Fisiologia do amadurecimento na planta do tomate 'Santa Clara' e do mutante 'Firme'

Márcia Lima Moura¹; Fernando Luiz Finger²; Gisele P. Mizobutsi³; Hilton L. Galvão²

¹ UFV, Depto. Biologia Vegetal; ² UFV, Depto. Fitotecnia, 36571-000 Viçosa-MG; E-mail: ffinger@ufv.br; ³UNIMONTES, Montes Claros-MG

RESUMO

O mutante natural de tomate 'Firme' da cv. Santa Clara tem frutos com coloração "amarelo-creme" quando imaturos, firmes e com amadurecimento lento. Estudou-se as alterações fisiológicas que ocorrem durante o processo de amadurecimento na planta de frutos de tomate da cv. Santa Clara e do mutante 'Firme'. Os frutos normais e mutantes foram colhidos em 6 diferentes estádios de maturidade, e em cada um deles foram avaliados a produção de etileno e CO₂, os teores de açúcares solúveis totais do pericarpo e do tecido locular, e as atividades das enzimas oxidase do ACC e poligalacturonase. Os frutos mutantes apresentaram menores taxas respiratórias e de produção de etileno em todos os estádios de maturidade. A atividade da oxidase do ACC apresentou padrão de comportamento distinto durante o amadurecimento na planta dos frutos mutantes e normais, porém com semelhante atividade final. Os frutos mutantes apresentaram atraso no aumento da atividade da enzima poligalacturonase em relação aos frutos normais nas fases iniciais do amadurecimento. Frutos normais acumularam açúcares solúveis totais durante seu amadurecimento na planta, enquanto que nos frutos mutantes os teores foram inferiores nos estádios mais avançados do amadurecimento quando comparados com aqueles no início do climatério. O pericarpo dos frutos mutantes nos estádios mais avançados do amadurecimento teve teores de açúcares total inferiores.

Palavras-chave: *Lycopersicon esculentum*, etileno, respiração, açúcares solúveis, oxidase do ACC, poligalacturonase.

ABSTRACT

Physiology of vine-ripened tomato 'Santa Clara' and its mutant 'Firme'

The natural tomato mutant 'Firme' from cv. Santa Clara presents a yellow-pale appearance when immature, firm texture and slow ripening. Some of the physiological changes throughout ripening of cv. Santa Clara and the natural mutant 'Firme' were evaluated on the vine. Fruit ethylene and CO₂ production, locular and outer pericarp total soluble sugars content, ACC oxidase and poligalacturonase activities were evaluated in both genotypes at six maturity stages. Mutant fruits presented lower ethylene and CO₂ production at all maturity stages. ACC oxidase activity showed a distinct pattern during ripening of the wild type and mutant fruits, nevertheless, the mutant and wild type presented similar final activity. Mutant fruits showed delay in the increment of poligalacturonase activity compared to wild type fruits at the onset of ripening. While the wild type fruits showed continuous rise in total soluble sugars through ripening, the mutant fruits showed trends of decrease. Mutant fruits had lower content of total soluble sugars in the outer pericarp at later stages of ripening.

Keywords: *Lycopersicon esculentum*, ethylene, respiration, soluble sugars, ACC oxidase, poligalacturonase.

(Recebido para publicação em 1 de julho de 2003 e aceito em 10 de novembro de 2004)

O tomate é uma das olerícolas com maiores índices de perdas pós-colheita, em especial aquelas decorrentes do manuseio inadequado durante a colheita e transporte. Em anos mais recentes, a manipulação da variabilidade genética por meio de mutações, recombinações genéticas e transformações via técnica de DNA recombinante, tem sido importante ferramenta para obtenção de frutos mais resistentes ao manuseio pós-colheita. As mutações espontâneas apresentam-se como uma das fontes mais importantes para introdução de variabilidade genética em programas de melhoramento que visam obter cultivares com frutos mais firmes quando maduros. Diversos mutantes têm sido identificados na espécie *L. esculentum* que apresentam aspectos

alterados de amadurecimento. Os mutantes pleiotrópicos *Never ripe* (*Nr*), *non-ripening* (*nor*), *ripening inhibitor* (*rin*) e *alcobaça* (*alc*) têm frutos com reduzido amaciamento, menor produção e resposta ao etileno, e alterações de cor menos intensas durante o amadurecimento (Hobson e Grierson, 1993).

Na região produtora de hortaliças de Viçosa (MG) identificaram-se algumas plantas de tomate da cultivar Santa Clara com frutos de coloração "amarelo-creme" quando imaturos, maturação lenta quando ligados à planta mãe e frutos mais firmes quando maduros (Moura, 1999; Moura *et al.*, 2002). Schuelter *et al.* (2002) demonstraram que apenas um gene recessivo controla esta mutação de caráter pleiotrópico, afetando a firmeza e o desenvolvimento da cor do fruto,

senescência das folhas e cor do estigma das flores. Testes de alelismo e mapeamento com marcadores morfológicos e moleculares de RAPD indicaram que o gene que controla o fenótipo mutante localiza-se no braço longo do cromossomo 10, na região do gene *lutescent-2* (Schuelter, 1999). Análises desta mutação revelaram sua importância em programas de melhoramento interpopulacionais visando a obtenção de genótipos com maior potencial de conservação pós-colheita (Schuelter *et al.*, 2001). Deste modo, avaliação das modificações fisiológicas decorrentes do amadurecimento do fruto na planta da cv. Santa Clara e do mutante natural 'Firme' podem fornecer informações relevantes para o melhoramento da espécie.

O amadurecimento do tomate pode ser caracterizado pelas alterações da cor, na estrutura da parede celular, no metabolismo de carboidratos e pela síntese de compostos voláteis nos frutos. Um dos primeiros sinais do amadurecimento é o aumento na taxa de produção de etileno associado à elevação da respiração climatérica. O etileno é considerado o hormônio que induz e coordena as alterações fisiológicas do amadurecimento do tomate. A biossíntese do etileno em plantas é regulada pela atividade de duas enzimas específicas, a sintase do ACC (ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico) e a oxidase do ACC (Klee *et al.*, 1991). Alguns estudos mostraram que a oxidase do ACC é uma enzima constitutiva, sendo assim, a sintase do ACC poderia ser considerada como passo limitante na biossíntese de etileno. No entanto, Smith *et al.* (1986) observaram aumento dos níveis de mRNA da oxidase do ACC no início do amadurecimento dos frutos de tomate e um rápido acúmulo de mRNA da oxidase do ACC em tecidos injuriados, demonstrando a importância desta enzima na regulação da síntese de etileno durante o amadurecimento de tomates. Além disso, estudos realizados recentemente com tomates transgênicos, contendo o gene antisense para a enzima sintase do ACC, sugerem que o acúmulo de mRNA de poligalacturonase, principal enzima responsável pelo processo de perda de firmeza de frutos, é regulada pela presença de etileno (Sitrit e Bennett, 1998).

A perda de firmeza é um processo que acompanha o amadurecimento de muitos frutos, e é resultado de mudanças estruturais que ocorrem na parede celular. A parede celular é formada por 90 a 95% de carboidratos, entre eles a celulose, a hemicelulose e a pectina, e com 5 a 10% de proteínas. As alterações da estrutura da pectina no amadurecimento do tomate decorrem da ação das enzimas pectolíticas poligalacturonase e da pectinametilesterase, a qual determina a extensão com que a pectina estará disponível à degradação pela poligalacturonase (Labavitch, 1981; Huber, 1983). Além disso, a ação da poligalacturonase na quebra das pectinas da parede celular é influenciada pelo pH

e pelas condições iônicas do meio no local de atuação da enzima (Chun e Huber, 1998).

A presença de concentrações adequadas de açúcares solúveis e ácidos orgânicos determina o desenvolvimento do sabor do fruto e afeta diretamente a qualidade do produto. As cultivares comerciais de tomate têm entre 1,5 e 4,5% de açúcares na matéria fresca, isto é, cerca de 65% dos sólidos solúveis totais (Hobson e Davies, 1971). Os açúcares solúveis presentes em frutos maduros são principalmente os redutores e estes aumentam progressivamente durante o desenvolvimento e amadurecimento do fruto (Winsor *et al.*, 1962).

Estudou-se neste trabalho as alterações fisiológicas em tomate, durante o processo de amadurecimento, na cv. Santa Clara e seu mutante natural 'Firme', visando obter maiores informações sobre como essa mutação poderá ser utilizada como fonte de genes em futuros trabalhos de melhoramento da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Tomates da cv. Santa Clara e seu mutante natural 'Firme' foram colhidos pela manhã na estação experimental da University of Florida (UF), em Quincy, Florida, EUA, transportados para o laboratório de fisiologia pós-colheita, lavados em água corrente e mergulhados em água clorada (1.000 ml L^{-1} de hipoclorito de sódio) por 1 minuto, para desinfecção. Os frutos foram selecionados quanto a uniformidade de tamanho, ausência de defeitos e estágio de maturidade. Para a seleção dos seis estádios de maturidade avaliados, os frutos foram separados visualmente de acordo com a escala de cor sugerida pelo USDA (1976) como se segue: estágio 1 = frutos com máximo de crescimento e ainda sem indício de cor vermelha na epiderme; estágio 2 = menos de 10% da superfície com cor vermelha; estágio 3 = 11 a 40% de cor vermelha; estágio 4 = 41 a 80% de cor vermelha; estágio 5 = mais de 80% de cor vermelha, mas ainda não totalmente vermelhos; estágio 6 = 100% de cor vermelha.

Foram selecionados quatro frutos individuais em cada estágio de maturidade para a determinação da produção

de etileno e da taxa respiratória. O experimento foi repetido três vezes. A produção de etileno e a taxa respiratória foram medidas à temperatura de 20°C , retirando-se amostras de 0,5 ml e 1 ml, respectivamente, do espaço livre de frascos, em sistema estático, com volume igual a 0,465 L após duas horas da colheita. Para a determinação da produção de etileno, as amostras de gás foram analisadas por cromatografia gasosa utilizando-se um cromatógrafo equipado com detector de ionização de chama (modelo 5890, série II, Hewlett Packard, Avondale, PA, EUA) com coluna alumina de 60/80 mesh. Para a determinação da taxa respiratória, mediu-se o CO_2 produzido durante o amadurecimento através da cromatografia gasosa utilizando-se um cromatógrafo equipado com detector de condutividade térmica (série 580, Gow Mac, Leigh Valey, PA, EUA) e coluna Poropak Q de 80/100 mesh.

Os teores de açúcares solúveis totais e atividade das enzimas oxidase do ACC e poligalacturonase foram avaliadas em frutos da cv. Santa Clara e do mutante natural 'Firme' em tomates colhidos no período da manhã na horta da UFV e transportados para o laboratório de pós-colheita onde foram lavados em água corrente e mergulhados em água clorada (1.000 ml L^{-1} de hipoclorito de sódio) por 1 minuto para desinfecção da superfície. Os frutos foram então selecionados quanto a uniformidade de tamanho, ausência de defeitos e ao estágio de maturidade com quatro repetições contendo cinco frutos cada. Em cada estágio de maturidade foram determinados os teores de açúcares solúveis totais em amostras do pericarpo e do tecido locular, e as atividades das enzimas oxidase do ACC e poligalacturonase em amostras do pericarpo dos frutos. A determinação dos açúcares solúveis totais foi realizada após extração exaustiva com etanol 80% a quente de 5 g de material vegetal, utilizando método quantitativo descrito por Dubois *et al.* (1956), pela adição de fenol a 5% e ácido sulfúrico concentrado e leitura em espectrofotômetro a 490 nm.

A atividade da oxidase do ACC foi realizada seguindo metodologia descrita por Fernandez-Macule e Yang (1992)

e modificada por Barry *et al.* (1996) pela homogeneização de 0,25 g de material vegetal com nitrogênio líquido em almofariz e em seguida adicionada a 1 ml de tampão de extração (100 mM Tris-HCl pH 7,5, 10% (v/v) de glicerol, 5% (p/v) de PVP insolúvel, 30 mM ascorbato de sódio, 0,1 mM FeSO_4 , 5 mM DTT) a 4°C. O macerado foi centrifugado a 12.000 $\times g$ por 10 minutos a 4°C. O sobrenadante foi utilizado imediatamente para a determinação da atividade. A atividade da enzima foi determinada pela incubação do extrato enzimático com solução tampão contendo ACC (100 mM Tris-HCl a pH 7,5, 10% (v/v) de glicerol, 30 mM ascorbato de sódio, 0,1 mM FeSO_4 , 30 mM NaHCO_3 , 1 mM ACC) por 20 minutos a 30°C em frasco hermeticamente fechado de 7,5 ml. A produção de etileno na reação foi determinada através de cromatografia gasosa utilizando-se um cromatógrafo a gás, modelo Shimadzu GC-14B, equipado com uma coluna empacotada Poropak-Q 80/100 mesh e detector de ionização de chama.

A determinação da atividade da poligalacturonase seguiu a metodologia descrita por Huber e O'Donoghue (1993) homogeneizando-se 5 g de material vegetal com 25 ml de etanol 95%, a 4°C. O macerado foi centrifugado a 17.000 $\times g$ por 20 minutos a 4°C. O sobrenadante foi descartado e o precipitado solubilizado com etanol 80% e novamente centrifugado. O sobrenadante foi novamente descartado e o precipitado resuspenso em 10 ml de tampão de extração (50 mM Tris-HCl pH 7,0 e 1,2 M NaCl) em gelo por 30 minutos. O extrato foi centrifugado, filtrado em quatro camadas de gaze e o sobrenadante guardado em gelo. A atividade da enzima foi determinada pela incubação do extrato com solução de ácido poligalacturônico em tampão 100 mM NaOAc a pH 4,5, por 60 minutos, a 30°C. A reação foi paralisada pela adição do reagente nº 1 de Nelson e fervura dos tubos de ensaio por 20 minutos. A produção de ácido galacturônico na reação foi determinada pelo método de Somogy-Nelson (Hodge e Hofreiter, 1962).

A proteína total dos extratos foi determinada pelo método de Bradford (1976) utilizando BSA como padrão.

Tabela 1. Taxa respiratória ($\text{mg CO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ kg}^{-1}$) e de produção de etileno ($\mu\text{LC}_2\text{H}_4 \text{ h}^{-1} \text{ kg}^{-1}$) em frutos da cv. Santa Clara (SC) e do seu mutante natural 'Firme' (MT) nos estádios de maturidade 1 a 6 a 20°C, Gainesville, 2000.

Estádio de maturidade	Taxa respiratória ($\text{mg CO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ kg}^{-1}$)		Produção de etileno ($\mu\text{LC}_2\text{H}_4 \text{ h}^{-1} \text{ kg}^{-1}$)	
	SC	MT	SC	MT
1	53,19 aA	29,14 cB	5,07 eA	0,95 eB
2	41,79 cA	31,44 abB	8,66 dA	3,73 dB
3	45,33 bA	31,03 bB	13,71 cA	8,16 cB
4	34,41 eA	33,12 aB	13,45 cA	10,66 bB
5	39,24 dA	32,27 abB	16,36 aA	13,84 aB
6	27,40 fA	23,65 dB	15,21 bA	8,16 cB

Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, para cada variável, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

O delineamento experimental foi completamente ao acaso, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A taxa respiratória e de produção de etileno dos frutos da cv. Santa Clara foram significativamente maiores do que a dos frutos mutante 'Firme' em todos os estádios de maturidade estudados (Tabela 1). A produção máxima de CO_2 da cv. Santa Clara ocorreu no estágio 1 de maturidade, para os frutos mutantes, no entanto, não foi possível determinar com exatidão o ponto máximo do climatério respiratório nos estádios de maturidade avaliados. Estes resultados são similares aos de Moura (1999) que observou que os frutos mutantes, cultivados em Viçosa, tiveram máxima produção de CO_2 em uma fase de seu desenvolvimento anterior ao estágio 1 de maturidade, enquanto que em frutos Santa Clara a produção máxima coincide com o estágio 1 de maturidade.

O etileno tem importante papel na iniciação e no prosseguimento do amadurecimento dos frutos de tomate. Os dados obtidos neste experimento mostram que em frutos com mais de 80% de coloração vermelha (estádio 5 de maturidade), a produção de etileno dos frutos mutantes aumentou mais de 10 vezes quando comparada à produção do estágio 1, enquanto que em frutos normais o aumento foi de apenas três vezes (Tabela 1). No entanto, a produção máxima de etileno, tanto para os frutos

da cv. Santa Clara quanto para o mutante foi encontrada no estágio 5 de maturidade. Segundo Moura (1999), a produção de etileno durante o amadurecimento dos frutos mutantes ligados à planta mãe é menor do que aquela dos frutos Santa Clara, e a ascensão da produção de etileno ocorre antes de completar o crescimento máximo do fruto na cv. Santa Clara, enquanto que nos frutos mutantes o início da produção de etileno coincide com o máximo crescimento do fruto, isto é, com o estágio 1 de maturidade. No entanto, o autor observou que para ambos genótipos a produção máxima de etileno coincide com o final da fase de amadurecimento. Hobson e Grierson (1993) afirmam que não existe um valor crítico interno de etileno que deva ser atingido para que ocorra a indução do amadurecimento do tomate, no entanto, uma mudança interna nos níveis de etileno parece ser necessária para haver início do amadurecimento, provavelmente complementada por mudanças na sensibilidade do tecido ao etileno.

Segundo Terai e Mizuno (1985) a atividade da oxidase do ACC, enzima responsável pela oxidação do ACC em etileno, aumenta durante o amadurecimento de frutos de tomate. Nos estádios 1 e 2 não há diferença estatística entre os frutos da cv. Santa Clara e o mutante para a atividade da oxidase do ACC (Tabela 2). No entanto, a partir do estágio 3 foram encontradas diferenças significativas entre os frutos da cv. Santa Clara e o mutante. Os frutos da cv. Santa Clara durante seu amadurecimento na planta apresentam aumento na atividade da oxidase do ACC até o estágio 4,

Tabela 2. Valores médios da atividade da enzima oxidase do ACC e da atividade da enzima poligalacturonase para a cv. Santa Clara (SC) e o seu mutante natural 'Firme' (MT) nos estádios de maturidade 1 a 6, Viçosa, UFV, 2001.

Estádio de maturidade	Atividade da oxidase do ACC (nL C2H4 h ⁻¹ mg ⁻¹ de proteína)		Atividade da poligalacturonase (µg ácido galacturônico h ⁻¹ mg ⁻¹ de proteína)	
	SC	MT	SC	MT
1	69,36 dA	50,48 dA	0,40 cA	0,13 cA
2	98,30 cdA	106,14 cA	0,81 cA	0,12 cA
3	166,83 abA	117,98 bcB	3,20 bA	0,54 cA
4	189,18 aA	156,67 abB	6,10 bA	5,54 bA
5	130,42 bcB	178,16 aA	17,83 aA	17,33 aA
6	119,19 cB	190,25 aA	18,81 aA	22,00 aA

Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, para cada variável, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 3. Teores de açúcares solúveis totais no pericarpo e no tecido locular (mg de glicose g⁻¹ Matéria Fresca - MF) de frutos da cv. Santa Clara (SC) e seu mutante natural 'Firme' (MT) nos estádios de maturidade 1 a 6. Viçosa, UFV, 2001.

Estádio de maturidade	Açúcares solúveis totais no pericarpo (mg de glicose g ⁻¹ MF)		Açúcares solúveis totais no tecido locular (mg de glicose g ⁻¹ MF)	
	SC	MT	SC	MT
1	19,91 abcA	19,04 abcA	23,64 bA	20,93 aA
2	16,04 cB	22,27 abA	18,19 cA	18,06 aA
3	16,94 bcB	23,42 aA	24,68 bA	18,88 aB
4	21,80 abA	18,36 abcB	30,25 aA	18,53 aB
5	23,53 aA	16,27 cB	31,61 aA	18,40 aB
6	23,78 aA	17,55 bcB	23,87 bA	20,86 aA

Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, para cada variável, não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

seguido de queda na atividade, enquanto que os frutos mutantes apresentam aumento progressivo na atividade da oxidase do ACC durante o amadurecimento, com atividade máxima no estágio 6 de maturidade. No entanto, quanto à magnitude da atividade da oxidase do ACC não há diferença entre os frutos da cv. Santa Clara e o 'Firme', uma vez que ambos alcançaram valores máximos semelhantes para atividade desta enzima. A menor produção de etileno nos frutos mutantes não parece estar relacionada com a atividade da oxidase do ACC, ou seja, pela capacidade do tecido em transformar ACC em etileno. Portanto, a menor quantidade de etileno produzida pelo mutante se deve, possivelmente, à disponibilidade de ACC, determinada pela atividade da enzima sintase do ACC.

Segundo Sitrit e Bennett (1998), o etileno tem um importante papel na regulação da expressão da enzima

poligalacturonase. Moura *et al.* (2002) e Schuelter (1999) observaram que os frutos do mutante firme apresentavam maior firmeza do que os frutos da cv. Santa Clara. A menor produção de etileno pelos frutos mutantes poderia estar influenciando a expressão da enzima poligalacturonase que, conseqüentemente, estaria afetando a firmeza dos frutos mutantes. A atividade da poligalacturonase nos frutos mutantes e da cv. Santa Clara nos diversos estádios de maturidade estudados foram semelhantes (Tabela 2). Nos frutos normais a atividade da poligalacturonase dobrou do estágio 1 para o 2, mas é muito pequena, menor do que 1 µg de ácido galacturônico h⁻¹ mg⁻¹ de proteína, e aumentou cerca de quatro vezes quando comparada aos frutos no estágio 2 e 3, indicando assim que o estágio 3 é aquele de aumento de atividade mais intenso em frutos normais. Por outro lado, os frutos mutantes apre-

sentam atividade da poligalacturonase abaixo de 1 µg de ácido galacturônico por h⁻¹ mg⁻¹ de proteína até o estágio 3, sendo que no estágio 4 os frutos apresentam atividade 10 vezes maior do que a encontrada no estágio 3. Portanto, a maior firmeza de frutos mutantes pode estar relacionada com o atraso no aumento da atividade da poligalacturonase observado nos frutos do mutante 'Firme'. Porém, ao final do período de amadurecimento dos frutos não houve diferença significativa entre os genótipos para a atividade da poligalacturonase nos estádios 5 e 6 de maturidade (Tabela 2). O atraso no aumento da atividade da poligalacturonase pode ter comprometido a firmeza final dos frutos, independente da atividade da enzima no final do amadurecimento, e, portanto, com frutos mutantes mais firmes que os normais mesmo quando totalmente maduros. Segundo Lelièvre *et al.* (1997) a expressão da poligalacturonase durante o amadurecimento de tomate pode ser interpretada tanto como independente aos níveis de etileno, ou alternativamente, o acúmulo do mRNA da poligalacturonase seja hipersensível ao gás, sendo induzido em presença de baixas concentrações do hormônio.

A atividade da poligalacturonase é dependente da condição ambiente do apoplasto do pericarpo dos frutos. Segundo Almeida e Huber (1999), durante o amadurecimento do tomate o pH diminui e os níveis de alguns íons aumentam, principalmente o K⁺, no apoplasto, podendo interferir diretamente na atividade das enzimas responsáveis pela degradação da parede celular. Em frutos no estágio de maturidade 1 o apoplasto apresenta pH de 6,7 e 13 mM de K⁺, enquanto que frutos totalmente maduros apresentam pH de 4,4 e 37 mM de K⁺. A máxima atividade da poligalacturonase observada experimentalmente pode ser medida em condições de pH de 4,5 e 100 mM de K⁺ (Chun e Huber, 1998). Segundo Moura *et al.* (2002), os frutos mutantes apresentam menor extravasamento de eletrólitos durante o amadurecimento quando comparados com frutos normais. Portanto, mesmo que as condições de pH sejam semelhantes para o aumento da atividade da poligalacturonase nos frutos mutantes no estágio 3 de maturidade, as

condições iônicas no apoplasto ou o nível de K^+ pode atuar como fator limitante, provocando atraso na elevação da atividade da poligalacturonase no pericarpo dos frutos mutantes.

A qualidade do tomate está diretamente relacionada ao teor de açúcares e de ácidos orgânicos. O teor de açúcares solúveis totais no pericarpo do fruto da cv. Santa Clara aumentou com o estágio de maturidade, enquanto que nos frutos mutantes houve redução (Tabela 3). O teor de açúcares totais no tecido locular foi máximo nos estádios 4 e 5 de maturidade para os frutos normais, enquanto nos frutos mutantes não houve diferença significativa entre os diferentes estádios de maturidade. Os teores de açúcares totais no pericarpo e tecido locular foram similares no estágio 1, porém foram inferiores no pericarpo do mutante no estágio 6 de maturidade (Tabela 3). Os frutos mutantes, no entanto, têm maior acidez titulável quando comparados com normais da cv. Santa Clara (Moura, 1999). Estas diferenças de comportamento entre os dois frutos podem estar associadas à utilização preferencial dos açúcares ou dos ácidos orgânicos durante a intensificação da respiração no amadurecimento dos frutos.

Em frutos de pêra cultivar Bartlett, a temperatura ambiente durante o crescimento dos frutos pode determinar a capacidade de amadurecimento de frutos, associado à capacidade dos frutos em produzir etileno (Agar *et al.*, 1999). Os tomates da cultivar Santa Clara, independente das plantas terem sido crescidas em Gainesville (FL) ou em Viçosa (MG), completaram o amadurecimento de forma semelhante. Tal fato indica que a mutação não apresenta efeitos hepigênicos associados às mudanças nas condições do ambiente.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro do CNPq e FAPEMIG.

LITERATURA CITADA

- AGAR, T.; BIASI, W.V.; MITCHAM, E.J. Exogenous ethylene accelerates ripening responses in Bartlett pears regardless of maturity or growing region. *Postharvest Biology and Technology*, v.17, p.67-78, 1999.
- ALMEIDA, D.P.F.; HUBER, D.J. Apoplastic pH and inorganic ion levels in tomato fruit: A potential means for regulation of cell wall metabolism during ripening. *Physiologia Plantarum*, v.105, p.506-512, 1999.
- BARRY, C.S.; BLUME, B.; BOUZAYEN, M.; COOPER, W.; HAMILTON, A.J.; GRIERSON, D. Differential expression of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase gene family of tomato. *The Plant Journal*, v.9, n.4, p.525-535, 1996.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, v.72, p.248-254, 1976.
- CHUN, J.-P.; HUBER, D.J. Polygalacturonase-mediated solubilization and depolymerization of pectic polymers in tomato fruit cell walls. Regulation by pH and ionic conditions. *Plant Physiology*, v.117, p.1293-1299, 1998.
- DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Biochemistry*, v.28, p.350-356, 1956.
- FERNANDEZ-MACULET, J.C.; YANG, S.F. Extraction and partial characterization of the ethylene-forming enzyme from apple fruit. *Plant Physiology*, v.99, p.751-754, 1992.
- HOBSON, G.E.; DAVIES, J.N. The tomato. In: HULME, A.C. (Ed.) *The Biochemistry of fruits and their products*. London: Academic Press, v.2, p.437-475, 1971.
- HOBSON, G.E.; GRIERSON, D. Tomato. In: SEYMOUR, G.B.; TAYLOR, J.E.; TUCKER, G.A. (Ed.) *Biochemistry of fruit ripening*. 1ª ed. London: Chapman & Hall, p.405-442, 1993.
- HODGE, J.E.; HOFREITER, B.R. Determinations of reducing sugars and carbohydrates. In: WILSTER, R.L.; WOLFROM, M.L. (Eds.), *Methods in carbohydrate chemistry*, v.1. Academic Press: New York, p.380-394, 1962.
- HUBER, D.J. The role of cell wall hydrolases in fruit softening. *Horticultural Review*, v.5, p.169-219, 1983.
- HUBER, D.J.; O'DONOGHUE, E.M. Polyuronides in avocado (*Persea americana* L.) and tomato fruits exhibit markedly different patterns of molecular weight downshifts during ripening. *Plant Physiology*, v.102, p.473-488, 1993.
- KLEE, H.J.; HAYFORD, M.B.; KRETZMER, K.A.; BARRY, G.J.; KISHORE, G.M. Control of ethylene synthesis by expression of a bacterial enzyme in transgenic tomato plants. *The Plant Cell*, v.3, p.1187-1193, 1991.
- LABAVITCH, J.M. Cell wall turnover in plant development. *Annual Review of Plant Physiology*, v.32, p.385-406, 1981.
- LELIÈVRE, J.M.; LATCHÉ, A.; JONES, B.; BOUZAYEN, M.; PECH, J.C. Ethylene and fruit ripening. *Physiologia Plantarum*, v.101, p.727-739, 1997.
- MOURA, M.A. *Crescimento e pós-colheita de frutos do tomateiro cv. Santa Clara e do seu mutante firme*. Viçosa: UFV, 1999. 86 p. (Tese de doutorado).
- MOURA, M.L.; MOURA, M.A.; PINTO, C.M.F.; FINGER, L.F. Amadurecimento de frutos de tomateiro cv. Santa Clara e de seu mutante natural "Firme". *Revista Brasileira de Armazenamento*, v.27, n.2, p.3-8, 2002.
- SCHUELTER, A.R. *Análise genética e da pós-colheita de um mutante de tomate (Lycopersicon esculentum Mill.)*. 1999. 135 f. (Tese doutorado) - UFV, Viçosa.
- SCHUELTER, A.R.; CASALI, V.W.D.; CRUZ, C.D.; FINGER, F.L.; AMARAL JÚNIOR, A.T.; SHIMOYA, A. Biometrical analysis of a mutant that increases shelf-life of tomato fruits. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v.1, n.1, p.44-53, 2001.
- SCHUELTER, A.R.; FINGER, F.L.; CASALI, V.W.D.; BROMMONSCHENKEL, S.H.; OTONI, W.C. Inheritance and genetic linkage analysis of a firm-ripening tomato mutant. *Plant Breeding*, v.121, p.338-342, 2002.
- SITRIT, Y.; BENNETT, A.B. Regulation of tomato fruit polygalacturonase mRNA accumulation by ethylene: A re-examination. *Plant Physiology*, v.116, p.1145-1150, 1998.
- SMITH, C.J.S.; SLATER, A.; GRIERSON, D. Rapid appearance of an mRNA correlated with ethylene synthesis encoding a protein of molecular weight 35,000. *Planta*, v.168, p.94-100, 1986.
- TERAI, H.; MIZUNO, S. Changes of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) and ethylene forming enzyme activity in growing and ripening of tomato and cucumber. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, v.53, p.467-473, 1985.
- UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). *United States standards for grades of fresh tomatoes*. Washington DC, United States Department of Agriculture, 1976. 11 p.,
- WINSOR, G.W.; DAVIES, J.N.; MASSEY, D.M. Composition of tomato fruit. III. Juices from whole fruit and locules at different stages of ripeness. *Journal of Science, Food and Agriculture*, v.13, p.108-115, 1962.