

HELOISA ALMEIDA CUNHA FILGUEIRAS

**BIOQUÍMICA DO AMADURECIMENTO DE TOMATES HÍBRIDOS
HETEROZIGOTOS NO LOCO 'ALCOBAÇA'**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do Curso de Pós-Graduação
em Ciência dos Alimentos, para obtenção do título de
"Doutor".

Orientadora

Profa. Dra. MARIA ISABEL FERNANDES CHITARRA

CDD-664.805642

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
1996**

FICHA CATALOGRÁFICA PREPARADA PELA SEÇÃO DE CATALOGAÇÃO E
CLASSIFICAÇÃO DA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFLA

Filgueiras, Heloisa Almeida Cunha.

Bioquímica do amadurecimento de tomates híbridos heterozigotos no loco 'alcobaça' / Heloisa Almeida Cunha Filgueiras. -- Lavras : UFLA, 1996.

118 p. : il.

Orientador: Maria Isabel Fernandes Chitarra.

Tese (Doutorado) - UFLA.

Bibliografia.

1. Tomate - Amadurecimento. 2. Bioquímica. 3. Alcobaça - Hibridação. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.


CDD-664.805642

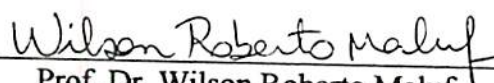
HELOISA ALMEIDA CUNHA FILGUEIRAS

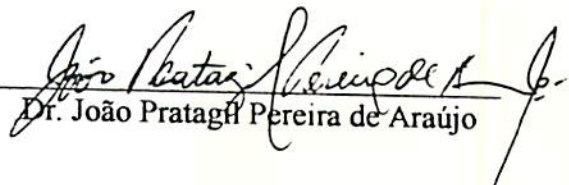
**BIOQUÍMICA DO AMADURECIMENTO DE TOMATES HÍBRIDOS
HETEROZIGOTOS NO LOCO 'ALCOBAÇA'**

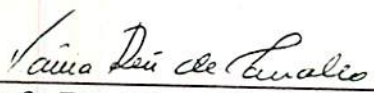
Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do Curso de Pós-Graduação
em Ciência dos Alimentos, para obtenção do título de
"Doutor".


APROVADA em 23 de março de 1996


Prof. Dr. Adimilson Bosco Chitarra


Prof. Dr. Wilson Roberto Maluf


Dr. João Prata Pereira de Araújo


Prof^a. Dra. Vânia Déa de Carvalho


Prof^a. Dra. Maria Isabel Fernandes Chitarra
(Orientadora)

À minha família.

Para Bárbara, Moara e Isabela,

preciosos presentes, como incentivo.

Eu não digo que eu tenha muito,
mas tenho ainda a procura intensa
e uma esperança violenta.

Clarice Lispector

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras, pela acolhida no curso de pós-graduação.

Ao CNPq e à CAPES, pelo suporte financeiro concedido através de bolsa de estudos e taxa de bancada.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, através do Centro Nacional de Pesquisa em Agroindústria Tropical - CNPAT, pela minha liberação para a conclusão do curso.

Aos Professores Maria Isabel Fernandes Chitarra e Adimilson Bosco Chitarra, por tudo o que têm feito pelo ensino e a pesquisa em Bioquímica de Frutos e Fisiologia Pós-Colheita em nosso país, e pela generosidade com que compartilham sua experiência.

Ao Professor Franco Maria Lajolo, da Universidade de São Paulo, pela valiosa contribuição à minha formação científica.

Ao Professor Wilson Roberto Maluf, pelo fornecimento dos frutos e pelo desprendimento com que se dispôs a acompanhar o trabalho.

Aos professores e funcionários do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, pelos meses agradáveis e altamente proveitosos de convivência acadêmica.

Aos Professores Augusto Ramalho de Moraes e Luiz Henrique de Aquino, pela valiosa colaboração quanto à forma de análise e apresentação dos dados.

Ao Professor Bruno Carlos de Almeida Cunha, pela ajuda paciente e criteriosa na revisão deste trabalho.

À Professora Vânia Déa de Carvalho, e aos funcionários da EPAMIG Sílvio e Laerte, por terem facilitado o uso de equipamentos indispensáveis à realização das análises.

Aos professores e funcionários do Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA, e à Tina, Sandra e Magna, pela colaboração para o desenvolvimento do trabalho.

Ao pós-graduando João Candido de Souza e à equipe da Fazenda Palmital, pelo fornecimento dos frutos.

À Juliana, pela grande ajuda nas análises.

Aos companheiros de casa e de curso, tão solidários e amigos, que ajudaram na realização de tantas tarefas e apoiaram em todas as etapas: Regina Reis, Gerival, Gilson e Castelo (USP), Angela, Lanamar, Assunta, Silvana, Urquiza, Helenice, Josivan, Luiz Carlos, Ricardo Elesbão, Rogério Amaro.

À Fátima Arrigoni Blank, pelo trabalho de digitação.

O exercício da consciência inclui a gratidão.

Teresa Julieta Andrade

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	ix
RESUMO	x
SUMMARY	xii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Aspectos gerais	4
2.2 Melhoramento genético do tomate	5
2.2.1 O mutante 'alcobaça'	7
2.2.1.1 Características gerais	7
2.2.1.2 Produção de híbridos	10
2.3 Amadurecimento do tomate	12
2.3.1 Textura	13
2.3.2 Acidez total titulável (ATT) e pH	16
2.3.3 Sólidos solúveis totais (SST) e relação SST/ATT	17
2.3.4 Açúcares solúveis	19
2.3.5 Pigmentos	20
2.4 Mecanismos bioquímicos do amaciamento do tomate	22
2.4.1 Solubilização de pectina	22
2.4.2 Enzimas pectolíticas	24
2.4.2.1 Pectinametilesterase (PME)	25
2.4.2.2 Poligalacturonase (PG)	27
2.4.3 Função do cálcio	30
2.4.4 Outros mecanismos	32
2.5 Paredes celulares	34
2.5.1 Composição	34
2.5.2 Modificações com o amadurecimento do tomate	38

	Página
3 MATERIAL E MÉTODOS	44
3.1 Frutos	44
3.1.1 Procedência	44
3.1.2 Progenitores e testemunha	44
3.1.3 Obtenção dos híbridos	46
3.2 Colheita e preparo dos frutos para o experimento em laboratório	47
3.3 Análises	49
3.3.1 Textura	49
3.3.2 Avaliações físico-químicas	50
3.3.3 Avaliações químicas e bioquímicas	50
3.3.4 Compostos de parede celular	52
3.3.5 Delineamento experimental e análise dos resultados	55
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
4.1 Modificações com o amadurecimento	56
4.1.1 Textura	56
4.1.2 Acidez total titulável (ATT) e pH	60
4.1.3 Sólidos solúveis totais (SST) e relação SST/ATT	63
4.1.4 Açúcares solúveis	66
4.1.5 Pigmentos carotenóides	68
4.1.6 Solubilização de pectinas	72
4.1.7 Atividade de pectinametilsterase (PME)	74
4.1.8 Atividade de poligalacturonase (PG)	76
4.1.9 Cálcio total	79
4.1.10 Grau de esterificação de pectinas	80
4.1.11 Cálcio ligado à parede celular	84
4.1.12 Celulose	87
4.1.13 Carboidratos não celulósicos de parede celular	89
5 CONCLUSÕES	97
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	99
APÊNDICE	112

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Valores médios de textura (N) em tomates de amadurecimento normal, homozigotos 'alcobaça', seus híbridos heterozigotos F ₁ e da testemunha Flora Dade, em cinco estádios de maturação	56
2	Valores médios de acidez total titulável (ATT) em tomates de amadurecimento normal, homozigotos 'alcobaça', seus híbridos heterozigotos F ₁ e da testemunha Flora Dade, no estádio vermelho maduro	60
3	Valores médios de pH em tomates homozigotos 'alcobaça', de amadurecimento normal, seus híbridos heterozigotos F ₁ e a testemunha Flora Dade, colhidos em cinco estádios de maturação	62
4	Valores médios de sólidos solúveis totais (SST) e relação SST/ATT em tomates de amadurecimento normal, homozigotos 'alcobaça', seus híbridos heterozigotos F ₁ e da testemunha Flora Dade, no estádio vermelho maduro	63
5	Valores médios de açúcares redutores totais em tomates de amadurecimento normal, homozigotos 'alcobaça', seus híbridos heterozigotos F ₁ e da testemunha Flora Dade, no estádio vermelho maduro	67
6	Valores médios de solubilidade de pectinas (% de pectina solúvel em relação à pectina total) em tomates de amadurecimento normal, homozigotos 'alcobaça', seus híbridos heterozigotos F ₁ e da testemunha Flora Dade, colhidos em cinco estádios de maturação	73
7	Valores médios de atividade de pectinametilsterase (unidades) em tomates de amadurecimento normal, homozigotos 'alcobaça', seus híbridos heterozigotos F ₁ e da testemunha Flora Dade, colhidos em cinco estádios de maturação	75
8	Valores médios de atividade de poligalacturonase (unidades) em tomates de amadurecimento normal, homozigotos 'alcobaça', seus híbridos heterozigotos F ₁ e da testemunha Flora Dade, colhidos em cinco estádios de maturação	77

Tabela		Página
9	Teores médios de cálcio total (% de matéria seca) em pericarpo de tomates de amadurecimento normal, homozigotos 'alcobaça', seus híbridos heterozigotos F ₁ e da testemunha Flora Dade, no estágio vermelho maduro	80
10	Valores médios de grau de esterificação de pectinas (%) em tomates de amadurecimento normal, homozigotos 'alcobaça', seus híbridos heterozigotos F ₁ e da testemunha Flora Dade, colhidos em cinco estádios de maturação	81
11	Valores médios de cálcio ligado à parede celular (%) em tomates homozigotos 'alcobaça', de amadurecimento normal, seus híbridos heterozigotos F ₁ e a testemunha Flora Dade, colhidos em cinco estádios de maturação	85
12	Valores médios de celulose (%) na parede celular em tomates homozigotos 'alcobaça', de amadurecimento normal, seus híbridos heterozigotos F ₁ e a testemunha Flora Dade, colhidos em cinco estádios de maturação	88
13	Varição de carboidratos não celulósicos (%) na parede celular de tomates homozigotos 'alcobaça', de amadurecimento normal, seus híbridos heterozigotos F ₁ e a testemunha Flora Dade, amadurecidos na planta	90
14	Matriz de correlação entre textura e características de parede celular de tomates homozigotos 'alcobaça', de amadurecimento normal, seus híbridos heterozigotos F ₁ e a testemunha Flora Dade, colhidos no estágio vermelho maduro	92

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Estádios de maturação dos frutos homozigotos 'alcobaça'. A: Verde maduro; B: <i>Breaker</i> ; C: <i>Turning</i> ; D: Maduro; E: Vermelho maduro	48
2	Estádios de maturação dos frutos normais. A: Verde maduro; B: <i>Breaker</i> ; C: <i>Turning</i> ; D: Maduro; E: Vermelho maduro	48
3	Valores médios para teor de licopeno (A), β -caroteno (B) e relação licopeno/ β -caroteno (C) em pericarpo de tomates no estágio vermelho maduro. FD: Flora Dade; TOM: Tom 559; FLO: Florida 1B; F ₁ F: F ₁ (Florida 1B \times Tom 559); PIE: Piedmont; F ₁ P: F ₁ (Piedmont \times Tom 559); ROT: Rotam 4; F ₁ R: F ₁ (Rotam 4 \times Tom 559). Barras com letras iguais as médias não diferem entre si pelo teste de Tukey em P < 0,05	69

RESUMO

FILGUEIRAS, Heloisa Almeida Cunha. **Bioquímica do amadurecimento de tomates híbridos heterozigotos no loco 'alcobaça'**. Lavras: UFLA, 1996. 118p. (Tese - Doutorado em Ciência dos Alimentos).

Foram analisados frutos híbridos F₁ de cruzamento entre tomateiro 'alcobaça' e três cultivares de amadurecimento normal. Os frutos foram colhidos em cinco estádios de maturação e avaliados quanto ao amaciamento, pH, acidez total titulável, sólidos solúveis totais, açúcares solúveis, pigmentos, solubilização de pectinas, cálcio total e atividades de poligalacturonase e pectinametilesterase. No material de parede celular do pericarpo foram determinados celulose, ácido galacturônico, grau de esterificação, cálcio ligado e açúcares neutros. Todos os genótipos produziram frutos firmes quando maduros. Não houve diferenças significativas quanto a pH, acidez, sólidos solúveis e relação SST/ATT. A acidez foi baixa em todos os genótipos, indicando interferência ambiental e/ou de condições de cultivo. Todos os híbridos foram mais pigmentados do que o parental mutante e a testemunha. A solubilização de pectinas não variou nos mutantes e permaneceu abaixo de 24% nos frutos maduros de todos os outros genótipos, tendo apresentado correlação inversa com a textura. O efeito do gene mutante

* Orientadora: Maria Isabel Fernandes Chitarra. Membros da banca: Adimilson Bosco Chitarra, João Pratagil Pereira de Araújo, Vânia Déa de Carvalho e Wilson Roberto Maluf.

em heterozigose foi observado no retardamento dos processos de solubilização de pectinas e amaciamento. Houve correlação inversa entre as atividades de poligalacturonase e pectinametileterase, porém não das enzimas com a textura e a solubilização de pectinas. Grau de esterificação, ácido galacturônico, arabinose e galactose apresentaram correlação com textura e solubilização de pectinas. O alto coeficiente de correlação entre arabinose e galactose sugere que tenham sido solubilizados dos mesmos polímeros.

SUMMARY

FRUIT RIPENING BIOCHEMISTRY OF TOMATOES HETEROZYGOUS IN THE LOCUS 'ALCOBAÇA'

Tomato fruits F₁ hybrids between the ripening mutant 'alcobaça' and three normal ripening cultivars were harvested at five degrees of maturation. Fruits were evaluated for firmness, pH, titrable acidity, soluble solids, soluble sugars, pigments, pectin solubilization, total calcium, polygalacturonase and pectinmethylesterase activities. Cell wall material from the pericarp was analysed for cellulose, galacturonic acid, degree of esterification, bound calcium and neutral sugars. Fruits of all genotypes were firm when ripe. No differences were found among the genotypes for pH, titrable acidity, soluble solids and TSS/TTA ratio. All genotypes produced low acid fruits, suggesting interference from breeding ambient and/or conditions. All hybrids had better color than both the mutant and the control. Pectin solubilization did not increase during ripening for mutant fruits, remained below 24% in ripe fruits of all the other genotypes and was inversely correlated with firmness. The effect of the *alc* gene in heterozygosis was the slowing down of pectin solubilization and softening. The activities of the pectic enzymes were inversely correlated with each other, but not with firmness or pectin solubilization. Degree of esterification, galacturonic acid, arabinose and galactose, all correlated with both firmness and pectin solubilization. The high correlation coefficient between arabinose and galactose suggested that they were solubilized from the same polymers.

1 INTRODUÇÃO

A importância do tomate, tanto do ponto de vista comercial quanto nutricional, não está diretamente ligada aos valores absolutos de seus constituintes, mas sim à sua grande aceitabilidade e consumo *per capita*. Dentre as culturas olerícolas, o tomateiro é a mais difundida em todo o mundo, e entre os frutos comestíveis sua produção perde apenas para a de citros (Hobson e Grierson, 1993).

Os hábitos de consumo de alimentos têm se modificado acentuadamente nos últimos anos. Com o surgimento das grandes cadeias de supermercados, o aperfeiçoamento dos meios de comunicação, a valorização dos conceitos de qualidade de alimentos, o aumento da conscientização das pessoas no sentido de evitar desperdícios, o consumidor vai se tornando mais exigente e privilegia cada vez mais os produtos de boa qualidade.

Para atender a essa demanda, do produtor ao consumidor, as pesquisas têm sido desenvolvidas visando o melhoramento genético de linhagens de polinização aberta, a adaptação de genótipos importados ou a produção de híbridos de 1ª geração (F₁) (Flori, 1993). Em geral, essas alternativas são trabalhadas simultaneamente dentro de um programa amplo de melhoramento genético.

A maioria das sementes usadas atualmente em cultivo intensivo ou protegido é do tipo híbrido, principalmente obtidas por polinização manual, sendo que as qualidades dos frutos

de certas combinações híbridas não são igualadas por nenhuma variedade de polinização aberta (Araújo, 1987).

No Brasil, a adoção de cultivares híbridas de tomate seria favorecida por uma série de fatores (Melo, Miranda e Costa, 1988), entre os quais:

- Os híbridos F_1 manifestam menor interação com o ambiente (fenótipos mais estáveis), e portanto poderiam se adaptar melhor às diferenças edafo-climáticas entre as regiões produtoras;
- O mecanismo de resistência a doenças de importância econômica é governado por ação monogênica dominante, fazendo com que um híbrido resultante de duas variedades resistentes a doenças distintas seja também resistente a essas doenças;
- A semente híbrida passa por um controle de qualidade mais rigoroso, que diminui os riscos de transmissão de contaminações à cultura;
- O custo financeiro da semente híbrida, devido ao seu melhor aproveitamento, é pequeno em relação ao custo total de produção;
- A disponibilidade de genótipos com boas características de qualidade, resistência, potencial produtivo e boa capacidade combinatória no grupo 'Salada' (multilocular) é maior do que no 'Santa Cruz' (bilocular).

A equipe de pesquisa em melhoramento genético do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, vem desenvolvendo trabalhos no sentido de obter híbridos F_1 entre linhagem portadora do gene 'alcobaça' em homozigose, de frutos firmes e longa conservação pós-colheita, e linhagens de amadurecimento normal com boas características agronômicas e boa aceitação comercial, visando combinar os atributos positivos de ambas.

O presente trabalho foi desenvolvido tendo como objetivos:

- Caracterizar química e bioquimicamente, durante o amadurecimento na planta, frutos de três híbridos F_1 , obtidos pela UFLA, entre a linhagem TOM-559, homocigota para o caráter 'alcobaça', e as linhagens Florida 1B, Rotam 4 e Piedmont;
- Identificar características que possam estar relacionadas à longa conservação dos frutos homocigotos 'alcobaça' e estejam presentes nos híbridos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais

O tomateiro é um membro da família Solanaceae, que reúne cerca de 1500 espécies tropicais e subtropicais com origem provável na América Central e do Sul. Dentro das solanáceas, o gênero *Lycopersicon* engloba um número relativamente pequeno de espécies, divididas em dois subgêneros, *Eulycopersicon* e *Eriopersicon*. Os frutos do subgênero *Eulycopersicon* são geralmente de coloração vermelha ou amarela quando maduros, e incluem o tomate cultivado, *Lycopersicon esculentum* Mill. (Davies e Hobson, 1981).

O tomate é classificado como fruto climatérico, por apresentar aumento na taxa respiratória durante o amadurecimento, e produzir etileno em resposta à exposição a baixas concentrações desse hormônio.

O fisiologista vegetal identifica o amadurecimento como o período final da maturação, durante o qual o fruto atinge seu pleno desenvolvimento e sua máxima qualidade estética e comestível (Gortner, Pull e Krauss, 1967).

Durante o amadurecimento do tomate desenvolve-se uma série de processos que afetam a qualidade. Basicamente, quando o crescimento diminui, o fruto torna-se 'maturo', isto é, embora ainda verde ele pode ser colhido e amadurecer fora da planta com um mínimo prejuízo

para suas características depois de maduro. No final do desenvolvimento os carboidratos de reserva desaparecem e ocorre aumento nos teores de glicose e frutose. A acidez máxima em geral coincide com os primeiros sinais de pigmentação amarela, e diminui progressivamente até o amadurecimento completo. A clorofila começa a ser quebrada com o início do amadurecimento, e alguns dos produtos são transformados em carotenóides (Hobson, 1982).

Assim como a cor, o aroma dos frutos também torna-se mais evidente e agradável com o amadurecimento. Ocorre ainda acentuada perda de firmeza, causada por uma redução na espessura das paredes celulares e na adesão entre as células. A maioria dessas transformações depende da atividade de enzimas, algumas das quais estão presentes no início do amadurecimento, enquanto que outras são formadas ou ativadas em sequência, com o desenvolvimento do processo (Hobson, 1982).

Do ponto de vista de fisiologia e bioquímica, as reações que levam ao amaciamento são significativas porque envolvem modificações que não ocorrem em outros tecidos vegetais (Brady, 1987). Do ponto de vista econômico, o amaciamento limita a vida útil dos frutos, por torná-los mais susceptíveis a danos mecânicos que conduzem à deterioração.

2.2 Melhoramento genético do tomate

Através do melhoramento genético tem-se buscado obter cultivares que, além de mais produtivas e resistentes, produzam frutos com melhor conservação pós-colheita. Diversas pesquisas têm sido conduzidas com o uso de mutantes naturalmente resistentes ao amadurecimento.

Praticamente todo o tomate comercializado *in natura* é colhido antes de amadurecer. O procedimento usual é colher os frutos verde maduros ou no estágio *breaker* para que amadureçam em trânsito ou no local de destino. Como é muito difícil determinar o estágio verde maduro sem cortar os frutos, é bastante provável, em colheita comercial, que sejam colhidos muitos frutos imaturos.

Por outro lado, se a colheita é feita após o início do desenvolvimento de cor, garantindo a maturidade fisiológica, a vida útil dos frutos pode não assegurar o prazo necessário à comercialização.

O aumento de vida útil conseguido através do uso de híbridos portadores de genes do que retardam o amadurecimento e prolongam a conservação, como o gene 'alcobaça' (*alc*), permite que os frutos sejam colhidos em estágio mais adiantado de amadurecimento do que o usual.

Procura-se com o uso de genes mutantes, possibilitar a colheita dos frutos nos estádios iniciais do desenvolvimento da pigmentação vermelha, assegurando a colheita de frutos fisiologicamente maduros, e ainda conseguir prolongamento da vida útil devido ao retardamento de processos metabólicos que levam ao amadurecimento (Mutschler et al., 1992)

Diversos genes mutantes são hoje conhecidos, conforme revisão feita por Martin (1987). Dentre eles os mais estudados são o gene *rin* (ripening inhibitor), localizado no cromossomo 5, e o gene *nor* (non-ripening), localizado no cromossomo 10 (Brady, 1987). Ambos são recessivos e resultam em frutos não climatéricos. Esses mutantes já foram bastante estudados no sentido de transferir suas características de conservação para cultivares comerciais (Kopeliovitch et al., 1982). Entretanto, segundo Mutschler (1984a), mutantes homozigotos recessivos como *rin* e *nor* bloqueiam o amadurecimento, e em heterozigose têm pouca influencia

sobre a conservação dos frutos. Kopeliovitch et al. (1982) verificaram que a introdução desses genes melhorou a conservação, mas teve efeito negativo sobre o sabor dos frutos híbridos. Nguyen et al. (1991) melhoraram a conservação de uma cultivar comercial pela introdução de gene *rin* em heterozigose, mas não avaliaram o sabor dos frutos obtidos.

2.2.1 O mutante 'alcobaça'

2.2.1.1 Características gerais

O tomateiro 'alcobaça' foi primeiramente descrito em Portugal na região do mesmo nome (Almeida, citado por Leal e Shimoya, 1973a). Leal e Shimoya (1973a) descrevem esse mutante como possuidor de plantas de excelente crescimento vegetativo e que produzem frutos amarelos, multiloculares e de longa conservação. Os frutos permanecem na planta em perfeitas condições por mais tempo do que os de outras cultivares.

Desde a descoberta do mutante, muitos pesquisadores têm procurado caracterizar seus frutos na tentativa de identificar os fatores que condicionam a sua longa conservação e o amadurecimento anormal (Leal e Shimoya, 1973b; Kopeliovitch et al., 1980 e 1981; Lobo, 1981; Mutschler, 1984a e 1984b; Mutschler et al., 1988 e 1992). Todos são unânimes em afirmar que os frutos 'alcobaça', quando colhidos nos estádios iniciais de coloração não completam seu amadurecimento, enquanto que, se deixados na planta, podem atingir coloração próxima da de frutos normais.

O 'alcobaça' foi descrito como um mutante de amadurecimento lento, condicionado por um único gene recessivo (*alc*) localizado no braço menor do cromossomo 10,

que exerce efeito sobre diversos aspectos como cor, velocidade de amadurecimento, picos respiratório e de etileno, atividade de poligalacturonase e vida útil do fruto (Lobo, 1981 e Mutschler, 1984a).

O desenvolvimento dos frutos 'alcobaça', da floração até o estágio verde-maturo é semelhante ao de frutos normais. O amadurecimento, do estágio verde-maturo até o completamente maduro porém, é mais lento do que nos normais. A longa conservação dos tomates 'alcobaça' deve-se à atenuação do amaciamento, e é possível obter híbridos de conservação prolongada se o gene for transferido para cultivares de frutos firmes (Mutschler, 1984b).

Observando frutos 'alcobaça' amadurecidos na planta, Kopeliovitch et al. (1981) constataram o desenvolvimento de um amplo espectro de cores, de laranja a vermelho, e verificaram que os frutos mais claros apresentaram atividade pectolítica mais baixa do que os vermelhos. Esses resultados podem indicar a presença de fatores modificadores que interagem com o gene principal *alc*.

Mutschler (1984b) também acredita que o amadurecimento de linhagens contendo o gene *alc* pode ser afetado por outros genes, devido à variação de cor entre as linhagens disponíveis, de laranja avermelhado claro até quase normal. A alteração da cor nos frutos de linhagens homozigotas 'alcobaça' é devida a uma redução nos pigmentos totais e na relação licopeno/carotenóides totais (Mutschler et al., 1992).

Kopeliovitch et al. (1980) verificaram que frutos 'alcobaça' amadurecidos na planta foram semelhantes aos normais quanto ao *flavor*, pH, sólidos solúveis totais, acidez total titulável e açúcares solúveis. Em painel sensorial com técnica para mascarar a cor, não encontraram rejeição ao *flavor* do 'alcobaça'. Além disso, os frutos apresentaram padrão

respiratório e de liberação de etileno semelhantes aos climatéricos, porém com os picos atenuados. Os mutantes diferiram dos normais quanto à prolongada vida útil e atividade relativamente baixa de poligalacturonase. Os resultados foram confirmados por Lobo (1981), quanto à conservação, produção de etileno e padrão respiratório. No entanto esse autor constatou atividade de poligalacturonase muito baixa, diferença que pode ser atribuída à metodologia empregada. Apesar de ambos os pesquisadores concordarem em que os frutos 'alcobaça' não completam seu amadurecimento fora da planta, Lobo (1981) colheu os tomates no estágio verde maturo e avaliou a atividade da enzima 5 dias após o início da coloração. Mesmo tendo colhido os frutos para seu experimento em estágio mais adiantado (14 dias após o início da coloração), Kopeliovitch et al. (1980) não especificam a intensidade de cor ou a porção colorida do fruto, para possibilitar a melhor identificação do estágio em que foram feitas as determinações de atividade enzimática.

Em sua revisão sobre os efeitos de genes mutantes de amadurecimento em heterozigose, Tigchelaar, McGlasson e Buescher (1978) constataram que em híbridos F_1 obtidos de cruzamentos de mutantes com cultivares de amadurecimento normal, há um aumento no tempo transcorrido entre a antese e o início das modificações visíveis de amadurecimento.

No caso do gene mutante *alc*, Mutschler (1984b) observa que não há efeito sobre o tempo transcorrido entre a floração e o estágio verde maturo, mas sim na velocidade de amadurecimento posterior.

O efeito retardador do amadurecimento do gene mutante muitas vezes representa um problema na amostragem de frutos de genótipos diferentes para comparações fisiológicas. Esta pode ser a causa de muitas divergências entre os resultados de pesquisas sobre os efeitos dos genes.

Como observaram Kopeliovitch et al. (1982), frutos híbridos amadurecem em épocas diferentes entre si, conforme o *background* genético, e em relação aos parentais. Portanto, a idade cronológica dos frutos não pode ser usada como base de comparação, uma vez que frutos da mesma idade não estão necessariamente no mesmo estágio fisiológico.

Em estudo mais detalhado, Mutschler et al. (1988) analisaram frutos verde maturos, verde maturos mais 5 dias na planta e recém-maturos. Verificaram que em linhagens 'alcobaça' tanto a proteína quanto a atividade de poligalacturonase foram reduzidas a menos de 5% do normal, não foram produzidas as isoenzimas PG2a e PG2b e que o nível de mRNA específico foi reduzido. No entanto, como ressalta Lobo (1981) com relação aos seus próprios resultados, não se pode concluir que a baixa atividade de poligalacturonase seja o único fator que determina o aumento da vida útil dos mutantes 'alcobaça'.

Deve-se lembrar, de acordo com Tigchelaar, McGlasson e Buescher (1978), que os diferentes processos de amadurecimento não são independentes e ocorrem de maneira altamente sincronizada.

2.1.2 Produção de híbridos

Desde o início da década de 70 tem-se pesquisado a utilização de linhagens 'alcobaça' para a produção de híbridos, buscando prolongar a conservação pós-colheita. As primeiras tentativas, no Brasil, foram feitas com o objetivo de introduzir o gene *alc* em cultivares biloculares (Leal e Shimoya, 1973a; Leal e Tabim, 1974; Leal e Mitzubuti, 1975). Posteriormente esses estudos voltaram-se para a produção de híbridos com cultivares multiloculares (Lobo, 1981; Kopeliovitch et al., 1981 e Mutschler et al., 1992).

O uso do mutante 'alcobaça' em condição de heterozigose oferece vantagens sobre outros genes mutantes de amadurecimento, porque tem o potencial de prolongar a conservação sem efeito prejudicial à cor e ao *flavor* do fruto, ao contrário de outros mutantes como *rin* e *nor* (Kopeliovitch et al., 1982).

Os resultados iniciais que mostram melhor conservação em frutos heterozigotos para o gene *alc* do que em normais, foram obtidos de cruzamentos com o uso da linhagem 'alcobaça' original, de frutos amarelos, pequenos e macios (Mutschler, 1984b)

Lobo (1981), armazenando frutos colhidos no estágio verde maturo, constatou que híbridos F₁ entre linhagens 'alcobaça' e de amadurecimento normal tiveram conservação de duas a três vezes maior do que seus parentais normais, porém, tanto os frutos mutantes quanto os híbridos foram macios. Entretanto, a diminuição da firmeza durante o armazenamento foi menos pronunciada nos híbridos que nos normais. De modo geral, os híbridos amadurecidos fora da planta alcançaram cor normal e os processos de amadurecimento foram intermediários aos parentais, ou seja, o amaciamento foi mais lento, e os picos respiratório e de etileno, assim como a atividade de poligalacturonase foram reduzidos em relação aos parentais normais. No entanto, como destaca Lobo (1981), as modificações nos aspectos relacionados ao amadurecimento dependeram do parental normal, ou seja, variaram conforme o *background* em que foi introduzido o gene *alc*.

Kopeliovitch et al. (1981), examinando diversos parâmetros fisiológicos relacionados ao amadurecimento, como cor e atividade pectolítica, entre híbridos F₁ e seus parentais normais, não encontraram diferenças às quais pudessem atribuir o aumento na conservação.

De acordo com Mutschler et al. (1992), a seleção do *background* para o qual o gene *alc* será transferido para a obtenção de linhagem homozigota é importante para a qualidade do híbrido. Nesse sentido, esses pesquisadores criaram linhagens 'alcobaça' de boa qualidade agronômica e utilizaram-nas para cruzamentos com cultivares normais também de boa qualidade. Como resultado, não foram observadas diferenças entre os híbridos e os parentais normais quanto a sólidos solúveis totais, pH, cor e firmeza. Porém a conservação dos híbridos foi maior do que a dos normais. O aumento de vida útil dos híbridos F₁ em relação ao parental normal conseguido por Mutschler et al. (1992) foi em média 60% e variou entre 2 e 8 dias, dependendo do *background* de ambos os progenitores. Como a vida útil nos híbridos foi aumentada significativamente em relação aos parentais normais, mas a firmeza não aumentou, Mutschler et al. (1992) concluíram que algum fator além da textura deve estar envolvido no prolongamento da conservação.

2.3 Amadurecimento do tomate

O tomate, dentre todos os frutos climatéricos, é sem dúvida aquele do qual se conhecem melhor os mecanismos que controlam o amadurecimento. O fato de a planta ter um ciclo vital relativamente curto e apresentar facilidade de ser geneticamente transformada e regenerada a partir de cultura de tecidos, tem feito com que ela sirva como uma espécie de modelo para estudos de fisiologia e bioquímica do amadurecimento de frutos (Hobson e Grierson, 1993).

Durante o amadurecimento de tomates, desenvolvem-se processos que influenciam a síntese e ação de hormônios, a síntese e deposição de pigmentos, o metabolismo de

açúcares e ácidos envolvidos na determinação do sabor, e modificações na estrutura e composição das paredes celulares que afetam a firmeza e a vida útil (Schuch, 1994). As alterações em geral se processam de maneira rápida e afetam todos os compartimentos celulares.

Davies e Hobson (1981) apresentaram ampla revisão sobre as modificações na composição de tomates durante o amadurecimento. Revisões mais recentes (Grierson, 1985; Brady, 1987 e Gross, 1990) têm procurado enfatizar a natureza dinâmica dos processos que controlam essas transformações.

Nas primeiras décadas deste século, o amadurecimento era explicado como um colapso progressivo da compartimentalização celular. Essa teoria de “resistência organizacional” persistiu por bastante tempo. Porém, foram sendo gradualmente acumuladas evidências de que o amadurecimento é um processo coordenado que envolve tanto síntese quanto degradação (Hobson e Grierson, 1993), e de que a organização celular, de modo global, é preservada (Awad, 1993).

Embora alguns componentes dos cloroplastos sejam degradados, eles são substituídos por outros, para formar os cromoplastos. A lamela média da parede celular é parcialmente dissolvida, mas a membrana plasmática permanece intacta e a atividade mitocondrial continua (Brady, 1987).

2.3.1 Textura

A textura é um dos principais atributos de qualidade em tomates. Frutos firmes apresentam a possibilidade de serem colhidos em estágio mais adiantado de maturação, com consequente expectativa de melhor qualidade (Hall e Augustine, 1981).

As propriedades mecânicas e a resistência dos tecidos de frutos dependem das características estruturais do conglomerado celular. Como observa Pantastico (1975), a textura depende da coesividade, tamanho, forma e turgidez das células que compõem o tecido. O componente mais resistente do tecido é a parede celular, que consiste de microfibrilas de celulose embebidas em matriz polissacarídica flexível. As células são mantidas unidas pela lamela média, constituída principalmente por substâncias pécticas, que fornece a coesão necessária para manter a unidade estrutural do conglomerado.

As membranas celulares- plasmalema e tonoplasto- são permeáveis a água e certos solutos, de forma que a água é mantida dentro delas sob a pressão originada pela concentração interna relativamente alta de solutos, isto é, o potencial osmótico. A pressão interna ou pressão de turgor de uma célula exerce um estresse na parede celular, que por sua vez exerce uma contra-pressão nos conteúdos celulares. A pressão de turgor é responsável, em grande parte, pela forma da célula (Jackman, Marangoni e Stanley, 1992). Bourne (1966) atribuiu ao turgor da célula grande parte da rigidez e da firmeza dos frutos frescos. Shackel et al. (1991) sugeriram que a perda de turgor durante o amadurecimento seja uma causa alternativa ou auxiliar do amaciamento, considerado tradicionalmente como sendo causado primariamente por alterações bioquímicas na estrutura da parede celular.

Os fatores que contribuem para a perda de firmeza durante o amadurecimento de tomates são diversos e têm sido estudados em profundidade, principalmente do ponto de vista de bioquímica da parede celular.

Observações microscópicas e ultra-microscópicas da parede celular e lamela média durante o amadurecimento de tomate, mostram uma desintegração da lamela média e diminuição progressiva na organização da parede celular (Hobson e Davies, 1971 e Awad, 1993).

As substâncias pécticas, principais constituintes da lamela média, têm ligações intra e intermoleculares por pontes de cálcio. Essas ligações as tornam menos vulneráveis à solubilização, e ajudam a manter a coesão entre as células e a firmeza do tecido (Buescher e Hobson, 1982). Rigney e Wills (1981), entre outros, observaram que os níveis de cálcio ligado às substâncias pécticas diminuem no início do amadurecimento de tomates. Antes disso, Hamson (1952) já havia constatado que tomates de textura mais firme contêm mais cálcio ligado às pectinas.

Os métodos para medir a firmeza envolvem testes de resistência à penetração, de compressão, de deformação, ou de aplanção, medidas de pressão de turgor, etc. (Shackel et al., 1991; Awad, 1993; Calbo e Nery, 1995). Cada um desses testes físicos avalia propriedades diferentes; alguns são destrutivos outros não, e nem sempre há uma correlação entre eles.

Os valores de firmeza, obtidos por testes de penetração refletem a integridade do pericarpo, onde estão localizadas as enzimas relacionadas ao amaciamento (Jackman, Marangoni e Stanley, 1992).

Para verificar se existe ou não efeito de enzimas pectolíticas sobre a firmeza, Ahrens e Huber (1990) recomendam que as medidas sejam feitas no tecido parenquimatoso, e não no fruto inteiro. A firmeza do fruto inteiro, como destacam Ahrens, Huber e Scott (1987), é um parâmetro composto, influenciado por diversos componentes como quantidade e textura do material locular, morfologia do carpelo e espessura da parede celular, e desta forma não fornece uma indicação direta da firmeza do pericarpo. Ainda segundo Ahrens, Huber e Scott (1987), a firmeza do pericarpo, no estágio maduro é a principal determinante da firmeza do fruto inteiro.

2.3.2 Acidez total titulável (ATT) e pH

Como na maioria dos frutos, do ponto de vista de sabor, os ácidos representam um dos principais componentes em tomates. A aceitação dos frutos depende do balanço entre ácidos e açúcares, sendo que a preferência recai sobre os que contêm altos teores dos dois constituintes (Hobson e Grierson, 1993). Os ácidos orgânicos são acumulados durante o crescimento e utilizados como substratos respiratórios durante o amadurecimento (Knee e Finger, 1992).

Existem evidências da operação do ciclo de Krebs (TCA) em tomates (Wang, Hansen e Christensen, 1953), uma vez que a maioria dos ácidos deste ciclo foi encontrada nos frutos. No entanto, os ácidos predominantes são o cítrico e o málico. A revisão feita por Davies e Hobson (1981) indica ser o ácido málico predominante no fruto imaturo, com o ácido cítrico contribuindo para apenas 25% da acidez total. Com o avanço da maturação e do amadurecimento, a contribuição do ácido málico para a acidez total cai rapidamente. O teor de ácido cítrico é muito mais estável, e a maior parte da acidez é encontrada no conteúdo locular (Hobson e Grierson, 1993).

Davies e Maw (1972) injetaram ácidos cítrico e málico marcados em tomates em vários estádios de maturação, e acompanharam seu metabolismo. Os resultados mostraram que no fruto verde maturo os dois ácidos são metabolizados com intensidade comparável havendo interconversão entre eles e oxidação a CO_2 , além de alguma incorporação a aminoácidos. No fruto vermelho houve muito menos oxidação de ácido cítrico e pouca interconversão, ao contrário do ácido málico.

Essa diferença foi explicada por Goodenough, Prosser e Young (1985), que sugeriram ser a operação do ciclo TCA restringida em tomates já em processo de

amadurecimento, e que o metabolismo do malato se dê no citosol através da enzima NADP⁺-málica, que catalisa sua descarboxilação a piruvato. O CO₂ gerado pela atividade dessa enzima contribuiria para o aumento climatérico na respiração.

Knee e Finger (1992), no entanto, acreditam que o papel da descarboxilação do malato pela enzima málica seja fornecer piruvato para manter ativo o ciclo TCA, independentemente da glicólise.

As cultivares de tomates podem variar acentuadamente em acidez, e muito dessa variação é atribuída a diferenças nos teores dos ácidos málico e cítrico. A relação ácido málico:cítrico é considerada um atributo varietal (Davies e Winsor, 1969).

Segundo Davies e Hobson (1981), o ácido cítrico, porém não o málico, e a acidez total titulável têm correlação próxima.

Seria de se esperar que Acidez total titulável e pH estivessem proximamente associados, mas alguns pesquisadores não constataram essa associação (Sapers, Phillips e Stoner, 1977). Stevens (1972) destacou que quando a relação entre ácido málico e cítrico de uma população de frutos varia muito, as diferentes constantes de dissociação podem explicar a correlação fraca.

Knee e Finger (1992) observaram que, além dos ácidos orgânicos, o pH é influenciado também pelo teor de potássio.

2.3.3 Sólidos solúveis totais (SST) e relação SST/ATT

Em sua revisão, Davies e Hobson (1981) observam que aproximadamente metade da matéria seca em tomates é constituída por açúcares redutores, cerca de 25% é constituída por

ácidos orgânicos e aminoácidos, lípidos e minerais, e o restante compõe os chamados sólidos insolúveis em álcool. Essa distribuição evidencia a importância dos açúcares e ácidos orgânicos como constituintes principais tanto da matéria seca total como dos sólidos solúveis totais em tomates (Young, Juvik e Sullivan, 1993).

Durante o amadurecimento de tomates há uma diminuição na porcentagem de sólidos solúveis totais, atribuída ao consumo respiratório e também à diluição provocada pela absorção de água (Young, Juvik e Sullivan, 1993).

Existem grandes variações no teor de sólidos solúveis totais entre os genótipos de tomate, que são atribuídas a diversos fatores, entre os quais a capacidade do fruto de importar assimilados fotossintéticos. Essa capacidade é definida como atividade de dreno (Hewitt, Dinar e Stevens, 1982). As linhagens com teores mais altos de sólidos solúveis totais possivelmente são drenos mais fortes. Parece que uma certa quantidade de fotossintatos é essencial para a estrutura básica do órgão (sólidos insolúveis). Uma vez alcançado esse requisito, os assimilados passam a ser armazenados como açúcares redutores (Stevens, 1972).

A capacidade dos frutos de importar e metabolizar sacarose tem papel importante no teor de sólidos solúveis totais, embora não se tenha demonstrado acúmulo de sacarose em tomates (Hewitt, Dinar e Stevens, 1982). Entretanto, já foi demonstrado um aumento de atividade da enzima invertase durante o amadurecimento (Hobson e Grierson, 1993), e sabe-se que essa enzima está envolvida com a translocação e a hidrólise de sacarose.

De acordo com Kader et al. (1978), o consumidor avalia a qualidade do tomate fresco principalmente pela aparência, firmeza e *flavor*. A primeira compra é determinada pela aparência, e as subsequentes pelo *flavor* e textura.

Stevens et al. (1977) demonstraram claramente a importância da interação entre sólidos solúveis totais e acidez para a intensidade global do *flavor*. Observaram, no entanto, que duas cultivares com a mesma relação SST/ATT podem ser diferentes em *flavor*, sendo preferida aquela que tiver os dois componentes em teores mais altos.

Tanto os Sólidos solúveis totais quanto a relação SST/ATT podem variar de acordo com a cultivar, local e época de colheita (Davies e Hobson, 1981), mas durante o amadurecimento a relação SST/ATT tende a aumentar, principalmente devido à tendência de diminuição na acidez (Carvalho et al., 1984).

2.3.4 Açúcares solúveis

Depois da água os açúcares são, em quantidade, os principais constituintes de tomates. Eles representam em torno de 53 e 65% dos sólidos solúveis totais do suco de variedades norte-americanas e inglesas respectivamente, e aproximadamente 50% da matéria seca total (Davies e Hobson, 1981).

Os teores de açúcares solúveis totais em tomates tendem a aumentar na passagem entre os estádios verde maduro e vermelho comestível. Nos tomates cultivados, os açúcares livres são quase que totalmente açúcares redutores, e a relação glicose: frutose é em torno de 2 : 1 no fruto imaturo. Com o amadurecimento, há inversão dessa proporção, resultando em ligeira predominância de frutose (Davies e Kempton, 1975; Kader et al., 1977; Stevens et al., 1977).

Em contraste com os frutos da espécie *L. esculentum* Mill., os de espécies selvagens apresentam teores elevados de sacarose. Essa diferença parece ser devida a níveis diferentes de atividade de invertase (Bucheli e Dévaud, 1993). Na espécie *L. esculentum* Mill., há

um aumento na atividade de invertase com o amadurecimento (Hobson e Grierson, 1993), e nas que acumulam sacarose a atividade de invertase diminui, resultando no acúmulo do dissacarídeo (Bucheli e Dévaud, 1993).

Stommel e Haynes (1993) demonstraram que frutos das espécies que acumulam sacarose atingem teores duas vezes mais elevados de açúcares e sólidos solúveis totais, e Bucheli e Dévaud (1993) demonstraram que há uma correlação positiva entre a atividade de invertase e o acúmulo de açúcares redutores em tomates cultivados.

Dentre os fatores ambientais, é provável que a luz tenha o efeito mais acentuado sobre a concentração de açúcares em tomates do que qualquer outro. Mesmo o leve sombreamento causado pelas folhas pode interferir no teor de açúcares (Davies e Hobson, 1981).

Muitos pesquisadores têm estudado as modificações nos teores de açúcares com o amadurecimento. Alguns concluíram que há um aumento, outros constataram diminuição próximo ao final do amadurecimento (Winsor et al., 1962). Em geral, concorda-se que o aparecimento da pigmentação amarela seja acompanhado por aumento no teor de açúcares.

2.3.5 Pigmentos

No tomate cultivado a clorofila, localizada nas membranas tilacóides dos cloroplastos, atinge o pico de concentração no início do crescimento do fruto. Quando o crescimento termina, no final do desenvolvimento, o fruto começa a amadurecer, a produção de etileno e a respiração aumentam, e os cloroplastos começam a transformar-se em cromoplastos. A transformação tem início no gel intralocular que envolve as sementes e continua no pericarpo, a partir da extremidade apical em direção à cicatriz do pedúnculo (Hobson e Grierson, 1993).

Nos frutos normais, durante o amadurecimento, a clorofila é substituída por carotenos e xantofilas. A mistura de clorofilas, com predominância da clorofila a , parece desempenhar um papel fotossintético nos frutos imaturos. Com o início do amadurecimento são produzidos primeiramente os pigmentos amarelos β -caroteno e xantofilas, que se tornam mais evidentes à medida em que a clorofila vai sendo degradada. Subsequentemente, o licopeno, carotenóide de coloração vermelha, passa a influenciar a cor apesar de os amarelos serem reforçados pela luteína e licoxantina (Hobson e Davies, 1971).

O β -caroteno atinge a concentração máxima antes do final do amadurecimento, enquanto que licopeno continua a ser acumulado e as xantofilas diminuem (Davies e Hobson, 1981). Portanto, no fruto completamente maduro o pigmento predominante é o licopeno, que passa a representar cerca de 90% dos carotenóides visíveis no fruto (Thompson, 1961), e β -caroteno é o segundo em quantidade.

A temperatura durante o amadurecimento influencia tanto a velocidade quanto a extensão das modificações de cor (Davies e Hobson, 1981). Temperaturas abaixo do normal ou acima de 30°C inibem a síntese de licopeno e favorecem o acúmulo de β -caroteno (Thompson, 1961).

A cor é reconhecida como um importante critério de avaliação de qualidade de tomates, e é condicionada não só pela quantidade total de carotenóides, mas também pela relação licopeno/ β -caroteno (McCollum, 1955 e Thompson et al., 1965). Segundo Medina e Medina (1981), a relação licopeno/ β -caroteno é importante na coloração final, variando com o grau de maturação. Os frutos muito amarelados são associados com sabor fraco, e os muito intensamente vermelhos com superamadurecimento.

2.4 Mecanismos bioquímicos do amaciamento do tomate

As consequências econômicas da perda de firmeza de tomates durante o amadurecimento, causadas pelo aumento de perdas por danos mecânicos e invasão por patógenos, têm levado ao desenvolvimento de inúmeras pesquisas no sentido de esclarecer os mecanismos e propor procedimentos que resultem em frutos mais firmes.

O amaciamento é um evento típico do amadurecimento de frutos, e é atribuído principalmente a modificações no complexo lamela média-parede celular primária (Seymour et al., 1990). As modificações durante o amadurecimento podem ser causadas por degradação, alteração nas interações entre polímeros ou alterações nos polímeros.

2.4.1 Solubilização de pectina

Nas paredes celulares primárias, existem proporções semelhantes de pectinas, hemiceluloses e celulose. De modo simplificado, as hemiceluloses e as substâncias pécicas conferem plasticidade e elasticidade, enquanto que a celulose tem função de conferir rigidez e resistência ao cisalhamento.

As substâncias pécicas são constituídas principalmente por polímeros de ácido galacturônico, esterificados ou não, cuja linearidade é interrompida pela inserção de resíduos de ramnose, aos quais se ligam cadeias de açúcares neutros (Fishman, 1992). As hemiceluloses são polímeros formados por diferentes açúcares neutros, como xilose, glicose, fucose e manose. Esses açúcares polimerizam-se de formas diversas, como xiloglucanas, glucomanas, ou galactoglucomanas, que podem ligar-se covalentemente às pectinas ou não covalentemente,

via pontes de hidrogênio, às microfibrilas de celulose (Gross, 1990). A celulose é um homopolímero constituído de cadeias lineares de glicose.

A lamela média pode ser considerada uma extensão da parede primária que não contém celulose. Nessa porção, as substâncias pécticas são os polímeros predominantes, com o papel fundamental de promover a adesão entre as células. Como contribuem para a resistência mecânica da parede e para a adesão entre as células, qualquer modificação nas características das substâncias pécticas resulta em alterações na textura dos frutos (Van Buren, 1979).

Na maioria dos frutos, a fração solúvel das substâncias pécticas aumenta durante o amadurecimento, num processo atribuído à ação de enzimas pectolíticas (Gross e Wallner, 1979). É possível que a hidrólise das substâncias pécticas enfraqueça a complexa malha de polissacarídeos na parede celular e provoque perda de coesão entre as células. Em geral há uma correlação entre o teor de pectina total e a firmeza dos frutos. Mas, a inibição do amadurecimento, como em mutantes de tomate, diminui a solubilização de pectinas e resulta em pouca variação de firmeza. Nas cultivares de frutos macios, observa-se acentuado aumento de pectina solúvel durante o amadurecimento (Malis-Arad et al., 1983).

A causa do aumento de solubilidade tem sido objeto de constantes estudos. O equilíbrio dinâmico entre os constituintes da parede celular sugere que haja quebra de ligações covalentes, mas também que haja incorporação constante de material recém-sintetizado (Labavitch, 1981; Mitcham, Gross e Ng, 1991).

A continuação da quebra de ligações glicosídicas durante a fase do ciclo vital dos frutos em que a incorporação de novos polímeros e a formação de novas ligações glicosídicas diminuem, reduz a extensão de interações covalentes entre os polímeros na matriz da parede

celular. Quando esse processo se estende à lamela média, o resultado é a diminuição da adesão entre células (Van Buren, 1979).

Já foi constatado, entretanto, que a solubilização de pectinas não é o único fator que afeta a firmeza, ou que diferencia frutos firmes de macios. Além disso, a associação entre pectinas e outros polímeros pode afetar sua sensibilidade à solubilização. Portanto, o estudo da solubilidade de pectinas não deve ser dissociado dos outros constituintes da parede celular e suas possíveis interações (Malis-Arad et al., 1983).

2.4.2 Enzimas pectolíticas

As modificações no tamanho molecular e na solubilidade de polímeros de parede celular que acompanham o amadurecimento de frutos envolvem a ação de enzimas capazes de degradar componentes específicos.

A solubilização e a despolimerização de poliuronídeos durante o amadurecimento são atribuídas a duas enzimas : a poligalacturonase- PG e a pectinametilsterase- PME (Seymour, Lasslet e Tucker, 1987). A primeira catalisa a hidrólise de ligações α (1-4) entre dois resíduos adjacentes de ácido galacturônico, e a segunda promove a desmetilação na posição C6 de resíduos de ácido metilgalacturônico. A PG é mais ativa na degradação de pectinas pelo menos parcialmente desmetiladas. Portanto, a PME parece ter um papel importante para determinar a extensão na qual a pectina é acessível à degradação pela PG (Pilnik e Voragen, 1970; Fisher e Bennett, 1991).

2.4.2.1 Pectinametilesterase (PME)

A PME é a segunda enzima pectolítica encontrada em tomates cuja atividade se modifica com o amadurecimento, e que pode estar relacionada com o amaciamento. Parece claro que, embora tanto a PG quanto a PME estejam presentes em quantidades consideráveis em células de tomates, uma vez que a desmetoxilação, solubilização e redução no peso molecular das pectinas acontecem de forma estritamente controlada (Hobson e Grierson, 1993).

Pressey (1986) demonstrou que as enzimas pécticas encontram-se fortemente adsorvidas no material de parede celular.

É possível que PG e PME ocupem sítios diferentes na parede celular e na lamela média, acrescentando assim um ponto de controle sobre suas atividades (Rushing e Huber, 1990).

A atividade de PME foi detectada em todas as partes das plantas, tendo sido identificadas cinco isoformas da enzima. As diferentes isoformas podem ser separadas em dois grupos. As três do primeiro grupo são sintetizadas durante o desenvolvimento do fruto, e as do segundo grupo estão presentes durante todo o crescimento e desenvolvimento da planta e também do fruto (Gaffe, Tieman e Handa, 1994).

Não se conhece exatamente a histo-especificidade e o papel das diferentes isoformas de PME, mas as principais consequências propostas para a desesterificação de pectinas incluem a redução localizada do pH, o aumento da susceptibilidade à ação da PG (Gaffe, Tieman e Handa, 1994), e a geração de grupos carboxílicos livres (COO^-) que facilitam a formação de novas ligações cruzadas nas paredes (Fry, 1986).

Pressey e Avants (1982) observaram que, embora exista atividade de PME em todos os estádios de desenvolvimento do fruto, ela aumenta um pouco durante o

amadurecimento. Além disso, a pectina da parede celular de frutos maduros é altamente esterificada e permanece assim durante o amadurecimento. A pectina solubilizada em frutos maduros também é altamente esterificada, conforme foi constatado em pêssegos (Pressey e Avants, 1983).

Fry (1986) apresentou a possibilidade de que a PME catalise também a transesterificação, levando à formação de ligações cruzadas uronoil-éster.

Considerando o alto nível de atividade endógena da PME, e o fato de que a pectina nunca é totalmente desesterificada durante o amadurecimento, Hobson (1981) sugeriu que pelo menos a atividade de PME, se não as de ambas as enzimas pectolíticas, seja restringida *in vivo*.

Pressey e Avants (1982) e Seymour et al. (1987) demonstraram *in vitro* efeito promotor da atividade de PME sobre a hidrólise de parede celular pela PG. Entretanto, altos níveis de PME inibiram completamente a hidrólise, possivelmente pelo excesso de desesterificação (Pressey e Avants, 1982), indicando que a PG deve agir sobre um substrato com uma extensão limitada de desesterificação.

O papel do grau de esterificação das pectinas durante o amadurecimento tem sido questionado, uma vez que ainda não se esclareceu se o aumento ou a diminuição pode explicar melhor o amaciamento e a solubilização de pectinas (Fisher, Arrigoni e Amadò, 1994). Um alto grau de esterificação leva à fraca interação iônica dos polímeros com cálcio, e menos coesão na lamela média. Knee (1978a,b) observou aumento no grau de esterificação da pectina solúvel em água, sem alteração no grau de esterificação global da parede. Ele sugeriu que, durante o amadurecimento, a pectina da lamela média, uma vez degradada seja substituída por uma nova, altamente esterificada. Por outro lado, uma diminuição no grau de esterificação poderia favorecer

a ação da PG, que quebra ligações entre resíduos não esterificados de ácido galacturônico. Entretanto, as correlações entre PG e PME ainda não estão completamente esclarecidas (Huber, 1983a,b). Da mesma forma, até o presente ainda não foram explicadas as relações entre PME, grau de esterificação e amadurecimento (Fisher, Arrigoni e Amadó, 1994).

2.4.2.2 Poligalacturonase (PG)

Entre as enzimas associadas ao amadurecimento de tomates, a PG foi estudada com mais detalhes.

Pressey e Avants (1973) identificaram duas isoenzimas com atividade de PG em tomates maduros, às quais designaram PG1 e PG2. Verificaram ainda que PG1 tem peso molecular muito mais alto e é mais termoestável do que PG2. Desde então, têm sido feitos esforços consideráveis para se atribuir papéis específicos às duas isoenzimas no processo de amadurecimento.

Em frutos nos estádios iniciais do amadurecimento, Crookes e Grierson (1983) encontraram apenas PG1. Com a evolução do processo, observaram um aumento nessa forma da enzima, até a estabilização, que coincidiu com o aparecimento da forma PG2. PG2 continuou a aumentar, até corresponder a 73% da atividade total de PG. Esses autores sugeriram que a forma PG1 fosse responsável por iniciar a degradação da parede celular através do ataque da lamela média, e a PG2 catalisaria a hidrólise posterior da parede celular primária. Essa hipótese encontrou reforço no fato de que em tomates mutantes de amadurecimento lento só foi constatada a presença de PG1.

A não ser pelas diferenças em peso molecular e termoestabilidade, PG1 e PG2 têm propriedades nitidamente semelhantes, como o pH ótimo; ponto isoelétrico; ambas são glicoproteínas que reagem com os mesmos anticorpos, e portanto apresentam porções idênticas; ambas são endoenzimas igualmente eficientes em degradar paredes celulares isoladas de tomates (Pressey, 1988).

A relação entre essas duas isoenzimas foi atribuída por Pressey (1984) a um polipeptídeo termoestável, a que o autor chamou de conversor, que reagiria com PG2 para formar PG1. Esse conversor, identificado como um glicopeptídeo, foi denominado por Pogson e Brady (1993) de subunidade β . Aparentemente a subunidade β regula a ação da PG *in vivo* (Zheng, Watson e DellaPenna, 1994).

Como o conversor é encontrado tanto em tomates verdes quanto em maduros, sendo detectado muito antes do aparecimento da PG, Pressey (1988) sugeriu que à medida em que PG2 vai sendo formada, reage com o conversor transformando-se em PG1, a forma que é detectada primeiro. Eventualmente, com o aumento no nível de PG2, essa forma excede a quantidade disponível de conversor, e é possível detectar tanto PG1 quanto PG2 nos extratos.

A forma PG2, por sua vez, de acordo com DellaPenna et al. (1990), é composta por duas isoenzimas, PG2a e PG2b, que diferem apenas quanto ao grau de glicosilação. A PG1 seria então constituída por uma dessas duas isoenzimas, PG2a ou PG2b, associada ao polipeptídeo conversor (Hobson e Grierson, 1993).

Existem controvérsias quanto à formação e ao papel atribuído *in vivo* à PG1. Brady et al. (1987) defenderam que a subunidade β teria o papel de ligar a PG à parede celular. Para Pressey (1988), PG1 seria um artifício de extração, formado quando PG2 e a subunidade são extraídos juntos, e não uma forma existente *in vivo*. Já DellaPenna et al. (1990) defenderam a

hipótese PG1 seria a única forma ativa, apesar de não explicarem o acúmulo de PG2a e PG2b nos frutos maduros.

Analisando as proposições apresentadas por todos esses autores, Pogson e Brady (1993) encontraram evidências das duas formas no tecido intacto.

Acredita-se que as três isoformas, PG1, PG2a e PG2b sejam derivadas de um único mRNA, por glicosilação e processamento do polipeptídeo após a tradução, ou por interação com outras proteínas. A ativação e transcrição do gene da PG ocorreria um ou dois dias após o início do aumento na síntese de etileno que desencadeia o amadurecimento (Hobson e Grierson, 1993). Quanto ao gene da subunidade β , sua expressão é independente de etileno tanto antes quanto durante o amadurecimento (Zheng, Watson e DellaPenna, 1994).

Embora a ação da PG *in vitro* seja bem conhecida, pouco se sabe sobre sua atividade no ambiente da parede celular, onde diversos fatores reguladores podem afetar sua mobilidade (Rushing e Huber, 1990).

A “tenacidade” da ligação da PG à parede celular é evidenciada pela necessidade de tampões de alta força iônica para removê-la (Pressey, 1986). Além de interações iônicas com a parede, pode haver oclusão estérica, interação com lectinas ou ligação com substratos. A imobilidade da PG na parede indica que as moléculas atuam individualmente em um microambiente limitado, com capacidade hidrolítica restringida por um sistema estático fechado (Rushing e Huber, 1990).

As técnicas de biologia molecular têm sido empregadas na tentativa de esclarecer o papel das poligalacturonases no amaciamento de tomates. Dois experimentos complementares foram desenvolvidos por Smith et al. (1988) e Giovannoni et al. (1989) para abordar essa questão. A redução da atividade de PG a 1% da normal pela tecnologia de RNA antisense,

embora tenha impedido a despolimerização, teve pouco efeito sobre a solubilização de pectinas e a firmeza dos frutos (Smith et al., 1988). Apesar da falta de efeito sobre a firmeza, tomates transgênicos com baixa atividade de PG foram menos sensíveis a injúrias mecânicas (Schuch et al., 1991).

A inserção, por meio de um promotor, de um gene normal em linhagem mutante *rin*, que tem a síntese de PG quase completamente bloqueada mesmo nos frutos maduros, resultou no acúmulo da enzima ativa (Giovannoni et al., 1989). Entretanto, ainda assim os frutos não amaciaram. Para os autores, embora não se possa descartar os efeitos pleiotrópicos do gene mutante *rin* impedindo a ação da PG, esses resultados sustentam o ponto de vista de que a PG não é o determinante primário do amaciamento.

Frutos como morango (Huber, 1984) e melão (McCollum, Huber e Cantliff, 1989) amaciam-se em ausência de atividade de PG. O mutante *dg* de tomate contém nível normal de atividade de PG e não amacia (Tong e Gross, 1988), e mesmo quando a atividade da enzima é inibida em frutos transgênicos há solubilização de poliuronídeos (Seymour et al., 1987).

Consequentemente, pelo exposto, deve-se buscar outras explicações para as modificações de textura que ocorrem no amadurecimento. Acredita-se hoje que a PG esteja mais envolvida com o superamaciamento que se verifica no final do amadurecimento (Gross, 1990).

2.4.3 Função do cálcio

A importância do cálcio como regulador do amadurecimento de frutos tem sido estudada há algum tempo. Ferguson (1984), observou que o aumento do teor de cálcio em frutos

climatéricos retarda o amadurecimento, como pode ser constatado pela inibição na modificação de cor, no amaciamento e na produção de etileno e CO₂.

Apesar de terem sido atribuídos ao cálcio diversos papéis na fisiologia de frutos, Brady (1987) destaca que as concentrações necessárias para afetar o amadurecimento e senescência sugerem que o efeito seja sobre a parede celular. Em trabalho anterior, Swaan e Poovaiah (1978) haviam observado aumento na solubilização do cálcio ligado à parede durante o amadurecimento de tomates normais, mas não em mutantes *rin*, indicando que o cálcio tenha relação com o amadurecimento. Os dados apresentados por Brady et al. (1985), em diferentes cultivares mostram que o cálcio é liberado mais facilmente em frutos macios do que em frutos firmes.

Burns e Pressey (1987) observaram que a maior parte do cálcio introduzido em tecidos de frutos acumula-se no complexo parede celular-lamela média. Rigney e Wills (1981), medindo o teor de cálcio nesse complexo durante o amadurecimento de tomates, constataram que a solubilização do cátion coincidia com os estádios iniciais do amadurecimento.

Existem evidências de que, em tomates, o cálcio limita a hidrólise de poliuronídeos de parede celular pelas enzimas pectolíticas (Buescher e Hobson, 1982; Brady et al., 1985). Rigney e Wills (1981) apresentaram a hipótese de que a solubilização do cálcio facilite a ação da poligalacturonase, resultando na degradação da parede celular, que por sua vez ativa o sistema de produção de etileno. Por outro lado, o aumento de cálcio livre no citoplasma estimularia a atividade de mitocôndrias intactas, contribuindo para o aumento da atividade respiratória.

A proporção de Ca²⁺ ligado à parede celular parece ser um fator importante no desencadear da maturação. Assim, em tomates, o Ca²⁺ total do pericarpo mantém-se constante ao

longo do desenvolvimento, verificando-se no entanto um decréscimo na razão Ca ligado/Ca livre à medida que a maturação se aproxima (Ricardo, 1983). Frutos mutantes, em que esta razão e o teor total de cálcio aumentam marcadamente durante o amadurecimento nunca amadurecem (Poovaiah, 1979).

O decréscimo do teor de Ca ligado à parede facilita a produção de etileno e aumenta a permeabilidade das membranas, que é outro passo essencial da maturação (Ricardo, 1983).

2.4.4 Outros mecanismos

Em sua revisão, Gross (1990) sugeriu que, para compreender o processo de amaciamento devem ser considerados os mecanismos que regulam a perda líquida de açúcares neutros da parede celular, as modificações nas hemiceluloses, a biosíntese de compostos de parede celular e a desagregação não enzimática de pectinas.

Como a atividade potencial de PG não parece ser o único determinante do amaciamento de frutos, devem ser estudados outros mecanismos de solubilização da parede, assim como características estruturais dos substratos pécticos que possam regular a ação da PG *in situ*, como pontes de cálcio, grau de esterificação, e a presença de cadeias laterais de açúcares neutros (Gross, 1990).

Devem ser considerados também o envolvimento de outras hidrolases (Fisher e Bennett, 1991), e as modificações na biosíntese dos diversos compostos. Mitcham, Gross e Ng, (1989) demonstraram síntese de celulose e hemiceluloses durante todo o desenvolvimento e amadurecimento.

Apesar de ser impossível, com o conhecimento atual, avaliar exatamente o papel *in vivo* dos vários mecanismos que podem contribuir para a perda de firmeza no final do desenvolvimento de tomates, Hobson e Grierson (1993) procuraram resumir as evidências disponíveis sobre as relações entre as modificações bioquímicas e fisiológicas da seguinte maneira:

- 1. Fruto verde imaturo** - Glicosidases removem cadeias laterais de polímeros pécticos como uma possível preparação para a subsequente ação da PG (Huber, 1983b). Autólise do gel locular ocorre na ausência de PG, com algum amaciamento do tecido por mecanismo não esclarecido.
- 2. Fruto verde maduro** - No início do amadurecimento começa a fase autocatalítica da produção de etileno; mais galactose é liberada das paredes celulares (Kim, Gross e Solomos, 1991). Síntese de PG, solubilização e despolimerização de pectinas ocorrem, mas não são necessariamente ligados. Acidificação da parede celular, como consequência da ação da PME, talvez envolvendo também outros mecanismos; quebra das ligações cruzadas de cálcio na parede, possivelmente por complexação do cálcio pelo citrato vindo do vacúolo (Buescher e Hobson, 1982). Há também, provavelmente, um redirecionamento na incorporação de polímeros de parede nos vários tipos de componentes celulares (Mitcham, Gross e Ng, 1989; Gross, 1990).
- 3. Fruto maduro** - Intumescimento da lamela média devido à sua desintegração, permitindo movimento das células. A pressão de turgor diminui com o enfraquecimento da parede celular. Há uma correlação geral, que pode ser coincidência, entre a atividade total de PG e a firmeza do fruto. A degradação de pectina como resultado da ação da atividade de PME e PG parece ser bastante limitada nesse estágio (Seymour et al., 1987).

4. Fruto super maduro - A atividade de PG continua a aumentar; com a desintegração das células, a despolimerização e degradação progressivas das substâncias pécticas resultam de um colapso dos mecanismos de controle e descompartimentalização de enzimas e substratos (Hobson e Grierson, 1993).

2.5 Paredes celulares

2.5.1 Composição

A célula vegetal deposita os constituintes de sua parede em uma série de camadas. O primeiro material formado é encontrado na região onde a parede de uma célula se une à da célula vizinha, e o último encontra-se próximo ao plasmalema (Brett e Waldron, 1990).

No tecido parenquimatoso de frutos comestíveis, a camada mais externa é a lamela média, que é a primeira a ser depositada na divisão celular e une células adjacentes, agindo como uma espécie de cimento entre elas. A lamela média é composta principalmente por substâncias pécticas e tem influência decisiva na textura (Fischer, Arrigoni e Amadó, 1994). Devido ao tipo de polímeros que a compõem, a lamela média é uma camada amorfa. A camada seguinte é a parede celular primária, que é depositada durante o crescimento celular. Tem um grau de organização mais alto do que a lamela média, e contém principalmente pectinas, celulose, hemiceluloses e proteínas (Brett e Waldron, 1990). É bifásica, consistindo de uma fase microfibrilar e uma matriz. A fase microfibrilar, com alto grau de cristalinidade e composição relativamente homogênea, consiste de moléculas de celulose alinhadas paralelamente em feixes que, agrupados, constituem as microfibrilas, que se agregam numa malha altamente estruturada e

estável ao redor da qual se organizam os outros polímeros, que compoem o gel da matriz (Brett e Waldron, 1990).

Em sua maioria, os polímeros que constituem a matriz da parede celular são moléculas polihidroxiladas, hidrofílicas, poli-iônicas e, no tecido vivo, altamente hidratadas. No entanto, a matriz é insolúvel em água e bastante consistente. Isto sugere que existam associações entre os polímeros, que os tornam insolúveis (Fry, 1986). As associações podem ser químicas ou covalentes, físicas ou não covalentes, ou de ambos os tipos (Bacic, Harris e Stone, 1988).

A natureza polihidroxílica dos principais polímeros possibilita a formação de inúmeras pontes de hidrogênio na parede celular (Brett e Waldron, 1990). Essas ligações tornam-se estruturalmente importantes quando ocorrem em grande quantidade entre duas macromoléculas como nas microfibrilas de celulose. O grande número de pontes de hidrogênio que se forma entre a superfície das microfibrilas e as hemiceluloses é um dos principais fatores que as mantêm na matriz.

As substâncias pécticas são constituídas por um esqueleto básico de α -1,4-galacturonana entremeado com resíduos de ramnose em ligações 2- e 2,4-. Os resíduos de ramnose podem servir de pontos de ramificação, onde se ligam cadeias laterais de açúcares neutros, principalmente arabinose e galactose. Mais da metade dos grupos carboxílicos C6 dos resíduos de ácido galacturônico encontram-se esterificados com grupos metil. As carboxilas livres desses resíduos podem estar ainda envolvidas em ligações inter ou intra-polímeros por pontes de cálcio (Gross, 1990; Hobson e Grierson, 1993).

Entre as substâncias pécticas encontram-se ainda homopolímeros como homogalacturonanas, galactanas e arabinanas, estes últimos altamente ramificados. Arabinogalactanas, compostas por cadeias de galactanas com ramificações curtas de arabinana,

podem existir na parede como moléculas independentes ou como cadeias laterais das ramnogalacturonanas. Alguns resíduos de arabinose e galactose podem ligar-se a ácido ferúlico e envolver-se em ligações cruzadas na parede celular (Brett e Waldron, 1990).

As cadeias laterais de açúcares neutros tendem a formar blocos que resultam em regiões muito ramificadas e ligam pectinas com hemiceluloses (Mangas et al., 1992).

Os polímeros pécticos da lamela média diferem dos da parede celular primária. Na lamela média, eles são essencialmente lineares, com cadeias laterais curtas e com grau de esterificação global alto. As regiões não esterificadas são mantidas unidas por ligações iônicas com cálcio (Brett e Waldron, 1990). Na parede primária, os polímeros pécticos são mais altamente ramificados, as cadeias laterais são mais longas, e o grau de esterificação da ramnogalacturonana é menor (Selvendran, citado por Fisher, Arrigoni e Amadó, 1994). Tanto na lamela média quanto na parede primária, segmentos de homogalacturonana podem alternar-se com a ramnogalacturonana na mesma molécula.

John e Dey (1986) propõem que as frações pécticas estejam fortemente ligadas por pontes de hidrogênio às xiloglucanas, e Seymour et al. (1990) encontraram pequena quantidade de complexo pectina-xilana em tomates.

Ao contrário das pectinas, as hemiceluloses variam conforme a espécie ou tipo de célula. Em células de dicotiledôneas, em geral, a principal hemicelulose é a xiloglucana, constituída por um esqueleto de $\beta(1-4)$ -glicose. À maioria dos resíduos de glicose unem-se resíduos de xilose em ligação $\alpha(1-6)$, aos quais podem se ligar resíduos de galactose e arabinose (Brett e Waldron, 1990).

Em meio aquoso, as cadeias de polissacarídeos de parede celular interagem não covalentemente para formar uma malha contínua, tridimensional, que imobiliza água. Existem

dois tipos de regiões nas cadeias polissacarídicas do gel : regiões abertas, hidratadas, não associadas e regiões conhecidas como “zonas de junção”, nas quais conformações complementares de duas ou mais cadeias permitem a associação entre fragmentos restritos. Essas zonas de junção são estabilizadas por ligações de hidrogênio intermoleculares ou por forças iônicas. Quanto maior o número e a extensão das zonas de junção, maior a rigidez do gel. As zonas de junção podem ser delimitadas por características estruturais que introduzam irregularidades na cadeia do polímero, como modificações na sequência de monossacarídeos ou no tipo de ligação entre os resíduos, ou na conformação do anel, a presença de cadeias laterais volumosas e a presença de resíduos carregados mutuamente repulsivos (Bacic, Harris e Stone, 1988).

As ramnagalacturonanas são polissacarídeos aniônicos de reconhecida capacidade de formar gel. Em solução, o esqueleto de galacturonana assume a conformação de dupla hélice, que permite que ions cálcio se liguem de maneira cooperativa a grupos carboxílicos de segmentos não esterificados e não ramificados de cadeias adjacentes. A zona de junção formada, em modelo denominado *egg-box*, estabiliza o gel (Fry, 1986; John e Dey, 1986; Bacic, Harris e Stone, 1988).

Resíduos de ramnose interrompem as zonas de junção através da alteração na conformação da cadeia, e a esterificação dos grupos carboxílicos impede a formação das pontes de cálcio (Bacic, Harris e Stone, 1988).

A desesterificação enzimática das galacturonanas, que resulta na formação de blocos não esterificados favorece a formação das zonas de junção. São necessários sete ou mais grupos carboxílicos livres ao longo de cada face participante da junção (Knee e Bartley, 1981; Markovic e Kohn, 1984).

As lectinas, glicoproteínas de parede celular que se ligam não covalentemente a resíduos de açúcares neutros podem ser importantes na estrutura da parede, pela formação de complexos com polímeros contendo arabinose, galactose e glicose (Fry, 1986).

2.5.2 Modificações com o amadurecimento do tomate

Em tomates, são duas as principais modificações na estrutura da parede celular durante o amadurecimento 1) aumento na quantidade de poliuronídeos solúveis (Huber, 1983a; Seymour et al., 1990); 2) perda líquida de açúcares neutros não celulósicos, particularmente galactose e arabinose (Gross, 1984; Seymour et al., 1990).

Fisher e Amadó (1994) sugerem que a dissolução das pectinas, acompanhada por perda de cadeias laterais de arabinanas e galactanas, modifique as interações entre os vários polímeros de parede celular. Esse mecanismo implica em *turnover* dinâmico dos polímeros, e não um simples processo degradativo.

Durante muito tempo, atribuiu-se o amaciamento de frutos à degradação das substâncias pécticas pela poligalacturonase. Entretanto, já se constatou que a solubilização de pectinas afeta a firmeza, mas não é o único fator responsável pelas diferenças entre cultivares firmes e macias (Malis-Arad et al., 1983). Além disso, a ação da poligalacturonase sozinha não é suficiente para explicar a perda de açúcares neutros que se observa *in vivo*.

A ação da PG também não se correlaciona com a solubilização, mas sim com a despolimerização dos poliuronídeos (Seymour et al., 1987). A susceptibilidade das paredes celulares à degradação enzimática varia muito entre cultivares. Wallner e Bloom (1977) e Tong e Gross (1988) sugeriram que essa variação possa ser devida a diferenças no teor de substâncias

pécticas ou em características estruturais que afetam a interação enzima-substrato, como grau de esterificação, ligações de cálcio, etc. Wallner e Bloom (1977) sugeriram ainda que comparações na susceptibilidade da parede à degradação enzimática podem ter mais significado do que a determinação da atividade da PG, na tentativa de esclarecer as bases bioquímicas das diferenças varietais de firmeza.

Gross e Wallner (1979), caracterizando modificações nos açúcares neutros, ácidos urônicos e proteínas da parede celular de tomates durante o amadurecimento, constataram que os únicos componentes que diminuíram foram arabinose, galactose e ácido galacturônico. De acordo com esses autores, a hidrólise de polímeros de açúcares neutros pode enfraquecer a complexa rede de polissacarídeos da parede celular, contribuindo diretamente para a perda de firmeza. Além disso, as modificações das cadeias laterais de açúcares neutros podem afetar a atividade da PG contra as cadeias principais.

Com seu experimento, Gross e Wallner (1979) demonstraram que a perda de arabinose e galactose é separada e independente da solubilização de poliuronídeos, e que a PG atua liberando poliuronídeos com relativamente poucos açúcares neutros. Os autores afirmaram que o efeito direto da diminuição das galactanas na firmeza é pequeno. É possível que uma galactana ou arabino-galactana regule a atividade de PG restringindo o acesso da enzima ao substrato no complexo polissacarídico, uma vez que o sítio de ação da PG parece ser um polímero de ácido galacturônico com poucos açúcares neutros (Gross, 1986). Knee (1978a) observou que os poliuronídeos insolúveis, ligados à parede, contêm mais arabinose e galactose do que os solúveis.

Embora possa ocorrer perda de galactose e arabinose sem solubilização de poliuronídeos, o inverso não foi demonstrado (Gross e Wallner, 1979).

O mecanismo pelo qual as galactanas são solubilizadas e o seu destino não foram ainda esclarecidos. Se as galactanas solubilizadas fossem hidrolisadas a seus monômeros, formar-se-ia um *pool* de galactose livre, que é tóxica para os tecidos vegetais (Gross e Saltveit Junior, 1982).

Gross (1983) sugeriu que o pericarpo de tomates maduros perderia progressivamente a capacidade de metabolizar resíduos de galactose livre, o que causaria o aumento desse açúcar observado em linhagens de amadurecimento normal. Esse aumento não foi verificado em frutos *rin* e *nor*, o que levou o autor a supor que esses frutos manteriam a capacidade de metabolizar galactose livre, uma vez que também perdem galactose ligada à parede. Entretanto, Kim, Gross e Solomos (1991) demonstraram que o aumento de galactose livre em tomates maduros normais está relacionado com o aumento na solubilização da parede e não com a perda de capacidade para metabolizar. Pelo menos dois tipos de polímeros estão envolvidos na perda de galactose da parede celular: as pectinas ionicamente ligadas (lamela média) e as covalentemente associadas (parede primária) (Gross, 1984).

O aumento de galactose livre é importante, segundo Kim, Gross e Solomos (1987), pois foi demonstrado que a mesma estimula a atividade de ACC-sintase e conseqüentemente a produção de etileno em tomates de amadurecimento normal.

Carrington, Greve e Labavitch (1993) estudaram os efeitos do gene antisense para PG sobre as modificações de paredes celulares de tomates durante o amadurecimento, especialmente as relacionadas aos açúcares neutros arabinose e galactose. Teoricamente o gene antisense para PG deveria afetar apenas a expressão de PG. Por outro lado, acredita-se que a ação dessa enzima na parede celular libere fragmentos que, agindo como elicitores, estimulem a expressão de outras hidrolases de parede celular. Para avaliar essas possibilidades, os autores

examinaram outras glicosidases e verificaram que, em geral, suas atividades foram semelhantes nos frutos normais e nos transgênicos. Os frutos transgênicos, no entanto, apresentaram algumas diferenças marcantes como as atividades de α -arabinosidase e β -galactosidase mais baixas no estágio verde maturo e níveis mais altos de açúcares neutros, principalmente galactose e arabinose na lamela média e na parede primária em todos os estádios.

A redução de galactose com o amadurecimento ocorre tanto na lamela média quanto na parede primária, enquanto que ramnose e arabinose diminuem na parede primária. Greve e Labavitch (1991) relataram diminuição na incorporação de galactose na lamela média.

Carrington, Greve e Labavitch (1993) sugeriram que um polímero péctico contendo ramnose, arabinose e galactose seja solubilizado por ação da PG. Observaram, no entanto, que há uma perda de galactose independente de PG, comum aos frutos normais e aos transgênicos, o que pode ser um evento importante no amaciamento. Já a perda de arabinose não ocorre na parede primária dos frutos transgênicos.

Já foi demonstrado há algum tempo, que uma β -1,4-galactosidase, capaz de hidrolisar β -1,4-galactana é encontrada em tomates, e que sua atividade aumenta com o amadurecimento. A β -galactosidase é uma enzima que aparece no início do amadurecimento, anteriormente ao aparecimento da PG (Pressey, 1983).

De Veau et al. (1993) verificaram que β -galactosidases purificadas de abacate solubilizaram pectinas isoladas de tomate.

As subunidades macromoleculares que compõem as pectinas formam grandes agregados mantidos unidos por ligações não covalentes. Essas subunidades são compostas de um esqueleto de rammnogalacturonana ao qual se ligam covalentemente cadeias laterais polissacarídicas. Algumas dessas cadeias laterais são compostas de resíduos de β (1-4)-galactose.

Não se conhece a natureza exata das interações não covalentes entre as subunidades, mas os efeitos da β -galactosidase sobre a solubilidade de pectinas indicam que as cadeias laterais têm um papel importante (De Veau et al., 1993). A capacidade da β -galactosidase de solubilizar pectinas poderia explicar parcialmente como frutos carnosos amaciam, pelo menos parcialmente, na ausência de PG (Gross, 1984; Smith et al., 1988; Giovannoni et al., 1989).

Huber (1983b) observou modificação no peso molecular dos polímeros na fração hemicelulose, durante o amadurecimento de tomates. Houve uma diminuição na população de polímeros de alto peso molecular e aumento na de baixo peso molecular. Huber (1983a) sugeriu que essa modificação poderia estar relacionada à perda de arabinose e galactose que ocorre sem solubilização de poliuronídeos. As hemiceluloses de baixo peso molecular são particularmente ricas em xilose e glicose. A incorporação de polímeros modificados pode causar uma modificação substancial na integridade estrutural da parede celular (Greve e Labavitch, 1991) sem modificação na composição global da fração hemicelulósica (Huber, 1983a).

Tong e Gross (1988) analisaram as ligações glicosídicas na fração hemicelulósica durante o amadurecimento, e constataram diminuição de resíduos de galactose e glicose, e aumento de xilose e manose. Nas hemiceluloses de alto peso molecular, o aumento na incorporação de resíduos de xilose e manose nas hemiceluloses foi observado também por Greve e Labavitch (1991). Esses dados indicam que o *turnover*, na verdade, pode resultar em aumento líquido nessa fração. Na fração de baixo peso molecular, Tong e Gross (1988) verificaram aumento de manose e glicose e diminuição de arabinose, sugerindo que cadeias laterais de arabinose são substituídas por manose e/ou ocorre síntese *de novo* de glucomananas.

Evidências obtidas por Mitcham, Gross e Ng (1991) mostram que a síntese de parede celular pode ter um papel no amaciamento de tomates. Esses autores demonstraram

incorporação de precursor marcado durante todo o amadurecimento, mesmo no período em que houve perda líquida de material de parede, indicando *turnover* com degradação excedendo a síntese.

No experimento de Mitcham, Gross e Ng (1991), a incorporação de precursor marcado foi muito mais lenta em frutos mutantes. Isto indica que diferenças no metabolismo de parede celular podem interferir no amadurecimento, principalmente quando se leva em conta que polímeros modificados sintetizados *de novo* podem alterar a estrutura da parede e que o metabolismo rápido nos frutos normais pode resultar na liberação de fragmentos biologicamente ativos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Frutos

Foram avaliados tomates de oito genótipos, sendo um progenitor masculino, três progenitores femininos, três híbridos de primeira geração (F₁) e uma testemunha.

3.1.1 Procedência

Os frutos utilizados neste trabalho foram provenientes de experimento desenvolvido por Souza (1995) na Fazenda Palmital, município de Ijaci, Minas Gerais, localizado a 21°14'16" de latitude e 45°08'00" de longitude W.Gr., com uma altitude média de 918m. A temperatura média anual situa-se entre 18°C e 21°C, e a precipitação anual varia entre 1100 e 2000mm, sendo a estação chuvosa de aproximadamente cinco meses.

3.1.2 Progenitores e testemunha

Flora Dade - Cultivar de amadurecimento normal utilizada como testemunha. Proveniente da Universidade da Florida (EUA), de crescimento determinado, frutos grandes, firmes e mutiloculares, com indicação de resistência às raças 1 e 2 de *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*

(Sacc.) Synd & Hans, a *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berth e a *Stemphyllium solani* Weber (Volin e Bryan, 1976).

TOM-559 - Progenitor masculino para todos os híbridos, de frutos multiloculares, homozigoto para o caráter 'alcobaça' em *background* isogênico à cultivar norte-americana Flora Dade. Mutante de amadurecimento lento.

Florida 1B - Progenitor feminino. Cultivar de crescimento determinado, frutos multiloculares, firmes de amadurecimento normal e de bom tamanho, procedente da Universidade da Florida (EUA). Resistente às raças 1 e 2 de *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* (Sacc.) Synd & Hans e a *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berth. (Augustine et al., 1981).

Piedmont - Progenitor feminino. Cultivar de crescimento determinado, frutos multiloculares, de amadurecimento normal, procedente da Carolina do Norte (EUA). Resistente às raças 1 e 2 de *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici* (Sacc.) Synd & Hans e a *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berth. Frutos ligeiramente mais firmes, com maior tamanho e melhor cor que os da cultivar 'Flora Dade' (Gardner, 1985).

Rotam-4 - Progenitor feminino. Cultivar procedente da África do Sul, resistente a nematóides e a múltiplas doenças. Crescimento determinado, frutos firmes, redondos ou oblatos (Bosch et al., 1990), de amadurecimento normal.

Considerando as notações (+/+) para frutos de amadurecimento normal, (*alc/alc*) para homocigotos 'alcobaça' e (+/*alc*) para heterocigotos 'alcobaça', os frutos analisados possuíam as seguintes características:

Flora Dade	(+/+)
TOM-559	(<i>alc/alc</i>)
Florida 1B	(+/+)
F ₁ (Florida 1B × TOM-559)	(+/ <i>alc</i>)
Piedmont	(+/+)
F ₁ (Piedmont × TOM-559)	(+/ <i>alc</i>)
Rotam 4	(+/+)
F ₁ (Rotam 4 × TOM-559)	(+/ <i>alc</i>)

3.1.3 Obtenção dos híbridos

Os híbridos foram obtidos conforme metodologia descrita por Souza (1995), segundo as etapas resumidas a seguir:

- Multiplicação das linhagens parentais para a obtenção das sementes e uniformização do vigor;
- Obtenção das sementes híbridas. As flores dos parentais femininos foram emasculadas e polinizadas manualmente, com o pólen coletado do progenitor masculino. Os frutos que continham sementes híbridas foram colhidos maduros. As sementes foram retiradas e tratadas para retirada da mucilagem e secas à sombra.
- Instalação da cultura. As sementes foram semeadas em bandejas, e as mudas foram transplantadas para estufa plástica e cultivadas em sistema de ferti-irrigação.

3.2 Colheita e preparo dos frutos para o experimento em laboratório

O frutos foram colhidos em cinco estádios de maturação, identificados pelo desenvolvimento de cor descritos como a seguir e identificados nas Figuras 1 e 2.

O desenvolvimento de cor foi usado neste trabalho como parâmetro para definir estádios de maturação, como realizado por Nguyen et al. (1991), devido à variedade de materiais genéticos estudados.

Estádio 1 - Verde Maduro - frutos verde claro, com formação de material gelatinoso na cavidade locular, coloração creme na região apical e anel marrom ao redor da cicatriz do pedúnculo.

Estádio 2 - Breaker - frutos verde claro com mancha rosa clara de até 1cm de diâmetro na extremidade apical.

Estádio 3 - Turning - frutos com mancha rosa intensa na extremidade apical, com pelo menos 2cm de diâmetro.

Estádio 4 - Maduro - frutos com pelo menos 50% da superfície vermelha.

Estádio 5 - Vermelho Maduro - frutos completamente vermelhos, porém firmes.

A decisão de deixar os frutos na planta, colhendo-os de acordo com o desenvolvimento da cor, foi devida ao fato de que em frutos mutantes 'alcobaça' o grau de amadurecimento depende do estágio de maturação na colheita (Mutschler, 1984b). Ou seja, em frutos colhidos verde maturos ou nos estádios iniciais de desenvolvimento de cor o amadurecimento não evolui. Assim sendo, se frutos de todos os genótipos fossem colhidos no mesmo estágio para que o amadurecimento fosse acompanhado fora da planta, não seriam possíveis comparações com o parental masculino.

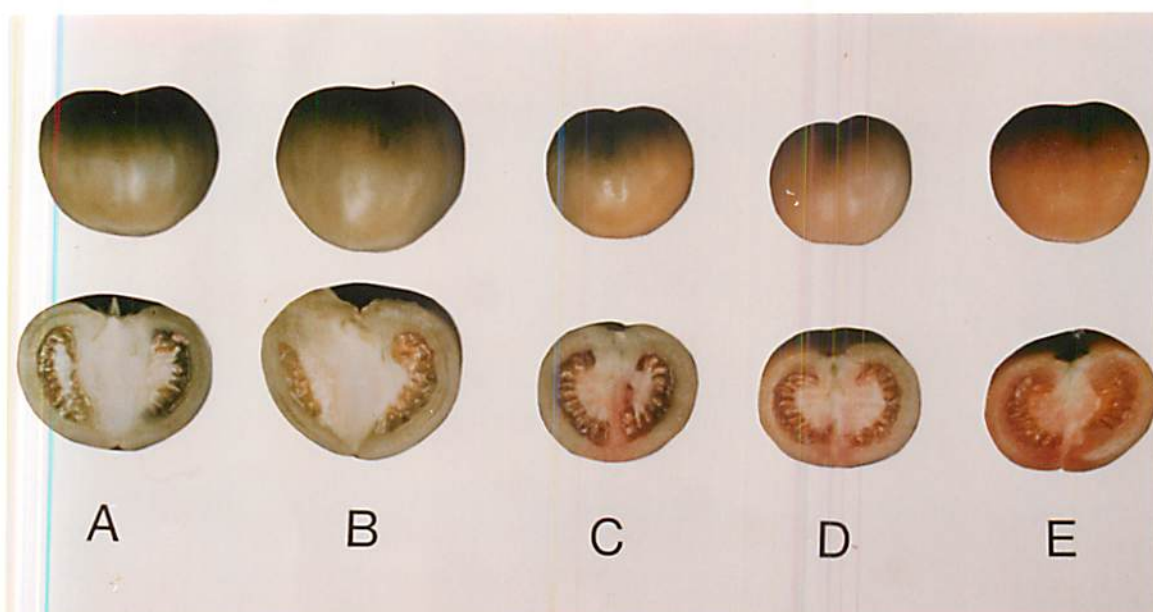


FIGURA 1. Estádios de maturação dos frutos homozigotos 'alcobaça'. A: Verde maduro; B: *Breaker*; C: *Turning*; D: Maduro; E: Vermelho maduro.

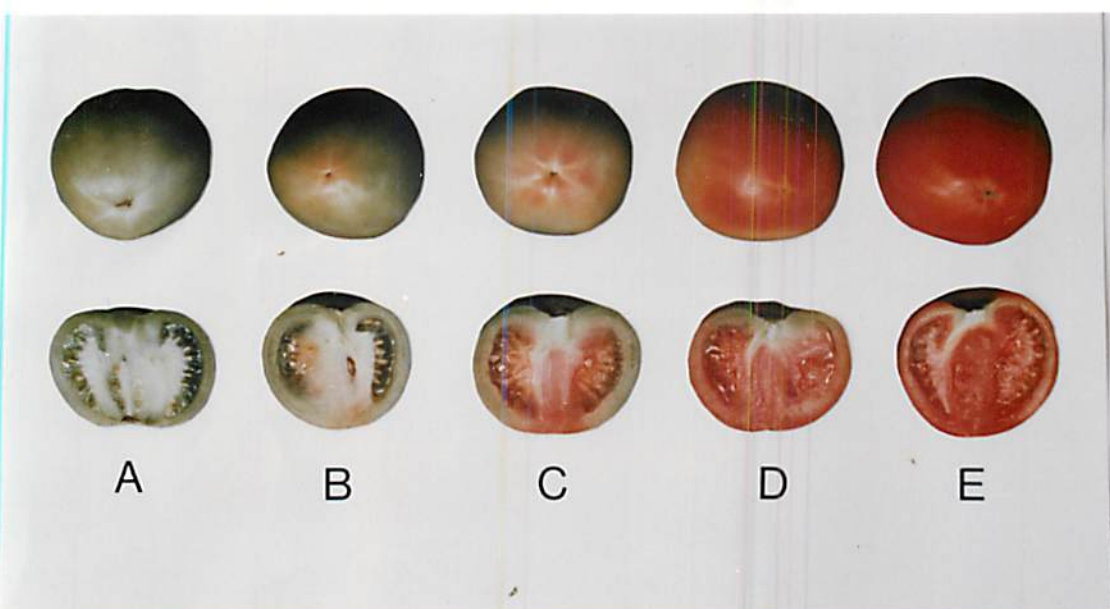


FIGURA 2. Estádios de maturação dos frutos normais. A: Verde maduro; B: *Breaker*; C: *Turning*; D: Maduro; E: Vermelho maduro.

7,74 mm de diâmetro. As medidas foram realizadas após remoção de pequena porção da casca na região equatorial do fruto. Foram feitas três leituras por fruto, evitando-se as paredes radiais, por visualização das linhas que saem da região apical.

As leituras, em lbf, foram multiplicadas por 4,4482 para expressar o resultado em Newtons (N). Valores mais altos correspondem a frutos mais firmes.

As colheitas foram feitas nas primeiras horas da manhã, selecionando-se frutos da porção mediana das plantas. Transportado o material para o Laboratório de Bioquímica de Frutos e Fisiologia Pós-Colheita da UFLA, foi feita lavagem em água corrente e seleção quanto à ausência de defeitos, uniformidade de tamanho e grau de maturação.

Cada unidade experimental foi constituída por pelo menos 4 frutos, totalizando cerca de 700 g por parcela. Os frutos de cada parcela foram selecionados dentre 2,0 kg, colhidos de uma população de 17 plantas.

Após as medições de textura, os frutos foram cortados, descartando-se o conteúdo locular e reservando-se o pericarpo para as análises laboratoriais. Parte do material foi titurado em multiprocessador de alimentos para as avaliações de pH, sólidos solúveis totais e acidez total titulável. O restante foi congelado em nitrogênio líquido e armazenado a -20°C para análises posteriores.

3.3 Análises

3.3.1 Textura

Foi determinada com auxílio de texturômetro de Magness-Taylor com ponta de 7,94 mm de diâmetro. As medidas foram realizadas após remoção de pequena porção da casca na região equatorial do fruto. Foram feitas três leituras por fruto, evitando-se as paredes radiais, por visualização das linhas que saem da região apical.

As leituras, em lbf, foram multiplicadas por 4,4482 para expressar o resultado em Newtons (N). Valores mais altos correspondem a frutos mais firmes.

3.3.2 Avaliações físico-químicas

O homogenato resultante da porção do pericarpo que foi triturada em multiprocessador foi filtrado em gaze dobrada 8 vezes. O filtrado obtido foi utilizado para as determinações de:

- **pH** - por potenciômetro Digimed modelo DMpH-2
- **Sólidos solúveis** - por refratômetro digital ATAGO PR-1000 e expressos em °Brix, segundo AOAC(1992).

3.3.3 Avaliações químicas e bioquímicas

- **Acidez total titulável** - por titulação do filtrado com NaOH 0,1N, de acordo com Instituto Adolfo Lutz (1985) e expressa em gramas de ácido cítrico por 100ml de suco.
- **Açúcares solúveis** - foram extraídos no extrato preparado por maceração a quente do homogenato de pericarpo e determinados segundo a técnica de Somogyi adaptada por Nelson (1944). Os resultados foram expressos em porcentagem de fruto fresco.
- **Substâncias pécticas** - foram extraídas segundo a técnica adaptada por McCready e McComb (1952) e analisadas pela técnica modificada por Bitter e Muir (1962). Foram determinadas as substâncias pécticas totais e a porção solúvel. Pela porcentagem de pectina solúvel em relação obteve-se a porcentagem de solubilidade.

- **Pigmentos carotenóides**-foram extraídos em discos cortados da região equatorial dos frutos vermelho maduros, e determinados segundo a técnica de Nagata e Yamashita (1992) . A epiderme dos discos foi removida, para evitar a contaminação com o pigmento amarelo naringenina chalcona (Nagata, comunicação pessoal em 14/06/95).

Amostras de 1g foram colocadas em tubos de ensaio de aproximadamente 18 x 130 mm e trituradas por um minuto em homogeneizador de tecidos com 10 ml de mistura acetona:hexano (4:6). O extrato sobrenadante foi usado para a leitura da absorbância em espectrofotometro Shimadzu UV-190, em quatro comprimentos de onda: 453, 505, 645 e 663 nm. Os cálculos das concentrações de licopeno e β -caroteno foram feitos segundo as seguintes equações (Nagata e Yamashita, 1992):

$$\text{Licopeno (mg/100ml)} = -0,0458A_{663} + 0,204A_{645} + 0,372A_{505} - 0,0806A_{453}$$

$$\beta\text{-caroteno (mg/100ml)} = 0,216A_{663} - 1,22A_{645} - 0,304A_{505} + 0,452A_{453}$$

Os resultados foram multiplicados por 1000 para serem expressos em $\mu\text{g}/100\text{ml}$.

- **Cálcio total** - O pericarpo em cubos foi liofilizado, triturado em moinho tipo Wiley e homogeneizado. O cálcio total foi determinado, após digestão nitroperclórica, por espectrofotometria de absorção atômica, conforme metodologia descrita por Sarruge e Haag (1974).

- **Atividade de pectinametilsterase** - foi determinada de acordo com a técnica descrita por Jen e Robinson (1984). O substrato usado foi pectina cítrica a 1% em NaCl 0,1M pH 7,0, à temperatura ambiente. A taxa de desmetilação da pectina, adicionada do extrato enzimático, foi medida pela titulação da mistura de reação com NaOH 0,025N, mantendo o pH 7,0 por 10 minutos.

Uma unidade de atividade de pectinametilsterase foi considerada como sendo a quantidade de enzima capaz de catalisar a desmetilação de pectina correspondente a um micromol de NaOH por minuto nas condições do ensaio. Os resultados foram expressos em unidades por grama de peso fresco.

- **Atividade de poligalacturonase** - a obtenção do extrato bruto e a determinação da atividade enzimática foram feitas conforme Pressey e Avants (1973). A atividade foi determinada por incubação do extrato com solução a 0,25% de ácido galacturônico (lavado com etanol 80% antes do uso) em tampão acetato de sódio 37,5mM pH 5,0 a 30°C por 3 horas. A reação foi interrompida em banho-maria fervente, e os grupos redutores liberados foram determinados pela técnica de Somogyi modificada por Nelson(1944), usando glicose anidra como padrão. Como branco foi usado extrato inativado térmicamente e incubado nas mesmas condições.

Uma unidade de atividade de poligalacturonase foi considerada como sendo a quantidade de enzima capaz de catalisar a formação de um nanomol de grupos redutores por minuto nas condições do ensaio. Os resultados foram expressos em unidades por grama de peso fresco.

3.3.4 Compostos de parede celular

O material bruto de parede celular foi obtido conforme Rushing e Huber (1984). O pericarpo foi triturado com água destilada a 4°C em homogeneizador de tecidos TEKMAR, modelo Tissumizer. O homogenato foi filtrado em tecido tipo organza dobrado e lavado

sucessivamente com água destilada gelada até retirada de todo o material solúvel. O resíduo foi imediatamente congelado em nitrogênio líquido e liofilizado.

O material liofilizado foi triturado em moinho tipo Wiley e foram eliminadas as partículas com granulometria superior a 80 mesh. As amostras secas e uniformizadas foram acondicionadas em frascos porta-amostra e mantidas em dessecador à temperatura ambiente até sua utilização (Hoebler et al., 1989).

- **Celulose** - foi utilizado o procedimento modificado de Updegraff (1969). O material bruto de parede celular foi tratado com ácido trifluoracético 2N para solubilizar a porção não celulósica. O resíduo foi lavado com água destilada e dissolvido em ácido sulfúrico 72% (v/v). Os açúcares liberados foram determinados colorimetricamente pelo reagente de antrona (Dische, 1962), usando celulose microcristalina como padrão. Os resultados foram expressos em porcentagem (p/p) do material de parede celular.
- **Ácido galacturônico** (uronídeos totais) - foi empregado o procedimento descrito por Ahmed e Labavitch (1977). O material de parede celular foi dissolvido em ácido sulfúrico a 67% (v/v), em banho de gelo, e os ácidos urônicos liberados foram determinados colorimetricamente, de acordo com Blumenkrantz e Ashboe-Hansen (1973), após reação com meta-hidroxidifenil. Os resultados foram expressos em porcentagem (p/p) de ácido galacturônico no material de parede celular.
- **Grau de esterificação de pectinas** - foi empregado o método modificado por Lurie et al. (1994), segundo o qual se determinam as quantidades de ácido galacturônico na parede celular antes e depois de incubação com boroidreto de sódio.

Primeiramente foi feita a determinação do conteúdo total de ácido galacturônico no material de parede celular. Em seguida, uma outra alíquota de amostra foi incubada com solução alcoólica de boroidreto de sódio. Com essa incubação, os resíduos esterificados de ácido galacturônico foram reduzidos, deixando de reagir com meta-hidroxidifenil. Depois de neutralizada, a mistura de reação foi evaporada e lavada, e ressuspensa em ácido sulfúrico 67% (v/v). Na solução sulfúrica foi feita novamente a determinação colorimétrica de ácido galacturônico. Por diferença obteve-se a porção não esterificada.

O grau de esterificação foi definido como a porcentagem de ácido galacturônico esterificado em relação ao total.

- **Cálcio ligado à parede celular** - o teor de cálcio no material de parede celular foi determinado pela mesma técnica, de absorção atômica, empregada para análise de cálcio total. Os resultados foram expressos em porcentagem de cálcio (p/p) no material de parede celular.

- **Açúcares neutros de parede celular** - o material de parede celular liofilizado foi hidrolisado a açúcares simples por meio de ácido trifluoracético contendo inositol. Em seguida os monossacarídeos foram metilados e reduzidos aos seus alditóis correspondentes por reação com boroidreto de sódio, e a derivatização dos alditóis foi feita por acetilação com anidrido acético (Albersheim et al., 1967).

A determinação dos açúcares neutros foi feita por cromatografia gás-líquido, em cromatógrafo Intralab Modelo 3000, utilizando como padrões ramnose, fucose, arabinose, xilose, manose, galactose, glicose e inositol, sendo este último o padrão interno.

Como fase estacionária foi usada coluna capilar OV-DB225, com 0,25 mm de diâmetro e 25m de comprimento, e como fase móvel, ar sintético e hidrogênio.

As temperaturas empregadas foram de 210°C, 250°C e 300°C para coluna, injetor e detector respectivamente. A pressão na coluna foi de 24 psi, e os fluxos na coluna, make-up, de gás de arraste e de ar foram respectivamente 4,65 ml/min, 47,32 ml/min, 60 ml/min e 300 ml/min. A razão de split foi de 1:90, e o tempo total de cada corrida foi de 30 minutos.

3.3.5 Delineamento experimental e análise dos resultados

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 8 x 5, consistindo de 8 genótipos (parentais, híbridos e testemunha) e 5 estádios de maturação, com 3 repetições.

Análises de compostos de parede celular foram feitas em duas repetições.

Os resultados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, com auxílio do programa SANEST-Sistema de Análise Estatística, de autoria de Elio Paulo Zonta e Amauri Almeida Machado, do Instituto Agronômico de Campinas.

Foram feitas análises de correlação linear entre os resultados de textura, solubilização de pectinas e componentes de parede celular.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Modificações com o amadurecimento

4.1.1 Textura

Todos os frutos, conforme o esperado, amaciaram-se acentuadamente com o amadurecimento (Tabela 1).

TABELA 1. Valores médios de textura (N) em tomates de amadurecimento normal, homozigotos 'alcobaça', seus híbridos heterozigotos F₁ e da testemunha Flora Dade, em cinco estádios de maturação.⁽¹⁾

Genótipo	Estádio				
	Verde Maduro	Breaker	Turning	Maduro	Vermelho Maduro
Flora Dade	50,66 b A	42,17 bcd AB	37,60 bc B	14,51 b C	12,56 b C
TOM-559	62,23 a A	54,41 a AB	51,98 a B	35,01 a C	23,50 aD
Florida 1B	52,22 ab A	36,24 d B	32,44 cd B	19,10 b C	15,12 ab C
F ₁ (Florida 1B × TOM-559)	53,58 ab A	51,97 ab A	45,31 ab A	17,56 b B	14,99 ab B
Piedmont	44,44 b A	40,35 cd A	34,97 bcd A	14,37 b B	12,23 b B
F ₁ (Piedmont × TOM-559)	50,42 b A	39,32 d B	25,95 d C	15,98 b D	11,58 b D
Rotam 4	51,15 b A	40,69 d B	39,34 bc B	16,83 b C	14,28 ab C
F ₁ (Rotam 4 × TOM-559)	51,65 ab A	50,74 abc AB	41,32 abc B	20,08 b C	15,60 ab C

CV(%) = 12,67

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey em P < 0,05.

O amaciamento mais acentuado em todos os genótipos ocorreu na passagem do estágio *Turning* para maduro.

Ao final do amadurecimento, os frutos TOM-559 apresentaram uma menor redução na firmeza, em relação aos frutos verdes, do que os outros genótipos. É interessante observar que, nos frutos maduros, houve diferença significativa entre TOM-559 e a testemunha Flora Dade, linhagens isogênicas. Isto demonstra que, em homozigose, o gene *alc* afetou a textura do fruto maduro.

Os frutos TOM-559 foram em geral mais firmes desde o estágio verde maduro e seu amaciamento foi mais lento. O valor da textura encontrado nesses frutos no estágio maduro (4º estágio) ainda correspondeu a 56% do valor inicial, caindo para 38% do valor inicial nos frutos vermelho maduros.

Dentre os híbridos, F_1 (Piedmont \times TOM-559) teve amaciamento igual ao da testemunha e de seu parental feminino, tornando-se menos firme do que TOM-559. Os outros híbridos foram semelhantes aos parentais femininos e intermediários entre TOM-559 e Flora Dade.

Souza (1995) constatou que quando colhidos no estágio *Breaker* e amadurecidos fora da planta, os híbridos F_1 (Rotam 4 \times TOM-559) tiveram maior conservação, com base na manutenção da firmeza, do que F_1 (Florida 1B \times TOM-559) e F_1 (Piedmont \times TOM-559).

É importante enfatizar a distinção entre firmeza e amaciamento lento. Os genes inibidores de amadurecimento, apesar de serem capazes de prolongar a vida útil do fruto, não necessariamente melhoram a firmeza. Tais frutos, quando atingem o estágio final do amadurecimento, podem ser firmes ou macios, dependendo do *background* genético ou da presença ou ausência de genes que afetam especificamente a firmeza (Kopeliovitch et al., 1979).

Os resultados das determinações de textura mostram que, mesmo que o gene *alc* em heterozigose não interfira na textura do fruto completamente maduro, ele pode ter um efeito de retardar o amaciamento do híbrido em relação ao parental feminino normal. Isto ocorreu com o híbrido F₁ (Florida 1B × TOM-559), que até o 3º estágio (*Turning*) foi mais firme do que Florida 1B e igual a TOM-559, e também com o híbrido F₁ (Rotam 4 × TOM-559), que depois do início da pigmentação, no estágio *Breaker*, ainda foi mais firme do que Rotam 4. Apenas o híbrido F₁ (Piedmont × TOM-559) teve amaciamento igual ao de seu parental feminino durante todo o amadurecimento.

Nota-se, porém, que este trabalho não teve por objetivo avaliar o tempo necessário para que cada um dos genótipos atingisse o estágio seguinte de maturação. Portanto, como já foi descrito por diversos pesquisadores (Kopeliovitch et al., 1982 e Mutschler, 1984b) o fato de o híbrido e o parental normal terem a mesma firmeza em determinado estágio não significa que eles demoraram o mesmo tempo para amaciar. Híbridos heterozigotos para o gene *alc* apresentam fenótipo normal, porém amadurecem mais lentamente e têm vida útil mais prolongada.

Deve-se destacar que os resultados obtidos para todos os genótipos avaliados, nos frutos completamente maduros, encontram-se dentro da faixa para frutos inteiros de cultivares firmes (Resende, 1995).

Kader, Morris e Chen (1978) destacam que em testes de firmeza de tomates medida por pressão, é indispensável especificar, além do diâmetro da ponta empregada, se a casca foi removida ou não. Segundo esses autores, os testes nos frutos sem casca refletem primariamente a firmeza da parede do lóculo. Para isto, também, especificam que as medidas devem ser posicionadas nas paredes do lóculo, evitando as paredes radiais. O teste de pressão

feito sobre paredes radiais pode resultar em valores mais altos, daí a necessidade de, para efeito de comparação de dados, especificar também a posição, no fruto, em que foram feitas as medidas (Polderdijk et al., 1993).

A firmeza de tomates maduros pode ser influenciada por uma série de fatores, além das características morfo-anatômicas e químicas do próprio fruto.

De acordo com Mutschler et al. (1992), a linhagem 'alcobaça' original produz frutos pequenos, ocos e macios. Esta foi a razão para que se buscasse transferir a característica de longa conservação para cultivares de frutos firmes.

Os resultados do presente trabalho mostram que, transferindo o gene *alc* em homozigose para a cultivar Flora Dade, de frutos considerados firmes, foi possível obter uma linhagem, a TOM-559, superior com relação a essa característica. Mutschler et al. (1992), utilizando linhagens 'alcobaça' melhoradas em cruzamento com cultivares de amadurecimento normal, entre elas a Piedmont, verificaram que os híbridos F_1 não foram significativamente mais firmes que os parentais normais, mas tiveram vida útil mais prolongada. Uma vez que a vida útil foi melhorada nos híbridos, mas a firmeza não, pode-se concluir que deve haver algum fator além da firmeza envolvido no aumento da vida útil (Mutschler et al., 1992).

Além disso, como observaram Kopeliovitch et al. (1981) e Mutschler (1984b), o amadurecimento de linhagens contendo o gene *alc* pode ser afetado por outros genes, e portanto depende do *background*, o que sugere que a conservação é melhor quando o gene é transferido para cultivares de frutos firmes.

Lobo (1981) não encontrou correlação significativa entre a firmeza de frutos 'alcobaça' e híbridos F_1 completamente maduros com a vida útil, mas sim entre a firmeza 15 dias após os frutos terem completado o amadurecimento e a vida útil.

4.1.2 Acidez total titulável (ATT) e pH

A análise de variância mostrou que não houve interação significativa entre genótipos e estádios de maturação para a variável ATT. Como esta variável é considerada um componente importante do sabor de frutos maduros, os valores obtidos para o último estágio de maturação dos diferentes genótipos estão representados na Tabela 2, e as demais médias encontram-se na Tabela 1A.

TABELA 2. Valores médios de Acidez total titulável (ATT) em tomates de amadurecimento normal, homozigotos 'alcobaça', seus híbridos heterozigotos F₁ e da testemunha Flora Dade, no estágio vermelho maduro.

Genótipo	ATT (% ácido cítrico) ⁽¹⁾
Flora Dade	0,19
TOM-559	0,20
Florida 1B	0,17
F ₁ (Florida 1B × TOM-559)	0,22
Piedmont	0,17
F ₁ (Piedmont × TOM-559)	0,20
Rotam 4	0,18
F ₁ (Rotam 4 × TOM-559)	0,16
CV (%)	13,40

(1) P > 0,05

Embora a variação de ATT durante o amadurecimento não tenha sido significativa dentro dos diferentes genótipos, a maioria dos frutos atingiu valores numericamente mais altos no estágio maduro comestível. Essa constatação coincide com o relato de Brecht et al. (1976), que observaram ATT mais alta no fruto maduro comestível do que no verde maduro.

Comparando-se as médias encontradas (Tabela 2) observa-se que houve uma tendência de superioridade, embora não estatisticamente significativa, dos híbridos F₁ (Florida IB × TOM-559) e F₁ (Piedmont × TOM-559) em relação aos seus respectivos parentais normais e ao híbrido F₁ (Rotam 4 × TOM-559). Não foram observadas outras diferenças entre os genótipos. Da mesma forma, Kopeliovitch et al. (1980), não encontraram diferenças de ATT entre tomates 'alcobaça', normais e híbridos.

Os valores de ATT encontrados neste trabalho, entre 0,16% e 0,22% de ácido cítrico, são consideravelmente mais baixos do que os normalmente relatados para tomates multiloculares (Mutschler et al., 1992 e Resende, 1995). Os valores de ATT em tomates normalmente encontram-se acima de 0,25% de ácido cítrico (Stevens, 1972 e Kader et al., 1978), podendo atingir até 0,58% (Young, Juvik e Sullivan, 1993). Para a cultivar Flora Dade foi encontrada uma variação no pericarpo de 0,29% (Picha e Hall, 1982 e Nguyen et al., 1991) até 0,41% (Nguyen et al., 1991) conforme as condições de cultivo. Kader et al. (1978) recomendam que tomates para consumo fresco, para serem considerados de boa qualidade, devem conter ATT correspondente a pelo menos 0,32%.

A acidez no pericarpo em geral é mais baixa do que no conteúdo locular (Hobson e Davies, 1981), podendo a diferença variar de cerca de 50% até 100% (Brecht et al., 1976; Picha e Hall, 1982). Entretanto, a maioria dos dados apresentados para ATT em tomates são obtidos de análises do pericarpo (Picha e Hall, 1982; Lima, 1992 e Resende, 1995).

A ATT pode ser influenciada por fatores como local, época e condições de cultivo, tamanho do fruto, teor de potássio, etc. Picha e Hall (1982) observaram que a ATT de frutos de diversas cultivares de tomate aumentou com a dose de potássio no solo. Explicaram que o aumento de potássio é contrabalançado por uma quantidade maior de ânions de ácidos

orgânicos, e conseqüente elevação da ATT. A variação no pH é praticamente nula, devido ao efeito tampão.

Lower e Thompson (1966) afirmaram que frutos amadurecidos na planta têm acidez mais baixa do que os amadurecidos em câmara. Diversos pesquisadores encontraram qualidade superior em tomates amadurecidos no campo do que em casa de vegetação (Bisogni, Armbruster e Brecht, 1976 e Kader et al., 1977).

Os valores de pH em geral apresentaram uma tendência de baixar com o amadurecimento, em comportamento coerente com a tendência de aumento na ATT (Tabela 3). Conforme seria de se esperar, devido à baixa acidez os valores de pH nos frutos maduros, de 4,37 a 4,64 (Tabela 3) foram um pouco mais elevados do que os encontrados com mais frequência em tomates (Mutschler, 1984b; Young, Juvik e Sullivan, 1993). Entretanto, encontram-se dentro da faixa citada por Davies e Hobson (1981), de 4,0 a 4,70 para cultivares padrão.

TABELA 3. Valores médios de pH em tomates homozigotos 'alcobaça', de amadurecimento normal, seus híbridos heterozigotos F₁ e a testemunha Flora Dade, colhidos em cinco estádios de maturação. ⁽¹⁾

Genótipo	Estádio				
	Verde Maduro	<i>Breaker</i>	<i>Turning</i>	Maduro	Vermelho Maduro
Flora Dade	4,79 ab A	4,66 a AB	4,56 b BC	4,45 b C	4,43 bc C
TOM-559	4,82 ab A	4,71 a AB	4,59 ab B	4,58 ab B	4,37 c C
Flórida 1B	4,72 b A	4,77 a A	4,73 ab A	4,72 a A	4,51 abc B
F ₁ (Flórida 1B × TOM-559)	4,83 ab A	4,73 a AB	4,60 ab B	4,62 a B	4,45 bc C
Piedmont	4,67 b AB	4,79 a A	4,74 a A	4,57 ab B	4,64 a AB
F ₁ (Piedmont × TOM-559)	4,76 ab A	4,69 a AB	4,60 ab BC	4,60 ab BC	4,51 abc C
Rotam 4	4,80 ab A	4,76 a AB	4,74 a AB	4,62 a BC	4,59 ab C
F ₁ (Rotam-4 × TOM-559)	4,89 a A	4,75 a AB	4,60 ab C	4,62 a BC	4,54 ab C
CV(%) = 1,39					

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey em P < 0,05.

Nos frutos completamente maduros, embora os híbridos não tenham diferido entre si quanto a esta variável, os híbridos F_1 (Rotham 4 \times TOM-559) tiveram pH mais alto do que o do parental masculino e equivalente aos do parental feminino e da testemunha. Os demais híbridos não diferiram do parental masculino. Kopeliovitch et al. (1980) e Mutschler (1984b) não encontraram diferenças de pH entre frutos 'alcobaça', normais e heterozigotos F_1 .

4.1.3 Sólidos solúveis totais (SST) e relação SST/ATT

Na Tabela 4 são apresentados os valores médios de SST e da relação SST/ATT nos frutos completamente maduros. As médias observadas para SST durante o amadurecimento constam da Tabela 2A.

TABELA 4. Valores médios de sólidos solúveis totais (SST) e relação SST/ATT em tomates de amadurecimento normal, homozigotos 'alcobaça', seus híbridos heterozigotos F_1 e da testemunha Flora Dade, no estágio vermelho maduro. ⁽¹⁾

Genótipo	SST (°Brix)	SST/ATT
Flora Dade	3,54	18,71
TOM-559	4,14	21,23
Florida 1B	3,90	22,68
F_1 (Florida 1B \times TOM-559)	4,03	19,05
Piedmont	4,10	24,73
F_1 (Piedmont \times TOM-559)	3,88	20,21
Rotam 4	3,81	22,05
F_1 (Rotam 4 \times TOM-559)	3,53	22,26
CV (%)	7,49	13,10

(1) $P > 0,05$.

Kader et al. (1978) definiram como frutos de alta qualidade aqueles que apresentam ATT acima de 0,32% e SST acima de 3%, de modo a garantir uma relação SST/ATT maior que 10.

Os valores de SST encontrados neste trabalho foram em geral inferiores aos relatados para tomates, que podem variar de 3,6°Brix (Mencarelli e Salveit Junior, 1988) a mais de 6,0°Brix (Brecht et al., 1976; Young, Juvik e Sullivan, 1993), com média em torno de 4,5°Brix (Hobson e Grierson, 1993). Não houve diferença entre os genótipos quanto a esta variável.

Os frutos utilizados neste experimento tiveram peso médio maior do que em experimentos anteriores, fato que foi explicado pelo uso de plasticultura e ferti-irrigação. Esse sistema de cultivo em geral resulta aumento da produtividade das plantas e do tamanho dos frutos (Souza, 1995). De fato, comparando-se os pesos médios da testemunha Flora Dade que foram usados neste trabalho, de 194 g (Souza, 1995) com os obtidos para a mesma cultivar por McGlasson et al. (1983), de 113 g, observa-se uma diferença média superior a 70%.

De acordo com Young, Juvik e Sullivan (1993), um problema importante associado ao aumento no rendimento de tomates é que freqüentemente há uma relação inversa entre rendimento e sólidos solúveis totais, devida principalmente a limitações fisiológicas como eficiência fotossintética, relação fonte/dreno e perdas respiratórias. Tentativas para aumentar uma dessas duas variáveis geralmente afetam a outra. Uma diferença de apenas 0,2% em SST pode ser importante comercialmente (Brecht et al., 1976).

O valor observado para sólidos solúveis totais, medido por refratometria em °Brix, representa o conteúdo em açúcares redutores, ácidos orgânicos e outros constituintes menores (Hobson e Grierson, 1993). Portanto, valores baixos para essa variável representam teores baixos de um ou mais dos constituintes que contribuem para o índice de refração.

Para a cultivar Flora Dade, Nguyen et al. (1991) encontraram valores de 3,0 a 4,9°Brix, em diferentes condições de cultivo. Entretanto, todos os frutos produzidos em cultivo rasteiro, não tutorado, atingiram mais de 4,2°Brix.

Mutschler (1984b) encontrou 5,8°Brix em frutos homozigotos para o gene *alc* e em híbridos F₁ entre estes e cultivares normais. Esses dados mostram que os frutos da cultivar Flora Dade em geral têm menos sólidos solúveis totais do que o homozigoto *alc*. É o que se pode observar quando se comparam as médias por genótipo obtidas neste experimento (Tabela 4).

Todos os frutos estudados neste trabalho foram produzidos por plantas de crescimento determinado. Brecht et al. (1976) observaram que plantas de crescimento indeterminado produziram frutos com teores mais altos de SST do que as de crescimento determinado de mesmo *background* genético. Isto foi atribuído à maior capacidade fotossintética dada pelo maior número de folhas.

Kader et al. (1978) observaram que na primeira compra de tomates, o consumidor avalia principalmente a aparência, e nas subsequentes considera mais o *flavor* e a textura, que compõem a qualidade comestível.

Dos quatro gostos básicos percebidos pelo paladar humano (doce, salgado, amargo e ácido), não há amargo em tomates, e o salgado contribui pouco para o sabor, a menos que os frutos tenham sido produzidos em solo de alta salinidade (Hobson e Grierson, 1993). Assim sendo, os açúcares e os ácidos e o equilíbrio entre eles são fundamentais para a definição do sabor.

De acordo com Stevens, Kader e Allbright (1979), os sólidos solúveis sozinhos contribuem para 65% das variações genótípicas de *flavor*, enquanto acidez total titulável e sólidos solúveis totais juntos contribuem com 83%.

Entretanto, como observam Stevens et al. (1977), quando se usa a relação SST/ATT, deve-se informar sobre as concentrações de açúcares e ácidos, pois são favorecidas as cultivares com teores altos dos dois componentes. No painel sensorial organizado por Stevens, Kader e Allbright (1979), apesar de os frutos controle possuírem a relação SST/ATT mais alta (20,9), alcançaram o *score* mais baixo, devido às baixas concentrações de ambos os componentes. Os frutos preferidos tiveram relação SST/ATT entre 13,0 e 15,0, porém com teores mais altos tanto de açúcares quanto de ácidos.

Bisogni, Armbruster e Brecht (1976) descrevem o sabor de frutos com relação SST/ATT muito alta como insípido, apagado, e com relação muito baixa como ácido e cortante. Como os teores de sólidos solúveis totais observados no presente experimento, apesar de não serem elevados ainda podem ser considerados normais, e os de acidez serem mais baixos que os normais, os valores obtidos para a relação SST/ATT foram elevados, sem diferenças significativas entre os tratamentos, e variando de 18,7 a 24,7 nos frutos completamente maduros. Se forem considerados os padrões norte-americanos de preferência (Stevens, Kader e Allbright, 1979), esses valores indicariam sabor não satisfatório. Não se pode, porém, extrapolar essa avaliação para os padrões de consumo brasileiros, uma vez que não se dispõe de dados de painéis sensoriais para os frutos analisados neste trabalho.

4.1.4 Açúcares solúveis

A análise de variância mostrou que não houve interação significativa entre genótipos e estádios de maturação, ou seja, não houve variação significativa nos teores de açúcar durante o amadurecimento na planta, e nem entre os genótipos.

Assim sendo, a Tabela 5 apresenta os teores de açúcares encontrados nos frutos completamente maduros, e as demais médias estão contidas na Tabela 3A.

TABELA 5. Valores médios de açúcares redutores totais em tomates de amadurecimento normal, homozigotos 'alcobaça', seus híbridos heterozigotos F₁ e da testemunha Flora Dade, no estágio vermelho maduro. ⁽¹⁾

Genótipo	Açúcares redutores totais (% de glicose)
Flora Dade	2,01
TOM-559	2,38
Florida 1B	2,54
F ₁ (Florida 1B × TOM-559)	2,11
Piedmont	2,56
F ₁ (Piedmont × TOM-559)	2,19
Rotam 4	2,17
F ₁ (Rotam 4 × TOM-559)	2,34
CV (%)	9,55

(1) P > 0,05.

Os açúcares redutores, praticamente os únicos presentes, foram encontrados em teores consideravelmente baixos nos frutos analisados. Apesar disso, os valores estão dentro da faixa obtida por Stevens (1972) quando realizou um amplo estudo de caracterização de 55 linhagens norte-americanas de tomates, cujos teores foram de 1,66% a 3,99%; dos valores relatados na revisão feita por Davies e Hobson (1971), de 1,5% a 4,5%, e em geral superiores aos obtidos por Resende (1995), que encontrou um teor máximo menor que 2,5% ao comparar 10 híbridos F₁ de cultivares multiloculares. Os baixos teores de açúcares estão coerentes com os resultados obtidos para sólidos solúveis totais.

Young, Juvik e Sullivan (1993), observaram diminuição do teor de açúcares durante o amadurecimento de tomates. De acordo com esses pesquisadores, o principal açúcar

presente em tomates é a frutose, cujo teor aumenta com o amadurecimento, enquanto o de glicose diminui. A diminuição no conteúdo total de açúcares seria resultante de baixa acumulação de frutose, com decréscimo ligeiramente mais acentuado na quantidade de glicose. Além disto, provavelmente haja um efeito de diluição na concentração de açúcares resultante da absorção de água pelo fruto.

4.1.5 Pigmentos carotenóides

As determinações de pigmentos carotenóides foram feitas apenas nos frutos completamente maduros, para avaliação do efeito do gene *alc* na cor final dos híbridos. Os resultados para licopeno, β -caroteno e a relação licopeno/ β -caroteno nos oito genótipos estão apresentados na Figura 3. Observa-se, pela figura, comparando-se os resultados para TOM-559 e Flora Dade, que o gene *alc* em homozigose afetou o conteúdo de ambos os pigmentos, mas não a relação entre eles.

A testemunha, Flora Dade, dentre as cultivares de amadurecimento normal, foi a que produziu frutos com teor mais baixo de licopeno, superior apenas à linhagem TOM-559. A relativa proximidade no teor de licopeno entre essas duas linhagens, veio comprovar a expectativa de que frutos homozigotos 'alcobaça' quando amadurecidos na planta atingem coloração próxima da de frutos de amadurecimento normal. E quanto mais tempo permanecem na planta, mais intensa é a cor final (Kopeliovitch et al., 1981).

Mutschler (1984b) observou que a cor final alcançada por frutos homozigotos 'alcobaça' depende do *background* no qual o gene é introduzido. Nos frutos estudados neste trabalho, da linhagem TOM-559, o *background* foi o de linhagem isogênica à Flora Dade, de

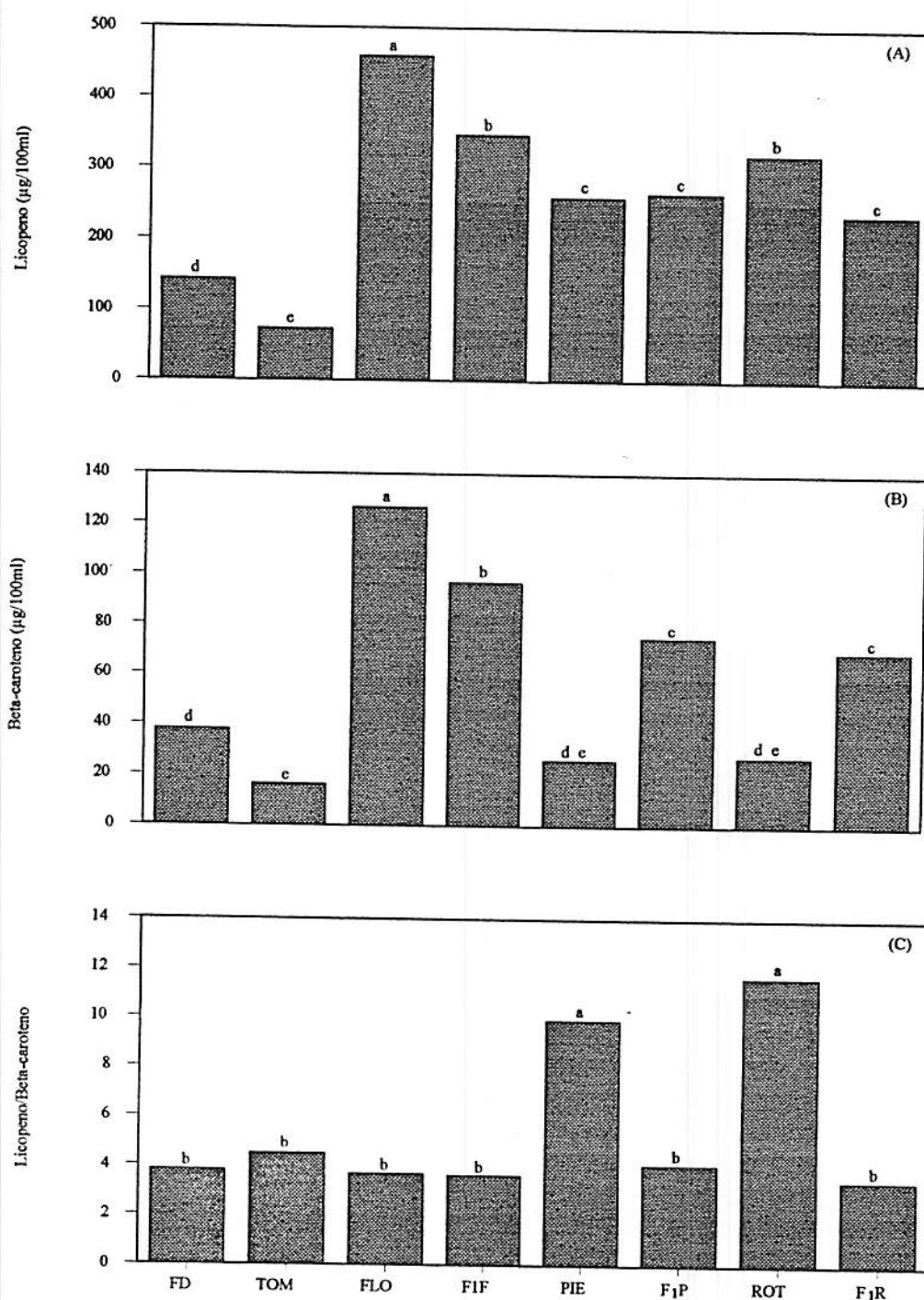


FIGURA 3. Valores médios para teor de licopeno (A), β -caroteno (B) e relação licopeno/ β -caroteno (C) em pericarpo de tomates no estágio vermelho maduro. FD: Flora Dade; TOM: TOM-559; FLO: Florida 1B; F₁F: F₁ (Florida 1B \times TOM-559); PIE: Piedmont; F₁P: F₁ (Piedmont \times TOM-559); ROT: Rotam 4; F₁R: F₁ (Rotam 4 \times TOM-559). Barras com letras iguais as médias não diferem entre si pelo teste de Tukey em P < 0,05.

frutos vermelho pouco intenso quando maduros. Possivelmente, se fosse usada uma linhagem de frutos de coloração mais intensa, o homozigoto *alc* poderia alcançar cor ainda mais próxima da normal. Porém, isto poderia ter outros efeitos não desejáveis, pois linhagem homozigota *alc* com cor mais intensa não teria vida útil tão prolongada (Mutscher, 1984b).

Os híbridos F₁ (Florida 1B × TOM-559) e F₁ (Rotam 4 × TOM-559) apresentaram teor mais baixo de licopeno do que seus parentais normais, Florida 1B e Rotam 4, mas ainda assim significativamente superiores à testemunha. O híbrido F₁ (Piedmont × TOM-559) teve teor de licopeno igual ao parental normal.

O teor de β-caroteno nos frutos TOM-559 foi mais baixo do que na linhagem Flora Dade, mostrando que, em homozigose, o gene *alc* afeta também esse pigmento.

Nos híbridos F₁ (Florida 1B × TOM-559) o teor de β-caroteno foi mais baixo do que no parental normal Florida 1B, que apresentou também para esse pigmento o valor mais alto entre todos os genótipos analisados. Os híbridos F₁ (Piedmont × TOM-559) e F₁ (Rotam 4 × TOM-559), ao contrário, apresentaram teores de β-caroteno significativamente superiores aos de seus parentais normais.

Isto mostra que o efeito do gene *alc* sobre o teor de β-caroteno depende do *background*. Portanto a síntese desse pigmento pode ser afetada por outros fatores.

Mutschler et al. (1992), analisando frutos heterozigotos para o gene *alc* verificaram que os híbridos F₁ foram intermediários aos parentais, porém mais parecidos com o parental normal. Esses resultados foram baseados em leituras não destrutivas por meio de colorímetro, que fornece os valores de a* para intensidade de vermelho e b* para intensidade de amarelo. As comparações de Mutschler et al. (1992) foram feitas com base na relação a*/b*, que, segundo D'Souza, Singha e Ingle (1992), correlaciona-se com o teor de licopeno, mas não com o

de β -caroteno. Com base nessa observação, os resultados encontrados no presente trabalho confirmam a constatação de Mutschler et al. (1992), pois os teores de pigmentos nos híbridos, especialmente os de licopeno, aproximam-se mais dos do parental normal (Figura 3).

A diversidade de métodos analíticos e de formas de expressar teores de pigmentos em tomates, torna difícil comparar os resultados aqui apresentados, em termos absolutos, com os de outros trabalhos. Entretanto os resultados são claros quando se comparam, em termos relativos, como foi feito neste estudo, os frutos heterozigotos com seus respectivos parentais e com uma testemunha.

No presente trabalho, considerando os teores de licopeno e β -caroteno, todos os híbridos foram mais intensamente coloridos do que a testemunha, e o híbrido F_1 (Florida 1B \times TOM-559) teve cor mais intensa do que os outros heterozigotos (Figura 3).

A relação licopeno/ β -caroteno, neste trabalho, não se mostrou útil para ilustrar as diferenças de cor entre os genótipos. Observe-se que os frutos TOM-559, com os teores mais baixos dos dois pigmentos, e Florida 1B, com os teores mais altos, tiveram a mesma relação licopeno/ β -caroteno. Nota-se também que todos os híbridos tiveram mais pigmentos do que o parental mutante e a testemunha, e apresentaram relação licopeno/ β -caroteno semelhante.

Os valores para a relação licopeno/ β -caroteno encontrados na literatura para tomates frescos variam desde menos de 2,0 (Medina e Medina, 1981; Wilberg e Amaya, 1993) até acima de 15,0 (Thompson et al., 1965) sendo que os valores mais altos em geral são obtidos em frutos destinados ao processamento. Assim sendo, todos os genótipos analisados tiveram relação licopeno/ β -caroteno dentro da faixa aceitável.

4.1.6 Solubilização de pectinas

Não houve variação significativa nos teores de pectina total durante o amadurecimento, e nem entre os genótipos. Observou-se uma oscilação nos estádios intermediários, denotando síntese e degradação.

O valor do coeficiente de variação (CV) encontrado na análise desta variável é considerado razoável quando se leva em conta a variabilidade do material amadurecido na planta e selecionado por estágio de maturação, e portanto com idades cronológicas diferentes. No caso de substâncias pécticas, nas quais ocorre *turnover* durante toda a vida vegetativa do fruto, justifica-se a tolerância a esse nível de variabilidade (Tabela 4A).

Ao se avaliarem os valores de porcentagem de solubilização de pectinas (Tabela 6), observam-se algumas diferenças entre os tratamentos. Em geral, houve aumento na proporção de pectina solúvel com o amadurecimento, com exceção dos frutos TOM-559. Nos frutos completamente maduros, exceto TOM-559, as quantidades de pectina solubilizada foram equivalentes, e consideravelmente baixas, sendo inferiores a 24% em todos os genótipos.

O aumento na solubilização de pectinas ocorreu em estágio mais avançado nos híbridos F_1 (Florida 1B \times TOM-559) (estádio maduro) e F_1 (Rotam 4 \times TOM-559) (estádio vermelho maduro) do que nos respectivos parentais normais Florida 1B (*turning*) e Rotam 4 (maduro) (Tabela 6). Os frutos Piedmont e de seu híbrido apresentaram aumento na solubilização de pectinas no mesmo estágio de maturação, e em igual intensidade.

Pode-se dizer, portanto, que o gene 'alcobaça' em homozigose teve efeito de impedir a solubilização de pectinas, e que em heterozigose teve efeito de retardar a solubilização nos híbridos de Florida 1B e Rotam 4 comparativamente aos parentais femininos. Considerando

que os frutos heterozigotos 'alcobaça' demoram mais a atingir os estádios mais avançados de maturação do que seus parentais normais, cronologicamente os híbridos F₁ (Piedmont × TOM-559) também demoraram mais a apresentar aumento na solubilização de pectinas.

TABELA 6. Valores médios de solubilidade de pectinas (% de pectina solúvel em relação à pectina total) em tomates de amadurecimento normal, homozigotos 'alcobaça', seus híbridos heterozigotos F₁ e da testemunha Flora Dade, colhidos em cinco estádios de maturação. ⁽¹⁾

Genótipo	Estádio				
	Verde Maduro	<i>Breaker</i>	<i>Turning</i>	Maduro	Vermelho Maduro
Flora Dade	4,67 a B	4,77 a B	4,56 b B	19,73 b A	21,87 a A
TOM-559	5,02 a A	3,99 a A	5,07 b A	6,36 c A	6,56 b A
Florida 1B	4,26 a C	6,32 a B	14,42 a B	20,05 b A	22,65 a A
F ₁ (Florida 1B × TOM-559)	3,22 a B	3,91 a B	4,08 b B	23,52 ab A	23,68 a A
Piedmont	4,09 a B	4,13 a B	6,19 b B	20,19 b A	22,65 a A
F ₁ (Piedmont × TOM-559)	4,00 a B	5,13 a B	7,58 b B	21,64 ab A	20,53 a A
Rotam 4	3,87 a C	3,18 a B	6,89 b C	25,02 a A	19,67 a B
F ₁ (Rotam-4 × TOM-559)	3,54 a B	3,89 a B	3,74 b B	6,27 c B	23,81 a A

CV(%) = 17,30

(1) Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey em P < 0,05.

Comparando-se a solubilização de pectinas dos frutos analisados neste trabalho com os híbridos analisados por Resende (1995), observa-se que as porcentagens máximas aqui obtidas (Tabela 6) estão próximas às mais baixas encontradas naquele trabalho. Entre os híbridos com menor porcentagem de solubilização de pectina, ainda assim superior a 25%, analisados por Resende (1995) encontra-se o F₁ (BPX 308 Bhv × BPX 127H), que tem como parental masculino um homozigoto *alc*, porém *background* de frutos mais macios do que os avaliados neste trabalho.

No presente trabalho, o efeito do gene *alc* em heterozigose não foi evidenciado na porcentagem final de solubilização de pectinas, mas sim no retardamento do processo, confirmando observação anterior de que os heterozigotos têm fenótipo normal (Kopeliovitch et al., 1981).

Comparando-se os resultados de solubilização de pectinas com os de textura, observa-se que houve alta correlação negativa entre eles, com $R = -0,7685$ ($P < 0,01$).

Deve-se observar também que, apesar de os frutos TOM-559 não terem apresentado aumento na proporção de pectina solúvel, eles amaciaram-se significativamente com o amadurecimento. O amaciamento dos frutos TOM-559 pode ser atribuído à perda de turgor (Schakel et al., 1991) e também ao rompimento de ligações entre os polímeros, sem que tenha havido despolimerização (Giovannoni et al., 1989).

Os mutantes 'alcobaça' não são considerados frutos firmes, a menos que o gene seja inserido em *background* de frutos firmes, e experimentos anteriores relatam que esses e frutos normais estavam igualmente macios ao final do experimentos (Mutschler, 1984b e Mutschler et al., 1992).

4.1.7 Atividade de pectinametilesterase (PME)

A Tabela 7 mostra que houve variação na atividade de PME durante o amadurecimento em todos os genótipos. No entanto, os picos de atividade foram atingidos em estádios de maturação diferentes.

O parental mutante apresentou atividade máxima de PME no estágio intermediário - *Turning*, a testemunha e o híbrido F_1 (Florida 1B x TOM-559) no último estágio, e os demais no estágio maduro.

Em homozigose, o gene *alc* teve efeito de antecipar a atividade máxima de PME, como se observa quando se comparam os resultados para TOM-559 e Flora Dade (Tabela 7). Em heterozigose, houve diminuição significativa do pico de atividade de PME nos híbridos F_1 (Florida 1B x TOM-559) e F_1 (Rotam 4 x TOM-559).

TABELA 7. Valores médios de atividade de pectinametilesterase (unidades) em tomates de amadurecimento normal, homozigotos 'alcobaça', seus híbridos heterozigotos F_1 e da testemunha Flora Dade, colhidos em cinco estádios de maturação. ⁽¹⁾

Genótipo	Estádio				
	Verde Maduro	<i>Breaker</i>	<i>Turning</i>	Maduro	Vermelho Maduro
Flora Dade	7,86 b C	12,40 bc B	13,75 b B	5,96 e C	18,80 abc A
TOM-559	16,12 a C	21,14 a ABC	22,76 a A	11,18 d C	17,29 bc BC
Florida 1B	13,64 a B	12,55 bc B	16,30 b AB	71,66 a A	15,94 c AB
F_1 (Florida 1B x TOM-559)	12,86 a C	9,74 c C	17,40 b B	12,53 d B	22,81 a A
Piedmont	13,28 a C	15,05 b BC	26,30 a A	46,95 b A	18,44 abc B
F_1 (Piedmont x TOM-559)	13,75 a B	14,12 bc B	14,84 b B	44,02 b A	21,35 ab A
Rotam 4	12,14 ab B	15,96 b A	14,58 b B	43,04 b A	18,96 abc A
F_1 (Rotam 4 x TOM-559)	13,49 a ABC	9,42 c C	15,94 b AB	21,60 c A	10,00 d BC

CV(%) = 12,08

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey em $P < 0,05$.

Os híbridos F_1 (Piedmont x TOM-559) em geral mantiveram os mesmos níveis que seu parental normal. Isto pode ser vantajoso do ponto de vista de vida útil, pois conforme observam Tieman e Handa (1994), níveis reduzidos de PG e PME têm efeitos opostos sobre a firmeza dos frutos durante o armazenamento prolongado. Em frutos com atividade reduzida de

PME, Tieman e Handa observaram perda quase completa de integridade no final da vida útil, devido à diminuição dos sítios de ligação com cálcio.

A atividade de PME, entretanto, assim como a de PG, isoladamente não é suficiente para explicar as alterações na arquitetura da parede celular que levam ao amaciamento.

4.1.8 Atividade de poligalacturonase (PG)

De modo geral, a atividade de PG foi baixa em todos os genótipos até o 3^o estágio de maturação. Apenas nos frutos Piedmont a atividade de PG começou a aumentar entre o 2^o e 3^o estádios. Para os demais, esse aumento verificou-se no estágio seguinte (Tabela 8). Os frutos testemunha, os híbridos F₁ (Florida 1B × TOM-559) e F₁ (Piedmont × TOM-559) e seus parentais normais apresentaram picos de atividade de PG no estágio maduro. Para os frutos TOM-559, Rotam 4 e F₁ (Rotam 4 × TOM-559), a atividade máxima da enzima foi observada apenas no último estágio de maturação. Comparando as atividades máximas de PG entre os híbridos e seus parentais observa-se que os comportamentos foram diferentes para os três *backgrounds*. O híbrido F₁ (Florida 1B × TOM-559) atingiu atividade máxima mais baixa do que ambos os parentais e a testemunha. A atividade máxima de PG observada em F₁ (Piedmont × TOM-559) foi igual ao parental feminino Piedmont, e mais alta que o masculino TOM-559 e a testemunha. F₁(Rotam 4 × TOM-559) atingiu atividade mais alta do que ambos os parentais e a testemunha. Se forem comparados os resultados de solubilização de pectinas (Tabela 6) com os de atividade máxima de PG (Tabela 8) separadamente, para cada um dos genótipos, observa-se-a que, com exceção de TOM-559 e Florida 1B, os picos de atividade de PG coincidem com o aumento brusco na solubilização de pectinas. No entanto, a atividade de PG mais alta não foi a que

resultou em maior solubilização de pectinas, o que deixa claro que existem outros fatores que regulam essa transformação.

TABELA 8. Valores médios de atividade de poligalacturonase (unidades) em tomates de amadurecimento normal, homozigotos 'alcobaça', seus híbridos heterozigotos F₁ e da testemunha Flora Dade, colhidos em cinco estádios de maturação. ⁽¹⁾

Genótipo	Estádio				
	Verde Maduro	<i>Breaker</i>	<i>Turning</i>	Maduro	Vermelho Maduro
Flora Dade	1,14 b D	6,34 abc C	5,42 bc C	28,24 c A	15,92 d B
TOM-559	2,93 ab C	1,14 d C	1,60 cC	12,33 e B	34,61 b A
Florida 1B	2,67 ab C	6,46 ab C	5,12 bc C	70,01 a A	56,08 a B
F ₁ (Florida 1B × TOM-559)	1,91 b C	3,44 bcd BC	6,19 bc B	19,35 d A	16,94 d A
Piedmont	2,98 ab D	1,60 cd D	15,38 a C	46,90 b A	24,66 c B
F ₁ (Piedmont × TOM-559)	1,60 bD	2,37 bcd D	6,65 b C	46,42 b A	14,07 d B
Rotam 4	1,60 b D	5,12 bcd CD	7,57 b C	18,54 d A	37,68 b A
F ₁ (Rotam-4 × TOM-559)	6,96 aC	8,80 a c	7,57 b C	20,07 d B	52,50 a A

CV(%) = 9,74

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey em P < 0,05.

Como os oito genótipos analisados neste trabalho apresentaram níveis de atividade máxima de PG significativamente diferentes, embora a porcentagem final de solubilização de pectinas tenha sido semelhante, não foi possível obter uma correlação entre as duas variáveis. Com relação à presença de atividade de PG nos frutos homozigotos 'alcobaça', o resultado difere dos trabalhos anteriores (Kopeliovitch et al., 1980; Lobo, 1981 e Mutschler et al, 1988). Essa diferença pode ser explicada pelo estágio fisiológico em que os frutos foram analisados.

Em todos os trabalhos realizados com o mutante 'alcobaça', concorda-se em que os frutos não completam seu amadurecimento fora da planta (Mutschler, 1984b). Mesmo assim,

em alguns trabalhos a atividade de PG foi determinada em frutos colhidos no estágio verde maturo ou *Breaker* e “amadurecidos” em câmara (Lobo, 1981). Outros pesquisadores, mesmo reconhecendo que frutos ‘alcobaça’ homozigotos e heterozigotos amadurecem em épocas diferentes, usaram a idade cronológica para compará-los (Kopeliovitch et al., 1980 e Mutschler et al., 1992).

Apenas no experimento de Mutschler et al. (1988), os frutos mutantes foram deixados na planta até atingirem o estágio maduro, identificado pelos autores como tendo 90% ou mais de cor na superfície. Neste trabalho, como os frutos foram deixados na planta até o máximo desenvolvimento de cor, pode-se supor que estivessem em estágio fisiológico mais avançado do que os analisados por Mutschler et al. (1988). Por outro lado, se as linhagens ‘alcobaça’ variam em cor e em vida útil, como admitem Mutschler et al. (1992), é possível que também variem em atividade de PG.

Tong e Gross (1989) observaram que em um outro mutante de tomate, o *dg*, embora a atividade de PG seja mais elevada do que em frutos normais, a solubilização de pectinas é muito menor e os frutos são mais firmes. Isto demonstra que as diferenças de atividade *in vitro* não explicam as diferenças na solubilidade de pectinas.

Gross e Wallner (1979) sugeriram que cadeias laterais ou outras interações dos polímeros possam restringir o acesso da PG ao substrato.

Em homozigose, o gene *alc* teve o efeito de atrasar a elevação da atividade de PG. Isto é percebido quando se observa que na linhagem TOM-559, o máximo de atividade da enzima foi verificado apenas nos frutos vermelho maduros, enquanto que na linhagem Flora Dade foi no estágio anterior.

Em heterozigose, o gene *alc* diminuiu a atividade de PG nos dois últimos estádios dos híbridos F₁ (Florida 1B × TOM-559) e F₁ (Piedmont × TOM-559). Para o híbrido F₁ (Piedmont × TOM-559) o efeito é mais perceptível no último estágio, o que pode ser significativo para a vida útil se for considerada a observação de Gross (1990), de que a PG esteja mais relacionada com o superamaciamento que se verifica no final do amadurecimento.

Nos híbridos F₁ (Rotam 4 × TOM-559) não se observou efeito redutor da atividade de PG, sendo que no estágio vermelho maduro, esses frutos apresentaram atividade mais alta que os demais.

Apesar de as atividades das enzimas analisadas não terem, de modo geral se correlacionado com a textura e a solubilização de pectinas, observou-se correlação negativa significativa entre elas nos frutos vermelho maduros, com $R = -0,8373$ ($P < 0,05$). Esse fato confirma a observação anterior de Medina e Medina (1981), de que o pico de atividade de PME para frutos amadurecidos na planta, em geral, antecede o de PG.

4.1.9 Cálcio total

Os teores de cálcio total não apresentaram variação significativa durante o amadurecimento para nenhum dos genótipos. Os valores médios obtidos para os diversos estádios encontram-se na Tabela 5A. Comparando-se as médias por genótipo (Tabela 9), observa-se que o teor de cálcio total em geral foi mais alto nos frutos F₁ (Rotam 4 × TOM-559), comparáveis apenas ao seu parental normal Rotam 4. As diferenças entre os demais híbridos e seus parentais normais, possivelmente não sejam devidas ao gene *alc*, uma vez que não houve efeito em homozigose, como se observa quando é feita a comparação entre Florida e TOM-559. Em

geral, os valores encontrados estão dentro da faixa de 0,10% a 0,24% de matéria seca prevista na revisão de Hobson e Davies (1971), segundo a qual teores abaixo de 0,08% da matéria seca resultam em podridão apical.

TABELA 9. Teores médios de cálcio total (% de matéria seca) em pericarpo de tomates de amadurecimento normal, homozigotos 'alcobaça', seus híbridos heterozigotos F₁ e da testemunha Flora Dade, no estágio vermelho maduro. ⁽¹⁾

Genótipo	Cálcio total
Flora Dade	0,1550
TOM-559	0,1500
Florida 1B	0,1700
F ₁ (Florida 1B × TOM-559)	0,0950
Piedmont	0,1300
F ₁ (Piedmont × TOM-559)	0,1850
Rotam 4	0,2000
F ₁ (Rotam 4 × TOM-559)	0,2050
CV (%)	14,44

(1) P > 0,05.

4.1.10 Grau de esterificação de pectinas

A variação no grau de esterificação com o amadurecimento foi dependente do genótipo, conforme se observa na Tabela 10. Nos frutos TOM-559, Florida 1B, F₁ (Florida 1B × TOM-559) e F₁ (Rotam 4 × TOM-559), o grau de esterificação manteve-se constante durante o amadurecimento. A testemunha e o híbrido F₁ (Piedmont × TOM-559), assim como o parental Piedmont apresentaram diminuição no grau de esterificação no final do amadurecimento. Apenas no parental Rotam 4 foi observado um aumento nessa característica nos últimos estádios.

TABELA 10. Valores médios de grau de esterificação de pectinas (%) em tomates de amadurecimento normal, homozigotos 'alcobaça', seus híbridos heterozigotos F₁ e da testemunha Flora Dade, colhidos em cinco estádios de maturação. ⁽¹⁾

Genótipo	Estádio				
	Verde Maduro	<i>Breaker</i>	<i>Turning</i>	Maduro	Vermelho Maduro
Flora Dade	58,80 ab AB	68,68 a A	32,06 cd C	49,18 bc B	24,64 cd C
TOM-559	68,26 a A	66,11 a A	69,03 a A	68,25 a A	66,73 a A
Florida 1B	47,93 bcd A	53,48 a A	50,97 b A	50,43 b A	50,54 ab A
F ₁ (Florida 1B × TOM-559)	47,16 bcd AB	34,14 b B	41,07 bc AB	41,48 bc AB	53,56 ab AB
Piedmont	36,86 cd A	32,12 b AB	12,28 e C	14,56 e C	17,16 d BC
F ₁ (Piedmont × TOM-559)	52,20 abc A	60,83 a A	18,38 de B	32,61 cd B	32,16 cd B
Rotam 4	35,10 d B	34,46 b B	36,89 bc A	54,86 ab A	58,99 a A
F ₁ (Rotam-4 × TOM-559)	39,62 cd A	34,14 b A	39,09 bc A	25,54 de A	39,50 bc A
CV(%) = 11,64					

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey em $P < 0,05$.

A diferença entre a testemunha e o mutante mostra que o gene *alc* em homozigose teve o efeito de manter o grau de esterificação dos frutos mais alto, principalmente a partir do estágio *turning*.

Em heterozigose, o efeito do gene *alc* foi pouco evidente. Ao final do amadurecimento, os híbridos tenderam a ser mais semelhantes ao parental feminino. O híbrido F₁(Piedmont × TOM-559) mostrou grau de esterificação mais próximo ao do parental masculino até o início do desenvolvimento de cor, no estágio *breaker*.

Nos frutos completamente maduros, o grau de esterificação foi superior à testemunha apenas para os híbridos F₁(Florida 1B × TOM-559), que se mantiveram iguais a seu parental feminino Florida 1B.

A análise de correlação linear entre grau de esterificação (Tabela 10) e textura (Tabela 1), mostrou-se positiva e significativa, com $R = 0,6525$ ($P < 0,01$), quando se consideram

todos os genótipos. Isto indica que os frutos com grau de esterificação mais altos são em geral mais firmes, embora este não seja o único fator envolvido.

Os dados sobre esterificação de pectina em tomates variam consideravelmente, principalmente em função do método empregado e da cultivar analisada. Por exemplo, Pressey e Avants (1982) afirmam que as pectinas da parede celular de tomates têm 47% de esterificação no estágio verde maduro e permanecem assim até o final do amadurecimento.

Pelos resultados de Koch e Nevins (1989), o grau de esterificação no fruto verde maduro é de 90%, caindo para cerca de 30% no estágio vermelho maduro. Pressey e Avants (1982) observaram que o grau de esterificação ótimo para a hidrólise da pectina pela PG estaria ligeiramente abaixo de 47%, e que os 30% de esterificação que restam após o tratamento da parede com PME *in vitro* (Pressey e Avants, 1982; Koch e Nevins, 1989) seriam excessivamente baixos para a hidrólise.

Esse resíduo de 30% de esterificação pode representar outros ésteres ou a inacessibilidade da PME ao substrato devido a interações hidrofóbicas entre metilésteres, ou a pontes de cálcio (Koch e Nevins, 1989).

Deve-se destacar que, conforme se observa na Tabela 10, os frutos mutantes, assim como os híbridos e a testemunha, quando maduros, apresentaram grau de esterificação acima ou abaixo da faixa considerada ótima para a atividade de PG, de acordo com Pressey e Avants (1982).

Knee (1978b) observou que os polímeros pécticos solúveis têm grau de esterificação mais alto, sugerindo que eles estejam sendo sintetizados *de novo*, para substituir polímeros degradados. Como os grupos metil para a esterificação são doados pela S-adenosilmetionina (SAM), a metilação deve ocorrer no citoplasma, à medida em que o polímero

vai sendo sintetizado. Só depois de exportado para a região da parede-lamela média, os ésteres são rompidos pela PME.

Essa interpretação sugere que a propriedade coesiva da lamela média dependa do grau de esterificação. Em parte é o que significa a correlação encontrada neste trabalho. Seymour, Lasslet e Tucker (1987) destacam que durante o amadurecimento a lamela média é que é o sítio primário de atividade pectolítica. Sendo assim, fica ainda mais evidente seu papel na coesão entre as células.

Por outro lado, os frutos analisados neste trabalho apresentaram atividade de PME durante todo o amadurecimento (Tabela 7), mas essa atividade não se correlacionou com o grau de esterificação, e nem com a textura.

Fry (1986) sugeriu que um dos papéis da PME no tecido vivo seria catalisar reações de transesterificação, gerando grupos carboxílicos livres para formar ligações éster com hidroxilas de açúcares neutros. O uronoil-éster assim formado manteria o polímero ligado à parede ao invés de torná-lo mais solúvel.

O método empregado neste trabalho para determinar o grau de esterificação (Lurie et al., 1994) quantifica os resíduos de ácido galacturônico envolvidos em ligação éster, não necessariamente metílico. Assim sendo, uma possível explicação para que em alguns dos genótipos analisados o grau de esterificação tenha sido alto e ainda assim a solubilização de pectinas relativamente baixa, seria a hipótese de que outras ligações éster tenham impedido a ação das enzimas hidrolíticas, principalmente no caso dos mutantes.

Quanto aos frutos F_1 (Rotam-4 × TOM-559) e F_1 (Piedmont × TOM-559), que apresentaram grau de esterificação baixo possivelmente os polímeros estivessem excessivamente desesterificados para serem reconhecidos pela PG.

4.1.11 Cálcio ligado à parede celular

O teor de cálcio ligado à parede celular manteve-se relativamente constante durante o amadurecimento para praticamente todos os genótipos. As médias constam da Tabela 11. Os valores para os frutos no estágio vermelho maduro não apresentaram diferenças significativas entre os genótipos.

Os valores médios observados coincidem com os apresentados por Burns e Pressey (1987), entre 0,20% e 0,30% da parede celular, quando existe atividade de PME.

Destacam-se porém os resultados obtidos para a linhagem TOM-559, o único genótipo em que houve aumento na quantidade de cálcio ligado no final do amadurecimento, passando de 0,18% no estágio verde maduro para 0,32% no vermelho maduro. É interessante observar que esse aumento de cálcio ligado nos frutos homozigotos 'alcobaça' coincidiu com o aumento na atividade de PG. Isto explica em parte a baixa solubilização de pectinas nesses frutos.

O valor do coeficiente de variação (CV) encontrado na análise desta característica, 15,87%, considerado razoável para experimentos de campo, dificulta a interpretação dos resultados de análises químicas. Esse valor de CV, embora seja aceitável neste caso devido ao fato de os frutos terem sido amadurecidos na planta, mascarou diferenças que poderiam ser significativas em experimento em câmara. Por exemplo, a diferença numérica entre os híbridos pode não ser desprezível do ponto de vista de efeito fisiológico, pois houve correlação inversa significativa, com $R = -0,4424$ ($P < 0,05$), entre cálcio ligado e pectina solúvel, quando considerados todos os genótipos. Apesar de o valor do coeficiente de correlação ser baixo, o fato

de ser significativo o indica como um dos fatores que contribuem para explicar a solubilização de pectinas.

TABELA 11. Valores médios de cálcio ligado à parede celular (%) em tomates homozigotos 'alcobaça', de amadurecimento normal, seus híbridos heterozigotos F₁ e a testemunha Flora Dade, colhidos em cinco estádios de maturação. ⁽¹⁾

Genótipo	Estádio					Médias
	Verde Maduro	Breaker	Turning	Maduro	Vermelho Maduro	
Flora Dade	0,21 ab A	0,21 ab A	0,24 ab A	0,24 a A	0,26 a A	0,23 bc
TOM-559	0,18 b B	0,18 b B	0,16 b B	0,22 a AB	0,32 a A	0,21 c
Florida 1B	0,20 ab A	0,25 ab A	0,20 ab A	0,30 a A	0,28 a A	0,25 bc
F ₁ (Florida 1B × TOM-559)	0,16 b B	0,32 a A	0,27 ab AB	0,25 a A	0,20 a B	0,24 bc
Piedmont	0,22 ab A	0,24 ab A	0,22 ab A	0,27 a A	0,24 a A	0,24 bc
F ₁ (Piedmont × TOM-559)	0,20 ab A	0,26 ab A	0,27 ab A	0,25 a A	0,25 a A	0,24 bc
Rotam 4	0,24 ab A	0,26 ab A	0,31 a A	0,27 a A	0,29 a A	0,27 ab
F ₁ (Rotam-4 × TOM-559)	0,32 a A	0,31 a A	0,26 ab A	0,34 a A	0,30 a A	0,30 a

CV(%) = 15,87

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey em P < 0,05.

A ação da PME de tomates sobre as pectinas resulta na formação de blocos de grupos carboxílicos livres, que se unem por pontes de cálcio formando as estruturas denominadas *egg-box*. Markovič e Kohn (1984) demonstraram que o coeficiente de atividade do Ca²⁺ é uma função da densidade linear de cargas, isto é, da distância média entre dois grupos COO⁻ livres. Assim, as moléculas muito desesterificadas apresentam coeficiente baixo. De acordo com esses autores, em pectinas com grau de esterificação acima de 40%, o cálcio se liga por ligações eletrostáticas intramoleculares. Em pectinas com menos de 40% de esterificação a forma de ligação, quelante e não eletrostática, é mais forte.

Diferentemente dos resultados aqui apresentados, Rigney e Wills (1981) observaram que o cálcio acumulado na região da parede celular-lamela média em pericarpo de tomates foi solubilizado nos estádios iniciais do amadurecimento. A partir dessa observação, levantaram a hipótese de que a solubilização seja necessária para desencadear o processo de amadurecimento.

Em trabalho anterior, Suwwan e Poovaiah (1978) haviam detectado essa solubilização em tomates macios de amadurecimento normal, destacando que ela não ocorre em mutantes *rin*, que não amadurecem. Hamson (1952) já havia observado que o cálcio de cultivares de frutos macios é mais facilmente solubilizado do que o de firmes, o que foi posteriormente confirmado por Brady et al. (1985).

Os resultados obtidos confirmam essas observações, pois todos os genótipos analisados são de frutos firmes e não houve solubilização do cálcio ligado com o amadurecimento. Na linhagem mutante de amadurecimento lento, ao contrário, houve aumento no cálcio ligado.

A constatação de que a ação da PG é inibida por ions cálcio (Buescher e Hobson, 1982), confirma a idéia de que as substâncias pécticas da parede celular-lamela média servem de sítio de ligação para o metal, e que o complexo é resistente ao ataque da enzima.

As ligações com o cálcio são comprovadamente importantes para evitar que as pectinas sejam solubilizadas como se percebe nos frutos analisados, em especial os homozigotos 'alcobaça'. Entretanto, como observa Jarvis (1982), elas provavelmente não são as únicas importantes, o que é confirmado pelo valor do coeficiente de correlação entre cálcio e pectina solúvel aqui apresentado. Deve-se destacar o papel das ligações covalentes entre os polímeros.

As estimativas de cálcio ligado à parede variam amplamente, mesmo dentro da mesma cultivar (Brady et al., 1985), sendo que o método de doseamento e/ou extração pode ser influenciado pelas interações com citrato, malato, ou outras moléculas que tenham capacidade de se ligar com esse cátion.

De acordo com Ferguson, Turner e Bollard (1980) a principal forma de imobilizar o cálcio em tomates, além de pectato, é oxalato, havendo pouca evidência da formação de outros sais insolúveis. Assim sendo, o processo de separação do material de parede celular usado no presente trabalho, provavelmente eliminou o oxalato de cálcio, mantendo o pectato. Isto porque, como afirmam Ferguson, Turner e Bollard (1980), os extratos aquosos devem ser vistos como ácidos diluídos, nos quais o oxalato é significativamente solúvel.

4.1.12 Celulose

Em geral não houve perda líquida de celulose durante o amadurecimento. As médias obtidas para os diversos estádios constam da Tabela 12.

Os valores médios para os frutos no estágio vermelho maduro mostram que não houve diferença significativa entre os genótipos. Os resultados encontrados estão dentro da faixa de 17% a 30%, prevista na revisão feita por Davies e Hobson (1981), assim como a pouca variação durante o amadurecimento.

A realização das análises se justifica pelo desconhecimento quanto ao metabolismo de celulose em frutos homozigotos 'alcobaça' e pela necessidade de se buscar explicação para o seu amaciamento durante o amadurecimento.

TABELA 12. Valores médios de celulose (%) na parede celular em tomates homozigotos 'alcobaça', de amadurecimento normal, seus híbridos heterozigotos F₁ e a testemunha Flora Dade, colhidos em cinco estádios de maturação. ⁽¹⁾

Genótipo	Estádio					Médias
	Verde Maduro	Breaker	Turning	Maduro	Vermelho Maduro	
Flora Dade	26,10 ab A	18,26 ab B	23,48 ab AB	18,91 b AB	24,46 a AB	22,24 ab
TOM-559	18,91 bc AB	15,64 b B	20,54 ab AB	19,89 ab AB	24,79 a A	19,96 b
Florida 1B	30,67 a A	26,42 a AB	23,16 ab B	21,20 ab B	24,79 a AB	25,25 a
F ₁ (Florida 1B × TOM-559)	20,22 bc A	21,20 ab A	23,48 ab A	19,89 ab A	21,85 a A	21,33 b
Piedmont	20,54 bc AB	23,48 ab AB	24,79 ab AB	27,40 a A	19,24 a B	23,09 ab
F ₁ (Piedmont × TOM-559)	15,31 c C	25,44 a AB	27,73 a A	19,56 ab BC	19,24 a BC	21,46 b
Rotam 4	16,95 c B	21,85 ab AB	27,73 a A	18,91 b B	18,91 a B	20,87 b
F ₁ (Rotam-4 × TOM-559)	18,58 bc A	19,56 ab A	18,90 b A	25,44 ab A	23,81 a A	21,26 b
CV(%) = 11,98						

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey em P < 0,05.

Embora a atividade de celulase possa ser detectada em tomates (Fisher e Bennett, 1991), e em alguns casos tenha sido observada alguma erosão nas microfibrilas coincidente com o amaciamento, não existe evidência convincente de que elas sejam degradadas por celulases (Davies e Hobson, 1981).

As celulases constituem uma classe de enzimas com atividade de endo- β -(1-4)-glucanases, que podem agir sobre diferentes substratos, entre os quais as xiloglucanas (Fisher e Bennett, 1991), que mantêm a associação entre as microfibrilas e a matriz da parede. Considerando essa possibilidade, Babbit, Powers e Patterson (1973) propuseram que talvez o amaciamento se inicie pela ação das celulases no entrelaçamento das microfibrilas, possibilitando que outras enzimas, inclusive PG, tenham acesso a seus substratos.

4.2.13 Carboidratos não celulósicos de parede celular

A variação nos carboidratos não celulósicos mostrou atividade intensa de síntese e degradação durante o amadurecimento dos frutos na planta. Em geral, a degradação excedeu a síntese para a maioria dos compostos, resultando em perda líquida. Como as variações intermediárias foram de intensidades diferentes devido aos diferentes *backgrounds* dos genótipos analisados, foi considerada apenas a variação líquida, entre o estágio inicial e o final do amadurecimento. Os valores médios para os carboidratos não celulósicos nos estádios verde maduro e vermelho maduro estão apresentados na Tabela 13. Os resultados médios para os demais estádios encontram-se nas Tabelas 6A a 12A.

Dos carboidratos que constam na Tabela 13, ácido galacturônico, ramnose, arabinose e galactose são componentes principalmente de polissacarídeos pécticos. Xilose, glicose e manose são constituintes principais da fração hemicelulósica.

Observa-se, pela Tabela 13, que os frutos TOM-559 destacaram-se por apresentarem aumento acentuado de ácido galacturônico na parede celular entre o início e o final do amadurecimento, chegando ao estágio vermelho maduro com teor médio superior a todos os demais.

Comparando-se os frutos TOM-559 com os da testemunha, observa-se que o gene *alc* em homozigose teve o efeito de aumentar a retenção de uronídeos na parede celular.

O aumento de uronídeos nos frutos homozigotos 'alcobaça' coincidiu com o aumento no teor de cálcio ligado à parede. Esse fato pode ter contribuído para impedir a ação da enzima PG, cuja atividade também aumenta no final do amadurecimento. Além disto, sugere que

TABELA 13. Variação de carboidratos não celulósicos (%) na parede celular de tomates homozigotos 'alcobaça', de amadurecimento normal, seus híbridos heterozigotos F₁ e a testemunha Flora Dade, amadurecidos na planta.

Genótipo	Ác. Galacturônico		Arabinose		Galactose		Ramnose		Xilose		Manose		Glicose	
	VM ⁽¹⁾	MM ⁽¹⁾	VM	MM	VM	MM	VM	MM	VM	MM	VM	MM	VM	MM
Flora Dade	32,07 ab	29,01 b	1,82 bc	1,40 d	5,40 c	3,07 d	0,18 cde	0,21 b	0,59 bc	0,95 b	1,84 c	1,31 b	7,64 c	3,46 b
TOM-559	32,83 ab	42,87 a	1,54 d	2,02 a	3,35 e	6,04 a	0,52 a	0,21 b	0,44 cd	0,83 b	1,13 d	0,80 d	5,00 e	1,90 c
Florida 1B	36,66 a	29,77 b	2,37 a	1,73 b	6,14 b	3,66 c	0,23 bc	0,21 b	0,73 b	0,72 b	1,92 c	2,25 a	6,05 d	8,66 a
F ₁ (Florida 1B × TOM-559)	27,62 abc	27,62 bc	1,93 b	1,21 de	6,54 a	3,13 d	0,25 b	0,14 c	1,15 a	0,86 b	1,84 c	0,86 cd	5,68 de	1,62 c
Piedmont	24,42 bc	19,06 c	1,77 bc	0,39 f	4,31 d	0,39 f	0,14 de	0,09 c	0,76 b	0,91 b	2,62 a	1,06 c	11,82 a	1,49 c
F ₁ (Piemont × TOM-559)	28,06 abc	30,26 b	1,66 cd	0,96 e	3,42 e	1,88 e	0,12 e	0,09 c	0,32 d	0,26 c	2,24 b	1,07 c	10,07 b	3,66 b
Rotam 4	19,67 c	28,50 bc	1,68 cd	0,97 e	4,17 d	3,00 d	0,18 cde	0,39 a	0,67 bc	0,21 c	2,67 a	0,26 e	12,67 a	1,15 c
F ₁ (Rotam × TOM-559)	28,06 abc	28,94 b	1,65 cd	1,56 bc	4,29 d	4,00 b	0,19 bcd	0,22 b	0,76 b	1,27 a	1,83 c	0,97 cd	7,26 c	1,13 c
CV (%)	10,94		5,69		2,38		9,86		10,75		4,67		5,67	

⁽¹⁾ Estádios de maturação. VM - verde maturo; MM - vermelho maduro.

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si em P < 0,05.

a lamela média tenha sido preservada, pois é nessa região que se formam as ligações entre pectinas e cálcio.

Os frutos de amadurecimento normal, com exceção de Rotam 4, apresentaram perda de uronídeos ligados à parede celular. Na cultivar Rotam 4, apesar de ter havido aumento, o teor médio no estágio vermelho maduro não diferiu dos demais.

Os híbridos F_1 (Florida 1B \times TOM-559) e F_1 (Rotam 4 \times TOM-559) praticamente não apresentaram variação no teor de ácido galacturônico, com resultados iguais aos de seus parentais normais e da testemunha.

Os híbridos F_1 (Piedmont \times TOM-559) tiveram variação oposta aos frutos de amadurecimento normal, aumentando o teor de ácido galacturônico, e atingindo o estágio vermelho maduro com teor significativamente superior ao do parental normal e igual ao da testemunha.

Dentre os açúcares neutros da parede celular, os que mostraram maior efeito do gene *alc* foram arabinose e galactose.

Nos frutos homocigotos 'alcobaça' houve aumento desses dois açúcares, enquanto em todos os outros houve perda líquida durante o amadurecimento. No entanto, a perda nos híbridos F_1 (Piedmont \times TOM-559) e F_1 (Rotam 4 \times TOM-559) foi significativamente menor do que nos parentais femininos. Porém, apenas para F_1 (Rotam 4 \times TOM-559) os teores de arabinose e galactose no estágio vermelho maduro foram superiores aos da testemunha.

Nos híbridos F_1 (Florida 1B \times TOM-559) a perda líquida foi maior do que no parental normal, mas os teores nos frutos maduros foram equivalentes à testemunha.

A perda de firmeza que em geral acompanha o amadurecimento, é consequência, principalmente, de modificações no metabolismo dos carboidratos que compõem a parede

celular, resultando em modificações da sua estrutura. As alterações mais evidentes e mais estudadas na composição de paredes celulares são a perda de polímeros de ácidos urônicos. Observa-se em tomates, além dos uronídeos, uma redução acentuada de arabinose e galactose (Gross e Wallner, 1979; Gross e Sams, 1984; Carrington, Greve e Labavitch, 1991).

Como as perdas de ácido galacturônico e de arabinose e galactose estão frequentemente associadas ao amaciamento e/ou à solubilização de pectinas, foram feitas análises de correlação linear entre essas características e com variáveis também associadas à perda de firmeza. Essas correlações estão apresentadas na Tabela 14.

TABELA 14. Matriz de correlação entre textura e características de parede celular de tomates homozigotos 'alcobaça', de amadurecimento normal, seus híbridos heterozigotos F₁ e a testemunha Flora Dade, colhidos no estágio vermelho maduro.

Fator	Textura	Solubilidade de pectinas	Grau de esterificação	Cálcio ligado	Ácido galacturônico	Arabinose
Solubilidade de pectinas	- 0,7685**					
Grau de esterificação	0,6525**	- 0,016 ^{ns}				
Cálcio ligado	0,4475*	- 0,4424*	0,3211 ^{ns}			
Ácido galacturônico	0,7196**	- 0,7293**	0,6899**	0,4849*		
Arabinose	0,6963**	- 0,4768*	0,5912**	0,4889*	0,7255**	
Galactose	0,8186**	- 0,6189**	0,7530**	0,4606*	0,8653**	0,9416**

*, ** Coeficientes de correlação linear significativos respectivamente em $P < 0,05$ e $P < 0,01$. ns $P > 0,05$.

As relações entre as características apresentadas na Tabela 14 demonstram o que foi sugerido anteriormente (Tong e Gross, 1988 e Gross, 1990), que a solubilização de poliuronídeos, assim como o amaciamento envolvem outros fatores além da atividade de PG, como grau de esterificação, ligações com o cálcio e cadeias laterais de açúcares neutros.

A correlação entre ácido galacturônico e grau de esterificação contraria as observações anteriores (Knee, 1978b) de que os poliuronídeos menos esterificados são menos solúveis.

Gross e Sams (1984) sugeriram que o *turnover* de arabinose e galactose em tomates não estivesse relacionado com a firmeza do fruto, ao contrário do que mostra a Tabela 14. A correlação negativa com a solubilidade de pectinas está de acordo com a proposição de que as cadeias laterais exerçam efeito protetor contra a ação da PG (Gross e Wallner, 1979).

Carrington, Greve e Labavitch (1991) demonstraram que as pectinas solubilizadas pela PG se originaram da fração solúvel em carbonato, ou seja, da parede primária. Nessa mesma fração Seymour et al. (1990) observaram maior perda de arabinose e galactose.

Dentre os frutos analisados neste trabalho, só não houve aumento na solubilização de pectinas naqueles em que não houve perda líquida de arabinose e galactose, isto é, nos homozigotos 'alcobaça'.

As correlações negativas entre esses dois açúcares e a solubilização de pectinas ilustram essa interdependência. O valor mais baixo do coeficiente de correlação com arabinose pode ser explicado pelo fato de que a perda desse açúcar é quantitativamente menor do que a de galactose, mas pode se originar do fato de que a galactose livre tem um papel importante no amadurecimento.

O significado da solubilização de galactanas para o amadurecimento de frutos parece não se limitar ao fato de facilitar o acesso da PG ao seu substrato. O aumento de galactose livre no pericarpo de tomates estimula a síntese *de novo* de ACC-sintase (Kim, Gross e Solomos,

1987), e conseqüentemente a produção de etileno. A atividade de PG em tomate só aumenta após o início da biosíntese de etileno (Kim, Gross e Solomos, 1991).

Quando se observam os valores dos coeficientes de correlação entre arabinose, galactose e ácido galacturônico ligado à parede (Tabela 14), a associação torna-se mais nítida, evidenciando a importância dos dois açúcares neutros para a integridade dos poliuronídeos.

O alto coeficiente de correlação positiva entre arabinose e galactose sugere que eles estejam sendo solubilizados dos mesmos polímeros.

Os coeficientes de correlação com o cálcio mostram que esse cátion influiu na retenção da integridade dos polímeros, embora tenha contribuído menos do que o grau de esterificação. Isto porque os teores de cálcio ligado foram muito semelhantes entre os genótipos, ao contrário do grau de esterificação.

O teor de ramnose na parede celular de frutos TOM-559 diminuiu acentuadamente com o amadurecimento, ao contrário de ácido galacturônico, arabinose e galactose (Tabela 13). Isto indica que as cadeias principais tornaram-se mais lineares, pois os resíduos de ramnose introduzem pontos de “quebra” na conformação. Além disso, como cadeias laterais de arabinogalactanas se ligam ao C4 dos resíduos de ramnose, o aumento de arabinose e galactose indica que as ramificações tornaram-se mais volumosas.

As regiões muito ramificadas, constituídas por açúcares neutros, possibilitam a ligação entre pectinas e hemiceluloses (Mangas et al., 1992).

Mais uma vez as alterações na composição da parede celular demonstraram a insensibilidade dos polímeros pécnicos dos frutos homozigotos ‘alcobaça’ à degradação pela PG.

Comparando-se os resultados para TOM-559 e Flora Dade, verifica-se que o gene *alc* em homozigose teve o efeito de diminuir os resíduos de ramnose nos polímeros pécnicos.

Dentre os híbridos, o único que apresentou comportamento semelhante ao parental mutante, embora menos acentuado, foi F_1 (Piedmont x TOM-559). Nesses frutos houve perda de ramnose e aumento de uronídeos, e as perdas de arabinose e galactose foram menos acentuadas do que no parental normal, embora os teores finais tenham sido mais baixos do que nos outros híbridos (Tabela 13).

Os híbridos F_1 (Florida 1B x TOM-559) perderam ramnose e mantiveram constantes os uronídeos. Entretanto, a diminuição de arabinose e galactose foi mais acentuada do que no parental feminino.

Nos híbridos F_1 (Rotam 4 x TOM-559) houve aumento no teor de ramnose, indicando que as cadeias principais de ramnogalacturonanas tornaram-se menos lineares. Porém, os teores finais de arabinose e galactose foram mais altos, indicando cadeias laterais mais volumosas.

O aumento na proporção de ramnogalacturonanas mais ramificadas sugere que a parede primária está mais preservada do que a lamela média.

Os principais polissacarídeos hemicelulósicos identificados por Seymour et al. (1990) no pericarpo de tomates foram xiloglucanas, com evidência de pequena quantidade de complexo xilana-pectina. A composição global das hemiceluloses, de acordo com esses pesquisadores, praticamente não apresentou diferença entre os estádios verde maduro e vermelho maduro.

A Tabela 13 mostra que houve variação nos teores de xilose, manose e glicose durante o amadurecimento dos frutos analisados, que aparentemente dependeram do genótipo. Não houve efeito claro do gene *alc*, nem mesmo em homozigose. Os teores proporcionalmente

menores nos frutos TOM-559 do que nos Flora Dade podem ter sido resultantes do aumento de polisacarídeos pécticos nos primeiros.

Para TOM-559, Flora Dade, Piedmont e F₁ (Rotam 4 × TOM-559) houve aumento de xilose e perda de manose e glicose. Para Florida 1B, o teor de xilose permaneceu constante e houve aumento de manose e glicose, e para os demais, verificou-se perda nos três açúcares.

Como o material de parede celular analisado neste trabalho não foi fracionado, não foi possível verificar as variações de peso molecular nas hemiceluloses, mencionadas por Huber (1983a) e Tong e Gross(1988).

A diminuição de xiloglucanas no final do amadurecimento foi observada por Carrington, Greve e Labavitch (1991).

No presente trabalho, porém, não se pode excluir a possibilidade de que os teores de glicose no estágio verde maturo tenham sido superestimados devido à presença de amido. Ainda que em pequena quantidade, é possível detectar amido em tomates até o estágio verde maturo, mas não em estágio mais avançado (Mitcham, Gross e Ng, 1989; Tong e Gross, 1989).

Nenhum dos açúcares neutros hemicelulósicos correlacionou-se com a textura dos frutos ou com a solubilização de pectinas durante o amadurecimento.

5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem concluir que, nas condições em que o experimento foi realizado :

- O gene *alc* não interferiu em pH, acidez total titulável, sólidos solúveis totais, açúcares redutores, cálcio total e nas variações de celulose e açúcares hemicelulósicos.
- O gene *alc* em homozigose resultou em frutos mais firmes e menos pigmentados; com mínima solubilização de pectinas; maior grau de esterificação de pectinas; aumento nos teores de cálcio ligado, ácido galacturônico, arabinose e galactose e diminuição no de ramnose na parede celular ao final do amadurecimento; antecipação da atividade máxima de PME e atraso na elevação da atividade de PG.
- Os efeitos do gene *alc* em heterozigose dependeram do *background*. Em geral, o gene teve o efeito de retardar os processos de amaciamento e solubilização de pectinas durante o amadurecimento dos híbridos, embora tenha interferido pouco nos frutos completamente maduros.
- O gene *alc* em heterozigose não prejudicou a coloração dos híbridos, que foram mais pigmentados do que a testemunha, com destaque para o F₁(Florida 1B x TOM-559).
- A relação licopeno/ β -caroteno não se mostrou útil para ilustrar as diferenças de intensidade de cor entre os genótipos.

- Não houve solubilização de cálcio ligado à parede celular em nenhum dos genótipos durante o amadurecimento.
- O gene *alc* em heterozigose atenuou os picos de atividade de PME nos híbridos F₁(Florida 1B x TOM-559) e F₁(Rotam 4 x TOM-559), e diminuiu a atividade de PG nos últimos estádios para todos os híbridos.
- As atividades de PME e PG correlacionaram-se entre si, porém não com textura, solubilização de pectinas e grau de esterificação.
- Os frutos com grau de esterificação mais elevado foram em geral mais firmes, mas não houve efeito claro do gene *alc* em heterozigose.
- Para a maioria dos carboidratos não celulósicos a degradação excedeu a síntese durante o amadurecimento, resultando em perda líquida, e os teores de ácido galacturônico, arabinose e galactose correlacionaram-se entre si e com textura e solubilização de pectinas.
- O gene *alc* em heterozigose atenuou as perdas de ácido galacturônico, arabinose e galactose.

Os frutos híbridos colhidos no estágio vermelho maduro, adequado para o consumo, foram mais semelhantes aos parentais normais, não apresentando efeitos negativos do gene mutante. Este fato, se considerado juntamente com os resultados de experimentos anteriores, de que os híbridos colhidos após o início da pigmentação vermelha demoram mais do que os parentais normais para atingir o estágio vermelho maduro, demonstra a viabilidade de utilização comercial dos híbridos.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED, A.E.; LABAVITCH, J.M. A simplified method for accurate determination of cell wall uronide content. **Journal of Food Biochemistry**, Westport, v.1, p.361-365, 1977.
- AHRENS, M.J.; HUBER, D.J. Physiology and firmness determination of ripening tomato fruit. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.78, n.1, p.8-14, Jan. 1990.
- AHRENS, M.J.; HUBER, D.J.; SCOTT, J.W. Firmness and mealiness of selected Florida-grown tomato cultivars. **Proceedings of Florida State Horticultural Society**, Gainesville, v.100, p.39-41, Aug. 1987.
- ALBERSHEIM, P.; NEVINS, D.J.; ENGLISH, P.D.; KARR, A. A method for the analysis of sugar in plant cell wall polysaccharides by gas-liquid chromatography. **Carbohydrate Research**, Amsterdam, v.5, p.340-345, 1967.
- ARAÚJO, M.L. de. Produção comercial de semente híbrida F₁ de tomate. In: CASALI, V.W.D. **Seminários de Olericultura**, Viçosa, v.13, p.107-121, 1987.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**. 12.ed. Washington: AOAC, 1992.
- AUGUSTINE, J.J.; VOLIN, R.B.; BURGIS, D.S.; EVERETT, P.H.; HAYSLIP, N.C.; BRYAN, H.H.; GULL, D.D.; CRILL, J.P. **Florida 1A, Florida 1B, Florida 1C. Three jointed fresh market tomato selections of Florida 1 resistant to race 1 and 2 of *Fusarium wilt* and *Verticillium wilt***. Gainesville: Florida Agricultural Experimental Stations. Institute of Food and Agricultural Sciences. University of Florida, 1981. 7p. (Circular S-262).
- AWAD, M. **Fisiologia pós-colheita de frutos**. São Paulo: Livraria Novel, 1993. 114p.
- BABBIT, J.K.; POWERS, M.J.; PATTERSON, M.E. Effects of growth regulators on cellulase, polygalacturonase, respiration, color and texture of ripening tomatoes. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.98, n.1, p.77-81, Jan. 1973.
- BACIC, A.; HARRIS, P.J.; STONE, B.A. Structure and function of plant cell walls. In: PREISS, J. (ed.) **The biochemistry of plants: a comprehensive treatise**. Carbohydrates. Londres: Academic Press, 1988. v.14, p.297-371.



REFERENTIAL BIBLIOGRAPHY

- ABRAHAM, A. 1974. A method for routine determination of cell wall pectin. *Journal of Food Science*, 45, p. 301-303, 1974.
- ABRAHAM, A. & HUBER, D. 1973. In vitro pectin determination of growing tomato fruit. *Journal of Plant Physiology*, 5, p. 38-44, 1973.
- ABRAHAM, A., HUBER, D., & BOOTH, J. 1976. In vitro and in vivo studies of selected flavanols in tomato. *Proceedings of the International Society of Horticultural Science*, 1976.
- ALLEN, R. D., KARR, A. A method for the analysis of cell wall polysaccharides by gas-liquid chromatography. *Canadian Journal of Plant Physiology*, 55, p. 240-244, 1977.
- ALLEN, R. D. & HUBER, D. 1977. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 82, p. 107-111, 1977.
- ALLEN, R. D. & HUBER, D. 1978. Official methods of analysis of horticultural products. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists*, 1978.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 1978. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 82, p. 111-115, 1978.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 1979. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 83, p. 111-115, 1979.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 1980. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 84, p. 111-115, 1980.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 1981. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 85, p. 111-115, 1981.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 1982. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 86, p. 111-115, 1982.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 1983. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 87, p. 111-115, 1983.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 1984. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 88, p. 111-115, 1984.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 1985. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 89, p. 111-115, 1985.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 1986. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 90, p. 111-115, 1986.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 1987. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 91, p. 111-115, 1987.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 1988. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 92, p. 111-115, 1988.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 1989. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 93, p. 111-115, 1989.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 1990. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 94, p. 111-115, 1990.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 1991. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 95, p. 111-115, 1991.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 1992. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 96, p. 111-115, 1992.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 1993. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 97, p. 111-115, 1993.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 1994. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 98, p. 111-115, 1994.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 1995. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 99, p. 111-115, 1995.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 1996. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 100, p. 111-115, 1996.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 1997. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 101, p. 111-115, 1997.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 1998. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 102, p. 111-115, 1998.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 1999. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 103, p. 111-115, 1999.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 2000. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 104, p. 111-115, 2000.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 2001. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 105, p. 111-115, 2001.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 2002. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 106, p. 111-115, 2002.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 2003. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 107, p. 111-115, 2003.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 2004. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 108, p. 111-115, 2004.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 2005. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 109, p. 111-115, 2005.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 2006. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 110, p. 111-115, 2006.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 2007. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 111, p. 111-115, 2007.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 2008. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 112, p. 111-115, 2008.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 2009. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 113, p. 111-115, 2009.
- ALLEN, R. D., VOLIN, R. B., HUBER, D., & INVERETT, F. H. 2010. In vitro pectin determination in tomato fruit. *Journal of Horticultural Science*, 114, p. 111-115, 2010.

- BISOONI, C.A.; ARMBRUSTER, G.; BRECHT, P.E. Quality comparisons of room ripened and field ripened tomato fruits. *Journal of Food Science*, Chicago, v.41, n.2, p.333-338, Mar./Apr. 1976.
- BITTER, T.; MUIR, H.M. A modified uronic acid carbazole reaction. *Analytical Chemistry*, New York, v.34, p.330-334, 1962.
- BLUMENKRANTZ, N.; ASHBOE-HANSEN, G. New method for quantitative determination of uronic acids. *Analytical Chemistry*, New York, v.5, p.484-489, 1973.
- BOSCH, S.E.; BOELEMA, B.H.; SERFONTEIN, J.J.; SWANEPOEL, A.E. 'Rotam 4', a multiple disease-resistant fresh-market tomato. *HortScience*, Alexandria, v.25, n.10, p.1313-1314, Oct. 1990.
- BOURNE, M.C. A classification of objective methods of measuring texture and consistency of foods. *Journal of Food Science*, Chicago, v.31, n.6, p.1011-1015, Nov./Dec. 1966.
- BRADY, C.J. Fruit ripening. *Annual Review of Plant Physiology*, Palo Alto, v.38, p.155-178, 1987.
- BRADY, C.J.; MCGLASSON, W.B.; PEARSON, J.A.; MELDRUM, S.K.; KOPELIOVITCH, E. Interactions between the amount and molecular forms of polygalacturonase, calcium and firmness in tomato fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.110, n.2, p.254-258, Mar. 1985.
- BRECHT, P.E.; KENG, L.; BISOONI, C.A.; MUNGER, H.M. Effect of fruit portion, stage of ripeness and growth habit on chemical composition of fresh tomatoes. *Journal of Food Science*, Chicago, v.41, n.4, p.945-948, July/Aug. 1976.
- BRETT, C.; WALDRON, K. *Physiology and biochemistry of plant cell walls*. Londres: Unwin Hyman, 1990. 193p.
- BUCHELI, P.; DÉVAUD, S. Sugar accumulation in tomato and partial purification of buffer-insoluble invertase. *Phytochemistry*, Oxford, v.32, n.4, p.837-841, 1993.
- BUESCHER, R.W.; HOBSON, G.E. Role of calcium and chelating agents in regulating the degradation of tomato fruit tissue by polygalacturonase. *Journal of Food Biochemistry*, Westport, v.6, n.1, p.147-160, Mar. 1982.
- BURNS, J.K.; PRESSEY, R. Ca^{2+} in cell walls of ripening tomato and peach. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.112, n.5, p.783-787, Sept. 1987.
- CALBO, A.G.; NERY, A.A. Medida de firmeza em hortaliças pela técnica de aplanção. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.13, n.1, p.14-18, maio 1995.

- CARRINGTON, C.M.S.; GREVE, L.C.; LABAVITCH, J.M. Cell wall metabolism in ripening fruit. VI. Effect of the antisense polygalacturonase gene on cell wall changes accompanying ripening in transgenic tomatoes. **Plant Physiology**, Baltimore, v.103, n.2, p.429-434, Oct. 1993.
- CARVALHO, V.D. de; SOUZA, S.M.C. de; CHITARRA, M.I.F.; CARDOSO, D.A.M.; CHITARRA, A.B. Qualidade de tomates da cultivar Gigante Kada amadurecidos na planta e fora da planta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.19, n.4, p.489-493, Apr. 1984.
- CROOKES, P.R.; GRIERSON, D. Ultrastructure of tomato fruit ripening and the role of polygalacturonase isoenzymes in cell wall degradation. **Plant Physiology**, Baltimore, v.72, n.4, p.1088-1093, Aug. 1983.
- D'SOUZA, M.C.; SINGHA, S.; INGLE, M. Lycopene concentration of tomato fruit can be estimated from chromaticity values. **HortScience**, Alexandria, v.27, n.5, p.465-466, May 1992.
- DAVIES, J.N.; HOBSON, G.E. The constituents of tomato fruit - The influence of environment, nutrition and genotype. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Cleveland, v.15, n.3, p.205-208, Nov. 1981.
- DAVIES, J.N.; KEMPTON, R.J. Changes in the individual sugars of tomato fruit during ripening. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Londres, v.26, n.8, p.1103, Aug. 1975.
- DAVIES, J.N.; MAW, G.A. Metabolism of citric and malic acids during ripening of tomato fruit. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Londres, v.23, n.8, p.969-976, Aug. 1972.
- DAVIES, J.N.; WINSOR, G.W. Some effects of variety on the composition and quality of tomato fruit. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v.44, n.3, p.331, July 1969.
- De VEAU, E.J.I.; GROSS, K.C.; HUBER, D.J.; WATADA, A.E. Degradation and solubilization of pectin by β -galactosidases purified from avocado mesocarp. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.87, n.2, p.279-285, 1993.
- DELLAPENNA, D.; LASHBROOK, C.C.; TOENJES, K.; GIOVANNONO, J.; FISCHER, R.L.; BENNETT, A. Polygalacturonase isozymes and pectin depolymerization in transgenic tomato fruit. **Plant Physiology**, Baltimore, v.94, n.4, p.1882-1886, Dec. 1990.
- DISCHE, Z. General color reactions. In: WHISTLER, R.L.; WOLFRAM, M.L. (ed.). **Carbohydrate Chemistry**. New York: Academic Press, 1962. v.1, p.477-512.
- FERGUSON, I.B. Ca^{2+} in plant senescence and fruit ripening. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v.7, p.477-489, 1984.

- FERGUSON, I.B.; TURNER, N.A.; BOLLARD, E.G. Problems in fractionating calcium in plant tissue. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Londres, v.31, n.1, p.7-14, Jan. 1980.
- FISHER, M.; AMADÒ, R. Changes in pectic substances of apples during development and post harvest ripening. Part 1: Analysis of the alcohol-insoluble residue. *Carbohydrate Polymers*, London, v.25, p.161-166, 1994.
- FISHER, M.; ARRIGONI, E.; AMADÒ, R. Changes in pectic substances of apples during development and postharvest ripening. part 2: Analysis of the pectic fractions. *Carbohydrate Polymers*, London, v.25, p.167-175, 1994.
- FISHER, R.L.; BENNETT, A.B. Role of cell wall hydrolases in fruit ripening. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, Palo Alto, v.42, p.675-703, 1991.
- FISHMAN, M.L. Pectic substances. In: HUY, Y.H. (ed). *Encyclopedia of food science and technology*. New York: Willey Interscience, 1992. v.3, p.2039-2043.
- FLORI, J.E. **Obtenção e avaliação de híbridos F₁ de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) no grupo multilocular**. Lavras: ESAL, 1993. 44p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).
- FRY, S.C. Cross-linking of matrix polymers in the growing cell walls of angiosperms. *Annual Review of Plant Physiology*, Palo Alto, v.37, p.165-186, 1986.
- GAFFE, J.; TIEMAN, D.M.; HANDA, A.K. Pectin methylesterase isoforms in tomato (*Lycopersicon esculentum*) tissues. Effects of expression of a pectin methylesterase antisense gene. *Plant Physiology*, Baltimore, v.105, n.1, p.199-203, May 1994.
- GARDNER, R.G. 'Piedmont' tomato. *HortScience*, Alexandria, v.20, n.5, p.960-961, Oct. 1985.
- GIOVANNONI, J.J.; DELLPENNA, D.; BENNETT, A.B.; FISCHER, R.L. Expression of a chimeric polygalacturonase gene in transgenic rin (ripening inhibitor) tomato fruit results in polyuronide degradation but not fruit softening. *The Plant Cell*, Rockville, v.1, n.1, p.53-63, Jan. 1989.
- GOODENOUGH, P.W.; PROSSER, I.M.; YOUNG, K. NADP⁺-linked malic enzyme and malate metabolism in ageing tomato fruit. *Phytochemistry*, Oxford, v.24, n.6, p.1157-1162, 1985.
- GORTNER, W.A.; PULL, G.G.; KRAUSS, B.H. Fruit development, maturation, ripening and senescence: a biochemical basis for horticultural terminology. *HortScience*, Alexandria, v.2, n.4, p.141-144, 1967.
- GREVE, L.C.; LABAVITCH, J.M. Cell wall metabolism in ripening fruit. V. Analysis of cell wall synthesis in ripening tomato pericarp tissue using a D-[U-¹³C] glucose tracer and gas-chromatography-mass spectrometry. *Plant Physiology*, Baltimore, v.97, n.2, p.1456-1461, Oct. 1991.

- GRIERSON, D. Gene expression in ripening tomato fruit. **CRC Critical Reviews of Plant Science**, Cleveland, v.3, p.113-132, 1985.
- GROSS, K.C. Changes in free galactose, myo-inositol and other monosaccharides in normal and non-ripening mutant tomatoes. **Phytochemistry**, Oxford, v.22, n.5, p.1137-1139, 1983.
- GROSS, K.C. Fractionation and partial characterization of cell walls from normal and ripening tomato fruit. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.62, n.1, p.25-32, Sept. 1984.
- GROSS, K.C. Composition of ethanol-insoluble polysaccharides in water extracts of ripening tomatoes. **Phytochemistry**, Oxford, v.25, n.2, p.373-376, 1986.
- GROSS, K.C. Recent developments on tomato fruit softening. **Postharvest News and Information**, v.1, p.109-112, 1990.
- GROSS, K.C.; SALTVEIT JUNIOR, M.E. Galactose concentration and metabolism in pericarp tissue from normal and non-ripening tomato fruit. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.107, n.2, p.328-330, Mar. 1982.
- GROSS, K.C.; SAMS, C.E. Changes in cell wall neutral sugar composition during fruit ripening: a species survey. **Phytochemistry**, Oxford, v.23, n.11, p.2457-2461, 1984.
- GROSS, K.C.; WALLNER, S.J. Degradation of cell wall polysaccharides during tomato fruit ripening. **Plant Physiology**, Baltimore, v.63, n.1, p.117-120, July 1979.
- HALL, C.B.; AUGUSTINE, J.J. Fruit firmness of tomato cultivars ripened in storage AT 20°C for extended periods. **HortScience**, Alexandria, v.16, n.6, p.780-781, Dec. 1981.
- HAMSON, A.R. Factors which condition firmness in tomatoes. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, Beltsville, v.60, p.370-379, 1952.
- HEWITT, J.D.; DINAR, M.; STEVENS, M.A. Sink strength of fruits of two tomato genotypes differing in total fruit solids content. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.107, n.5, p.896-900, Sept. 1982.
- HOBSON, G.E. Controlling the ripening of tomato fruit. **Span**, Foston, v.25, p.21-23, 1982.
- HOBSON, G.E. Enzymes and texture changes during ripening. In: FRIEND, J.; RHODES, M.J.C. (ed). **Recent advances in the biochemistry of fruits and vegetables**. Londres: Academic Press, 1981. cap.6, p.121-132.
- HOBSON, G.E.; DAVIES, J.N. The tomato. In: HULME, A.C. (ed.) **The biochemistry of fruits and their products**. Londres: Academic Press, 1971. v.2, cap. 13, p.437-482.
- HOBSON, G.E.; GRIERSON, D. Tomato. In: SEYMOUR, G.B.; TAYLOR, J.E.; TUCKER, G.A. (ed.). **Biochemistry of fruit ripening**. Londres: Chapman & Hall, 1993. cap. 14, p.405-442.

- HOEBLER, C.; BARRY, J.L.; DAVID, A.; DELFORT-LAVAL, J. Rapid acid hydrolysis of plant cell wall polysaccharides and simplified quantitative determination of their neutral monosaccharides by gas-liquid chromatography. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.37, n.2, p.360-367, Feb. 1989.
- HUBER, D.J. Polyuronide degradation and hemicellulose modifications in ripening tomato fruit. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.108, n.3, p.405-409, May 1983a.
- HUBER, D.J. The role of cell wall hydrolases in fruit softening. **Horticultural Reviews**, v.5, p.169-219, 1983b.
- HUBER, D.J. Strawberry fruit softening: the potential roles of polyuronides and hemicelluloses. **Journal of Food Science**, Chicago, v.49, n.5, p.1310-1315, Sept./Oct. 1984.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas, métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3.ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1985. v.1, 533p.
- JACKMAN, R.L.; MARANGONI, A.G.; STANLEY, D.W. The effects of turgor pressure on puncture and viscoelastic properties of tomato tissue. **Journal of Texture Studies**, Trumbull, v.23, n.4, p.491-505, Dec. 1992.
- JARVIS, M.C. The proportion of calcium-bound pectin in plant cell walls. **Planta**, Berlin, v.154, n.1, p.344-346, Apr. 1982.
- JEN, J.J.; ROBINSON, M.L.P. Pectolytic enzymes in sweet bell peppers (*Capsicum annuum* L.) **Journal of Food Science**, Chicago, v.49, n.4, p.1085-1087, Mar./Apr. 1984.
- JOHN, M.A.; DEY, P.M. Postharvest changes in fruit cell wall. **Advances in Food Research**, Orlando, v.30, p.139-193, 1986.
- KADER, A.A.; MORRIS, L.L.; CHEN, P. Evaluation of two objective methods and a subjective rating scale for measuring tomato fruit firmness. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.103, n.1, p.70-73, Jan. 1978.
- KADER, A.A.; MORRIS, L.L.; STEVENS, M.A.; ALBRIGHT-HORTON, M. Composition and *flavor* quality of fresh market tomatoes as influenced by some post harvest handling procedures. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.103, n.1, p.6-13, Jan. 1978.
- KADER, A.A.; STEVENS, M.A.; ALBRIGHT-HOLTON, M.; MORRIS, L.L.; ALGAZI, M. Effect of fruit ripeness when picked on *flavor* and composition of fresh market tomatoes. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.102, n.6, p.724-731, Nov. 1977.

- KIM, J.; GROSS, K.C.; SOLOMOS, T. Characterization of the stimulation of ethylene production by galactose in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruit. **Plant Physiology**, Baltimore, v.85, n.3, p.804-807, Nov. 1987.
- KIM, J.; GROSS, K.C.; SOLOMOS, T. Galactose metabolism and ethylene production during development and ripening of tomato fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.1, p.67-80, 1991.
- KNEE, M. Metabolism of polymethylgalacturonate in apple fruit cortical tissue during ripening. **Phytochemistry**, Oxford, v.17, n.5, p.1261-1264, 1978a.
- KNEE, M. Properties of polygalacturonate and cell cohesion in apple fruit cortical tissue. **Phytochemistry**, Oxford, v.17, n.5, p.1257-1260, 1978b.
- KNEE, M.; BARTLEY, I.M. Composition and metabolism of cell wall polysaccharides in ripening fruits. In: FRIEND, J.; RHODES, M.J.C. (ed.). **Recent advances in the biochemistry of fruits and vegetables**. Londres: Academic Press, 1981. cap. 7, p.131-146.
- KNEE, M.; FINGER, F.L. NADP⁺-malic enzyme and organic acid levels in developing tomato fruits. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.117, n.5, p.799-801, Sept. 1992.
- KOCH, J.L.; NEVINS, D.J. Tomato fruit cell wall. I. Use of purified tomato polygalacturonase and pectinmethylesterase to identify development changes in pectins. **Plant Physiology**, Baltimore, v.91, p.816-822, 1989.
- KOPELIOVITCH, E.; MIZRAHI, Y.; RABINOWITCH, H.D.; KEDAR, N. Physiology of the tomato mutant alcobaça. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.48, n.2, p.307-311, 1980.
- KOPELIOVITCH, E.; MIZRAHI, Y.; RABINOWITCH, H.D.; KEDAR, N. Effects of tomato ripening mutation genes *rin* and *nor* on the *flavor* of tomato fruit. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.107, n.3, p.361-364, May 1982.
- KOPELIOVITCH, E.; RABINOWITCH, H.D.; MIZRAHI, Y.; KEDAR, N. The potential of ripening mutants for extending shelf-life of the tomato fruit. **Euphytica**, Wageningen, v.28, n.1, p.99-104, Feb. 1979.
- KOPELIOVITCH, E.; RABINOWITCH, H.D.; MIZRAHI, Y.; KEDAR, N. Mode of inheritance of alcobaça, a tomato fruit-ripening mutant. **Euphytica**, Wageningen, v.30, n.1, p.223-225, 1981.
- LABAVITCH, J.M. Cell wall turnover in plant development. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.32, p.385-406, 1981.
- LEAL, N.R.; MITZUBUTI, A. Características de conservação natural pós-colheita de frutos de híbridos entre a introdução 'alcobaça' e alguns cultivares de amadurecimento normal. **Experientiae**, Viçosa, v.19, n.11, p.239-257, jun. 1975.

- LEAL, N.R.; SHIMOYA, C. Anatomia do pericarpo de híbridos entre a introdução 'Alcobaça' e alguns cultivares de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Revista Ceres**, Viçosa, v.20, n.108, p.75-86, abr. 1973a.
- LEAL, N.R.; SHIMOYA, C. Anatomia dos frutos do cultivar de tomateiro 'Alcobaça' em diferentes períodos de armazenamento. **Revista Ceres**, Viçosa, v.20, n.110, p.283-289, maio/jun. 1973b.
- LEAL, N.R.; TABIM, M.H. Testes de conservação natural pós-colheita, além dos 300 dias, de frutos de alguns cultivares de tomateiros (*Lycopersicon esculentum* Mill.) e híbridos destes com 'alcobaça'. **Revista Ceres**, Viçosa, v.21, n.116, p.318-328, jul./ago. 1974.
- LIMA, L.C.O. **Bioquímica da parede celular de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cv. Santa Clara: transformação e interação com o cálcio durante a maturação.** Lavras: ESAL, 1992. 100p. (Dissertação - Mestrado em Ciência dos Alimentos).
- LOBO, M. **Genetic and physiological studies of the 'alcobaça' tomato ripening mutant.** Gainesville: University of Florida, 1981. 107p. (Tese - PhD).
- LOWER, R.L.; THOMPSON, A.E. Sampling variation of acidity and solids in tomatoes. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, Beltsville, v.89, p.512-552, 1966.
- LURIE, S.; LEVIN, A.; GREVE, C.; LABAVITCH, J.M. Pectic polymer changes in nectarines during normal and abnormal ripening. **Phytochemistry**, Oxford, v.36, n.1, p.11-17, 1994.
- McCOLLUM, J.P. Distribution of carotenoids in the tomato. **Food Research**, Chicago, v.20, n.1, p.55-59, Jan./Feb. 1955.
- McCOLLUM, T.G.; HUBER, D.J.; CANTLIFFE, D.J. Modification of polyuronides and hemicelluloses during muskmelon fruit softening. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.76, n.3, p.303-308, May 1989.
- McCREADY, R.M.; McCOMB, E.A. Extraction and determination of total pectic materials in fruits. **Analytical Chemistry**, Washington, v.24, n.12, p.1586-1588, Dec. 1952.
- McGLASSON, W.B.; SUMEGHY, J.B.; MORRIS, L.L.; McBRIDE, R.L.; BEST, D.J.; TIGCHELAAR, E.C. Yield and evaluation of F₁ tomato hybrids incorporating the non-ripening *nor* gene. **Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry**, East Melbourne, v.23, n.120, p.106-112, Feb. 1983.
- MALIS-ARAD, S.; DIDI, S.; MIZRAHI, Y.; KOPELIOVITCH, E. Pectic substances: changes in soft and firm cultivars and in non-ripening mutants. **Journal of Horticultural Science**, Ashford, v.58, n.1, p.111-116, Jan. 1983.

- MANGAS, J.J.; DAPENA, E.; RODRIGUEZ, M.S.; MORENO, J.; GUTIÉRREZ, M.D.; BLANCO, D. Changes in pectic fractions during ripening of cider apples. *HortScience*, Alexandria, v.27, n., p.328-330, Apr. 1992.
- MARKOVIČ, O.; KOHN, R. Mode of pectin deesterification by *Trichoderma reesei* pectinesterase. *Experientia*, Basel, v.40, p.842-843, 1984.
- MARTIN, F.W. Genes for long shelf life in tomato. *Journal of the Agricultural university of Porto Rico*, Rio Piedras, v.71, n.3, p.313-321, July 1987.
- 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.
- MELO, P.C.T. de; MIRANDA, J.E.C.; COSTA, C.P. da. Possibilidades e limitações de uso de híbridos F₁ de tomate. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.6, n.1, p.4-7, maio 1988.
- MENCARELLI, F.; SALTVEIT, M.E. Ripening of mature green tomato fruit slices. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.113, n.5, p.742-745, Sept. 1988.
- MITCHAM, E.J.; GROSS, K.C.; NG, T.J. Tomato fruit cell wall synthesis during development and senescence. *Plant Physiology*, Baltimore, v.89, p.477-481, 1989.
- MITCHAM, E.J.; GROSS, K.C.; NG, T.J. Ripening and cell wall synthesis in normal and mutant tomato fruit. *Phytochemistry*, Oxford, v.30, n.6, p.1777-1780, 1991.
- MUTSCHLER, M.A. Inheritance and linkage of 'Alcobaça' ripening mutant in tomato. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.109, n.4, p.500-503, July 1984a.
- MUTSCHLER, M.A. Ripening and storage characteristics of the 'Alcobaça' ripening mutant in tomato. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.109, n.4, p.504-507, July 1984b.
- MUTSCHLER, M.; GUTIERI, M.; KINZER, S.; GRIERSON, D.; TUCKER, G. Changes in ripening-related processes in tomato conditioned by the alc mutant. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v.76, p.285-292, 1988.
- MUTSCHLER, M.A.; WOLFE, D.W.; COBB, E.D.; YOURSTONE, K.S. Tomato fruit quality and shelf life in hybrids heterozygous for the *alc* ripening mutant. *HortScience*, Alexandria, v.27, n.4, p.352-355, Apr. 1992.
- NAGATA, M.; YAMASHITA, I. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. *Nippon Shokubin Kogyo Gakkaishi*, Tokio, v.39, n.10, p.925-928, 1992.

- NELSON, N.A. A photometric adaptation of Somogyi method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.135, p.136-175, 1944.
- NGUYEN, V.Q.; ASHCROFT, W.J.; JONES, K.H.; McGLASSON, W.B. Evaluation of F₁ hybrids incorporating the rin (ripening inhibitor) gene to improve the storage life and fruit quality of fresh market tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Australian Journal of Experimental Agriculture**, East Melbourne, v.31, n.3, p.407-13, 1991.
- PANTASTICO, E.B. Structure of fruits and vegetables. In: PANTASTICO, E.B. (ed.) **Postharvest physiology, handling and utilization of tropical fruits and vegetables**. Westport: AVI, 1975. p.1-24.
- PICHA, D.H.; HALL, C.B. Effect of potassium fertilization and season on fresh market tomato quality characters. **HortScience**, Alexandria, v.17, n.4, p.634-635, Aug. 1982.
- PILNIK, W.; VORAGEN, A.G.J. Pectic substances and other uronides. In: HULME, A.C. (ed.) **The biochemistry of fruit and their products**. New York: Academic Press, 1970. v.1, cap.3, p.53-87.
- POGSON, B.J.; BRADY, C.J. Do multiple forms of tomato fruit endopolygalacturonase exist *in situ*? **Postharvest Biology and Technology**, v.3, p.17-26, 1993.
- POLDERDIJK, J.J.; TIJKENS, L.M.M.; ROBBERS, J.E.; VAN DER VALK, H.C.P.M. Predictive model for keeping quality of tomatoes. **Postharvest Biology and Technology**, v.2., p.179-185, 1993.
- POOVAIAH, B.W. Effects of inorganic cations on ethephon-induced increases in membrane permeability. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.104, n.2, p.164-166, Mar. 1979.
- PRESSEY, R. β -Galactosidases in ripening tomatoes. **Plant physiology**, Baltimore, v.71, n.1, p.132-135, May 1983.
- PRESSEY, R. Purification and characterization of tomato polygalacturonase converter. **European Journal of Biochemistry**, Londres, v.144, p.217-221, 1984.
- PRESSEY, R. Extraction and assay of tomato polygalacturonases. **HortScience**, Alexandria, v.21, n.3, p.490-492, June 1986.
- PRESSEY, R. Reevaluation of the changes in polygalacturonases in tomatoes during ripening. **Planta**, Berlin, v.174, n.1, p.39-43, Apr. 1988.
- PRESSEY, R.; AVANTS, J.K. Separation and characterization of the exopolygalacturonase and endopolygalacturonase from peaches. **Plant Physiology**, Baltimore, v.52, p.252-256, 1973.
- PRESSEY, R.; AVANTS, J.K. Solubilization of cell walls by tomato polygalacturonase: role of pectinesterases. **Journal of Food Biochemistry**, Westport, v.6, n.1, p.57-74, Mar. 1982.

- RESENDE, J.M. **Caracterização da qualidade de dez genótipos de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) do grupo multilocular.** Lavras:UFLA, 1995. 88p. (Dissertação- Mestrado em Ciência dos Alimentos).
- RICARDO, C.P.P. Aspectos da fisiologia do cálcio nas plantas. **Garcia de Orta, Série Estudos Agronomicos**, Lisboa, v.10, p.65-76, 1983.
- RIGNEY, C.J.; WILLS, R.B.H. Calcium movement, a regulating factor in the initiation of tomato fruit ripening. **HortScience**, Alexandria, v.16, n.6, p.550-551, Dec. 1981.
- RUSHING, J.W.; HUBER, D.J. *In vitro* characterization of tomato fruit softening. **Plant Physiology**, Baltimore, v.75, n.4, p.891-894, Aug. 1984.
- RUSHING, J.W.; HUBER, D.J. Mobility limitations of bound polygalacturonase in isolated cell wall from tomato pericarp tissue. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.115, n.1, p.97-101, Jan. 1990.
- SAPERS, G.M.; PHILLIPS, J.G.; STONER, A.K. Tomato acidity and the safety of home canned tomatoes. **HortScience**, Alexandria, v.12, n.2, p.204-206, Apr. 1977.
- SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. **Análise Química de Plantas.** Piracicaba: ESALQ, 1974. 56p.
- SCHUCH, W. Improved tomato quality through biotechnology. **Food Technology**, Chicago, v.48, n.11, p.78-83, Nov. 1994.
- SCHUCH, W.; KANZLER, J.; ROBERTSON, D.; HOBSON, G.; TUCKER, G.; GRIERSON, D.; BRIGHT, S.; BIRD, C. Fruit quality characteristics of transgenic tomato fruit with altered polygalacturonase activity. **HortScience**, Alexandria, v.26, n.12, p. 1517-1520, Dec. 1991.
- SEYMOUR, G.B.; COLQUHOUN, I.J.; DUPONT, M.S.; PARSLEY, K.R.; SELVENDRAN, R.R. Composition and structural features of cell wall polysaccharides from tomato fruits. **Phytochemistry**, Oxford, v.29, n.3, p.725-731, 1990.
- SEYMOUR, G.B.; HARDING, S.E.; TAYLOR, A.J.; HOBSON, G.E.; TUCKER, G.A. Polyuronide solubilization during ripening of normal and mutant tomato fruit. **Phytochemistry**, Oxford, v.26, n.6, p.1871-1875, 1987.
- SEYMOUR, G.B.; LASSLET, Y.; TUCKER, G.A. Differential effects of pectolytic enzymes on tomato polyuronides in vivo and in vitro. **Phytochemistry**, Oxford, v.26, n.12, p.3137-3139, 1987.
- SHACKEL, K.A.; GREVE, L.C.; LABAVITCH, J.M.; AHMAD, H. Cell turgor changes associated with ripening in tomato pericarp tissue. **Plant Physiology**, Baltimore, v.97, n.2, p.814-816, Oct. 1991.

- SMITH, C.J.S.; WATSON, C.F.; RAY, J.; BIRD, C.R.; MORRIS, P.C.; SCHUCH, W.; GRIERSON, D. Antisense RNA inhibition of polygalacturonase gene expression in transgenic tomatoes. *Nature*, Londres, v.334, n.25, p.724-726, 1988.
- SOUZA, J.C. *Avaliação de tomateiros híbridos do grupo multilocular, portadores do alelo 'alcobaça' em heterozigose*. Lavras: UFLA, 1995. 56p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).
- STEVENS, M.A. Relationship between components contributing to quality variation among tomato lines. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.97, n.1, p.70-73, Jan. 1972.
- STEVENS, M.A.; KADER, A.A.; ALBRIGHT, M. Potencial for increasing tomato *flavor* via increased sugar and acid content. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.104, n.1, p.40-42, Jan. 1979.
- STEVENS, M.A.; KADER, A.A.; ALBRIGHT-HOLTON, M.; ALGAZI, M. Genotypic variation for *flavor* and composition in fresh market tomatoes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.102, n.5, p.680-689, Sept. 1977
- STOMMEL, J.R.; HAYNES, K.G. Genetic control of fruit sugar accumulation in a *Lycopersicon esculentum* x *L.hirsutum* cross. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.118, n.2, p.859-863, Mar. 1993.
- SUWWAN, N.A.; POOVIAH, B.W. Association between elemental content and fruit ripening in rin and normal tomatoes. *Plant Physiology*, Baltimore, v.61, n.6, p.883-885, June 1978.
- THOMPSON, A. E.; TOMES, M.L.; WANN, E.V.; MCCOLLUM, J. P.; STONER, A.K. Characterization of crimson tomato fruit color. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, Beltsville, v.86, p.610-616, 1965.
- THOMPSON, A.E. A comparison of fruit quality constituents of normal and high pigment tomatoes. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, Beltsville, v.78, p.464-473, 1961.
- TIEMAN, D.M.; HANDA, A.K. Reduction in pectinmethylesterase activity modifies tissue integrity and cation levels in ripening tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits. *Plant Physiology*, Baltimore, v.106, n.2, p.429-436, Oct. 1994.
- TIGCHELAAR, E.C.; MCGLASSON, W.B.; BUESCHER, R.W. Genetic regulation of tomato fruit ripening. *HortScience*, Alexandria, v.13, n.5, p.508-513, Oct. 1978.
- TONG, C.B.S.; GROSS, K.C. Glycosil-linkage composition of tomato fruit cell wall hemicellulosic fractions during ripening. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.74, n.2, p.365-370, Oct. 1988.

- TONG, C.B.S.; GROSS, K.C. Ripening characteristics of a tomato mutant, *dark green*. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.114, n.4, p.635-638, July 1989.
- UPDEGRAFF, D.M. Semi-micro determination of cellulose in biological materials. **Analytical Biochemistry**, New York, v.32, p.420-424, 1969.
- VAN BUREN, J.P. The chemistry of texture in fruits and vegetables. **Journal of Texture Studies**, Westport, v.10, n.1, p.1-23, Jan. 1979.
- VOLIN, R.B.; BRYAN, H.H. **Flora dade a fresh market tomato with resistance to *Verticillium* wilt**. Agriculture Experimental Station, Institute of Food and Agricultural Sciences, Gainesville: University of Florida, 1976. 9p. (Circular S-246).
- WALLNER, S.J.; BLOOM, H.L. Characteristics of tomato cell wall degradation in vitro. Implications for the study of fruit softening enzymes. **Plant Physiology**, Baltimore, v.60, n.2, p.207-210, Aug. 1977.
- WANG, C.H.; HANSEN, E.; CHRISTENSEN, B.E. Conversion of C¹⁴ labeled acetate to citric and malic acids in the tomato fruit. **Plant Physiology**, Washington, v.28, n.4, p.741-750, Oct. 1953.
- WILBERG, V.C.; AMAYA, D.B.R. Quantificação de β -caroteno e licopeno em tomate e em alguns dos seus produtos por cromatografia líquida de alta eficiência. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.13, n.2, p.132-141, jul./dez. 1993.
- WINSOR, G.W.; DAVIES, J.N.; MASSEY, D.M. Composition of tomato fruit. III. Juices from whole fruit and locules AT different stages of ripeness. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.13, n.2, p.108-115, Feb. 1962.
- YOUNG, T.E.; JUVIK, J.A.; SULLIVAN, J.G. Accumulation of the components of total solids in ripening fruits of tomato. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.118, n.2, p.286-292, Mar. 1993.
- ZHENG, L.; WATSON, C.F.; DELLA PENNA, D. Differential expression of the two subunits of tomato polygalactaronase isoenzyme 1 in wild-type and rin tomato fruit. **Plant Physiology**, Baltimore, v.105, n.4, p.1189-1195, Aug. 1994.

APÊNDICE

TABELA 1A. Valores médios de Acidez total titulável (% ácido cítrico) em tomates homozigotos 'alcobaça', de amadurecimento normal, seus híbridos heterozigotos F₁ e a testemunha Flora Dade, colhidos em cinco estádios de maturação. ⁽¹⁾

Genótipo	Estádio					
	Verde Maduro	<i>Breaker</i>	<i>Turning</i>	Maduro	Vermelho Maduro	Médias
Flora Dade	0,1480	0,1397	0,1656	0,1843	0,1893	0,1654 ab
TOM-559	0,1302	0,1480	0,1758	0,1708	0,1958	0,1641 ab
Flórida 1B	0,1601	0,1181	0,1457	0,1559	0,1722	0,1504 ab
F ₁ (Flórida 1B × TOM-559)	0,1480	0,1473	0,1750	0,1750	0,2192	0,1729 a
Piedmont	0,1558	0,1739	0,1497	0,1822	0,1680	0,1659 a
F ₁ (Piedmont × TOM-559)	0,1480	0,1692	0,1789	0,1601	0,2006	0,1714 a
Rotam 4	0,1523	0,1430	0,1288	0,1672	0,1758	0,1534 ab
F ₁ (Rotam-4 × TOM-559)	0,1132	0,1487	0,1509	0,1359	0,1587	0,1415 b
CV(%) = 13,40						

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey em P < 0,05.

TABELA 2A. Valores médios de Sólidos solúveis totais (°Brix) em tomates homozigotos 'alcobaça', de amadurecimento normal, seus híbridos heterozigotos F₁ e a testemunha Flora Dade, colhidos em cinco estádios de maturação. ⁽¹⁾

Genótipo	Estádio					
	Verde Maduro	<i>Breaker</i>	<i>Turning</i>	Maduro	Vermelho Maduro	Médias
Flora Dade	3,75 a A	2,60 cd B	2,65 c B	3,63 a A	3,54 a A	3,23 cd
TOM-559	3,90 a A	3,73 a A	3,60 a A	3,80 a A	4,14 a A	3,83 a
Flórida 1-B	4,05 a A	2,83 bcd B	2,83 bc B	4,19 a A	3,90 a A	3,56 ab
F ₁ (Flórida 1B × TOM-559)	3,89 a AB	2,30 de C	3,42 ab B	3,90 a AB	4,03 a A	3,51 bc
Piedmont	3,93 a AB	3,43 ab B	3,40 ab B	4,00 a AB	4,10 a A	3,77 ab
F ₁ (Piedmont × TOM-559)	4,01 a A	3,18 abc BC	2,98 abc C	3,67 a AB	3,88 a A	3,54 ab
Rotam 4	3,89 a AB	3,67 a A	2,68 c B	3,70 a A	3,81 a A	3,55 ab
F ₁ (Rotam-4 × TOM-559)	3,52 a A	1,82 eB	3,60 a A	3,55 a A	3,53 a A	3,21 d
CV(%) = 7,49						

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey em P < 0,05.

TABELA 3A. Valores médios de açúcares solúveis totais (%) em tomates homozigotos 'alcobaça', de amadurecimento normal, seus híbridos heterozigotos F₁ e a testemunha Flora Dade, colhidos em cinco estádios de maturação. ⁽¹⁾

Genótipo	Estádio					
	Verde Maduro	Breaker	Turning	Maduro	Vermelho Maduro	Médias
Flora Dade	2,38	2,46	2,29	2,19	2,01	2,27 b
TOM-559	2,59	2,67	2,56	2,32	2,38	2,50 ab
Florida 1B	2,58	2,34	2,23	2,60	2,54	2,46 ab
F ₁ (Florida 1B × TOM-559)	2,64	2,66	2,48	2,38	2,11	2,45 ab
Piedmont	2,76	2,74	2,78	2,13	2,56	2,59 a
F ₁ (Piedmont × TOM-559)	2,29	2,74	2,34	2,17	2,19	2,35 ab
Rotam 4	2,38	2,38	2,38	2,13	2,17	2,29 b
F ₁ (Rotam-4 × TOM-559)	2,46	2,25	2,51	2,34	2,34	2,38 ab

CV(%) = 9,55

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey em P < 0,05.

TABELA 4A. Valores médios de pectina total (mg de ácido galacturônico /100g) em tomates homozigotos 'alcobaça', de amadurecimento normal, seus híbridos heterozigotos F₁ e a testemunha Flora Dade, colhidos em cinco estádios de maturação.

Genótipo	Estádio					
	Verde Maduro	Breaker	Turning	Maduro	Vermelho Maduro	Médias ⁽¹⁾
Flora Dade	435,10	435,10	458,00	677,67	652,65	531,70 a
TOM-559	532,43	480,90	561,05	587,77	561,05	544,64 a
Flórida 1B	582,07	465,63	679,37	572,50	618,30	583,57 a
F ₁ (Florida 1B × TOM-559)	538,15	538,15	480,90	561,05	564,87	536,62 a
Piedmont	549,60	667,58	477,25	603,03	652,65	590,02 a
F ₁ (Piedmont × TOM-559)	557,23	496,17	518,07	496,17	587,77	531,08 a
Rotam 4	599,22	545,78	473,27	618,30	526,70	552,65 a
F ₁ (Rotam-4 × TOM-559)	625,93	583,95	549,07	645,02	687,00	618,19 a

CV(%) = 17,99

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey em P < 0,05.

TABELA 5A. Valores médios de cálcio total (%) em tomates homozigotos 'alcobaça', de amadurecimento normal, seus híbridos heterozigotos F₁ e a testemunha Flora Dade, colhidos em cinco estádios de maturação.

Genótipo	Estádio					Médias ⁽¹⁾
	Verde Maduro	<i>Breaker</i>	<i>Turning</i>	Maduro	Vermelho Maduro	
Flora Dade	0,1150	0,1300	0,1650	0,1600	0,1550	0,1450 cd
TOM-559	0,1450	0,1200	0,1700	0,1550	0,1500	0,1480 cd
Florida 1B	0,1000	0,1550	0,1300	0,1335	0,1700	0,1380 cd
F ₁ (Florida 1B × TOM-559)	0,1000	0,1350	0,1250	0,1350	0,0950	0,1180 d
Piedmont	0,1150	0,0950	0,1200	0,1450	0,1300	0,1210 d
F ₁ (Piedmont × TOM-559)	0,1400	0,1600	0,1500	0,1500	0,1850	0,1610 bc
Rotam 4	0,1450	0,1950	0,1750	0,1850	0,2000	0,1800 ab
F ₁ (Rotam-4 × TOM-559)	0,1800	0,2700	0,2000	0,2000	0,2050	0,2090 a
CV(%) = 14,44						

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey em P < 0,05.

TABELA 6A. Valores médios de ácido galacturônico (%) na parede celular em tomates homozigotos 'alcobaça', de amadurecimento normal, seus híbridos heterozigotos F₁ e a testemunha Flora Dade, colhidos em cinco estádios de maturação. ⁽¹⁾

Genótipo	Estádio				
	Verde Maduro	<i>Breaker</i>	<i>Turning</i>	Maduro	Vermelho Maduro
Flora Dade	32,07 ab AB	38,19 a A	32,83 a AB	30,16 ab AB	29,01 b B
TOM-559	32,83 ab B	33,22 a B	32,07 ab B	33,22 ab B	42,78 a A
Florida 1B	36,66 a A	35,51 a A	32,83 a A	34,75 a A	29,77 b A
F ₁ (Florida 1B × TOM-559)	27,62 abc A	34,67 a A	33,79 a A	32,02 ab A	27,62 bc A
Piedmont	24,42 bc A	20,97 b A	22,88 b A	24,04 b A	19,06 c A
F ₁ (Piedmont × TOM-559)	28,06 abc A	32,47 a A	35,56 a A	32,91 ab A	30,26 b A
Rotam 4	19,67 c B	17,03 b B	32,02 ab A	36,88 a A	28,50 bc A
F ₁ (Rotam-4 × TOM-559)	28,06 abc A	35,02 a A	30,26 ab A	32,91 ab A	28,94 b A
CV(%) = 10,94					

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey em P < 0,05.

TABELA 7A. Valores médios de arabinose (%) na parede celular em tomates homozigotos 'alcobaça', de amadurecimento normal, seus híbridos heterozigotos F₁ e a testemunha Flora Dade, colhidos em cinco estádios de maturação. ⁽¹⁾

Genótipo	Estádio				
	Verde Maduro	<i>Breaker</i>	<i>Turning</i>	Maduro	Vermelho Maduro
Flora Dade	1,82 bc B	2,16 a A	1,74 cd B	1,25 c C	1,40 cd C
TOM - 559	1,54 d C	1,54 c C	1,73 cd B	0,76 e D	2,02 a A
Florida 1-B	2,37 a A	2,12 a A	1,56 d CD	1,52 bc D	1,73 b C
F ₁ (Florida 1B × Tom - 559)	1,93 b A	1,59 c B	1,91 bc A	1,43 c B	1,21 de C
Piedmont	1,77 bc A	1,24 d B	0,99 e C	1,29 c B	0,39 f D
F ₁ (Piedmont × Tom - 559)	1,66 cd B	1,50 c B	3,92 a A	1,48 c B	0,96 e C
Rotham - 4	1,68 cd C	1,85 b BC	2,07 b A	1,98 a AB	0,97 e C
F ₁ (Rotham-4 × Tom - 559)	1,65 cd BC	1,85 b A	1,84 c A	1,80 ab AB	1,56 bc C
CV(%) = 5,69					

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey em P < 0,05.

TABELA 8A. Valores médios de galactose (%) na parede celular em tomates homozigotos 'alcobaça', de amadurecimento normal, seus híbridos heterozigotos F₁ e a testemunha Flora Dade, colhidos em cinco estádios de maturação. ⁽¹⁾

Genótipo	Estádio				
	Verde Maduro	<i>Breaker</i>	<i>Turning</i>	Maduro	Vermelho Maduro
Flora Dade	5,40 c B	4,25 c C	5,84 a A	1,67 g E	3,07 d D
TOM-559	3,35 e C	5,54 a B	5,52 b B	0,56 h D	6,04 a A
Florida 1-B	6,14 b A	3,53 e B	2,69 d C	2,91 e C	3,66 c B
F ₁ (Florida 1B × TOM-559)	6,54 a A	4,84 b C	5,60 ab B	5,05 a C	3,13 d D
Piedmont	4,31 d A	3,75 de B	1,03 e E	2,01 c D	0,39 f D
F ₁ (Piedmont × TOM-559)	3,42 e C	5,77 a A	5,46 b B	3,65 d C	1,88 e D
Rotam 4	4,17 d BC	3,95 cd C	4,76 c A	4,39 b B	3,00 c C
F ₁ (Rotam-4 × TOM-559)	4,29 d C	4,95 b B	5,53 b A	4,00 c D	4,00 b D
CV(%) = 2,38					

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey em P < 0,05.

TABELA 9A. Valores médios de ramnose (%) na parede celular em tomates homozigotos 'alcobaça', de amadurecimento normal, seus híbridos heterozigotos F₁ e a testemunha Flora Dade, colhidos em cinco estádios de maturação. ⁽¹⁾

Genótipo	Estádio				
	Verde Maduro	<i>Breaker</i>	<i>Turning</i>	Maduro	Vermelho Maduro
Flora Dade	0,18 cde A	0,18 b A	0,17 b A	0,18 bc A	0,21 b A
TOM-559	0,52 a A	0,27 a B	0,18 b C	0,06 d D	0,21 b C
Florida 1B	0,23 bc A	0,18 b AB	0,14 bc B	0,14 c B	0,21 b A
F ₁ (Florida 1B × TOM-559)	0,25 b A	0,20 b A	0,20 b A	0,20 bc A	0,14 c B
Piedmont	0,14 de AB	0,18 b A	0,09 c B	0,14 c B	0,09 c B
F ₁ (Piedmont × TOM-559)	0,12 e BC	0,22 ab A	0,17 b AB	0,14 c BC	0,09 c C
Rotam 4	0,18 cde C	0,20 b C	0,17 b C	0,31 a B	0,39 a A
F ₁ (Rotam-4 × TOM-559)	0,19 bcd B	0,17 b B	0,30 a A	0,21 b B	0,22 b C
CV(%) = 9,86					

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey em P < 0,05.

TABELA 10A. Valores médios de xilose (%) na parede celular em tomates homozigotos 'alcobaça', de amadurecimento normal, seus híbridos heterozigotos F₁ e a testemunha Flora Dade, colhidos em cinco estádios de maturação. ⁽¹⁾

Genótipo	Estádio				
	Verde Maduro	<i>Breaker</i>	<i>Turning</i>	Maduro	Vermelho Maduro
Flora Dade	0,59 bc B	1,01 a A	0,59 d B	0,54 d B	0,95 b A
TOM-559	0,44 cd B	0,64 bcd AB	0,69 d A	0,17 e C	0,83 b A
Florida 1B	0,73 b A	0,53 d AB	0,22 e C	0,43 d BC	0,72 b A
F ₁ (Florida 1B × TOM-559)	1,15 a B	0,76 abcd C	1,25 bc B	1,52 a A	0,86 b C
Piedmont	0,76 b A	0,71 bcd A	0,23 e B	0,81 c A	0,91 b A
F ₁ (Piedmont × TOM-559)	0,32 d C	0,85 ab B	2,09 a A	0,33 de C	0,26 c C
Rotam 4	0,67 bc B	0,57 cd B	0,99 c A	1,22 b A	0,21 c C
F ₁ (Rotam-4 × TOM-559)	0,76 b B	0,82 abc B	1,28 b A	1,17 b A	1,27 a A
CV(%) = 10,75					

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey em P < 0,05.

TABELA 11A. Valores médios de manose (%) na parede celular em tomates homozigotos 'alcobaça', de amadurecimento normal, seus híbridos heterozigotos F₁ e a testemunha Flora Dade, colhidos em cinco estádios de maturação. ⁽¹⁾

Genótipo	Estádio				
	Verde Maduro	Breaker	Turning	Maduro	Vermelho Maduro
Flora Dade	1,84 c A	1,47 e B	0,69 e D	1,09 c C	1,31 b B
TOM-559	1,13 d B	1,90 bc A	1,99 a A	0,74 d C	0,80 d C
Florida 1B	1,92 c CD	2,04 b BC	2,13 a AB	1,76 a D	2,25 a A
F ₁ (Florida 1B × TOM-559)	1,84 c A	0,76 g D	1,18 cd C	1,52 b B	0,86 cd D
Piedmont	2,62 a A	1,07 f B	0,33 f C	1,08 c B	1,06 c B
F ₁ (Piedmont × TOM-559)	2,24 b A	1,67 de B	1,36 c C	1,39 b C	1,07 c D
Rotam 4	2,67 a A	2,45 a B	0,99 d D	1,55 ab C	0,26 e E
F ₁ (Rotam-4 × TOM-559)	1,83 c A	1,73 cd A	1,74 b A	1,36 b B	0,97 cd C

CV(%) = 4,67

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey em P < 0,05.

TABELA 12A. Valores médios de glicose (%) na parede celular em tomates homozigotos 'alcobaça', de amadurecimento normal, seus híbridos heterozigotos F₁ e a testemunha Flora Dade, colhidos em cinco estádios de maturação. ⁽¹⁾

Genótipo	Estádio				
	Verde Maduro	Breaker	Turning	Maduro	Vermelho Maduro
Flora Dade	7,64 c A	4,61 d B	1,76 ef D	4,68 b B	3,46 b C
TOM-559	5,00 e C	11,37 a A	10,09 a B	2,36 cd D	1,90 c D
Florida 1B	6,05 d C	6,67 bc C	9,92 a A	6,61 a C	8,66 a B
F ₁ (Florida 1B × TOM-559)	5,68 de B	1,87 e D	3,90 c C	6,84 a A	1,62 c D
Piedmont	11,82 a A	4,12 d B	1,51 d C	1,47 c C	1,49 c C
F ₁ (Piedmont × TOM-559)	10,07 b A	5,80 c B	3,51 cd C	3,18 c C	3,66 b C
Rotam 4	12,67 a A	12,00 a A	2,55 de C	4,72 b B	1,15 c D
F ₁ (Rotam-4 × TOM-559)	7,26 c A	7,12 b A	6,88 b A	4,91 b B	1,13 c C

CV(%) = 5,67

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey em P < 0,05.

