

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS DE CURITIBANOS
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
GUILHERME DE SOUZA WALTRICK

**O ALELO *macrocalyx* AFETA O DESENVOLVIMENTO DO FRUTO DO
TOMATEIRO**

Curitibanos

2017

GUILHERME DE SOUZA WALTRICK

**O ALELO *macrocalyx* AFETA O DESENVOLVIMENTO DO FRUTO DO
TOMATEIRO**

Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em
Agronomia do Centro de Ciências Rurais da
Universidade Federal de Santa Catarina/Campus de
Curitibanos como requisito para obtenção do Título
de Bacharel em Agronomia
Orientador: Prof. Dr. Ivan Sestari

Curitibanos

2017

Waltrick, Guilherme de Souza

O alelo macrocalyx afeta o desenvolvimento do fruto do
tomateiro / Guilherme de Souza Waltrick ; orientador, Ivan
Sestari, 2017.

29 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus
Curitibanos, Graduação em Agronomia, Curitibanos, 2017.

Inclui referências.

1. Agronomia. 2. Micro-Tom. 3. MADS box. 4. Sépalas. I.
Sestari, Ivan. II. Universidade Federal de Santa Catarina.
Graduação em Agronomia. III. Título.



SERVIÇO FEDERAL

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO CURITIBANOS**

Coordenação do Curso de Graduação em Agronomia

Rodovia Ulisses Gaboardi, km3 – Zona Rural – CEP: 89520-000 – Curitibanos/SC
CEP 89520-000 – Curitibanos – SC
TELEFONE: (48) 3721 -4168 Email: agronomia.cbs@contato.ufsc.br

Guilherme de Souza Waltrick

**O ALELO *macrocalyx* AFETA O DESENVOLVIMENTO DO FRUTO DO
TOMATEIRO**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de Engenheiro Agrônomo, e aprovado em sua forma final pelo Curso de Graduação em Agronomia.

Curitibanos, 16 de novembro de 2017.

Prof. Dr. Samuel Luiz Fioreze
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Ivan Sestari
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Samuel Luiz Fioreze
Membro da banca examinadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa.Dra. Viviane Glaser
Membro da banca examinadora
Universidade Federal de Santa Catarina

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida e saúde, pela providência divina, pela força, pelo discernimento e pela ciência nas decisões.

À Universidade Federal de Santa Catarina e todo o quadro profissional pelo empenho na construção do conhecimento.

Ao professor Ivan Sestari, pela orientação, parceria e paciência.

Ao meu pai João Nildo Waltrick, pelo apoio incondicional, pela dedicação e confiança.

À minha mãe Rita de Cássia de Souza Waltrick pelo incentivo, conforto e pelas orações.

À minha irmã Ediane de Souza Waltrick, pelo companheirismo e conselhos nesta jornada.

À minha companheira Pâmela Fabiana dos Santos e meu filho João Miguel dos Santos Waltrick, pela compreensão em minhas ausências.

À todos os colegas e amigos que me acompanharam e de alguma forma agregaram em minha formação profissional e pessoal.

O alelo *macrocalyx* afeta o desenvolvimento do fruto do tomateiro

Guilherme de Souza Waltrick¹ Ivan Sestari²

Resumo

Embora as sépalas constituam uma estrutura floral presente e evidente em diversas espécies de interesse agrônomo, não existem relatos do possível papel desempenhado por esta estrutura no crescimento e desenvolvimento de frutos carnosos, exceto na cultura do caqui. No tomateiro as mutações *mc*, que regula a formação das sépalas e *rin*, que inibe o fenômeno de amadurecimento do fruto surgiram do mesmo evento, o que acabou fusionando ambas, portanto, não é conhecido o efeito isolado de cada mutação no desenvolvimento do fruto. No presente trabalho foi realizada a introgressão do alelo mutado *mc* na cultivar de tomateiro Micro-Tom (MT) de modo a verificar a sua influência sobre o crescimento, amadurecimento e parâmetros de qualidade do fruto, a partir de análises comparativas com o mutante *rin* e a cv MT e entre frutos conduzidos com e sem sépalas. Nossos resultados sugerem que as sépalas exercem um papel importante no crescimento dos frutos do tomateiro e no tempo de amadurecimento. A ausência de sépalas em *mc* retarda de modo mais evidente o amadurecimento dos frutos na planta, contudo há maior intensificação da coloração vermelha ao final do amadurecimento. Em pós colheita, a presença da sépala retarda a perda de massa dos frutos.

Palavras-chave: Micro-Tom. MADS box. Sépalas.

¹ Acadêmico do curso de Agronomia da Universidade Federal de Santa Catarina, campus de Curitiba, e-mail: gs-waltrick@bol.com.br.

² Professor Adjunto, Coordenadoria especial de Ciências Biológicas e Agrônomicas, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Curitiba, Rodovia Ulysses Gaboardi - km 03 Fazenda Pessegueirinho CEP 89520000 - Curitiba, SC – Brasil. E-mail: ivan.sestari@ufsc.br.

The *macrocalyx* allele affects the tomato fruit development

Guilherme de Souza Waltrick¹ Ivan Sestari²

Abstract

Although sepals constitute a present floral structure and evident in several species of agronomic interest, there are no reports of the possible role played by this structure in the growth and development of fleshy fruits, except in the persimmon. In tomato the mutations *mc*, which regulates the formation of sepals and *rin*, which inhibits fruit ripening, arose from the same event, which ended up merging both, so the isolated effect of each mutation in the development of the fruit is not known. In this work was performed the introgression of the mutated *mc* allele into the Micro-Tom (MT) background in order to verify its influence on fruit growth, ripening and quality parameters, from comparative analyzes with *rin* mutant and MT and between fruits bearing or not sepals. Our results suggest that sepals had an important role in fruit growth and ripening timing. Absence of sepals in *mc* slow down fruit ripening on the vine, however, this fruits are more reddish than MT. In post harvest, sepals reduce fruit weighted loss.

Key words: Micro-Tom. MADS box. Sepals.

¹ Acadêmico do curso de Agronomia da Universidade Federal de Santa Catarina, campus de Curitibanos, e-mail: gs-waltrick@bol.com.br.

² Professor Adjunto, Coordenadoria especial de Ciências Biológicas e Agrônomicas, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Curitibanos, Rodovia Ulysses Gaboardi - km 03 Fazenda Pessegueirinho CEP 89520000 - Curitibanos, SC – Brasil. E-mail: ivan.sestari@ufsc.br.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
3.1 INFLUÊNCIA DAS SÉPALAS NO DESENVOLVIMENTO DOS FRUTOS LIGADOS À PLANTA MÃE	15
3.2 INFLUÊNCIA DAS SÉPALAS NO DESENVOLVIMENTO DOS FRUTOS APÓS A COLHEITA	21
4 CONCLUSÕES	26
REFERÊNCIAS	27

1 INTRODUÇÃO

A conversão de meristemas caulinares vegetativos para reprodutivos ocorre em resposta a fatores endógenos e ambientais e se reflete em fortes mudanças na diferenciação celular e no padrão de morfogênese do meristema apical caulinar. Em angiospermas, essas mudanças decorrem do processo de evocação floral que origina uma estrutura altamente elaborada, a flor e culminam com a formação do fruto contendo as sementes em seu interior (GIMÉNEZ et al., 2010; VAZ; SANTOS; ZAIDAN, 2008).

Uma vez determinado a florescer, o meristema segue seu novo programa de desenvolvimento iniciando a diferenciação do primórdio floral, que resultará na formação de diferentes órgãos florais a exemplo das sépalas, pétalas, estames e carpelos. A identidade destas estruturas assim como a sua posição relativa em relação aos demais verticilos, são controladas por grupos de genes que controlam a identidade dos meristemas e dos órgãos florais, sendo em sua maioria pertencentes à família de fatores de transcrição do tipo MADS - box (GIMÉNEZ et al., 2010; TAIZ e ZEIGER, 2013).

Após a fertilização dos óvulos durante o florescimento, o ovário continua seu desenvolvimento originando o fruto. O desenvolvimento do fruto do tomateiro passa por etapas características sendo consideradas a fase de divisão celular, expansão celular e por fim o amadurecimento (KERBAUY, 2008; GIOVANNONI, 2004). Durante o amadurecimento ocorrem alterações ordenadas em nível estrutural, fisiológico e bioquímico. De modo geral, este evento culmina com mudanças na cor, textura, qualidade nutricional, *flavor* e aroma do fruto que decorrem de alterações no turgor das células, no acúmulo de carotenóides e flavonóides, de modificação em açúcares, ácidos orgânicos e compostos voláteis (GIOVANNONI, 2004).

Em algumas espécies, como o caquizeiro (*Diospyros Kaki* L.) existem evidências de que estruturas acessórias, como as sépalas afetam diretamente o desenvolvimento do fruto e o amadurecimento (YONEMORI; HIRANO e SUGIURA, 1995). De acordo com estes autores, a remoção do cálice no estágio inicial de desenvolvimento dos frutos acarreta significativa redução do crescimento dos frutos e afeta a coloração dos mesmos, chegando ao período de colheita ainda verdes e muito pequenos se comparados aos com sépalas. Quanto mais cedo ocorre a remoção da estrutura, maior a intensidade de inibição no crescimento, a qual também é influenciada pelo número de lobos removidos do cálice. Analisando a composição de açúcares dos frutos do caquizeiro, YONEMORI; HIRANO e

SUGIURA (1995) relataram que esta também foi influenciada, uma vez que o acúmulo de hexoses (glicose e frutose) foi inibido enquanto o acúmulo de sacarose foi incrementado em relação aos frutos controle, o que pode constituir um importante fator para a inibição de crescimento destes órgãos. Os autores atribuíram esta mudança no perfil de açúcares a alterações observadas na atividade de enzimas associadas à metabolização e síntese destes açúcares.

Embora as sépalas constituam uma estrutura presente e evidente em diversas espécies de interesse agrônômico, até o presente momento, exceto no fruto do caqui, não existem relatos do possível papel desempenhado por esta estrutura no crescimento e desenvolvimento do fruto. Apesar da ausência de investigações sobre o tema, é possível que em outras espécies produtoras de frutos carnosos, esta estrutura exerça alguma influência direta sobre o metabolismo de açúcares ou ainda possa alterar o balanço hormonal, impactando a morfologia e o amadurecimento do fruto.

Os genes MADS – box codificam fatores de transcrição que são amplamente reconhecidos por atuarem em diversos processos biológicos importantes para as plantas, tal como a definição da identidade de órgãos florais (TAIZ e ZEIGER, 2013; VREBALOV et al., 2002). Em tomateiro, a caracterização dos mutantes *jointless (j)* e *ripening inhibitor (rin)* revelou a importância dos alelos funcionais *JOINTLESS* e *RIPENING INHIBITOR* para a correta formação da camada de abscisão presente no pedicelo que une o fruto a inflorescência (NAKANO et al., 2012) e o característico amadurecimento do fruto (VREBALOV et al., 2002), respectivamente. Em tomateiro existem mutações espontâneas e induzidas que afetam diferentes etapas da reprodução sexuada (GIOVANNONI, 2004), a exemplo do alelo *macrocalyx (mc)*, que codifica um fator de transcrição pertencente à subfamília de genes MADS-box denominada APETALA1 / FRUIT-FULL (AP1/FUL). O produto gênico foi identificado como um regulador da determinação das inflorescências e do desenvolvimento das sépalas. Desta forma, as plantas portadoras do alelo mutado (*mc*) exibem inflorescências indeterminadas e sépalas maiores que o normal, (SOL GENOMICS NETWORK, 2016; TGRC, 2017; VREBALOV et al., 2002). Recentemente NAKANO et al. (2012) relataram a interação existente entre *MACROCALYX (MC)* e o alelo *JOINTLESS (J)* na formação da zona de abscisão do pedicelo em tomateiro.

Outra mutação em um gene da família MADS-box reconhecido, não por atuar na determinação dos verticilos mas no amadurecimento do fruto, é o *ripening inhibitor (rin)*. A perda de função deste alelo inibe completamente o fenômeno de amadurecimento do fruto

incluindo a respiração climatérica e as mudanças inerentes à presença do etileno. A ausência de resposta ao etileno, mesmo que aplicado de forma exógena, é verificada apenas no fruto, sendo que a planta portadora do alelo mutado expressa os sinais típicos da presença do hormônio como a tríplice resposta em plântulas, abscisão de flores e senescência de folhas. Sendo assim, tem sido sugerido que o gene RIN constitui um regulador genético global do amadurecimento (VREBALOV et al., 2002).

As mutações *mc* e *rin* citadas anteriormente se originaram do mesmo evento de mutação, por ocasião de uma deleção de bases de 1,7 Kb no cromossomo 5 do tomateiro. A deleção inclui parte do último *intron* e o último *exon* do gene RIN. Curiosamente, a região transcrita do gene MC não é mutada em *rin*, sugerindo que o fragmento excluído de MC inclui apenas a região que regula a expressão do gene (GIOVANNONI, 2004; VREBALOV et al., 2002). Considerando que estes dois genes adjacentes foram fusionados, e que ambos são expressos no fenótipo da planta portadora de *rin* (VREBALOV et al., 2002), não é possível visualizar o efeito isolado de cada mutação. Para confirmar a participação isolada de cada mutação no amadurecimento e desenvolvimento do fruto seria necessária a obtenção de uma linhagem isogênica em tomateiro carregando apenas o alelo mutado *mc*, de modo a identificar seu impacto em particular nos processos citados anteriormente.

No presente trabalho foi realizada a introgressão do alelo mutado *mc* na cultivar Micro-Tom (MT) de tomateiro de modo a verificar a sua influência sobre o crescimento, amadurecimento e parâmetros de qualidade do fruto do tomateiro, a partir de análises comparativas com frutos provenientes do mutante *rin* e da cv. MT, cujos alelos RIN e MC são funcionais. O amadurecimento dos frutos na planta e em pós-colheita foi acompanhado buscando identificar se a presença das sépalas pode afetar o desenvolvimento e a qualidade dos frutos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As atividades de pesquisa foram desenvolvidas no Laboratório de Ecologia e Morfofisiologia Vegetal da UFSC, Campus de Curitibanos. O cultivo dos genótipos de tomateiro para obtenção de frutos foi realizado em casa de vegetação com temperatura média de 27°C e irrigação manual realizada conforme necessidade.

Os genótipos utilizados no presente trabalho foram a cultivar Micro-Tom (MT) e os mutantes *ripening inhibitor (rin)* e *macrocalyx (mc)* e estão descritas na Tabela 1. A cv MT e o mutante *rin* foram obtidos da coleção de mutantes do Laboratório de Controle Hormonal do Desenvolvimento Vegetal da ESALQ-USP (<http://esalq.usp/tomato/>). A mutação *mc* foi inserida na cv MT por meio de retrocruzamentos sucessivos gerando uma linhagem quase isogênica. A referida mutação foi obtida da linhagem LA0159 oriunda do Centro de Recursos Genéticos do Tomateiro na Universidade da Califórnia (Tomato Genetics Resource Center – TGRC).

Tabela 1 - Descrição dos genótipos mutantes homozigotos empregados no trabalho.

Genótipo	Função gênica	Fenótipo	Referência
<i>ripening inhibitor (rin)</i>	Perda de função de um fator de transcrição da família MADS-box. Ausência de produção autocatalítica do etileno.	Frutos não amadurecem.	Tigchelaar et al. (1978); Vrebalov et al. (2002)
<i>macrocalyx (mc)</i>	Perda de função de um fator de transcrição da família MADS-box que regula a determinação da inflorescência e o desenvolvimento da sépala.	Sépalas grandes e com aspecto de folhas.	Vrebalov et al. (2002)

As sementes da cv MT e dos mutantes *rin* e *mc* foram semeados em vasos plásticos de 350 mL contendo substrato orgânico e vermiculita expandida na proporção de 1:1. Aproximadamente duas semanas após a semeadura, quando as plântulas exibiram o primeiro

par de folhas verdadeiras, as mesmas foram transplantadas para vasos do tipo jardineira com capacidade de 8 litros contendo substrato e vermiculita na mesma proporção descrita anteriormente. A adubação foi realizada com 1g de fertilizante NPK 10:10:10 e 4g de calcário dolomítico por litro de substrato. Após o transplante, as plantas foram aspergidas em intervalos de duas semanas com fertilizante líquido Peters 20-20-20 na dose de 1g.L⁻¹.

No início do florescimento as duas primeiras inflorescências emitidas por cada planta foram cortadas com tesoura de poda, com o intuito de uniformizar o florescimento no experimento e mitigar a ocorrência de dados discrepantes. Este trato cultural se mostrou eficiente em experimentos preliminares.

Durante 5 dias consecutivos algumas flores da cv. MT e dos mutantes *rin* e *mc* foram marcadas individualmente no dia da antese, sendo a carga de frutos ajustada posteriormente em 4 frutos por planta assim que verificada sua fixação. Os tratamentos “sem sépalas” tiveram esta estrutura floral removida com pinça no dia da marcação da flor, visando identificar as características do fruto após se desenvolver sem a presença desta estrutura acessória.

Uma vez que o mutante *rin* expressa também o fenótipo *mc*, foram conduzidos dois experimentos visando separar o efeito deste último, um com o mutante *rin* e outro com o mutante *mc*, nos quais foi avaliado o crescimento e desenvolvimento dos frutos ligados à planta mãe. Em ambos os casos a cv MT foi utilizada como controle. Para cada experimento foram transplantadas 18 plântulas da cv MT e 24 plântulas dos respectivos mutantes, sendo dispostas três plantas por jardineira, totalizando seis jardineiras para MT e oito para *rin* ou *mc*. Em todos os genótipos, 50% das plantas tiveram as sépalas removidas e 50% se desenvolveram normalmente. A colheita se deu quando os frutos atingiram uniformemente o estágio vermelho maduro, cerca de 50 dias após a antese.

Para verificar a influência das sépalas sobre o desenvolvimento e qualidade do fruto no período de pós colheita, um terceiro experimento foi conduzido com o mutante *mc* e a cv MT como controle. Neste experimento a colheita se deu quando os frutos atingiram o estágio “verde maduro” e o amadurecimento foi acompanhado até que os mesmos atingissem o estágio “vermelho maduro”. Os frutos permaneceram em embalagens plásticas fechadas, sob temperatura ambiente (20°C).

Nos três experimentos, após a colheita foi obtido um lote uniforme de frutos para cada tratamento, sendo excluídos frutos não homogêneos.

Foi determinado o número de dias entre a antese e o estágio “vermelho maduro” por meio da diferença de datas, a massa média dos frutos com auxílio de uma balança semianalítica e as dimensões longitudinal e transversal com auxílio de um paquímetro digital. O conteúdo de sólidos solúveis totais (SST) nos frutos maduros foi determinado com auxílio de um refratômetro manual. Esta variável inclui o conteúdo de açúcares redutores como a glicose, frutose e sacarose e a acidez titulável que influenciam o sabor do fruto (FERREIRA, 2004). A coloração da epiderme foi determinada com o auxílio de um colorímetro modelo CR400 (Konica Minolta), sendo feitas duas leituras opostas na região equatorial de cada fruto e os resultados expressos em luminosidade (L^*), Chroma (C^*) e ângulo de cor (Hue). A luminosidade representa o brilho da amostra variando de 0 – escuro a 100 – branco (SÁ et al. 2008). O Chroma representa a saturação da cor iniciando em 0 no centro sendo que quanto maior seu valor, mais vivaz a coloração (Figura 1). O ângulo de cor (Figura 1) representa a tonalidade e inicia em 0° que representa o vermelho deslocando-se em sentido anti-horário passando pelo amarelo aos 90° , verde aos 180° até o azul em 270° (KONICA MINOLTA, 2017).

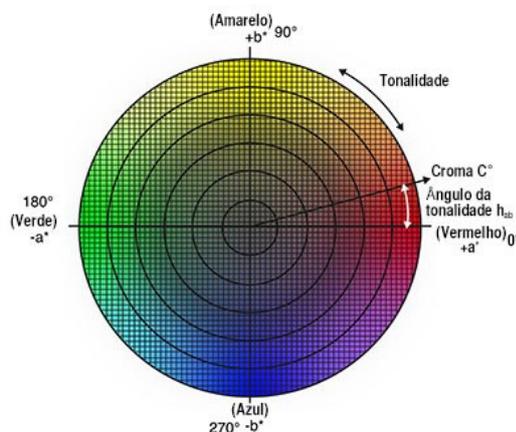


Figura 1 - Diagrama do espaço de cor L^*C^*h . Fonte: Konica Minolta (2017).

Para o experimento acompanhado em pós colheita, a massa média, perda de massa e a coloração da epiderme foram determinadas a cada 3 dias, sendo os demais parâmetros citados, avaliados apenas quando os frutos atingiram o estágio “vermelho maduro”.

Os experimentos foram conduzidos sob delineamento inteiramente casualizado, sendo calculadas a média e o erro padrão para todos os dados obtidos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 INFLUÊNCIA DAS SÉPALAS NO DESENVOLVIMENTO DOS FRUTOS LIGADOS À PLANTA MÃE

Em algumas espécies tem sido sugerido que a presença de sépalas é importante para que o amadurecimento do fruto ocorra normalmente, contudo a real influência desta estrutura sobre este processo ainda permanece elusiva. Nesta seção, a potencial relação entre as sépalas e o desenvolvimento do fruto do tomateiro foi investigada por meio da determinação da massa, dimensões, coloração, acúmulo de açúcares e do acompanhamento do tempo necessário para que os frutos da cv MT e dos mutantes *rin* e *mc* atingissem o estágio vermelho maduro na planta, sob duas condições: presença e ausência de sépalas.

A remoção das sépalas tende a prolongar o período de amadurecimento dos frutos tanto no controle MT, como nos mutantes *rin* (Figura 2) e *mc* (Figura 3). Não foi verificada diferença entre o mutante *rin* e o MT, enquanto que no mutante *mc* os frutos mantidos com sépalas atingiram o estágio vermelho maduro precocemente se comparados com o controle. Entretanto, a remoção das sépalas deste mutante claramente retardou seu amadurecimento, de modo que os frutos atingiram a maturidade no mesmo período que MT sem sépalas.

Yonemori; Hirano e Sugiura (1995) verificaram que a remoção precoce das sépalas de frutos de caqui, gerou uma resposta mais acentuada do que a observada neste trabalho, inibindo o desenvolvimento da cor nos frutos de modo que os mesmos chegaram ao período de colheita ainda verdes.

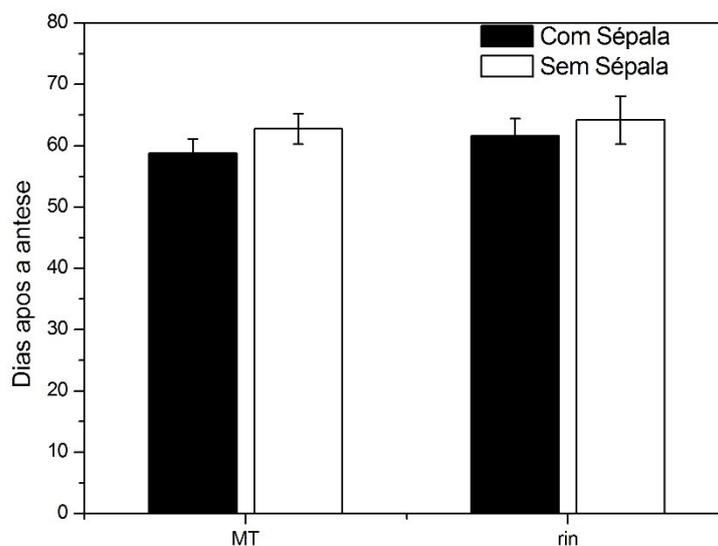


Figura 2 - Número de dias após a antese para o fruto atingir o estágio vermelho maduro (MT) ou equivalente (*rin*). Barras verticais indicam o desvio padrão da média (32 frutos por genótipo).

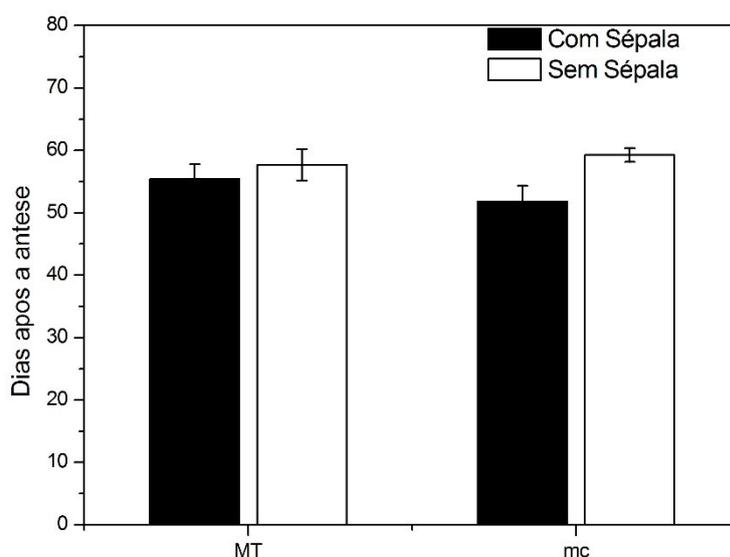


Figura 3 - Número de dias após a antese para o fruto atingir o estágio vermelho maduro em MT e *mc*. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (32 frutos por genótipo).

A remoção das sépalas do mutante *rin* não alterou a massa média do fruto (Figura 4a), todavia em MT a remoção tende a reprimir o crescimento e em *mc* a massa média foi menor nos frutos que tiveram as sépalas removidas (Figura 5a). Não foi verificada diferença entre frutos do mutante *rin* em relação ao controle. Já a massa média nos frutos do mutante *mc* foi inferior em relação ao MT, tanto para frutos com sépala como para frutos sem a estrutura. Este resultado sugere que o alelo *MC* não mutado influencia positivamente o crescimento do fruto. A remoção das sépalas em *mc* não reverte o efeito do alelo sobre a

massa, possivelmente em razão deste gene também ser expresso nas pétalas e carpelos (VREBALOV et al., 2002).

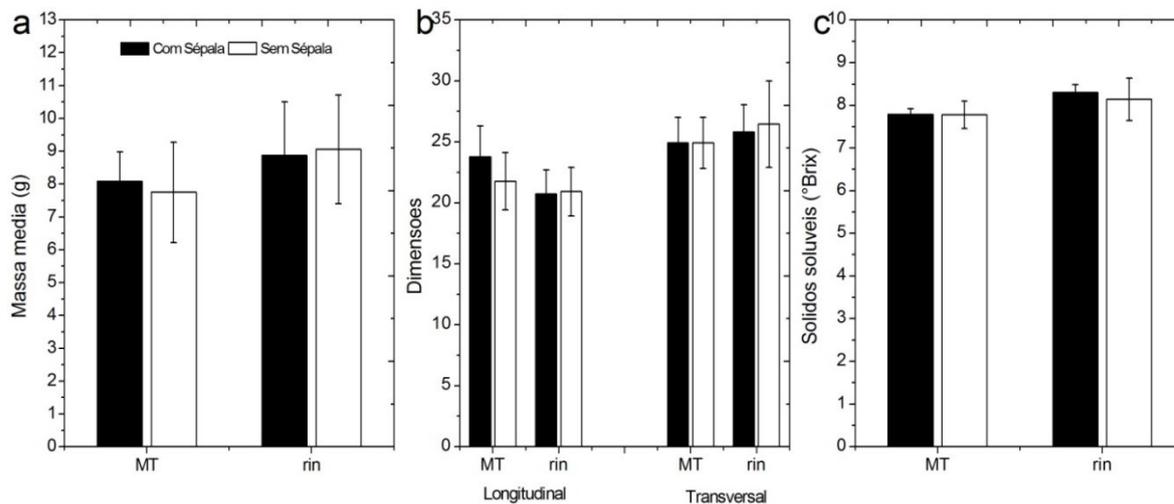


Figura 4 - Influência da sépala no desenvolvimento do fruto. Massa média (a), dimensões (b) e teor de sólidos solúveis (c) em frutos da cv MT e no mutante *rin* colhidos no estágio vermelho maduro. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (20 frutos por genótipo – Massa média e teor de sólidos solúveis e 32 frutos – Dimensões).

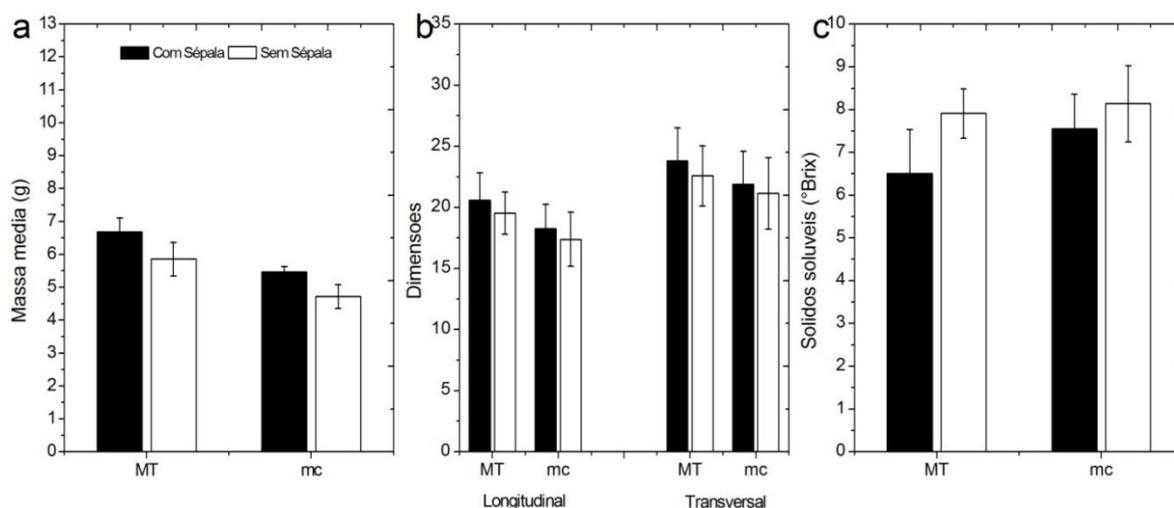


Figura 5 - Influência da sépala no desenvolvimento do fruto. Massa média (a), dimensões (b) e teor de sólidos solúveis (c) em frutos da cv MT e no mutante *mc* colhidos no estágio vermelho maduro. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (20 frutos por genótipo – Massa média e teor de sólidos solúveis e 24 frutos – Dimensões).

No MT e no mutante *mc*, os frutos com sépalas e aqueles cujas sépalas foram removidas apresentaram dimensões semelhantes, tanto na orientação longitudinal quanto na transversal (Figura 5b). Entretanto, é importante destacar que em média, frutos sem sépalas apresentam dimensões menores. Além disso, o mutante *mc* apresentou frutos ligeiramente menores em relação ao MT em ambas as dimensões avaliadas (Figura 5b), corroborando a

influência do alelo funcional *MC* sobre o crescimento do fruto. Já no mutante *rin* não foi verificada diferença entre frutos que se desenvolveram com ou sem sépalas (Figura 4b).

Na cultura do caqui, YONEMORI; HIRANO e SUGIURA (1995), observaram que a remoção dos lobos do cálice impactou de forma significativa sobre a massa dos frutos, assim como observado neste estudo com o tomateiro, além de influenciar a composição de açúcares, sendo o acúmulo de glicose e frutose inibido enquanto que o teor de sacarose foi incrementado em relação ao controle. Os autores associaram este comportamento à alterações na atividade de enzimas que atuam na metabolização e síntese de açúcares, constituindo um importante fator causal da redução de massa do fruto.

Segundo WANG et al., (1993), no tomateiro o metabolismo da sacarose tem um papel importante no desenvolvimento do fruto, considerando que sua atividade pode regular a importação de carbono que por sua vez é determinante no crescimento da estrutura. Os autores verificaram uma correlação positiva entre a atividade da enzima sacarose sintase e o teor de amido, o qual compõe um importante carboidrato de reserva, ultrapassando os 20% da matéria seca durante o desenvolvimento do tomate. A alta atividade desta enzima resulta em baixa concentração de sacarose no pericarpo do fruto, intensificando a força de dreno do mesmo. Medindo a atividade da sacarose sintase de frutos de tomateiro em crescimento, verificou-se uma relação positiva da atividade da enzima com o incremento no tamanho final do órgão (WANG et al., 1993, apud SUN et al., 1992).

A enzima sacarose sintase pode atuar na síntese de sacarose, entretanto, a clivagem deste açúcar tem sido considerada sua principal atividade. A maioria do carbono assimilado durante a fotossíntese é translocado como sacarose, sendo que a clivagem deste açúcar em glicose e frutose viabiliza sua entrada em diferentes vias como a respiração e a síntese de compostos de reserva (PURGATTO, 2001).

Yonemori; Hirano e Sugiura (1995) também verificaram o declínio de ácido abscísico e giberelina paralelamente à redução do crescimento pela remoção das sépalas na cultura do caqui, o que pode ter resultado no crescimento reduzido dos frutos.

Bussères (2002) verificou que a variação na transpiração das sépalas de tomateiro influencia a importação de água no fruto, sendo que a diminuição da transpiração das sépalas resulta no aumento de água importada.

Neste sentido, esperava-se que frutos que tiveram as sépalas removidas no tomateiro importassem mais água conferindo maior massa (PRECZENHAK et al., 2014) e dimensões (FERNANDES; CORÁ e BRAZ, 2007), o que não foi verificado. Estas informações

reforçam a possibilidade do envolvimento das sépalas no metabolismo de hormônios que atuam no crescimento (divisão e expansão celular) e/ou no amadurecimento do fruto tais como giberelinas e auxinas (TAIZ e ZEIGER, 2013).

Neste trabalho, o teor de sólidos solúveis (TSS), não diferiu entre frutos com sépalas e sem sépalas em nenhum dos genótipos. Entretanto, na média, tende a ser ligeiramente maior em frutos sem sépalas de MT e *mc* e maior no mutante *mc* em relação ao MT (Figura 5c). Frutos do mutante *rin* com sépala apresentaram diferença em relação ao MT, com um teor superior (Figura 4c).

Dados obtidos por Preczenhak et al., (2014) ao caracterizar agronomicamente 64 genótipos de minitomate (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*), mostram que de modo geral frutos com diâmetro elevado expressam baixo SST, a exemplo dos genótipos 2298-45 e IAC1622-64 com diâmetro de 34,99 e 33,96mm e SST de 4,77 e 4,80°Brix respectivamente. Em contrapartida, frutos com pequeno diâmetro expressam alto SST a exemplo dos genótipos RVTC-41 E IAC1498-63 com diâmetro de 21,25 e 23,02mm e SST de 6,77 e 7,37°Brix respectivamente.

Aguiar, Abrahão e Anjos (2012) também verificaram esta relação nos tomates híbridos ‘Sweet Grape’ e ‘Cereja Coco’. Os frutos de ‘Sweet Grape’ apresentaram em média 23,6mm de diâmetro e 8,5°Brix de sólidos solúveis enquanto que frutos de ‘Cereja Coco’ apresentaram 35,4mm e 4,6°Brix.

Segundo Preczenhak et al., (2014) o aumento no teor de água das células aumenta o peso dos frutos porém diminui os sólidos solúveis, uma vez que estes ficam mais diluídos. Portanto, o teor de sólidos solúveis maior encontrados em frutos sem sépalas neste trabalho, não ocorreu diretamente em resposta ao tratamento.

Quanto às variáveis representativas da coloração da epiderme, o parâmetro luminosidade não diferiu entre frutos com e sem sépala no MT e no mutante *rin* (Figura 6a) ou foi ligeiramente menor nos frutos do *mc* com sépala (Figura 7a). O menor valor observado em frutos com sépalas pode indicar um acúmulo ligeiramente maior de pigmentos, o que reduz sua reflectância. O parâmetro não diferiu entre MT e *mc* (Figura 7a).

A diferença observada em *rin* em relação aos demais genótipos em todos os parâmetros de coloração foi um resultado esperado, uma vez que o fenômeno de amadurecimento é inibido neste mutante (VREBALOV et al., 2002).

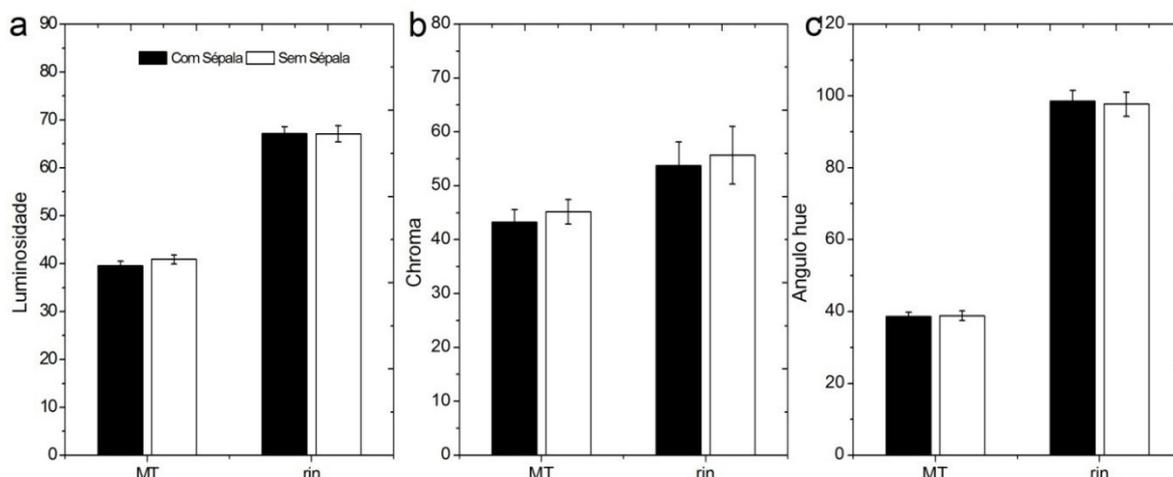


Figura 6 - Mudanças na Luminosidade (a), Chroma (b) e Ângulo hue (c) dos frutos em função da presença da sépala em MT e *rin*. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (20 frutos por genótipo).

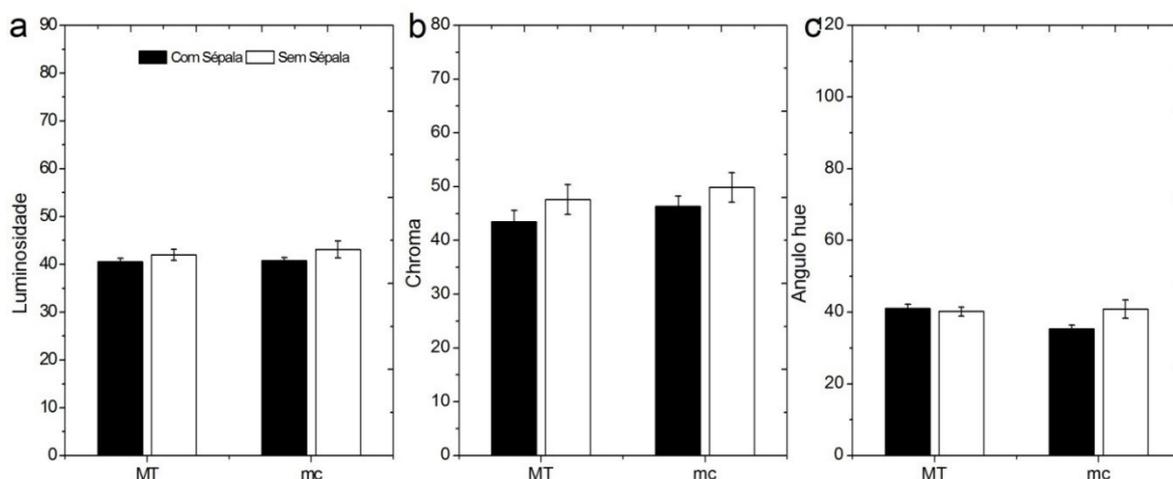


Figura 7 - Mudanças na Luminosidade (a), Chroma (b) e Ângulo hue (c) dos frutos em função da presença da sépala em MT e *mc*. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (20 frutos por genótipo).

O chroma não diferiu pela presença ou ausência de sépalas em nenhum dos genótipos, todavia, tende a ser ligeiramente maior em frutos sem sépalas nos três genótipos (Figura 6b e Figura 7b). Estes valores indicam que frutos com sépalas apresentam coloração da epiderme ligeiramente mais opaca do que os que tiveram as sépalas removidas (PRECZENHAK et al., 2014).

O ângulo de cor não diferiu entre frutos com e sem sépalas nos genótipos MT e *rin* (Figura 6c). O mutante *mc* (Figura 7c), apresentou um comportamento diferenciado, onde os frutos mantidos com sépalas diferiram dos sem sépalas e diferiram dos frutos do MT, exibindo ângulo de tonalidade menor, o que posiciona-os mais próximos da coloração

vermelha (PRECZENHAK et al., 2014). O resultado sugere que esta alteração observada na cor final do fruto está associada à funcionalidade do alelo e não simplesmente à presença das sépalas, uma vez que somente o mutante *mc* apresentou este comportamento.

No tomateiro, a coloração vermelha provém do acúmulo de carotenoides com destaque para o licopeno, que durante o amadurecimento é sintetizado e acumulado nos plastídios (TAIZ et al., 2017). Diante disso, entende-se que de alguma forma houve influência do alelo mutado *mc* sobre o amadurecimento de modo a intensificar a síntese deste pigmento.

3.2 INFLUÊNCIA DAS SÉPALAS NO DESENVOLVIMENTO DOS FRUTOS APÓS A COLHEITA

Por ser um fruto climatérico, o tomate é normalmente colhido no estágio de maturidade verde maduro, a partir do qual as transformações visuais associadas ao amadurecimento do fruto se tornam evidentes (OLIVEIRA; CONEGLIAN e CARMO, 2015). Nesta seção, a influência da sépala no amadurecimento do fruto fora da planta mãe foi avaliada. Para tal, determinamos o número de dias para os frutos atingirem o estágio vermelho, acompanhamos as mudanças de cor e perda de massa e ao final do período foram determinados parâmetros relativos ao tamanho e conteúdo de açúcares em frutos da cv MT e do mutante *mc*, com e sem sépalas, colhidos no estágio verde maduro.

Para o período de amadurecimento de frutos destacados da planta mãe não foi observada diferença entre os genótipos nem quanto à presença ou ausência de sépalas (Figura 8).

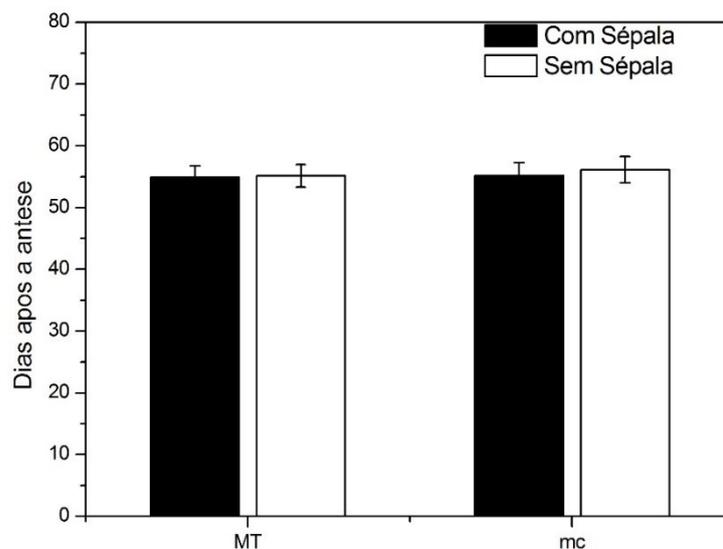


Figura 8 - Número de dias após a antese para o fruto atingir o estágio vermelho maduro em MT e *mc*. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (20 frutos por genótipo).

Não houve diferença entre as dimensões de frutos com e sem sépalas em nenhuma das orientações avaliadas, para ambos os genótipos. Os frutos do mutante *mc* não diferiram dos frutos da cv MT quanto às dimensões (Figura 9a).

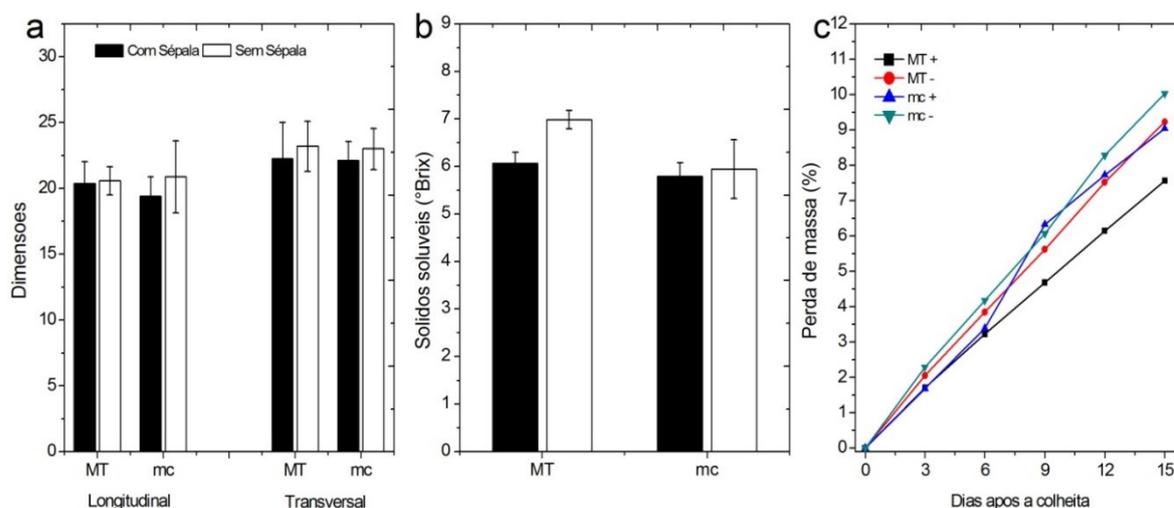


Figura 9 - Influência da sépala no desenvolvimento do fruto após a colheita. Dimensões (a), Teor de sólidos solúveis (b) e perda de massa ao longo de 15 dias após a colheita (c) em frutos da cv MT e do mutante *mc* colhidos no estágio verde maduro. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (20 frutos por genótipo).

O teor de sólidos solúveis foi superior nos frutos do MT que tiveram as sépalas removidas enquanto que no *mc* esta diferença não esteve presente (Figura 9b). Já entre os genótipos não houve diferença no TSS. Uma das possíveis razões para isso pode ser a maior

concentração de açúcares nos frutos sem sépalas em decorrência da maior perda de massa (Figuras 9b e 9c).

Durante o período inicial de pós colheita os açúcares redutores, tais como glicose e frutose, continuam a se acumular em função da degradação de carboidratos de reserva principalmente, entretanto, com o passar dos dias o teor destes açúcares decai devido a seu consumo no metabolismo da respiração (MISSIO et al., 2015; OLIVEIRA, CONEGLIAN e CARMO, 2015).

Durante a respiração aeróbica, em uma série de reações ocorre a oxidação de substâncias complexas que são quebradas gerando energia e compostos intermediários. A energia resultante é parcialmente perdida como calor e o restante é empregado para manutenção da vida. Os compostos intermediários formados nas diferentes etapas da respiração são precursores de importantes moléculas como amino ácidos, flavonoides e fitoalexinas (TAIZ e ZEIGER, 2013).

Na cultivar de tomate cereja ‘Perinha Água Branca’, Oliveira, Coneglian e Carmo (2015), verificaram o aumento no TSS de (5,8°Brix) após a colheita na maturidade fisiológica. O teor se aproxima de 8°Brix aos 12 dias após a colheita e volta a cair para 6,2°Brix aos 24 dias.

A diferença temporal de evolução do amadurecimento entre frutos com sépalas e sem sépalas no presente trabalho, de modo a gerar variação no TSS é descartado, considerando que os parâmetros de coloração não confirmaram esta hipótese.

Curiosamente a perda de massa foi maior nos frutos que amadureceram sem as sépalas, tanto para o MT como para o mutante *mc*. Outra observação foi a perda de massa superior em frutos do mutante *mc* se comparado com o controle MT tanto na presença como na ausência de sépalas (Figura 9c). Este comportamento nos dois genótipos pode indicar que as sépalas desempenharam um papel importante na perda de massa em pós colheita. Considerando que o mutante *mc* apresentou maior perda de massa tanto em frutos com como em frutos sem sépala em relação ao MT, é provável que alterações na espessura e/ou na permeabilidade da epiderme do fruto possam ser as possíveis razões para tal fato. Para testar essa hipótese, serão necessários novos estudos de modo a confirmar ou descartar tal suposição.

Estes resultados de perda de massa obtidos se assemelham aos relatados por Aguiar, Abrahão e Anjos (2012) nos híbridos de tomateiro ‘Sweet Grape’ e ‘Cereja Coco’ com perdas de aproximadamente 9% e 11% respectivamente aos 15 dias a 25°C.

A perda de massa em pós colheita é um evento comum para as hortícolas. Após a colheita ocorrem mudanças nos processos fisiológicos do fruto que naturalmente levam à perda de massa fresca como o aumento na taxa respiratória e principalmente a transpiração que resulta na perda de água para o ambiente (NUNES, 2015; OLIVEIRA, CONEGLIAN e CARMO, 2015; VEITES; DAIUTO e FUMES, 2012).

Em relação aos parâmetros de coloração, a luminosidade foi semelhante entre os frutos no dia da colheita, entretanto, a partir do 3º dia a 20°C observou-se uma distinta queda na luminosidade somente nos frutos com sépala. Contudo, ao longo do tempo esta distinção desapareceu, de modo a não ser mais percebida entre os genótipos independente da presença de sépalas (Figura 10a).

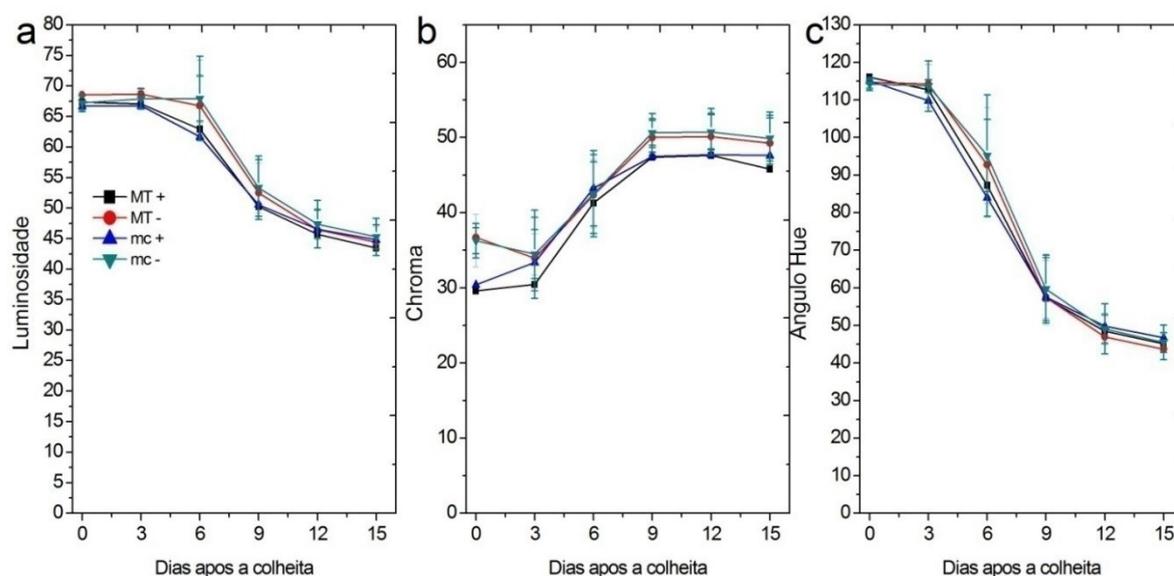


Figura 10 - Mudanças na Luminosidade (a), Chroma (b) e Ângulo hue (c) dos frutos em função da presença da sépala em MT e mc no período após a colheita. Barras verticais indicam o desvio padrão da média (20 frutos por genótipo).

O Chroma foi constantemente menor nos frutos com sépala. Apesar de não haver diferenças entre os genótipos ao longo do período avaliado percebe-se que os frutos com sépalas exibiram coloração mais opaca na epiderme (Figura 10b).

Diferentemente do padrão de coloração observado nos frutos que amadureceram na planta (Figura 7c), não foi observada influência do genótipo ou da sépala no parâmetro ângulo de cor (Figura 10c).

Coletivamente, estes dados sugerem que não há influência da sépala nem da funcionalidade do gene *MC* capaz de promover alterações quantitativas na coloração da epiderme do fruto que amadurece destacado da planta mãe.

Apesar do amadurecimento do fruto fora da planta não ter sido influenciado pela presença das sépalas e pela funcionalidade do gene *MC*, a presença da sépala, por razões ainda desconhecidas, parece retardar de modo mais expressivo a perda de massa em MT. A maior perda de massa observada em *mc* sem sépalas sugere que possíveis alterações na estrutura da epiderme em razão da não funcionalidade de *MC* possa ser a provável explicação para o comportamento diferencial em relação a MT, uma vez que o efeito é intensificado na ausência da sépala. Para confirmar ou descartar tal suposição, investigações adicionais serão necessárias.

4 CONCLUSÕES

A expressão do alelo funcional MC na sépala é importante para o amadurecimento e contribui para o crescimento normal do fruto ligado à planta.

A remoção da sépala em *mc* não reverte o efeito de retardo no crescimento do fruto.

A funcionalidade do alelo MC não afeta o padrão de amadurecimento após a colheita de frutos colhidos no estágio verde maduro.

A funcionalidade do alelo MC e a presença da sépala contribuem para retardar a perda de massa dos frutos que amadurecem fora da planta.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, F. P. C.; AGRAHÃO, R. M. S.; ANJOS, V. D. A. Determinação da Vida Útil de Tomate Tipo Cereja e ‘Sweet Grape’. Embrapa. 2012. Disponível em: <http://www.cnpma.embrapa.br/eventos/2012/ciic/cd_anais/Artigos/re12218.pdf>. Acesso em: 27 nov. 2017.
- BUSSIÈRES, P. Water Import in The Young Tomato Fruit Limited by Pedicel Resistance and Calyx Transpiration. **Functional Plant Biology**. v. 29, p. 631-641, 2002.
- FERNANDES, C.; CORÁ, J. E.; BRAZ, L. T. Classificação de Tomate-cereja em Função do Tamanho e Peso dos Frutos. **Horticultura Brasileira**. v. 25, n. 2, p. 275-278. 2007.
- FERREIRA, S. M. R. **Características De Qualidade Do Tomate De Mesa (*Lycopersicon Esculentum* Mill.) Cultivado Nos Sistemas Convencional E Orgânico Comercializado Na Região Metropolitana De Curitiba**. 2004. 131f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná. Curitiba.
- GIMÉNEZ et al. Functional Analysis of the Arlequin Mutant Corroborates the Essential Role of the ARLEQUIN/TAGL1 Gene during Reproductive Development of Tomato, **PLoS ONE**, v.5, 2010.
- GIOVANNONI, J. J. Genetic Regulation of Fruit Development and Ripening. **The Plant Cell**, v. 16, p. 170-180, 2004.
- KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 432 p.
- KONICA MINOLTA. **Compreendendo o Espaço de Cor CIE L*C*h**. Disponível em: <<http://sensing.konicaminolta.com.br/2015/08/compreendendo-o-espaco-de-cor-cie-lch/>>. Acesso em: 21 out. 2017.
- MISSIO, J. C. et al. Sugar-and-acid profile of Penjar tomatoes and its evolution during storage. **Scientia Agricola**. v. 72, n. 04, p. 314-321, Jul.- Ago., 2015. Versão pdf disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/sa/v72n4/0103-9016-sa-72-4-0314.pdf>>. Acesso: 28 out 2017.
- NAKANO, T. et al. MACROCALYX and JOINTLESS interact in the transcriptional regulation of tomato fruit abscission zone development. **Plant Physiology**. v.158, p. 439–450, 2012.
- NUNES, E. F. Sensores sem Fio para Gerenciamento de Qualidade Pós-Colheita de Tomate Cereja. 2015. 113f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia Agrícola da Universidade Estadual de Campinas. Campinas.
- OLIVEIRA, C. M.; CONEGLIAN, R. C. C.; Conservação pós-colheita de tomate cereja revestidos com película de fécula de mandioca. **Horticultura Brasileira**. v. 33, n. 4, p. 471-479, 2015.

PRECZENHAK, A. P.; et al. Caracterização agronômica de genótipos de minitomate. **Horticultura Brasileira**. v. 33, n. 2, p. 348-356, 2014.

PURGATTO, E. **Efeito Do Ácido Indol-3-Acético No Metabolismo Amido-Sacarose Durante O Amdurecimento Da Banana (*Musa Spp.*)**. 2001. 118f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências farmacêuticas da universidade de são paulo. São paulo.

SÁ, C. R. L. et al. Efeito do KMnO₄ e 1-MCP com atmosfera modificada na conservação pós-colheita de melão Cantaloupe. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 39, n. 01, p. 60-69, Jan.- Mar., 2008. Versão pdf disponível em: <http://www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/arquivos/artigo_3300.pdf>. Acesso: 23 out 2017.

SALUNKHE, D. K.; JADHAV, S. J.; YU, M. H. Quality and Nutritional Composition of Tomato Fruit as Influenced by Certain Biochemical and Physiological Changes. **Plant Foods for Human Nutrition**. v. 24, p. 85 – 113, 1974.

SILVA, J. B. C. Et al. **Cultivo de Tomate para Industrialização**. Embrapa Hortaliças. 2006. Versão eletrônica disponível em: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial_2ed/autores.htm>. Acesso em: 24 out. 2017.

SOL GENOMICS NETWORK. **Tomato locus macrocalyx**. Disponível em: <<https://solgenomics.net/locus/903/view>>. Acesso em: 24 set. 2017.

TAIZ, L. Et al. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918p.

TGRC – TOMATO GENETICS RESOURCE CENTER. **Gene Details: mc**. Disponível em: <<http://tgrc.ucdavis.edu/Data/Acc/GenDetail.aspx?Gene=mc>>. Acesso em: 24 set. 2017.

TIGCHELAAR, E. C.; McGLASSON, W. B.; BUESCHER, R. W. Genetic regulation of tomato fruit ripening. **HortScience**, v.13, p.508-513, 1978.

VAZ, A. P. A.; SANTOS, H. P.; ZAIDAN, L. B. P. Floração. In: KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p 340 - 357.

VIEITES, R. L.; DAIUTO, E. R.; FUMES, J. G. F. Capacidade Antioxidante E Qualidade Pós-Colheita De Abacate ‘Fuerte’. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 34, n. 2, p. 336-348, Junho 2012.

VREBALOV, J. et al. A MADS-Box Gene Necessary for Fruit Ripening at the Tomato Ripening-Inhibitor (Rin) Locus, **Sciencemag**, v.296, 2002.

WANG, F. et al., Sucrose Synthase, Starch Accumulation, and Tomato Fruit Sink Strength. **Plant Physiology**. n. 101, p. 321-327, 1993.

YONEMORI, K.; HIRANO, K.; SUGIURA, A. Growth Inhibition of Persimmon Fruit Caused by Calyx Lobe Removal and Possible Involvement of Endogenous Hormones. **Elsevier Science B. V.** v. 61, p. 37-45, 1995.