

ESTUDO DA HERANÇA E DESCRIÇÃO DE UM MUTANTE PARA COLORAÇÃO DE FRUTOS NO TOMATEIRO

MARIA ROSA COSTA¹
WILSON ROBERTO MALUF²
LUIZ ANTONIO AUGUSTO GOMES³

RESUMO – Os objetivos do trabalho foram descrever uma mutação espontânea na cultura do tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), a qual faz com que frutos fiquem com coloração amarelo-pálida na fase imatura, e também estudar a herança dessa característica. Para isso, foram realizados cruzamentos entre as linhagens TSWV-556 (normal) e Branco 89-255 (mutante) para a obtenção dos híbridos F₁ recíprocos, além dos retrocruzamentos com os progenitores normal e mutante. O teste estatístico utilizado foi o qui-quadrado (χ^2). A segregação obtida na geração F₂ foi de 3 verdes: 1 amarelo-pálido ($\chi^2 = 0,078$ ns), e, no retrocruzamento

com o pai mutante, foi de 1 verde 1 amarelo-pálido ($\chi^2 = 0,15$ ns). Pelos resultados obtidos, concluiu-se que a herança da mutação é monogênica, com dominância completa do alelo que confere cor verde na fase imatura sobre o que confere cor amarelo-pálida. Em relação à descrição do 'Branco 89-255', conclui-se que se trata de um mutante clorofiliano com níveis bastante reduzidos de clorofila, tanto nos frutos quanto nas folhas, e que apresenta comportamento diferencial para a síntese de carotenóides principais (β -caroteno e licopeno), possuindo um processo de maturação mais lento em relação a linhagens não mutantes de tomate.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: Estudo da herança, mutação, tomate.

INHERITANCE STUDY AND DESCRIPTION OF A MUTANT FOR FRUIT COLOR IN TOMATO

ABSTRACT – This objective of this work was to study the inheritance of a spontaneous mutation in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) which causes immature fruit to become light yellow instead of normal green. Tomato lines TSWV-556 (normal) and Branco 89-255 (mutant) were crossed to obtain reciprocal F₁ hybrids and then backcrossed with both parents. The statistical test used was the chi-square (χ^2). The segregation obtained was as follows: 3 green fruited plants: 1 light yellow fruited ($\chi^2 = 0,078$ ns) in

the F₂ generation; 1 green fruited: 1 light yellow fruited ($\chi^2 = 0,15$ ns)) in the backcross to the mutant parent. Results indicate monogenic inheritance of the mutation with complete dominance of the allele responsible for the green color in the unripe phase over allele responsible for the light yellow color. 'Branco 89-255' was found to be a chlorophyll mutant whose fruits and leaves have a low chlorophyll level, whose behavior is differential for the synthesis of the main carotenoids (β -carotene and lycopene), and whose ripening process is atypical.

INDEX TERMS: Inheritance study, mutation, tomato

INTRODUÇÃO

A demanda e aceitação do tomate “in natura” é amplamente baseada no seu valor nutricional, sabor, aroma e características tais como coloração e textura. Esses critérios de qualidade dependem basicamente da estrutura e composição química do fruto (Dalal, 1965). Esse mesmo autor cita que a natureza e extensão de mudanças fisiológicas e químicas no desenvolvimento de frutos de outros vegetais têm sido discutidas por muitos pesquisadores, embora no tomate, informações nesse sentido sejam escassas.

Tomateiros com frutos de maturação anormal têm grande potencial para desenvolver novas cultivares de tomate com melhor qualidade e maior conservação pós-colheita. O uso deste potencial depende da habilidade do melhorista em obter frutos com sabor e pigmentação com grande aceitação pelos consumidores (Kopeliovitch et al., 1982). Com relação à maturação, mutantes usualmente causam mudanças na textura, coloração de frutos e conservação pós-colheita e podem ser muito importantes para o melhoramento genético do tomateiro no Brasil.

1. Departamento de Recursos Genéticos, EMBRAPA/Amazônia Oriental, 66.095-100- Belém - PA

2. Departamento de Agricultura, UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS (UFLLA) – Caixa Postal 37, 37200-000 - Lavras - MG

3. Doutorando, Departamento de Biologia, UFLLA.

Desde 1960, vários genes mutantes têm sido estudados, destacando-se os mutantes *rin* e *nor*, e seus híbridos com cultivares comerciais, que apresentam a vantagem de longo período de conservação pós-colheita (Grazzini et al., 1979). Esses mutantes afetam o processo de maturação dos frutos, inibindo a síntese da poligalacturonase (enzima envolvida no processo de maturação), a produção de etileno endógeno, o processo de respiração dos frutos e a firmeza, além dos frutos apresentarem um padrão anormal para a degradação da clorofila e síntese de carotenóides.

É importante salientar que, direta ou indiretamente, as características morfológicas e fisiológicas dos frutos são afetadas pelas técnicas culturais e fatores ambientais a que as plantas são submetidas (Pantástico, 1977).

Este trabalho teve como objetivos:

1) Estudar a herança de uma mutação espontânea na cultura do tomate, a qual afeta a pigmentação dos frutos e os torna de coloração amarelo-pálida na fase imatura.

2) Descrever fenotipicamente o mutante quanto aos aspectos da planta e do fruto.

MATERIAL E MÉTODOS

Em 1988, foram encontradas em um plantio comercial de tomate cv. IAC Santa Clara, algumas plantas com frutos de coloração amarelo-pálida na fase imatura, e que diferiam dos frutos típicos desta cultivar. Diversos frutos foram coletados e deram origem a um "bulk" observado no ano seguinte na Estação Experimental de Hortaliças da Asgrow em Paulínia-SP. Verificou-se na fase de frutificação que 100% das plantas produziram o mesmo fenótipo do material originalmente coletado. O mutante foi designado Branco 89-255, cujas sementes foram cedidas pela Asgrow do Brasil Sementes Ltda., para a realização deste trabalho.

Os experimentos foram conduzidos durante os anos de 1991 e 1992, no Campus da Universidade Federal de Lavras – MG. Lavras está localizada na região Sul do Estado de Minas Gerais, a 910 metros de altitude, 21° 14' S de latitude e 45°00' de longitude.

Os materiais parentais utilizados na obtenção da população segregante foram a 'TSWV-556' (normal) e a 'Branco 89-255' (mutante), que são isogênicas à cultivar Santa Clara.

A cultivar TSWV-556 possui frutos de coloração verde na fase imatura (à semelhança da cultivar Santa Clara); por outro lado, 'Branco 89-255' possui frutos de coloração amarelo-pálida na fase imatura, caracterizando uma nítida clorose nos frutos, folíolos e na haste principal da planta, além da maturação ocorrer lentamente, com a coloração dos frutos evoluindo de ama-

relo-pálido para um tom alaranjado, até tornar-se completamente vermelho.

Foram obtidas as gerações F_1 do cruzamento 'TSWV-556' e 'Branco 89-255' e seu recíproco ($F_1(R)$), durante o ano de 1991, em casa-de-vegetação. As sementes F_1 foram semeadas e as plantas F_1 cultivadas para obtenção das sementes F_2 .

As mudas do material experimental foram obtidas em bandejas de isopor pelo sistema "speedling". A semeadura nas bandejas realizou-se em 06/06/92, e as plântulas permaneceram em condições de viveiro até 15/07/92, data de transplante para a área experimental no campo. As plantas foram cultivadas no espaçamento de 1,00 m entre fileiras e 0,50 m entre plantas. Os sulcos de plantio foram previamente adubados com 5 litros de esterco de curral por metro linear e 100 g de 4-14-8 por cova; em seguida, foram feitas adubações de cobertura 30 e 45 dias após o transplante, com 20 g de nitrocálcio por planta. Foram feitas irrigações e realizados os demais tratamentos culturais normais para a cultura do tomate.

O número de plantas observadas por geração foi:

P_1 - Branco 89-255 - 90 plantas

P_2 - SWV-556 - 90 plantas

F_1 - TSWV-556 x Branco 89-255 - 115 plantas

$F_1(R)$ - Branco 89-255 x TSWV-556 - 60 plantas

F_2 - $F_2(TSWV-556 \times Branco 89-255) \times (TSWV-556 \times Branco 89-255)$ - 272 plantas

$RC_2(P_2)$ - $(TSWV-556 \times Branco 89-255) \times TSWV-556$ - 120 plantas

$RC_1(P_1)$ - $(TSWV-556 \times Branco 89-255) \times Branco 89-255$ - 228 plantas

A avaliação do fenótipo das plantas foi feita após a emissão do primeiro cacho, quando se podiam distinguir claramente as plantas normais das mutantes. O teste estatístico utilizado foi o χ^2 .

Testou-se a hipótese de o fenótipo mutante ser de herança monogênica recessiva.

A descrição do mutante foi feita através da quantificação do teor de clorofila nos tecidos foliares e pigmentos nos frutos, em diferentes idades.

Utilizaram-se para este estudo, frutos previamente marcados das gerações parentais (P_1 , P_2), F_1 e F_1 recíprocas (F_1 , $F_1(R)$). As flores foram marcadas com fitas coloridas por ocasião da antese, diariamente, durante um mês. As extrações foram feitas em frutos com 30, 37, 44, 56, 63 e 72 dias após a antese.

Os pigmentos foram extraídos de discos cortados do pericarpo dos frutos na região equatorial, representativos de cada amostra composta de três frutos com 5 repetições. De cada disco, extrairam-se 2 g do pericarpo. As amostras foram homogeneizadas e diluídas em uma mistura de quatro volumes de acetona concentrada, para 5 ml de hexano, perfazendo um total de 10 ml

de extrato, que foi centrifugado a 3.000 rpm durante 20 minutos. A camada superior do extrato foi analisada em um espectrofotômetro de feixe duplo, modelo Shimadzu-UV-90, para os comprimentos de ondas de 661 nm (clorofila), 470 nm (β -caroteno) e 502 nm (licopeno), de acordo com Medina (1981).

Foram retiradas, com um perfurador de disco, amostras de 4 a 5 folhas de ramos localizados entre o primeiro e o segundo cacho de tomate, de plantas com 90, 102 e 127 dias após o semeio. Retiraram-se discos das folhas que foram picados, homogeneizados e pesados (0,5 g). A extração da clorofila foi feita em cadinho de porcelana com 8 ml de acetona 80%, seguida por centrifugação a 3.000 rpm por 20 minutos.

A quantificação das clorofilas a, b e total, tornou-se possível com o emprego da metodologia proposta por Whitham et al. (1971) e Linder (1974), os quais enfatizam que a clorofila extraída numa solução de acetona 80% possui picos de absorção na faixa do vermelho nos comprimentos de onda 663, 645 e 652 nm para as clorofilas a, b e total, respectivamente. Após a obtenção dos dados de absorbâncias com base nas leituras espectrofotométricas, os cálculos de número de miligramas de clorofila por grama de peso fresco de tecido foliar foram feitos utilizando-se as equações de Whitham et al. (1971).

$$\text{Clorofila a} = \frac{(12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}) \times V}{1.000 \times W}$$

$$\text{Clorofila b} = \frac{(22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663}) \times V}{1000 \times W}$$

$$\text{Clorofila total} = \frac{A_{652} \times 1000 \times V/1000 \times W}{34,5}$$

Em que:

A = absorbância no comprimento de onda indicado

V = volume final do extrato clorofila-acetona

W = matéria fresca em gramas do material vegetal utilizado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudo da herança

As frequências fenotípicas estão apresentadas na Tabela 1. No cruzamento de 'TSWV-556' x 'Branco 89-255', a geração F₁ apresentou frutos verdes na fase imatura, indicando que o caráter coloração amarelo-pálida do fruto é controlado por alelo(s) recessivo(s). Na geração F₂, a segregação obtida foi de 3 verdes: 1 amarelo-pálido ($\chi^2 = 0,078$ ns), indicando ser a herança monogênica, com dominância completa do alelo que confere coloração verde sobre o que confere coloração amarelo-pálida. O ajustamento à proporção de 1:1 observado no retrocruzamento com o pai mutante ($\chi^2 = 0,15$ ns), confirma que o caráter coloração de frutos na fase imatura é controlado por um locus gênico apenas; assim, a cultivar TSWV-556, possuindo frutos verdes na fase imatura, tem na sua constituição o alelo dominante para esta coloração, enquanto o mutante Branco 89-255, com frutos amarelo-pálidos, tem o alelo recessivo correspondente na condição homocigota. A ausência de diferenças entre os F₁'s recíprocos indica a ausência de efeitos maternos na expressão do caráter.

TABELA 1 – Frequências observadas para coloração de frutos de tomateiro na fase imatura em duas cultivares, seus cruzamentos e gerações segregantes.

	Plantas com fruto		Prop. Esp.	χ^2	
	Verde	Amar. Pálido			
TSWV-556	90	0	1:0	0	ns
Branco 89-255	0	90	0:1	0	ns
F ₁	115	0	1:0	0	ns
F ₁ (R)	60	0	1:0	0	ns
F ₂	202	70	3:1	0,078	ns
RC ₁ (P ₁) – 1° exp.	35	25	1:1	1,66	ns
2° exp.	82	86	1:1	0,095	ns
Total de 2 exp.	117	111	1:1	0,15	ns
RC ₁ (P ₂)	120	0	1:0	0	ns

Pigmentação de frutos

Os resumos das análises de variância dos genótipos P₁, P₂, F₁ e F₁(R) e de seis idades de frutos para os caracteres clorofila, β-caroteno e licopeno no fruto são apresentados na Tabela 2.

A precisão dos experimentos avaliada pelo coeficiente de variação (CV) foi melhor para o caráter β-caroteno, embora os experimentos de clorofila e licopeno também tenham tido precisão experimental razoável a boa, com o CV de 19,4% para clorofila e 8,5% para licopeno.

Para todos os caracteres estudados, o valor de F foi altamente significativo para as interações genótipos x idades, mostrando que os teores de clorofila, β-caroteno e licopeno variaram com a idade do fruto para todos os genótipos.

Observou-se que os genótipos TSWV-556, F₁ e F₁(R) apresentaram comportamento semelhante em relação à síntese de clorofila, com a progressiva degradação da mesma e acúmulo dos carotenóides principais (β-caroteno e licopeno), em função da idade do fruto (Figuras 1, 2 e 3)). Para o genótipo Branco 89-255 verifica-se que o teor de clorofila presente (Figura 1a) foi bem inferior aos demais genótipos, sendo que, aos trinta dias, esse teor foi próximo de 0,06 (unidades/grama de peso fresco), enquanto para os demais a concentração foi em torno de 0,4 (unidades/grama de peso fresco). Evidencia-se, pelas Figuras 2 e 3, que o acúmulo de β-caroteno e licopeno evoluiu lentamente no genótipo Branco 89-255, o qual diferiu dos demais no intervalo de quarenta e quatro a cinquenta e seis dias de idade do fruto, com uma pequena variação, indicando que o período de maturação desse genótipo é maior do que o dos demais.

Os teores de β-caroteno e licopeno nos genótipos TSWV-556, F₁ e F₁(R) foram de magnitude semelhante. Resultados semelhantes foram obtidos por Zambon (1984) e Dalal (1965), que estudaram o processo de maturação de frutos de tomates mutantes e seus híbridos

com cultivares comerciais. A biossíntese de carotenóides em tomate tem sido extensivamente estudada por diversos autores, entre eles Khudairi (1972) e Ramirez e Tomes (1964), e todos concordam que durante o amadurecimento dos frutos ocorre a degradação da clorofila e síntese de carotenóides, principalmente o licopeno e β-caroteno.

Através da análise das Figuras 1, 2, e 3, pode-se sugerir a caracterização de cada tipo de fruto quanto aos teores de pigmentos. O tomate mutante (Branco 89-255) comportou-se de forma atípica para clorofila, apresentando teores muito reduzidos desse pigmento em relação aos demais, durante o desenvolvimento dos frutos; além disso, apresenta uma acumulação mais lenta de carotenóides principais. O TSWV-556 e os híbridos apresentaram comportamento semelhante entre si e contrastante com o de Branco 89-255.

Pigmentação das folhas

Os resultados das análises de variância dos genótipos P₁, P₂, F₁ e F₁(R) e três idades de frutos para as variáveis clorofila total (CT), clorofila *a* (CA) e clorofila *b* (CB) nas folhas, são apresentados na Tabela 3.

Observa-se boa precisão experimental para todos os caracteres estudados em função dos valores de CV, e que houve diferença significativa (P < 0,01) para todos os caracteres estudados.

A variação obtida nos teores de clorofila total, *a* e *b*, em função da idade, foi diferenciada entre pelo menos dois genótipos estudados.

Na Figura 4, relativa à concentração de clorofila total nas folhas, observou-se um aumento até os 102 dias para o TSWV-566, F₁ e F₁(R) e um comportamento contrastante para o mutante Branco 89-255, com redução drástica nos teores de clorofila nas folhas em função da idade planta, principalmente no intervalo entre 90 e 102 dias. Acredita-se que o mutante apresente um padrão anormal para a degradação da clorofila por ter deficiência de alguma enzima envolvida neste processo.

TABELA 2 – Resumo das análises de variância dos genótipos P₁, P₂, F₁ e F₁(R) e seis idades de frutos para as variáveis clorofila, β-caroteno e licopeno em frutos de tomateiro. Lavras, 1992.

FV	GL	QM		
		Clorofila	β-caroteno	Licopeno
Genótipos (G)	3	0,2304**	0,6219**	0,3095**
Idade (I)	5	0,4801**	7,8775**	11,3365**
G x I	15	0,0444**	0,1183**	0,1640**
Erro	96	0,0009	0,0023	0,0038
CV%		19,4	5,4	8,5

** significativo ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F

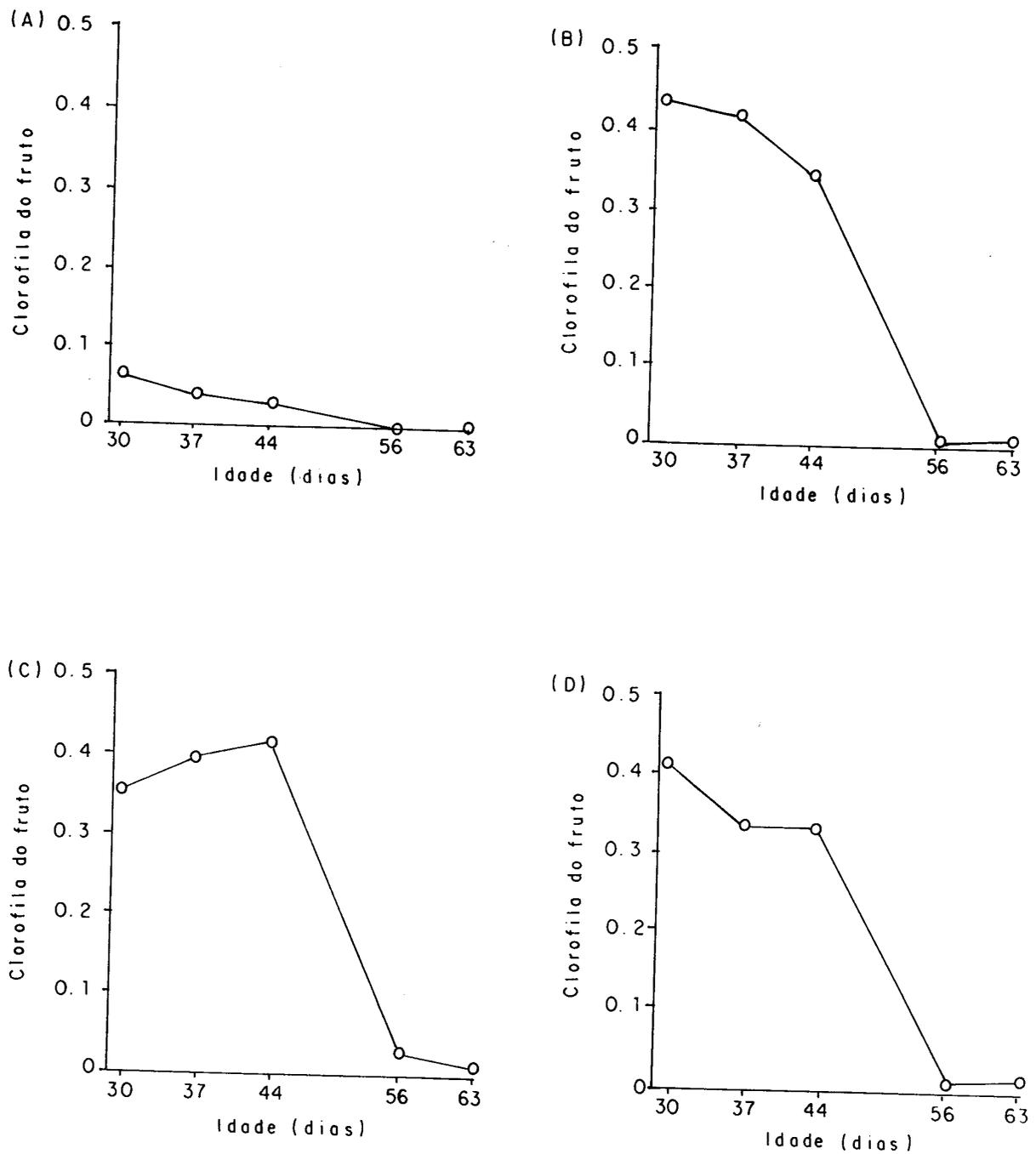


FIGURA 1 – Concentração de clorofila (unidades/grama de peso fresco) em frutos de tomateiro colhidos em diferentes estádios de desenvolvimento, nos genótipos branco 89-255 (A), TSWV-556 (B), F₁ (D), UFLA, Lavras, 1992.

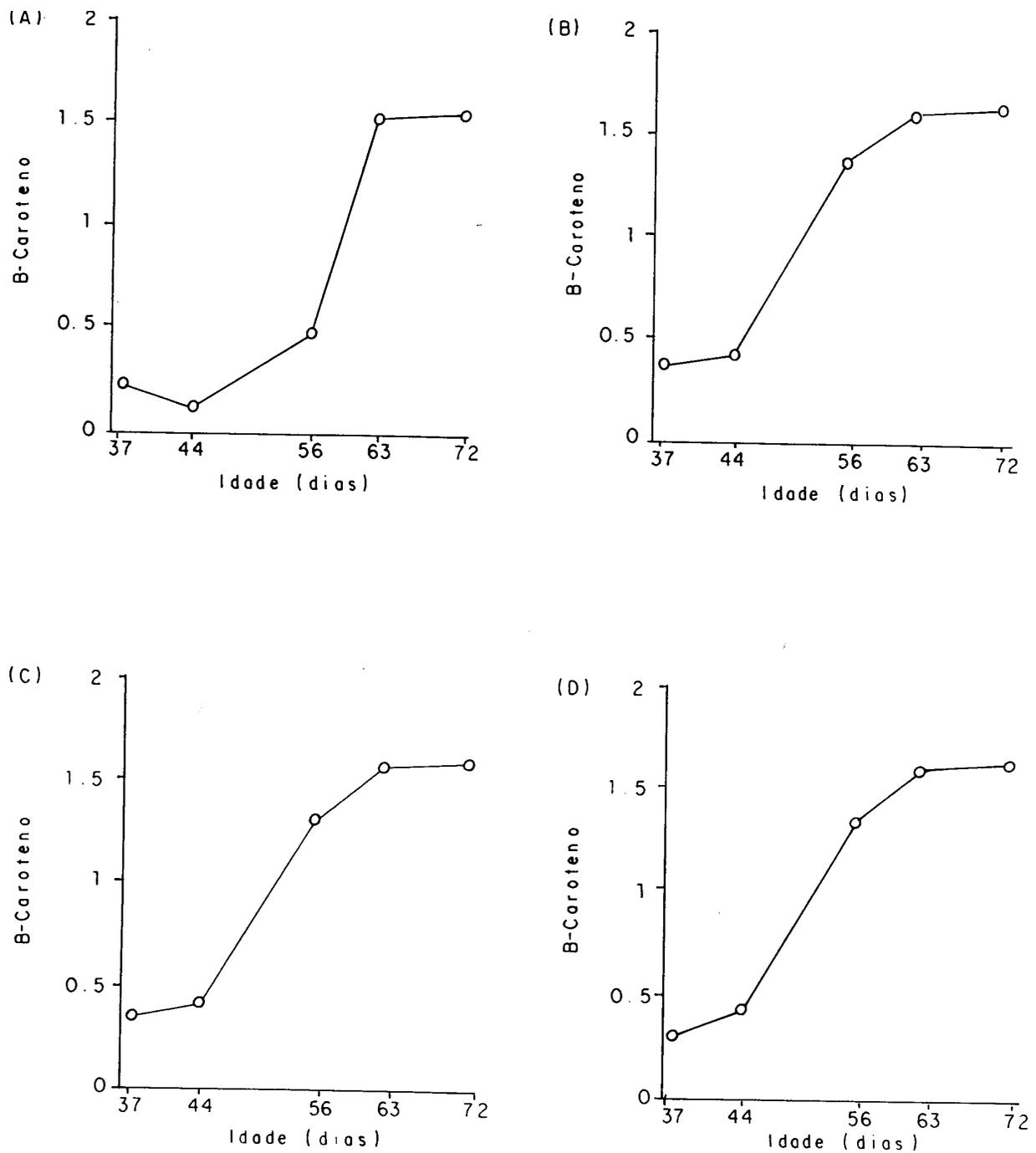


FIGURA 2 – Concentração de β -caroteno (unidades/grama de peso fresco) em frutos de tomateiro colhidos em diferentes estádios de desenvolvimento, nos genótipos Branco 89-255 (A), TSWV-566 (B) F₁ (C) , F₁ (D). UFLA, Lavras, 1992

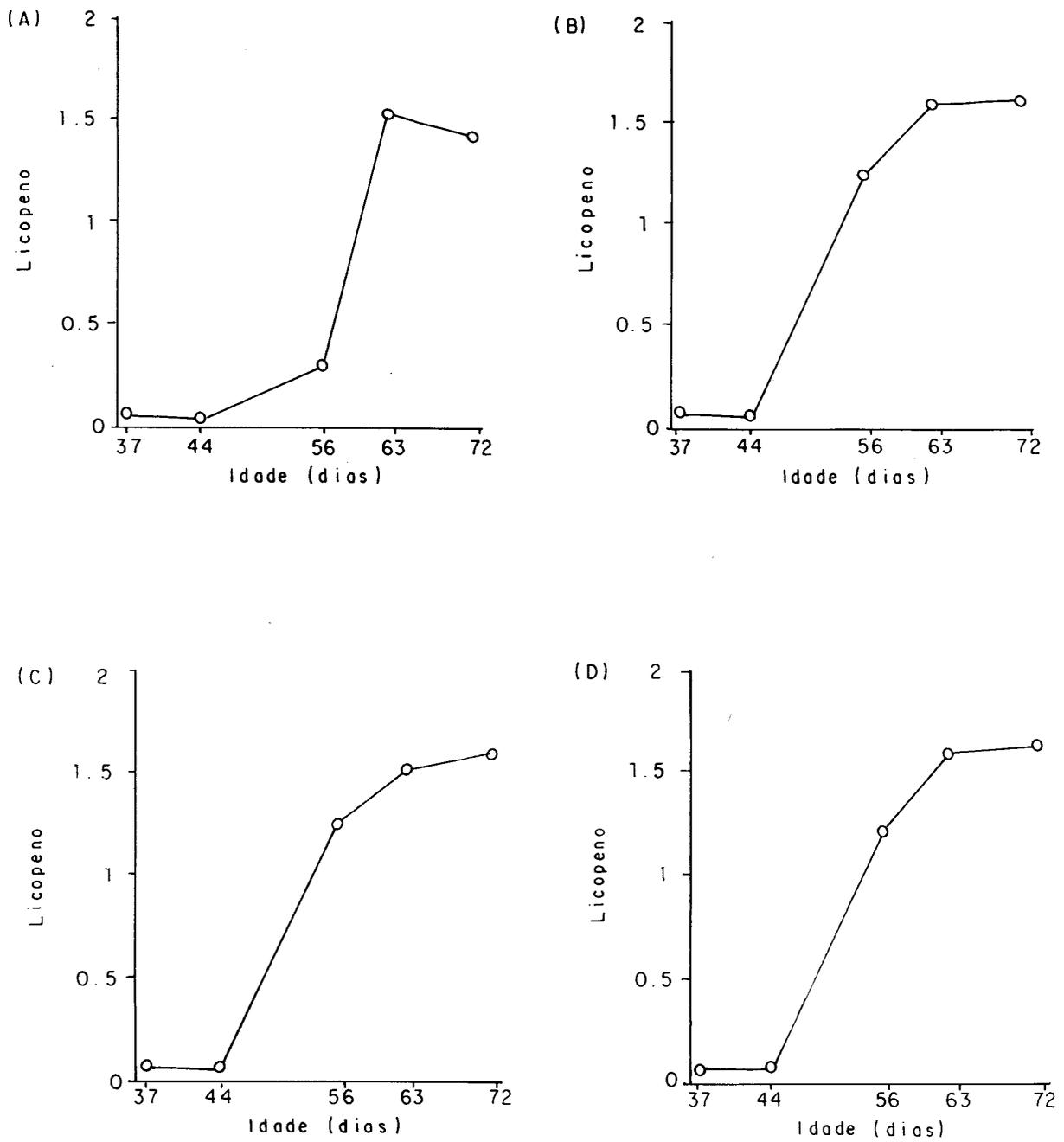


FIGURA 3 – Concentração de licopeno(unidades/grama de peso fresco) em frutos de tomateiro colhidos em diferentes estádios de desenvolvimento, nos genótipos branco 89-255 (A), TSWV-556 (B), F₁ (D), UFLA, Lavras, 1992

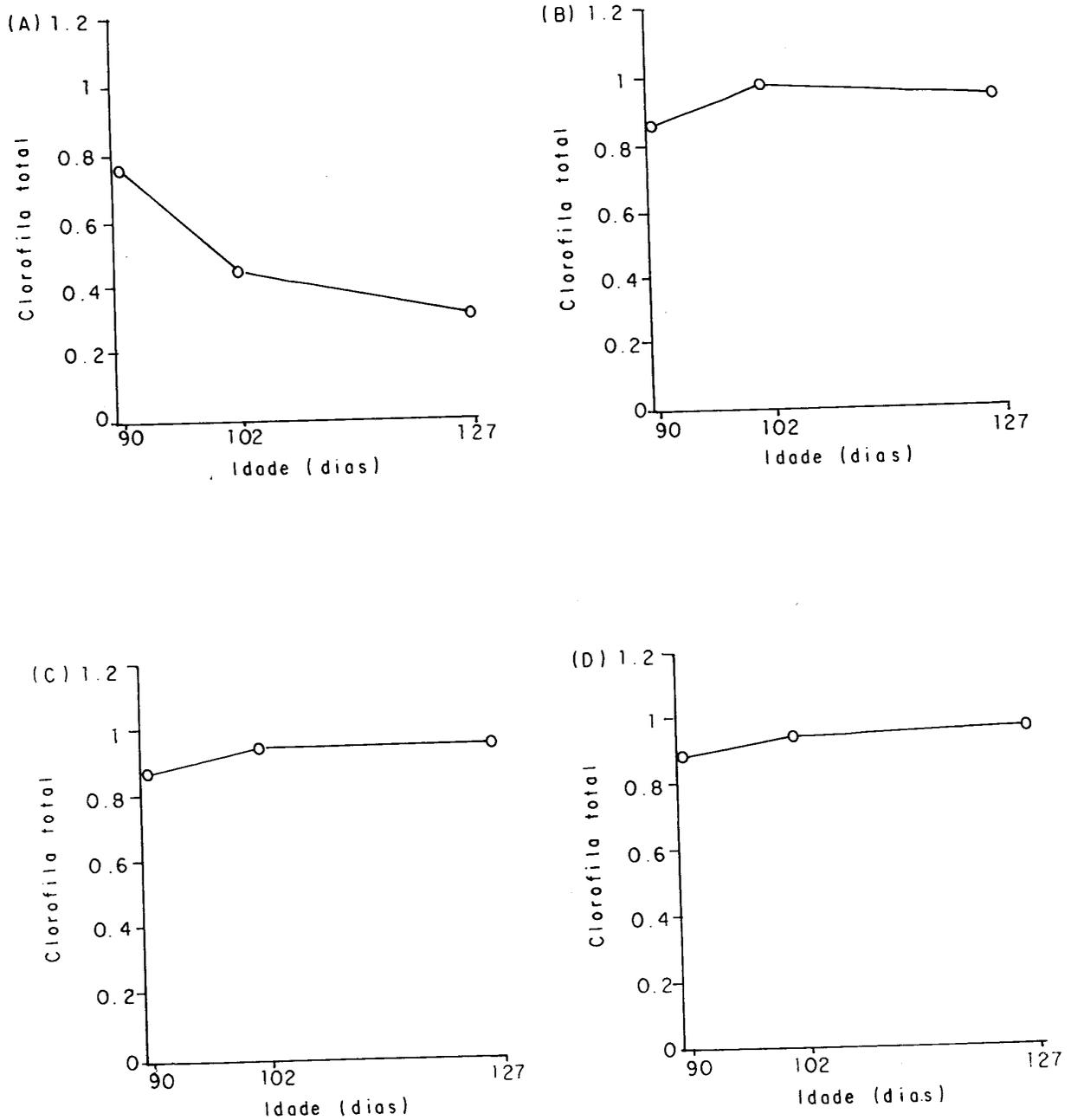


FIGURA 4 – Concentração de clorofila total (mg/grama de peso fresco) em frutos de tomateiro colhidos em diferentes estádios de desenvolvimento, nos genótipos branco 89-255 (A), TSWV-556 (B), F₁ (C), F₁ (D)UFLA, Lavras, 1992

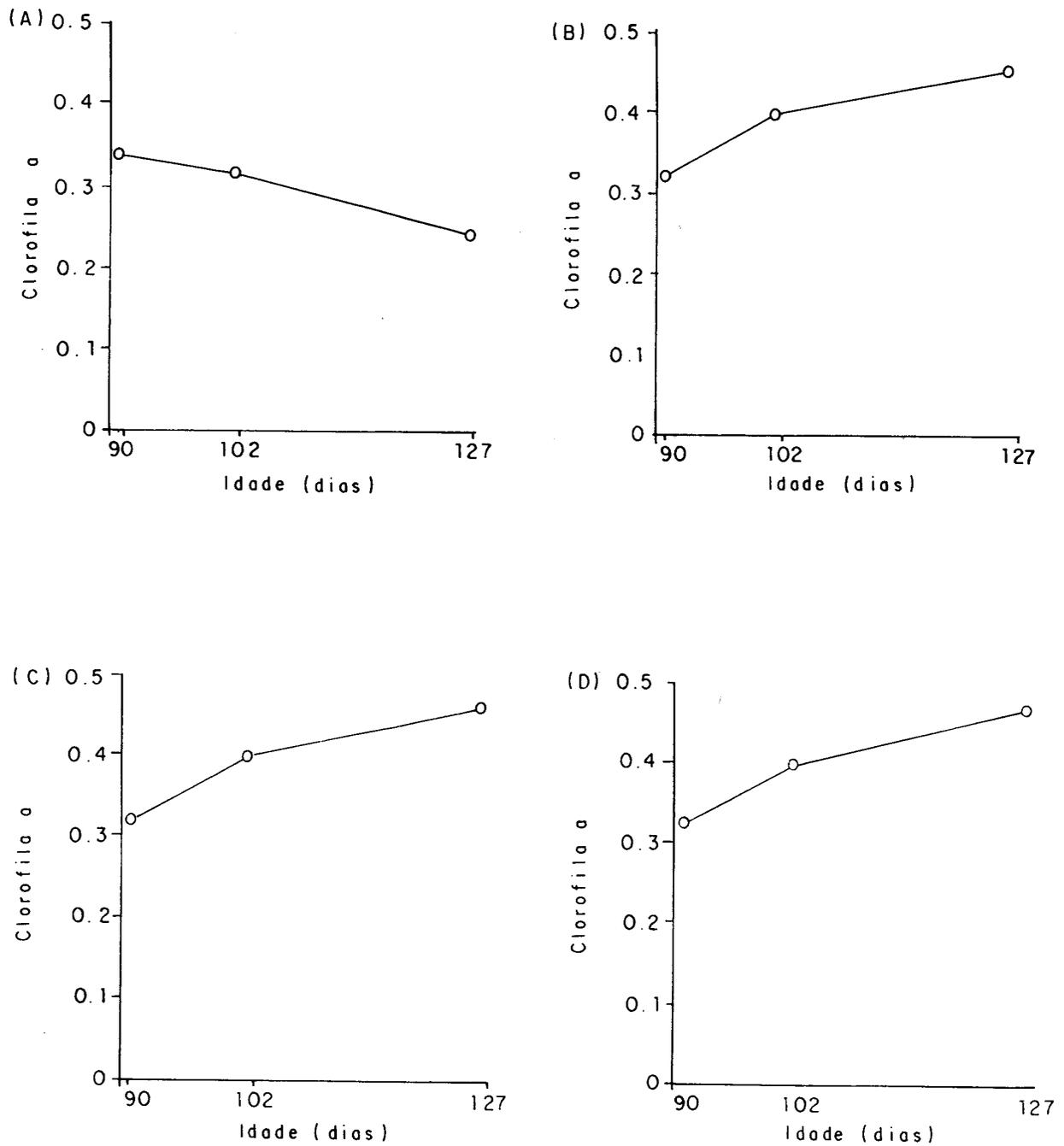


FIGURA 5— Concentração de clorofila *a* (mg/grama de peso fresco) em frutos de tomateiro colhidos em diferentes estádios de desenvolvimento, nos genótipos branco 89-255 (A), TSWV-556 (B), F₁ (C), F₁ (D). UFLA, Lavras, 1992

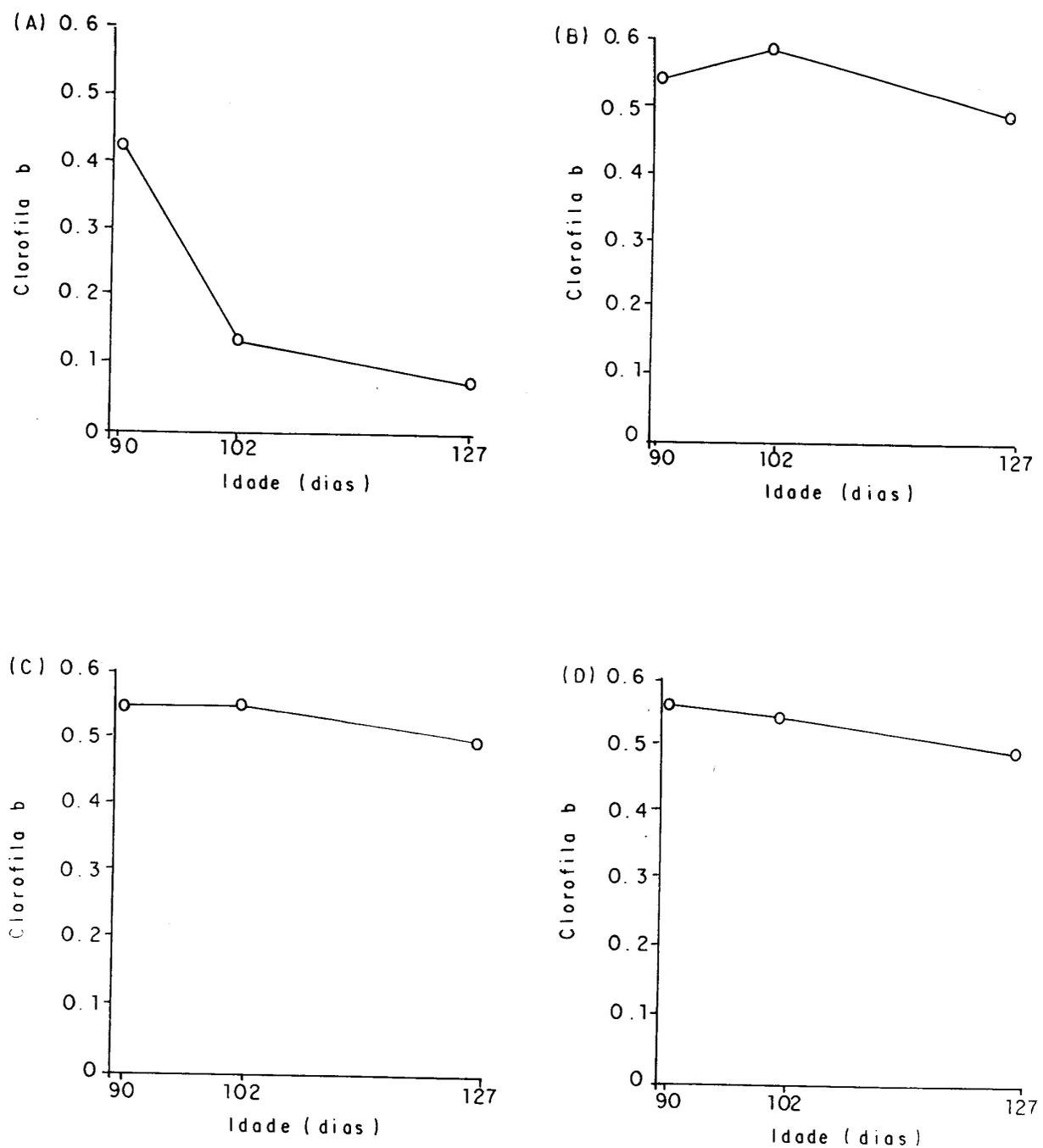


FIGURA 6 – Concentração de clorofila b (mg/grama de peso fresco) em frutos de tomateiro colhidos em diferentes estádios de desenvolvimento, nos genótipos branco 89-255 (A), TSWV-556 (B), F₁ (C), F₁ (D). UFLA, Lavras, 1992

TABELA 3 – Resumo das análises de variância dos genótipos P₁, P₂, F₁ e F₁(R) e três idades de fruto, para as variáveis clorofila total (CT), clorofila a (CA) e clorofila b (CB), em folhas de tomateiro.

FV	GL	QM		
		CT	CA	CB
Genótipos (G)	3	0,6457**	0,0296**	0,3976**
Idade (I)	2	0,0130**	0,0340**	0,0853**
G x I	6	0,0937**	0,0165**	0,0376**
Erro	48	0,0010	0,0001	0,0011
CV%		3,9	2,8	7,4

** significativo ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F

Quanto à síntese de clorofila a, o mutante também apresentou comportamento diferenciado, ou seja, redução na concentração em função da idade da planta. Para os demais genótipos observa-se o contrário, isto é, acúmulo progressivo (Figura 5). Para o caráter clorofila b, observou-se um rápido decréscimo dos 90 aos 102 dias no mutante, enquanto nos demais, houve um decréscimo lento em função da idade da planta (Figura 6).

Tomando-se como base os resultados obtidos, pode inferir-se que o Branco 89-255 não é viável comercialmente, a não ser em híbridos F₁, por possuir frutos amarelo-pálidos na fase imatura.

CONCLUSÕES

a) A herança da mutação que torna os frutos de coloração amarelo-pálida na fase imatura é monogênica. A interação alélica é de dominância completa do alelo que confere coloração verde na fase imatura sobre o alelo que confere coloração amarelo-pálida na fase imatura.

b) Branco 89-255 é um mutante clorofiliano contendo teores reduzidos de clorofila, tanto nos tecidos dos frutos quanto nos das folhas.

c) Em relação à síntese de carotenóides principais, β-caroteno e licopeno, o mutante apresenta acúmulo mais lento do que os demais genótipos estudados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DALAL, K.B.; SALUNKHE, D.K.; BOE, A. A.; OLSON, E.L. Certain physiological and biochemical changes in the developing tomato fruit (*L. esculentum* Mill.). **Journal of Food Science**, Chicago, v.30, n.3, p.504-508, May/June 1965

GRAZZINI, R. A.; TICGHELAAR, E.C. Performance of F₁ hybrid varieties of the non-ripening (nor) tomato mutant. **HortScience**, Alexandria, VA, v.14, n.3, p.447, June 1979.

KHUDAIRI, A. K. The ripening of tomatoes. **American Scientist**, New Haven, v.60, n.6, p.696-702, Nov./Dec. 1972

KOPELIOVITCH, E.; MIZRAHI, Y.; RABINOVITCH, H.D. ; KEDAR, N. Effect of the fruit ripening mutant genes *rin* and *nor* on the flavor of tomato fruit. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Mount Vernon, v.107, n.3, p.361-364, May 1982.

LINDER, S.A. A proposal for the use of standardized methods for chlorophyll determinations in ecological and ecophysiological investigation. **Physiological Plantarum**, Copenhagen, v.32, p.154-156, 1974.

MEDINA, P.V.L.; MEDINA, R.M.T. Descrição bioquímica e fisiológica da maturação dos frutos do tomateiro. **Revista Ceres**, Viçosa, v.28, n.155, p.1-7, jan./fev. 1981.

PANTASTICO, E.B. Preharvest factors affecting quality and physiology after harvest. In: PANTASTICO, E.B. (ed.) **Postharvest physiology, handling and utilization of tropical and subtropical fruits and vegetables**. Westport: AVI, 1977. Cap.2, p.25-55.

RAMIREZ, D.A.; TOMES, M. Relationship between chlorophyll and carotenoid biosynthesis in dirty-red (green-flesh) mutant in tomatoes. **Botanical Gazette**, Chicago, v.125, n.3, p.221-226, Sept. 1964.

WHITHAN, F.H.; BLAYDES, D.F.; DELVIN, R.M. **Experiments in plant physiology**. New York: D. Van Nostrand, 1971. 558p.

ZAMBON, F.R.A. Comparação dos processos de maturação de tomate (*L. esculentum* Mill.) Kada, mutantes *nor* e *rin* e seus híbridos F₁. Viçosa: UFV, 1984. 45p. (Dissertação-Mestrado em Fitotecnia).

