖLL, P.; OKI, T.; ARNELL, N. W.; BENITO, G.; GOGLEY, J. G.; JIANG, T.; KUNDZEWICZ, Z. W.; MWAKALILA, S.; NISHIJIMA A. Integrating risks of climate change into water management. **Hydrological Sciences Journal**, Wallingford, v. 60, n. 1, p. 4-13, 2015.

DU, H.; CHANG, Y.; HUANG, F.; XIONG, L. *GID1* modulates stomatal response and submergence tolerance involving abscisic acid and gibberellic acid signaling in rice. **Journal of Integrative Plant Biology**, Carlton South, v. 57, n. 11, p. 954-968, 2015.

DUMAS, Y.; DADOMO, M.; LUCCA, G.; GROLIER, P. Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Chichester, v. 83, n. 5, p. 369-382, 2003.

FAN, J.; YANG, R.; LI, X.; ZHAO, W.; ZHAO, F.; WANG, S. The processes of graft union formation in tomato. **Horticulture Environment and Biotechnology**, Suwon, v. 56, n. 5, p. 569-574, 2015.

FAO. Faostat – Statistic Database. Disponível em: <<http://www.faostat.fao.org/faostat>>. Acesso em: 08 de maio de 2017.

FAROOQ, M.; WAHID, A.; KOBAYASHI, N.; FUJITA, D.; BASRA, S. M. A. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 29, n. 1, p. 185-212, 2009.

FAYAD, J. A.; FONTES, P. C. R.; CARDOSO, A. A.; FINGER, F. L.; FERREIRA, F. A. Absorção de nutrientes pelo tomateiro cultivado sob condições de campo e de ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 90-94, 2002.

FILGUEIRA, F. A. R. Tomate: a hortaliça cosmopolita. In: \_\_\_\_\_. (Ed.). **Novo manual da olericultura**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2008. p. 194-241.

FONTES, P. C. R. Podridão apical do tomate, queima dos bordos das folhas de alface e depressão amarga dos frutos em maçã: deficiência de Ca? **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 2, p. 144, 2003.

FONTES, P. C. R.; SILVA, D. J. H. Cultura do tomate. In: FONTES, P. C. R. **Olericultura: teoria e prática**. Viçosa: UFV, 2005. p. 457-475.

FREITAS, S. T. de; MITCHAM, E. J. Factors involved in fruit calcium deficiency disorders. **Horticultural Reviews**, Westport, v. 40, p. 107-146, 2012.

GALL, H. L.; PHILIPPE, F.; DOMON, J-M. Cell wall metabolism in response to abiotic stress. **Plants**, Basel, v. 4, p. 112-166, 2015.

GOLDSCHMIDT, E. E. Plant grafting: new mechanisms, evolutionary implications. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 5, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00727>>.

GOLLACK, D.; LI, C.; MOHAN, H.; PROBST, N. Drought tolerance to drought and salt stress in plants: unraveling the signaling networks. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 5, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00151>>.

GOLLDACK, D.; LI, C.; MOHAN, H.; PROBST, N. Gibberellins and abscisic acid signal crosstalk: living and developing under unfavorable conditions. **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 32, n. 7, p. 1007-1016, 2013.

GORNALL, J.; BETTS, R.; BURKE, E.; CLARK, R.; CAMP, J.; WILLETT, K.; WILTSHIRE, A. Implications of climate change for agricultural productivity in the early twenty-first century. **Philosophical Transactions of the Royal Society**, London, v. 365, n. 1554, p. 2973-2989, 2010.

GRAEBE, J. E. Gibberellin biosynthesis and control. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 38, p. 419-465, 1987. Disponível em: <<https://doi.org/10.1146/annurev.pp.38.060187.002223>>.

GRANIER, C.; TARDIEU, F. Water deficit and spatial pattern of leaf development. variability in responses can be simulated using a simple model of leaf development. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 119, n. 2, 609-619, 1999.

GRATÃO, P. L., POLLE, A.; LEA, P. J.; AZEVEDO, R. A. Review: making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. **Functional Plant Biology**, Collingwood, v. 32, p. 481-494, 2005.

HAMILTON, C. M.; FRARY, A.; XU, Y.; TANKSLEY, S. D.; ZHANG, H. B. Construction of tomato genomic DNA libraries in a Binary-BAC (BIBAC) vector. **The Plant Journal**, Oxford, v. 18, n. 2, p. 223-229, 1999.

HAREL, D.; FADIDA, H.; ALIK, S.; GANTZ, S.; SHILO, K. The effect of mean daily temperature and relative humidity on pollen, fruit set and yield of tomato grown in commercial protected cultivation. **Agronomy**, Basel, v. 4, n. 1, p. 167-177, 2014.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives in Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 125, n. 1, p. 189-198, 1968.

HEDDEN, P.; KAMIYA, Y. Gibberellin biosynthesis: enzymes, genes and their regulation. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 48, p. 431-460, 1997.

HEDDEN, P.; SPONSEL, V. A century of gibberellin research. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 34, n. 4, p. 740-760, 2015.

HEDDEN, P.; THOMAS, S. G. **The gibberellins**. Annual Plant Reviews. Oxford: Wiley Blackwell, 2016. p. 492.

HEDGES, S. B. The origin and evolution of model organisms. **Nature Reviews Genetics**, London, v. 3, n. 11, p. 838-849, 2002.

HICHRI, I.; MUHOVSKI, Y.; CLIPPE, A.; ZIZKOVA, E.; DOBREV, P. I.; MOTYKA, V.; LUTTS, S. SIDREB2, a tomato dehydration-responsive element-binding 2 transcription factor, mediates salt stress tolerance in tomato and Arabidopsis. **Plant, Cell and Environment**, New York, v. 39, n. 1, p. 62-79, 2016.

HIRANO, K.; ASANO, K.; TSUJI, H.; KAWAMURA, M.; MORI, H.; KITANO, H.; UEGUCHI-TANAKA, M.; MATSUOKA, M. Characterization of the molecular mechanism underlying gibberellin perception complex formation in rice. **The Plant Cell**, Rockville, v. 22, n. 8, p. 2680-2696, 2010.

HOLBROOK, N. M.; SHASHIDHAN, V. R.; JAMES, R. A.; MUNNS, R. Stomatal control in tomato with ABA-deficient roots: response of grafted plants to soil drying. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, n. 373, p. 1503-1514, 2002.

HU, B.; CAO, J.; GE, K.; LI, L. The site of water stress governs the pattern of ABA synthesis and transport in peanut. **Scientific Reports**, London, v. 6, 2016. Disponible em: <<http://doi:10.1038/srep32143>>.

HUAULT, E.; LAFFONT, C.; WEN, J.; MYSORE, K. S.; RATET, P.; DUC, G.; FRUGIER, F. Local and systemic regulation of plant root system architecture and symbiotic nodulation by a receptor-like kinase. **PLoS Genetics**, San Francisco, v. 10, n. 12, 2014.

IVANCHENKO, M. G.; ZHU, J.; WANG, B.; MEDVECKÁ, E.; DU, Y.; AZZARELLO, E.; MANCUSO, S.; MEGRAW, M.; FILICHKIN, S.; DUBROVSKY, J. G.; FRIML, J.; GEISLER, M. The cyclophilin A DIAGEOTROPICA gene affects auxin transport in both root and shoot to control lateral root formation. **Development**, Cambridge, v. 142, n. 4, p. 712-721, 2015.

JACOBSEN, S. E.; LIU, F.; JENSEN, C. R. Does root-sourced ABA play a role for regulation of stomata under drought in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 122, n. 2, p. 281-287, 2009.

JANIAK, A.; KWASNIEWSKI, M.; SZAREJKO, I. Gene expression regulation in roots under drought. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 67, n. 4, p. 1003-1014, 2016.

JEANGUENIN, L.; LEBAUDY, A.; XICLUNA, J.; ALCON, C.; HOSY, E.; DUBY, G.; MICHARD, E.; LACOMBE, B.; DREYER, I.; THIBAUD, J-B. Heteromerization of Arabidopsis kv channel alpha-subunits: data and prospects. **Plant Signaling and Behavior**, Georgetown, v. 3, n. 9, p. 622-625, 2008.

JEIBMANN, A.; PAULUS, W. *Drosophila melanogaster* as a model organism of brain diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 10, n. 2, p. 407-440, 2009.

JENKINS, J. A. The origin of cultivated tomato. **Economic Botany**, New York, v. 19, n. 4, p. 379-392, 1948.

JEZEK, M.; BLATT, M. R. The membrane transport system of the guard cell and its integration for stomatal dynamics. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 174, n. 2, p. 487-519, 2017.

JIA, W.; ZHANG, J. Stomatal movements and long-distance signaling in plants. **Plant Signaling and Behavior**, Georgetown, v. 3, n. 10, p. 772-777, 2008.

JIN, Q.; ZHU, K.; CUI, W.; LI, L.; SHEN, W. Hydrogen-modulated stomatal sensitivity to abscisic acid and drought tolerance via the regulation of apoplastic pH in *Medicago sativa*. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 35, n. 2, p. 565-573, 2016.

JIN, S.; JUNG, H. S.; CHUNG, K. S.; LEE, J. H.; AHN, J. H. FLOWERING LOCUS T has higher protein mobility than TWIN SISTER of FT. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 66, n. 20, p. 6109-6117, 2015.

JONES, M G. Gibberellins and the *procera* mutant of tomato. **Planta**, Berlin, v. 172, p. 280-284, 1987.

KAMIYA, Y.; GARCÍA-MARTÍNEZ, J. L. Regulation of gibberellin biosynthesis by light. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 2, n. 5, p. 398-403, 1999.

KAYA, C.; TUNA, L.; ALVES, C. Gibberellic acid improves water deficit tolerance in maize plants. **Acta Physiologiae Plantarum**, Warszawa, v. 28, n. 4, p. 331-337, 2006.

KHAN, A. L.; WAQAS, M.; LEE, I. J. Resilience of *Penicillium resedanum* LK6 and exogenous gibberellin in improving *Capsicum annuum* growth under abiotic stresses. **Journal of Plant Research**, Tokyo, v. 128, n. 2, p. 259-268, 2015.

KIBA, T.; TAKEI, K.; KOJIMA, M.; SAKAKIBARA, H. Side-chain modification of cytokinins controls shoot growth in Arabidopsis. **Developmental Cell**, Cambridge, v. 27, n. 4, p. 452-461, 2013.

KIM, J. S.; MIZOI, J.; YOSHIDA, T.; FUJITA, Y.; NAKAJIMA, J.; OHORI, T.; TODAKA, D.; NAKASHIMA, K.; HIRAYAMA, T.; SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. An ABRE promoter sequence is involved in osmotic stress-responsive expression of the *DREB2A* Gene, which encodes a transcription factor regulating drought-inducible genes in Arabidopsis. **Plant and Cell Physiology**, Tokyo, v. 52, n. 12, p. 2136-2146, 2011.

KO, J. H.; YANG, S. H.; HAN, K. H. Upregulation of an Arabidopsis RING-H2 Gene, *XERICO*, confers drought tolerance through increased abscisic acid biosynthesis. **The Plant Journal**, Oxford, v. 47, n. 3, p. 343-355, 2006.

KOORNNEEF, M.; MEINKE, D. The development of Arabidopsis as a model plant. **The Plant Journal**, Oxford, v. 61, n. 6, p. 909-921, 2010.

LANDJEVA, S., KORZUN, V.; STOIMENOVA, E.; TRUBERG, B.; GANEVA, G.; BÖRNER, A. The contribution of the gibberellin-insensitive semi-dwarfing (*Rht*) genes to genetic variation in wheat seedling growth in response to osmotic stress. **The Journal of Agricultural Science**, London, v. 146, n. 3, p. 275-286, 2008.

LANG, A. Stem elongation in a rosette plant, induced by gibberellic acid. **Die Naturwissenschaften**, Berlin, v. 43, n. 11, p. 257-258, 1956.

LANG, A.; SANDOVAL, J. A.; BEDRI, A. Induction of bolting and flowering in *Hyoscyamus* and *Samolus* by a gibberellin-like material from a seed plant. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 43, n. 11, p. 960-964, 1957.

LARCHER, W. **Physiological plant ecology**. 4<sup>th</sup> Edition. New York: Springer, 2003. p. 513.

LEE, J.-M.; KUBOTA, C.; TSAO, S. J.; BIE, Z.; ECHEVARRIA, P. H.; MORRA, L.; ODA, M. Current status of vegetable grafting: diffusion, grafting techniques, automation. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 127, n. 2, p. 93-105, 2010.

LEÓN, J.; CASTILLO, M. C.; COEGO, A.; LOZANO-JUSTE, J.; MIR, R. Diverse functional interactions between nitric oxide and abscisic acid in plant development and responses to stress. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 65, n. 4, p. 907-921, 2014.

LESK, C.; ROWHANI, P.; RAMANKUTTY, N. Influence of extreme weather disasters on global crop production. **Nature**, London, v. 529, n. 7584, p. 84-87, 2016.

LI, J.; SIMA, W.; OUYANG, B.; WANG, T.; ZIAF, K.; LUO, Z.; LIU, L.; LI, H.; CHEN, M.; HUANG, Y.; FENG, Y.; HAO, Y.; YE, Z. Tomato *SIDREB* gene restricts leaf expansion and internode elongation by downregulating key genes for gibberellin biosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 63, n. 18, p. 6407-6420, 2012.

LI, Y.; YE, W.; WANG, M.; YAN, X. Climate change and drought : a risk assessment of crop-yield impacts. **Climate Research**, Oldendorf, v. 39, n. 1, p. 31-46, 2009.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, New York, v. 148, p. 350-382, 1987.

LIMA, G. P. P.; BRASIL, O. G.; OLIVEIRA, A. M. Poliaminas e atividade da peroxidase em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado sob estresse salino. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 1, p. 21-25, 1999.

LITVIN, A. G.; VAN IERSEL, M. W.; MALLADI, A. Drought stress reduces stem elongation and alters gibberellin-related gene expression during vegetative growth of tomato. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 141, n. 6, p. 591-597, 2016.

LIU, T.; ZHU, S.; FU, L.; YU, Y.; TANG, Q.; TANG, S. Morphological and physiological changes of ramie (*Boehmeria nivea* L. Gaud) in response to drought stress and GA<sub>3</sub> treatment. **Russian Journal of Plant Physiology**, Moscow, v. 60, n. 6, p. 749-755, 2013.

LIU, X.; HU, P.; HUANG, M.; TANG, Y.; LI, Y.; LI, L.; HOU, X. The NF-YC-RGL2 module integrates GA and ABA signalling to regulate seed germination in Arabidopsis. **Nature Communications**, London, v. 7, 2016. Disponível em: <doi:10.1038/ncomms12768>.

LIVAK, K.J; SCHMITTIGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-ΔΔC<sub>T</sub></sup> method. **Methods**, London, v. 25, n. 4, p. 402-408, 2001.

LIVNE, S.; LOR, V. S.; NIR, I.; ELIAZ, N.; AHARONI, A.; OLSZEWSKI, N. E.; ESHED, Y.; WEISS, D. Uncovering DELLA-independent gibberellin responses by characterizing new tomato *procera* mutants. **The Plant Cell**, Rockville, v. 27, n. 6, p. 1579-1594, 2015.

LOHAR, D. P.; VANDENBOSCH, K. A. Grafting between model legumes demonstrates roles for roots and shoots in determining nodule type and host/rhizobia specificity. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 56, n. 416, p. 1643-1650, 2005.

LOMBARDI-CRESTANA, S. AZEVEDO, M. S.; SILVA, G. F. F.; PINO, L. E.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; FIGUEIRA, A.; NOGUEIRA, F. T. S.; PERES, L. E. P. The tomato (*Solanum lycopersicum* cv Micro-Tom) natural genetic variation RG1 and the DELLA mutant *procera* control the competence necessary to form adventitious roots and shoots. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 63, n. 15, p. 5689-5703, 2012.

LOR, V. S.; OLSZEWSKI, N. E. GA signalling and cross-talk with other signalling pathways. **Essays in Biochemistry**, London, v. 58, p. 49-60, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1042/bse0580049>>.

LOUWS, F. J.; RIVARD, C. L.; KUBOTA, C. Grafting fruiting vegetables to manage soilborne pathogens, foliar pathogens, arthropods and weeds. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 127, n. 2, p. 127-146, 2010.

LUCENA, R. R. M. de; NEGREIROS, M. Z.; MEDEIROS, J. F., BATISTA, T. M. V.; BESSA, A. T. M.; LOPES, W. A. R. Acúmulo de massa seca e nutrientes pelo tomateiro 'SM-16' cultivado em solo com diferentes coberturas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 3, p. 401-409, 2013.

MA, Y.; SZOSTKIEWICZ, I.; KORTE, A.; MOES, D.; YANG, Y.; CHRISTMANN, A.; GRILL, E. Regulators of PP2C phosphatase activity function as abscisic acid sensors. **Science**, New York, v. 324, p. 1064-1067, 2009. Disponível em: <<http://doi:10.1126/science.1172408>>.

MACMILLAN, J.; SUTER, P. J. The occurrence of gibberellin A, in higher plants: isolation from the seed of runner bean (*Phaseolus multiflorus*). **Naturwissenschaften**, Berlin, v. 45, n. 2, p. 46-46, 1958.

MAGALHÃES, J. R.; SILVA, W. L. C.; MONNERAT, L. H. Níveis e métodos de aplicação de boro em tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 16, n. 2, p. 153-157, 1981.

MAK, M.; BABLA, M.; XU, S. C.; O'CARRIGAN, A.; LIU, X. H.; GONG, Y. M.; HOLFORD, P.; CHEN, Z. H. Leaf mesophyll K<sup>+</sup>, H<sup>+</sup> and Ca<sup>2+</sup> fluxes are involved in drought-induced decrease in photosynthesis and stomatal closure in soybean. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 98, p. 1-12, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.10.003>>.

MARSCH-MARTÍNEZ, N.; FRANKEN, J.; GONZALEZ-AGUILERA, K. L.; FOLTER, S.; ANGENENT, G.; ALVAREZ-BUYLLA, E. R. An efficient flat-surface collar-free grafting method for *Arabidopsis thaliana* seedlings. **Plant Methods**, London, v. 9, 14, p. 1-9, 2013.

MARŠIĆ, N. K.; MIKULIČ-PETKOVŠEK, N.; ŠTAMPAR, F. Grafting influences phenolic profile and carpometric traits of fruits of greenhouse-grown eggplant (*Solanum melongena* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 62, p. 10504-10514, 2014.

MARTÍ, E.; GISBERT, C.; BISHOP, G. J.; DIXON, M. S.; GARCÍA-MARTÍNEZ, J. L. Genetic and physiological characterization of tomato cv. Micro-Tom. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, n. 9, p. 2037-2047, 2006.

MARTIN, W. J.; STIMART, D. P. Stomatal density in *Antirrhinum majus* L.: inheritance and trends with development. **HortScience**, Alexandria, v. 40, n. 5, p. 1252-1258, 2005.

MARTÍNEZ-BALLESTA, M. C.; ALCARAZ-LÓPEZ, C.; MURIES, B.; MOTACADENAS, C.; CARVAJAL, M. Physiological aspects of rootstock-scion interactions. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 127, n. 2, p. 112-118, 2010.

MARTORELL, S.; DIAZ-ESPEJO, A.; TOMÀS, M.; POU, A.; AOU-OUAD, H. E.; ESCALONA, J. M.; VADELL, J.; RIBAS-CARBÓ, M.; FLEXAS, J.; MEDRANO, H. Differences in water-use-efficiency between two *Vitis vinifera* cultivars (Grenache and Tempranillo) explained by the combined response of stomata to hydraulic and chemical signals during water stress. **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v. 156, p. 1-9, 2015. Disponível em: <<http://doi:10.1016/j.agwat.2015.03.011>>.

MCADAM, S. A. M.; SUSSMILCH, F. C.; BRODRIBB, T. J. Stomatal responses to vapour pressure deficit are regulated by high speed gene expression in angiosperms." **Plant, Cell and Environment**, New York, v. 39, n. 3, p. 485-491, 2016.

MELNYK, C. W.; MEYEROWITZ, L. M. Plant grafting. **Current Biology**, Cambridge, v. 25, n. 5, p. 183-188, 2015.

MIGUEL, A. de. Evolución del injerto de hortalizas en españa. **Tecnología Hortícola**, València, v. 72, p. 10-16, 2009.

MILIEN, M.; RENAULT-SPILMONT, A. S.; COOKSON, S. J.; SARRAZIN, A.; VERDEIL, J. L. Visualization of the 3D structure of the graft union of grapevine using X-ray tomography. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 144, p. 130-140, 2012.

MUDGE, K.; JANICK, J.; SCOFIELD, S.; GOLDSCHMIDT, E. E. A history of grafting. **Horticultural Reviews**, Westportv. 35, p. 437-494, 2009.

MUELLER, L. A. SOLOW, T. H.; TAYLOR, N.; SKWARECKI, B.; BUELS, R.; BINNS, J.; LIN, C.; WRIGHT, M. H.; AHRENS, R; WANG, Y.; HERBST, E. V.; KEYDER, E. R.; MENDA, N.; ZAMIR, D.; TANKSLEY, S. D. The SOL genomics network. A comparative resource for Solanaceae biology and beyond. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 138, n. 3, 1310-1317, 2005.

NIR, I.; MOSHELION, M.; WEISS, D. The Arabidopsis GIBBERELLIN METHYL TRANSFERASE 1 suppresses gibberellin activity, reduces whole-plant transpiration and promotes drought tolerance in transgenic tomato. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 37, n. 1, p. 113-123, 2014.

NISHIMURA, N.; SARKESHIK, A.; NITO, K.; PARK, S. Y.; WANG, A.; CARVALHO, P. C.; LEE, S.; CADDELL, D. F.; CUTLER, S. R.; CHORY, J.; YATES, J. R.; SCHROEDER, J. I. PYR/PYL/RCAR family members are major in-vivo ABI1 protein phosphatase 2C-interacting proteins in Arabidopsis. **The Plant Journal**, Oxford, v. 61, n. 2, p. 290-299, 2010.

NIU, L.; LIAO, W. Hydrogen peroxide signaling in plant development and abiotic responses: crosstalk with nitric oxide and calcium. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, 7, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00230>>.

NOTAGUCHI, M. Identification of phloem-mobile mRNA. **Journal of Plant Research**, Tokyo, v. 128, n. 1, p. 27-35, 2014.

NOTAGUCHI, M.; ABE, M.; KIMURA, T.; DAIMON, Y.; KOBAYASHI, T.; YAMAGUCHI, A.; TOMITA, Y.; DOHI, K.; MORI, M.; ARAKI, T. Long-distance, graft-transmissible action of Arabidopsis FLOWERING LOCUS T protein to promote flowering. **Plant and Cell Physiology**, Tokyo, v. 49, n. 11, p. 1645-1658, 2008.

NOTAGUCHI, M.; HIGASHIYAMA, T.; SUZUKI, T.; Identification of mRNAs that move over long distances using an RNA-Seq analysis of Arabidopsis/*Nicotiana benthamiana* heterografts. **Plant and Cell Physiology**, Tokyo, v. 56, n. 2, p. 311-21, 2015.

NOTAGUCHI, M.; OKAMOTO, S. Dynamics of long-distance signaling via plant vascular tissues. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 6, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00161>>.

NUEZ, F. **El cultivo del tomate**. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa, 1995. 793 p.

OGAWA, M.; HANADA, A.; YAMAUCHI, Y.; KUWAHARA, A.; KAMIYA, Y.; YAMAGUCHI, S. Gibberellin biosynthesis and response during Arabidopsis seed germination. **The Plant Cell**, Rockville, v. 15, n. 7, p. 1591-1604, 2003.

OKAMOTO, S.; KAWAGUCHI, M. Shoot HAR1 mediates nitrate inhibition of nodulation in *Lotus japonicus*. **Plant Signaling and Behavior**, Georgetown, v. 10, n. 5, e1000138, 2015.

OSAKABE, Y.; OSAKABE, K.; SHINOZAKI, K.; TRAN, L. P. Response of plants to water stress. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 5, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00086>>.

PANDEY, N.; IQBAL, Z.; PANDEY, B. K.; SAWANT, S. V. Phytohormones and drought stress: plant responses to transcriptional regulation. In: PANDEY, G. K. **Mechanism of plant hormone signaling under stress**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2017. cap. 16, p. 477-504.

PANDEY, V.; SHUKLA, A. Acclimation and tolerance strategies of rice under drought stress. **Rice Science**, Hangzhou, v. 22, n. 4, p. 147-161, 2015.

PAPARELLI, E.; PARLANTI, S.; GONZALI, S.; NOVI, G.; MARIOTTI, L.; CECCARELLI, N.; VAN DONGEN, J. T.; KÖLLING, K.; ZEEMAN, S. C.; PERATA, P. Nighttime sugar starvation orchestrates gibberellin biosynthesis and plant growth in *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, Rokville, v. 25, n. 10, p. 3760-3769, 2013.

PASSARDI, F., COSIO, C.; PENEL, C.; DUNAND, C. Peroxidases have more functions than a swiss army knife. **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 24, n. 5, p. 255-265, 2005.

PASSARDI, F.; PENEL, C.; DUNAND, C. Performing the paradoxical: how plant peroxidases modify the cell wall. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 9, n. 11, p. 534-540, 2004.

PEET, M.; SATO, S.; CLÉMENT, C.; PRESSMAN, E. Heat stress increases sensitivity of pollen, fruit and seed production in tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.) to non-optimal vapor pressure deficits. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 618, p. 209-215, 2002. Disponível em: <<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.618.23>>.

PERES, L. E. P.; CARVALHO, R. F.; ZSÖGÖN, A.; BERMÚDEZ-ZAMBRANO, O. D.; ROBLES, W. G. R.; TAVARES, S. Grafting of tomato mutants onto potato rootstocks: an approach to study leaf-derived signaling on tuberization. **Plant Science**, Shannon, v. 169, n. 4, p. 680-688, 2005.

PHINNEY, B. O.; WEST, C. A.; RITZEL, M.; NEELY, P. M. Evidence for 'gibberellin-like' substances from flowering plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 43, n., 5, p. 398-404, 1957.

PLAZA-WÜTHRICH, S.; BLÖSCH, R.; RINDISBACHER, A.; CANNAROZZI, G.; TADELE, Z. Gibberellin deficiency confers both lodging and drought tolerance in small cereals. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 7, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00643>>.

PLESE, L. P. M.; TIRITAN, C. S.; YASSUDA, E. I.; PROCHNOW, L. I.; CORRENTE, J. E.; MELLO, S. C. Efeitos da aplicação de cálcio e de boro na ocorrência de podridão apical e produção de tomate em estufa. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 1, n. 1, p. 144-148, 1998.

PNUELI, L.; CARMEL-GOREN, L.; HAREVEN, D.; GUTFINGER, T.; ALVAREZ, J. P.; GANAL, M.; ZAMIR, D.; LIFSCHITZ, E. The SELF-PRUNING gene of tomato regulates vegetative to reproductive switching of sympodial meristems and is the ortholog of CEN and TFL1. **Development**, Cambridge, v. 125, n. 11, p. 1979-1989, 1998.

POSPISILOVÁ, J. Participation of phytohormones in the stomatal regulation of gas exchange during water stress. **Biologia Plantarum**, Dordrecht, v. 46, n. 4, p 491-506, 2003.

PRADO, R. M.; SANTOS, V. H. G.; GONDIM, A. R. O.; ALVES, A. U.; CECÍLIO FILHO, A. B.; CORREIA, M. A. R. Crescimento e marcha de absorção de nutrientes em tomateiro cultivar Raísa cultivado em sistema hidropônico. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 1, 19-30, 2011.

PRESSMAN, E.; PEET, M. M.; PHARR, D. M. The effect of heat stress on tomato pollen characteristics is associated with changes in carbohydrate concentration in the developing anthers. **Annals of Botany**, Oxford, v. 90, n. 5, p. 631-636, 2002.

RAIOLA, A.; RIGANO, M. M.; CALAFIORE, R.; FRUSCIANTE, L.; BARONE, A. Enhancing the health-promoting effects of tomato fruit for biofortified food. **Mediators of Inflammation**, Sylvania, 139873, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2014/139873>>.

REGNAULT, T.; DAVIÈRE, J-M; WILD, M.; SAKVARELIDZE-ACHARD, L.; HEINTZ, D.; BERGUA, E. C.; LÓPEZ-DÍAZ, I.; GONG, F.; HEDDEN, P.; ACHARD, P. The gibberellin precursor GA<sub>12</sub> acts as a long-distance growth signal in Arabidopsis. **Nature Plants**, London, v. 1, n. 6, p. 1-6, 2015.

RHEE, S. G.; CHANG, T.; JEONG, W.; KANG, D. Methods for detection and measurement of hydrogen peroxide inside and outside of cells. **Molecules and Cells**, Seoul, v. 29, n. 6, p. 539-549, 2010.

RICHARDS, D. E.; KING, K. E.; AIT-ALI, T.; HARBERD, N. P. How gibberellin regulates plant growth and development: a molecular genetic analysis of gibberellin signaling. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 52, p. 67-88, 2001. Disponível em: <<https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.52.1.67>>.

SAKATA, Y.; OHARA, T.; SUGIYAMA, M. The history and present state of the grafting of cucurbitaceous vegetables in Japan. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 731, p. 159-170, 2007.

SANTOS, L. S.; MELO, R. A.; SANTOS, P. R.; CARVALHO FILHO, J. L. S.; MENEZES, D. Tolerance to high temperature in F<sub>5</sub> inbred lines of tomato. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 2, p. 152-158, 2014.

SATO, S.; KAMIYAMA, M.; IWATA, T.; MAKITA, N.; FURUKAWA, H.; IKEDA, H. Moderate increase of mean daily temperature adversely affects fruit set of *Lycopersicon esculentum* by disrupting specific physiological processes in male reproductive development. **Annals of Botany**, Oxford, v. 97, n. 5, p. 731–738, 2006.

SATO, S.; PEET, M. M.; THOMAS, J. F. Determining critical pre-and post-anthesis periods and physiological processes in *Lycopersicon esculentum* Mill. exposed to moderately elevated temperatures. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, p. 1187-1195, 2002.

SCHACHTMAN, D. P.; GOODGER, J. Q. D. Chemical root to shoot signaling under drought. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 13, n. 6, p. 281-287, 2008.

SCHOLANDER, P. F.; HAMMEL, H. T.; HEMMINGSEN, E. A.; BRADSTREET, E. D. Hydrostatic pressure and osmotic potential in leaves of mangroves and some other plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 52, n. 1, p. 119-125, 1964.

SCHWARZ, D.; ROUPHAEL, Y.; COLLA, G.; VENEMA, J. H. Grafting as a tool to improve tolerance of vegetables to abiotic stresses: thermal stress, water stress and organic pollutants. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 127, n. 2, p. 162-171, 2010.

SCHWECHHEIMER, C. Gibberellin signaling in plants – the extended version. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 2, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fpls.2011.00107>>.

SCOTT, J. W.; HARBAUGH, B. K. **Micro-Tom: a miniature dwarf tomato**. Florida: Florida Agricultural Experimental Station Circular, 1989, 6 p. 1989. (University of Florida, Agricultural Experimental Station, S-370).

SEO, M.; JIKUMARU, Y.; KAMIYA, Y. Profiling of hormones and related metabolites in seed dormancy and germination studies. **Methods in Molecular Biology**, Clifton, v. 773, p. 99-111, 2011.

SETO, Y.; YAMAGUCHI, S. Strigolactone biosynthesis and perception. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 21, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.pbi.2014.06.001>>.

SHERWOOD, S.; FU, Q. A drier future? **Science**, New York, v. 343, n. 6172, p. 737-739, 2014.

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.

SKIRY CZ, A.; INZÉ, D. More from less: plant growth under limited water. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 21, n. 2, p. 197-203, 2010.

SOUSA, A. A.; GRIGIO, M. L.; NASCIMENTO, C. R.; SILVA, A. C. D.; REGO, E. R.; REGO, M. M. Caracterização química e física de frutos de diferentes acessos de tomateiro em casa de vegetação. **Revista Agroambiente**, Boa Vista, v. 5, n. 2, p. 113-118, 2011.

SPIEGELMAN, Z.; HAM, B. K.; ZHANG, Z.; TOAL, T. W.; BRADY, S. M.; ZHENG, Y.; FEI, Z.; LUCAS, W. J.; WOLF, S. A tomato phloem-mobile protein regulates the shoot-to-root ratio by mediating the auxin response in distant organs. **The Plant Journal**, Oxford, v. 83, n. 5, p. 853-863, 2015.

STOCKER, T.; QIN, D.; PLATTNER, G-K.; TIGNOR, M.; ALLEN, S. K.; BOSCHUNG, J.; NAUELS, A.; XIA, Y.; BEX, V.; MIDGLEY, P. M. **Climate Change 2013: Summary for policymakers**. Cambridge: University Press, 2013, p. 33

STOLL, M.; LOVEYS, B.; DRY, P. Hormonal changes induced by partial rootzone drying of irrigated grapevine. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, n. 350, p. 1627-1634, 2000.

STOWE, B. B.; YAMAKI, T. The history and physiological of the gibberellins. **Annual Review Plant Physiology**, Palo Alto, v. 8, p. 181-216, 1957. Disponível em: <<https://doi.org/10.1146/annurev.pp.08.060157.001145>>.

SUN, T-P.; GUBLER, F. Molecular mechanisms of gibberellin signaling in plants. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 55, p. 197-223, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141753>>.

SUSSMILCH, F. C.; BRODRIBB, T. J.; MCADAM, S. A. M. What are the evolutionary origins of stomatal responses to abscisic acid (ABA) in land plants? **Journal of Integrative Plant Biology**, Carlton South, v. 59, n. 4, p. 240-260, 2017.

TABATA, R.; SUMIDA, K.; YOSHII, T.; OHYAMA, K.; SHINOHARA, H.; MATSUBAYASHI, Y. Perception of root-derived peptides by shoot LRR-RKs mediates systemic N-demand signaling. **Science**, New York, v. 346, n. 6207, p. 343-346, 2014.

TAJ, M. K.; SAMREEN, Z.; LING, J. X.; TAJ, I.; YUNLIN, W. *Escherichia coli* as a model organism. **International Journal of Engineering Research and Science and Technology**, Gandhinagar, v. 3, n. 2, p. 1-10, 2014.

TENHAKEN, R. Cell wall remodeling under abiotic stress. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 5, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00771>>.

TOMASI, N.; DE NOBILI, M.; GOTTARDI, S.; ZANIN, L.; MIMMO, T.; VARANINI, Z.; RÖMHELD, V.; PINTON, R.; CESCO, S. Physiological and molecular characterization of Fe acquisition by tomato plants from natural Fe complexes. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v. 49, n. 2, p. 187-200, 2012.

TRAMONTINI, S.; VITALI, M.; CENTIONI, L.; SCHUBERT, A.; LOVISOLO, C. Rootstock control of scion response to water stress in grapevine. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 93, p. 20-26, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.04.001>>.

TRNKA, M.; HLAVINKA, P.; SEMENOV, M. A. Adaptation options for wheat in Europe will be limited by increased adverse weather events under climate change. **Journal of The Royal Society Interface**, London, v. 12, n. 112, p. 1-7, 2015.

TURNBULL, C. G. N.; BOOKER, J. P.; LEYSER, H. M. O. Micrografting techniques for testing long-distance signalling in Arabidopsis. **The Plant Journal**, Oxford, v. 32, n. 2, p. 255-262, 2002.

TURNBULL, C. G. N.; LOPEZ-COBOLLO, R. N. Heavy traffic in the fast lane: long-distance signalling by macromolecules. **New Phytologist**, London, v. 198, n. 1, p. 33-51, 2013.

TURNER, N. C. Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water status. **Plant and Soil**, The Hague, v. 58, n. 3, p. 339-366, 1981.

UEGUCHI-TANAKA, M.; ASHIKARI, M.; NAKAJIMA, M.; ITOH, H.; KATOH, E.; KOBAYASHI, M.; CHOW, T. Y.; HSING, Y. C.; KITANO, H.; YAMAGUCHI, I.; MATSUOKA, M. *GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF1* encodes a soluble receptor for gibberellin. **Nature**, London, v. 437, n. 7059, p. 693-698, 2005.

UMEZAWA, T.; SUGIYAMA, N.; MIZOGUCHI, M.; HAYASHI, S.; MYOUGA, F.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; ISHIHAMA, Y.; HIRAYAMA, T.; SHINOZAKI, K. Type 2C protein phosphatases directly regulate abscisic acid-activated protein kinases in Arabidopsis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 106, n. 41, p. 17588-17593, 2009.

VALE, F. X. R.; FERNANDES FILHO, E.; LIBERATO, J. R. Quant – a software for plant disease severity assessment. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT PATHOLOGY, 2003. Christchurch. **Resumos...** Christchurch: 2003. p. 105.

VAN TUINEN, A.; PETERS, 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. **Physiologia Plantarum**, Lund, v. 106, n. 1, p. 121-128, 1999.

VERMA, V.; RAVINDRAN, P.; KUMAR, P. P. Plant hormone-mediated regulation of stress responses. **BMC Plant Biology**, London, v. 16, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s12870-016-0771-y>>.

VIJAYALAKSHMI, D.; VIJAY, S. K.; RAMAKRISHNAN, P.; PERIYASAMY, S.; SUNDARAM, S.; CHENNIAPPAN, V. Effects of exogenous ABA application on stomatal regulation of gas exchange parameters and calculated water use efficiency in major pulses of Tamil Nadu, India. **Indian Journal of Agricultural Research**, Haryana, v. 48, n. 4, p. 324-328, 2014.

VISENTIN, I.; VITALI, M.; FERRERO, M.; ZHANG, Y.; RUYTER-SPIRA, C.; NOVAK, O.; STRNAD, M.; LOVISOLO, C.; SCHUBERT, A.; CARDINALE, F. Low levels of strigolactones in roots as a component of the systemic signal of drought stress in tomato. **New Phytologist**, London, v. 212, n. 4, p. 954-963, 2016.

VIUDA-MARTOS, M.; SANCHEZ-ZAPATA, E.; SAYAS-BARBERÁ, E.; SENDRA, E.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. Tomato and tomato byproducts. Human health benefits of lycopene and its application to meat products: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, London, v. 54, n. 8, p. 1032-1049, 2014.

WANG, C.; YANG, A.; YIN, H.; ZHANG, J. Influence of water stress on endogenous hormone contents and cell damage of maize seedlings. **Journal of Integrative Plant Biology**, Carlton South, v. 50, n. 4, p. 427-434, 2008.

WANG, S. S.; LIU, Z. Z.; SUN, C.; SHI, Q. H.; YAO, Y. X.; YOU, C. X.; HAO, Y. J. Functional characterization of the apple *MhGAI1* gene through ectopic expression and grafting experiments in tomatoes. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 169, n. 3, p. 303-310, 2012.

WANG, X.; LI, J.; BAN, L.; WU, Y.; WU, X.; WANG, Y.; WEN, H.; CHAPURIN, V.; DZYUBENKO, N.; LI, Z.; WANG, Z.; GAO, H. Functional characterization of a gibberellin receptor and its application in alfalfa biomass improvement. **Scientific Reports**, London, v. 7, 2017. Disponível em: <<http://doi.org/10.1038/srep41296>>.

WANG, Y.; DENG, D. Molecular basis and evolutionary pattern of GA-GID1-DELLA regulatory module. **Molecular Genetics and Genomics**, Berlin, v. 289, n. 1, p. 1-9, 2014.

WARD, J. M.; SCHROEDER, J. Calcium-activated K<sup>+</sup> channels and calcium-induced calcium release by slow vacuolar ion channels in guard cell vacuoles implicated in the control of stomatal closure. **The Plant Cell**, Rockville, v. 6, p. 669-683, 1994.

XU, H.; IWASHIRO, R.; LI, T.; HARADA, T. Long-distance transport of *Gibberellic Acid Insensitive* mRNA in *Nicotiana benthamiana*. **BMC Plant Biology**, London, v. 13, 2013. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2229/13/165>>.

XU, H.; ZHANG, W.; LI, M.; HARADA, T.; HAN, Z.; LI, T. *Gibberellic acid insensitive* mRNA transport in both directions between stock and scion in *Malus*. **Tree Genetics and Genomes**, Heidelberg, v. 6, p. 1013-1019, 2010.

XU, Z.; ZHOU, G.; SHIMIZU, H. Plant responses to drought and rewatering. **Plant Signaling and Behavior**, Georgetown, v. 5, n. 6, p. 649–654, 2010.

YAMAGUCHI, S. Gibberellin metabolism and its regulation. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 59, p. 225-251, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092804>>.

YAMAGUCHI, S.; KAMIYA, Y. Gibberellin biosynthesis : its regulation by endogenous and environmental signals. **Plant and Cell Physiology**, Tokyo, v. 41, n. 3, p. 251-257, 2000.

YANO, K.; WATANABE, M.; YAMAMOTO, N.; TSUGANE, T.; AOKI, K.; SAKURAI, N.; SHIBATA, D. MiBASE: a database of a miniature tomato cultivar Micro-Tom. **Plant Biotechnology**, Tokyo, v. 23, n. 2, p. 195-198, 2006.

ZAMOJC, K.; ZDROWOWICZ, M.; JACEWICZ, D.; WYRZYKOWSKI, D.; CHMURZYNSKI, L. Fluorescent probes used for detection of hydrogen peroxide under biological conditions. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, Boca Raton, v. 46, n. 3, p. 171-200, 2016.

ZHOU, Y.; UNDERHILL, S. J. R. Breadfruit (*Artocarpus altilis*) gibberellin 20-oxidase genes: sequence variants, stem elongation and abiotic stress response. **Tree Genetics and Genomes**, Heidelberg, v. 11, n. 84, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11295-015-0909-3>>.

## APÊNDICES

Tabela 1A. Valores do coeficiente de correlação de Pearson entre os níveis foliares de ácido abscísico (ABA), giberelina A<sub>4</sub> (GA<sub>4</sub>), GA<sub>1</sub>, GA<sub>9</sub>, peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e a taxa de transpiração (*E*), condutância estomática (*gs*), assimilação de CO<sub>2</sub> (*A*) e eficiência intrínseca de uso da água (EUA<sub>i</sub>).

Compostos bioquímicos	Trocas gasosas			
	<i>E</i>	<i>gs</i>	<i>A</i>	EUA <sub>i</sub>
ABA	-0,4234*	-0,5790**	-0,5456**	0,5498**
GA <sub>4</sub>	0,4279*	0,8541**	0,5490**	-0,6307**
GA <sub>1</sub>	0,2250 <sup>ns</sup>	0,7026**	-0,3067 <sup>ns</sup>	-0,5187**
GA <sub>9</sub>	0,5115*	0,8918**	0,5841**	-0,6663**
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	-0,5125*	-0,7225**	-0,6396**	0,5694**

ns, não significativa; \*,  $P < 0,05$ ; \*\*,  $P < 0,01$ .

Tabela 1B. Relação entre ácido abscísico (ABA) e giberelinas com atividade biológica (giberelina A<sub>1</sub>, GA<sub>1</sub>; giberelina A<sub>4</sub>, GA<sub>4</sub>) nas folhas de plantas de Micro-Tom (MT) e *procera* (*pro*) auto e reciprocamente enxertadas cultivadas em condição irrigada e déficit hídrico. O primeiro genótipo de cada combinação indica o enxerto, e o segundo o porta-enxerto. Plantas controle foram irrigadas durante todo o experimento. As letras representam as diferenças entre as combinações de enxertia em cada condição, e os asteriscos as diferenças entre condições em uma mesma combinação de enxertia, calculadas por meio do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Relação hormonal	Tratamentos							
	MT/MT		<i>pro/pro</i>		MT/ <i>pro</i>		<i>pro</i> /MT	
	Irrigado	Estresse	Irrigado	Estresse	Irrigado	Estresse	Irrigado	Estresse
ABA/GA <sub>4</sub>	1762,9 b	4239,4 c*	4493,5 a	21026,3 ab*	813,7 b	13591,3 bc*	6895,5 a	31685,5 a*
ABA/GA <sub>1</sub>	1676,7 b	2514,7 b	3503,6 a	3718,9 a	763,4 b	2739,3 ab*	2919,7 a	3597,8 ab
ABA/GA <sub>4</sub> +GA <sub>1</sub>	854,8 b	1575,3 b*	1967,1 a	3158,3 a*	386,4 b	2194,9 b*	2007,8 a	3208,4 a*

Tabela 1C. Conteúdo das giberelinas A<sub>1</sub> (GA<sub>1</sub>), GA<sub>4</sub> e GA<sub>12</sub> e ácido abscísico (ABA) na parte superior e inferior do caule de plantas de Micro-Tom (MT) e *procera* (*pro*) auto e reciprocamente enxertadas cultivadas em condição irrigada e déficit hídrico. O primeiro genótipo de cada combinação indica o enxerto, e o segundo o porta-enxerto. Plantas controle foram irrigadas durante todo o experimento. As letras representam as diferenças entre as combinações de enxertia em cada condição, e os asteriscos as diferenças entre condições em uma mesma combinação de enxertia, calculadas por meio do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Hormônios (ng g <sup>-1</sup> MF)	Tratamentos							
	MT/MT		<i>pro/pro</i>		MT/ <i>pro</i>		<i>pro</i> /MT	
	Irrigado	Estresse	Irrigado	Estresse	Irrigado	Estresse	Irrigado	Estresse
<b>Porção superior do caule</b>								
GA <sub>1</sub>	2,13 a	0,93 a	1,08 b	0,98 a	1,72 ab	1,38 a	1,59 ab	1,27 a
GA <sub>4</sub>	2,86 a	0,44 b*	1,52 b	1,62 a	1,00 b	1,72 a*	0,99 b	1,62 a*
GA <sub>12</sub>	154,11 b	173,53 a	174,57 b	255,39 a	382,30 a	252,50 a*	150,50 b	219,53 a
ABA	855,45 b	1332,05 b*	856,93 b	1772,90 a*	729,98 b	1697,78 ab*	1480,02 a	1405,79 ab
<b>Porção inferior do caule</b>								
GA <sub>1</sub>	0,57 b	0,67 b	0,54 ab	1,05 ab	1,70 ab	0,45 ab	1,26 a	2,43 a
GA <sub>4</sub>	0,36 bc	0,38 ab	0,48 ab	0,41 a	0,69 a	0,15 b*	0,15 c	0,26 ab
GA <sub>12</sub>	1335,37 a	516,87 b	400,78 b	663,39 ab	582,06 b	393,20 b	657,84 b	1002,07 a
ABA	935,44 b	1263,20 b*	784,13 c	857,64 d*	784,63 c	1088,22 c*	1209,82 a	1941,07 a*

Tabela 1D. Conteúdo das giberelinas A<sub>15</sub> (GA<sub>15</sub>), GA<sub>24</sub>, GA<sub>51</sub>, GA<sub>9</sub>, GA<sub>34</sub>, GA<sub>53</sub>, GA<sub>44</sub>, GA<sub>19</sub>, GA<sub>20</sub>, GA<sub>29</sub> e GA<sub>8</sub> nas folhas de plantas de Micro-Tom (MT) e *procera* (*pro*) auto e reciprocamente enxertadas cultivadas em condição irrigada e déficit hídrico por sete dias. O primeiro genótipo de cada combinação indica o enxerto, e o segundo o porta-enxerto. Plantas controle foram irrigadas durante todo o experimento. As letras representam as diferenças entre as combinações de enxertia em cada condição, e os asteriscos as diferenças entre condições em uma mesma combinação de enxertia, calculadas por meio do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Enxertia	Condição	Giberelinas (ng g <sup>-1</sup> MF)										
		GA <sub>15</sub>	GA <sub>24</sub>	GA <sub>51</sub>	GA <sub>9</sub>	GA <sub>34</sub>	GA <sub>53</sub>	GA <sub>44</sub>	GA <sub>19</sub>	GA <sub>20</sub>	GA <sub>29</sub>	GA <sub>8</sub>
MT/MT	Irrigada	0,71 b	0,29 c	0,16 b	0,41 c	10,59 b	2,69 b	0,81 b	1,22 b	10,10 a	3,67 a	26,84 b
	Estresse	0,32 ab*	0,25 b	0,56 a*	0,35 a	8,99 b*	2,39 b	0,30 a*	1,04 b*	7,24 a*	2,44 a*	24,18 a*
<i>pro/pro</i>	Irrigada	0,80 b	1,06 a	0,47 a	0,53 b	8,83 b	5,76 a	0,61 c	2,79 a	2,30 b	0,62 b	5,46 c
	Estresse	0,15 b*	0,49 a*	0,36 ab	0,34 a*	3,07 c*	3,20 a*	0,28 a*	2,13 a*	1,23 b*	0,75 b	3,70 b*
MT/ <i>pro</i>	Irrigada	1,73 a	0,46 c	0,42 a	0,81 a	23,77 a	2,70 b	1,09 a	1,50 b	8,62 a	3,44 a	45,08 a
	Estresse	0,32 ab*	0,32 ab	0,16 b*	0,28 a*	11,91 a*	1,87 b*	0,31 a*	1,37 b*	6,39 a*	2,54 a*	23,83 a*
<i>pro</i> /MT	Irrigada	0,48 b	0,71 b	0,40 ab	0,43 c	3,20 c	2,10 b	0,47 d	2,59 a	1,28 b	0,50 b	3,60 c
	Estresse	0,60 a	0,32 ab*	0,21 b*	0,31 a*	1,43 c**	2,53 ab	0,25 a*	1,93 a*	0,53 b*	0,42 b	2,71 b

Tabela 1E. Conteúdo das giberelinas A<sub>15</sub> (GA<sub>15</sub>), GA<sub>24</sub>, GA<sub>51</sub>, GA<sub>9</sub>, GA<sub>34</sub>, GA<sub>53</sub>, GA<sub>44</sub>, GA<sub>19</sub>, GA<sub>20</sub>, GA<sub>29</sub> e GA<sub>8</sub> na parte superior do caule de plantas de Micro-Tom (MT) e *procera* (*pro*) auto e reciprocamente enxertadas cultivadas em condição irrigada e déficit hídrico por sete dias. O primeiro genótipo de cada combinação indica o enxerto, e o segundo o porta-enxerto. Plantas controle foram irrigadas durante todo o experimento. As letras representam as diferenças entre as combinações de enxertia em cada condição, e os asteriscos as diferenças entre condições em uma mesma combinação de enxertia, calculadas por meio do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Enxertia	Condição	Gibberellins (ng g <sup>-1</sup> MF)										
		GA <sub>15</sub>	GA <sub>24</sub>	GA <sub>51</sub>	GA <sub>9</sub>	GA <sub>34</sub>	GA <sub>53</sub>	GA <sub>44</sub>	GA <sub>19</sub>	GA <sub>20</sub>	GA <sub>29</sub> *	GA <sub>8</sub>
MT/MT	Irrigada	9,50 ab	2,85 a	0,26 a	0,88 a	5,95 a	11,34 ab	12,33 c	17,05 a	1,13 a	-	6,06 a
	Estresse	3,48 b*	0,82 a*	0,58 a*	0,62 ab*	4,54 a*	2,32 a*	3,01 a*	7,06 a*	0,60 a	-	1,63 b*
<i>pro/pro</i>	Irrigada	10,10 a	1,60 b	0,45 a	0,49 b	4,02 ab	12,11 a	19,42 a	13,68 a	0,50 b	-	1,13 b
	Estresse	6,33 a*	1,10 a*	0,46 a	0,72 ab*	3,36 ab*	3,15 a*	3,58 a*	6,89 a*	0,33 ab	-	2,00 b
MT/ <i>pro</i>	Irrigada	7,52 b	1,66 b	0,25 a	0,45 b	4,94 a	8,70 bc	15,84 b	14,70 a	0,39 b	-	2,31 b
	Estresse	3,27 b*	1,28 a	0,43 a*	0,87 a*	3,31 a*	2,71 a*	2,75 a*	8,22 a*	0,51 a	-	6,16 a*
<i>pro</i> /MT	Irrigada	5,03 c	1,35 b	0,39 a	0,37 b	2,20 b	7,88 c	3,81 d	8,66 b	0,31 b	-	0,52 b
	Estresse	5,21 ab	0,75 a*	0,39 a	0,49 b	1,25 b*	3,88 a*	1,77 a*	6,00 a*	0,18 b	-	1,17 b*

\* Não detectado

Tabela 1F. Conteúdo das giberelinas A<sub>15</sub> (GA<sub>15</sub>), GA<sub>24</sub>, GA<sub>51</sub>, GA<sub>9</sub>, GA<sub>34</sub>, GA<sub>53</sub>, GA<sub>44</sub>, GA<sub>19</sub>, GA<sub>20</sub>, GA<sub>29</sub> e GA<sub>8</sub> na parte inferior do caule de plantas de Micro-Tom (MT) e *procera* (*pro*) auto e reciprocamente enxertadas cultivadas em condição irrigada e déficit hídrico por sete dias. O primeiro genótipo de cada combinação indica o enxerto, e o segundo o porta-enxerto. Plantas controle foram irrigadas durante todo o experimento. As letras representam as diferenças entre as combinações de enxertia em cada condição, e os asteriscos as diferenças entre condições em uma mesma combinação de enxertia, calculadas por meio do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Enxertia	Condição	Gibberellins (ng g <sup>-1</sup> MF)										
		GA <sub>15</sub>	GA <sub>24</sub>	GA <sub>51</sub>	GA <sub>9</sub>	GA <sub>34</sub>	GA <sub>53</sub>	GA <sub>44</sub>	GA <sub>19</sub>	GA <sub>20</sub>	GA <sub>29</sub>	GA <sub>8</sub>
MT/MT	Irrigada	4,79 a	1,67 b	0,16 a	0,40 b	0,66 b	5,51 a	2,87 a	3,46 a	1,20 ab	0,14 ab	0,28 a
	Estresse	0,87 a*	0,99 bc	0,21 a	0,19 b*	0,50 a	1,40 b*	0,30 b*	0,71 b*	0,17 a*	0,08 b	0,65 b*
<i>pro/pro</i>	Irrigada	5,08 a	1,45 bc	0,30 a	0,63 a	0,51 b	4,03 a	0,65 c	1,32 b	1,09 bc	0,05 b	0,22 a
	Estresse	0,89 a*	1,38 ab	0,24 a	0,29 a*	0,59 a	2,40 b*	0,41 b	1,42 a	0,27 a*	0,19 ab*	1,54 a*
MT/ <i>pro</i>	Irrigada	3,15 a	2,27 a	0,23 a	0,50 ab	1,12 a	3,85 a	1,90 b	2,87 a	1,48 a	0,23 a	0,16 a
	Estresse	0,56 a*	0,84 c	0,21 a	0,18 ab*	0,28 b*	1,28 b*	0,37 b*	0,85 b*	0,15 a*	0,18 ab	0,15 c
<i>pro</i> /MT	Irrigada	2,75 a	1,23 c	0,23 a	0,46 ab	0,65 a	5,05 a	1,25 bc	1,26 b	0,78 b	0,07 b	0,17 a
	Estresse	0,90 a*	1,55 a	0,25 a	0,23 ab*	0,46 ab*	4,85 a	1,36 a*	3,26 a*	0,34 a*	0,27 a*	1,71 a*