**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Arginina na fisiologia e produtividade do tomateiro cultivado em ambiente protegido

Vivyan Justi Conceição

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

**Piracicaba
2018**

Vivyan Justi Conceição
Engenheira Agrônoma

**Arginina na fisiologia e produtividade do tomateiro cultivado em ambiente
protegido**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientadora:
Prof.^a. Dr.^a. **SIMONE COSTA MELLO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Conceição, Vivyan Justi

Arginina na fisiologia e produtividade do tomateiro cultivado em ambiente protegido / Vivyan Justi Conceição. -- versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. -- Piracicaba, 2018.

59 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

1. Arginina 2. *Solanum lycopersicum* 3. Estresse 4. Fisiologia I. Título

À minha família dedico!

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPQ pela bolsa concedida.

Agradeço à vida, por me trazer a oportunidade de concretização do mestrado. À minha família por todo apoio, sobretudo minha mãe Célia Justi Conceição, por abdicar do seu tempo para cuidar do meu filho enquanto eu precisava ausentar-me. Sem ela isso não teria sido possível! Agradeço ao meu pai Josias da Conceição que, de alguma maneira, sempre me incentivou e me fez acreditar que meus sonhos são possíveis de serem realizados.

Agradeço ao meu marido, Leandro Fidanza, pelo amor, parceria, cumplicidade, tolerância, paciência, por entender e abrandar o desafio da ausência e da saudade. Ao meu filho, Vitor, por entender com maturidade inesperada momentos de ausência e de trabalho. Amo vocês!

Agradeço às minhas irmãs Cintia e Francine e ao meu irmão Junior pela amizade incondicional, pelo apoio nos momentos difíceis, pelas conversas e por acreditarem em mim, sempre!

Minha eterna gratidão à Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, que se tornou parte da minha vida e definitivamente da minha história, que sempre me recebeu de braços abertos entre idas e voltas e me abriu todas as portas!

Agradeço à minha orientadora Simone Costa Mello, pela orientação, pela oportunidade de convivência, pelos ensinamentos profissionais e sobretudo, pela amizade.

Agradeço o professor Ricardo Azevedo, cujo laboratório me permitiu realizar parte das análises.

Agradeço ainda, Salete e Mônica, pela ajuda durante a realização das análises enzimáticas.

Agradeço a todos colegas de graduação, pós-graduação e demais colegas, pelos momentos compartilhados e à troca de experiências.

Agradeço ao estudante de graduação e membro do grupo GEPOL, Douglas Cavalli, pela sua contribuição ao desenvolver parte do projeto como estágio de conclusão de curso.

Agradeço ao grupo GEPOL, Grupo de Práticas Olerícolas por todo o apoio durante a execução do projeto.

Finalmente agradeço a todos (e foram muitos) que cruzaram meu caminho nesta jornada e, que de alguma maneira, contribuíram para que esse sonho fosse realizado.

EPÍGRAFE

"O pensamento escolhe. A Ação realiza. O homem conduz o barco da vida com os remos do desejo e a vida conduz o homem ao porto que ele aspira a chegar. Eis porque, segundo as Leis que nos regem, a cada um será dado segundo suas próprias obras. "
(Emmanuel)

*"Caminhos:
Muitos caminhos nos são oferecidos.
Em quase todos os momentos desconhecemos o seu destino final.
Para saber onde os caminhos levarão é preciso avaliar, se o solo possui amor, esperança, fidelidade e compaixão.
Se assim for, todos que entrarem nesse caminho chegarão ao destino final e conhecerão a vitória."*

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE TABELAS	11
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	12
LISTA DE SÍMBOLOS	13
1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1. AMINOÁCIDOS NA AGRICULTURA	17
2.2 ARGININA	18
2.3 ESTRESSE ABIÓTICO E EROS (ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO).....	19
3. MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1. ÁREA EXPERIMENTAL	23
3.2. TRATAMENTOS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	23
3.3. CULTIVAR UTILIZADA	23
3.4. SISTEMA DE IRRIGAÇÃO E MANEJO DA SOLUÇÃO NUTRITIVA.....	23
3.5. CULTIVO DO TOMATEIRO	25
3.6. APLICAÇÃO DE L-ARGININA	26
3.7. MONITORAMENTO DE TEMPERATURA, UMIDADE RELATIVA (UR%) DO AR E LUMINOSIDADE	27
3.8. VARIÁVEIS AVALIADAS	27
3.8.1. Análise nutricional das folhas	27
3.8.2. Produtividade total e comercial.....	27
3.8.3. Características qualitativas.....	27
3.8.4. Características fisiológicas.....	28
3.8.4.1. Medição de trocas gasosas	28
3.8.4.2. Coleta das amostras para análise de enzimas antioxidantes e espécies reativas ao oxigênio (EROs).....	28
3.8.4.3. Extração e determinação de proteínas totais	28
3.8.4.4. Atividade de enzimas antioxidantes.....	29
3.8.4.5. Extração para análise de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica	30
3.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA	30
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
4.1. VARIÁVEIS CLIMÁTICAS	31
4.2. ENZIMAS ANTIOXIDANTES, PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO E PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA.....	34
4.3. VARIÁVEIS FOTOSSINTÉTICAS	37
4.4. TEORES FOLIARES DE NUTRIENTES E PRODUTIVIDADE DO TOMATEIRO	39
4.5 CARACTERÍSTICAS QUALITATIVAS DOS FRUTOS	44
4.6. CÁLCULO DO ÍNDICE DE CORRELAÇÃO DE POSTO	44
5. CONCLUSÕES	45

REFERÊNCIAS.....	49
APÊNDICES	55

RESUMO

Arginina na fisiologia e produtividade do tomateiro cultivado em ambiente protegido

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é uma dicotiledônea pertencente à família Solanaceae e devido a sua amplitude de cultivo, essa hortaliça é considerada cosmopolita, sendo a segunda maior cultura mundial, depois da batata. A utilização de aminoácidos na agricultura tem sido realizada por décadas e através de vários estudos muitos benefícios têm sido reportados tais como o aumento de produtividade e atenuação de estresses hídricos e de temperatura. Existem ainda trabalhos que utilizam a aplicação de aminoácidos como forma de ativar certas rotas do metabolismo das plantas. Várias hipóteses são atribuídas aos efeitos dos aminoácidos nas plantas. As principais funções dos aminoácidos seriam: síntese de proteínas, formação de compostos intermediários dos hormônios vegetais e endógenos e efeito complexante em nutrientes. O presente trabalho teve o objetivo de avaliar o efeito da aplicação de arginina na fotossíntese, produtividade e qualidade do tomate híbrido 'Pizzadoro', em ambiente de cultivo protegido. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, composto por 3 blocos e 6 tratamentos: controle; 0,10; 0,25; 0,50; 1,0 e 2,0 gL⁻¹. As variáveis avaliadas foram divididas em 3 grupos: As atividades de enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, ascorbato peroxidase e catalase), a peroxidação de lipídios, a produção de peróxido de hidrogênio; as variáveis fotossintéticas: fotossíntese líquida, concentração de CO₂ interno, condutância estomática e transpiração; variáveis de produtividade: número de frutos separados em pequenos, médios e grandes, número de frutos não-comerciais e números de frutos com defeitos e número total de frutos; produtividade dos frutos pequenos, médios e grandes, não-comercial e com defeitos, além de produtividade comercial e produtividade total. Foram avaliadas ainda variáveis qualitativas: quantidade de ácido-ascórbico, teor de sólidos solúveis (SST), pH da polpa, acidez total titulável (ATT) e relação SST/ATT. Observou-se ativação dos mecanismos de defesa do tomateiro, pelo aumento dos níveis das enzimas antioxidantes APX e CAT. Houve aumento da fotossíntese, aumento da concentração interna de CO₂, aumento da condutância estomática e aumento da transpiração com a aplicação das diferentes doses de arginina. A produtividade total do fruto foi influenciada pela aplicação da arginina. Não houve na qualidade, pelo teste de médias, influência resultante da aplicação da arginina. Para avaliar a melhor dosagem foi calculado o índice de correlação de posto.

Palavras-chave: Arginina; *Solanum lycopersicum*; Estresse; Fisiologia

ABSTRACT

Arginine on the physiology and productivity of tomato cultivated in a protected environment

The tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is a dicotyledone belonging to the family Solanaceae and due to its amplitude of cultivation, this vegetable is considered cosmopolitan, being the second largest world culture after the potato. The use of amino acids in agriculture has been carried out for decades and through several studies many benefits have been reported such as increased productivity and attenuation of water stresses and temperature. There are also works that use the application of amino acids as a way to activate certain routes of plant metabolism. Several hypotheses are attributed to the effects of amino acids in plants. The main functions of amino acids would be: protein synthesis, formation of intermediate compounds of plant hormones and endogenous and complexing effect in nutrients. The present work had the objective of evaluating the effect of arginine application on the photosynthesis, productivity and quality of hybrid tomato 'Pizzadoro' in a protected cultivation environment. The experimental design was in randomized blocks, composed of 3 blocks and 6 treatments: control; 0.10; 0.25; 0.50; 1.0 and 2.0 gL⁻¹. The variables evaluated were divided into three groups: The activities of antioxidant enzymes (superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and catalase), lipid peroxidation, hydrogen peroxide production; the photosynthetic variables: liquid photosynthesis, internal CO₂ concentration, stomatal conductance and transpiration; productivity variables: number of separate fruits in small, medium and large, number of non-commercial fruits and numbers of fruits with defects and total number of fruits; productivity of small, medium and large fruits, non-commercial and defective, as well as commercial productivity and total productivity. It was also evaluated qualitative variables: amount of acid-ascorbic, soluble solids content (SST), pulp pH, total titratable acidity (ATT) and SST / ATT ratio. Activation of the tomato defense mechanisms was observed, by the increase of the antioxidant enzymes APX and CAT. There was an increase in photosynthesis, an increase in the internal concentration of CO₂, an increase in stomatal conductance and an increase in transpiration with the application of different doses of arginine. The total productivity of the fruit was influenced by the application of arginine. There was no influence on the quality, by the means test, resulting from the application of arginine. To evaluate the best dosage, the rank correlation index was calculated.

Keywords: Arginine; *Solanum lycopersicum*; Stress; Physiology

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Visão geral das vias de metabolismo da arginina. ADC, arginina decarboxilase; NOS, óxido nítrico sintetase; ODC, ornitina descarboxilase; OAT, ornitina aminotransferase; Put, putrescina; Spd, espermidina; Spm, espermina. (fonte: adaptado de Zhang et al., 2014) 18

Figura 2. Temperatura mínima (Tmin), temperatura média (Tmed), temperatura máxima (Tmax) e radiação fotossinteticamente ativa (RFA) registradas durante a condução do experimento. Piracicaba, Esalq/USP, 2016/2017. 32

Figura 3. Umidade relativa mínima (UR min), umidade relativa média (UR med) e umidade relativa máxima (UR max), registradas durante a condução do experimento. Piracicaba, Esalq/USP, 2016/2017. 33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Soluções nutritivas utilizadas na fase vegetativa e reprodutiva (mg L^{-1}) no cultivo de tomate pizzadoro.	24
Tabela 2. Quantidade de nutrientes (%) que compõe as soluções nutritivas para as fases vegetativa e produtiva.	25
Tabela 3. Análise físico-química do substrato de fibra de coco golden mix misto tipo 98.	26
Tabela 4. Temperaturas médias diurnas e noturnas ($^{\circ}\text{C}$) diárias, medidas no interior do ambiente protegido, durante o ciclo de cultivo do tomate. Piracicaba-SP, Esalq/USP, 2016-2017.	34
Tabela 5. Resultados de atividades das enzimas (superóxido dismutase em u de sod/mg de proteína (SOD); catalase em $\mu\text{mol/min/mg}$ (CAT); ascorbato peroxidase em nmol/min/g (APX); peróxido de hidrogênio em μmolar (H_2O_2); peroxidação lipídica em μmolar de mda/mg de matéria fresca (MDA)	37
Tabela 6. Taxa fotossintética líquida em $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Foto), condutância estomática em $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-2}$ (Cond. Estomática), CO_2 interno em $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ e transpiração em $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (transpi).	39
Tabela 7. Teores de nutrientes na quarta folha completamente expandida a partir do ponteiro do tomateiro coletada aos 60 DAT.	41
Tabela 8. Produção de frutos pequenos (PP); produção de frutos médios (PM), produção de frutos grandes (PG), produção de frutos não comercial (PNC), produção de frutos com defeitos (PD), produção de frutos comercial (PCOM) e produção total (PTOTAL) do tomateiro.	43
Tabela 9. Número de frutos pequenos (NFP), número de frutos médios (NFM), número de frutos grandes (NFG), número de frutos não comercial (NFNC), número de frutos com defeito (NFD) e número de frutos total (NFT) do tomateiro.	43
Tabela 10. Resultados de características qualitativas: ácido ascórbico ou teor de vitamina c em g/100g (AA); acidez total titulável em % de ácido cítrico (ATT); valor do pH da polpa (pH); teor de sólidos solúveis em °brix (°Brix)	44
Tabela 11. Cálculo do índice de correlação de posto para variáveis de qualidade de fruto entre os tratamentos de L-arginina.	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAT	Catalase
APX	Ascorbato peroxidase
SD	Superóxido dismutase
ADC	Arginina decarboxilase
OAT	Ornitina decarboxilase
NOS	Ácido nítrico sintetase
Put	Putrescina
Spd	Espermidina
Spm	Espermina
MAP	Fosfato monoamônio
MKP	Fosfato monopotássico
ATT	Acidez Total Titulável
SST	Sólidos totais solúveis
AA	Ácido ascórbico
pH	potencial de hidrogênio

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	graus Celsius
μm	micrometro
nμ	nanômetro
μmol	micromole

1. INTRODUÇÃO

O cultivo de tomate em ambiente protegido vem se expandindo ao longo dos últimos anos devido ao aumento de produtividade e qualidade, muito embora a maior parte da produção seja oriunda de produção em campo. Os principais grupos de tomates cultivados neste sistema são os do tipo italiano, cereja (minitomates) e salada, que apresentam melhores características organolépticas.

Mudanças climáticas extremas e frequentes têm sido os maiores desafios para a manutenção da produção agrícola a fim de evitar as perdas de produtividade (NEPOMUCENOS et al., 2001). Mesmo em sistemas de cultivo protegido, onde é possível atenuar alguns dos fatores de estresse abiótico como o hídrico e a salinidade, já que podem ser mais controlados, outros fatores como o estresse térmico são intensificados, pois em sua maioria, as propriedades que cultivam tomate através de sistema de cultivo protegido não possuem climatização, não conseguindo portanto controlar esse fator que pode ser limitante à cultura do tomate quando atingem valores elevados.

As plantas podem enfrentar diversos tipos de estresses abióticos porém, a alteração da temperatura, é o tipo mais comum de estresse, variando conforme a sucessão das estações, e em algumas situações durante o dia. Os efeitos dessas adversidades às quais as plantas são submetidas são variáveis de acordo com a intensidade, duração e é variável também de acordo com a variedade utilizada. Alterações celulares e metabólicas ocorrem quando a planta enfrenta uma situação de adversidade ou estresse, e essa situação pode induzir as plantas a adquirir tolerância para enfrentá-las (SUNG et al., 2003).

O estresse por aquecimento altera a homeostase celular e quando severo pode conduzir ao atraso do crescimento e desenvolvimento vegetal, acelerar a maturidade fisiológica e até mesmo causar a morte celular, implicando muitas vezes em perdas expressivas de produção (NAGARAJAN & NAGARAJAN, 2010). Estes danos são causados pela redução do fluxo de íons e a inibição da fotossíntese, resultando no aumento excessivo da produção de substâncias tóxicas como os radicais superóxidos ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radicais hidroxilas ($OH^{\cdot}$), como resultado do desequilíbrio entre as etapas, fotoquímica e bioquímica, que é responsável por grande parte da morte celular durante as condições de estresse (SOLIMAN et al., 2012).

Ao longo dos últimos anos, a utilização de aminoácidos na agricultura vem se difundindo como fonte de nitrogênio às plantas e como indutores de resistência aos fatores que provocam estresse como elevadas temperaturas, déficit hídrico, alta salinidade. Os aminoácidos são compostos intermediários da síntese dos hormônios vegetais e possuem efeito complexante de nutrientes. Entretanto, segundo Floss & Floss (2007), a utilização de aminoácidos em diversas culturas não tem o objetivo de suprir a necessidade para a síntese proteica, mas sim de ativar o metabolismo fisiológico das plantas, podendo assim ter uma ação contra o estresse. Diversos autores relataram que o uso de aminoácidos promoveu uma série de ganhos como o aumento de produtividade em diversas culturas, porém existem trabalhos onde não se obteve um aumento de produtividade significativo mas outros

benefícios foram observados, como auxiliar a planta a sair da condição metabólica imposta devido à ocorrência de estresse.

Contudo, Castro & Carvalho (2014) afirmam que são necessários mais fundamentos científicos para a comprovação dos efeitos dos aminoácidos na atenuação dos estresses provocados por fatores bióticos e abióticos, pois ainda existem dúvidas em relação ao modo como os aminoácidos são absorvidos pelas plantas, assim como os locais de ação no metabolismo vegetal.

Os aminoácidos, dentre outras funções, têm interação com a nutrição de plantas, aumentando a eficiência na absorção, como é o caso da arginina; transporte e assimilação dos nutrientes. Alguns trabalhos têm reportado aumento na solubilidade e absorção de nutrientes, sendo ainda o principal aminoácido de translocação no floema.

Existem nove aminoácidos essenciais nas plantas, possuindo concentrações e funções distintas. O triptofano é precursor do mais importante hormônio de crescimento radicular e da parte aérea das plantas, a auxina. A metionina, precursora do etileno, responsável pela maturação dos frutos. Outros aminoácidos como a tirosina e a fenilalanina são os precursores dos compostos fenólicos envolvidos na defesa das plantas e na síntese de lignina, que aumenta a resistência ao acamamento das plantas. A glicina é precursora da síntese de clorofila, além de agir nos mecanismos de defesa das culturas. Agindo no desenvolvimento inicial, a valina afeta diretamente a germinação das sementes; a acumulação de prolina em células vegetais submetidas a estresse hídrico tem sido sugerida como um mecanismo de ajuste (CAMPBELL e FARREL, 2007).

No mercado atual, não estão disponíveis produtos que contenham composição de aminoácidos a fim de induzir rotas metabólicas específicas, o que se encontram são formulações em que há um pool (presença de vários aminoácidos), cujas concentrações variam em virtude das fontes proteicas utilizadas. Ainda assim, o resultado dessa adubação pode proporcionar ganhos no metabolismo vegetal, podendo ser utilizadas em diversas situações, durante o ciclo da cultura.

Tais substâncias devem ser estudadas para entender suas possibilidades dentro de cada cultura, sua viabilidade econômica e sobretudo do ponto vista de que se faz uma ferramenta importante dentre as opções do produtor para manejo de sua cultura. Dessa forma, esse trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos da aplicação da arginina na fisiologia, produtividade e qualidade do tomateiro cultivado em ambiente protegido.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aminoácidos na agricultura

O efeito dos aminoácidos no aumento à tolerância ao estresse abiótico e biótico, ou seja, estresse que altera a homeostase metabólica das plantas, seja ela causada por agente biótico (patógenos, pragas, plantas daninhas) ou abiótico (salinidade, déficit hídrico, temperatura e luz), é relatado por vários autores (SERCILOTO e CASTRO, 2005; PICOLLI et al., 2009, ZOBIOLE et al., 2010, KARAM et al., 2010, CASTRO et al., 2011). A utilização de tais substâncias em complementação ou substituição a fertilizantes convencionais ganha crescente importância o que estimula o interesse em pesquisas avaliando os efeitos e a forma como são incorporados ao metabolismo, bem como suas rotas de funcionamento, ganham a atenção da indústria de fertilizantes pela sua possibilidade de amplo uso na agricultura .

Trabalhos com prolina vem sendo realizados a fim de demonstrar sua eficiência na atenuação de condições ambientais adversas. A prolina se acumula em muitas espécies de plantas sob uma ampla variedade de condições de estresse, como escassez de água, salinidade, temperaturas extremas e alta intensidade de luz (WILFRIED, C; 2005), seu papel embora ainda controverso e variável conforme a cultura, auxiliaria no ajuste osmótico, porém sua contribuição na participação desse ajuste ainda é controversa ou pouco esclarecida.

Em tomate, alguns trabalhos vem sendo realizados com a aplicação exógena de L-arginina, para diversas finalidades, conforme relatado na literatura, a aplicação exógena de L-arginina em frutos de tomate podem auxiliar na redução de incidência de lesões causadas por *Botrytis cinerea*, doença de pós-colheita. A aplicação do aminoácido foi realizada em pré-colheita e em pós-colheita, e aos 3, 6, 9, e 12 dias. A L-arginina estimulou a atividade das enzimas de defesa phenylalanine ammonialyase (PAL), mas somente aos 3 dias após a aplicação, e em pré-colheita, reduzindo posteriormente a atividade dessa enzima. A enzima Chitinase (CHI), β -1,3-glucanase também teve sua atividade estimulada pela aplicação da L-arginina aos 3 dias após a aplicação (GLU), e polyphenoloxidase (PPO), quando comparadas com o controle. Segundo relatado, os frutos tratados com arginina não continham ou apresentavam lesões menores que os frutos utilizados como controle (ZHENG et al; 2011).

Khalil et al.(2009), observou que a aplicação exógena de L-arginina aumenta os teores de poliaminas (putrescina, espermidina e espermina), permitindo maior tolerância a ocorrência de altas temperaturas ao mesmo tempo que provocou um efeito de inibição na produção do hormônio etileno.

Diversos trabalhos demonstram benefícios alcançados com o uso de aminoácidos, sobre a atuação da arginina existem poucos relatos. Este trabalho visou entender a atuação da arginina aplicada em tomateiro por meio de curva dose-resposta em ambiente de cultivo protegido.

2.2 Arginina

A arginina, um aminoácido com alta relação C/N (quatro átomos de nitrogênio e seis de carbono por molécula) serve como uma importante reserva de nitrogênio em muitas plantas (MICALLEF e SHELPS, 1989; GAO et al., 2009). Além disso, possui grande importância fisiológica na promoção e manutenção do funcionamento das células, já que é a maior fonte de nitrogênio na biossíntese de óxido nítrico (NO) e de ornitina, que irá originar em várias vias subsequentes, prolina, glutamato, e as poliaminas (PA) (CORPAS et al., 2006; MORRIS, 2007; JUBAULT et al., 2008).

Há uma diversidade de enzimas envolvidas no metabolismo, sendo que a arginina descarboxilase (ADC), arginase, óxido nítrico sintetase (NOS) são as principais enzimas no metabolismo da arginina (Figura 1).

Figura 1. Visão geral das vias de metabolismo da arginina. ADC, arginina decarboxilase; NOS, óxido nítrico sintetase; ODC, ornitina decarboxilase; OAT, ornitina aminotransferase; Put, Putrescina; Spd, Espermidina; Spm, Espermina. (fonte: adaptado de Zhang et al., 2014)

Os produtos oriundos do metabolismo da arginina, principalmente o óxido nítrico, as poliaminas e a prolina, são moléculas multifuncionais na planta, mediando uma matriz de processos biológicos e fisiológicos, incluindo respostas a estresses bióticos e abióticos, morte programada da célula, fechamento de estômato, germinação de sementes, e desenvolvimento da raiz (ARASIMOWICZ & WIECZOREK, 2007; GROPPA & BENAVIDES, 2008).

Há evidências que o NO regula a homeostase do cálcio no citosol. Lamotte et al. (2006), usando *Nicotiana plumbaginifolia*, observaram o aumento dos níveis de cálcio, em consequência de aplicação de um estresse hiperosmótico. Os autores demonstraram que o NO foi capaz de ativar a membrana plasmática, e a permeabilidade intracelular de cálcio, por meio de canais vias sinais em cascata envolvendo a despolarização da membrana plasmática e quinases.

Além disso, há relatos mostrando a interação entre NO, ácido jasmônico, ácido salicílico e etileno durante a resposta ao estresse, havendo ações sinérgicas e antagônicas dependendo do tipo de estresse, intensidade e do tipo de planta. A aplicação exógena de NO pode ainda influenciar a biossíntese de etileno na maturação e senescência de tecidos de plantas (ZHU & ZHOU, 2007).

O óxido nítrico pode atuar ainda no estresse abiótico, em resposta à seca, variação extrema de temperatura, salinidade, metais pesados, conforme relatos na literatura (UHIDA et al., 2002; ZHAO et al., 2004; KOPYRA & GWÓZDZ', 2003).

Em tomate, trigo e milho foi relatado o aumento da tolerância ao estresse térmico, com a aplicação exógena de NO (NEILL et al., 2003), devido ao efeito antioxidativo desse composto. De modo semelhante, este efeito com enzimas antioxidantes foi descrito na redução ao estresse causado por metais pesados e herbicidas (HUNG et al., 2002; KOPYRA, & GWÓZDZ', 2003), e na expressão de genes específicos de resistência ao estresse salino em arroz (UHIDA et al., 2002).

Do mesmo modo que o óxido nítrico, as poliaminas, e o balanço entre os tipos de poliaminas (Putrescina, espermidina e espermina) atuam de modo a reduzir o efeito oxidativo, já que todos os tipos de estresse abiótico estão ligados a indução de estresse oxidativo.

Há relatos do efeito das poliaminas na redução de estresse causado por salinidade, seca e estresse osmótico, principalmente devido ao efeito da espermidina e da espermina; em arroz (BASU & GHOSH, 1991; KRISHNAMURTHY & BHAGWAT, 1989), girassol (MUTLU & BOZCUK, 2005) e trigo (MANSOUR & AL-MUTAWA, 1999).

2.3 Estresse abiótico e EROs (Espécies Reativas de Oxigênio)

O estresse abiótico pode ser definido como qualquer alteração de crescimento dentro do habitat natural da planta que perturba sua homeostase metabólica (SHULAEV et al., 2008).

Mesmo em sistemas de cultivo protegido, onde é possível diminuir alguns dos fatores de estresse abiótico, como o hídrico e a salinidade, outros fatores como o estresse térmico são intensificados na maior parte dos sistemas de cultivo protegido que não possuem climatização. Isso ocorre, principalmente, devido às estruturas de cultivo que não possuem estruturas de dissipação de calor como lanternim e as janelas zenitais. Além disso, as estruturas geminadas influenciam diretamente na formação de bolsões de ar quente.

As cultivares de tomate utilizadas em ambiente protegido, geralmente, não possuem resistência a vários tipos de viroses, fazendo com que os produtores utilizem telas antiafídeos, que reduzem a taxa de ventilação em razão da sua resistência à corrente de ar e, como consequência, há redução na velocidade dos ventos no interior dos abrigos e aumento da temperatura (FURLAN & FOLEGATTI, 2002; TERUEL, 2010).

A alteração da temperatura é um dos estresses mais comuns imposto às plantas, variando conforme a sucessão das estações e em algumas situações durante o dia. Dependendo da intensidade, duração e taxa de variação da temperatura, conforme a variedade do tomate, podem ocorrer alterações celulares e metabólicas, tais alterações, podem induzir as plantas a adquirir tolerância a situações adversas impostas (SUNG et al., 2003).

O estresse por aquecimento altera a homeostase celular e, quando severo, pode conduzir ao atraso do crescimento e desenvolvimento vegetal, acelerar a maturidade fisiológica e até mesmo causar a morte celular, o que no cenário agrícola pode significar perdas expressivas de produção (NAGARAJAN & NAGARAJAN, 2010). Estes danos são causados pela redução do fluxo de íons e a inibição da fotossíntese, resultando no aumento excessivo na produção substâncias tóxicas como os radicais superóxidos (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radicais hidroxila (OH^-), como resultado do desequilíbrio entre as etapas, fotoquímica e bioquímica; tal desequilíbrio é responsável por grande parte da morte celular durante as condições de estresse (WAHID et al., 2007; KIM et al., 2009; SOLIMAN et al., 2012).

Quando a planta é submetida a um estresse, diversos eventos ocorrem em seu metabolismo e como resultado ela pode absorver rapidamente este estresse e manter suas atividades sem grandes alterações, uma segunda possibilidade seria a ocorrência de danos que seu metabolismo não é capaz de reparar e assim, ocorrerá a implicação de danos ao desenvolvimento da planta, que em última instância será observado em variáveis como redução do crescimento vegetativo e queda de produtividade; uma terceira possibilidade é a ocorrência do chamado efeito hormético, que ocorre quando um determinado evento ou estresse provoca um estímulo que acarreta em benefícios.

O efeito hormético é um fenômeno bifásico de dose-resposta, caracterizado por apresentar resposta de estimulação a baixas doses e inibição em altas doses (Calabrese & Blain 2009). Um dos primeiros relatos de hormese foi o de Southam e Erlich (1943), no qual relataram que um composto originado a partir da casca de carvalho, aplicado em subdoses, estimulou o desenvolvimento de fungos, porém, em doses elevadas foi tóxico e inibiu o seu crescimento. Seja no setor de produção agrícola, como em outras áreas do conhecimento, como da saúde humana, o efeito de subdoses de compostos inicialmente considerados tóxicos, denominado como hormético, vem sendo amplamente discutido e pesquisado, com o objetivo de compreender esse efeito estimulante e benéfico. (Costa da Silva et al (2016).

A geração de radicais livres constitui, por excelência, um processo contínuo e fisiológico, cumprindo funções biológicas relevantes, assumindo papéis importantes nos mecanismos de defesa durante vários processos. Vários trabalhos têm sido realizados com intuito de entender esse mecanismo, permitindo conhecer em que medida ele pode auxiliar quando ocorrem estresses e sua contribuição para aumento de produtividade.

O oxigênio molecular (O_2) surgiu na atmosfera terrestre há bilhões de anos e sua presença permite que os organismos aeróbios o utilizem como aceptor de elétron terminal durante a respiração celular, que proporciona um rendimento de energia superior ao da fermentação. Embora necessário para o desempenho das funções celulares, o O_2 leva, inevitavelmente, à formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) em eventos metabólicos que ocorrem, principalmente, nas mitocôndrias, cloroplastos e peroxissomos (BHATTACHARJEE, 2010; KARUPPANAPANDIAN et al., 2011). As plantas desenvolveram mecanismos de defesa enzimáticos e não enzimáticos capazes de

neutralizar a citotoxicidade das EROs. O sistema celular de defesa antioxidante começa com uma cascata enzimática, mas envolve também componentes não enzimáticos, dentre os quais se destacam o ascorbato (AsA), a glutathiona (GSH), o β -caroteno e o α -tocoferol. Tais antioxidantes podem evitar a formação de radicais livres, sequestrá-los ou promover sua degradação, prevenindo a ocorrência de danos às células das plantas (SERKEDJIEVA, 2011). Contudo, o equilíbrio entre a produção e a neutralização pode ser alterado, aumentando significativamente os níveis intracelulares de EROs, ocasionando o estresse.

O sistema enzimático antioxidante inclui superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e as enzimas do ciclo ascorbato-glutathiona que operam tanto no cloroplasto como no citossol: ascorbato peroxidase (APX), monodehidroascorbato redutase (MDHAR), desidroascorbato redutase (DHAR) e glutathiona redutase (GR). A primeira enzima envolvida no sistema de eliminação, é a SOD, que catalisa a dismutação do superóxido em oxigênio O_2^- e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Gratão et al., 2005).

O $OH^\bullet$ é uma molécula altamente nociva em sistemas vivos. Por isso a sua formação pela redução de íons metálicos na presença do O_2^- deve ser evitada. As enzimas do sistema antioxidante não eliminam o $OH^\bullet$ diretamente, de modo que a regulação de seus precursores, O_2^- e H_2O_2 , é o passo fundamental na prevenção dos riscos do $OH^\bullet$, reunindo a ação das enzimas SOD, APX e CAT (BHATTACHARJEE, 2010).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Área Experimental

O experimento foi conduzido em estufa localizada na área experimental do Departamento de Produção Vegetal, pertencente à Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ/USP, no município de Piracicaba (SP).

A estufa utilizada foi do tipo arco com 6,40 m de largura e 42 m de comprimento, com altura do pé direito de 3,5 m e coberta com filme de polietileno aditivado (anti-UV) com 150 μm de espessura. A estufa continha tela anti-afídeo. Segundo a classificação climática proposta por Köppen, o clima é do tipo Cwa, ou seja, subtropical úmido com três meses mais secos (junho, julho e agosto), chuvas de verão, seca no inverno, temperatura do mês mais quente superior a 22 °C e a do mês mais frio inferior a 18 °C.

3.2. Tratamentos e Delineamento Experimental

Os tratamentos foram compostos de 5 doses de L-Arginina aplicadas via foliar. O delineamento foi em blocos ao acaso com 3 repetições, sendo que cada parcela foi composta por 10 plantas. Os seis vasos centrais foram considerados como parcela útil, sendo que os quatro vasos situados nas extremidades foram considerados bordadura. Os tratamentos com L-Arginina foram compostos pelas seguintes dosagens: controle, 0,1 g L⁻¹; 0,25 g L⁻¹; 0,5 g L⁻¹; 1,0 g L⁻¹ e 2,0 g L⁻¹. As aplicações foram realizadas a cada 15 dias a partir do início do florescimento.

3.3. Cultivar utilizada

O híbrido de tomate utilizado foi o Pizzadoro® que é um cultivar do tipo Italiano com hábito de crescimento indeterminado, que apresenta resistência a *Verticilium dahliae* (raça1), *Fusarium oxysporum* f.sp. lycopersyci (raças 0,1), *Pseudomonas syringae* pv tomato (Pst), Vírus do Mosaico do Tomate (ToMV) e resistência intermediária aos nematóides *Meloydogine arenaria*, *M.incognita*, *M.javanica* (Nunhems, 2017).

3.4. Sistema de Irrigação e Manejo da Solução Nutritiva

O sistema de irrigação foi composto por painel de controle, sensores de tensiometria, quatro motobombas de 0,5 cv, filtros de tela, regulador de pressão, gotejadores do tipo

autocompensante com vazão de 4 L h^{-1} , inseridos em tubos de polietileno de 16 mm e quatro reservatórios de 500 L. O espaçamento entre gotejadores foi de 0,5 m.

O controle da frequência de fertirrigação foi realizado por meio de sistema gasoso de controle de irrigação (Irrigas®), acoplado a uma central de medição digital. Neste sistema, as motobombas foram acionadas pela central de medição digital, que estava acoplado aos ramais constituídos por microtúbulos interligados a oito sensores instalados nos vasos, próximas a área onde se localiza a maior parte da rizosfera.

Assim, a irrigação era acionada toda vez que a tensão da água no substrato atingia 4KPa. A duração da irrigação foi variável de acordo com o estágio de desenvolvimento das plantas, de maneira que os vasos, a cada irrigação, eram ajustados para que drenassem 20% do volume total de solução nutritiva aplicados, garantindo que a irrigação levasse o substrato à capacidade de campo.

Na fase vegetativa, que correspondeu à data do transplante ao início da maturação do primeiro cacho, foi aplicada a solução 1 (Tabelas 1 e 2); e na fase reprodutiva, que compreendeu o início da maturação do 1º cacho até o final do ciclo; foi aplicada a solução 2 (Tabelas 1 e 2). Semanalmente, foram realizadas medições de pH da solução nutritiva e condutividade elétrica da solução drenada dos vasos. Quando o valor da CE era maior que $3,6 \text{ dS m}^{-1}$ (fase produtiva).

Tabela 1. Soluções nutritivas utilizadas na fase vegetativa e reprodutiva (mg L^{-1}) no cultivo de tomate pizzadoro.

Fertilizante	Solução 1 (mg L^{-1})	Solução 2 (mg L^{-1})
Nitrato de cálcio	600	750
Nitrato de potássio	0	0
Sulfato de potássio	400	574
Sulfato de magnésio	375	640
Fosfato monoamônio (MAP)	0	0
Fosfato monopotássico (MKP)	281,25	224,4
Nitrato de magnésio	37,5	0
Nitrato de amônio	125	0
Ferro (6,5 %)	3	3
Ácido bórico	5	5
Conmicros*	25	25

* Composição (%): B (1,82); Cu EDTA (1,82); Fe EDTA (7,26); Mn EDTA (1,82); Mo (0,36); Ni (0,36); ZnEDTA (0,73)

Tabela 2. Quantidade de nutrientes (%) que compõe as soluções nutritivas para as fases vegetativa e produtiva.

	Solução 1 (mg L⁻¹)	Solução 2 (mg L⁻¹)
N	135,4	112,5
P	64,6	51,6
K	241,2	292,4
Ca	114	142
Mg	37,3	57,6
S	112,8	175
B	1,31	1,31
Fe	2,02	2,02
Cu	0,46	0,46
Mn	0,46	0,46
Mo	0,09	0,09
Ni	0,09	0,09
Zn	0,18	0,18

3.5. Cultivo do Tomateiro

As mudas foram adquiridas de viveiro localizado no município de Mogi Guaçu – SP e produzidas em bandejas plásticas de 128 células preenchidas com substrato de fibra de coco. Foram semeadas no dia 23 de novembro de 2016. Aos 35 dias após a semeadura, no dia 28 de dezembro de 2016, quando as mudas de tomateiro possuíam 4 folhas verdadeiras, elas foram transplantadas em vasos plásticos de 8 litros preenchidos com substrato de fibra de coco. Foi utilizado o espaçamento de 0,5 m entre plantas, 0,6 m entre linhas e 1,4 m entre linhas duplas.

As plantas foram conduzidas com uma haste no sentido vertical por meio de fitilhos plásticos. A extremidade inferior do fitilho foi amarrada na base da planta, e a extremidade superior foi amarrada no arame superior (2,5 m). Quando as plantas atingiram a altura de 2,5 m foi realizado o corte da gema apical (“capação”). Além disso, foi realizada a retirada das brotações laterais e foram realizadas pulverizações de fungicidas e inseticidas, conforme a necessidade das plantas.

As características físico-químicas do substrato foram analisadas pelo laboratório de Fertilizantes, Corretivos e Resíduos Orgânicos do Departamento de Solos e Nutrição de Plantas (Tabela 3)

Tabela 3. Análise físico-química do substrato de fibra de coco Golden Mix Misto tipo 98

DETERMINAÇÕES	RESULTADOS	
	BASE SECA (65 °C)	BASE ÚMIDA
pH (CaCl ₂ 0,01 M)	-	5,7
Densidade (Resíduo Orgânico)	-	0,18 g/cm ³
Umidade (Resíduo Orgânico) 60 – 65 °C	-	41,45 %
Umidade (Resíduo Orgânico) 110 °C	-	3,30 %
Matéria Orgânica Total (Combustão)	88,73 %	51,95 %
Carbono Orgânico	46,25 %	27,08 %
Resíduo Mineral Total (R.M.T.)	5,64 %	3,30 %
Resíduo Mineral (R.M.)	4,97 %	2,91 %
Resíduo Mineral Insolúvel (R.M.I.)	0,67 %	0,39 %
Nitrogênio Total	0,68 %	0,40 %
Fósforo (P ₂ O ₅) total	0,27 %	0,16 %
Potássio (K ₂ O) total	0,97 %	0,57 %
Cálcio (Ca) total	2,82 %	1,65 %
Magnésio (Mg) total	0,10 %	0,06 %
Enxofre (S) total	0,12 %	0,07 %
Relação C/N	-	68
Cobre (Cu)	15 mg/kg	9 mg/kg
Manganês (Mn)	51 mg/kg	30 mg/kg
Zinco (Zn)	58 mg/kg	34 mg/kg
Ferro (Fe)	1424 mg/kg	834 mg/kg
Boro (B)	10 mg/kg	6 mg/kg
Sódio (Na)	854 mg/kg	500 mg/kg
Capacidade de Troca Catiônica (CTC)	mmolc kg ⁻¹	220
Condutividade elétrica (CE)	dS m ⁻¹	2,07

3.6. Aplicação de L-Arginina

A aplicação de L-Arginina foi realizada via foliar. Para isso, utilizou-se um pulverizador costal pressurizado por CO₂, para que ocorresse a uniformidade no momento da aplicação.

As doses foram aplicadas a partir do dia 2 de fevereiro de 2017, início do florescimento, ou seja, aos 35 DAT, e foram repetidas em intervalos de 15 dias. Os volumes de calda aplicados variaram conforme o estágio de desenvolvimento da planta e da sua área foliar, variando entre 500 e 1200 L ha⁻¹.

3.7. Monitoramento de temperatura (T), Umidade relativa (UR%) do ar e luminosidade (RFA)

Foi realizado o registro a cada meia hora dos dados de temperatura, umidade relativa do ar e radiação fotossinteticamente ativa no interior da estufa agrícola através de uma miniestação meteorológica (Watchdog 2475 Plant Grow Station) posicionada no centro da estufa a uma altura de 1,5 m. Foi calculada a temperatura média diurna (das 6h às 18h) e a temperatura média noturna (das 18h às 6h). Para a construção do gráfico de UR% do ar, foram utilizadas as médias máxima, média e mínima diárias ao longo do ciclo. A radiação fotossinteticamente ativa, foi expressa utilizando-se as médias diárias ao longo do ciclo.

3.8. Variáveis avaliadas

3.8.1. Análise nutricional das folhas

Foi realizada a amostragem da quarta folha completamente expandida a partir do ponteiro de cada planta no dia 07 de fevereiro de 2017 (40 DAT) para a determinação dos teores de N, P, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn e Zn, segundo metodologia descrita por Malavolta et al. (1997). Para isso, quatro plantas por parcela tiveram suas folhas coletadas e secadas em estufa a 65 °C, com circulação forçada de ar.

3.8.2. Produção total e comercial

Foram realizadas dez colheitas durante o ciclo de cultivo, sendo que a primeira ocorreu em 21 de fevereiro (61 DAT) e a última foi realizada no dia 17 de abril de 2017 (111 DAT). A determinação da produção total de frutos ocorreu somando-se as produções comerciais e não comerciais. A produção comercial foi calculada pela somatória dos pesos das três categorias de frutos quanto ao diâmetro longitudinal: pequeno (50-65 mm), médio (66-80 mm), e grande (81-100 mm). Frutos com tamanho inferior a 50 mm foram considerados não comerciais, e frutos com a presença de distúrbios fisiológicos (deficiência de cálcio e boro, frutos rachados, manchados,) foram considerados frutos com defeitos.

3.8.3. Características qualitativas

No dia 31 de março (93 DAT) foram realizadas as análises de teor de sólidos solúveis (SST), pH da polpa (pH), acidez total titulável (ATT), teor de ácido ascórbico e relação SST/ATT.

Para isso, foram coletados seis frutos representativos por parcela, que foram triturados e homogeneizados para a realização das análises qualitativas. O teor de sólidos solúveis (°Brix) foi determinado por leitura direta na polpa homogeneizada com um refratômetro (marca Atago, modelo PR-32α). O pH da polpa foi determinado através da leitura direta da polpa homogeneizada com pHgâmetro digital (Marca Oakton modelo 110). Para a determinação do ácido ascórbico, 10 g da polpa homogeneizada foram diluídas em 90 ml de ácido oxálico a 1%. A titulação foi feita com solução de 2,6-diclorofenol-indofenol (CARVALHO et al., 1990).

3.8.4. Características fisiológicas

3.8.4.1. Medição de trocas gasosas

A taxa fotossintética líquida, a condutância estomática, a concentração de CO₂ interno e a transpiração foram medidos 3 dias após a aplicação foliar de L-arginina.

Foi realizada a medição das variáveis com um medidor de fotossíntese (Licor - modelo Li 6400XT) . As leituras foram realizadas entre 15 e 17 horas, dentro do segundo pico de fotossíntese das plantas, tomando-se como amostra uma planta representativa da parcela, sem danos na área foliar, já que 6 cm² são necessários para a realização da leitura, e a folha estava completamente expandida. Duas leituras foram realizadas nos dias 05 e 19 de fevereiro (38 e 52 DAT), seguindo os critérios mencionados acima.

3.8.4.2. Coleta das amostras para análise de enzimas antioxidantes e espécies reativas ao oxigênio (EROs)

Foram realizadas duas coletas da parte distal da quarta folha a partir do tufo apical para as análises das atividades enzimáticas. As coletas foram realizadas aos 3 e 5 dias após as aplicações, a fim de se avaliar o comportamento das enzimas em decorrência do tempo. Foram coletadas quatro folhas de plantas representativa de cada parcela, durante o período da manhã, entre as 8 e 10 horas. Imediatamente após a coleta das folhas, as mesmas foram acondicionadas em papel alumínio e congeladas em nitrogênio para posterior armazenamento em freezer a -80 °C.

3.8.4.3. Extração e determinação de proteínas totais

As amostras de cada parcela foram maceradas em nitrogênio líquido até a formação em pó, e posteriormente foi pesado 1 g de material vegetal e adicionado cerca de 0,2 g de PVPP e 3 mL de tampão de extração 100 mM (pH 7,5) para a extração de proteínas. Após este processo, foi

realizada a centrifugação a 10000 rpm por 30 minutos a 4 °C para a separação das fases sólida e líquida. A fase líquida foi acondicionada em tubos eppendorf, formando a chamada solução de extração, que posteriormente foi utilizada para a quantificação da atividade da SOD, CAT e APX.

Para a determinação do teor de proteínas foi utilizado a metodologia proposta por Bradford (1976), misturando-se 20 µL da solução de extração das amostras a 1 mL da solução de Bradford (solução pronta) e lidos em espectrofotômetro a 590 nm. Para a determinação da curva padrão utilizou-se BSA (Bovine serum albumin). Os resultados obtidos foram expressos em mg de proteína mL⁻¹.

3.8.4.4. Atividade de enzimas antioxidantes

3.8.4.4.1. A atividade da enzima catalase (CAT):

A Catalase foi determinada através da metodologia proposta por Kraus et al., (1995), misturando-se 25 µL da solução de extração a 1 mL de tampão fosfato de potássio 100mM, e 25 µL de peróxido de hidrogênio (0,75%). A atividade da catalase foi determinada através da decomposição do peróxido de hidrogênio por 1 minuto a 240 nm de absorbância. Os resultados obtidos foram expressos por µmol. min⁻¹.mg de proteína⁻¹.

3.8.4.4.2. A atividade de Superóxido Dismutase (SOD):

A Superóxido dismutase foi determinada através da metodologia proposta por Gianapolitis & Ries (1977), sendo que 15 µL da solução de extração foi misturado a 9,5 µL de Riboflavina (0,1 mM), 390 µL de Metionina (50 mM), 94,5 µL de NBT (mM), 15 µL de EDTA (10 mM) e 966 µL de tampão fosfato (50 mM – pH 7,8). As amostras foram acondicionadas em tubos de ensaio e agitadas por 30 segundos, e colocadas em recipientes com iluminação por 5 minutos. Os resultados obtidos foram expressos em U de SOD mg⁻¹ de proteína.

3.8.4.4.3. A atividade de Ascorbato Peroxidase (APX):

A Ascorbato peroxidase foi determinada através da metodologia proposta por Nakano & Asada (1981). Para isso foi feito um mix com 650 µL de tampão fosfato de potássio 80 mM (pH 7,0), 100 µL de ácido ascórbico (5 mM) e 100 de EDTA (1 mM). Este mix foi acondicionado em recipiente protegido de luz e colocado em banho maria a 30 °C. Posteriormente, foi realizado a

mistura de 850µL do mix com 50 µL da solução de extração das amostras e 100 µL de peróxido de hidrogênio (1 mM). A leitura foi realizada à absorvância de 290 nm.

3.8.4.5. Extração para análise de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica

Macerou-se 200 mg de material vegetal de cada parcela em nitrogênio líquido, com PVPP, e 2 ml de Tricloroacético (0,1%). Posteriormente, centrifugou-se a mistura a 10000 rpm a 4 °C por 10 minutos, para a separação entre fase líquida e sólida. A parte líquida foi armazenada em tubos de eppendorf e imediatamente congelados em nitrogênio líquido para posterior quantificação do teor de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica.

3.8.4.5.1. Determinação da quantidade de Peróxido de Hidrogênio

Retirou-se 200 µL do extrato do eppendorf, e colocou-se em tubos de ensaio, adicionando 800 µL de iodeto de potássio (1 M), e 200 µL de tampão fosfato (0,1 M pH 7,5), posteriormente, misturou-se por inversão e incubou-se a solução por 1 hora em banho de gelo, protegido da luz. Após este procedimento, deixaram-se as amostras em temperatura ambiente, antes de fazer a leitura em espectrofotômetro a 390 nm. Os resultados foram expressos em µmolar de peróxido.

3.8.4.5.2. Peroxidação lipídica (MDA)

Retirou-se 250 µL do extrato do eppendorf, e colocou-se em tubos de eppendorf juntamente 1 mL de solução de TBA (0,5%) + TCA (20%), em seguida colocou-se em banho maria por 30 minutos a 95 °C, e posterior acondicionamento em gelo por 10 min para parar a reação, e logo após centrifugou-se a 10000 rpm por 10 min.

Após deixar a solução descansando por 15 min, efetuou-se a leitura em espectrofotômetro na absorvância de 535 e 600 nm. Os resultados foram expressos em nMol de MDA/mg de matéria fresca.

3.9. Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, por meio do programa estatístico SAS. As variáveis qualitativas foram submetidas ao índice de soma de classificação (Mulamba e Mock, 1978).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Variáveis meteorológicas

Os valores médios das temperaturas máxima, mínima e média foram de 33,0 °C, 19 °C e 25 °C, respectivamente. A radiação fotossinteticamente ativa variou entre 26,51 e 28,18 mol m⁻² dia⁻¹, apresentando valor médio de 27,60 mol m⁻² dia⁻¹ (Figura 2). Os valores de umidade relativa do ar (UR) máxima, mínima e média foram de 98%, 42% e 77%, respectivamente (Figura 3).

O crescimento ótimo para o tomateiro está na faixa de 25 °C a 27 °C durante o dia e de 17 °C a 20 °C durante a noite. Temperatura diurna maior que 32 °C e noturna maior que 21 °C são limitantes para a produção de tomate, bem como temperaturas muito baixas. De acordo com os dados climáticos obtidos durante o experimento, foi possível observar estresse térmico durante quase todo o ciclo por ocorrência de temperaturas mais altas do que as desejáveis durante o período diurno e noturno.

Com relação às temperaturas diurnas, houve estresse considerável nos meses de janeiro e fevereiro, ou seja, na fase vegetativa, florescimento, florescimento pleno e início da frutificação. Provavelmente, as altas temperaturas foram o motivo pelo qual houve considerável redução no ciclo da cultura, já que os eventos de florescimento e frutificação ocorreram um pouco antes do esperado. Altas temperaturas diurnas causam redução no florescimento, pegamento e fixação dos frutos de tomate. Além disso, o excesso de calor resulta em frutos com coloração amarelada em razão da redução da síntese de licopeno (responsável pela coloração vermelha típica dos frutos) e aumento de síntese de carotenoides (pigmento que confere coloração amarelada à polpa). Já as altas temperaturas noturnas próximas ou superiores a 32 °C causam abortamento de flores, mal desenvolvimento dos frutos e formação de frutos ocos, assim como a produção de pólen é afetada tanto por temperaturas altas (> 40 °C) quanto por temperaturas baixas (< 10 °C) (EMBRAPA, 2018). Na tabela 4, encontram-se as médias das temperaturas durante todo o ciclo, de maneira que foram divididas em temperaturas médias diurnas e temperaturas médias noturnas.

Para o tomateiro, o crescimento ótimo das plantas ocorre entre 25 e 30 mol de fótons m⁻² dia⁻¹. Durante todo o ciclo essa condição foi observada, não gerando distúrbios fisiológicos decorrentes da intensidade luminosa. A luz é o fator que mais afeta o desenvolvimento vegetativo, que regula a produção e distribuição de fotoassimilados, fator este essencial ao desenvolvimento da planta, interferindo no crescimento da haste, das folhas, das flores e dos frutos. O crescimento e desenvolvimento da planta dependem da intensidade, qualidade e duração da radiação solar. Segundo Andriolo (2000), para que ocorra o crescimento e desenvolvimento normal de uma cultura, a quantidade de radiação recebida deve ser superior ao limite trófico. Para a maioria das hortaliças, como o tomateiro, esse nível é de aproximadamente 19 mol de fótons m⁻² dia⁻¹, considerado como nível em que a planta produz o mínimo de fotoassimilados necessários à sua manutenção.

Os valores obtidos de umidade relativa ao longo do dia estavam dentro da faixa considerada adequada para o bom desenvolvimento das plantas. De acordo com Guimarães et al. (2007), a faixa diária mais indicada para a cultura do tomate varia de 50 a 70% de UR. Segundo esses autores, excesso de umidade impede a polinização das flores e provoca abortamento, além de prejudicar a absorção de nutrientes por reduzir a transpiração da planta.

Figura 2 . Temperatura mínima (Tmin), temperatura média (Tmed), temperatura máxima (Tmax) e radiação fotossinteticamente ativa (RFA) registradas durante a condução do experimento. Piracicaba, ESALQ/USP, 2016/2017.

Figura 3. Umidade relativa mínima (UR Min), umidade relativa média (UR Med) e umidade relativa máxima (UR Max), registradas durante a condução do experimento. Piracicaba, ESALQ/USP, 2016/2017.

Tabela 4. Temperaturas médias diurnas e noturnas (°C) diárias, medidas no interior do ambiente protegido, durante o ciclo de cultivo do tomate. Piracicaba-SP, ESALQ/USP, 2016-2017

Dia	Dezembro		Janeiro		Fevereiro		Março		Abril	
	Diurna	Noturna	Diurna	Noturna	Diurna	Noturna	Diurna	Noturna	Diurna	Noturna
1	-	-	28,10	25,72	25,04	24,15	27,11	22,25	23,04	17,18
2	-	-	28,06	26,81	25,17	21,14	25,76	23,77	24,02	17,84
3	-	-	27,79	21,95	26,57	24,10	28,39	22,12	24,83	18,65
4	-	-	26,80	26,86	27,05	23,90	28,20	23,08	26,04	19,87
5	-	-	26,10	24,87	29,36	25,54	23,50	23,87	26,66	17,18
6	-	-	28,23	24,44	28,92	23,38	27,49	21,42	23,70	22,46
7	-	-	28,57	27,74	29,10	25,15	28,16	23,08	25,71	22,54
8	-	-	29,19	26,71	28,61	25,88	28,60	23,03	26,18	22,89
9	-	-	28,71	23,73	28,02	25,11	28,93	23,23	26,60	21,72
10	-	-	27,28	26,21	29,08	26,35	30,38	24,53	27,07	21,67
11	-	-	27,50	24,95	28,70	25,84	29,89	23,58	27,99	22,47
12	-	-	24,99	22,95	30,14	26,79	29,51	25,89	24,93	21,18
13	-	-	26,35	25,09	29,82	25,09	32,24	24,10	24,13	19,28
14	-	-	29,62	24,83	29,24	25,77	32,68	22,45	25,45	19,56
15	-	-	29,43	24,21	30,10	27,47	33,71	24,25	25,88	19,69
16	-	-	27,05	22,73	29,19	23,98	33,36	24,79	25,37	20,34
17	-	-	24,58	23,09	29,51	25,75	35,07	24,39	24,55	20,80
18	-	-	24,67	22,75	29,92	24,31	25,59	21,90	23,38	18,56
19	-	-	25,29	21,15	30,94	26,09	26,75	20,94	24,20	18,12
20	-	-	25,32	23,53	31,00	26,92	29,61	21,22	24,20	20,03
21	-	-	24,92	21,16	29,83	27,77	30,07	21,02	22,85	20,68
22	-	-	23,40	22,40	30,10	24,58	32,53	21,78	23,19	19,70
23	-	-	25,71	23,81	30,01	26,04	30,96	21,66	22,46	18,08
24	-	-	28,52	23,66	27,36	21,55	32,63	22,84	25,02	18,54
25	-	-	26,48	24,50	24,63	21,68	33,65	23,84	25,88	21,27
26	-	-	24,01	23,19	25,71	22,09	32,21	22,87	20,77	19,63
27	-	-	24,86	22,58	28,04	25,42	25,57	21,01	23,10	18,91
28	24,96	22,94	29,47	25,15	28,84	26,24	29,26	21,51	20,29	17,25
29	25,01	22,59	30,60	27,29	-	-	29,82	21,01	20,13	19,32
30	25,09	22,57	30,34	23,30	-	-	31,28	21,00	22,19	22,20
31	25,34	22,53	26,70	20,79	-	-	29,55	19,92	-	-

4.2. Enzimas antioxidantes, peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e peroxidação lipídica.

Houve diminuição de atividade da SOD, em relação ao controle, nos tratamentos 0,10; 0,25; 0,50 e 1,0 g L⁻¹. A atividade dessa enzima reduziu em média 45,91%. A redução da atividade da SOD pode ser atribuída ao fato do aminoácido L-arginina exógeno nas concentrações descritas anteriormente ter sido utilizado na síntese de outros compostos como o óxido nítrico, que é um composto antiestresse no alívio do superóxido, considerado uma espécie reativa de oxigênio. Porém, a aplicação de 2 g L⁻¹, por sua vez, aumentou a atividade da SOD em relação ao controle, evidenciando também o papel desse aminoácido na atividade da SOD, considerada a primeira linha de defesa contra as Eros e que catalisa a dismutação de dois radicais O₂[•], gerando H₂O₂ e O₂. Essa enzima participa da

modulação do nível de H_2O_2 em cloroplastos, mitocôndrias, citosol e peroxissomos (AZEVEDO, 1998; MITTLER, 2002; BHATTACHARJEE, 2010).

Observou-se nos resultados obtidos, alta atividade de APX, o que indica que esta enzima foi a responsável pela remoção de H_2O_2 , realizando a manutenção do equilíbrio desse composto no meio intracelular. O aumento da atividade de APX foi observado em todas as concentrações, exceto na aplicação de $0,1 \text{ g L}^{-1}$. No tratamento 3, ($0,25 \text{ g L}^{-1}$ de L-arginina), a atividade dessa enzima foi 2,96 vezes superior ao controle, seguindo-se o tratamento 4 ($0,50 \text{ g L}^{-1}$ de L-arginina), cuja atividade foi 2,37 vezes maior que o controle, o tratamento 5, ($1,0 \text{ g L}^{-1}$ de L-arginina), que foi 3,39 vezes maior que o controle e o tratamento 6 ($2,0 \text{ g L}^{-1}$ de L-arginina) que apresentou o aumento mais expressivo na atividade dessa enzima, que foi de 9,6 vezes superior em relação ao controle.

A APX tem alta afinidade com o H_2O_2 , realizando a sua eliminação mesmo em baixas concentrações (SHARMA et al., 2012). Nos cloroplastos e mitocôndrias, a APX reduz a concentração de H_2O_2 formado pela ação da SOD (LOCATO et al., 2010).

A atividade da enzima CAT aumentou somente com a aplicação de 2 g L^{-1} de L-arginina em relação ao controle. A CAT é uma das principais enzimas na eliminação do H_2O_2 gerado durante a fotorrespiração e a β -oxidação dos ácidos graxos. Atua nos peroxissomos e glioxissomos e pode ser encontrada também em mitocôndrias. Ela converte duas moléculas de H_2O_2 a H_2O e oxigênio molecular (HELDT & HELDT, 2005c; DUBEY, 2011). As plantas possuem várias isoformas de CAT, as quais podem dismutar diretamente o H_2O_2 ou oxidar substratos, tais como metanol, etanol, formaldeído e ácido fórmico (BREUSEGEM et al., 2001). A CAT e o ciclo do ascorbato-glutationa são importantes na eliminação do H_2O_2 e, apesar de suas propriedades e requisitos serem diferentes, podem funcionar efetivamente em paralelo. Como a CAT opera sem agente redutor, ela fornece às plantas uma forma energeticamente eficiente para remoção do H_2O_2 (SHARMA et al., 2012). A atividade da CAT é efetiva, principalmente, em concentrações relativamente altas de H_2O_2 (mM), por isso é considerada indispensável para a desintoxicação de EROs, especialmente em condições de estresse severo, quando os níveis de H_2O_2 estão maiores (DUBEY, 2011).

A atividade da CAT foi menos expressiva na remoção do H_2O_2 , porque a atividade da enzima APX foi alta, embora ambas removam o peróxido de hidrogênio do ambiente intracelular. A APX e a CAT são as duas enzimas mais importantes dentre os componentes de desintoxicação do H_2O_2 (BHATT & TRIPATHI, 2011). A ação da catalase (CAT) e das peroxidases destacam a diferença básica entre as duas principais rotas metabólicas do H_2O_2 nas células. A remoção de H_2O_2 por peroxidases requer uma pequena molécula redutora (ou proteínas como o citocromo c ou tioredoxina) para agir como um cofator de regeneração e não leva à evolução de O_2 , porque a água é o produto da reação (MHAMDI et al., 2012).

A APX exige o ácido ascórbico como redutor. Tem alta afinidade com o H_2O_2 , com uma constante de Michaelis-Menten (KM) na ordem de μM , permitindo a eliminação do H_2O_2 mesmo em baixas concentrações (LOCATO et al., 2010; SHARMA et al., 2012). Nos cloroplastos e

mitocôndrias a APX atua no ciclo ascorbato-glutationa, no qual o H_2O_2 formado pela ação da SOD é reduzido pelo ascorbato (MITTLER, 2002; LOCATO et al., 2010). Nos cloroplastos a fotoredução do oxigênio à água pode gerar $\text{O}_2^{\bullet-}$ e H_2O_2 , que são eliminados pela ação da SOD e da APX, respectivamente (ASADA, 2006).

Assim, os resultados dão indícios de que a arginina atuou de maneira mais efetiva nos cloroplastos ou mitocôndrias, organelas onde a enzima APX é atuante.

A concentração de H_2O_2 diminuiu com a aplicação de $1,0 \text{ g L}^{-1}$ ou $2,0 \text{ g L}^{-1}$ de L-arginina em relação ao controle cuja redução foi de 50,33% e 64,21%, respectivamente, mostrando que as enzimas CAT e APX foram eficientes na remoção do peróxido de hidrogênio, devido ao aumento da dose do aminoácido L-arginina.

O H_2O_2 é uma espécie reativa de oxigênio moderadamente reativa com uma meia-vida relativamente longa (1 ms), cujo pequeno tamanho lhe permite atravessar membranas celulares e migrar em compartimentos diferentes. Dessa forma, o peróxido de hidrogênio, é capaz de se difundir, provocando danos e também atuando como um mensageiro da condição de estresse. O H_2O_2 tem uma ação deletéria, porque participa da reação formadora de $\text{OH}^{\bullet}$ (radical hidroxila), o oxidante mais reativo na família das EROs. Além disso, o H_2O_2 é capaz de inativar enzimas por oxidação de seus grupos tiol (Murshed et al, 2013).

A produção de malondialdeído (MDA), composto importante na sinalização do estresse foi reduzida com a aplicação de $0,1 \text{ g L}^{-1}$ de L-arginina. O MDA é um dos produtos gerados pela peroxidação lipídica sendo um dos mais estudados sob diferentes estresses abióticos. A peroxidação lipídica agride os ácidos graxos polinsaturados dos fosfolípidos das membranas das células, desintegrando-as e permitindo, desta maneira, a entrada dessas espécies nas estruturas intracelulares. A fosfolipase, ativada pelas espécies tóxicas desintegra os fosfolípidos, liberando os ácidos graxos não saturados (Halliwell & Gutteridge, 1989), resultando em ações deletérias dos peróxidos lipídicos como ruptura das membranas celulares (bombas Na/K e Ca/Mg), mutações do DNA - ácido desoxirribonucleico, oxidação dos lípidos insaturados, formação de resíduos químicos como o MDA, comprometimento dos componentes da matriz extracelular, proteoglicanos, colágeno e elastina.

Os peróxidos lipídicos possuem poder de ação maior do que as outras espécies tóxicas primárias de O_2 ($\text{O}_2^{\bullet-}$, H_2O_2 , $\text{OH}^{\bullet}$, O_2), atingindo facilmente alvos mais distantes (Gonzalez, 1992). A redução da concentração de MDA foi de 54% para o tratamento com a menor dose de L-arginina em relação ao controle. Entretanto, nas demais doses desse aminoácido, as concentrações de MDA não diferiram da testemunha, embora os valores absolutos encontrados também tenham sido inferiores aqueles obtidos nas folhas não tratadas com L-arginina. Esses resultados evidenciam o papel da L-arginina na produção de MDA.

Quando as plantas são submetidas a estresses, elas acionam um eficiente sistema de controle de espécies reativas de oxigênio. A atividade enzimática nas plantas é crucial para seu ótimo desenvolvimento já que está diretamente relacionada aos seus processos metabólicos. Esses processos,

via de regra, apresentam variações com o tempo. Tais oscilações decorrem do ambiente, do manejo ao qual as plantas foram submetidas, ou de outros fatores abióticos que estão presentes durante o ciclo de desenvolvimento das plantas. Nesse estudo, o sistema oxidativo foi eficiente, aumentando as atividades das enzimas CAT e APX que foram eficientes na remoção do H_2O_2 , mantendo equilíbrio no sistema de defesa da planta.

Tabela 5. Resultados de atividades das enzimas (superóxido dismutase em U de SOD/mg de proteína (SD); catalase em $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ (CAT); ascorbato peroxidase em $\text{nMol}/\text{min}/\text{g}$ (APX); peróxido de hidrogênio em μmolar ; peroxidação lipídica em μmolar de MDA/mg de matéria fresca (MDA)

Trat ¹	Dose foliar (g L ⁻¹)	SOD	CAT	APX	H ₂ O ₂	MDA
Controle	0,00	22,65b	75,84bc	92,98d	104,56a	26,83a
2	0,10	10,44d	81,67b	188,54cd	80,50ab	11,14b
3	0,25	9,48e	74,14bc	275,49cb	73,30ab	19,35ab
4	0,50	10,37d	63,48c	220,70cb	61,85ab	20,64ab
5	1,00	11,32c	81,97b	315,70b	51,93b	23,91a
6	2,00	28,29a	108,44a	891,63a	37,42b	20,21ab
CV %		3,67	7,71	11,33	22,66	18,95

*Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

4.3. Variáveis fotossintéticas

A geração do O_2^- nos cloroplastos pode ser induzida pela baixa concentração de CO_2 , em função do fechamento dos estômatos, resultante de condições de estresse como déficit hídrico, salinidade ou temperatura elevada (DABROWSKA et al., 2007). A limitação da fixação de CO_2 no ciclo de Calvin em plantas sob tais condições diminui a oxidação do NADPH. Quando isso ocorre, o elétron da ferredoxina reduzida que seria transferido para o NADP vai para o O_2 e forma O_2^- (AHMAD et al., 2008).

A taxa fotossintética líquida aumentou com a aplicação de 1,0 e 2,0 g L⁻¹ de L-arginina em relação ao controle, cujo aumento foi de respectivamente 28,84% e 33,33%.

O aumento da temperatura pode afetar a fotossíntese de diversas formas. De maneira indireta, a temperatura pode afetar a fotossíntese aumentando a demanda evaporativa do déficit de pressão de vapor que pode conduzir ao fechamento estomático, para a redução da taxa de água perdida pela transpiração. Associado ao fechamento estomático pode ocorrer uma diminuição na assimilação de CO_2 e consequentemente na taxa fotossintética (FARQUHAR, 2008). Nesse estudo, uma vez conhecida a ocorrência de estresse térmico, pode-se inferir a eficiência do aminoácido testado em atenuar o estresse térmico causado permitindo o aumento da taxa fotossintética líquida nas maiores doses de L-arginina.

A condutância estomática manteve-se equilibrada entre os diversos tratamentos exceto no tratamento 5 ($1,0 \text{ g L}^{-1}$ de L-arginina), onde mostrou incremento em relação ao controle de $0,22 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-2}$. Segundo Yu et al, 2010, a aplicação de L-ácido glutâmico, na dosagem de $0,8 \text{ g L}^{-1}$ aumentou a condutância estomática e a fotossíntese. A aplicação de L-arginina não teve efeito significativo na concentração interna de CO_2 em relação ao controle, porém a transpiração coincidiu com os resultados obtidos para condutância estomática sendo que a aplicação de $1,0 \text{ g L}^{-1}$ de L-arginina aumentou em 32% a taxa transpiratória em relação ao controle.

Os resultados indicam que a L-arginina não somente levou ao aumento da condutância estomática mas também ao aumento da transpiração, que foram associados com o aumento da fotossíntese líquida. O aumento da atividade fotossintética provavelmente se deve à proteção do maquinário fotossintético pela ação da L-arginina no alívio de compostos antioxidantes gerados durante a fotossíntese, com a formação de H_2O_2 na cadeia transportadora de elétrons nos cloroplastos. (FOYER e NOCTOR, 2003).

Tabela 6. Taxa fotossintética líquida em $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Foto), condutância estomática em $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-2}$ (Cond. estomática), CO_2 interno em $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ e transpiração em $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Transpi).

Trat ¹	Dose foliar (g L ⁻¹)	Foto	Cond. Estomática	CO ₂ interno	Transpi
Controle	0	16,50c	0,58bc	99,96ab	2,72bc
2	0,10	17,10bc	0,50c	77,77b	2,42c
3	0,25	19,53abc	0,67ab	112,36ab	3,10ab
4	0,50	20,00abc	0,64ab	152,00ab	2,97abc
5	1,00	21,26ab	0,80a	195,33a	3,61a
6	2,00	22,00a	0,70ab	135,70ab	3,26ab
CV %		8,36	9,00	31,20	7,71

*Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

4.4. Teores foliares de nutrientes e produtividade do tomateiro

A aplicação de arginina não aumentou os teores de nutrientes nas folhas das plantas aos 60 DAT em relação ao controle, obtendo resultados semelhantes aos de Boras et al. (2011), El-Zohiri & Asfour (2009) e Abo Seder et al. (2010), em plantas olerícolas (Tabela 7). A ordem decrescente de concentração de nutrientes nas folhas de tomateiro foi: N, K, Ca, P, S e Mg. Esse resultado foi diferente do observado por Fernandes et al. (2002) e Lima et al. (2011), cujas ordens decrescentes foram, respectivamente: K, Ca, N, S, P e Mg; e N, K, Ca, Mg, S e P. De acordo com Carvalho et al. (2004), as diferenças entre os teores foliares de nutrientes dependem da época de plantio, idade da planta ou órgão amostrado, do cultivar, da interação entre os nutrientes e das condições climáticas.

As médias dos valores encontrados para P, Mg e S foram de 6,1; 3,13; e 6,22 g Kg⁻¹, respectivamente, estando dentro das faixas adequadas para estes nutrientes (4 a 8 g kg⁻¹ para P; 4 a 8 g kg⁻¹ para Mg e 3 a 10 g kg⁻¹ para S) de acordo com Silva (2009), exceto o Mg que estava levemente abaixo.

Da mesma forma, os teores médios de Fe, Zn, Mn e B, que foram de 133,6; 60,10; 239,33; e 44,55 mg kg⁻¹, estavam dentro das faixas consideradas adequadas (100 a 300 mg kg⁻¹ para o Fe; 30 a 100 mg kg⁻¹ para o Zn; 50 a 250 mg kg⁻¹ para o Mn; e 30 a 100 mg kg⁻¹ para o B), Silva (2009). O Cu

provavelmente ficou acima da faixa considerada ideal por Silva e Giordano (2000), devido à aplicação de produto cúprico. Seu teor foi de $47,66 \text{ mg kg}^{-1}$ e a faixa ideal estabelecida é de 10 a 20 mg kg^{-1} .

Os teores foliares médios de N, K e Ca foram de $45,49 \text{ g kg}^{-1}$; $26,46 \text{ g kg}^{-1}$ e $17,14 \text{ g kg}^{-1}$, e estavam na faixa adequada, (40 a 60 g kg^{-1} ; 30 a 50 g kg^{-1} e 14 a 40 g kg^{-1}), estabelecido por Silva (2009) para K, e Silva e Giordano (2000) para N e Ca.

Tabela 7. Teores de nutrientes na quarta folha completamente expandida a partir do ponteiro do tomateiro coletada aos 60 DAT.

Trat ¹	Dose foliar (g L ⁻¹)	N	P	K	Ca	Mg	S	Cu	Fe	Zn	Mn	B
		g/kg						mg/kg				
Controle	0	45,50a	5,96a	25,90a	17,06a	2,87a	5,83a	49,33a	120a	58,00a	234,66a	43,33ab
2	0,10	45,50a	6,10a	26,86a	17,40a	3,10a	6,06a	38,00a	128a	61,33a	239,33a	45,66ab
3	0,25	46,66a	6,00a	27,40a	17,10a	3,00a	6,23a	36,00a	129a	60,33a	237,33a	43,66ab
4	0,50	45,96a	5,93a	27,90a	17,66a	3,16a	7,80a	50,66a	149a	66,66a	243,33a	56,66a
5	1,00	43,86a	6,43a	25,36a	16,40a	3,67a	5,83a	58,00a	136a	56,00a	240,00a	38,00b
6	2,00	45,50a	6,23a	25,36a	17,23a	3,01a	5,60a	54,00a	140a	58,33a	241,33a	40,00ab
CV%		6,36	8,67	6,26	7,28	9,17	13,90	12,25	10,24	16,67	10,58	14,23

*Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Os aminoácidos são considerados precursores e constituintes de proteínas importantes para o estímulo do crescimento celular. Muitos deles têm sido reportados como modulador do crescimento e da qualidade do tomateiro (Boras et al., 2011). Abo Seder et al. (2010) obtiveram aumento significativo na produção total de frutos comparados ao controle. A L-arginina estaria ainda ligada ao processo de florescimento e frutificação, uma vez que conforme reportado na literatura compostos chamados de poliaminas estão relacionados ao processo de maturação dos grãos de pólen e de germinação, como na modulação de resposta a uma diversidade de estresses ambientais (Bagni et al., 1981; Bouchereau et al., 1999; Chibi et al., 1994; Galson et al., 1997; Tiburcio et al., 2014).

Nesse estudo, as aplicações de arginina aumentaram a produtividade para os tratamentos empregados (Tabela 8). As produtividades dos frutos classificados como pequenos (PP), médios (PM) e grandes (PG) não apresentaram diferenças entre os tratamentos. A produtividade dos frutos não comerciais (PNC), ou seja, que não atenderam as classes de classificação quanto ao seu tamanho e de defeituosos (PD), também não apresentaram diferença entre os tratamentos.

A produtividade total aumentou 22,1% com a aplicação de 0,5 g L⁻¹ de L-arginina, em relação ao controle. A aplicação de 1,0 g L⁻¹ de arginina obteve a segunda maior média, com incremento de 19,39% em relação ao controle, porém esse valor foi não significativo estatisticamente.

No tratamento correspondente a 2,0 g L⁻¹ de arginina, a produtividade manteve-se igual ao das plantas controle, o que poderia indicar que o limite ideal de aplicação da L-arginina estaria entre as concentrações de 0,5 e 1,0 g L⁻¹.

Tabela 8. Produtividade de frutos pequenos (PP); produtividade de frutos médios (PM), produtividade de frutos grandes (PG), produtividade não comercial (PNC), produtividade de frutos com defeitos (PD), produtividade comercial (PCOM) e produtividade total (PTOTAL) do tomateiro.

Trat ¹	Dose foliar g L ⁻¹	PP	PM	PG	PNC	PD	PCOM	PTOTAL
1	0,00	1432,89a	1828,31a	207,45a	398,97a	201,41a	3468,65a	4069,03b
2	0,10	1519,10a	1745,10a	287,21a	435,27a	274,35a	3551,44a	4271,69ab
3	0,25	1546,72a	1662,78a	388,30a	608,98a	196,35a	3597,80a	4403,12ab
4	0,50	1674,52a	2415,91a	178,61a	702,00a	250,81a	4269,04a	5221,86a
5	1,00	1492,43a	2305,11a	357,54a	572,24a	320,55a	4155,09a	5047,87ab
6	2,00	1546,34a	1790,48a	290,66a	689,81a	370,60a	3627,47a	4551,69ab

*Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 9. Número de frutos pequenos (NFP), número de frutos médios (NFM), número de frutos grandes (NFG), número de frutos não comercial (NFNC), número de frutos com defeito (NFD) e número de frutos total (NFT) do tomateiro.

Trat ¹	Dose foliar g L ⁻¹	NFP	NFM	NFG	NFNC	NFD	NFT
1	0,00	20,61a	16,50a	1,44 ^a	11,44a	3,22a	53,22a
2	0,10	20,72a	15,33a	2,27 ^a	11,22a	5,22a	54,78a
3	0,25	21,55a	15,61a	2,44 ^a	16,22a	4,66a	60,5a
4	0,50	22,33a	19,28a	1,28 ^a	17,27a	4,89a	65,06a
5	1,00	19,89a	16,00a	2,38 ^a	14,83a	5,66a	58,77a
6	2,00	20,39a	16,66a	2,00a	18,77a	6,66a	64,50a

*Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

4.5 Características qualitativas dos frutos

Os teores de ácido ascórbico, acidez titulável (ATT), sólidos solúveis totais (SST) e a relação SST/ATT dos frutos não variaram entre as doses de arginina (Tabela 10). O pH reduziu com o tratamento 4 em relação ao controle, porém essa redução foi de apenas 0,2. Para o tomate, o pH ideal está em torno de 4 a 4,5, sendo assim, todos os tratamentos resultaram em valores de pH dentro da faixa considerada ideal.

Os valores médios de ATT, pH e SST foram próximos aos descritos por Anjos et al. (2015) em tomate Italiano Pizzadoro (ATT 0,46 g/100g; pH 4,4 e SST 4,7 °Brix). Araujo et al. (2014) também obtiveram valores próximos aos descritos na tabela 10 para esse cultivar (ATT 0,28 g/100g; pH 4,17 e SST 5 °Brix), com diferença somente para a variável ATT, que apresentou relação duas vezes maior, em média, que os obtidos neste estudo.

Tabela 10. Resultados de características qualitativas: Ácido Ascórbico ou teor de vitamina C em g/100g (AA); Acidez total titulável em % de ácido cítrico (ATT); valor do pH da polpa (pH); Teor de sólidos solúveis em °Brix (SST); relação entre teor de sólidos solúveis e acidez total titulável (SST/ATT).

Trat ¹	Dose foliar (g L ⁻¹)	AA	ATT	pH	Brix	SST/ATT
controle	0,0	13,00a	0,53 ^a	4,36a	3,93a	10,24a
2	0,10	12,66a	0,53 ^a	4,29ab	4,56a	10,47a
3	0,25	10,66a	0,52 ^a	4,27ab	3,66a	10,91a
4	0,50	14,00a	0,55 ^a	4,16b	3,33a	10,73a
5	1,00	16,33a	0,51 ^a	4,33ab	4,63a	10,28a
6	2,00	13,00a	0,52 ^a	4,30ab	4,33a	13,07a
CV%		31,49	7,20	1,51	16,44	19,83

*Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

4.6. Cálculo do Índice de Correlação de Posto

O índice de soma de classificação (Mulamba e Mock, 1978) foi obtido pela somatória das notas atribuídas a cada variável qualitativa. De acordo com os índices, o tratamento 4 (0,5 g L⁻¹ de L-arginina) apresentou os frutos com as melhores características de qualidade do tomate. O tratamento 2 (0,1 g L⁻¹ de L-arginina) e o tratamento 6 (2,0 g L⁻¹ de L-arginina) foram classificados em segundo e terceiro lugares, seguidos do tratamento 5 (1,0 g L⁻¹ de L-arginina) e o 3 (0,25 g L⁻¹ de L-arginina). O tratamento que obteve o último lugar na classificação foi o controle, indicando que a L-arginina também contribuiu para o aumento da qualidade.

Tabela 11. Cálculo do índice de correlação de posto para variáveis de qualidade de fruto entre os tratamentos de L-arginina.

Trat¹	Dose foliar (g L⁻¹)	AA $\bar{x}$	posto	ATT $\bar{x}$	posto	pH $\bar{x}$	posto	Brix $\bar{x}$	posto	SST/ATT $\bar{x}$	posto
controle	0,0	13,00	3,5	0,53	2,5	4,36	6	3,93	4	10,24a	6
2	0,1	12,66	4	0,53	2,5	4,29	2	4,56	2	10,47a	4
3	0,25	10,66	5	0,52	3	4,27	3	3,66	5	10,91a	2
4	0,50	14,00	2	0,55	1	4,16	1	3,33	6	10,73a	3
5	1,00	16,33	1	0,51	4	4,33	5	4,63	1	10,28a	5
6	2,00	13,00	3,5	0,52	3	4,30	4	4,33	3	13,07a	1

Trat¹	Dose foliar (g L⁻¹)	Ranqueamento
Controle	0,0	6° – 22,0
2	0,1	2°/3° – 14,5
3	0,25	5° – 18,0
4	0,50	1° – 13,0
5	1,00	4° – 16,0
6	2,00	2°/3° – 14,5

5 CONCLUSÕES

A L-arginina foi eficiente no alívio do estresse pelo aumento da atividade das enzimas SOD, CAT e APX em plantas de tomate cultivadas em temperaturas elevadas.

A L-arginina exógena também foi eficiente na proteção do maquinário fotossintético, comprovado pelo aumento da fotossíntese líquida, condutância estomática e transpiração, o que resultou em aumento de produtividade do tomate com a aplicação de $0,5 \text{ g L}^{-1}$ de L-arginina.

REFERÊNCIAS

- ALTSCHUL SF, MADDEN TL, SCHAFER AA, ZHANG J, ZHANG Z, MILLER W, LIPMAN DJ (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res* 25:3389–3402
- ABO SEDERA, F. A.; ABD EL-LATIF, A. A.; BADER, L. A. A.; REZK, S.M (2010) Effect of NPK mineral fertilizer levels and foliar application with humic and amino acids on yield and quality of strawberry”. *Egyp.J. of Appl. Sci.* 25: 154-169.
- ALVARENGA, M. AR (2013) Tomate, produção em campo, casa de vegetação e hidroponia. Lavras: UFLA 455 p.
- ANJOS, V. D. A.; ZANINI, J. S.; ABRAHÃO, R. M. S.; CASTRO, M. F. P. M.; VALENTIN, S. RT (2015) Monitoramento da maturação pós-colheita de tomate verde maduro dos grupos italiano “Pizzadoro” e saladete “Alambra”. *Journal of Fruits and Vegetables*, v. 1, n. 1, p. 53-60.
- ARAUJO, J. C.; SILVA, P. P. M.; TELHADO, S. F. P.; SAKAI, R. H.; SPOTO, M. H. F.; MELO, P. C. T. Physico-chemical and sensory parameters of tomato cultivars grown in organic systems. *Horticultura Brasileira* 32: 205-209.
- AZEVEDO, R. A., ALAS, R. M., SMITH, R. J., & LEA, P. J. (1998). Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. *Physiologia Plantarum*, 104, 280–292. doi:10.1034/j.1399-3054.1998.1040217.
- BHATTACHARJEE, S. Sites of generation and physicochemical basis of formation of reactive oxygen species in plant cell. In: GUPTA, S.D. *Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants*. Enfield: Science Publishers, 2010. p.1-30.
- BORAS, M.; ZIDAN, R.; HALLOUM, W. (2011). Effect of amino acids on growth, production and quality of tomato in plastic greenhouse. *Tishreen Univ. J Res. and Sc Studies. Biolog Sci Series*. 33(5):229-238.
- BRADFORD, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. May 7; 72:248–254.
- BORRELL AK, HAMMER GL, HENZEL RG (2000) Does maintaining green leaf area in sorghum improve yield under drought? II. Dry matter production and yield. *Crop Sci* 40:1037–1048

- BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. de A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. (2014). Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.44, n.3, p.453-460, mar.
- CARVALHO, C. R. L.; MANTOVANI, D. M. B.; CARVALHO, P. R. N.; CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005. 785 p
- CARVALHO J. G.; BASTOS A. R. R.; ALVARENGA M. A. R. (2004). Fertirrigação. In: ALVARENGA MAR (ed). Tomate: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia. Lavras: Editora UFLA. p. 63-120.
- CASTRO, P. R.C; CARVALHO, M. E. (2014). Aminoácidos e suas aplicações na agricultura. Piracicaba: ESALQ. 58p. (Série Produtor Rural, 57).
- CAMPBELL, M.K.; FARREL S.O. Bioquímica. Versão COMBO. São Paulo: Cengage Learning, 2007.
- DELAUNEY A. J. & VERMA D. P. S. (1993). Prolinebiosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant J* 4:215–223.
- DELGADO, E.; MITCHELL, R.; PARRY, M.; DRISCOLL, S. P.; MITCHELL, V. J.; LAWLOR, D. W. (1994). Interacting effects of CO₂ concentration, temperature and nitrogen supply on the photosynthesis and composition of winter wheat leaves. *Plant, Cell and Environment*. 17, 1205–1213.
- EL-DESOUKY, S. A.; ISMAEIL, F. H.; WANAS, A. L.; FATHY, E-S. L.; ABDEL-ALL, M. M. (2011). Effect of yeast extract, amino acids and citric acid on physioanatomical aspects and productivity of tomato plants grown in late summer season”, *Minufiya J. Agric. Res.*, 36(4): 859-884.
- EL-ZOHIRI, S. S. M.; ASFOUR, Y. M. (2009). Effect of some organic compounds on growth and productivity of some potato cultivars. *Annals of Agric Sci Moshtohor*. 47(3):403 -415.
- FAO, Faostat. Production, Crop: Tomato Yield and production. (2013). Disponível em <http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>. Acesso em: 01 de outubro. 2017.
- FERNANDES, A. A.; MARTINEZ, H. E. P.; FONTES, P. C. R. (2002). Produtividade, qualidade dos frutos e estado nutricional do tomateiro tipo longa vida conduzido com um cacho, em cultivo hidropônico, em função das fontes de nutrientes. *Horticultura Brasileira* 20: 564-570.

FLOSS, E. L.; FLOSS, L. G. (2007) Fertilizantes organominerais de última geração: funções fisiológicas e uso na agricultura. *Revista Plantio Direto*, edição 100, jul/ago.

FOYER CH, SHIGEOKA S. (2011) Understanding Oxidative Stress and Antioxidant Functions to Enhance Photosynthesis. *Plant Physiology*.155(1):93-100. doi:10.1104/pp.110.166181.

GIANNOPOLITIS, C. N; RIES, S. K. (1977). Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol.*,59: 309-314.

GRATÃO PL, Polle A, Lea PJ, Azevedo RA (2005) Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. *Funct. Plant Biol.* 32:481-494.

JUNJI, A.; UEGAKI, M.; ISHIMIZU, T. (2011). Effects of l-arginine on solubilization and purification of plant membrane proteins. *Protein Expression and Purification*. v 80, Issue 1, p 91-96. November.

KHALIL, S.I.; EL-MONEM, H. M. S.; HASSANEIN, R.A.; MOSTAFA, H. A. EL-KHAWAS S. A.; Abd EL-MONEM A. A. (2009). Antioxidant defense system in heat shocked wheat plants previously treated with arginine or putrescine. *Aust J Basic Appl Sci* 3:1517–1526.

KIM, H. S.; KIM, H. S.; HAHN, K. W.; JOUNG, H.; JEON, J. H. (2009) Reactive oxygen species: regulation of plant growth and development. *Advances in Botanical Research*, v. 52, p. 25-46.

KRAUS, T. E.; McKERSIE, B. D.; FLETCHER, R. A. (1995). Paclobutrazol-induced tolerance of wheat leaves to paraquat may involve increased antioxidant enzyme activity. *Journal of Plant Physiology*, v.145, p.570-576.

KOSAMBI DD (1944) The estimation of map distance from recombination values. *Ann Eugen* 12:172-175

LIMA, A. A.; ALVARENGA, M. A. R.; RODRIGUES, L.; CARVALHO, J. G. (2011). Concentração foliar de nutrientes e produtividade de tomateiro cultivado sob diferentes substratos e doses de ácidos húmicos. *Horticultura Brasileira* 29: 63-69.

LIU, H. P.; DONG, B. H.; ZHANG, Y. Y.; LIU, Z. P.; LIU, Y. L. (2004). Relationship between osmotic stress and the levels of free, conjugated and bound polyamines in leaves of wheat seedlings. *Plant Science* 166, 1261–1267.

LLOYD, J; FARQUHAR, G.D. (1996). The CO₂ dependence of photosynthesis, plant growth responses to elevated atmospheric CO₂ concentrations and their interaction with plant nutrient status. *Functional Ecology*, Oxford, v.10, n.1, p. 4-32, Feb.

LLOYD, J; FARQUHAR, G.D. (2008). Effects of rising temperature and CO₂ on the physiology of tropical forest trees. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B – Biological Sciences*, London, v.363, n. 1498, p.1811-1817, May.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. (1997). *Avaliação do estado nutricional de plantas: Princípios e aplicações*. Piracicaba, Potafos. 308p.

MANSOUR, M.M.F. (2000). Nitrogen containing compounds and adaptation of plants to salinity stress, *Biol. Plant* 43, p.491–500.

MULAMBA, N.N.; MOCK, J.J. Improvement of yield potential of the eto blanco maize (*Zea mays* L.) population by breeding for plant traits. *Egyptian Journal of Genetics and Cytology*, v.7, p.40-51, 1978.

NAGARAJAN, S.; NAGARAJAN, S. (2011) Abiotic tolerance and crop improvement. In: PAREEK, A.; SOPORY, S. K.; BOHNERT, H. J.; GOVINDJEE (eds.). *Abiotic stress adaptation in plants: Physiological, Molecular and Genomic Foundation*. Springer, Dordrecht, cap. 1, p.1-11.

NAKANO, Y.; ASADA, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 22:867–880.

NASIBI, F.; YAGHOUBI, M.; KALANTARI, K. H. (2011). Effect of exogenous arginine on alleviation of oxidative damage in tomato plant under water stress, *J. Plant. Interact.* Vol. 6, pp. 291–296.

NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.; OYA, T. (2001). Tolerância a seca em plantas: mecanismos fisiológicos e moleculares. *Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento*, Brasília, n. 23, p. 12-18.

PICOLLI, E. S.; MARCHIORO, V. S.; BELLAYER, A.; BELLAYER, A. (2009). Aplicação de produtos à base de aminoácido na cultura do trigo. *Cultivando o Saber*, v. 2, n. 4, p. 141-148.

POLSTON, J. E.; ANDERSON, P. K. (1999) Surgimiento y distribución de geminivirus transmitidos por mosca blanca em tomate en el Hemisferio Occidental. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 53, p.24-42.

SILVA, F.C. (2009). Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes, 2^a edição. Ed. Embrapa, Brasília.

SILVA, J.B., GIORDANO, L.B. (2000). Tomate para processamento industrial. Embrapa Hortaliças. Brasília.

SOLIMAN, W. S.; FUJIMORI, M.; TASE, K.; SUGIYAMA, S. (2012). Heat tolerance and suppression of oxidative stress: Comparative analysis of 25 cultivars of the C3 grass *Lolium perenne*. *Environmental and Experimental Botany*, Elmsford, v. 78, p. 10- 17.

SAEED, R., ETEMADI, N., KHOSHGOFTARMANESH, A.H., SABZALIAN, M. (2015) Calcium Chelated with Amino Acids Improves Quality and Postharvest Life of *Lisianthus* (*Eustoma grandiflorum* cv. Cinderella Lime). *Hortscience*, v.50, n.9, p. 1394-1398.

SUNG, D. Y.; KAPLAN, F.; LEE, K. J.; GUY, C. L. (2003) Acquired tolerance to temperature extremes. *Trends in Plant Science*, Netherlands, v. 8, n. 4, p.179-187.

TOSSI V, CASSIA R, LAMATTINA L. (2009) Apocynin-induced nitric oxide production confers antioxidant protection in maize leaves. *J Plant Physiol*; In press; PMID: 19286274; DOI: 10.1016/j.jplph.2009.02.001.

WAHID, A.; GELANI, S.; ASHRAF, M.; FOOLAD, M. R. (2007) Heat tolerance in plants: Na overview. *Environmental and Experimental Botany*, Elmsford, n. 61, p. 199-223.

WINTER, G.; TODD, C.D.; TROVATO, M.; FORLANI, G. AND FUNCK, D. (2015). Physiological D. ASPINALL, L.G.; PALEG; 1981. Proline accumulation: physiological aspects, in: L.G. Paleg, D. Aspinall (Eds.), *The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants*, Academic Press, Sydney, pp.205–241 implications of arginine metabolism in plants. *Front. Plant Sci.* 6:534. doi: 10.3389/fpls.2015.00534.

WILFRIED, C. (2005). Proline as a measure of stress in tomato plants. *Plant Science*, Alemanha, v.168, Issue 1, January, p. 241-248.

YU, C.Ç LV, D.G.Ç QIN, S.J.Ç YANG, L.Ç MA, H.Y.Ç LIU, G.C.(2010). Changes in photosynthesis, fluorescence, and nitrogen metabolism of hawthorn (*Crataegus pinnatifida*) in response to exogenous glutamic acid. *Photosynthetica*, v.48, n.3, p.339-347.

ZHENG, Y.; SHENG, J; ZHAO, R.; ZHANG, J.; SHENGNAN, Lv.; Liu, L.; SHEN, L. (2011). Preharvest L-Arginine Treatment Induced Postharvest Disease Resistance to *Botrytis cinerea* in Tomato Fruits, *J. Agric. Food Chem*, China, pp 6543–6549.

ZENG Z-B (1994) Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics* 136:1457-1468

ZHANG, X.; SHEN, L.; LI, F.; ZHANG, Y.; MENG, D.; SHENG, J. (2010). Up-regulating arginase contributes to amelioration of chilling stress and the antioxidant system in cherry tomato fruits. *J Sci Food Agric* 90: 2195–2202.

ZOBIOLE, L. H. S. (2010). Uso de aminoácido exógeno na prevenção de injúrias causadas por glyphosate na soja RR. *Planta Daninha*, v. 28, n. 3, p. 643-653.

APÊNDICES

APÊNDICE A. Instalação do experimento

(A) Transplante das mudas aos 35 DAS (B) Instalação do sistema de irrigação (C) Crescimento e desenvolvimento das mudas transplantadas (D) Início da condução das plantas.

APÊNDICE B. Plantas de tomateiro em fase de desenvolvimento.

(A) Formação de frutos aos 35 DAT, (B) Florescimento dos cachos novos (C) Formação dos frutos.

APÊNDICE C. Análises fisiológicas das plantas – Leitura com IRGA

(A) Preparação do equipamento para leitura, (B) Montagem do equipamento IRGA.

APÊNDICE D. Colheita e análise de qualidade dos frutos de tomate.

(A) Tomates comerciais colhidos e classificados, (B) Deficiências em frutos de tomates não-comerciais, (B) titulação da solução 2,6 – diclorofenol-indofenol, (D) preparação da polpa para análises qualitativas.

APÊNDICE E. Análises enzimáticas

(A) Coleta de folhas para análise enzimática, (B) Acondicionamento em nitrogênio líquido, (C), (D) Preparo das amostras após extração, (E) Análise de enzima, (F) Realização da leitura em espectrofotômetro.