

## ESTRESSE SALINO SOB A TAXA DE VIABILIDADE POLÍNICA DE CULTIVARES DE TOMATEIRO

### *SALINO STRESS UNDER THE POLLEN VIABILITY RATE OF TOMATO CULTIVARS*

John Silva Porto<sup>1</sup>, Erlani de Oliveira Alves<sup>2</sup>, Darlaine Maria Ferreira<sup>3</sup>, Ana Paula Barreto Públio<sup>4</sup>, José Rafael de Souza<sup>5</sup>, Tiyoko Nair Hojo Rebouças<sup>6</sup>, Cláudio Lúcio Fernandes Amaral<sup>7</sup>

**RESUMO** - O tomate possui grande importância econômica e alimentar no mundo. O tomateiro é classificada como moderadamente sensível à salinidade, embora possa existir resposta diferenciada entre as. A alta salinidade do solo pode resultar em redução drástica do número de pólen, porcentagem de germinação, redução do crescimento do tubo polínico e gametófito masculino de baixa fertilidade, características estas de suma relevância para o melhoramento genético. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito do estresse salino sob a taxa de viabilidade polínica de diferentes cultivares de tomateiro. O experimento foi conduzido no Laboratório da Biofábrica no *Campus* da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia-BA. Foram coletadas cinco flores espontâneas de cinco híbridos de tomateiro: Dulce; Sweet Grape; Mascot; Sweer Haaven e AF, previamente selecionadas, com base em seu aspecto fitossanitário, em área experimental de tomate híbrido em plena condução. A coleta foi realizada no início da manhã e, posteriormente, levadas ao laboratório. As anteras foram extraídas e os grãos de pólen acondicionados em lâminas em meios de cultivo contendo 10% de sacarose, 1g de Agar e 100mL de água destilada com as soluções salinas. O pH destes meio foi ajustado para 6,5. Para seleção *in vitro* foram testados cinco meios de cultura com diferentes concentrações salinas (0, 25, 50, 75 e 100 mM) de NaCl. Os grãos de pólen foram incubados por quatro horas em B.O.D à 25° C. A contagem de grãos de pólen viáveis foi realizada com auxílio de microscópio óptico, e expressa em porcentagem de grãos viáveis. Empregou-se o delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições e os resultados foram submetidos à análise de variância, análise de regressão polinomial e médias comparadas pelo teste Tukey à 5% de probabilidade utilizado o programa estatístico SISVAR. Observaram-se variações na taxa de germinação dos grãos de pólen entre os híbridos Sweet Grape, Sweet Haven, Dulce e AF. As concentrações salinas influenciaram a germinação dos grãos de pólen. A taxa de germinação de pólen foi maior no meio de cultura contendo 0mM de NaCl e menor à 100mM de NaCl, o que significa que o sal influencia esta característica. A capacidade germinativa dos grãos de polén dos híbridos Sweet Grape, Sweet Haven, Dulce e AF, diminuiu linearmente em função dos níveis salinos. O híbrido AF apresentou alta sensibilidade a salinidade, obtendo a menor taxa germinativa de grão de pólen (44,11 %) e o

<sup>1</sup>Doutorando em Fitotecnia – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB

<sup>2</sup>Doutoranda em Produção Vegetal – Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC

<sup>3</sup>Mestranda em Fitotecnia – UESB

<sup>4</sup>Doutora em Fitotecnia – UESB

<sup>6</sup>Doutora em Produção Vegetal – UESB

<sup>7</sup>Doutor em Genética e Melhoramento de Plantas – UESB

hibrido mascote apresenta indícios de maior tolerância ao estresse salino com 86,67 % da taxa de grãos pólen viáveis. Foi observado que para VP, VG tem maior contribuição do que VE, sendo a razão CVG / CVE  $\geq 1$  e alta a herdabilidade é fácil fazer seleção para este caráter.

**Palavra-chave:** *Solanum lycopersicum*, melhoramento genético, salinidade.

**ABSTRACT** - *The tomato is one of the most important vegetables in the world. The crop is classified as moderately sensitive to salinity, although there may be differential response between cultivars. High soil salinity can result in drastic reduction in the number of pollen germination percentage reduction in pollen tube growth and masculine gametophyte of low fertility, these characteristics extremely importance for genetic improvement. The objective was to evaluate the effect of salt stress on rate of pollen viability of different tomato cultivars. The experiment was conducted in the laboratory Biofactory at the State University of Southwest Bahia-BA, Brasil. Five spontaneous flowers of five tomato hybrids were collected: Dulce, Sweet Grape, Mascot, Sweet Haven e AF, previously selected based on phytosanitary aspect, in an area of hybrid tomato in full conduction. The collection of flowers was carried out early in the morning and then taken to the laboratory. The anthers were extracted and pollen grains conditioned in blades in culture media containing 10% sucrose, 1 g of agar and 100 ml of distilled water with salt solutions. The pH thereof was adjusted to 6.5. For in vitro selection Five culture media with different salt concentrations (0, 25, 50, 75 and 100 mM) of NaCl were tested. Pollen grains were incubated for four hours at 25 ° C in BOD. The count of viable pollen was carried out with the aid of an optical microscope, and expressed as percentage of viable grains. The design was analyzed as a completely randomized design with four replications and the results were submitted to analysis of variance, polynomial regression analysis and means were compared by Tukey test at 5% probability used the SISVAR statistical program. Observed variations in the rate of germination of pollen grains among hybrids: Sweet Grape, Sweet Haven, Dulce and AF. The salt concentrations affected the germination of pollen grains. Pollen germination rate was higher in the culture media containing 0mM of NaCl and less to 100 mM of NaCl, which means that the salt influences this characteristic. The germination of pollen grains of the hybrid Sweet Grape, Sweet Haven, Dulce and AF decreased linearly with salinity levels. The hybrid AF showed high sensitivity to salinity, obtaining the lowest germination rate of pollen grain. It was observed that for VP, VG has a greater contribution than VE, CVG / CVE ratio  $\geq 1$  and high heritability is easy to select for this character.*

**Keywords:** *Solanum lycopersicum*, genetic improvement, salinity.

## INTRODUÇÃO

O tomate é uma das hortaliças de maior importância no mundo. No Brasil, considerando os aspectos socioeconômicos, é a hortaliça mais importante e por

isso, destaca-se como um dos maiores produtores mundiais (CARVALHO et al., 2007; HIGUTI et al., 2010).

O tomateiro é uma cultura classificada como moderadamente sensível à salinidade, embora possa existir resposta diferenciada entre as cultivares, quando submetidas a condições ambientais estressantes (ALIAN et al., 2000).

A alta salinidade do solo pode resultar em redução drástica do número de pólen e na porcentagem de germinação, bem como na redução da taxa de crescimento do tubo polínico acarretando na formação de um gametófito masculino de baixa fertilidade (HESLOP - HARRISON, 1987). Em decorrência dos fatores outrora citados, nas plantas sensíveis à salinidade, ocorrerá maior formação de plantas anormais com baixa produção de frutos e sementes (ESTEVES & SUZUKI, 2008; DIAS, et al., 2011).

Conhecer a viabilidade do pólen é fundamental na produção de sementes híbridas, particularmente em espécies onde há a possibilidade de hibridação artificial, (FREITAS, et al., 2009) podendo ser verificada através de diferentes métodos: *in vitro* (ALMEIDA et al., 2010; AZEVEDO et al., 2012), *in vivo* (KAUSHIK, 2003; FREITAS et al., 2009; AZEVEDO et al., 2012; FERREIRA, et al., 2016).

Existe poucas informações referentes a pesquisa de métodos que determinam a viabilidade polínica em programas de melhoramento genético, visando realizar uma prévia seleção de genótipos sob condições adversas. Assim, este trabalho objetivou avaliar o efeito do estresse salino sob a taxa de viabilidade polínica de cultivares de tomateiro

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, município de Vitória da Conquista- Ba, situada a Latitude: 14° 51' 57", Longitude: 40° 50' 20" e Altitude 923 m.

As sementes de tomate cereja dos híbridos Dulce; Sweet grape; Mascot; Sweer Haven e AF foram plantadas em vaso e conduzido até 120 dias. Após o transplântio, foram marcadas 30 plantas e previamente selecionadas, com base em seu aspecto fitossanitário.

Após os 85 dias do transplante as flores dos híbridos Dulce; Sweet Grape; Mascot; Sweer Haaven e AF, foram coletadas no início da manhã, posteriormente levadas para a Biofábrica-UESB onde foram realizados os experimentos.

O teste de germinação *in vitro* consistiu na coleta, ao acaso, de 30 flores obtidas das plantas previamente selecionadas.

As anteras foram retiradas das flores e os grãos de pólen foram distribuídos em lâminas, sob placas de Petri contendo papel absorvente umedecido com água destilada, simulando uma câmara úmida, com 1 mL da solução contendo 5,0 % de sacarose (p/v), 5,0 % de Agar (p/v), 2,5% de Boro (p/v), isto é, 400ppm de  $H_3BO_3$ , 2,5% de Cálcio (p/v), ou seja, 400ppm de  $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$  e 700ppm de  $MnSO_4 \cdot H_2O$ . O pH foi fixado em 6,5. Foram testados cinco meios de cultura com diferentes concentrações de NaCl ( M1 = 0; M2 = 25; M3 = 50; M4= 75 e M5 = 100 mM). Os grãos de pólen foram incubados por quatro horas em B.O.D à 25° C. Após o período de incubação foram observadas, com auxílio de um microscópio óptico, os poléns germinados, cujo tubo polínico atingiu comprimento igual ou maior que seu próprio diâmetro, como sugerido por Yokas et al. (2008).

Para melhor visualização, foi utilizado o corante Azul de Amã, o qual é específico para esta finalidade, permitindo uma maior eficácia na identificação dos tubos. Empregou-se o delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, Os fatores avaliados neste estudo foram: i) cinco genótipos (Dulce; Sweet Grape; Mascot; Sweer Haaven e AF; ii) cinco concentrações de NaCl (0, 25, 50, 75 e 100 mM).

As estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos foram determinadas pela metodologia apresentada por Sunday et al., (2007) e Oyiga & Uguru (2010) utilizando-se as seguintes fórmulas:

1) Variabilidade Genotípica: 
$$V_g = \frac{MS_g - MSe}{r}$$

2) Variabilidade Fenotípica: 
$$V_p = \frac{MS_g}{r}$$

3) Variabilidade Ambiental: 
$$V_e = MSe$$

Onde:  $V_g$  = variância genotípica;  $V_p$  = Variância fenotípica;  $V_e$  = Variância ambiental  
 $M_s$  = quadrados médio do genótipo;  $M_{se}$  = quadrado médio do erro e  $r$  = números de repetições.

4) Coeficiente de Variação Genotípico:  $GCV = \frac{\sqrt{V_g}}{\bar{X}} \times 100$

5) Coeficiente de Variação Fenotípico:  $PCV = \frac{\sqrt{V_p}}{\bar{X}} \times 100$

6) Coeficiente de Variação Ambiental:  $ECV = \frac{\sqrt{V_e}}{\bar{X}} \times 100$

Onde: GVC, PCV e ECV = coeficiente de variação fenotípica, genotípica e ambiental, respectivamente e  $\bar{X}$  a média geral de cada tratamento.

7) Herdabilidade:  $h^2 = \frac{V_g}{V_p}$

Onde:  $V_g$  = variabilidade genotípica e  $V_p$  = variabilidade fenotípica.

8) Ganho Genético:  $G = i\Delta p h^2$

Onde:  $i$  = constante (que corresponde a 2,06 quando a intensidade de seleção é de 5%);  $\Delta p$  = desvio padrão da variância fenotípica e  $h^2$  = herdabilidade.

Os resultados foram submetidos à análise de variância, análise regressão polinomial e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ) utilizando o programa SISVAR versão 5.1.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se uma correlação na redução da porcentagem de pólen viáveis de tomate em cada fase de exposição para cada nível de salinidade (0 e 100 mM) para cada híbrido. Em termos de tolerância da cultura à salinidade, pode-se verificar que a porcentagem de pólenes viáveis do tomateiro um decréscimo unitário para cada fase de exposição. As concentrações salinas influenciaram na germinação dos grãos de pólenes do tomateiro, o que se justifica devido a alta susceptibilidade a ação de injúria provocada pelo sal em meio de cultura (ESTEVES & SUZUKI, 2008). De acordo com Heslop - Harrison (1987), quando este carboidrato encontra-se associado à outra substância, como por exemplo o NaCl, pode ocorrer um

comprometimento da germinação polínica, o que foi verificado neste experimento. Dados semelhantes foram encontrados na cultura da mamona (ALMEIDA et al., 2010).

A capacidade germinativa dos grãos de pólen dos híbridos Sweet Grape, Sweet Haven, Dulce e AF, diminuiu linearmente em função dos níveis salinos (FIGURA 1). O híbrido AF apresentou alta sensibilidade a salinidade, obtendo a menor taxa de pólen viável (44,11%) e, demonstrando que a salinidade pode ser considerada um fator limitante.

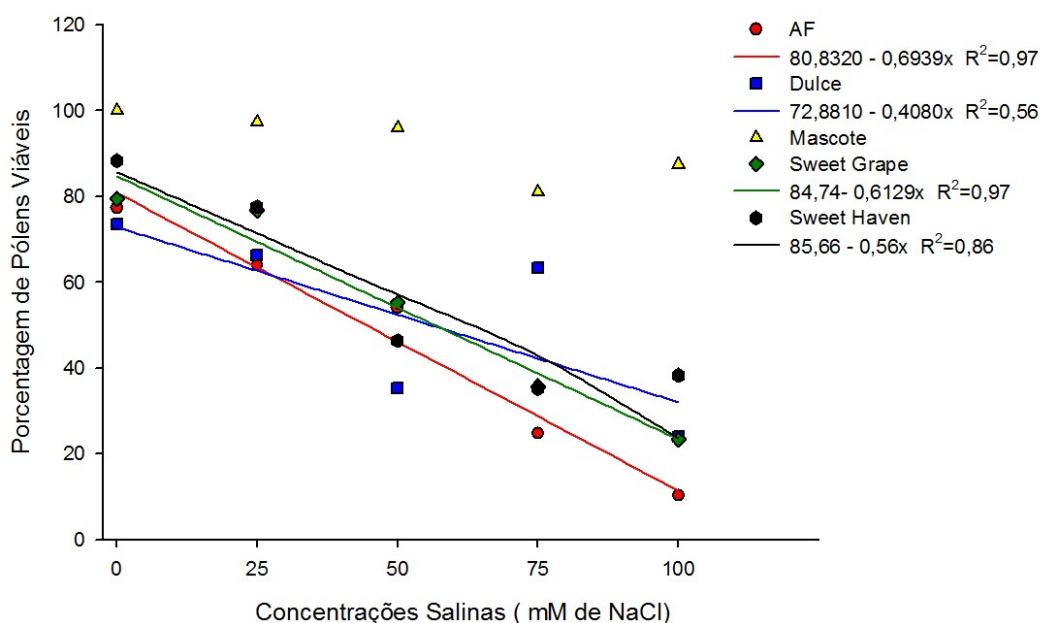


FIGURA 1. Concentrações salinas e taxa de viabilidade polínica de cultivares de tomateiro.

O híbrido mascote apresentou porcentagem de pólen viáveis (86,67 %) em concentrações elevadas da solução salina, talvez a sacarose presente no meio, promoveu o equilíbrio osmótico entre o pólen e o meio de germinação, fornecendo energia para o desenvolvimento do tubo polínico (ESTEVEZ & SUZUKI, 2008).

Para os parâmetros genéticos, observou que para VP, VG tem maior contribuição do que VE, sendo a razão  $CVG / CVE \geq 1$  e alta a herdabilidade é fácil fazer seleção para este caráter, pois o fenótipo reflete mais o genótipo, com isto sugere selecionar pelo comportamento das progênies ao invés do desempenho dos parentais (TABELA 1). Assim, quanto maior a taxa de germinação do pólen, tanto

maior tende a ser a variabilidade genética das espécies, sendo um aspecto relevante quando se pretende conservar, manejar e utilizar o germoplasma disponível.

Apesar da herdabilidade ser efetiva na seleção de genótipos superiores, o ganho genético é mais útil por predizer o efeito seletivo na escolha do melhor genótipo.

Tabela 1. Estimativas dos parâmetros genéticos obtidos dos híbridos de tomate Dulce; Sweet grape; Mascot; Sweer Haaven e AF para pólen viáveis em diferentes concentrações salinas. UESB, 2014.

Parâmetro	Estimativa
Variância fenotípica (VP)	1.670,41
Variância genotípica (VG)	1.605,0736
Variância ambiental (Ve)	65,3338
VGE	0
Coefficientes da variação fenotípica (PCV)	67,6125
Coefficientes da variação genotípica (GCV)	66,2771
Coefficientes da variação ambiental (ECV)	13,3716
Herdabilidade ( $H^2a$ )	0,960888
Y%	3,9112
i	0,0029
G	8,2618
Ganho genético (GA)	13,6675

O ganho genético é indicativo do tipo de ação gênica envolvido na expressão do caráter. Ganho genético alto indica ação gênica aditiva, baixo; não aditiva. Neste, trabalho obteve-se ganho genético médio (13,667%). Gosh et al., 2015 encontraram valor relativamente maior de GA (38,88%), juntamente com baixo valor para a herdabilidade para conjunto de flor.

O alto valor da herdabilidade pode ser devido ao ambiente que é favorável ao genótipo, portanto há interação genótipo x ambiente.

A herdabilidade mais alta que o ganho genético sugere ação gênica não – aditiva, o que pode dificultar a seleção. Por isto, pode-se indicar hibridação entre os materiais. Dados que corroboram com (READY et al., 2012; TIANNA et al., 2015).

## CONCLUSÕES

1. Há variabilidade genética entre os genótipos, com predominância dos efeitos genéticos sobre os ambientais, o que indica ser possível obter ganhos genéticos com o melhoramento.

2. O híbrido Mascote apresenta maior tolerância ao estresse salino indicando que é, portanto, importante para a seleção indireta, no melhoramento genético do tomate.

3. Os híbridos que menos toleraram o ambiente salino foram, em ordem decrescente AF> Sweet Grape> Sweet Haven> Dulce.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), CAPES e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo apoio financeiro a este projeto.

## REFERÊNCIAS

ALIAN, A.; ALTMAN, A.; HEUER, B. Genotypic difference in salinity and water stress tolerance of fresh tomato cultivars. **Plant Science**. Columbus, v.152, n.1, p.59-65. 2000.

ALMEIDA, L.A.H.; SAMPAIO, L.S.; SANT'ANA, M.R.; AMARAL, C.L.F. Seleção in vitro de mamona para resistência a estresse salino: Foco nas plantas espontâneas. **Irriga**, Botucatu, v. 15, n. 4, p. 414-421, outubro-dezembro 2010.

AZEVEDO, AM; ANDRADE JÚNIOR, VC; PEDROSA, CE; FERNANDES, JSC; VALADARES, NR; FERREIRA, MRA; MARTINS, RAV. Desempenho agrônomico e variabilidade genética em genótipos de couve. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 47: 1751-1758. 2012.

CARVALHO, J.C.; PAGLIUCA, L.G. Tomate: um mercado que não pára de crescer globalmente. **Revista Hortifruti Brasil** – São Paulo, v.6, n.58, p.6-14, 2007.

DIAS, N.S.; OLIVEIRA, A.M.; SOUSA NETO, O.N.; BLANCO, F.F.; REBOUÇAS, J.R.L. Concentração salina e fases de exposição à salinidade do meloeiro cultivado em substrato de fibra de coco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 33, n. 3, p. 915-921, Setembro 2011.

ESTEVES, B. S., SUZUKI, M. S. Efeitos da salinidade em plantas. **Oecologia Brasiliensis**, v 12, (4) : 662-679p, 2008.



FERREIRA, MG; SALVADOR, FV; LIMA, MNR; AZEVEDO, AM; LIMA NETO, IS; SOBREIRA, FM; SILVA, DJH.. Parâmetros genéticos, dissimilaridade e desempenho per se em acessos de abóbora. **Horticultura Brasileira** 34: 537-546. 2016 DOI - <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-053620160413>

FREITAS, RG; VASCONCELOS, ES; CRUZ, CD; ROSADO, AM; ROCHA, RB; TAKAMI, LK.. Predição de ganhos genéticos em progênies de polinização aberta de *Eucalyptus urograndis* cultivadas em diferentes ambientes e submetidas a diferentes procedimentos de seleção. **Revista Árvore** 33: 255-26p .2009

GHOSH K.P., ISLAM A.K.M.A., MIAN M.A.K; HOSSAIN M.M.. Variability and character Association in F2 Segregating Population of Different Commercial Hybrids of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **J. App. Sc Env Manag.** 14 (2): 91 – 95. 2010  
HESLOP – HARRISON, J. Pollen germination and pollen-tube growth. International Review of Cytology, Knoxville - USA, v. 107, p. 01-78, 1987

NASCIMENTO, W. M. O. do; RAMOS, N. P.; CARPI, V. A. F.; SCARPARE FILHO, J. A.; CRUZ, E. D. Temperatura e substrato para germinação de sementes de *Parkia platycephala* Benth. (Leguminosae-Caesalpinoideae). **Revista de Agricultura Tropical**, Cuiabá, v. 7, n. 1, p. 119- 129, 2003.

OYIGA, B. C.; UGURU, M. I. Genetic variations and contributions of some floral traits to pod yield in bambara groundnut under two cropping seasons in the derived savanna of the South-East Nigeria. **International Journal of Plant Breeding**, n. 5, v. 1, p. 58-63.

KAUSHIK, N. Effect of capsule maturity on germination and seedling vigour in *Jatropha curcas*. **Seed Science and Technology**, Wageningen, v. 31, n. 2, p. 449-454, 2003.

REDDY, B. R., D. S. REDDY., K. REDDAIAH and N. SUNIL.. Studies on genetic variability, heritability and genetic advance for yield and quality traits in Tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Int. J. Cur. Microbiol. App. Sci.** 2(9): 238-244. 2013.

SUNDAY, O. F.; AYODELE, A. M.; BABATUNDE, K. O.; OLUWOLE, A. M. Genotypic And Phenotypic Variability For Seed Vigour Traits And Seed Yield In West African Rice (*Oryza sativa* L.) Genotypes. **Journal of American Science**, v. 3, n. 3, p. 34-41, 2007.

TAIANA, T., Md. HARUN-Ur-Rashid., S. PARVEEN., M. S. HOSSAIN; M. A. Selection strategies to choose better parents in tomato using genetic parameters. **PI. Know. J. Sout. Cro. Publis.** Gr. 4(1): 33-39.

WILLANDINO, L., ALVES, R. O. F., ARCANJO, E. S. J., GOUVEIA, A. N., RANGEL, T. C. Estresse salino em duas variedades de cana-de-açúcar: enzimas do sistema antioxidativo e fluorescência da clorofila. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 2, p. 417-422, abr-jun, 2011.

YOKAS, I., TUNA, A. L., BÜRÜN, B., ALTUNLU, H., ALTAN, F., KAYA, C. Responses of the tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plant to exposure to different salt forms and rates. **Turk J Agric For**, Tubitak, 32 (2008) 319-329