

**ESTUDOS GENÉTICO-FISIOLÓGICOS DOS  
MUTANTES *ALCOBAÇA (alc)*, *NON-RIPENING  
(nor)* E *RIPENING-INHIBITOR (rin)* EM  
TOMATEIRO**

**FLÁVIO RODRIGO GANDOLFI BENITES**

**2003**

**FLÁVIO RODRIGO GANDOLFI BENITES**

ESTUDOS GENÉTICO-FISIOLÓGICOS DOS MUTANTES *alcobaça*  
(*alc*), *non-ripening* (*nor*) e *ripening-inhibitor* (*rin*) EM TOMATEIRO.

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador:

Prof. Dr. Luciano Vilela Paiva

Co-orientador:

Prof. Dr. Wilson Roberto Maluf

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2003

Benites, Flávio Rodrigo Gandolfi

Estudos genético-fisiológicos dos mutantes *alcobaça (alc)*, *non-ripening (nor)* e *ripening-inhibitor (rin)* em tomateiro / Flavio Rodrigo Gandolfi

Benites . -- Lavras : UFLA, 2003.

106 p. : il.

Orientador: Luciano Vilela Paiva.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. *Lycopersicum esculentum*. 2. Mutantes de amadurecimento. 3. Conservação pós-colheita. 4. Teste de anelismo. 5. RAPD. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-635.64223

-635.6426

## **OFEREÇO**

A DEUS E AOS MEUS MENTORES PELA AJUDA, COMPANHIA E  
INSPIRAÇÃO.

## **DEDICO**

A MEUS AMADOS PAIS, MIGUEL E MARIA HELENA, PELA VIDA E  
PELA AJUDA PRESTADA À MINHA FORMAÇÃO ACADÊMICA E  
MORAL, MEU ETERNO AGRADECIMENTO.

A MEU AVÓ ALCIDES E A MINHA AVÔ INÊS (*in memoriam*)

À MINHA IRMÃ MORISA E AO MEU IRMÃO FÁBIO.

## AGRADECIMENTO

A DEUS e a meus mentores espirituais pela força, ajuda e companhia durante os meus 25 anos.

Ao meu pai e a minha mãe pelo suporte financeiro e confiança durante todos os meus anos de estudo.

À Universidade Federal de Lavras e aos Departamentos de Biologia e Agricultura .

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de Mestrado

Ao professor W. R. Maluf pelos ensinamentos, amizade e orientação desde a iniciação científica até o mestrado.

Ao professor Luciano Paiva pela amizade, incentivo e orientação no mestrado.

Ao professor César Brasil pelas sugestões e correções na dissertação.

Ao Centro Nacional de Pesquisa em Milho e Sorgo – EMBRAPA por ter permitido o desenvolvimento da minha dissertação.

Ao professor José Eduardo por disponibilizar seu laboratório para condução dos experimentos.

À Cláudia Guimarães pela orientação e ensinamentos durante a condução do experimento desenvolvido na EMBRAPA.

Ao amigo Marcos Faria pela ajuda, convivência e aprendizado durante a condução do experimento de dissertação.

Aos amigos e colegas: Mirian, Helton, Marcelo, Lourenço, Rogério, Nuno, Marcinho, Juliano, Lucianinho, Cícero (Ceará), Ildon, Tiãozinho, Valtinho, Luis Antônio, Moreto, Vicente, Nara, Gláuco, Anderson, Zé Hortêncio, Baiano, colegas do GEN e ao meu super time Corinthians pela alegria proporcionada durante minha vida.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
RESUMO.....	i
ABSTRACT .....	ii
1 INTRODUÇÃO GERAL .....	01
2 CAPÍTULO I Mutantes <i>alcobaça (alc)</i> , <i>non-ripening (nor)</i> e <i>ripening-inhibitor (rin)</i> na conservação pós-colheita de frutos de tomateiro.....	03
2.1 Resumo.....	04
2.2 Abstract.....	06
2.3 Introdução .....	08
2.4 Referencial Teórico.....	11
2.4.1 Aspectos gerais .....	11
2.4.2 Alelos mutantes.....	12
2.4.3 Teste de alelismo .....	15
2.4.4 Processo de amadurecimento dos frutos.....	18
2.4.5 Atributos de qualidade dos frutos .....	20
2.4.5.1 Firmeza dos frutos.....	20
2.4.5.2 Coloração dos Frutos .....	22
2.5 Materiais e Métodos.....	24
2.5.1 Local .....	24
2.5.2 Material Experimental .....	24
2.5.3 Experimento 1-Firmeza, coloração e conservação dos frutos...26	
2.5.3.1 Avaliações dos atributos de qualidade dos frutos.....	27
2.5.3.2 Firmeza .....	27
2.5.3.3 Coloração dos frutos .....	28
2.5.3.4 Número de dias da antese até o estágio <i>breaker</i> .....	29
2.5.3.5 Análise estatística.....	29
2.5.4 Experimento 2: Teste de alelismo entre <i>alc</i> e <i>nor</i> .....	31
2.6 Resultados e Discussão .....	38
2.6.1 Experimento 1- Firmeza e conservação dos frutos. ....	38

2.6.1.1 Firmeza dos frutos.....	38
2.6.1.1.1 Firmeza inicial dos frutos.....	38
2.6.1.1.2 Meia vida da firmeza .....	39
2.6.1.1.3 Número de dias para atingir firmeza de $2,0 \times 10^4 \text{ N.m}^{-2}$ ....	41
2.6.1.2 Coloração final dos frutos.....	42
2.6.1.2.1 Coloração final externa dos frutos .....	42
2.6.1.2.2 Coloração final interna dos frutos.....	44
2.6.1.3 Percentagem de área colorida nos frutos.....	45
2.6.1.3.1 Percentagem total de área colorida dos frutos aos 28 dias após a colheita.....	45
2.6.1.3.2 Dias decorridos após a colheita para atingir nota 3 referente à percentagem da área colorida dos frutos.....	46
2.6.1.4 Evolução da nota de coloração dos frutos.....	48
2.6.1.5 Número de dias da antese ao estágio <i>breaker</i> .....	48
2.6.2 Experimento 2- Teste de alelismo entre <i>alc</i> e <i>nor</i> .....	50
2.6.2.1 Teste da hipótese sobre a relação de alelismo entre <i>alc</i> e <i>nor</i> ..	50
2.7 Discussão Geral .....	53
2.8 Conclusão.....	58
Referências Bibliográficas.....	60
Anexos.....	64
3 CAPÍTULO II Marcadores Moleculares associados aos alelos <i>alc</i> ( <i>alcobaça</i> ), <i>nor</i> ( <i>non-ripening</i> ), <i>hp</i> ( <i>high pigment</i> ) e <i>og<sup>c</sup></i> ( <i>old gold crimson</i> ) em linhagens quase isogênicas de tomateiro.....	88
3.1 Resumo.....	89
3.2 Abstract.....	90
3.3 Introdução .....	91
3.4 Referencial Teórico.....	92
3.4.1 Marcadores moleculares .....	92
3.4.2 Marcadores moleculares envolvendo os alelos mutantes do tomateiro .....	95
3.5 Materiais e Métodos.....	98
3.5.1 Local .....	98

3.5.2 Materiais utilizados.....	98
3.5.3 Teste RAPD.....	98
3.6 Resultados e Discussão.....	101
3.7 Conclusão.....	104
Referências Bibliográficas.....	105



## RESUMO

**BENITES, Flávio Rodrigo Gandolfi.** Estudos Genético-Fisiológicos dos mutantes *alcobaça (alc)*, *non-ripening (nor)* e *ripening-inhibitor (rin)* em tomateiro. Lavras: UFLA, 2003. 106 p (Dissertação de Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)\*.

Os mutantes *alcobaça (alc)*, *non-ripening (nor)* e *ripening-inhibitor (rin)* foram avaliados para comparar seus efeitos em homozigose, heterozigose e em duplas combinações quanto a conservação pós-colheita de frutos de tomateiro. Foi realizado um teste de alelismo entre *alc* e *nor*, para verificar a relação existente entre eles. O experimento 1 avaliou os tratamentos Flora-Dade, TOM-559 (*alc alc*), TOM-613 (*nor nor*), TOM-614 (*rin rin*), F<sub>1</sub> [(Flora-Dade x TOM-613)] *nor*<sup>+</sup> *nor*, F<sub>1</sub> [(Flora-Dade x TOM-559)] *alc*<sup>+</sup> *alc*, F<sub>1</sub> [(Flora-Dade x TOM-614)] *rin*<sup>+</sup> *rin*, F<sub>1</sub> [(TOM-559 x TOM-613)] *alc*<sup>+</sup> *alc* *nor*<sup>+</sup> *nor*, F<sub>1</sub> [(TOM-559 x TOM-614)] *alc*<sup>+</sup> *alc* *rin*<sup>+</sup> *rin* e F<sub>1</sub> [(TOM-613 x TOM-614)] *nor*<sup>+</sup> *nor* *rin*<sup>+</sup> *rin*, quanto aos efeitos dos alelos *alc*, *nor* e *rin* em homozigose, heterozigose e em duplas combinações. O experimento 2 foi conduzido simultaneamente com o primeiro, sendo constituído pelos tratamentos Flora-Dade, TOM-559, TOM-613, F<sub>1</sub> [(TOM-559 x TOM-613)], F<sub>1</sub> [(Flora-Dade x TOM-559)], F<sub>1</sub> [(Flora-Dade x TOM-613)] e a geração F<sub>2</sub> [(TOM-559 x TOM-613)] constituída de 40 repetições. No experimento 1 foram avaliadas características referentes a evolução da coloração e perda da firmeza, já no experimento 2 somente avaliou-se a coloração dos frutos. O genótipo *rin/rin*, foi entre os homozigotos, o mais drástico em retardar a perda da firmeza e a evolução da coloração dos frutos. Entre os heterozigotos o genótipo *rin*<sup>+</sup>/*rin* destacou-se em relação aos *alc*<sup>+</sup>/*alc* e *nor*<sup>+</sup>/*nor*. A dupla combinação *alc*<sup>+</sup>/*alc* *rin*<sup>+</sup>/*rin* teve comportamento semelhante a *nor*<sup>+</sup>/*nor* *rin*<sup>+</sup>/*rin*. Em experimento conduzido na EMBRAPA-Milho e Sorgo, Sete Lagoas-MG, buscou-se encontrar marcadores moleculares RAPD associados aos alelos *alc*, *nor*, *hp* e *og*<sup>c</sup> em tomateiro. Avaliaram-se cinco indivíduos quase isogênicos a cultivar Flora-Dade, TOM-559 (*alc alc*), TOM-595 (*hp hp*), TOM-596 (*og*<sup>c</sup> *og*<sup>c</sup>) e TOM-613 (*nor nor*). Foram avaliados 119 *primers* e entre eles haviam três *primers* (OPB-7, OPD-1 e OPM-10) que estavam ligados ao alelo *hp*, segundo dados da literatura. Os 119 *primers* testados não foram eficientes em diferenciar os alelos *alc*, *nor*, *hp* e *og*<sup>c</sup> nas linhagens estudadas.

---

\* Orientador: Luciano Vilela Paiva-UFLA, Co-Orientadores: Wilson Roberto Maluf-UFLA e Cláudia Teixeira Guimarães-CNPMS-Sete Lagoas, MG.

## ABSTRACT

**BENITES, Flávio Rodrigo Gandolfi.** Genetic-Physiological studies of the tomato mutants *alcobaça* (*alc*), *non-ripening* (*nor*) e *ripening-inhibitor* (*rin*). **Lavras: UFLA, 2003. 106 p (M.S. Dissertation/ Genetics and Plant Breeding)\*.**

The tomato mutants *alcobaça* (*alc*), *non-ripening* (*nor*) and *ripening-inhibitor* (*rin*) were compared for their post-harvest effects as homozygotes, as heterozygotes and in their double heterozygous combinations. The genotypes Flora-Dade, TOM-559 (*alc/alc*), TOM-613 (*nor/nor*), TOM-614 (*rin/rin*), F<sub>1</sub> [(Flora-Dade x TOM-613)] (*nor<sup>+</sup>/nor*), F<sub>1</sub> [(Flora-Dade x TOM-559)] (*alc<sup>+</sup>/alc*), F<sub>1</sub> [(Flora-Dade x TOM-614)] (*rin<sup>+</sup>/rin*), F<sub>1</sub> [(TOM-559 x TOM-613)] (*alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor*), F<sub>1</sub> [(TOM-559 x TOM-614)] (*alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin*) and F<sub>1</sub> [(TOM-613 x TOM-614)] (*nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin*), were compared for their effects on the evolution of fruit colour and on the decrease of fruit firmness. Among the homozytes, *rin/rin* had the most drastic effects in delaying firmness loss and evolution of fruit colour. Among the heterozytes, *rin<sup>+</sup>/rin* was more effective than either *alc<sup>+</sup>/alc* or *nor<sup>+</sup>/nor*; *rin<sup>+</sup>/rin*. The double heterozygous combinations *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin* and *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin* had similar effects. A second experiment evaluated final fruit colour of the genotypes Flora-Dade, TOM-559, TOM-613, F<sub>1</sub> (TOM-559 x TOM-613), F<sub>1</sub> (Flora-Dade x TOM-559), F<sub>1</sub> (Flora-Dade x TOM-613) and the F<sub>2</sub> [(TOM-559 x TOM-613)] generation. No recombinant normal phenotypes were detected among 364 F<sub>2</sub> plants tested. The hypothesis that *alc* and *nor* are alleles in the same locus was considered the most likely. A third experiment carried out at the Brazilian Maize Sorghum Research, located at Sete Lagoas, Minas Gerais State, five almost isogenic tomato lines, Flora-Dade, TOM-559 (*alc alc*), TOM-595 (*hp hp*), TOM-596 (*og<sup>c</sup> og<sup>c</sup>*) and TOM-613 (*nor nor*) were genotyped using 119 RAPD molecular markers. The main objective was to identify molecular markers associated to *alc* (*alcobaça*), *nor* (*non-ripening*), *hp* (*high pigment*) and *og<sup>c</sup>* (*old gold crimson*) alleles. The results did not show any polymorphism even for the three primers previously shown to be linked to the *hp* allele.

---

\*Major Professors- Luciano Vilela Paiva-UFLA, Wilson Roberto Maluf-UFLA and Cláudia Teixeira Guimarães-CNPMS.

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O tomate é a principal espécie do grupo das hortaliças. A previsão feita para o ano de 2002, no Brasil, projetou uma produção de quase 3,5 milhões de toneladas de tomate em uma área de aproximadamente 62 mil hectares.

A produção de tomate para consumo *in natura* no Brasil sofreu grandes transformações tecnológicas nesta última década. Entre as transformações ocorridas a utilização de sementes híbridas de cultivares que produzem frutos do tipo longa-vida foi, sem dúvida, uma das mais importantes.

A utilização de mutantes de amadurecimento pelos melhoristas visa aumentar a firmeza e a conservação pós-colheita dos frutos do tomateiro. Os alelos mutantes que atuam de forma marcante sobre a conservação pós-colheita dos frutos são: *rin* (*ripening inhibitor*), *nor* (*non ripening*) e *alc* (*alcobaça*). Há também os alelos *hp* (*high pigment*) e *og<sup>c</sup>* (*old gold crimson*), que aumentam a produção de carotenóides nos frutos, e podem ser usados em um mesmo genótipo com os alelos mutantes de amadurecimento.

Na literatura referente aos mutantes de amadurecimento não se encontram muitos relatos da utilização de dois ou mais destes alelos simultaneamente em um mesmo material, no sentido de aumentar o tempo de conservação em pós-colheita. Outra questão que permanece sem esclarecimento é a divergência entre Lobo (1981), Lobo, Basset & Hannan (1984) e Mutschler (1984a) em relação ao alelismo entre *alc* e *nor*.

Com o avanço da biotecnologia nessas últimas décadas, o melhoramento de plantas ganhou ferramentas que podem auxiliá-lo no momento da selecionar pequenas diferenças entre os materiais. Entre essas ferramentas estão os marcadores moleculares, podendo destacar-se os marcadores RAPD, AFLP e SSR. Esses marcadores podem auxiliar na seleção dos alelos de conservação dos frutos (*alc*, *nor* e *rin*) e síntese de licopeno (como os mutantes *hp* e *og<sup>c</sup>*) quando

se deseja utilizar vários alelos simultaneamente (piramidados) em um mesmo genótipo, contribuindo para o desenvolvimento de novas cultivares de tomate longa-vida.

O presente trabalho teve como objetivos estudar os efeitos dos mutantes de amadurecimento *alc*, *nor* e *rin* em homozigose, heterozigose e em duplas combinações, a relação de alelismo entre *alc* e *nor* e marcadores moleculares associados aos alelos *alc*, *nor*, *hp* e *og<sup>c</sup>*.

## 2 CAPÍTULO I

Mutantes *alcobaça (alc)*, *non-ripening (nor)* e *ripening-inhibitor (rin)* na conservação pós-colheita de frutos de tomateiro.

## 2.1 RESUMO

BENITES, Flávio Rodrigo Gandolfi. **Mutantes *alcobaça (alc)*, *non-ripening (nor)* e *ripening-inhibitor (rin)* na conservação pós-colheita de frutos de tomateiro**. Lavras: UFLA, 2003. 106 p (Dissertação de Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)\*.

Os mutantes *alcobaça (alc)*, *non-ripening (nor)* e *ripening-inhibitor (rin)* foram avaliados para comparar seus efeitos em homozigose, heterozigose e em duplas combinações quanto a conservação pós-colheita de frutos de tomateiro. Foi realizado um teste de alelismo entre *alc* e *nor*, para verificar a relação existente entre eles. O experimento 1 avaliou os tratamentos Flora-Dade ( $alc^+/alc^+ nor^+/nor^+ rin^+/rin^+$ ); TOM-559 ( $alc/alc nor^+/nor^+ rin^+/rin^+$ ); TOM-613 ( $alc^+/alc^+ nor/nor rin^+/rin^+$ ); TOM-614 ( $alc^+/alc^+ nor^+/nor^+ rin/rin$ ); F<sub>1</sub> [(Flora-Dade x TOM-613)  $alc^+/alc^+ nor^+/nor rin^+/rin^+$ ]; F<sub>1</sub> [(Flora-Dade x TOM-559)  $alc^+/alc nor^+/nor^+ rin^+/rin^+$ ]; F<sub>1</sub> [(Flora-Dade x TOM-614)  $alc^+/alc^+ nor^+/nor^+ rin^+/rin$ ]; F<sub>1</sub> [(TOM-559 x TOM-613)  $alc^+/alc nor^+/nor rin^+/rin^+$ ]; F<sub>1</sub> [(TOM-559 x TOM-614)  $alc^+/alc nor^+/nor^+ rin^+/rin$ ] e F<sub>1</sub> [(TOM-613 x TOM-614)  $alc^+/alc^+ nor^+/nor rin^+/rin$ ] quanto aos efeitos dos alelos *alc*, *nor* e *rin* em homozigose, heterozigose e em duplas combinações. O ensaio foi conduzido em um DIC com 2 repetições por tratamento com exceção dos tratamentos F<sub>1</sub> [(TOM-559 x TOM-614)  $alc^+/alc nor^+/nor^+ rin^+/rin$ ] e F<sub>1</sub> [(TOM-613 x TOM-614)  $alc^+/alc^+ nor^+/nor rin^+/rin$ ] com 4 repetições. O experimento 2 foi conduzido simultaneamente com o primeiro, sendo constituído pelos tratamentos Flora-Dade ( $alc^+/alc^+ nor^+/nor^+ rin^+/rin^+$ ), TOM-559 ( $alc/alc nor^+/nor^+ rin^+/rin^+$ ); TOM-613 ( $alc^+/alc^+ nor/nor rin^+/rin^+$ ); F<sub>1</sub> [(TOM-559 x TOM-613)  $alc^+/alc nor^+/nor rin^+/rin^+$ ], F<sub>1</sub> [(Flora-Dade x TOM-559)  $alc^+/alc nor^+/nor^+ rin^+/rin^+$ ], F<sub>1</sub> [(Flora-Dade x TOM-613)  $alc^+/alc^+ nor^+/nor rin^+/rin^+$ ] e a geração F<sub>2</sub> [(TOM-559 x TOM-613)  $alc^+/alc nor^+/nor$ ] constituída de 40 repetições. Cada repetição foi composta por 10 plantas por parcela. Os frutos de ambos experimentos foram colhidos no estádio *breaker* e armazenados em câmara fria a 15 °C e 60 % de umidade relativa, durante 28 dias. No experimento 1 foram avaliadas características referentes a evolução da coloração e perda da firmeza, já no experimento 2 somente avaliou-se a coloração dos frutos. O genótipo *rin/rin*, foi entre os homozigotos, o mais drástico em retardar a perda da firmeza e a evolução da coloração dos frutos. Entre os heterozigotos o genótipo  $rin^+/rin$  destacou-se em relação aos  $alc^+/alc$  e  $nor^+/nor$ , retardando a perda da firmeza dos frutos, não afetando a coloração externa e a porcentagem de área colorida e sua evolução, não alterou a firmeza inicial e retardou a evolução da coloração interna dos frutos. A dupla combinação  $alc^+/alc rin^+/rin$  teve comportamento semelhante a  $nor^+/nor$

*rin*<sup>+</sup>/*rin*, ambas diminuíram a perda da firmeza dos frutos em todas as características avaliadas quanto à firmeza, não afetaram a coloração externa, não retardaram a evolução da coloração, mas afetaram a porcentagem de área colorida e prejudicaram ligeiramente a coloração interna dos frutos. A hipótese de alelismo proposta por Lobo (1981) e Lobo, Basset & Hannan (1984), foi aceita como a mais provável. Uma nova simbologia para representar o genótipo *alc/alc* deve ser adotada, passando a ser representado como *nor*<sup>A</sup>/*nor*<sup>A</sup>, conforme sugerido por Lobo (1981) e Lobo, Basset & Hannan (1984). A dupla combinação *alc*<sup>+</sup>/*alc* *nor*<sup>+</sup>/*nor* não atingiu coloração normal, não podendo ser utilizada em programas de melhoramento. Esse fato comprova a relação de alelismo entre *alc* e *nor*. Portanto, o uso do genótipo *rin*<sup>+</sup>/*rin* e das duplas combinações *alc*<sup>+</sup>/*alc* *rin*<sup>+</sup>/*rin* e *nor*<sup>+</sup>/*nor* *rin*<sup>+</sup>/*rin* em programas de melhoramento para produção de híbridos de tomate longa-vida torna-se viável.

---

\*Orientador-Luciano Vilela Paiva; Co-orientador: Wilson Roberto Maluf-UFLA

## 2.2 ABSTRACT

**BENITES, Flávio Rodrigo Gandolfi.** Comparative shelf-life and fruit colour of *alcobaça* (*alc*), *non-ripening* (*nor*) and *ripening-inhibitor* (*rin*) tomato ripening mutant genotypes. **Lavras: UFLA, 2003. 106 p (M.S. Dissertation/ Genetics and Plant Breeding)\*.**

The tomato mutants *alcobaça* (*alc*), *non-ripening* (*nor*) and *ripening-inhibitor* (*rin*) were compared for their post-harvest effects as homozygotes, as heterozygotes and in their double heterozygous combinations. The genotypes Flora-Dade (=  $alc^+/alc^+ nor^+/nor^+ rin^+/rin^+$ ), TOM-559 (=  $alc/alc nor^+/nor^+ rin^+/rin^+$ ), TOM-613 (=  $alc^+/alc^+ nor/nor rin^+/rin^+$ ), TOM-614 (=  $alc^+/alc^+ nor^+/nor^+ rin/rin$ ),  $F_1 [(Flora-Dade \times TOM-613) = alc^+/alc^+ nor^+/nor rin^+/rin^+]$ ,  $F_1 [(Flora-Dade \times TOM-559) = alc^+/alc nor^+/nor^+ rin^+/rin^+]$ ,  $F_1 [(Flora-Dade \times TOM-614) = alc^+/alc^+ nor^+/nor^+ rin^+/rin]$ ,  $F_1 [(TOM-559 \times TOM-613) = alc^+/alc nor^+/nor rin^+/rin^+]$ ,  $F_1 [(TOM-559 \times TOM-614) = alc^+/alc nor^+/nor^+ rin^+/rin]$  and  $F_1 [(TOM-613 \times TOM-614) = alc^+/alc^+ nor^+/nor rin^+/rin]$ , all sharing the same genotypic background, were compared for their effects on the evolution of fruit colour and on the decrease of fruit firmness. Fruit sampled were harvested at the breaker stage and stored in cold chamber at 15°C and 60 % relative humidity for 28 days. Among the homozytes, *rin/rin* had the most drastic effects in delaying firmness loss and evolution of fruit colour. Among the heterozytes,  $rin^+/rin$  was more effective than either  $alc^+/alc$  or  $nor^+/nor$ ;  $rin^+/rin$  delayed loss of fruit firmness, and did not significantly affect external colour, did not affect initial fruit texture and delayed internal colour evolution. The double heterozygous combinations  $alc^+/alc rin^+/rin$  and  $nor^+/nor rin^+/rin$  had similar effects: they both delayed loss of fruit firmness, and did not affect final external fruit colour, but they did affect slightly but negatively the internal fruit colour. With the objective of testing the allelic relationship between *alc* and *nor*, a second experiment evaluated final fruit colour of the genotypes Flora-Dade (=  $alc^+/alc^+ nor^+/nor^+ rin^+/rin^+$ ), TOM-559 (=  $alc/alc nor^+/nor^+ rin^+/rin^+$ ), TOM-613 (=  $alc^+/alc^+ nor/nor rin^+/rin^+$ ),  $F_1 (TOM-559 \times TOM-613) = alc^+/alc nor^+/nor rin^+/rin$ ,  $F_1 (Flora-Dade \times TOM-559) = alc^+/alc nor^+/nor^+ rin^+/rin^+$ ,  $F_1 (Flora-Dade \times TOM-613) = alc^+/alc^+ nor^+/nor rin^+/rin^+$  and the  $F_2 [(TOM-559 \times TOM-613)]$  generation. No recombinant normal phenotypes were detected among 364  $F_2$  plants tested. The hypothesis that *alc* and *nor* are alleles in the same locus was considered the most likely. The double combination  $alc^+/alc nor^+/nor$ , similarly to  $alc/alc$  or  $nor/nor$ , did not reach normal external red colour, a fact that is consistent with the hypothesis of allelism between *alc* and *nor*. The use of either  $rin^+/rin$  or of the double heterozygous combinations  $alc^+/alc rin^+/rin$  and  $nor^+/nor rin^+/rin$  was considered the best strategy for



deployment of these ripening mutant genotypes in the development of long shelf-life tomatoes.

---

\*Major Professors- Luciano Vilela Paiva and Wilson Roberto Maluf-UFLA

## 2.3 INTRODUÇÃO

A cultura do tomateiro representa uma das culturas recordistas em perdas pós-colheita, o que se deve à perecibilidade natural dos frutos, às precárias condições de transporte e à inexistência de uma estrutura adequada de embalagem e armazenamento, exigindo uma comercialização quase que imediata após a colheita.

A maior conservação pós-colheita dos frutos de tomate é um importante fator para os tomaticultores, pois permite maior período de comercialização de sua produção. Diversas propostas têm sido feitas no sentido de aumentar a conservação de frutos do tomate já colhidos, dentre elas a utilização de baixas temperaturas, a atmosfera controlada e o uso de filmes plásticos protetores. Todavia, estas propostas têm encontrado limitações de ordem econômica no Brasil (Chitarra & Chitarra, 1990).

Algumas estratégias também têm sido trabalhadas no sentido de se alterar geneticamente as plantas visando a produção de frutos com maior resistência pós-colheita. Por meio de métodos convencionais de melhoramento genético busca-se, através da seleção de genitores superiores, o aumento da frequência de alelos favoráveis para uma maior firmeza do pericarpo. Utilizando técnicas de biologia molecular (*anti-senso*) foram obtidas cultivares transgênicas, em que a produção de etileno e atividades de enzimas envolvidas no processo de amadurecimento do fruto do tomateiro são anuladas ou inibidas (Della Vecchia & Koch, 2000).

O emprego de alelos mutantes de ocorrência natural que interferem no amadurecimento do fruto do tomateiro é, no entanto, a estratégia que tem despertado maior interesse dos melhoristas. Alguns mutantes que atuam de forma marcante sobre a conservação pós-colheita dos frutos podem ser citados: *rin* (*ripening inhibitor*) (Tigchelaar, McGlasson & Buescher, 1978), *nor* (*non*

*ripening*) (Tigchelaar, McGlasson & Buescher, 1978), *alc* (*alcobaça*) (Almeida, citado por Tabim, 1974). Tais genes reduzem a síntese de carotenóides e aumentam a firmeza dos frutos, enquanto os alelos *hp* (*high pigment*) (Thompson, Hepler & Kerr, 1962) e *og<sup>c</sup>* (*old gold crimson*) (Thompson et al., 1967) aumentam a produção de carotenóides nos frutos.

Na literatura existem poucos relatos de trabalhos que avaliam a utilização desses alelos em duplas combinações heterozigotas, no sentido de retardar a perda da firmeza dos frutos do tomateiro. Santos Júnior (2002) destaca a dupla combinação *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin* como superior às heterozigotas em um só loco, relativamente à firmeza dos frutos.

Desde o início da década de 1980 existe divergência entre Lobo (1981), Lobo, Basset & Hannan (1984) e Mutschler (1984a) quanto ao alelismo ou não entre *alc* e *nor*. Lobo (1981) e Lobo, Basset & Hannan (1984) concluíram, em seus trabalhos, que *alc* e *nor* são alélicos e que o *alc* é um alelo do loco *nor*, devendo o alelo *alc* ser representado por *nor<sup>A</sup>*. Mutschler (1984a) contesta os resultados de Lobo (1981) e Lobo, Basset & Hannan (1984) e conclui que *alc* e *nor* são não alélicos localizados a uma distância de 17 cM no cromossomo 10. Essa divergência entre autores existe há quase 20 anos e até hoje não houve trabalhos conclusivos que realmente confirmassem qual das hipóteses está correta.

O presente estudo teve como objetivos determinar a relação de alelismo entre *alc* e *nor* e comparar os efeitos dos genótipos homozigotos (*alc/alc*, *nor/nor* e *rin/rin*), heterozigotos (*alc<sup>+</sup>/alc*, *nor<sup>+</sup>/nor* e *rin<sup>+</sup>/rin*) e das duplas combinações (*alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin*, *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin* e *alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor*) quanto a firmeza, coloração e conservação pós-colheita dos frutos.

Neste trabalho, serão adotadas para os alelos *alcobaça* e *non-ripening* as notações *alc* e *nor*, respectivamente, na pressuposição de se tratarem de alelos em locos distintos. Em caso de demonstrada a sua relação de alelismo

esta notação deverá ser revista, adotando-se então a notação proposta por Lobo (1981) e Lobo, Basset & Hannan (1984):  $nor^A$  para *alcobaça* e *nor* para *non-ripening*.

## 2.4 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.4.1 Aspectos Gerais

O tomateiro é uma espécie amplamente cultivada no Brasil, sendo a região Sudeste a maior produtora no ano de 2002, com 47% da produção, seguido da região Centro-Oeste, com 27,52%, a região Nordeste, com 14,68%, e a região Sul, com 10,60% (Agrianual 2003, 2002). Os Estados de São Paulo e de Goiás são responsáveis por quase metade da produção nacional.

O cultivo de tomates do tipo longa-vida e extrafirme tem se expandido em ritmo vertiginoso, sobretudo nas zonas de produção do Centro-Oeste, Sul e Sudeste. Tem-se observado, nos últimos 5 anos, uma crescente procura por híbridos com essas características, destacando-se nesse cenário os híbridos nacionais Débora Plus e Bônus (extrafirmes do tipo Santa Clara). No entanto, a quase totalidade das cultivares denominadas longa-vida ainda é importada, a exemplo do híbrido Carmen (longa-vida heterozigoto  $rin^+/rin$  do tipo salada ou multilocular).

Na década de 1990 foram introduzidos, no Brasil, híbridos israelenses do tipo longa-vida ( $rin^+/rin$ ) que se destacam por apresentarem frutos bastante firmes, embora deixem a desejar em sabor e coloração dos frutos. Apesar desses defeitos, tais cultivares são bastante valorizadas no mercado, chegando a custar, a preços do ano 2000, o equivalente a R\$ 40.000,00 ou mais por quilograma de semente.

O agricultor brasileiro fica bastante dependente da tecnologia das cultivares importadas por não haver, no mercado brasileiro muitas, cultivares nacionais que proporcionem uma maior conservação dos frutos na pós-colheita.

### 2.4.2 Alelos Mutantes

Há na literatura descrição de vários alelos mutantes que interferem no processo natural de amadurecimento dos frutos do tomateiro, retardando o amadurecimento e prolongando a conservação em pós-colheita. Estes alelos podem ser incorporados em *backgrounds* genéticos desejáveis através de retrocruzamentos, obtendo-se linhagens isogênicas que permitem estudar, em híbridos, seus efeitos sobre várias características. Dentre os mutantes destacam-se os alelos *rin* (*ripening inhibitor*), *nor* (*non ripening*), *alc* (*alcobaça*), *hp* (*high pigment*) e *og<sup>c</sup>* (*old gold crimson*).

O alelo *rin*, mutante recessivo, afeta a síntese de carotenóides (licopeno e beta-caroteno) e aumenta a firmeza dos frutos. Este alelo localiza-se no cromossomo 5 e está associado ao alelo *mc* (*macrocalix*), que confere o fenótipo cálice gigante (Tigchelaar, McGlasson & Buescher, 1978).

O alelo *nor*, mutante recessivo, também afeta a síntese de carotenóides e o amolecimento dos frutos. Este alelo está situado no cromossomo 10, ligado em repulsão à distância de 3,5 cM do alelo *u* (*uniform ripening*) que condiciona ausência de ombro verde nos frutos (Tigchelaar, McGlasson & Buescher, 1978).

O alelo *alc* em homozigose tem efeito muito drástico ao inibir a maturação normal dos frutos, pois diminui a atividade total da enzima poligalacturonase (PG), a concentração de etileno e de CO<sub>2</sub> (Mutschler, 1984b; Mutschler et al., 1992), bem como os teores de pigmentos totais e a razão licopeno/betacaroteno (Mutschler, 1984b; Mutschler et al., 1992; Lobo Basset & Hannan 1984; Souza, 1995). Estudos recentes com o alelo *alcobaça* revelaram que esse mutante é bastante promissor no sentido de prolongar o tempo de conservação do fruto em heterozigose (*alc<sup>+</sup>/alc*) (Souza, 1995; Freitas, 1996; Freitas et al., 1998, Faria 2000).

Ao contrário da maioria dos alelos mutantes de amadurecimento (*rin*, *nor* e *alc*), alguns mutantes afetam favoravelmente a coloração dos frutos, destacando-se entre eles os alelos *hp* (*high pigment*) e *og<sup>c</sup>* (*old gold crimson*) que aumentam o teor de licopeno nos frutos. No caso desses alelos serem empregados juntos em um mesmo material, seu fenótipo pode sofrer a influência de efeitos epistáticos (Araújo, 1997). O mutante *hp* foi originalmente descrito como um mutante de herança monogênica, estando localizado no cromossomo 2, e é capaz de incrementar a qualidade dos frutos pela produção de altos níveis de caroteno em frutos maduros de tomate, predominando o licopeno e o beta-caroteno (Thompson, Hepler & Kerr, 1962). Esse mutante demonstra também regulação da resposta à luz durante o crescimento e desenvolvimento da planta. Em homozigose, o mutante promove redução no desenvolvimento da planta (Jarret, Sayama & Tigchelaar, 1984).

A herança do caráter *crimson*, um mutante que confere uma coloração vermelho brilhante à polpa de frutos de tomate foi estudada por Thompson et al. (1967). Eles verificaram se tratar de um alelo recessivo que confere, por pleiotropia, a coloração alaranjada às pétalas, fenótipo a partir do qual recebeu a denominação *old gold crimson* (*og<sup>c</sup>*). Foram relatados conteúdos de licopeno cerca de 75% mais elevados que o normal em frutos mutantes homozigotos *og<sup>c</sup>/og<sup>c</sup>*, porém com redução do betacaroteno, principalmente na região locular dos frutos (Thompson et al., 1965).

Segundo Araujo (1997), que estudou a interação intra-loco e inter-locos dos alelos *alc*, *og<sup>c</sup>* e *hp*, o alelo *alc* em homozigose (*alc/alc*) reduz os teores de licopeno e betacaroteno, prolonga a vida pós-colheita e aumenta a firmeza dos frutos. O mesmo alelo em heterozigose (*alc<sup>+</sup>/alc*) não prejudica nem a coloração externa e interna dos frutos e nem o teor de licopeno, porém reduziu o beta-caroteno, o que pode ser superado por combinações específicas com *og<sup>c</sup>* e/ou *hp*. O alelo *hp* não apresenta efeitos deletérios sobre plantas na forma

heterozigota, ou na forma homozigota em associações específicas com *alc* e/ou *og<sup>c</sup>*. A autora conclui que as combinações mais promissoras considerando o conjunto de características avaliadas foram: *alc<sup>+</sup>/alc og<sup>c+</sup>/og<sup>c+</sup> hp<sup>+</sup>/hp*, *alc<sup>+</sup>/alc og<sup>c+</sup>/og<sup>c+</sup> hp/hp* e *alc<sup>+</sup>/alc og<sup>c</sup>/og<sup>c</sup> hp<sup>+</sup>/hp<sup>+</sup>*.

Segundo Freitas et. al. (1998), o alelo *alcobaça* em heterozigose tem efeitos no sentido de aumentar a firmeza e retardar a coloração vermelha dos frutos, embora não a tenha impedido nem a tenha prejudicado substancialmente. Os alelos *og<sup>c</sup>* e *hp* em heterozigose não contribuíram para aumentar a firmeza dos frutos no *background* estudado. O alelo *og<sup>c</sup>* em heterozigose não conferiu incremento na coloração dos frutos, enquanto que o alelo *hp* o fez. Os autores concluem ainda que o uso de híbridos heterozigotos no loco *alcobaça* é vantajoso por propiciar frutos firmes, com maior vida pós-colheita e com coloração vermelha, destacando-se o genótipo *alc<sup>+</sup>/alc og<sup>c+</sup>/og<sup>c</sup> hp<sup>+</sup>/hp*.

Faria (2000) estudou a produtividade e qualidade pós-colheita de frutos de híbridos de tomateiro heterozigotos nos locos *alc*, *og<sup>c</sup>* e *hp* e demonstrou que o alelo *alc* em heterozigose não afetou a produção total, o peso médio, o tamanho da cicatriz peduncular e a perda de peso de frutos, entretanto promoveu redução na perda de firmeza e evolução mais lenta da taxa de coloração dos frutos. Os alelos *hp* e *og<sup>c</sup>* em heterozigose, juntos em um mesmo genótipo, atuaram no sentido de incrementar a coloração vermelha de frutos de híbridos de tomateiro heterozigoto para o loco *alcobaça*, de *background* Florida-Dade x Monspomorist. Entretanto, esses alelos não interferiram na perda de firmeza dos frutos. Híbridos com constituição genotípica *alc<sup>+</sup>/alc og<sup>c+</sup>/og<sup>c</sup> hp<sup>+</sup>/hp* apresentaram a vantagem adicional de melhor coloração dos frutos relativamente aos híbridos *alc<sup>+</sup>/alc* somente.

Santos Junior (2002), estudando a produtividade, qualidade e conservação de frutos de híbridos de tomateiro heterozigotos nos locos *alc*, *rin* e *nor* concluiu que o genótipo *alc<sup>+</sup>/alc* não afetou a produção total, o peso médio



dos frutos e a perda de firmeza mas reduziu a atividade da enzima poligalacturonase, independentemente do estágio de maturação. O genótipo *rin*<sup>+</sup>/*rin* foi eficiente em retardar a perda de firmeza dos frutos, porém foi responsável pela redução na produção total e precoce dos frutos. O genótipo *nor*<sup>+</sup>/*nor* também foi eficiente em promover redução significativa na atividade da poligalacturonase nos frutos no estágio *breaker* de maturação e retardar a perda de firmeza dos frutos. O genótipo *alc*<sup>+</sup>/*alc nor*<sup>+</sup>/*nor*, embora tenha proporcionado atraso na perda da firmeza dos frutos, promoveu redução na produção total e precoce e redução no teor de licopeno. A combinação *alc*<sup>+</sup>/*alc rin*<sup>+</sup>/*rin* foi eficiente em reduzir a atividade da enzima poligalacturonase no estágio *breaker* e proporcionou atraso na perda da firmeza. O genótipo *nor*<sup>+</sup>/*nor rin*<sup>+</sup>/*rin* desacelerou a perda da firmeza dos frutos e reduziu a produção total e precoce. O autor finaliza concluindo que o uso de híbridos heterozigotes nas duplas combinações entre os locos *alc*, *rin* e *nor* mostrou-se vantajosa por propiciar frutos firmes, com maior extensão da vida pós-colheita dos frutos em comparação com híbridos portadores desses locos isoladamente.

### 2.4.3 Teste de Alelismo

Lobo (1981) e Lobo, Basset & Hannan (1984) realizaram o teste de alelismo entre *alc* e *rin* e *alc* e *nor*. Em ambos os testes, as plantas foram fenotipicamente classificadas como normais ou mutantes pela coloração dos frutos. Os frutos permaneceram na planta até atingirem a coloração máxima, para que a expressão do alelo não fosse influenciada pelo estágio de colheita. No teste de alelismo entre *alc* e *rin* foi avaliada uma população de 20 plantas do genitor *rin*, 20 plantas do genitor *alc*, 20 plantas F<sub>1</sub> e 78 plantas F<sub>2</sub>. Na população F<sub>1</sub> todos os frutos foram normais e na população F<sub>2</sub> foram

encontradas 41 plantas com fenótipo normal e 37 com fenótipo mutante, uma segregação de 9:7, indicativa do não alelismo entre *alc* e *rin*.

No teste de alelismo entre *alc* e *nor* foi avaliada uma população de 20 plantas do genitor *nor*, 20 plantas do genitor *alc*, 20 plantas F<sub>1</sub> e 66 plantas F<sub>2</sub>. Os frutos da geração F<sub>1</sub> tinham fenótipo similar ao *alcobaça*. Na população F<sub>2</sub>, não foram encontradas plantas de fenótipo normal; contudo, foram encontradas 46 plantas com fenótipo *alcobaça* e 20 plantas com fenótipo *nor*, o que, segundo o autor, indica a proporção mendeliana 3:1, indicativa de que os genes em estudo são alélicos, sendo o alelo *alc* dominante sobre o *nor*. O alelo *alc* recebeu a denominação de *nor<sup>A</sup>*, um terceiro alelo do loco *nor*. A hipótese de alelismo entre *alcobaça* e *nor* também foi corroborada por Tigchelaar & Barman (1985), mas estes autores não apresentaram detalhes sobre os experimentos realizados e os tamanhos de população segregantes analisadas.

Mutschler (1984a) realizou o teste de alelismo entre *alc* e *nor* e obteve resultado diferente do obtido por Lobo (1981) e Lobo, Basset & Hannan (1984). O experimento foi conduzido em dois anos, o genótipo *alc* foi representado por 10 plantas no ano de 1982 e 5 em 1983, o genótipo *nor* teve 10 plantas em 1982 e 5 em 1983. A geração F<sub>1</sub> teve 10 plantas nos anos de 1982 e 1983 e a F<sub>2</sub> foi constituída de 18 plantas em 1982 e 48 em 1983. Os frutos foram avaliados quanto ao tempo de armazenamento, sendo os frutos recombinantes identificados pelo tempo menor de armazenamento quando comparados com os frutos F<sub>1</sub>.

O armazenamento dos frutos F<sub>1</sub> foi em média de 33,6 e 26 dias em 1982 e 1983, respectivamente, tempo de armazenamento menor que os genitotes *alc* e *nor*. Segundo a autora, essa redução nos dias de armazenamento entre os genitores e a geração F<sub>1</sub> é improvável se os dois mutantes são alélicos. Na população F<sub>2</sub> de 1982 foram encontradas 2 plantas com fenótipo normal e com longa vida de 9 e 14 dias. O fenótipo recombinante foi confirmado pela

autofecundação de suas progênes, não sendo encontrada, na descendência das progênes, nenhuma planta com fenótipo *nor*, e todas segregavam para o *alcobaça*. As plantas foram classificadas fenotipicamente como *alc* e *nor* através da coloração dos frutos. As plantas foram classificadas como fenótipo *nor* caso seus frutos maduros adquirissem coloração amarelo, e classificadas como fenótipo *alc* quando possuíam frutos com coloração amarelo tintado de manchas alaranjadas. Na geração F<sub>2</sub> de 1983 foram encontradas 9 plantas recombinantes (fenótipo normal), que foram identificadas pelo tempo de armazenamento. A presença dessas plantas na F<sub>2</sub> confirmaria que *alc* e *nor* são não-alelicos, concluindo-se ainda que *alc* e *nor* estão a 17 cM de distância. Segundo Mutschler (1984a), encontrar plantas recombinantes em populações F<sub>2</sub> pequenas não é improvável. Se *alc* e *nor* estiverem a 17 cM de distância, a possibilidade de encontrar plantas recombinantes em uma população F<sub>2</sub> (baseado no critério de conservação de frutos indicada pela autora), com 95% de probabilidade, é de 1 recombinante em 18 plantas. No que tange à coloração final dos frutos, Mutschler (1984a) relata que os da geração F<sub>1</sub> (*alc* x *nor*) adquirem uma coloração quase normal quando amadurecem na planta, e uma coloração alaranjado-avermelhada quando dela destacados. Ao enfatizar que frutos *alc/alc* adquirem uma coloração amarelada tintada de laranja, e que frutos *nor/nor* adquirem cor amarelada, fica claro que a autora considera frutos F<sub>1</sub> (*alc* x *nor*) como tendo fenótipo normal quanto à coloração, em contraste com os homozigotos *alc/alc* ou *nor/nor* cujo fenótipo é mutante (hipótese ortodoxa de não-alelismo de Mutschler 1984a). Contudo, uma análise literal da descrição da coloração dos frutos F<sub>1</sub> (*alc* x *nor*) feita pela autora permite que se considere seu fenótipo como mutante, tendo em vista a variação na expressão fenotípica dos homozigotos *nor/nor* observada por Tigchelaar & Barman (1985). Assim, qualquer teste da hipótese de não-alelismo entre *alc* e *nor* proposta por Mutschler (1984a) deve também levar em consideração a hipótese alternativa,

de que  $F_1$  (*alc* x *nor*) tenha fenótipo mutante (hipótese de não-alelismo alternativa), considerando o  $F_1$  (*alc* x *nor*) como fenótipo mutante.

Os resultados discrepantes dos testes de alelismos entre *alc* e *nor* realizados por Lobo (1981), Lobo, Basset & Hannan (1984) e Mutschler (1984a) podem ser atribuídos em parte, aos diferentes critérios (subjetivos) usados por estes autores para se definir o que seria um fenótipo recombinante, ao número pequeno de plantas avaliadas na geração  $F_2$  e, em parte, ao fato de os genitores utilizados por ambos os autores compreenderem *background* genotípicos diversos.

Tigchelaar & Barman (1985) relatam que diferentes acessos mutantes homocigotos para o alelo *nor* mostram uma ampla gama de variações no grau de inibição da maturação de frutos, o que poderia ser consequência da existência de diferentes alelos mutantes no loco *nor*, mas também de genes modificadores.

A disponibilidade de linhagens *alc* e *nor* em *background* isogênico poderia contribuir para melhor definir os fenótipos determinados por estes alelos, sem complicações devidas aos efeitos do *background*.

#### **2.4.4 Processo de amadurecimento dos frutos**

O tomate é classificado como um fruto climatérico, podendo ser colhido ainda verde, porém fisiologicamente maduro (*mature green*), e sofrer o processo de amadurecimento fora da planta. Seus frutos passam por um complexo processo de amadurecimento que envolve algumas atividades metabólicas, com destaque para a degradação de clorofila, produção de açúcares, síntese de carotenóides, aumento da respiração (resultando na elevação da taxa de  $CO_2$  interno e redução de  $O_2$ ), associada à produção de etileno, o que caracteriza o climatério respiratório (Lyons & Pratt, 1963).

Os tomates colhidos nos estádios verde-maduro (*mature green*) e *breaker* (que é caracterizado pela quebra da cor verde e aparecimento de manchas avermelhadas ou amareladas na região da cicatriz estilar) apresentam pior sabor quando comparados aos colhidos totalmente maduros (Kader et. al., 1978), fato este que comprova a importância do desenvolvimento de cultivares longa vida que possibilitam a colheita nos estádios mais avançados de desenvolvimento.

Por meio da tecnologia do RNA *anti-sense* foi possível desenvolver cultivares longa vida pelo bloqueio da ação da enzima poligalacturonase, que é responsável pela degradação da pectina das paredes do fruto, fazendo com que eles se tornem de consistência mole (Smith et. al., 1988).

Através do melhoramento genético clássico também é possível desenvolver cultivares longa vida. Essas cultivares podem ser desenvolvidas pela incorporação, nos genótipos de interesse, de alelos mutantes (*rin*, *nor* e *alc*) que interferem no processo de maturação e firmeza do fruto, de maneira que estes fiquem mais tempo desenvolvendo-se na planta e possibilitando, com isso, a colheita em estádios mais avançados de maturação, com frutos melhores em qualidade, como *flavor* e coloração.

Tigchelaar et al., (1978), estudando o mutante *rin* em homozigose, demonstraram que seus frutos mutantes apresentam um modelo de amadurecimento do tipo não climatérico, ou seja, não amadurecem quando colhidos na fase inicial de maturação. Frutos homozigotos *nor/nor* também não apresentam climatérico respiratório e nem pico de etileno, e sua firmeza se reduz vagarosamente, apresentando baixa atividade de poligalacturonase em frutos maduros (Ng & Tigchelaar, 1977). Já os frutos *alcobaça* apresentam amadurecimento do tipo climatérico (Lobo, 1981). O alelo *alcobaça* promoveu a redução da taxa de amadurecimento do fruto entre os estádios verde-maduro e vermelho, proporcionando um aumento da vida pós-colheita de 5 dias nos frutos

heterozigotos ( $alc^+/alc$ ) e de 26 dias nos frutos homozigotos ( $alc/alc$ ), quando comparados aos frutos normais ( $alc^+/alc^+$ ) (Mutschler et.al., 1992).

## 2.4.5 Atributos de qualidade dos frutos

### 2.4.5.1 Firmeza dos frutos

A firmeza dos frutos é um fator bastante relevante, apesar de não estar necessariamente ligado à longa conservação pós-colheita. A firmeza dos frutos atualmente vem sendo descrita, inclusive como sinônimo de longa vida, por algumas empresas produtoras de sementes. Porém, deve-se ressaltar que os dois fatores são bem distintos e dependem tanto do loco gênico mutante de amadurecimento utilizado como do *background* a que este gene está associado (Araújo, 1997). A firmeza dos frutos varia de acordo com os estádios de maturação, entre os vários genótipos (Ahrens & Huber, 1990).

A enzima poligalacturonase (PG) influencia na mudança de textura dos frutos do tomateiro durante o processo de maturação. Os níveis de atividade dessa enzima apresentam uma correlação inversa com a firmeza do fruto do tomate (Ahrens & Huber, 1990). A PG é responsável pela solubilização da pectina, provocando o amolecimento dos tecidos da parede celular. Entretanto, a enzima pectinametilesterase (PME) desempenha um papel fundamental, catalizando processos metabólicos que tornam as paredes celulares mais susceptíveis à ação da PG durante o amadurecimento. Os níveis dessas enzimas nos frutos variam com os genótipos e com o desenvolvimento do estágio de maturação, aumentando a medida que o fruto amadurece (Chitarra & Chitarra, 1990).

Os mutantes de amadurecimento podem influenciar no processo de firmeza dos frutos do tomateiro. O genótipo *alcobaça* em heterozigose possui

firmeza intermediária à dos genitores de constituição genotípica *alc/alc* e normais (*alc<sup>+</sup>/alc<sup>+</sup>*) (Lobo, 1981; Mutscheler et. al., 1992; Souza, 1995; Freitas e et. al., 1998). O alelo *alcobaça* em heterozigose reduz a atividade da enzima poligalacturonase, independentemente do estágio de maturação ( Santos Junior, 2002). A utilização do genótipo *rin<sup>+</sup>/rin* também é eficiente em retardar a perda de firmeza dos frutos. O alelo *nor*, quando em heterozigose (*nor<sup>+</sup>/nor*), promove redução significativa na atividade da poligalacturonase nos frutos no estágio *breaker* de maturação e retarda a perda de firmeza dos frutos. A combinação *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin* reduz a atividade da enzima poligalacturonase no estágio *breaker*, retardando a perda da firmeza. A combinação dos alelos *nor* e *rin* em heterozigose (*nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin*) também diminui a perda da firmeza nos frutos (Santos Junior, 2002).

Para medir a textura e a firmeza dos frutos existem vários métodos que avaliam propriedades físicas diferentes e envolvem testes de resistência à penetração, de compressão, de deformação, de aplanção, medidas de pressão de turgor e outros (Jackman, Marangoni & Stanley, 1990; Kojima et. al., 1991; Shackel et. al., 1991; Awad, 1993; Calbo & Nery, 1995). Algumas dessas técnicas são destrutivas, e nem sempre ocorre correlação entre elas (Souza, 1995).

Calbo & Nery (1995) desenvolveram a técnica de aplanção para medir a firmeza dos frutos. Segundo os autores, a firmeza depende da pressão de turgescência, usualmente percebida pelo pressionamento do material entre os dedos. A técnica consiste na utilização de um aplanador desenvolvido para medições rápidas e acuradas de pressão obtida pela razão entre a força aplicada na superfície do órgão e a área aplanada.

#### 2.4.5.2 Coloração dos Frutos

No momento da aquisição de frutos de tomate pelo consumidor, a coloração é o atributo que mais influencia na aceitação do produto. A coloração vermelha e uniforme é a preferida no momento da escolha. A cor, assim como a textura e o sabor, também é influenciada pelo estágio de colheita dos frutos.

O processo de amadurecimento provoca mudanças na cor dos frutos devido à degradação da clorofila, que é acompanhada pela síntese de carotenóides, sendo um indicativo visualmente perceptível de que o processo de amadurecimento está ocorrendo (Hobson & Crierson, 1993).

A coloração dos frutos de tomate é influenciada pelos mutantes de amadurecimento *alc*, *rin* e *nor* quando utilizados em homozigose, alterando a síntese de licopeno e betacaroteno dos frutos. Os alelos *alc* e *nor*, quando em homozigose, afetam a síntese de carotenóides, fazendo com que os frutos tenham coloração alaranjada. Já o alelo *rin* em homozigose faz com que os frutos tenham coloração amarela. A utilização dos alelos *alc*, *rin* e *nor* em homozigose aumenta a firmeza dos frutos, porém sua coloração final não é aceita pelo consumidor. Uma alternativa seria a utilização desses alelos em heterozigose, casos em que a coloração dos frutos seria normal e a firmeza seria maior que a dos frutos de genótipos normais.

Araújo (1997), Freitas et.al. (1998) e Faria (2000) propõem a utilização do alelo *alcobaça* em heterozigose, associados aos alelos *og<sup>c</sup>* e *hp*. Freitas et.al. (1998) relatam que o alelo *og<sup>c</sup>* em heterozigose não conferiu incremento à coloração dos frutos nos genótipos *alc<sup>+</sup>/alc* utilizados, enquanto o alelo *hp* o fez.

Em estudo conduzido por Faria (2000) os alelos *og<sup>c</sup>* e *hp* em heterozigose, juntos em um mesmo genótipo, atuaram no sentido de incrementar a coloração vermelha dos frutos do genótipo *alc<sup>+</sup>/alc*.



Segundo Santos Junior (2002), o genótipo *alc<sup>+</sup>/alc* não afetou a evolução de coloração externa dos frutos. Já o genótipo *rin<sup>+</sup>/rin* não proporcionou atraso na coloração vermelha dos frutos. O genótipo *nor<sup>+</sup>/nor* proporcionou significativo atraso na coloração dos frutos. A combinação *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin* e *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin* promoveu atraso na evolução da coloração vermelha dos frutos. Embora as combinações dos mutantes em heterozigose tenham promovido atraso na coloração, esse fato não foi limitante, sendo sua utilização viável para incremento da firmeza de híbridos comerciais. É importante ressaltar que esses autores utilizaram backgrounds distintos, o que justifica eventuais divergências nos efeitos dos mutantes.

## 2.5 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.5.1 Local

O experimento foi conduzido durante o ano de 2002, nas dependências do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras-MG.

### 2.5.2 Material experimental

No presente trabalho foram realizados dois experimentos envolvendo os alelos mutantes de amadurecimento em tomateiro.

O primeiro experimento visou mensurar os efeitos comparados dos genótipos *alc/alc*, *nor/nor*, *rin/rin*, *alc<sup>+</sup>/alc*, *nor<sup>+</sup>/nor* e *rin<sup>+</sup>/rin* e de suas duplas combinações heterozigótas na qualidade e conservação pós-colheita de frutos de tomates. O segundo experimento envolveu o teste de alelismo entre *alc* e *nor*.

O germoplasma utilizado neste trabalho faz parte do programa de melhoramento genético do tomateiro do professor Dr. Wilson Roberto Maluf, na Universidade Federal de Lavras, com exceção da cultivar Flora-Dade.

O primeiro experimento realizado envolvendo os alelos mutantes em homozigose, heterozigose e em duplas combinações heterozigotas foi constituído por 10 tratamentos, sendo 4 linhagens quase isogênicas de tomateiro com *background* Flora-Dade e 6 híbridos obtidos a partir destas linhagens. O genótipo das linhagens e dos híbridos são: Flora-Dade (*alc<sup>+</sup>/alc<sup>+</sup> nor<sup>+</sup>/nor<sup>+</sup> rin<sup>+</sup>/rin<sup>+</sup>* = Fenótipo normal = coloração vermelha); TOM-559 (*alc/alc nor<sup>+</sup>/nor<sup>+</sup> rin<sup>+</sup>/rin<sup>+</sup>*); TOM-613 (*alc<sup>+</sup>/alc<sup>+</sup> nor/nor rin<sup>+</sup>/rin<sup>+</sup>*); TOM-614 (*alc<sup>+</sup>/alc<sup>+</sup> nor<sup>+</sup>/nor<sup>+</sup> rin/rin*); F<sub>1</sub> [(Flora-Dade x TOM-613) *alc<sup>+</sup>/alc<sup>+</sup> nor<sup>+</sup>/nor<sup>+</sup> rin<sup>+</sup>/rin<sup>+</sup>*]; F<sub>1</sub> [(Flora-Dade x TOM-559) *alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor<sup>+</sup> rin<sup>+</sup>/rin<sup>+</sup>*]; F<sub>1</sub> [(Flora-Dade x TOM-614) *alc<sup>+</sup>/alc<sup>+</sup> nor<sup>+</sup>/nor<sup>+</sup> rin<sup>+</sup>/rin*]; F<sub>1</sub> [(TOM-559 x TOM-

613)  $alc^+/alc\ nor^+/nor\ rin^+/rin^+$ ];  $F_1$  [(TOM-559 x TOM-614)  $alc^+/alc\ nor^+/nor^+\ rin^+/rin$ ] e  $F_1$  [(TOM-613 x TOM-614)  $alc^+/alc^+\ nor^+/nor\ rin^+/rin$ ] (Quadro. 1).

As linhagens TOM- 559, TOM-613 e TOM-614 foram obtidas após 4, 3 e 4 retrocruzamentos sucessivos com a cultivar Flora-Dade (usada como genitor recorrente de fenótipo normal) e a partir das linhagens Alcobaça iso-3-Rutgers ( $alc/alc$ ), nor-iso-4 ( $nor/nor$ ) e rin-iso-8 ( $rin/rin$ ), respectivamente, todas obtidas de Edward C. Tigchelaar (*in memoriam*), Purdue University/USA. Portanto, todas as linhagens e híbridos utilizados (Quadro 1) possuem um *background* genotípico similar ao da cultivar Flora-Dade.

O segundo experimento, que se refere ao teste de alelismo entre  $alc$  e  $nor$ , foi realizado simultaneamente com o primeiro. Neste caso foi utilizada a geração  $F_2$  (TOM-559 x TOM- 613), simultaneamente com os dados das linhagens Flora-Dade, TOM-559 ( $alc/alc\ nor^+/nor^+\ rin^+/rin^+$ ), TOM-613

Quadro 1. Descrição dos materiais quanto à constituição nos locos  $alc$ ,  $nor$  e  $rin$

Tratamentos	Genótipos
<b>Flora-Dade</b>	$alc^+/alc^+\ nor^+/nor^+\ rin^+/rin^+$
<b>TOM-559</b>	$alc/alc\ nor^+/nor^+\ rin^+/rin^+$
<b>TOM-613</b>	$alc^+/alc^+\ nor/nor\ rin^+/rin^+$
<b>TOM-614</b>	$alc^+/alc^+\ nor^+/nor^+\ rin/rin$
<b><math>F_1</math> (Flora-Dade x TOM-613)</b>	$alc^+/alc^+\ nor^+/nor\ rin^+/rin^+$
<b><math>F_1</math> (Flora-Dade x TOM-559)</b>	$alc^+/alc\ nor^+/nor^+\ rin^+/rin^+$
<b><math>F_1</math> (Flora-Dade x TOM-614)</b>	$alc^+/alc^+\ nor^+/nor^+\ rin^+/rin$
<b><math>F_1</math> (TOM-559 x TOM-613)</b>	$alc^+/alc\ nor^+/nor\ rin^+/rin^+$
<b><math>F_1</math> (TOM-559 x TOM-614)</b>	$alc^+/alc\ nor^+/nor^+\ rin^+/rin$
<b><math>F_1</math> (TOM-613 x TOM-614)</b>	$alc^+/alc^+\ nor^+/nor\ rin^+/rin$

$(alc^+/alc^+ nor/nor rin^+/rin^+)$  e dos híbridos  $F_1 [(TOM-559 \times TOM-613) alc^+/alc^+ nor^+/nor^+ rin^+/rin^+]$ ,  $F_1 [(Flora-Dade \times TOM-559) alc^+/alc^+ nor^+/nor^+ rin^+/rin^+]$  e  $F_1 [(Flora-Dade \times TOM-613) alc^+/alc^+ nor^+/nor^+ rin^+/rin^+]$ .

### 2.5.3 Experimento 1- Firmeza, coloração e conservação dos frutos

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, com 10 tratamentos. Todos os tratamentos tiveram 2 repetições, com exceção dos tratamentos  $F_1 (TOM-559 \times TOM-614)$  e  $F_1 (TOM-613 \times TOM-614)$ , para os quais foram utilizadas 4 repetições. Cada parcela foi constituída de uma fileira única de 4,0 m de comprimento com um total de dez plantas por parcela, totalizando 24 parcelas.

As linhagens e os híbridos foram semeados em casa de vegetação, sendo a semeadura realizada em caixas plásticas contendo uma mistura de substrato comercial PLANTMAX<sup>®</sup> e casca de arroz carbonizada, na proporção de 1:1, em volume. As mudas foram repicadas para bandejas de isopor de 128 células quando no estágio de primeira folha definitiva. Nas bandejas foi colocada a mesma mistura utilizada para a semeadura, com a adição de 800g de adubo na formulação 4-14-8 para cada volume de 80 litros. As plântulas receberam cuidados fitossanitários e irrigação diária, sendo o transplante para estufa plástica feito quando elas atingiram o tamanho de cerca de 8,0 cm de altura.

A estufa plástica foi previamente preparada, utilizando o espaçamento de 80 cm entre canteiros, 50 cm entre fileiras no canteiro e 40 cm entre plantas. O cultivo foi feito em sistema tutorado e irrigado por gotejamento. As plantas foram conduzidas com haste única, tutoradas individualmente e semanalmente desbrotadas.

As adubações de plantio, cobertura, tratamentos culturais e fitossanitários seguiram recomendação específicas para a cultura do tomateiro (Filgueira, 2000).

### **2.5.3.1 Avaliações dos atributos de qualidade dos frutos**

Quanto aos atributos de qualidade dos frutos, foram avaliados os frutos das 4 linhagens e dos 6 híbridos, colhendo-se 10 frutos de cada uma das 24 parcelas avaliadas. As colheitas foram realizadas durante o período da manhã. Foram colhidos os frutos que apresentavam o estágio *breaker* de maturação. Os frutos foram armazenados em prateleiras dentro de câmara fria a 15° C e umidade relativa de 60% durante 28 dias.

### **2.5.3.2 Firmeza**

Os frutos foram identificados e avaliados quanto à firmeza pela técnica de aplanção (Calbo & Nery, 1995). Esta avaliação foi denominada de firmeza dia 0 (zero), a qual corresponde ao estágio *breaker* de maturação.

A avaliação de firmeza foi realizada por aparelho denominado aplanador central (Calbo & Nery, 1995). A técnica consiste em exercer uma pressão de um peso conhecido de 0,965 kgf sobre os frutos, em um ponto denominado de ponto de prova (F), durante 15 segundos. Na base desse ponto de prova, uma pequena placa de acrílico no sentido horizontal atuava diretamente na superfície do fruto, sempre em um mesmo ponto. A pressão direta sobre o fruto promovia a formação de uma superfície de contato de formato elipsoidal, delimitada por uma marca de óleo mineral. Com um paquímetro, mediram-se o maior (a) e o menor (b) diâmetro da elipse delineada.

A área da superfície aplanada (A), em  $\text{cm}^2$ , foi calculada pela expressão  $A = 0,7854 * a * b$ . A firmeza (P) foi determinada pela divisão do peso no ponto de prova (F) pela área aplanada (A). Os resultados dessa relação apresentam a unidade de pressão em  $\text{kgf/cm}^2$  ou  $\text{N/m}^2$ . Valores maiores indicam frutos mais firmes.

Após a leitura no dia 0 (zero), os frutos foram acondicionados em prateleiras dentro da câmara fria a  $15^\circ \text{C}$  e umidade relativa de 60%, onde permaneceram durante todo o período de avaliações. As avaliações eram feitas a cada 2 dias nos mesmos frutos, durante 28 dias, utilizando sempre a mesma técnica.

### **2.5.3.3 Coloração dos frutos**

Os frutos receberam notas referentes a porcentagem e intensidade de coloração durante 28 dias de armazenamento. As notas eram dadas diariamente, durante 28 dias, através de escala visual variando de 1 a 5. Essas notas mediam a evolução da porcentagem de área externa colorida e da intensidade de coloração externa dos frutos, recebendo o estágio *breaker* a nota 1 para porcentagem de área externa colorida e nota 1 para intensidade de coloração. No final dos 28 dias, os frutos receberam notas finais de coloração externa e interna.

As notas variavam conforme a escala abaixo:

#### **Porcentagem de área externa colorida:**

Nota 1= Frutos com poucas listras ou manchas de coloração avermelhada ou amarelada;

Nota 2= Frutos com 20% a 40% da área da superfície com coloração avermelhada ou amarelada;

Nota 3= Frutos com 40% a 60% da área da superfície com coloração avermelhada ou amarelada;

Nota 4= Frutos com 60% a 80% da área da superfície com coloração avermelhada ou amarelada;

Nota 5= Frutos com 80% a 100% da área da superfície com coloração avermelhada ou amarelada.

#### **Intensidade de coloração externa e interna:**

Nota 1= Frutos com coloração amarela clara;

Nota 2= Frutos com coloração amarela clara com partes alaranjadas;

Nota 3= Frutos com coloração alaranjada;

Nota 4= Frutos com coloração vermelha clara;

Nota 5= Frutos com coloração vermelha intensa.

#### **2.5.3.4 Número de dias da antese até o estágio *breaker***

No decorrer do florescimento, as flores das plantas híbridas e linhagens foram marcadas todos os dias com lã colorida, de modo que as flores abertas em um mesmo dia tinham a mesma cor de lã. Para cada dia foi utilizada uma cor diferente, totalizando um mínimo de dez frutos marcados por parcela.

Quando os frutos marcados atingiram o estágio *breaker*, eles foram colhidos e anotados os dias decorridos desde a antese. Para efeito de análise estatística, foram consideradas as médias dos 10 frutos de cada parcela.

#### **2.5.3.5 Análise Estatística**

Os dados das características de qualidade de frutos foram submetidos à análise de variância, efetuada com o emprego do pacote estatístico SAS (*Statistical*

*Analysis System*). Empregou-se o esquema adequado para o modelo estatístico e para o delineamento utilizado,

$$Y_{ij} = m + t_i + e_{ij}$$

Em que:

$Y_{ij}$  = valor observado no tratamento  $i$ , na repetição  $j$ ;

$m$  = média geral;

$t_i$  = efeito do tratamento  $i$ ;  $i = 1, 2, \dots, 10$ ;

$e_{ij}$  = erro experimental;  $e_{ij} \cap \text{NID}(0, \sigma^2)$ .

Os tratamentos avaliados no experimento são genótipos quase isogênicos e, portanto, as diferenças entre os tratamentos refletem os efeitos dos locos gênicos estudados (*alc*, *nor* e *rin*), livres do efeito do *background* genético. Desta maneira, foram calculados contrastes não ortogonais de interesse entre os pares de híbridos para avaliar os efeitos dos locos *alc*, *nor* e *rin* em homozigose e heterozigose em um só loco e os efeitos das duplas combinações heterozigóticas entre esses locos (Quadro 2).

A evolução da porcentagem de área externa colorida foi medida anotando-se, para cada parcela, o número de dias para atingir a nota 3; a intensidade de coloração foi medida anotando-se, para cada parcela, o número de dias para atingir nota 2,5.

Adotou-se modelo de regressão para o ajuste da evolução da perda de firmeza dos frutos ao longo das avaliações. A meia vida de firmeza ( $T$ ) foi obtida através da regressão dos dados de firmeza ( $A$ ), de cada parcela, no número de dias decorridos ( $X$ ), através do modelo estatístico do decaimento exponencial:  $A = A_0 * (1/2)^{X/T}$ , em que  $A_0$  = firmeza estimada ( $\text{N.m}^{-2}$ ) inicial dos frutos no estágio *breaker*;  $T$  = meia vida da firmeza (medida em dias) e  $A$  = firmeza ( $\text{N/m}^2$ ) após decorridos  $X$  dias. As curvas foram calculadas com o recurso do pacote estatístico SAS (*Statistical Analysis System*), com a



transformação logarítmica do referido modelo de decaimento exponencial, seguida de regressão linear.

Os valores obtidos para firmeza de frutos, ao longo do tempo decorrido após a colheita, foram ajustados ao modelo de decaimento exponencial indicado acima. Com base na equação ajustada, foram estimadas, para cada parcela:

- (a) a firmeza inicial do fruto no estágio *breaker* ( $A_0$ );
- (b) a meia vida da firmeza (T), correspondente ao tempo em pós-colheita que o fruto leva para reduzir pela metade sua firmeza em relação à inicial;
- (c) o número de dias decorridos para que os frutos atinjam firmeza de  $2,0 \times 10^4$  N/m<sup>2</sup>, considerada a firmeza mínima aceitável, abaixo da qual se poderia dizer que os frutos não são mais comercializados.

#### **2.5.4 Experimento 2: Teste de alelismo entre *alc* e *nor***

O teste de alelismo foi realizado utilizando-se população segregante do cruzamento TOM-559 x TOM- 613. Foram utilizadas inicialmente 40 parcelas de 10 plantas, totalizando 400 plantas, das quais puderam ser obtidos dados de 364 plantas. De cada planta foram colhidos 4 frutos no estágio *breaker* de maturação. Os frutos permaneceram armazenados em câmara fria a 15° C e umidade relativa de 60% e foram examinados por 28 dias até determinação da coloração final.

Como testemunha, foram utilizadas 20 plantas das linhagens TOM-559 (*alc/alc*), TOM-613 (*nor/nor*) e dos híbrido F<sub>1</sub> [(TOM-559 x TOM-613) *alc*<sup>+</sup>/*alc nor*<sup>+</sup>/*nor*], F<sub>1</sub> [(Flora-Dade x TOM-559) *alc*<sup>+</sup>/*alc nor*<sup>+</sup>/*nor*<sup>+</sup>] e F<sub>1</sub> [(Flora-Dade x TOM-613) *alc*<sup>+</sup>/*alc*<sup>+</sup> *nor*<sup>+</sup>/*nor*], bem como da linhagem de genótipo normal Flora-Dade (*alc*<sup>+</sup>/*alc*<sup>+</sup> *nor*<sup>+</sup>/*nor*<sup>+</sup> *rin*<sup>+</sup>/*rin*<sup>+</sup>).

Com base na coloração final de 4 frutos por planta, cada parcela foi classificada fenotipicamente como normal (fenótipo semelhante a cultivar

Quadro 2. Contrastes de interesse entre os tratamentos

<b>Contrastes</b>	<b>Efeito mensurado</b>
<i>alc/alc vs normal</i>	Contraste do genótipo <i>alc</i> em homozigose com o genótipo normal
<i>nor/nor vs normal</i>	Contraste do genótipo <i>nor</i> em homozigose com o genótipo normal
<i>nor/nor vs alc/alc</i>	Contraste entre o genótipo homozigoto <i>nor/nor</i> e o genótipo homozigoto <i>alc/alc</i>
<i>alc<sup>+</sup>/alc vs normal</i>	Contraste do genótipo heterozigoto <i>alc<sup>+</sup>/alc</i> com o genótipo normal
<i>nor<sup>+</sup>/nor vs normal</i>	Contraste do genótipo heterozigoto <i>nor<sup>+</sup>/nor</i> com o genótipo normal
<i>alc<sup>+</sup>/alc vs nor<sup>+</sup>/nor</i>	Contraste entre o genótipo heterozigoto <i>alc<sup>+</sup>/alc</i> e o heterozigoto <i>nor<sup>+</sup>/nor</i>
<i>rin/rin vs normal</i>	Contraste do genótipo <i>rin</i> em homozigose com o genótipo normal
<i>rin/rin vs alc/alc</i>	Contraste entre o genótipo homozigoto <i>rin/rin</i> e o genótipo homozigoto <i>alc/alc</i>
<i>rin/rin vs nor/nor</i>	Contraste entre o genótipo homozigoto <i>rin/rin</i> e o genótipo homozigoto <i>nor/nor</i>
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs normal</i>	Contraste do genótipo heterozigoto <i>rin<sup>+</sup>/rin</i> com o genótipo normal
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs alc<sup>+</sup>/alc</i>	Contraste entre o genótipo heterozigoto <i>rin<sup>+</sup>/rin</i> e o genótipo heterozigoto <i>alc<sup>+</sup>/alc</i>
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs nor<sup>+</sup>/nor</i>	Contraste entre o genótipo heterozigoto <i>rin<sup>+</sup>/rin</i> e o genótipo heterozigoto <i>nor<sup>+</sup>/nor</i>
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs normal</i>	Contraste entre o genótipo duplo heterozigoto <i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i> e o genótipo normal
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs alc<sup>+</sup>/alc</i>	Contraste entre o genótipo duplo heterozigoto <i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i> e o genótipo heterozigoto <i>alc<sup>+</sup>/alc</i>
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs nor<sup>+</sup>/nor</i>	Contraste entre o genótipo duplo heterozigoto <i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i> e o genótipo heterozigoto <i>nor<sup>+</sup>/nor</i>

<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs alc/alc</i>	Contraste entre o genótipo duplo heterozigoto <i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i> e o genótipo homozigoto <i>alc/alc</i>
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs nor/nor</i>	Contraste entre o genótipo duplo heterozigoto <i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i> e o genótipo homozigoto <i>nor/nor</i>
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs rin/rin</i>	Contraste entre o genótipo duplo heterozigoto <i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i> e o genótipo homozigoto <i>rin/rin</i>
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs normal</i>	Contraste entre o genótipo duplo heterozigoto <i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin</i> e o genótipo normal
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs alc<sup>+</sup>/alc</i>	Contraste entre o genótipo duplo heterozigoto <i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin</i> e o genótipo heterozigoto <i>alc<sup>+</sup>/alc</i>
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs nor<sup>+</sup>/nor</i>	Contraste entre o genótipo duplo heterozigoto <i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin</i> e o genótipo heterozigoto <i>nor<sup>+</sup>/nor</i>
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs rin<sup>+</sup>/rin</i>	Contraste entre o genótipo duplo heterozigoto <i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin</i> e o genótipo heterozigoto <i>rin<sup>+</sup>/rin</i>
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs normal</i>	Contraste entre o genótipo duplo heterozigoto <i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin</i> e o genótipo normal
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs alc<sup>+</sup>/alc</i>	Contraste entre o genótipo duplo heterozigoto <i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin</i> e o genótipo heterozigoto <i>alc<sup>+</sup>/alc</i>
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs nor<sup>+</sup>/nor</i>	Contraste entre o genótipo duplo heterozigoto <i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin</i> e o genótipo heterozigoto <i>nor<sup>+</sup>/nor</i>
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs rin<sup>+</sup>/rin</i>	Contraste entre o genótipo duplo heterozigoto <i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin</i> e o genótipo heterozigoto <i>rin<sup>+</sup>/rin</i>
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>	Contraste entre o genótipo duplo heterozigoto <i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin</i> e o genótipo duplo heterozigoto <i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>	Contraste entre o genótipo duplo heterozigoto <i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin</i> e o genótipo duplo heterozigoto <i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin</i>	Contraste entre o genótipo duplo heterozigoto <i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin</i> e o genótipo duplo heterozigoto <i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin</i>

Flora-Dade, i.e., frutos vermelhos quando maduros) ou mutantes (fenótipo semelhantes ao das linhagens TOM-559 ou TOM-613 frutos amarelados ou amarelo-alaranjados quando maduros).

Foram analisadas 3 diferentes hipótese quanto às relações de alelismo entre os mutantes *alc* e *nor*.

1) – Hipótese de alelismo entre *alc* e *nor* admitida por Lobo (1981), Lobo, Basset & Hannan (1984) e Tigchelaar & Barman (1985).

Admite-se que *alc* seja alélico a *nor*, semelhante ou idêntico a este. Neste caso, as frequências esperadas dos fenótipos quanto à coloração final dos frutos nas gerações testadas seriam:

Genótipos	Frequência Esperada	
	Fenótipo Normal	Fenótipo Mutante
FloraDade (normal)	1	0
TOM-559 ( <i>alc/alc</i> )	0	1
TOM-613 ( <i>nor/nor</i> )	0	1
F1(FloraDade x TOM-559) (= <i>alc<sup>+</sup>/alc</i> )	1	0
F1(FloraDade x TOM-613) (= <i>nor<sup>+</sup>/nor</i> )	1	0
F1(TOM-559 x TOM-613) [=F <sub>1</sub> ( <i>alc</i> x <i>nor</i> )]	0	1
F <sub>2</sub> (TOM-559 x TOM-613) [=F <sub>2</sub> ( <i>alc</i> x <i>nor</i> )]	0	1

2) – Hipótese ortodoxa de não-alelismo entre *alc* e *nor*, definida por Mutschler (1984a).

Esta hipótese admite que *alc* e *nor* são genes localizados em locos distintos, no mesmo cromossomo, e ligados por uma distância genética de  $c = 0,17$  (= 17 Centimorgans). A autora admite também que o fenótipo da F<sub>1</sub> (*alc* x *nor*) quanto à coloração dos frutos é considerado **normal**.

Neste caso, a frequência esperada de genótipos na geração F<sub>2</sub> seria: (Quadro 3):

Quadro 3. Teste de alelismo entre *alc* e *nor*: Frequências genótípicas e fenotípicas esperadas admitindo-se a hipótese de que *alc* e *nor* sejam genes distintos, localizados no mesmo cromossomo, a uma distância genética *c*, e de que o fenótipo do híbrido entre os homozigotos *alc* e *nor* seja **normal**.

Frequências gaméticas	<i>alc</i> <sup>+</sup> <i>nor</i> <sup>+</sup>	<i>alc</i> <sup>+</sup> <i>nor</i>	<i>alc</i> <i>nor</i> <sup>+</sup>	<i>alc</i> <i>nor</i>
	( <i>c</i> /2)	(1- <i>c</i> )/2	(1- <i>c</i> )/2	( <i>c</i> /2)
<i>alc</i> <sup>+</sup> <i>nor</i> <sup>+</sup> ( <i>c</i> /2)	<b>(<i>c</i>/2)<sup>2</sup></b>	<b>(<i>c</i>/2).(1-<i>c</i>)/2</b>	<b>(<i>c</i>/2).(1-<i>c</i>)/2</b>	<b>(<i>c</i>/2)<sup>2</sup></b>
<i>alc</i> <sup>+</sup> <i>nor</i> (1- <i>c</i> )/2	<b>(<i>c</i>/2).(1-<i>c</i>)/2</b>	(1- <i>c</i> )/2.(1- <i>c</i> )/2	<b>(1-<i>c</i>)/2.(1-<i>c</i>)/2</b>	( <i>c</i> /2).(1- <i>c</i> )/2
<i>alc</i> <i>nor</i> <sup>+</sup> (1- <i>c</i> )/2	<b>(<i>c</i>/2).(1-<i>c</i>)/2</b>	<b>(1-<i>c</i>)/2.(1-<i>c</i>)/2</b>	(1- <i>c</i> )/2.(1- <i>c</i> )/2	( <i>c</i> /2).(1- <i>c</i> )/2
<i>alc</i> <i>nor</i> ( <i>c</i> /2)	<b>(<i>c</i>/2)<sup>2</sup></b>	( <i>c</i> /2).(1- <i>c</i> )/2	( <i>c</i> /2).(1- <i>c</i> )/2	<b>(<i>c</i>/2)<sup>2</sup></b>

Classes em negrito têm fenótipo normal; as demais têm fenótipo mutante.

A probabilidade de se obterem plantas de fenótipo normal em F<sub>2</sub> seria, pois, [*c*<sup>2</sup>/4 + 0,5].

A probabilidade de numa população F<sub>2</sub> de N indivíduos não se detectar nenhuma planta de fenótipo normal seria  $p = [1 - (c^2/4 + 0,5)]^N = [0,5 - c^2/4]^N$ .

As frequências esperadas dos genótipos quanto à coloração final dos frutos nas gerações testadas seriam:

Genótipos	Frequência Esperada	
	Fenótipo Normal	Fenótipo Mutante
FloraDade (normal)	1	0
TOM-559 ( <i>alc/alc</i> )	0	1
TOM-613 ( <i>nor/nor</i> )	0	1
F1(FloraDade x TOM-559) (= <i>alc<sup>+</sup>/alc</i> )	1	0
F1(FloraDade x TOM-613) (= <i>nor<sup>+</sup>/nor</i> )	1	0
F1(TOM-559 x TOM-613) [=F <sub>1</sub> ( <i>alc</i> x <i>nor</i> )]	1	0
F <sub>2</sub> (TOM-559 x TOM-613) [=F <sub>2</sub> ( <i>alc</i> x <i>nor</i> )]	$c^2/4 + 0,5$	$0,5 - c^2/4$

3) – Hipótese alternativa de não-alelismo entre *alc* e *nor*, derivada da Mutschler (1984a).

Esta hipótese admite que *alc* e *nor* são genes localizados em locos distintos, no mesmo cromossomo, ligados por uma distância genética de  $c = 0,17$  (= 17 Centimorgans). Interpretando o fenótipo F<sub>1</sub> (*alc* x *nor*) descrito pela autora à luz do descrito por Tigchelaar & Barman (1985), essa hipótese admite que o fenótipo do F<sub>1</sub> (*alc* x *nor*) quanto à coloração dos frutos é considerada **mutante**.

Neste caso, a frequência esperada de genótipos na geração F<sub>2</sub> seria (Quadro 4).

A probabilidade de se obterem plantas de fenótipo normal em F<sub>2</sub>, seria pois:  $[c(1-c) + c^2/4]$ .

A probabilidade de numa população de N indivíduos não se detectar nenhuma planta de fenótipo normal seria:  $p = [c(1-c) + c^2/4]^N$ .

Quadro 4. Teste de alelismo entre *alc* e *nor*: Frequências genótípicas e fenotípicas esperadas admitindo-se a hipótese de que *alc* e *nor* sejam genes distintos, localizados no mesmo cromossomo, a uma distância genética *c*, e de que o fenótipo do híbrido entre os homocigotos *alc* e *nor* seja mutante.

Frequências gaméticas	<i>alc</i> <sup>+</sup> <i>nor</i> <sup>+</sup>	<i>alc</i> <sup>+</sup> <i>nor</i>	<i>alc</i> <i>nor</i> <sup>+</sup>	<i>alc</i> <i>nor</i>
	( <i>c</i> /2)	(1- <i>c</i> )/2	(1- <i>c</i> )/2	( <i>c</i> /2)
<i>alc</i> <sup>+</sup> <i>nor</i> <sup>+</sup> ( <i>c</i> /2)	<b>(<i>c</i>/2)<sup>2</sup></b>	<b>(<i>c</i>/2).(1-<i>c</i>)/2</b>	<b>(<i>c</i>/2).(1-<i>c</i>)/2</b>	( <i>c</i> /2) <sup>2</sup>
<i>alc</i> <sup>+</sup> <i>nor</i> (1- <i>c</i> )/2	<b>(<i>c</i>/2).(1-<i>c</i>)/2</b>	(1- <i>c</i> )/2.(1- <i>c</i> )/2	(1- <i>c</i> )/2.(1- <i>c</i> )/2	( <i>c</i> /2).(1- <i>c</i> )/2
<i>alc</i> <i>nor</i> <sup>+</sup> (1- <i>c</i> )/2	<b>(<i>c</i>/2).(1-<i>c</i>)/2</b>	(1- <i>c</i> )/2.(1- <i>c</i> )/2	(1- <i>c</i> )/2.(1- <i>c</i> )/2	( <i>c</i> /2).(1- <i>c</i> )/2
<i>alc</i> <i>nor</i> ( <i>c</i> /2)	( <i>c</i> /2) <sup>2</sup>	( <i>c</i> /2).(1- <i>c</i> )/2	( <i>c</i> /2).(1- <i>c</i> )/2	( <i>c</i> /2) <sup>2</sup>

Classes em negrito têm fenótipo normal; as demais têm fenótipo mutante

As frequências esperadas dos fenótipos quanto à coloração final dos frutos nas gerações testadas seriam:

Genótipos	Frequência Esperada	
	Fenótipo Normal	Fenótipo Mutante
FloraDade (normal)	1	0
TOM-559 ( <i>alc/alc</i> )	0	1
TOM-613 ( <i>nor/nor</i> )	0	1
F1(FloraDade x TOM-559) (= <i>alc</i> <sup>+</sup> / <i>alc</i> )	1	0
F1(FloraDade x TOM-613) (= <i>nor</i> <sup>+</sup> / <i>nor</i> )	1	0
F1(TOM-559 x TOM-613) [=F <sub>1</sub> ( <i>alc</i> x <i>nor</i> )]	0	1
F <sub>2</sub> (TOM-559 x TOM-613) [=F <sub>2</sub> ( <i>alc</i> x <i>nor</i> )]	[ <i>c</i> (1- <i>c</i> ) + <i>c</i> <sup>2</sup> /4] : {1-[ <i>c</i> (1- <i>c</i> ) + <i>c</i> <sup>2</sup> /4]}	

## 2.6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2.6.1 Experimento 1- Firmeza e conservação dos frutos.

#### 2.6.1.1 Firmeza dos frutos

##### 2.6.1.1.1 Firmeza inicial dos frutos

Os valores obtidos pelo teste de Dunnett mostram que somente os tratamentos TOM-559 (*alc/alc*) e TOM-613 (*nor/nor*) foram significativamente mais firmes que a testemunha Flora-Dade (normal) (Tabela 1A). O tratamento Flora-Dade obteve firmeza de  $5,5150 \times 10^4$  N/m<sup>2</sup>, enquanto os tratamentos TOM-559 e TOM-613 obtiveram firmeza de  $7,29 \times 10^4$  N/m<sup>2</sup> e  $7,1550 \times 10^4$  N/m<sup>2</sup> respectivamente (Tabela 1A).

Já os contrastes que comparam os efeitos dos alelos mutantes *alc*, *nor* e *rin* em homozigose com o genótipo normal apresentaram diferenças significativas para a firmeza inicial dos frutos (Tabela 2A). O genótipo *alc/alc* condicionou firmeza inicial ligeiramente maior do que *nor/nor* e *rin/rin*, diferenças que, no entanto, não se revelaram significativas (Tabela 2A).

Em relação aos genótipos heterozigotos em um só loco, somente o genótipo *nor*<sup>+</sup>/*nor* apresentou diferença significativa (detectada pelo respectivo contraste) quando comparado ao genótipo normal (Tabela 2A), essa diferença não foi detectada como significativa pelo teste de Dunnett (Tabela 1A). Os genótipos *alc*<sup>+</sup>/*alc* e *rin*<sup>+</sup>/*rin* não alteraram significativamente a firmeza inicial. Estes resultados discordam de Santos Júnior (2002), que não encontrou diferença significativa em relação ao genótipo *nor*<sup>+</sup>/*nor* quando comparado ao genótipo normal. Os contrastes que comparam o efeito dos genótipos heterozigotos entre si mostraram, não haver diferença significativa entre eles para



a característica firmeza inicial dos frutos (Tabela 2A). Esses resultados indicam que o efeito dos genótipos heterozigotos na firmeza dos frutos no estágio *breaker* é pequena, senão inexistente.

Entre as duplas combinações heterozigotas, apenas a  $alc^+/alc\ nor^+/nor$  não apresentou diferença significativa em relação ao genótipo normal ( $\alpha=0,0567$ ) (Tabela 2A), resultado que mais uma vez discorda de Santos Júnior (2002), que concluiu que as duplas combinações  $alc^+/alc\ rin^+/rin$  e  $nor^+/nor\ rin^+/rin$  não diferem significativamente do genótipo normal para a característica firmeza inicial. A dupla combinação  $nor^+/nor\ rin^+/rin$  apresentou firmeza superior à dupla combinação  $alc^+/alc\ rin^+/rin$  na característica firmeza inicial dos frutos, diferença não significativa. Não houve diferenças significativas nos contrastes que comparam as duplas combinações  $alc^+/alc\ rin^+/rin$  e  $nor^+/nor\ rin^+/rin$  com os genótipos heterozigotos  $alc^+/alc$ ,  $nor^+/nor$  e  $rin^+/rin$  (Tabela 2A).

Os contrastes que comparam a dupla combinação  $alc^+/alc\ nor^+/nor$  com  $alc/alc$ ,  $nor/nor$ ,  $alc^+/alc$  e  $nor^+/nor$  mostraram não haver diferenças significativas entre a dupla combinação e os respectivos genótipos em homozigose e em heterozigose para firmeza inicial dos frutos (Tabela 2).

#### **2.6.1.1.2 Meia vida da firmeza**

Apenas as meias vidas dos tratamentos  $F_1$  (Flora-Dade x TOM-559) ( $alc^+/alc$ ) e  $F_1$  (Flora-Dade x TOM-613) ( $nor^+/nor$ ) não diferiram significativamente em relação às da testemunha Flora-Dade pelo teste de Dunnett (Tabela 3A), embora tenha havido uma tendência também destes genótipos de apresentarem meia vida maior do que a testemunha normal (Tabela 4A). A testemunha normal teve meia vida de firmeza de 10,6 dias, enquanto os tratamentos  $alc^+/alc$ ,  $nor^+/nor$  e  $rin^+/rin$  obtiveram valores de 13,3, 13,9 e 16,3,

dias respectivamente (Tabela 3A). Os contrastes da meia vida da firmeza dos frutos mostram uma superioridade do genótipo *rin*<sup>+</sup>/*rin* em relação ao *alc*<sup>+</sup>/*alc* e *nor*<sup>+</sup>/*nor* (Tabela 4A). A meia vida do genótipo *rin*<sup>+</sup>/*rin* superou em 2,9 dias o genótipo *alc*<sup>+</sup>/*alc* e 2,3 dias o genótipo *nor*<sup>+</sup>/*nor*, diferenças que mostraram-se não significativas (Tabela 4A). A pequena diferença na meia vida do genótipo *alc*<sup>+</sup>/*alc* em relação ao normal concorda com os resultados de Santos Júnior (2002). Já os genótipos *nor*<sup>+</sup>/*nor* e *rin*<sup>+</sup>/*rin* tiveram valores de meia vida 3,4 e 5,7 dias superior ao genótipo normal, diferenças estas consideradas significativas (Tabela 4A).

O tratamento TOM-614 (*rin/rin*) superou os tratamentos TOM-559 (*alc/alc*) e TOM-613 (*nor/nor*) em relação à meia vida dos frutos. O genótipo *rin/rin* apresentou meia vida de 55 dias, já os genótipos *alc/alc* e *nor/nor* apresentaram meia vida de 24,3 e 26,3 dias, respectivamente (Tabela 3A). O genótipo *rin/rin* apresenta meia vida 31,1 dias superior ao *alc/alc* e 29,1 dias quando comparado ao *nor/nor*. Não houve diferença significativa entre *alc/alc* e *nor/nor* (Tabela 4A).

A meia vida correspondente ao tratamento F<sub>1</sub> (TOM-559 x TOM-614) *alc*<sup>+</sup>/*alc rin*<sup>+</sup>/*rin* foi superior 2,1 dias à da dupla combinação *nor*<sup>+</sup>/*nor rin*<sup>+</sup>/*rin*, uma diferença praticamente no limite de significância ( $\alpha = 0,0479$ ) (Tabela 4A). A dupla combinação heterozigótica *alc*<sup>+</sup>/*alc rin*<sup>+</sup>/*rin* atuou no sentido de prolongar a meia vida dos frutos relativamente às heterozigotas em um loco. A combinação *alc*<sup>+</sup>/*alc rin*<sup>+</sup>/*rin* apresentou meia vida dos frutos 7,7 dias superior à do genótipo normal, enquanto dupla combinação *nor*<sup>+</sup>/*nor rin*<sup>+</sup>/*rin* o fez em 5,6 dias (Tabela 4A).

A meia vida da dupla combinação *alc*<sup>+</sup>/*alc nor*<sup>+</sup>/*nor* superou as das duas outras duplas combinações, pois apresentou meia vida de 27,6 dias, apresentando maior semelhança aos genótipos homozigotos *alc/alc* e *nor/nor* do que com as outras duas duplas combinações heterozigotas (Tabelas 3A e 4A).

O contraste  $nor^+/nor\ rin^+/rin$  vs  $rin^+/rin$  indica que o genótipo  $nor^+/nor$  não contribuiu para aumentar a meia vida frutos quando  $rin^+/rin$  está presente (Tabela 4A). Semelhantemente, o genótipo  $alc^+/alc$  também não aumenta a meia vida dos frutos quando  $rin^+/rin$  está presente (Tabela 4A)

A meia vida da dupla combinação  $alc^+/alc\ nor^+/nor$  (27,6 dias, Tabela 3A) superou amplamente as condicionadas pelos genótipos  $alc^+/alc$  (13,3 dias) e  $nor^+/nor$  (13,9 dias), mas foi da ordem de magnitude conferida por  $alc/alc$  (24,3 dias) ou  $nor/nor$  (26,3 dias). A dupla combinação  $alc^+/alc\ nor^+/nor$  superou também as duplas combinações  $alc^+/alc\ rin^+/rin$  (18,3 dias) e  $nor^+/nor\ rin^+/rin$  (16,2 dias) (Tabela 3A).

#### **2.6.1.1.3 Número de dias para atingir firmeza de $2,0 \times 10^4$ N/m<sup>2</sup>**

Todos os tratamentos diferiram significativamente da testemunha normal Flora-Dade pelo teste de Dunnett (Tabela 5A).

A testemunha normal Flora-Dade atingiu a firmeza de  $2,0 \times 10^4$  N/m<sup>2</sup> em 15,5 dias (Tabela 5A). O genótipo  $rin/rin$  foi o que mais retardou a perda da firmeza (97,9 dias) (Tabela 5A). O genótipo  $rin/rin$  retardou a perda da firmeza  $2,0 \times 10^4$  N/m<sup>2</sup> em 52,4 dias, quando comparado ao genótipo  $alc/alc$ , e em 49,4 dias, quando comparado ao  $nor/nor$  (Tabela 6A).

Os genótipos heterozigotos  $alc^+/alc$ ,  $nor^+/nor$  e  $rin^+/rin$  provocaram incrementos semelhantes (Tabela 5A e 6A) no número de dias para atingir a firmeza de  $2,0 \times 10^4$  N/m<sup>2</sup>, da ordem de 7,1 8,7 e 8,7 dias, respectivamente, em relação ao normal (Tabela 6A), não havendo diferenças significativas entre eles sob este aspecto.

A dupla combinação  $alc^+/alc\ rin^+/rin$  superou ligeiramente a  $nor^+/nor\ rin^+/rin$ , mas a diferença de 2,7 dias encontrada entre eles não foi considerada significativa (Tabela 6A). A dupla combinação  $alc^+/alc\ rin^+/rin$  retardou a

perda da firmeza em 15,3 dias, enquanto o genótipo *alc<sup>+</sup>/alc* o fez em 7,1 dias e o *rin<sup>+</sup>/rin*, em 8,7 dias, quando comparados com o genótipo normal (Tabela 6A). O efeito da dupla combinação relativamente ao genótipo normal foi praticamente a soma dos genótipos isolados em heterozigose. Os contrastes que comparam a dupla combinação *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin* com os genótipos heterozigotos isolados confirmam a superioridade desta dupla combinação em relação às heterozigotas em um único loco (Tabela 6A). A dupla combinação *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin* também superou ligeiramente os heterozigotos simples *nor<sup>+</sup>/nor* e *rin<sup>+</sup>/rin*, embora as diferenças fossem menores (de 3,7 a 3,8 dias) e estivessem apenas próxima ao limite de significância (Tabela 6A). Esses resultados concordam com os de Santos Júnior (2002), obtido em outro *background*, que verificou superioridade da dupla combinação *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin* sobre a dupla combinação *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin* e sobre os alelos isolados em heterozigose, embora no presente caso a diferença (2,7 dias) entre estas duas duplas combinações não tenham sido significativas (Tabela 6A).

Entre as duplas combinações, destacou-se a *alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor*, a qual demorou 47 dias para atingir a firmeza  $2,0 \times 10^4$  N/m<sup>2</sup>, valores semelhante foram obtidos pelos genótipos *nor/nor* (48,5 dias) e *alc/alc* (45,5 dias) (Tabela 5A). O número de dias para atingir a firmeza  $2,0 \times 10^4$  N/m<sup>2</sup> da dupla combinação *alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor* superou as duplas combinações *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin* e *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin* em 16,2 e 18,9 dias, respectivamente (Tabela 6A).

### **2.6.1.2 Coloração final dos frutos**

#### **2.6.1.2.1 Coloração final externa dos frutos**

Os genótipos TOM-559 (*alc/alc*), TOM-613 (*nor/nor*), TOM-614 (*rin/rin*) e F<sub>1</sub> (TOM-559 x TOM-613) (*alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor*) apresentaram

diferenças significativas em relação a nota final da coloração externa dos frutos, quando comparados ao genótipo normal, segundo o teste de Dunnett (Tabela 7A). Os demais tratamentos apresentaram coloração externa nota 5,00, que representa a cor vermelho intenso (Tabela 7A).

A nota mais baixa referente à coloração externa foi atribuída ao genótipo TOM-614 (*rin/rin*) com nota 1,95 (Tabela 7A). O genótipo *rin/rin* reduz em 3,05 pontos a coloração dos frutos quando comparados ao normal, já os genótipos *alc/alc* e *nor/nor* reduzem em 1,75 e 2,15 pontos (Tabela 8A). Os genótipos TOM-613 (*nor/nor*), TOM-559 (*alc/alc*) e F<sub>1</sub> (TOM-559 x TOM-613) (*alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor*) obtiveram notas referente à coloração externa de 2,85, 3,25 e 3,27 pontos, respectivamente (Tabela 7A). O contraste que compara a coloração externa dos genótipos *alc/alc* vs *nor/nor* mostrou haver diferença significativa entre a coloração externas dos mutantes. O genótipo *nor/nor* reduz a coloração em 0,40 pontos em relação ao genótipo *alc/alc* (Tabela 8A). A dupla combinação *alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor* atingiu nota de coloração externa praticamente idêntica ao genótipo *alc/alc* e ligeira mas significativamente superior à da *nor/nor*. A nota 3,27 obtida pelo tratamento *alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor* discorda do resultado encontrados por Santos Júnior (2002) em outro *background* genético, que concluiu que a dupla combinação *alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor* teve coloração semelhante aos frutos de coloração normal, embora sua análise tenha sido menos rigorosa do que a empregada no presente ensaio. Os contrastes da dupla combinação *alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor* comparadas aos genótipos normal, *alc/alc*, *nor/nor*, *alc<sup>+</sup>/alc* e *nor<sup>+</sup>/nor* indicam que só não houve diferença significativa no contraste que compara a dupla combinação com o genótipo *alc/alc*, quanto à coloração externa dos frutos (Tabela 8A). O genótipo *nor/nor* reduziu a coloração externa em 0,42 pontos em relação à dupla combinação *alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor* (tabela 8A). A dupla combinação *alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor* apresentou piora

significativa quanto à coloração externa dos frutos quando comparada às duplas combinações  $alc^+/alc\ rin^+/rin$  e  $nor^+/nor\ rin^+/rin$  (Tabela 8A).

Os contrastes que envolvem os genótipos  $alc^+/alc$ ,  $nor^+/nor$  e  $rin^+/rin$  não apresentaram diferenças significativas quanto à coloração externa, quando comparados ao genótipo normal e entre si (Tabela 8A). Não houve diferença significativa entre as duplas combinações  $alc^+/alc\ rin^+/rin$  e  $nor^+/nor\ rin^+/rin$  quando comparadas ao genótipo normal e entre si (Tabela 8A).

#### 2.6.1.2.2 Coloração final interna dos frutos:

Os genótipos  $F_1$  (Flora-Dade x TOM-559) ( $alc^+/alc$ ) e  $F_1$  (Flora-Dade x TOM-613) ( $nor^+/nor$ ) não apresentaram diferenças significativas quando comparados ao genótipo normal segundo o teste de Dunnett (Tabela 9A). A testemunha normal obteve nota de 4,90 pontos, enquanto os genótipos  $alc^+/alc$  e  $nor^+/nor$  obtiveram notas, para coloração interna, de 4,35 e 4,50 pontos, respectivamente (Tabela 9A). Alguns tratamentos que apresentaram-se diferentes significativamente do normal tiveram, contudo, notas internas aceitáveis para os padrões de consumo, como os genótipos  $F_1$  (Flora-Dade x TOM-614) ( $rin^+/rin$ ),  $F_1$  (TOM-559 x TOM-614) ( $alc^+/alc\ rin^+/rin$ ) e  $F_1$  (TOM-613 x TOM-614) ( $nor^+/nor\ rin^+/rin$ ), com notas de 4,05, 3,98 e 4,04 pontos, respectivamente (Tabela 9A). A dupla combinação  $alc^+/alc\ nor^+/nor$  apresentou coloração interna de 3,32 pontos, muito semelhante às dos genótipos  $alc/alc$  (3,25 pontos) e  $nor/nor$  (3,05 pontos) (Tabela 9A). Quando se comparou a dupla combinação  $alc^+/alc\ nor^+/nor$  com o genótipo normal, houve redução de 1,68 pontos na nota (Tabela 10A).

Os contrastes que avaliam os alelos mutantes em homozigose mostram que o genótipo  $rin/rin$  foi o mais drástico em reduzir a coloração interna dos frutos, reduzindo em 3,90 pontos a nota de coloração interna em relação ao

genótipo normal. Já os genótipos *alc/alc* e *nor/nor* reduziram em 1,65 e 1,85 pontos, respectivamente (Tabela 10A). O contraste *alc/alc* vs *nor/nor* mostrou não haver diferença significativa quanto à coloração interna (Tabela 10A).

Entre os genótipos heterozigotos em um loco, genótipo *rin<sup>+</sup>/rin* foi o que mais drasticamente afetou a coloração interna, reduzindo-a em 0,85 pontos (Tabela 10A), contudo os contrastes que comparam os efeitos dos alelos em heterozigose entre si mostraram-se não significativos (Tabela 10A).

As duplas combinações de alelos em heterozigose *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin* e *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin* apresentaram diferença significativa em relação ao normal. A dupla combinação *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin* reduziu a coloração interna dos frutos em 0,91 pontos e a dupla combinação *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin* a reduziu em 0,86 pontos. O contraste que compara a dupla combinação *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin* vs *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin* mostrou-se não significativo em relação à coloração interna dos frutos (Tabela 10A). Houve diferenças significativas nos contrastes que comparam a dupla combinação *alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor* com as duplas combinações *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin* e *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin* quanto à coloração interna dos frutos (Tabela 10A), sendo a primeira a que mais a prejudicou.

### **2.6.1.3 Percentagem de área colorida nos frutos**

#### **2.6.1.3.1 Percentagem total de área colorida dos frutos aos 28 dias após a colheita.**

Nenhum dos tratamentos diferiu do genótipo normal em relação à característica percentagem total da área colorida dos frutos segundo o teste de Dunnett, com exceção do tratamento TOM-614 (*rin/rin*) que obteve nota de 1,90 pontos (Tabela 11A). Os tratamentos *alc/alc*, *nor/nor* e *alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor* obtiveram notas de percentagem de área colorida de 4,85, 4,80 e 4,64,

respectivamente (Tabela 11A). Os demais tratamentos obtiveram notas de área colorida de 5,00, que representa acima de 80% da área do fruto colorida.

Entre os genótipos homocigotos, o genótipo *rin/rin* foi o mais drástico, reduzindo em 3,10 pontos a porcentagem de área colorida quando comparado ao genótipo normal (Tabela 11A). Não houve diferença significativa entre a comparação dos genótipos *alc/alc* e *nor/nor* (Tabela 12A), mas foram superiores ao genótipo *rin/rin*.

Os contrastes que comparam dos genótipos *alc<sup>+</sup>/alc*, *nor<sup>+</sup>/nor*, *rin<sup>+</sup>/rin*, *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin* e *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin* com o genótipo normal não apresentaram diferenças significativas (Tabela 12A). Também não houve diferença significativa entre a comparação das duplas combinações *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin* e *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin* com os genótipos heterocigotos *alc<sup>+</sup>/alc*, *nor<sup>+</sup>/nor* e *rin<sup>+</sup>/rin* (Tabela 12A). Esses resultados indicam que os genótipos heterocigotos em um só loco e das duplas combinações *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin* e *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin* não interferem na porcentagem de área colorida dos frutos ao final de 28 dias.

Os contrastes que comparam a dupla combinação *alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor* com os genótipos *alc/alc*, *nor/nor*, *alc<sup>+</sup>/alc* e *nor<sup>+</sup>/nor* foram não significativos (Tabela 12A).

#### **2.6.1.3.2 Dias decorridos após a colheita para atingir nota 3 referente à porcentagem da área colorida dos frutos**

O tratamento TOM-614 (*rin/rin*) não foi incluído na avaliação desta característica porque não atingiu, nem mesmo ao final de 28 dias após a colheita, a nota 3 (40-60% da área do fruto colorida) referente à porcentagem de área colorida dos frutos.

Os tratamentos *alc/alc*, *nor/nor*, *alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor* e *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin* apresentaram diferença significativa em relação ao genótipo normal, segundo o



teste de Dunnett (Tabela 13A). Os frutos do tratamento normal Flora-Dade demoraram 2,75 dias para atingir nota 3, enquanto os dos tratamentos TOM-559 (*alc/alc*), TOM-613 (*nor/nor*), F<sub>1</sub> (TOM-559 x TOM- 613) (*alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor*) e F<sub>1</sub> (TOM-613 x TOM- 614) (*nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin*) demoraram 11,41, 11,33, 9,25 e 4,88 dias, respectivamente (Tabela 13A). Os genótipos *alc/alc* e *nor/nor* retardaram em 8,66 e 8,58 dias, respectivamente, a chegada da nota 3 dos frutos quando comparados ao normal (Tabela 14A). O contraste *alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor* vs normal mostrou que os frutos da dupla combinação retardaram em 6,49 a chegada da nota 3 (Tabela 14A), valor da mesma ordem de grandeza dos efeitos de *alc/alc* e *nor/nor*, embora difira significativamente (Tabela 14A). Houve diferença significativa entre os contrastes que comparam a dupla combinação *alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor* com as duplas combinações *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin* e *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin* (Tabela 14A), tendo a primeira se revelado muito mais drástica do que as duas últimas

Entre os genótipos em heterozigose, o tratamento F<sub>1</sub> (Flora-Dade x TOM- 613) (*nor<sup>+</sup>/nor*) foi ligeiramente mais drástico em retardar a chegada da nota 3 dos frutos, demorando 4,91 dias, enquanto os tratamentos F<sub>1</sub> (Flora-Dade x TOM- 559) (*alc<sup>+</sup>/alc*) e F<sub>1</sub> (Flora-Dade x TOM- 614) (*rin<sup>+</sup>/rin*) demoraram 4,27 e 3,81 dias, respectivamente (Tabela 13A), mas estas diferenças não foram significativas entre si (Tabela 14A).

As duplas combinações *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin* e *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin* apresentaram diferença significativa quando comparadas ao genótipo normal (Tabela 14A), mas não em relação aos genótipos heterozigotos simples *alc<sup>+</sup>/alc*, e *nor<sup>+</sup>/nor* e *rin<sup>+</sup>/rin* (Tabela 14A).

#### 2.6.1.4 Evolução da nota de coloração dos frutos

O tratamento TOM-614 (*rin/rin*) mais uma vez não foi incluído na avaliação desta característica, pois não atingiu nota 2,5 (quase alaranjada) referente à coloração dos frutos ao final dos 28 dias após a colheita.

Todos os tratamentos apresentaram diferença significativa em relação à testemunha normal Flora-Dade segundo o teste de Dunnett. O tratamento Flora-Dade demorou 2,8 dias para atingir nota 2,5 (Tabela 15A). Os genótipos *alc/alc* e *nor/nor* demoraram 13,5 e 12 dias, respectivamente, para atingir nota 2,5 (Tabela 15A), o que mostra que os genótipos homozigotos têm maior efeito em atrasar a coloração dos frutos (Tabela 15A).

Os frutos dos genótipos *alc<sup>+</sup>/alc*, *nor<sup>+</sup>/nor* e *rin<sup>+</sup>/rin* demoraram 3,87, 4,58 e 3,70 dias, respectivamente, para atingirem a nota 2,5 (Tabela 15A), valores estes muito próximos e que não diferem entre si nem do genótipo normal (Tabela 16A).

As duplas combinações *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin* e *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin* apresentaram efeitos semelhantes aos dos genótipos heterozigotos *alc<sup>+</sup>/alc*, *nor<sup>+</sup>/nor* e *rin<sup>+</sup>/rin* (Tabelas 15A e 16A) e diferiram dos da dupla combinação *alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor*, cujo efeito em retardar a evolução da coloração foi mais drástico e assemelhou-se aos dos genótipos homozigotos *alc/alc*, *nor/nor* (Tabela 15A).

#### 2.6.1.5 Número de dias da antese ao estágio *breaker*

Somente o tratamento TOM-614 (*rin/rin*) apresentou diferença significativa quanto ao número de dias da antese ao estágio *breaker* de maturação (Tabela 17A).

Os frutos da testemunha Flora-Dade permaneceram nas plantas por 58,2 dias da antese à colheita, enquanto os do tratamento TOM-614 (*rin/rin*) permaneceram por 71,9 dias (Tabela 17A). O efeito do homocigoto *rin/rin* foi mais drástico do que os de *alc/alc* ou *nor/nor* (Tabela 18A), não tendo estes dois últimos diferido do normal nem do *alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor*.

Os genótipos *alc<sup>+</sup>/alc*, *nor<sup>+</sup>/nor* e *rin<sup>+</sup>/rin*, comparados ao genótipo normal, não apresentaram diferença significativa quanto ao tempo de permanência do fruto na planta, resultado este que concorda com os encontrados por Faria (2000) em relação ao genótipo *alc<sup>+</sup>/alc* e Santos Júnior em relação (2002) aos alelos *alc*, *nor* e *rin* em heterocigose. Os frutos dos genótipos *alc*, *nor* e *rin* em heterocigose permaneceram nas plantas 1,6, 2,7 e 2,9 dias, respectivamente, a mais que os frutos do genótipo normal (Tabela 18A), valores estes não significativos.

Os frutos das plantas que possuíam a dupla combinação *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin* permaneceram nas planta por 1,6 dias a mais do que os de genótipo normal, e os frutos da dupla combinação *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin* permaneceram por 2,9 dias (Tabela 18A), valores bastante semelhantes entre si, aos de *alc<sup>+</sup>/alc*, *nor<sup>+</sup>/nor* e *rin<sup>+</sup>/rin* e ao genótipo normal. Santos Junior (2002) encontrou diferenças significativas entre as duplas combinações *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin* e *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin* comparadas ao genótipo normal. Apesar dessa diferença de significância entre os contrastes que comparam as duplas combinações com o genótipo normal entre este trabalho e o de Santos Júnior (2002), os valores dos contrastes são semelhantes em ambos os trabalhos. Santos Júnior (2002) encontrou valores, para os contrastes das duplas combinações *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin* e *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin* comparadas ao normal, de 2,2 e 2,3 dias, respectivamente.

Apesar da diferença não ser significativa entre os contrastes que envolvem a comparação dos alelos em heterocigose e as duplas combinações *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin* e *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin* com o genótipo normal, Faria (2000)

comenta que a diferença no número de dias de permanência dos frutos nas plantas pode refletir em um ligeiro atraso no início da coloração, atribuída às constituições genóticas em heterozigose, uma vez que a colheita é baseada no início da coloração dos frutos.

### **2.6.2 Experimento 2 Teste de Alelismo entre *alc* e *nor***

A Tabela 19A indica as frequências esperadas dos fenótipos normal e mutante sob a hipótese de alelismo entre *alc* e *nor*, conforme sugerido por Lobo (1981) e Lobo, Basset & Hannan (1984) e Tigchelaar & Barman (1985).

Já as Tabelas 20A e 21A referem-se à hipótese de que *alc* e *nor* sejam genes distintos, localizados no mesmo cromossomo a uma distância genética de  $c = 0,17$ , hipótese levantada por Mutschler (1984a). Na Tabela 20A, admite-se a afirmação ortodoxa desta autora de que os frutos  $F_1$  (*alc* x *nor*) têm coloração (fenótipo) normal. Na Tabela 21A, admite-se alternativamente a interpretação sugerida por Tigchelaar & Barman (1985) da descrição fenotípica dos frutos  $F_1$  (*alc* x *nor*) feita por Mutschler (1984a), segundo a qual o fenótipo dos frutos  $F_1$  (*alc* x *nor*) pode ser considerada mutante.

#### **2.6.2.1 Teste das hipóteses sobre as relações de alelismo entre *alc* e *nor*.**

As hipóteses de não-alelismo entre *alc* e *nor*, tanto em sua versão ortodoxa Mutschler (1984a) como em sua interpretação alternativa revelaram-se insatisfatórias para explicar os dados obtidos no presente experimento, com uma população de  $N = 364$  indivíduos  $F_2$  testados. Em ambas as versões (Tabelas 20A e 21A), uma frequência considerável de indivíduos  $F_2$  com fenótipo normal é esperada, mas a frequência obtida para plantas com este fenótipo foi nula. Em ambos os casos, os desvios indicados pelo teste  $\chi^2$  foram altamente

significativos. A probabilidade de as hipóteses em questão serem verdadeiras, tendo-se obtidos estes resultados em  $F_2$ , é de respectivamente  $1,33 \times 10^{-122}$  e  $4,17 \times 10^{-26}$  (Tabelas 22A e 23A), ambas infinitesimalmente pequenas, o que permite a rejeição das hipóteses de não-alelismo consideradas. Por outro lado, em se admitindo a hipótese de não-alelismo como verdadeira, ter-se-ia de admitir que no nível de probabilidade de  $\alpha = 0,01$ , a distância genética entre eles, baseada nos dados obtidos para a população  $F_2$  (*alc* x *nor*), deveria ser substancialmente inferior aos  $c = 17$  cM proposto por Mutschler (1984a) (Tabelas 22A e 23A); a distância deveria ser praticamente nula (em se admitindo  $F_1$  com fenótipo normal) ou pelo menos  $< 1,2$  cM (em se admitindo  $F_1$  com fenótipo mutante). No nível de probabilidade de  $\alpha = 0,05$ , a distância entre os genes *alc* e *nor*, em caso de não-alelismo, somente se poderia explicar na melhor das hipóteses se as distâncias genéticas fossem  $< 0,8$  cM.

Já a hipótese de alelismo entre *alc* e *nor*, proposta por Lobo (1981) e Lobo, Basset & Hannan (1984), não pode ser rejeitada, uma vez que as frequências observadas corresponderam exatamente às frequências esperadas (Tabela 19A).

Os resultados obtidos neste teste de alelismo permitem concluir que há uma grande probabilidade de que os genes *alc* e *nor* sejam alélicos, conforme sugerem Lobo (1981), Lobo, Basset & Hannan (1984) e Tigchelaar & Barman (1985). Segundo Lobo (1981) e Lobo, Basset & Hannan (1984), *alc* seria um terceiro alelo no loco *nor*, ao qual se atribuiria o símbolo *nor<sup>A</sup>*. Lobo (1981) e Lobo, Basset & Hannan (1984) fazem distinções entre os fenótipos condicionados por *nor<sup>A</sup>* (*alc/alc*) e *nor* e indica ainda, que o fenótipo *nor<sup>A</sup>* é dominante sobre o fenótipo *nor*. No presente trabalho, não se pode claramente distinguir os efeitos fenotípicos de *nor* dos de *alc*, seja em homozigose ou em heterozigose, a não ser no contraste da característica coloração externa dos frutos entre os respectivos homozigotos (diferença que, embora significativa, foi

pequena em magnitude). Assim, os dados presentes não permitem concluir que *alc* (ou *nor*<sup>A</sup>) possa ser de fato considerado um alelo distinto do próprio *nor*.

De qualquer modo, a possibilidade de *alc* e *nor* serem genes distintos, mas localizados num mesmo segmento cromossômico bastante pequeno (da ordem de 1 cM ou menor), também não pode ser totalmente descartada. A distinção entre as situações avaliadas somente será feita após sequenciamento gênico dos alelos *alc* e *nor*, o qual poderá então determinar como verdadeira uma das seguintes hipóteses:

- (a) *alc* e *nor* são alélicos e idênticos entre si;
- (b) *alc* e *nor* são alélicos, mas não idênticos entre si (conforme proposto por Lobo, 1981 e Lobo *et.al.*, 1984);
- (c) *alc* e *nor* são não alélicos entre si, ligados a uma distância genética bastante pequena, da ordem de 1 cM.

## 2.7 DISCUSSÃO GERAL

Neste trabalho estudaram-se os efeitos dos alelos *alc*, *nor* e *rin* em um mesmo *background* genético (Flora-Dade), a fim de estimar o efeito de cada alelo em homozigose, heterozigose e em duplas combinações desses alelos, bem como a relação de alelismo entre *alc* e *nor*.

Desde a década de 1980 existe uma divergência entre Lobo (1981), Lobo, Basset & Hannan (1984) e Mutschler (1984a) sobre as possíveis relações de alelismo entre *alc* e *nor*. Com os resultados do teste de alelismo entre *alc* e *nor* realizado neste trabalho, a hipótese de alelismo proposta por Lobo (1981) e Lobo, Basset & Hannan (1984) tem grande probabilidade de ser aceita. Na população F<sub>2</sub> de 364 plantas não foi verificada a presença de recombinantes (coloração normal), mostrando que *alc* e *nor* podem ser alélicos. As hipóteses de não-alelismo entre *alc* e *nor*, tanto em sua versão ortodoxa Mutschler (1984a) como em sua interpretação alternativa, revelaram-se insatisfatórias para explicar os dados obtidos no presente experimento. A hipótese de *alc* e *nor* serem genes distintos ligados à distância de 17 cM, proposta por Mutschler (1984a), não está correta. A probabilidade das hipóteses em questão serem verdadeiras, tendo-se obtidos estes resultados em F<sub>2</sub>, é de respectivamente  $1,33 \times 10^{-122}$  e  $4,17 \times 10^{-26}$  (Tabelas 22A e 23A), ambas infinitesimalmente pequenas, o que permite a rejeição das hipóteses de não-alelismo consideradas. Entretanto, para admitir a hipótese de *alc* e *nor* serem genes ligados, na melhor das hipóteses seria preciso admitir um valor de  $c \leq 0,008$  ( $\alpha = 0,05$ ) ou  $c \leq 0,012$  ( $\alpha = 0,01$ ) muito inferior ao proposto pela autora.

Lobo (1981) e Lobo, Basset & Hannan, (1984), fazem distinções entre os fenótipos condicionados por *nor*<sup>A</sup> (= *alc*) e *nor*; indica ainda que o fenótipo *nor*<sup>A</sup> é dominante sobre o fenótipo *nor*. Não se pode, nos presentes experimentos, claramente distinguir os efeitos fenotípicos de *nor* dos de *alc*, seja

em homozigose ou em heterozigose. Para todas características avaliadas quanto à firmeza e coloração, não foi detectada diferença entre os contrastes que envolvem a comparação entre *alc* e *nor*, com exceção da característica nota final de coloração externa. Isso comprova que os efeitos desses alelos, se distintos, são muito semelhantes e difíceis de serem detectados.

A dupla combinação *alc*<sup>+</sup>/*alc* *nor*<sup>+</sup>/*nor* destacou-se em relação às duplas combinações *alc*<sup>+</sup>/*alc* *rin*<sup>+</sup>/*rin* e *nor*<sup>+</sup>/*nor* *rin*<sup>+</sup>/*rin* quanto as características de firmeza e coloração dos frutos, assemelhando-se muito aos valores encontrados para os homozigotos *alc* e *nor*, o que seria bastante consistente com a hipótese de alelismo entre *alc/alc* e *nor/nor* proposta por Lobo (1981), Lobo, Basset & Hannan (1984) e Tigchelaar & Barman (1985). A dupla combinação *alc*<sup>+</sup>/*alc* *nor*<sup>+</sup>/*nor* não pode ser facilmente utilizada em programas de melhoramento, pois os valores de médias e contrastes referentes à coloração mostram que sua coloração assemelha-se aos homozigotos *alc* e *nor*, apresentando coloração alaranjada, resultado que vai contra o encontrado por Santos Júnior (2002), que em seu trabalho sugeriu que a dupla combinação *alc*<sup>+</sup>/*alc* *nor*<sup>+</sup>/*nor* possui coloração quase normal. Essa discrepância de resultados pode ser atribuída ao distinto *background* genético estudado, conforme sugerem Tigchelaar & Barman (1985).

Os alelos mutantes *alc*, *nor* e *rin* em homozigose têm efeito muito drástico em reduzir a coloração e a firmeza dos frutos. Quando se comparam os efeitos dos alelos mutantes *alc*, *nor* e *rin* em homozigose em relação às características de firmeza e coloração, observa-se que o *rin/rin* é o mais drástico em reduzir a perda da firmeza e reduzir a coloração dos frutos em relação ao *alc/alc* e *nor/nor*. Na característica número de dias para atingir a firmeza de  $2,0 \times 10^4 \text{ N/m}^2$ , o genótipo *rin/rin* demoraria 82,4 dias para atingir a firmeza mencionada, enquanto os genótipos *alc/alc* e *nor/nor* demorariam 30 e 33 dias, respectivamente. Em relação à coloração dos frutos, a nota final da coloração



externa do genótipo *rin/rin* é reduzida em 3,05 pontos, em relação ao genótipo normal, enquanto os genótipos *alc/alc* e *nor/nor* reduzem em 1,75 e 2,15 pontos respectivamente.

A utilização alelos mutantes em heterozigose em híbridos F<sub>1</sub> é uma estratégia utilizada por empresas de sementes para desenvolver cultivares de tomate com longa-vida em pós-colheita. O genótipo *alc<sup>+</sup>/alc* utilizado no *background* Flora-Dade não afetou significativamente a firmeza inicial e a meia vida da firmeza dos frutos (resultado que está de acordo com o encontrado por Santos Júnior 2002), mas reduziu o número de dias para atingir firmeza final de  $2,0 \times 10^4$  N/m<sup>2</sup> (o que contraria Santos Júnior 2002). Os genótipos *alc<sup>+</sup>/alc*, *nor<sup>+</sup>/nor* e *rin<sup>+</sup>/rin* tiveram fenótipos semelhantes relativamente ao retardamento da perda de firmeza de frutos (Tabela 6A).

Os genótipos *alc<sup>+</sup>/alc*, *nor<sup>+</sup>/nor* e *rin<sup>+</sup>/rin* não causaram efeito negativo, seja na porcentagem de área colorida do fruto, ou na nota da coloração final externa dos frutos, quando comparados ao normal. Houve uma pequena redução na coloração interna dos frutos causadas pelos genótipos *alc<sup>+</sup>/alc* e *rin<sup>+</sup>/rin*, mas essa redução não compromete os padrões de qualidade exigidos pelos consumidores. Esse atraso na coloração dos frutos pode estar relacionado com o *background* utilizado e o estágio de colheita dos frutos. Neste trabalho não foi comprovado atraso na coloração final externa dos frutos devido a emprego dos alelos em heterozigose. Esses fatos recomendam a utilização dos alelos mutantes em heterozigose isoladamente em híbridos de tomate, para uma maior conservação pós-colheita dos frutos. Apesar de inibirem a síntese de licopeno e betacaroteno quando em homozigose (Kopeliovich et al., 1979 e Araújo 1997), eles não comprometem a coloração externa e interna dos frutos no *background* estudado quando em heterozigose.

Uma outra estratégia que surge para aumentar a conservação dos frutos é a utilização de duplas combinações heterozigóticas desses mutantes em um

mesmo material. Há, na literatura, poucos relatos de trabalhos que utilizem vários alelos mutantes de amadurecimento combinados em um mesmo genótipo. A dupla combinação *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin* mostrou-se promissora para o melhoramento, bem como a dupla combinação *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin*, superando heterozigotos simples *alc<sup>+</sup>/alc*, *nor<sup>+</sup>/nor* e *rin<sup>+</sup>/rin* em relação às características referentes à firmeza dos frutos, com exceção do genótipo *nor<sup>+</sup>/nor* na característica firmeza inicial.

As duplas combinações *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin* e *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin* pouco afetaram a coloração externa final dos frutos e a porcentagem de área colorida e não diferem dos genótipos heterozigotos simples *alc<sup>+</sup>/alc*, *nor<sup>+</sup>/nor* e *rin<sup>+</sup>/rin* quanto à coloração externa dos frutos ou quando comparadas ao genótipo normal. As duplas combinações *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin* e *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin* promoveram uma ligeira piora na coloração final interna dos frutos, embora a magnitude desta piora não tivesse sido grande a ponto de impedir seu emprego comercial. Essa piora na coloração dos frutos pode ser minimizada com a introgressão de alelos que estão envolvidos na síntese de licopeno, como o *hp* e *og<sup>c</sup>* em híbridos de tomate, como sugerido por Faria (2000).

Entre os genótipos em heterozigose e as duplas combinações estudadas, o destaque fica para o genótipo *rin<sup>+</sup>/rin* entre os heterozigotos simples e para a dupla combinação *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin*, seguido de perto por *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin*. O genótipo *rin<sup>+</sup>/rin* tem características semelhantes em relação à firmeza dos frutos ao genótipo *nor<sup>+</sup>/nor*, mas consegue superar esse mesmo genótipo em relação às características referentes à coloração dos frutos. O genótipo *nor<sup>+</sup>/nor* promove um atraso na evolução da coloração dos frutos, o que não é verificado no efeito do genótipo *rin<sup>+</sup>/rin*.

As duplas combinações *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin* e *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin* destacaram-se relativamente às heterozigotas simples *alc<sup>+</sup>/alc*, *nor<sup>+</sup>/nor* e *rin<sup>+</sup>/rin* em relação a todas as características de firmeza dos frutos, o que comprova o maior

efeito em se utilizar em duplas combinações de alelos mutantes de amadurecimento em heterozigose para reduzir a perda de firmeza dos frutos. Apesar de o efeito da dupla combinação causar um efeito mais drástico na redução da coloração em relação a somente um alelo em heterozigose, essa redução não é limitante e, além disso a utilização de mutantes de síntese de licopeno como o *hp* e *og<sup>c</sup>*, como sugerido por Faria (2000), solucionaria essa desvantagem.

## 2.8 CONCLUSÃO

A hipótese de alelismo entre *alc* e *nor* proposta por Lobo (1981) e Lobo, Basset & Hannan (1984) foi aceita neste trabalho como a mais provável. Uma nova simbologia para representar o genótipo *alc/alc* deve ser adotada. O genótipo *alc/alc* deveria passar a ser representado como *nor<sup>A</sup>/nor<sup>A</sup>* ao invés de *alc/alc*, conforme proposto por Lobo (1981) e Lobo, Basset & Hannan (1984), no caso de ser demonstrada sua identidade de sequências com *nor*.

A hipótese de que *alc* e *nor* sejam genes distintos somente poderá ser admitida se também admitir que a distância entre esses genes seja da ordem de grandeza de 1 cM ou menor.

O genótipo *rin/rin* foi, entre os homozigotos, o mais drástico em retardar a perda da firmeza e a evolução da coloração dos frutos.

O genótipo *rin<sup>+</sup>/rin* destacou-se em relação aos genótipos *alc<sup>+</sup>/alc* e *nor<sup>+</sup>/nor* em retardar a perda de firmeza dos frutos. Não afetou a coloração externa dos frutos, a porcentagem de área colorida e a evolução da sua coloração. O genótipo *rin<sup>+</sup>/rin* não alterou a firmeza inicial dos frutos, mas retardou a evolução de sua coloração interna.

A dupla combinação *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin* diminuiu a perda da firmeza dos frutos para todas as características avaliadas quanto à firmeza. Não afetou a coloração externa dos frutos e a evolução da coloração dos frutos, mas prejudicou ligeiramente a coloração interna dos frutos e retardou a porcentagem de área colorida. A combinação *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin* teve comportamento semelhante ao de *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin*.

O uso do genótipo *rin<sup>+</sup>/rin* ou da dupla combinação *alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin* e *nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin* em programas de melhoramento para produção de híbridos de tomate longa-vida torna-se viável, apesar do ligeiro atraso na evolução da

coloração e da coloração interna dos frutos que, se existir, não foi de magnitude a mostrar-se limitantes.

A dupla combinação  $alc^+/alc\ nor^+/nor$  é uma combinação que retarda a perda da firmeza dos frutos, mas que não pode ser empregada no melhoramento, pois a coloração externa e interna dos frutos difere da coloração normal. Esse fato é devido ao alelismo entre  $alc$  e  $nor$ , como comprovado pelo teste realizado neste trabalho, o que torna a combinação muito semelhante aos homozigotos  $alc/alc$  e  $nor/nor$ .

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL 2003 - **Anuário estatístico da Agricultura Brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 2002. 542 p.

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.

ARAÚJO, M. L. de. **Interação intra-loco e inter-loco alcobaça, crimson e high pigment sobre características de qualidade e de produção de frutos de tomateiro**. 1997. 131 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

AWAD, M. **Fisiologia pós-colheita de frutos**. São Paulo: Nobel, 1993. 114 p.

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.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1990. 320 p.

DELLA VECCHIA, P. T.; KOCH, P. T. Tomates longa vida: o que são, como foram desenvolvidos? **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, n. 1, p. 3-4, mar. 2000.

FARIA, M. V. **Produtividade e qualidade pós-colheita de frutos de híbridos de tomateiro heterozigotos nos locos alcobaça (alc), crimson (og<sup>c</sup>) e/ou high pigment (hp)**. 2000. 74 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: UFV, 200. 402 p.

FREITAS, J. A. **Produtividade e qualidade de frutos de híbridos de tomateiro, heterozigoto no loco alcobaça**. 1996. 86 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

- FREITAS, J. A.; MALUF, W. R.; GOMES, L. A. A.; AZEVEDO, S. M. Efeitos dos alelos alc og<sup>c</sup> e hp sobre as características de maturação e conservação pós-colheita de frutos de tomateiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 23, n. 3, p. 569-577, jul./set. 1998.
- HOBSON, G. E.; GRIERSON, D. Tomato. In: SEYMOUR, G. B.; TAYLOR, J. E.; TUCHER, G. A. (Ed.). **Biochemistry of fruit ripening**. Londres: Chapman & hall, 1993. p. 405-442.
- JACKMAN, R. L.; MARANGONI, A G.; STANLEY, D. W. Measurement of tomato fruit firmness. **HortScience**, Alexandria, v. 25, n. 7, p. 781-783, Oct. 1990.
- JARRET, R. L.; SAYAMA, H.; TIGCHELAAR, E. C. Pleiotropic effects associated with the chlorophyll intensifier mutations high pigment and dark green in tomato. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 109, n. 6, p. 873-878, Nov. 1984.
- KADER, A. A.; MORRIS, L. L.; STEVENS, M. A.; ALBRIGHT-HOLTON, M. Composition and flavor quality of fresh market tomatoes as influenced by some postharvest handling procedues. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 103, n. 1, p. 6-13, Jan. 1978.
- KOJIMA, K.; SAKURAI, N.; KURAISHI, S.; YAMAMOTO, R.; NEVINS, D. J. Novel technique for measuring tissue fiemness within tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. ) fruit. **Plant Physiology**, Rockville, v. 96, n. 2, p. 545-550, June 1991.
- KOPELIOVICH, E.; RABINOWITCH, H. D.; MIZRAHI, Y.; KEDAR, N. The potencial of ripening mutants for extending the storage life of the tomato fruit. **Euphytica**, Wagenigen, v. 28, n. 1, p. 99-104, Feb. 1979.
- LEAL, N. R. **Herança da conservação natural pós-colheita de frutos do tomateiro (lycopersicon esculentum Mill. ) I- Conservação de frutos e autonomia do pericarpo de híbridos entre a introdução Alcobaça e algumas cultivares**. 1973. 66 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- LOBO, M. **Genetic and physiological studies of the “Alcobaça” tomato ripening mutant**. 1981. 107 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - University of Florida, Florida.

LOBO, M.; BASSET, M. J.; HANNAH, L. C. Inheritance and characterization of the fruit ripening mutation in “alcobaça” tomato. **Journal American Society of Horticultural and Science**, Alexandria, v. 109 n. 5, p. 741-745, Sept. 1984.

LYONS, J. M.; PRATT, H. K. Effect of stage of maturity and ethylene treatment on respiration and ripening of tomato fruits. **Proceedings of American Society for Horticultural Science**, New York, v. 84, p. 491-500, June 1964.

MUTSCHLER, M. A. Inheritance and Linkage of the Alcobaça ripening mutant in tomato. **Journal American Society of Horticultural and 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 American Society of Horticultural and Science**, Alexandria, v. 109 n. 4, p. 504-507, July 1984b.

MUTSCHLER, M. A.; WOLFE, D. W.; COBB, E. D.; YOURSTONE, K. S. Tomato fruit quality and shelf life in hibrids heterozygous for the alc ripening mutanta. **HortScience**, Alexandria, v. 27, n. 4, p. 352-355, Apr. 1992.

NG, T. J.; TIGHELLAAR, E. C. Action of the non-ripening (nor) mutant on fruit ripening of tomato. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 102, n. 4, p. 504-509, July 1977.

SANTOS JÚNIOR, A. M. dos. **Produtividade, qualidade e conservação de frutos de tomateiro heterozigotos nos locos *alcobaça*, *non ripening* e *ripening inhibitor***. 2002. 86 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SHACKEL, K. A.; GREVE, L. C.; LABAVITCH, J. M.; AHMAD, H. Cell urgor change associated with ripening in tomato pericarp tissue. **Plant Physiology**, Rockville, v. 97, n. 2, p. 814-816, Oct. 1991.

SMITH, C. J. S.; WATSON, C. F.; RAY, J. , BIRD, C. R.; MORRIS, P. C.; SCHOUGH, W.; GRIERSON, D. Antisense RNA inibitor of poligalacturonase gene expression in transgenic tomatoes. **Nature**, London, v. 334, n. 6184, p. 724-726, Aug. 1998.



SOUZA, J. C. de. **Avaliação de tomateiros híbridos, do grupo multilocular, portadores do alelo alcobaça em heterozigose.** 1995. 78 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

TABIM, M. H. **Coservação natural pós-colheita de frutos de tomateiro (*lycopersicon esculentum* Mill. ). II- Conservação de frutos híbridos entre a introdução Alcobaça e alguns cultivares.** 1974. 30 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

TIGCHELAAR, E. C.; BARMAN, R. J. Allelism of the alcobaça ripening mutant and *nor*. **Tomato Genetics Cooperative Report**, v. 35, p. 20-21, 1985.

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.

THOMPSON, A. E.; HEPLER, R. W.; KERR, E. A. Clarification of the inheritance of high total carotenoids pigments in the tomato. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, New York, v. 81, p. 434-442, June 1962.

THOMPSON, A. E.; TOMES, M. L.; ERICKSON, H. T.; WANN, E. V.; ARMSTRONG, R. J. Inheritance of crimson fruit color in tomatoes. **Proceeding American Society for Horticultural Science**, New York, v. 91, n. 2, p. 495-504, Dec. 1967.

## ANEXOS

TABELA 1A.....	65
TABELA 2A.....	66
TABELA 3A.....	67
TABELA 4A.....	68
TABELA 5A.....	69
TABELA 6A.....	70
TABELA 7A.....	71
TABELA 8A.....	72
TABELA 9A.....	73
TABELA 10A.....	74
TABELA 11A.....	75
TABELA 12A.....	76
TABELA 13A.....	77
TABELA 14A.....	78
TABELA 15A.....	79
TABELA 16A.....	80
TABELA 17A.....	81
TABELA 18A.....	82
TABELA 19A.....	83
TABELA 20A.....	84
TABELA 21A.....	85
TABELA 22A.....	86
TABELA 23A.....	87

**TABELA 1A.** Valores da firmeza (N/m<sup>2</sup>) inicial (estádio *breaker* de amadurecimento) de frutos de 10 genótipos de tomateiro portadores de alelos mutantes de amadurecimento. Lavras: UFLA, 2002.

TRATAMENTOS	GENOTIPOS	Firmeza Inicial (x 10 <sup>4</sup> ) N/m <sup>2</sup>	Pr>H <sub>0</sub> <sup>¶</sup>
Floradade (Testemunha)	Normal	5,5150	
TOM-559	<i>alc/alc</i>	7,2900	0,0158
TOM-613	<i>nor/nor</i>	7,1550	0,0266
F <sub>1</sub> (Floradade x TOM-559)	<i>alc<sup>+</sup>/alc</i>	6,4650	0,3122
F <sub>1</sub> (Floradade x TOM-613)	<i>nor<sup>+</sup>/nor</i>	6,6850	0,1518
F <sub>1</sub> (TOM-559 x TOM-613)	<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>	6,5200	0,2631
TOM-614	<i>rin/rin</i>	6,8100	0,0974
F <sub>1</sub> (Floradade x TOM-614)	<i>rin<sup>+</sup>/rin</i>	5,7600	0,9976
F <sub>1</sub> (TOM-559 x TOM-614)	<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin</i>	6,4225	0,2291
F <sub>1</sub> (TOM-613 x TOM-614)	<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin</i>	6,6900	0,0777

<sup>¶</sup> Probabilidade associada ao Teste de Dunnett na comparação entre a média do tratamento e a testemunha.

**TABELA 2A.** Firmeza ( $N/m^2$ ) inicial (estádio *breaker* de amadurecimento) de frutos de 10 genótipos de tomateiro portadores de alelos mutantes de amadurecimento. Lavras: UFLA, 2002. Contrastes de interesse entre os tratamentos.

CONTRASTES DE INTERESSE	ESTIMATIVAS (x $10^4$ ) $N/m^2$	$Pr > H_0$ <sup>1</sup>
<i>alc/alc vs. normal</i>	1,7750	0,0025
<i>nor/nor vs. normal</i>	1,6400	0,0044
<i>nor/nor vs. alc/alc</i>	-0,1350	0,7844
<i>alc<sup>+</sup>/alc vs. normal</i>	0,9500	0,0698
<i>nor<sup>+</sup>/nor vs. normal</i>	1,1700	0,0299
<i>alc<sup>+</sup>/alc vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	-0,2200	0,6564
<i>rin/rin vs. normal</i>	1,295	0,0181
<i>rin/rin vs. alc/alc</i>	-0,4800	0,3382
<i>rin/rin vs. nor/nor</i>	-0,3450	0,4877
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs. normal</i>	0,2450	0,6206
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	-0,7050	0,1673
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	-0,9250	0,0767
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. normal</i>	1,0050	0,0567
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	0,0550	0,9111
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	-0,1650	0,7382
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. alc/alc</i>	-0,7700	0,1339
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. nor/nor</i>	-0,6350	0,2106
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. rin/rin</i>	-0,2900	0,5586
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. normal</i>	0,9075	0,0481
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	-0,0425	0,9207
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	-0,2625	0,5412
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. rin<sup>+</sup>/rin</i>	0,6625	0,1363
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. normal</i>	1,1750	0,0141
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	0,2250	0,5998
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	0,0050	0,9907
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. rin<sup>+</sup>/rin</i>	0,9300	0,0435
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>	-0,0975	0,8194
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>	0,1700	0,6912
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin</i>	-0,2675	0,4475

<sup>1</sup> Valores de  $\alpha$  referentes ao teste de F.

**TABELA 3A.** Valores da meia vida da firmeza (dias) de frutos de 10 genótipos de tomateiro portadores de alelos mutantes de amadurecimento. Lavras: UFLA, 2002.

TRATAMENTOS	GENOTIPOS	Meia vida Da firmeza (dias)	Pr>H <sub>0</sub> <sup>∇</sup>
Floradade (Testemunha)	Normal	10,6	
TOM-559	<i>alc/alc</i>	24,3	0,0001
TOM-613	<i>nor/nor</i>	26,3	0,0001
F <sub>1</sub> (Floradade x TOM-559)	<i>alc<sup>+</sup>/alc</i>	13,3	0,2893
F <sub>1</sub> (Floradade x TOM-613)	<i>nor<sup>+</sup>/nor</i>	13,9	0,1460
F <sub>1</sub> (TOM-559 x TOM-613)	<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>	27,6	0,0001
TOM-614	<i>rin/rin</i>	55,4	0,0001
F <sub>1</sub> (Floradade x TOM-614)	<i>rin<sup>+</sup>/rin</i>	16,3	0,0065
F <sub>1</sub> (TOM-559 x TOM-614)	<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin</i>	18,3	0,0001
F <sub>1</sub> (TOM-613 x TOM-614)	<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin</i>	16,2	0,0023

<sup>∇</sup> Probabilidade associada ao Teste de Dunnett na comparação entre a média do tratamento e a testemunha.

**TABELA 4A.** Meia vida da firmeza (dias) de frutos de 10 genótipos de tomateiro portadores de alelos mutantes de amadurecimento. Lavras: UFLA, 2002. Contrastes de interesse entre os tratamentos.

CONTRASTES DE INTERESSE	ESTIMATIVAS DIAS	Pr>H <sub>0</sub> <sup>1</sup>
<i>alc/alc vs. normal</i>	13,7	0,0001
<i>nor/nor vs. normal</i>	15,8	0,0001
<i>nor/nor vs. alc/alc</i>	2,0	0,1662
<i>alc<sup>+</sup>/alc vs. normal</i>	2,8	0,0637
<i>nor<sup>+</sup>/nor vs. normal</i>	3,4	0,0286
<i>alc<sup>+</sup>/alc vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	-0,59	0,6761
<i>rin/rin vs. normal</i>	44,9	0,0001
<i>rin/rin vs. alc/alc</i>	31,1	0,0001
<i>rin/rin vs. nor/nor</i>	29,1	0,0001
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs. normal</i>	5,7	0,0010
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	2,9	0,0521
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	2,3	0,1120
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. normal</i>	17,0	0,0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	14,2	0,0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	13,6	0,0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. alc/alc</i>	3,2	0,0344
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. nor/nor</i>	1,22	0,3926
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. rin/rin</i>	-27,8	0,0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. normal</i>	7,7	0,0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	4,9	0,0010
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	4,3	0,0027
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. rin<sup>+</sup>/rin</i>	2,0	0,1138
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. normal</i>	5,6	0,0003
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	2,8	0,0329
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	2,2	0,0819
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. rin<sup>+</sup>/rin</i>	-0,1	0,9346
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>	-9,2	0,0001
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>	-11,4	0,0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin</i>	2,1	0,0479

<sup>1</sup> Valores de  $\alpha$  referentes ao teste de F.

**TABELA 5A.** Valores de números de dias para atingir firmeza de  $2,0 \times 10^4$  N/m<sup>2</sup> em frutos de 10 genótipos de tomateiro portadores de alelos mutantes de amadurecimento. Lavras: UFLA, 2002.

TRATAMENTOS	GENOTIPOS	Número de dias Para atingir firmeza de $2,0 \times 10^4$ N/m <sup>2</sup>	Pr>H <sub>0</sub> <sup>¶</sup>
Floradade (Testemunha)	Normal	15,5	
TOM-559	<i>alc/alc</i>	45,5	0,0001
TOM-613	<i>nor/nor</i>	48,5	0,0001
F <sub>1</sub> (Floradade x TOM-559)	<i>alc</i> <sup>+</sup> / <i>alc</i>	22,6	0,0286
F <sub>1</sub> (Floradade x TOM-613)	<i>nor</i> <sup>+</sup> / <i>nor</i>	24,3	0,0067
F <sub>1</sub> (TOM-559 x TOM-613)	<i>alc</i> <sup>+</sup> / <i>alc</i> <i>nor</i> <sup>+</sup> / <i>nor</i>	47,0	0,0001
TOM-614	<i>rin/rin</i>	97,9	0,0001
F <sub>1</sub> (Floradade x TOM-614)	<i>rin</i> <sup>+</sup> / <i>rin</i>	24,2	0,0071
F <sub>1</sub> (TOM-559 x TOM-614)	<i>alc</i> <sup>+</sup> / <i>alc</i> <i>rin</i> <sup>+</sup> / <i>rin</i>	30,8	0,0001
F <sub>1</sub> (TOM-613 x TOM-614)	<i>nor</i> <sup>+</sup> / <i>nor</i> <i>rin</i> <sup>+</sup> / <i>rin</i>	28,1	0,0001

<sup>¶</sup> Probabilidade associada ao Teste de Dunnett na comparação entre a média do tratamento e a testemunha.

**TABELA 6A.** Números de dias para atingir firmeza de  $2,0 \times 10^4 \text{ N/m}^2$  em frutos de 10 genótipos de tomateiro portadores de alelos mutantes de amadurecimento. Lavras: UFLA, 2002 Contrastes de interesse entre os tratamentos.

CONTRASTES DE INTERESSE	ESTIMATIVAS DIAS	Pr>H <sub>0</sub> <sup>∧</sup>
<i>alc/alc vs. normal</i>	30,0	0,0001
<i>nor/nor vs. normal</i>	33,0	0,0001
<i>nor/nor vs. alc/alc</i>	3,0	0,1806
<i>alc<sup>+</sup>/alc vs. normal</i>	7,1	0,0048
<i>nor<sup>+</sup>/nor vs. normal</i>	8,7	0,0010
<i>alc<sup>+</sup>/alc vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	-1,6	0,4505
<i>rin/rin vs. normal</i>	82,4	0,0001
<i>rin/rin vs. alc/alc</i>	52,4	0,0001
<i>rin/rin vs. nor/nor</i>	49,4	0,0001
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs. normal</i>	8,7	0,0011
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	1,5	0,4675
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	-0,1	0,9770
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. normal</i>	31,5	0,0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	24,3	0,0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	22,7	0,0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. alc/alc</i>	1,5	0,4854
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. nor/nor</i>	-1,4	0,4998
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. rin/rin</i>	-50,9	0,0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. normal</i>	15,3	0,0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	8,1	0,0006
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	6,5	0,0034
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. rin<sup>+</sup>/rin</i>	6,5	0,0031
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. normal</i>	12,5	0,0001
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	5,4	0,0106
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	3,7	0,0596
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. rin<sup>+</sup>/rin</i>	3,8	0,0560
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>	-16,2	0,0001
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>	-18,9	0,0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin</i>	2,7	0,0923

<sup>∧</sup> Valores de  $\alpha$  referentes ao teste de F.



**TABELA 7A.** Valores de nota final de coloração externa dos frutos de 10 genótipos de tomateiro portadores de alelos mutantes de amadurecimento após 28 dias de armazenamento. Lavras: UFLA, 2002.

TRATAMENTOS	GENOTIPOS	Nota final da Coloração externa após 28 dias de armazenamento	Pr>H <sub>0</sub> <sup>VI</sup>
Floradade (Testemunha)	Normal	5,00	
TOM-559	<i>alc/alc</i>	3,25	0,0001
TOM-613	<i>nor/nor</i>	2,85	0,0001
F <sub>1</sub> (Floradade x TOM-559)	<i>alc<sup>+</sup>/alc</i>	5,00	1,0000
F <sub>1</sub> (Floradade x TOM-613)	<i>nor<sup>+</sup>/nor</i>	5,00	1,0000
F <sub>1</sub> (TOM-559 x TOM-613)	<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>	3,27	0,0001
TOM-614	<i>rin/rin</i>	1,95	0,0001
F <sub>1</sub> (Floradade x TOM-614)	<i>rin<sup>+</sup>/rin</i>	5,00	1,0000
F <sub>1</sub> (TOM-559 x TOM-614)	<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin</i>	5,00	1,0000
F <sub>1</sub> (TOM-613 x TOM-614)	<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin</i>	5,00	1,0000

<sup>VI</sup> Probabilidade associada ao Teste de Dunnett na comparação entre a média do tratamento e a testemunha.

**TABELA 8A.** Nota final de coloração externa dos frutos de 10 genótipos de tomateiro portadores de alelos mutantes de amadurecimento após 28 dias de armazenamento. Lavras: UFLA, 2002 Contrastes de interesse entre os tratamentos.

CONTRASTES DE INTERESSE	ESTIMATIVAS NOTAS	Pr>H <sub>0</sub> <sup>¶</sup>
<i>alc/alc vs. normal</i>	-1,75	0,0001
<i>nor/nor vs. normal</i>	-2,15	0,0001
<i>nor/nor vs. alc/alc</i>	-0,40	0,0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc vs. normal</i>	0,00	1,0000
<i>nor<sup>+</sup>/nor vs. normal</i>	0,00	1,0000
<i>alc<sup>+</sup>/alc vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	0,00	1,0000
<i>rin/rin vs. normal</i>	-3,05	0,0001
<i>rin/rin vs. alc/alc</i>	-1,30	0,0001
<i>rin/rin vs. nor/nor</i>	-0,90	0,0001
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs. normal</i>	0,00	1,0000
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	0,00	1,0000
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	0,00	1,0000
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. normal</i>	-1,73	0,0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	-1,73	0,0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	-1,73	0,0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. alc/alc</i>	0,28	0,7856
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. nor/nor</i>	0,42	0,0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. rin/rin</i>	1,32	0,0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. normal</i>	0,00	1,0000
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	0,00	1,0000
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	0,00	1,0000
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. rin<sup>+</sup>/rin</i>	0,00	1,0000
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. normal</i>	-0,00	1,0000
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	-0,00	1,0000
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	-0,00	1,0000
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. rin<sup>+</sup>/rin</i>	-0,00	1,0000
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>	1,73	0,0001
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>	1,73	0,0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin</i>	0,00	1,0000

<sup>¶</sup> Valores de  $\alpha$  referentes ao teste de F.

**TABELA 9A.** Valores de nota final de coloração interna dos frutos de 10 genótipos de tomateiro portadores de alelos mutantes de amadurecimento após 28 dias de armazenamento. Lavras: UFLA, 2002.

TRATAMENTOS	GENOTIPOS	Nota final de Coloração interna após 28 dias de armazenamento	Pr>H <sub>0</sub> <sup>¶</sup>
Floradade (Testemunha)	Normal	4,90	
TOM-559	<i>alc/alc</i>	3,25	0,0001
TOM-613	<i>nor/nor</i>	3,05	0,0001
F <sub>1</sub> (Floradade x TOM-559)	<i>alc<sup>+</sup>/alc</i>	4,35	0,1837
F <sub>1</sub> (Floradade x TOM-613)	<i>nor<sup>+</sup>/nor</i>	4,50	0,4653
F <sub>1</sub> (TOM-559 x TOM-613)	<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>	3,32	0,0001
TOM-614	<i>rin/rin</i>	1,00	0,0001
F <sub>1</sub> (Floradade x TOM-614)	<i>rin<sup>+</sup>/rin</i>	4,05	0,0193
F <sub>1</sub> (TOM-559 x TOM-614)	<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin</i>	3,98	0,0039
F <sub>1</sub> (TOM-613 x TOM-614)	<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin</i>	4,04	0,0063

<sup>¶</sup> Probabilidade associada ao Teste de Dunnett na comparação entre a média do tratamento e a testemunha.

**TABELA 10A.** Nota final de coloração interna dos frutos de 10 genótipos de tomateiro portadores de alelos mutantes de amadurecimento após 28 dias de armazenamento. Lavras: UFLA, 2002 Contrastes de interesse entre os tratamentos.

CONTRASTES DE INTERESSE	ESTIMATIVAS NOTAS	Pr>H <sub>0</sub> <sup>¶</sup>
<i>alc/alc vs. normal</i>	-1,65	0,0001
<i>nor/nor vs. normal</i>	-1,85	0,0001
<i>nor/nor vs. alc/alc</i>	-0,20	0,4165
<i>alc<sup>+</sup>/alc vs. normal</i>	-0,55	0,0372
<i>nor<sup>+</sup>/nor vs. normal</i>	-0,40	0,1162
<i>alc<sup>+</sup>/alc vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	-0,15	0,5402
<i>rin/rin vs. normal</i>	-3,90	0,0001
<i>rin/rin vs. alc/alc</i>	-2,25	0,0001
<i>rin/rin vs. nor/nor</i>	-2,05	0,0001
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs. normal</i>	-0,85	0,0031
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	-0,30	0,2297
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	-0,45	0,0805
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. normal</i>	-1,68	0,0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	-1,03	0,0007
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	-1,18	0,0002
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. alc/alc</i>	0,07	0,7738
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. nor/nor</i>	0,27	0,2773
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. rin/rin</i>	2,32	0,0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. normal</i>	-0,91	0,0006
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	-0,36	0,1016
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	-0,51	0,0266
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. rin<sup>+</sup>/rin</i>	-0,06	0,7670
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. normal</i>	-0,86	0,0010
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	-0,31	0,1562
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	-0,46	0,0431
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. rin<sup>+</sup>/rin</i>	-0,01	0,9621
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>	0,66	0,0061
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>	0,72	0,0037
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin</i>	-0,05	0,7605

<sup>¶</sup> Valores de  $\alpha$  referentes ao teste de F.

**TABELA 11A.** Valores de notas de porcentagem de área colorida em frutos de 10 genótipos de tomateiro portadores de alelos mutantes de amadurecimento. Lavras: UFLA, 2002.

TRATAMENTOS	GENOTIPOS	Notas de % de Coloração da área dos frutos	Pr>H <sub>0</sub> <sup>∇</sup>
Floradade (Testemunha)	Normal	5.00	
TOM-559	<i>alc/alc</i>	4.85	0.9824
TOM-613	<i>nor/nor</i>	4.80	0.9203
F <sub>1</sub> (Floradade x TOM-559)	<i>alc</i> <sup>+</sup> / <i>alc</i>	5.00	1.0000
F <sub>1</sub> (Floradade x TOM-613)	<i>nor</i> <sup>+</sup> / <i>nor</i>	5.00	1.0000
F <sub>1</sub> (TOM-559 x TOM-613)	<i>alc</i> <sup>+</sup> / <i>alc nor</i> <sup>+</sup> / <i>nor</i>	4.64	0.4784
TOM-614	<i>rin/rin</i>	1.90	0.0001
F <sub>1</sub> (Floradade x TOM-614)	<i>rin</i> <sup>+</sup> / <i>rin</i>	5.00	1.0000
F <sub>1</sub> (TOM-559 x TOM-614)	<i>alc</i> <sup>+</sup> / <i>alc rin</i> <sup>+</sup> / <i>rin</i>	5.00	1.0000
F <sub>1</sub> (TOM-613 x TOM-614)	<i>nor</i> <sup>+</sup> / <i>nor rin</i> <sup>+</sup> / <i>rin</i>	5.00	1.0000

<sup>∇</sup> Probabilidade associada ao Teste de Dunnett na comparação entre a média do tratamento e a testemunha.

**TABELA 12A.** Notas de percentagem de área colorida em frutos de 10 genótipos de tomateiro portadores de alelos mutantes de amadurecimento. Lavras: UFLA, 2002. Contrastes de interesse entre os tratamentos.

CONTRASTES DE INTERESSE	ESTIMATIVAS NOTAS	Pr>H <sub>0</sub> <sup>∧</sup>
<i>alc/alc vs. normal</i>	-0.15	0.5023
<i>nor/nor vs. normal</i>	-0.20	0.3741
<i>nor/nor vs. alc/alc</i>	-0.05	0.8218
<i>alc<sup>+</sup>/alc vs. normal</i>	0.00	1.0000
<i>nor<sup>+</sup>/nor vs. normal</i>	0.00	1.0000
<i>alc<sup>+</sup>/alc vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	0.00	1.0000
<i>rin/rin vs. normal</i>	-3.10	0.0001
<i>rin/rin vs. alc/alc</i>	-2.95	0.0001
<i>rin/rin vs. nor/nor</i>	-2.90	0.0001
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs. normal</i>	0.00	1.0000
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	0.00	1.0000
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	0.00	1.0000
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. normal</i>	-0.36	0.1206
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	-0.36	0.1206
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	-0.36	0.1206
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. alc/alc</i>	-0.21	0.3513
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. nor/nor</i>	-0.16	0.4747
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. rin/rin</i>	2.74	0.0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. normal</i>	0.00	1.0000
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	0.00	1.0000
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	0.00	1.0000
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. rin<sup>+</sup>/rin</i>	0.00	1.0000
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. normal</i>	-0.00	1.0000
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	-0.00	1.0000
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	0.00	1.0000
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. rin<sup>+</sup>/rin</i>	0.00	1.0000
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>	0.36	0.0770
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>	0.36	0.0770
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin</i>	0.00	1.0000

<sup>∧</sup> Valores de  $\alpha$  referentes ao teste de F.

**TABELA 13A.** Valores de dias para atingir nota 3 referente a percentagem de área colorida em frutos de 9 genótipos de tomateiro portadores de alelos mutantes de amadurecimento. Lavras: UFLA, 2002.

TRATAMENTOS	GENOTIPOS	Dias para atingir nota 3 referente a % de área colorida	Pr>H <sub>0</sub> <sup>¶</sup>
Floradade (Testemunha)	Normal	2.7	
TOM-559	<i>alc/alc</i>	11.4	0.0001
TOM-613	<i>nor/nor</i>	11.3	0.0001
F <sub>1</sub> (Floradade x TOM-559)	<i>alc<sup>+</sup>/alc</i>	4.2	0.2788
F <sub>1</sub> (Floradade x TOM-613)	<i>nor<sup>+</sup>/nor</i>	4.9	0.0683
F <sub>1</sub> (TOM-559 x TOM-613)	<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>	9.2	0.0001
F <sub>1</sub> (Floradade x TOM-614)	<i>rin<sup>+</sup>/rin</i>	3.8	0.6162
F <sub>1</sub> (TOM-559 x TOM-614)	<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin</i>	4.6	0.0570
F <sub>1</sub> (TOM-613 x TOM-614)	<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin</i>	4.8	0.0339

<sup>¶</sup> Probabilidade associada ao Teste de Dunnett na comparação entre a média do tratamento e a testemunha.

(Dados do tratamento TOM-614 (*rin/rin*) não incluídos em virtude de não terem atingido nota 3).

**TABELA 14A.** Número de dias para atingir nota 3 referente à porcentagem de área colorida em frutos de 9 genótipos de tomateiro portadores de alelos mutantes de amadurecimento. Lavras: UFLA, 2002. Contrastes de interesse entre os tratamentos.

CONTRASTES DE INTERESSE	ESTIMATIVAS DIAS	Pr>H <sub>0</sub> <sup>¶</sup>
<i>alc/alc vs. normal</i>	8.6	0.0001
<i>nor/nor vs. normal</i>	8.5	0.0001
<i>nor/nor vs. alc/alc</i>	-0.0	0.9174
<i>alc<sup>+</sup>/alc vs. normal</i>	1.5	0.0665
<i>nor<sup>+</sup>/nor vs. normal</i>	2.1	0.0135
<i>alc<sup>+</sup>/alc vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	-0.6	0.4093
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs. normal</i>	1.0	0.1865
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	-0.4	0.5536
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	-1.1	0.1679
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. normal</i>	6.4	0.0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	4.9	0.0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	4.3	0.0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. alc/alc</i>	-2.1	0.0134
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. nor/nor</i>	-2.0	0.0163
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. normal</i>	1.9	0.0111
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	0.4	0.5302
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	-0.2	0.7396
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. rin<sup>+</sup>/rin</i>	0.8	0.2010
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. normal</i>	2.1	0.0064
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	0.6	0.3669
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	-0.0	0.9612
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. rin<sup>+</sup>/rin</i>	1.0	0.1256
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>	-4.5	0.0001
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>	-4.3	0.0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin</i>	-0.1	0.7282

<sup>¶</sup> Valores de  $\alpha$  referentes ao teste de F.

(Dados do tratamento TOM-614 = *rin/rin* não incluídos em virtude de não terem atingido nota 3).



**TABELA 15A.** Valores de dias para atingir coloração nota 2.5 referente à coloração dos frutos em de 9 genótipos de tomateiro portadores de alelos mutantes de amadurecimento. Lavras: UFLA, 2002

TRATAMENTOS	GENOTIPOS	Dias para atingir nota 2,5 referente a coloração dos frutos	Pr>H <sub>0</sub> <sup>∇</sup>
Floradade (Testemunha)	Normal	2.8	
TOM-559	<i>alc/alc</i>	13.5	0.0005
TOM-613	<i>nor/nor</i>	12.0	0.0001
F <sub>1</sub> (Floradade x TOM-559)	<i>alc<sup>+</sup>/alc</i>	3.8	0.0001
F <sub>1</sub> (Floradade x TOM-613)	<i>nor<sup>+</sup>/nor</i>	4.5	0.0001
F <sub>1</sub> (TOM-559 x TOM-613)	<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>	10.6	0.0001
F <sub>1</sub> (Floradade x TOM-614)	<i>rin<sup>+</sup>/rin</i>	3.7	0.0001
F <sub>1</sub> (TOM-559 x TOM-614)	<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin</i>	4.3	0.0001
F <sub>1</sub> (TOM-613 x TOM-614)	<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin</i>	4.9	0.0001

<sup>∇</sup> Probabilidade associada ao Teste de Dunnett na comparação entre a média do tratamento e a testemunha.

(Dados do tratamento TOM-614 = *rin/rin* não incluídos em virtude de não terem atingido nota 3).

**TABELA 16A.** Número de dias para atingir nota 2.5 referente à coloração dos frutos de 9 genótipos de tomateiro portadores de alelos mutantes de amadurecimento. Lavras: UFLA, 2002. Contrastes de interesse entre os tratamentos.

CONTRASTES DE INTERESSE	ESTIMATIVAS DIAS	Pr>H <sub>0</sub> <sup>¶</sup>
<i>alc/alc vs. normal</i>	10.7	0.0001
<i>nor/nor vs. normal</i>	9.2	0.0001
<i>nor/nor vs. alc/alc</i>	-1.5	0.1024
<i>alc<sup>+</sup>/alc vs. normal</i>	1.0	0.2300
<i>nor<sup>+</sup>/nor vs. normal</i>	1.7	0.0567
<i>alc<sup>+</sup>/alc vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	-0.7	0.4205
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs. normal</i>	0.9	0.3109
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	-0.1	0.8407
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	-0.8	0.3187
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. normal</i>	7.8	0.0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	6.7	0.0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	6.0	0.0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. alc/alc</i>	-2.8	0.0050
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. nor/nor</i>	-1.3	0.1312
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. normal</i>	1.5	0.0544
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	0.4	0.5244
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	-0.2	0.7682
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. rin<sup>+</sup>/rin</i>	0.6	0.3864
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. normal</i>	2.0	0.0141
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	1.0	0.1909
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	0.3	0.6818
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. rin<sup>+</sup>/rin</i>	1.1	0.1300
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>	-6.2	0.0001
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>	-5.7	0.0001
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin</i>	-0.5	0.3936

<sup>¶</sup> Valores de  $\alpha$  referentes ao teste de F.

(Dados do tratamento TOM-614 (*rin/rin*) não incluídos em virtude de não terem atingido nota 3).

**TABELA 17A.** Valores de número de dias da antese ao estágio breaker em frutos de 10 genótipos de tomateiro portadores de alelos mutantes de amadurecimento. Lavras: UFLA, 2002.

TRATAMENTOS	GENOTIPOS	Número de dias Da antese ao estágio <i>breaker</i>	Pr>H <sub>0</sub> <sup>∇</sup>
Floradade (Testemunha)	Normal	58,2	
TOM-559	<i>alc/alc</i>	62,7	0,2587
TOM-613	<i>nor/nor</i>	62,5	0,2909
F <sub>1</sub> (Floradade x TOM-559)	<i>alc</i> <sup>+</sup> / <i>alc</i>	59,8	0,9709
F <sub>1</sub> (Floradade x TOM-613)	<i>nor</i> <sup>+</sup> / <i>nor</i>	61,0	0,7165
F <sub>1</sub> (TOM-559 x TOM-613)	<i>alc</i> <sup>+</sup> / <i>alc</i> <i>nor</i> <sup>+</sup> / <i>nor</i>	62,2	0,3570
TOM-614	<i>rin/rin</i>	71,9	0,0001
F <sub>1</sub> (Floradade x TOM-614)	<i>rin</i> <sup>+</sup> / <i>rin</i>	61,2	0,6545
F <sub>1</sub> (TOM-559 x TOM-614)	<i>alc</i> <sup>+</sup> / <i>alc</i> <i>rin</i> <sup>+</sup> / <i>rin</i>	59,8	0,9335
F <sub>1</sub> (TOM-613 x TOM-614)	<i>nor</i> <sup>+</sup> / <i>nor</i> <i>rin</i> <sup>+</sup> / <i>rin</i>	61,1	0,5219

<sup>∇</sup> Probabilidade associada ao Teste de Dunnett na comparação entre a média do tratamento e a testemunha.

**TABELA 18A.** Número de dias da antese ao estágio breaker em 10 genótipos de tomateiro portadores de alelos mutantes de amadurecimento. Lavras: UFLA, 2002. Contrastes de interesse entre os tratamentos.

CONTRASTES DE INTERESSE	ESTIMATIVAS DIAS	Pr>H <sub>0</sub> <sup>∩</sup>
<i>alc/alc vs. normal</i>	4,4	0,0556
<i>nor/nor vs. normal</i>	4,3	0,0641
<i>nor/nor vs. alc/alc</i>	-0,1	0,9397
<i>alc<sup>+</sup>/alc vs. normal</i>	1,6	0,4646
<i>nor<sup>+</sup>/nor vs. normal</i>	2,7	0,2191
<i>alc<sup>+</sup>/alc vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	-1,1	0,5013
<i>rin/rin vs. normal</i>	13,6	0,0001
<i>rin/rin vs. alc/alc</i>	9,2	0,0007
<i>rin/rin vs. nor/nor</i>	9,3	0,0006
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs. normal</i>	2,9	0,1893
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	1,3	0,5401
<i>rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	0,2	0,9269
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. normal</i>	4,0	0,0825
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	2,3	0,2822
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	1,2	0,5687
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. alc/alc</i>	-0,4	0,8312
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. nor/nor</i>	-0,3	0,8906
<i>alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor vs. rin/rin</i>	-9,6	0,0005
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. normal</i>	1,6	0,3922
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	0,0	0,9884
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	-1,1	0,5564
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. rin<sup>+</sup>/rin</i>	-1,3	0,4891
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. normal</i>	2,9	0,1359
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc</i>	1,3	0,4867
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor</i>	0,1	0,9241
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. rin<sup>+</sup>/rin</i>	-0,0	0,9915
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>	-2,3	0,2225
<i>nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin vs. alc<sup>+</sup>/alc nor<sup>+</sup>/nor</i>	-1,0	0,5731
<i>alc<sup>+</sup>/alc rin<sup>+</sup>/rin vs. nor<sup>+</sup>/nor rin<sup>+</sup>/rin</i>	-1,2	0,4060

<sup>∩</sup> Valores de  $\alpha$  referentes ao teste de F.

**TABELA 19A.** Frequências esperadas e observadas de plantas com fenótipos normal e mutante, admitindo-se a hipótese de alelismo entre *alc* e *nor*, proposta por Lobo (1981) e Lobo, Basset & Hannan (1984).

Genótipo	Nº Plantas Testadas	Frequencia Esperada		Frequencia Observada	
		Fenótipo Normal	Fenótipo Mutante	Fenótipo Normal	Fenótipo Mutante
FloraDade (normal)	20	20	: 0	20	: 0
TOM-559 ( <i>alc/alc</i> )	20	0	: 20	0	: 20
TOM-613 ( <i>nor/nor</i> )	20	0	: 20	0	: 20
F1(FloraDade x TOM-559) (= <i>alc</i> <sup>+</sup> / <i>alc</i> )	20	20	: 0	20	: 0
F1(FloraDade x TOM-613) (= <i>nor</i> <sup>+</sup> / <i>nor</i> )	20	20	: 0	20	: 0
F1(TOM-559 x TOM-613) [=F <sub>1</sub> ( <i>alc</i> x <i>nor</i> )]	20	0	: 20	0	: 20
F <sub>2</sub> (TOM-559 x TOM-613) [=F <sub>2</sub> ( <i>alc</i> x <i>nor</i> )]	364	0	: 364	0	: 364

**TABELA 20A.** Frequências esperadas e observadas de plantas com fenótipos normal e mutante, admitindo-se as hipóteses: (a) de *alc* e *nor* serem genes distintos, ligados a uma distância de 17 Centimorgan; (b) o fenótipo do duplo heterozigoto [ $F_1(\text{alc} \times \text{nor})$ ] ser **normal** quanto à coloração de frutos.

Genótipo	Nº Plantas Testadas	Frequencia Esperada		Frequencia Observada	
		Fenótipo Normal	Fenótipo Mutante	Fenótipo Normal	Fenótipo Mutante
FloraDade (normal)	20	20	: 0	20	: 0
TOM-559 ( <i>alc/alc</i> )	20	0	: 20	0	: 20
TOM-613 ( <i>nor/nor</i> )	20	0	: 20	0	: 20
F1(FloraDade x TOM-559) (= <i>alc</i> <sup>+</sup> / <i>alc</i> )	20	20	: 0	20	: 0
F1(FloraDade x TOM-613) (= <i>nor</i> <sup>+</sup> / <i>nor</i> )	20	20	: 0	20	: 0
F1(TOM-559 x TOM-613) [= $F_1(\text{alc} \times \text{nor})$ ]	20	20	: 0	0	: 20
F <sub>2</sub> (TOM-559 x TOM-613) [= $F_2(\text{alc} \times \text{nor})$ ]	364	185	: 179	0	: 364 <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>  $\chi^2 = 376,20$  \*\*

**TABELA 21A.** Frequências esperadas e observadas de plantas com fenótipos normal e mutante, admitindo-se as hipóteses: (a) de *alc* e *nor* serem genes distintos, ligados a uma distância de 17 CentiMorgan; (b) o fenótipo do duplo heterozigoto [ $F_1(\text{alc} \times \text{nor})$ ] ser **mutante** quanto à coloração de frutos.

Genótipo	Nº Plantas Testadas	Frequencia Esperada		Frequencia Observada	
		Fenótipo Normal	Fenótipo Mutante	Fenótipo Normal	Fenótipo Mutante
FloraDade (normal)	20	20	: 0	20	: 0
TOM-559 ( <i>alc/alc</i> )	20	0	: 20	0	: 20
TOM-613 ( <i>nor/nor</i> )	20	0	: 20	0	: 20
F1(FloraDade x TOM-559) (= <i>alc</i> <sup>+</sup> / <i>alc</i> )	20	20	: 0	20	: 0
F1(FloraDade x TOM-613) (= <i>nor</i> <sup>+</sup> / <i>nor</i> )	20	20	: 0	20	: 0
F1(TOM-559 x TOM-613) [= $F_1(\text{alc} \times \text{nor})$ ]	20	0	: 20	0	: 20
F <sub>2</sub> (TOM-559 x TOM-613) [= $F_2(\text{alc} \times \text{nor})$ ]	364	54	: 310	0	: 364 <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>  $\chi^2 = 63,40$  \*\*

**TABELA 22A.** Hipótese de *alc* e *nor* serem genes distintos, ligados por uma distância genética *c* (Centimorgan/100), admitindo-se que o fenótipo do F1(*alc* x *nor*) seja *normal* quanto à coloração final dos frutos: Frequências esperadas de plantas com fenótipo normal em F2 e probabilidade de frequência zero de plantas com fenótipo normal em uma população de N=364 plantas avaliadas.

Distancia Genética <i>c</i>	Probabilidade de planta com fenotipo normal	Probabilidade de nenhuma planta Normal em população F2 de N=364 plantas	Distancia genética <i>c</i>	Probabilidade de planta com Fenotipo normal	Probabilidade de nenhuma planta Normal em população F2 de N=364 plantas
0.200000	0.510000000	1.70E-113	0.022000	0.500121000	2.44E-110
0.190000	0.509025000	3.51E-113	0.021000	0.500110250	2.46E-110
0.180000	0.508100000	6.97E-113	0.020000	0.500100000	2.47E-110
<b>0.170000</b>	<b>0.507225000</b>	<b>1.33E-112</b>	0.019000	0.500090250	2.49E-110
0.150000	0.505625000	4.33E-112	0.018000	0.500081000	2.51E-110
0.130000	0.504225000	1.21E-111	0.017000	0.500072250	2.52E-110
0.110000	0.503025000	2.92E-111	0.016000	0.500064000	2.54E-110
0.090000	0.502025000	6.07E-111	0.015000	0.500056250	2.55E-110
0.070000	0.501225000	1.09E-110	0.014000	0.500049000	2.57E-110
0.050000	0.500625000	1.69E-110	0.013000	0.500042250	2.58E-110
0.040000	0.500400000	1.99E-110	0.012000	0.500036000	2.59E-110
0.039000	0.500380250	2.02E-110	0.011000	0.500030250	2.60E-110
0.038000	0.500361000	2.05E-110	0.010000	0.500025000	2.61E-110
0.037000	0.500342250	2.07E-110	0.009000	0.500020250	2.62E-110
0.036000	0.500324000	2.10E-110	0.008000	0.500016000	2.63E-110
0.035000	0.500306250	2.13E-110	0.007000	0.500012250	2.64E-110
0.034000	0.500289000	2.16E-110	0.006000	0.500009000	2.64E-110
0.033000	0.500272250	2.18E-110	0.005000	0.500006250	2.65E-110
0.032000	0.500256000	2.21E-110	0.004000	0.500004000	2.65E-110
0.031000	0.500240250	2.23E-110	0.003000	0.500002250	2.66E-110
0.030000	0.500225000	2.26E-110	0.002000	0.500001000	2.66E-110
0.029000	0.500210250	2.28E-110	0.001000	0.500000250	2.66E-110
0.028000	0.500196000	2.31E-110	0.000800	0.500000160	2.66E-110
0.027000	0.500182250	2.33E-110	0.000600	0.500000090	2.66E-110
0.026000	0.500169000	2.35E-110	0.000400	0.500000040	2.66E-110
0.025000	0.500156250	2.38E-110	0.000200	0.500000010	2.66E-110
0.024000	0.500144000	2.40E-110	0.000000	0.500000000	2.66E-110
0.023000	0.500132250	2.42E-110			



**TABELA 23A.** Hipótese de *alc* e *nor* serem genes distintos, ligados por uma distância genética *c* (Centimorgan/100), admitindo-se que o fenótipo do F1(*alc* x *nor*) seja *mutante* quanto à coloração final dos frutos: Frequências esperadas de plantas com fenótipo normal em F2 e probabilidade de frequência zero de plantas com fenótipo normal em uma população de N=364 plantas avaliadas

Distancia genética <i>c</i>	Probabilidade de Fenotipo Normal	Probabilidade de nenhuma planta normal em população F2 de N=364 plantas	Distancia genética <i>c</i>	Probabilidade de Fenotipo Normal	Probabilidade de nenhuma planta normal em população F2 de N=364 plantas
0.200	0.170	3.50E-30	0.028	0.027	4.04E-05
0.190	0.163	7.70E-29	0.027	0.026	5.78E-05
0.180	0.156	1.76E-27	0.026	0.025	8.27E-05
<b>0.170</b>	<b>0.148</b>	<b>4.17E-26</b>	0.025	0.025	1.18E-04
0.160	0.141	1.02E-24	0.024	0.024	1.70E-04
0.150	0.133	2.61E-23	0.023	0.023	2.43E-04
0.140	0.125	6.87E-22	0.022	0.022	3.48E-04
0.130	0.117	1.87E-20	0.021	0.021	4.99E-04
0.120	0.109	5.25E-19	0.020	0.020	7.16E-04
0.110	0.101	1.52E-17	0.019	0.019	1.03E-03
0.100	0.093	4.53E-16	0.018	0.018	1.47E-03
0.090	0.084	1.39E-14	0.017	0.017	2.11E-03
0.080	0.075	4.38E-13	0.016	0.016	3.03E-03
0.070	0.066	1.42E-11	0.015	0.015	4.34E-03
0.060	0.057	4.70E-10	0.014	0.014	6.23E-03
0.050	0.048	1.60E-08	0.013	0.013	8.95E-03
0.040	0.039	5.55E-07	<b>0.012</b>	<b>0.012</b>	<b>1.28E-02</b>
0.039	0.038	7.92E-07	0.011	0.011	1.84E-02
0.038	0.037	1.13E-06	0.010	0.010	2.65E-02
0.037	0.036	1.62E-06	0.009	0.009	3.81E-02
0.036	0.035	2.31E-06	<b>0.008</b>	<b>0.008</b>	<b>5.47E-02</b>
0.035	0.034	3.30E-06	0.007	0.007	7.86E-02
0.034	0.033	4.72E-06	0.006	0.006	1.13E-01
0.033	0.032	6.74E-06	0.005	0.005	1.62E-01
0.032	0.031	9.64E-06	0.004	0.004	2.34E-01
0.031	0.030	1.38E-05	0.003	0.003	3.36E-01
0.030	0.029	1.97E-05	0.002	0.002	4.83E-01
0.029	0.028	2.82E-05	0.001	0.001	6.95E-01

### 3 CAPÍTULO II

**Marcadores Moleculares associados aos alelos *alc* (*alcobaça*), *nor* (*non-ripening*), *hp* (*high pigment*) e *og<sup>c</sup>* (*old gold crimson*) em linhagens quase isogênicas de tomateiro.**

### 3.1 RESUMO

BENITES, Flávio Rodrigo Gandolfi. **Marcadores moleculares associados aos alelos *alc* (alcobaça), *nor* (non-ripening), *hp* (high pigment) e *og<sup>c</sup>* (old gold crimson) em linhagens quase isogênicas de tomateiro.** Lavras: UFLA, 2003. 106 p. (Dissertação- Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)\*.

Marcadores moleculares são ferramentas que auxiliam programas de melhoramento na seleção de indivíduos com características favoráveis. Em experimento conduzido na EMBRAPA-Milho e Sorgo, Sete Lagoas-MG, buscou-se encontrar marcadores moleculares RAPD associados aos alelos *alc*, *nor*, *hp* e *og<sup>c</sup>* em tomateiro. Avaliaram-se cinco indivíduos quase isogênicos a cultivar Flora-Dade (*alc<sup>+</sup> alc<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> hp<sup>+</sup> hp<sup>+</sup> og<sup>c+</sup> og<sup>c+</sup>*), TOM-559 (*alc alc nor<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> hp<sup>+</sup> hp<sup>+</sup> og<sup>c+</sup> og<sup>c+</sup>*), TOM-595 (*alc<sup>+</sup> alc<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> hp hp og<sup>c+</sup> og<sup>c+</sup>*), TOM-596 (*alc<sup>+</sup> alc<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> hp<sup>+</sup> hp<sup>+</sup> og<sup>c</sup>*) e TOM-613 (*alc<sup>+</sup> alc<sup>+</sup> nor nor rin<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> hp<sup>+</sup> hp<sup>+</sup> og<sup>c+</sup> og<sup>c+</sup>*).

Foram avaliados 119 *primers* e entre eles haviam três primers (OPB-7, OPD-1 e OPM-10) que estavam ligados ao alelo *hp*, segundo dados da literatura. Os 119 primers testados não foram eficientes em diferenciar os alelos *alc*, *nor*, *hp* e *og<sup>c</sup>* nas linhagens estudadas. Os três primers ligados ao alelo *hp*, também não foram polimórficos no indivíduo normal e o que continha o alelo *hp*. Este resultado provavelmente se deve ao fato de o *background dos indivíduos analisados* neste trabalho serem diferentes daqueles utilizados no trabalho que identificou esses marcadores ligados ao alelo *hp*.

---

\* Orientador: Luciano Vilela Paiva-UFLA, Co-Orientadores: Cláudia Teixeira Guimarães-CNPMS-Sete Lagoas, MG e Wilson Roberto Maluf-UFLA.

### 3.2 ABSTRACT

**BENITES, Flávio Rodrigo Gandolfi.** Molecular markers linked to *alc* (*alcobaça*), *nor* (*non-ripening*), *hp* (*high pigment*) and *og<sup>c</sup>* (*old gold crimson*) alleles present in almost isogenic tomato lines. **Lavras: UFLA, 2003. 106 p (M.S. Dissertation/ Genetics and Plant Breeding)\*.**

Molecular markers are being largely used as a selection tools in several plant breeding programs. In an experiment carried out at the Brazilian Maize Sorghum Research, located at Sete Lagoas, Minas Gerais State, five almost isogenic tomato lines, Flora-Dade (*alc<sup>+</sup> alc<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> hp<sup>+</sup> hp<sup>+</sup> og<sup>c+</sup> og<sup>c+</sup>*), TOM-559 (*alc alc nor<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> hp<sup>+</sup> hp<sup>+</sup> og<sup>c+</sup> og<sup>c+</sup>*), TOM-595 (*alc<sup>+</sup> alc<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> hp hp og<sup>c+</sup> og<sup>c+</sup>*), TOM-596 (*alc<sup>+</sup> alc<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> hp<sup>+</sup> hp<sup>+</sup> og<sup>c</sup> og<sup>c</sup>*) and TOM-613 (*alc<sup>+</sup> alc<sup>+</sup> nor nor rin<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> hp<sup>+</sup> hp<sup>+</sup> og<sup>c+</sup> og<sup>c+</sup>*) were genotyped using 119 RAPD molecular markers. The main objective was to identify molecular markers associated to *alc* (*alcobaça*), *nor* (*non-ripening*), *hp* (*high pigment*) and *og<sup>c</sup>* (*old gold crimson*) alleles. The results did not show any polymorphism even for the three *primers* previously shown to be linked to the *hp* allele. This may be due to the fact that the lines containing the *hp* allele used in this experiment, came from a different genetic background.

---

\*Major Professors- Luciano Vilela Paiva-UFLA, Cláudia Teixeira Guimarães-CNPMS and Wilson Roberto Maluf-UFLA.

### 3.3 INTRODUÇÃO

O melhoramento de plantas teve início a cerca de 10.000 anos atrás, juntamente com o surgimento da agricultura. O melhoramento foi praticado como arte até o início do século XX, e com a redescoberta das leis de Mendel o melhoramento pode passar a ser tratado como ciência.

Neste sentido, recentemente algumas ferramentas foram criadas e aprimoradas com o intuito de auxiliar os métodos de melhoramento de plantas. Destaque tem sido os marcadores moleculares que têm possibilitado a seleção assistida e precoce de materiais, o mapeamento e a impressão digital de DNA (“Fingerprinting” de DNA) e, como consequência, diminuindo o tempo de avaliação dos materiais, reduzindo o tamanho da população e o custo das análises.

O presente estudo teve como objetivo identificar marcadores moleculares RAPD associados aos alelos *alc*, *nor*, *hp* e *og<sup>c</sup>*, utilizando linhagens quase isogênicas de tomateiro da cultivar Flora-Dade.

## 3.4 REFERENCIAL TEÓRICO

### 3.4.1 Marcadores Moleculares

Os programas tradicionais de melhoramento são baseados na análise de fenótipos, cujo sucesso, depende principalmente da herdabilidade do caráter. Quanto maior a herdabilidade, menor será a influência do ambiente na expressão do caráter. Heranças poligênicas, dominâncias parciais ou completas, a influência do ambiente e o tempo necessário para avaliação fenotípica em culturas perenes são fatores que podem limitar a eficiência destas análises. Muitas das complicações da análise fenotípica podem ser mitigadas pela identificação direta dos genótipos. Um sistema diagnóstico baseado em marcadores moleculares que co-segregam com os genes de interesse pode ser utilizado para este fim (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

Existem quatro classes de marcadores que podem ser usados em vegetais: marcadores morfológicos, citológicos, bioquímicos e moleculares. Entre estes destacam-se os marcadores moleculares por fornecerem um número ilimitado de polimorfismos distribuídos aleatoriamente ao longo de todo o genoma e por serem independente dos efeitos ambientais e do estágio de desenvolvimento da planta (com exceção das isoenzimas), permitindo a identificação precisa e precoce dos genótipos de interesse.

O primeiro marcador molecular baseado em ácidos nucléicos empregado no melhoramento de plantas foi o RFLP, que expressa o polimorfismo no comprimento de fragmentos de DNA obtidos após digestão dos fragmentos de DNA genômicos com enzimas de restrição. O tratamento do DNA com enzimas de restrição origina fragmentos que são separados em gel de agarose e posteriormente transferidos para uma membrana de *nylon* em que são hibridados com sondas de DNA, detectando, assim, seqüências homólogas a

elas. As sondas representam seqüências pequenas de DNA marcadas radioativamente ou com quimioluminescência. Após as hibridações entre os fragmentos de DNA com a sonda, as membranas são expostas a um filme de raio-X, revelando as posições em que ocorreram as hibridações. A necessidade de grande quantidade de DNA, a complexidade das análises e a disponibilidade limitada de sondas específicas são algumas das limitações desta técnica.

Essas limitações não são observadas na técnica de RAPD que expressa o polimorfismo de DNA amplificado ao acaso. O RAPD foi adaptado da técnica da PCR, que é uma reação em cadeia da polimerase. Essa técnica consiste da síntese “in vitro” de fragmentos de DNA, com auxílio de um par de iniciadores com seqüência de nucleotídeos específica e de uma enzima termoestável conhecida como Taq polimerase. Os *primers* atuam como iniciadores para a síntese do DNA, que acontece em termocicladores, aparelhos que possibilitam a alternância rápida de temperatura. Cada ciclo de amplificação possui três etapas, iniciando-se com a desnaturação do DNA, posteriormente os iniciadores se pareiam com as seqüências de nucleotídeos complementares e na terceira etapa ocorre a síntese dos fragmentos de DNA pela Taq polimerase. Cada ciclo é processado várias vezes, ocorrendo uma amplificação do DNA em progressão geométrica. No caso do RAPD, utiliza-se apenas um iniciador pequeno com aproximadamente dez nucleotídeos de seqüência aleatória. Os produtos amplificados são separados em um gel de eletroforese, corados com brometo de etídeo e visualizados sob luz ultravioleta. Dentre as desvantagens desta técnica destacam-se o baixo nível de informação genética por loco, a natureza dominante do marcador e problemas na repetibilidade das amplificações em função da utilização de iniciadores pequenos e da baixa temperatura de anelamento.

Estas limitações podem ser superadas pela técnica SCAR, através da qual a seqüência dos iniciadores RAPD é ampliada para 20 a 25 bases, em função das informações do seqüenciamento dos fragmentos isolados. Com isso, são obtidos pares de iniciadores específicos que, flanqueiam um alelo de interesse, o que tornam as análises mais confiáveis (Paran & Michelmore, 1993). Outro marcador, que se baseia na amplificação por PCR de um loco simples, é o ERPAR (*Extended random primer amplified region*). Esta técnica utiliza a adição seqüencial de bases na extremidade 3' dos iniciadores RAPD, tornado-os específicos, sem as etapas de clonagem e seqüenciamento, sendo portanto uma opção interessante para converter os marcadores RAPD em marcadores estáveis (Wang *et.al.*, 2000).

O microssatélite ou SSR é outro marcador molecular que vem sendo amplamente utilizado no melhoramento vegetal. Estes marcadores foram desenvolvidos com base em uma característica do genoma de eucariotos que é a presença de várias classes de seqüências repetidas, uma delas consiste de repetições em tandem de 1 a 4 nucleotídeos, sendo denominados microssatélites. As seqüências de DNA que flanqueia tais regiões são conservadas dentro de uma espécie, permitindo a confecção de iniciadores específicos que podem ser utilizados para amplificar os SSRs. Os microssatélites apresentam uma promissora utilização por serem marcadores co-dominante e multialélicos, o que lhes confere um elevado conteúdo de informação genética. Os marcadores SSRs são altamente reproduzíveis e de fácil execução desde que os iniciadores específicos sejam disponíveis. Caso contrário, torna-se necessária a construção de bibliotecas genômicas enriquecidas com os microssatélites e o seqüenciamento em larga escala dos clones genômicos, sendo esta a maior limitação da técnica.

O AFLP, outro marcador molecular, é uma técnica que agrega a praticidade da amplificação do PCR com a especificidade das enzimas de



restrição para a obtenção dos polimorfismos (Vos *et al.*, 1995). Primeiramente faz-se a digestão do DNA genômico com duas enzimas de restrição, normalmente a *EcoRI* e *MseI*. Adaptadores específicos com extremidades complementares às extremidades coesivas dos sítios de restrição são ligados aos fragmentos digeridos. Os fragmentos digeridos com os adaptadores ligados são então submetidos a uma reação de PCR com iniciadores pré-seletivos, cuja seqüência é complementar à dos adaptadores, acrescidos de um nucleotídeo aleatório na sua extremidade 3'. Essa amplificação é realizada com o objetivo de aumentar o número de fragmentos de interesse. Os fragmentos pré-amplificados são amplificados novamente utilizando iniciadores seletivos, cuja seqüência é semelhante à dos iniciadores pré-seletivos acrescida de dois nucleotídeos arbitrários na sua extremidade 3'. A detecção dos fragmentos é feita em gel de seqüenciamento, e se torna possível pois um dos primers seletivos é marcado com radioatividade ou com fluorescência. As limitações do método são a utilização de reagentes de custo elevado e a necessidade de géis de alta resolução para identificar os polimorfismos.

### **3.4.2 Marcadores Moleculares envolvendo os alelos mutantes do tomateiro**

Em tomate, os alelos *alc*, *nor*, *rin*, *hp* e *og<sup>c</sup>* são de fácil identificação devido a seus efeitos pleiotrópicos que se expressam em características morfológicas. Entretanto, o uso de marcadores moleculares associados a tais alelos assume grande importância quando se objetiva a piramidação desses alelos em um mesmo genótipo, uma vez que a identificação e a seleção morfológica torna-se bastante dificultada devido ao efeito desses alelos em conjunto. A chance de selecionar fenotipicamente um indivíduo que contenha os quatro alelos em homozigose é de 1 em 256, ou seja, necessitar-se-ia de mais de uma estufa cultivada com tomate para encontrar uma planta através da

seleção fenotípica que possua os cinco alelos em conjunto. Outro problema é o custo para manter a cultura durante vários meses, pois alguns desses alelos são selecionados pela coloração dos frutos, tornando esse tipo de estratégia para o melhoramento inviável. Com a utilização de marcadores moleculares diretamente associados com tais alelos pode-se obter esse genótipo desejado com mais facilidade e rapidez, viabilizando o uso desses alelos piramidados em um mesmo genótipo.

Na literatura existem vários trabalhos envolvendo a identificação de marcadores moleculares, clonagem e mapeamento dos alelos mutantes para amadurecimento de frutos e síntese de licopeno (Vrebalov *et al.*, 2002, Vrebalov *et al.*, dados não publicados, Ronen *et al.*, 2000, Yen, 1997, Yen *et al.*, (1997) e Lee, 1999). Estes alelos estão sendo utilizados como marcadores moleculares para auxiliarem o melhoramento da cultura do tomateiro.

Yen (1997) e Yen *et al.* (1997), utilizando marcadores RFLP e RAPD mapearam o alelo *hp* no cromossomo 2. A posição do alelo *hp* foi encontrada mediante a geração de 2 bulks provenientes da população F<sub>2</sub> do cruzamento *L. esculentum* (*hp/hp*) e *L. cheesmannii* (*hp<sup>+</sup>/hp<sup>+</sup>*). Foram testados 300 *primers* RAPD e apenas cinco deram polimorfismo entre os materiais avaliados. Dos cinco *primers* polimórficos, três estavam ligados ao alelo *hp* mutante. Os fragmentos amplificados, gerados por estes três *primers* RAPD, foram clonados e sequenciados. Posteriormente foram transformados em sondas RFLP que hibridaram no cromossomo 2, flanqueando o alelo *hp* mutante. As três sondas mapeadas no cromossomo 2 foram nomeadas de RAPDhp-7, RAPDhp-10 e RAPDhp-11 que estavam posicionadas a 1,6, 4,6 e 14,6 cM respectivamente do alelo *hp*.

Lee (1999), em experimento semelhante ao trabalho realizado por Yen (1997) e Yen *et al.* (1997), testou 300 *primers* em dois bulks gerados a partir de genótipos considerados normais e mutantes, encontrando cinco *primers*

RAPD polimórficos para o alelo mutante *hp* (chamado por ele no trabalho de *hp-1*). Os cinco primers RAPD polimórficos foram OPB-7, OPD-1, OPK-18, OPL-9 e OPM-10. Os *primers* OPB-7, OPD-1 e OPM-10 são os *primers* utilizados por Yen (1997) e Yen *et. al.* (1997), segundo os quais seus fragmentos amplificados, clonados e sequenciados geraram as sondas RAPDhp-7, RAPDhp-11 e RAPDhp-10 respectivamente.

Recentemente foram clonados os alelos mutantes *rin* (Vrebalov *et al.*, 2002), *nor* (Vrebalov *et al.*, dados não publicados) e *og<sup>c</sup>* (Ronen *et al.*, 2000). No entanto, as seqüências dos cDNA desses alelos não estão disponíveis nos bancos de dados públicos de seqüências (NCBI e GenBank), dificultando a sua utilização como ferramenta de auxílio ao melhoramento. Uma vez disponíveis as seqüências poderão ser usadas para a construção de *primers* específicos para cada alelo, o que facilita a seleção de indivíduos que contenham o alelo de interesse.

## 3.5 MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.5.1 Local

O experimento foi conduzido no Centro Nacional de Pesquisa em Milho e Sorgo - EMBRAPA Milho e Sorgo- Sete Lagoas-MG no Núcleo de Biologia Aplicada, durante o ano de 2002.

### 3.5.2 Materiais utilizados

Foram utilizadas 10 linhagens quase isogênicas derivada da cultivar Flora-Dade, proveniente do programa de melhoramento genético do tomateiro do professor Dr. Wilson Roberto Maluf, da Universidade Federal de Lavras. Essas linhagens diferem entre si quanto a constituição genética dos alelos de longa-vida e de síntese de licopeno. A relação das linhagens com seus respectivos genótipos se encontram no quadro 7. As linhagens diferem entre si em relação aos alelos mutantes de amadurecimento e síntese de licopeno.

As plantas de tomateiro foram semeadas em casa de vegetação em bandejas de 128 células contendo substrato comercial PLANTMAX<sup>®</sup>.

No teste de pré-seleção de *primers* RAPD, foram utilizados apenas cinco indivíduos: Flora-Dade (normal), TOM-559 (*alc/alc*), TOM-613 (*nor/nor*), TOM-595 (*hp/hp*) e TOM-596 (*og<sup>c</sup>/og<sup>c</sup>*). Esses indivíduos foram escolhidos para a pré-seleção, porque possuíam apenas um alelo mutante.

### 3.5.3 Teste RAPD.

Por volta de 50 dias após a semeadura foi realizada a extração do DNA genômico dos folíolos de tomateiro, conforme metodologia descrita por Saghai-Marrof *et al.* (1984).

Quadro 7. Genótipos de tomateiro utilizados no experimento com marcadores moleculares. CNPMS, Sete Lagoas-MG, 2002.

<b>Tratamentos</b>	<b>Genótipos</b>
<b>TOM-559</b>	<i>alc alc nor<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> hp<sup>+</sup> hp<sup>+</sup> og<sup>c+</sup> og<sup>c+</sup></i>
<b>TOM-588</b>	<i>alc<sup>+</sup> alc<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> hp hp og<sup>c</sup> og<sup>c</sup></i>
<b>TOM-589</b>	<i>alc alc nor<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> hp hp og<sup>c</sup> og<sup>c</sup></i>
<b>TOM-591</b>	<i>alc alc nor<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> hp<sup>+</sup> hp<sup>+</sup> og<sup>c</sup> og<sup>c</sup></i>
<b>TOM-593</b>	<i>alc alc nor<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> hp hp og<sup>c+</sup> og<sup>c+</sup></i>
<b>TOM- 595</b>	<i>alc<sup>+</sup> alc<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> hp hp og<sup>c+</sup> og<sup>c+</sup></i>
<b>TOM-596</b>	<i>alc<sup>+</sup> alc<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> hp<sup>+</sup> hp<sup>+</sup> og<sup>c</sup> og<sup>c</sup></i>
<b>TOM-613</b>	<i>alc<sup>+</sup> alc<sup>+</sup> nor nor rin<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> hp<sup>+</sup> hp<sup>+</sup> og<sup>c+</sup> og<sup>c+</sup></i>
<b>TOM-614</b>	<i>alc<sup>+</sup> alc<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> rin rin hp<sup>+</sup> hp<sup>+</sup> og<sup>c+</sup> og<sup>c+</sup></i>
<b>Floradade</b>	<i>alc<sup>+</sup> alc<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> nor<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> rin<sup>+</sup> hp<sup>+</sup> hp<sup>+</sup> og<sup>c+</sup> og<sup>c+</sup></i>

As reações de amplificação de RAPD foram realizadas em volume final de 25 µl. Cada reação foi composta de 2,5 µl de tampão PCR 10X, 1µl dNTPs, 1µl primer, 1 unidade taq polimerase, 1 µl de MgCl<sub>2</sub> 50mM, 30ng DNA genômico e 16,3 µl água.

Após o preparo, as reações foram submetidas ao termociclador GeneAmp PCR System 9600 (Applied Biosystem, Palo Alto, CA, USA), programado com ciclos de 94 °C a 4 min. para a fase de desnaturação das fitas de DNA, 40 ciclos de amplificação a 94 °C por 1 min., 35 °C por 1min 72 °C por 2 min. e 72 °C por 5 min. na fase de extensão.

Em seguida os produtos amplificados foram separados mediante uma corrida eletroforética a 100V em gel de agarose 1,2%. Após a eletroforese, o gel foi incubado em solução de brometo de etídio (10%) durante 30 minutos. O perfil eletroforético foi visualizado sob luz ultravioleta e as imagens captadas

pelo sistema de fotodocumentação “Eagle Eye” (Stratagene, La Jolla, CA, USA).

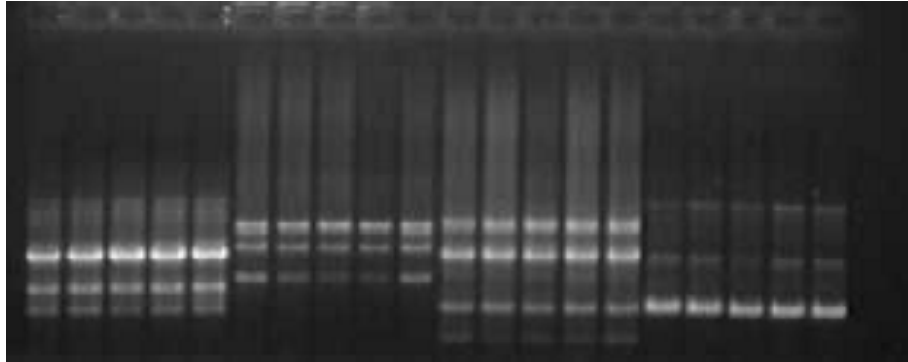
### 3.6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, cinco indivíduos escolhidos para a pré-seleção dos *primers* foram amostrados com 119 *primers* RAPD, incluindo os *primers* utilizados por Yen (1997), Yen *et. al.* (1997) e Lee (1999), que amplificaram o alelo mutante *hp*. Testaram-se todos os *primers* dos kits OPA, OPB, OPC, OPD, OPN, OPE-1 a OPE-16 e ainda os OPK-18, OPL-9 e OPM-10. Foram gerados um total de 304 bandas monomórficas e nenhuma banda polimórfica entre os 5 indivíduos. Em média, foram gerados 2,55 bandas por *primers*, abaixo das 4,3 bandas encontradas por Martin *et al.* (1991), que também trabalharam com marcadores RAPD em linhas isogênicas de tomateiro. O número de bandas monomórficas variou de 1 a 8 bandas entre os *primers*. Dos 119 *primers* testados, 27 (22,7%) não amplificaram nenhum fragmento. Os *primers* testados por Yen (1997) e Yen *et. al.* (1997) que estavam ligados a 1,6 cM, 4,6 cM e 14,6 cM, não amplificaram a região ligada ao alelo *hp* no material avaliado (figura 1).

Esse resultado pode estar relacionado com a baixa reprodutibilidade da técnica do RAPD entre diferentes laboratórios, uma vez que os *primers* utilizados são curtos e de seqüência aleatória, requerendo uma baixa temperatura de anelamento durante os ciclos de PCR. Tal fato reduz a especificidade de amplificação, fazendo que com o anelamento dos *primers* ocorra em outras regiões do genoma.

A hipótese mais provável e que deve ser considerada é de que o *background* genético dos materiais utilizados neste experimento é diferente do utilizado por Yen (1997), Yen *et. al.* (1997) e Lee (1999). Devido a esse fato não existiriam, nos materiais testados neste trabalho, as regiões que estavam

1 2 3 4 5 1 2 3 4 5 1 2 3 4 5 1 2 3 4 5



OPB-7

OPD-1

OPM-10

OPK-18

Figura 1. Produtos de amplificação RAPD dos genótipos: 1 = Flora-dade ( $alc^+ alc^+ nor^+ nor^+ rin^+ rin^+ hp^+ hp^+ og^{c+} og^{c+}$ ), 2 = TOM-559 ( $alc alc nor^+ nor^+ rin^+ rin^+ hp^+ hp^+ og^{c+} og^{c+}$ ), 3 = TOM-613 ( $alc^+ alc^+ nor nor rin^+ rin^+ hp^+ hp^+ og^{c+} og^{c+}$ ), 4 = TOM-595 ( $alc^+ alc^+ nor^+ nor^+ rin^+ rin^+ hp hp og^{c+} og^{c+}$ ) e 5 = TOM-596 ( $alc^+ alc^+ nor^+ nor^+ rin^+ rin^+ hp^+ hp^+ og^c og^c$ ). EMBRAPA Milho e Sorgo, Sete Lagoas- MG, 2002.

ligadas ao alelo *hp* e, com isso, os *primers* utilizados por Yen (1997), Yen *et. al.* (1997). e Lee (1999) não diferenciaram os materiais normais do mutante *hp* no *background* Flora-Dade.

Os *primers* utilizados também não conseguiram diferenciar os alelos *nor*, *alc* e *og<sup>c</sup>* que estavam presente nos outros materiais. Como o RAPD é um marcador que se anela em posições aleatória no genoma e as linhagens avaliadas eram quase isogênicas, seria realmente esperada uma elevada proporção de bandas monomórficas, e aquelas que fossem polimórficas teriam uma maior probabilidade de estarem ligadas aos genes de interesse em cada material. A



efetiva ligação com os alelos seria comprovada posteriormente em populações maiores de mapeamento.

Nota-se a necessidade de se testarem novos *primers* para encontrar as sutis diferenças entre os materiais estudados, pois a grande vantagem da utilização do RAPD está no fato de que, caso seja encontrada uma marca que esteja ligada ao alelo de interesse, essa marca possa ser cortada do gel para ser sequenciada, transformando-se em uma sonda para o alelo de interesse.

Uma outra estratégia que pode ser utilizada é o AFLP corado com prata, pois utiliza a vantagem de possibilitar um grande número de fragmentos gerados e resolvidos em um único gel e a possibilidade de cortar e sequenciar alguma marca que esteja ligada ao alelo de interesse no gel corado com prata.

### 3.7 CONCLUSÃO

Entre os *primers* testados, não foi encontrado marcador molecular RAPD que diferenciasse as linhas quase isogênicas que continham os alelos *alc*, *nor*, *hp* e *og<sup>c</sup>* no *background* Flora-Dade.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília: EMBRAPA, 1998. p. 220.

LEE, S. **Genetic and Physiokogical analysis of ethylene signal trnsduction in tomato and identification of DNA markers for the tomato High Pigment (hp) mutant**. 1999. 137 p. Tese (Doutorado em Fisiologia e Biotecnologia) – University of Texas, Texas.

MARTIN, G. B.; WILLIAMS, J. G. B.; TANKSLEY, S. D. Rapid identification of markers to a *Pseudomonas* resistance gene in tomato by randon primers and near-isogenic lines. **Proceedings National of the Academic Science of United States of America**, Ithaca, v. 88, n. 6, p. 2336-2340, Mar. 1991.

PARAN, I.; MICHELMORE, R. Development of reliable PCR-based markers linked to docuny mildew resistance genes in lettuce. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 85, n. 8, p. 985- 993, Feb. 1993.

RONEN, G.; CARMEL-GOREL, L.; ZAMIR, D.; HIRSCHBERG, J. A alternative to beta carotene formation in plant chromoplast discovered by map-based cloning of Beta and old-gold color mutationsin tomato. **Proceedings National of the Academic Science of United States of America**, Washington, v. 27, n. 20, p. 11102- 11107, Sept. 2000.

SAGHAI-MAROOF, M. A.; SOLIMAN, K. A.; JORGENSEN, R. A.; ALLARD, R. W. Ibosomal DNA spacer length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. **Proceedings National of the Academic Science of United States of America**, Washington, v. 81, n. 24, p. 8014-8018, 1984.

VREBALOV, J.; RUEZINSKY, D.; PADMANABHAN, V.; WHITE, R.; MEDRANO, D.; DRAKE, R.; SCHUCH, W.; GIOVANNONI, J. A MADS-Box necessary for fruit ripening at the tomato ripening- inhibitor (Rin) Locus. **Science**, Washington, v. 296, n. 5566, p. 343-346, Apr. 2002.

VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; LEE, T.; HORNES, M.; FRIJTERS, A; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEAU, M. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 23, n. 21, p. 4407-4415, Nov. 1995.

WANG, X.; FANG, Z.; HUANG, S.; SUN, P.; LIU, Y.; YANG, L.; ZHUANG, M.; QU D. Extended random primer amplified region (ERPAR) marker linked to a dominant male sterility gene in cabbage ( *Brassica oleracea* var. *capitata*). China. **Euphytica**, Wageningen, v. 112, n. 3, p. 267-273, 2000.

YEN, H. C. **Genetic and Physiological characterization of the ripening related never rip (NR) high pigment (HP) mutants of tomato**. 1996. 148 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – University of Texas, Texas.

YEN, H. C.; SHELTON, B. A.; HOWARD, L. R.; LEE, S.; VREBALOV, J.; GIOVANNONI, J. J. The tomato high pigment (*hp*) locus maps to chromosome 2 and influences plastome copy number and fruit quality. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 95, n. 7, p. 1069-1079, Nov. 1997.