

COMUNICAÇÃO

TESTE DE ALELISMO ENTRE OS MUTANTES DE AMADURECIMENTO ALCOBAÇA E NON-RIPENING EM TOMATEIRO

Allelism test between the alcobaça and non-ripening mutants in tomato plants

Flavio Rodrigo Gandolfi Benites¹, Wilson Roberto Maluf², Luciano Vilela Paiva³,
Marcos Ventura Faria⁴, Valter Carvalho Andrade Junior⁵, Luciano Donizete Gonçalves⁶

RESUMO

Desde o início da década de 1980, são relatadas na literatura divergências quanto às relações de alelismo ou não entre os mutantes de amadurecimento de frutos de tomateiro denominados *alc* (= alcobaça) e *nor* (=non-ripening). Para dirimir tais dúvidas, foi realizado um teste de alelismo entre os genes considerados. Foram avaliadas 364 plantas F₂ provenientes do cruzamento entre as linhagens de tomateiro TOM-559 (*alc/alc*) e TOM-613 (*nor/nor*), além de vinte plantas de cada uma das linhagens TOM-559 (*alc/alc*), TOM-613 (*nor/nor*), de cada um dos híbridos F₁ [(TOM-559 x TOM-613), *alc⁺/alc nor⁺/nor⁺*], F₁ [(Floradade x TOM-559), *alc⁺/alc nor⁺/nor⁺*] e F₁ [(Floradade x TOM-613), *alc⁺/alc⁺ nor⁺/nor⁺*], bem como da linhagem de genótipo normal Floradade (*alc⁺/alc⁺ nor⁺/nor⁺ rin⁺/rin⁺*). TOM-559 e TOM-613 são linhagens isogênicas à cv. Floradade, da qual diferem apenas quanto à presença dos genes *alc* e *nor*, respectivamente. Frutos de Floradade colhidos no estágio breaker apresentam coloração vermelha normal quando maduros (fenótipo normal), enquanto frutos de TOM-559 ou de TOM-613 permanecem amarelados ou amarelo-alaranjados (fenótipo mutante). De cada planta, foram colhidos quatro frutos no estágio breaker de maturação, que foram avaliadas quanto ao fenótipo (normal ou mutante) quando maduros. Os resultados dos testes de alelismo indicam que a hipótese mais provável é a de que *alc* e *nor* sejam alélicos. Dessa maneira, *alc* é considerado um terceiro alelo no loco *nor*, e sugere-se a substituição de seu símbolo para *nor^A*.

Termos para indexação: *Solanum lycopersicon*, melhoramento de plantas, tomate longa vida.

ABSTRACT

Since the early 1980's there are conflicting reports on the possible allelic relations between the tomato ripening mutants *alc* (=alcobaça) and *nor* (=non-ripening). In order to end these controversies, a test of allelism between the genes *alc* and *nor* was performed. A total of 364 plants of the F₂ population between the tomato lines TOM-559 (*alc/alc*) and TOM-613 (*nor/nor*) were screened, along with 20 plants each of lines TOM-559 (*alc/alc*) and TOM-613 (*nor/nor*), of hybrids F₁ [(TOM-559 x TOM-613), *alc⁺/alc nor⁺/nor⁺*], F₁ [(Floradade x TOM-559), *alc⁺/alc nor⁺/nor⁺*] and F₁ [(Floradade x TOM-613), *alc⁺/alc⁺ nor⁺/nor⁺*], and of the normal phenotype line Floradade (*alc⁺/alc⁺ nor⁺/nor⁺*). TOM-559 and TOM-613 are near-isogenic lines to Floradade, and differ from the latter only due to the presence of genes *alc* and *nor*, respectively. Floradade fruit harvested at the breaker stage show normal red color (normal phenotype) when fully ripe, whereas fruit of either TOM-559 or TOM-613 remain yellow or yellowish-orange (mutant phenotype). Four fruits per plant were harvested at the breaker stage and subsequently evaluated for their mature fruit color phenotype (normal or mutant). The results of the test of allelism indicate that the most likely hypothesis is that *alc* and *nor* are allelic to each other. Therefore, *alc* was considered to be a third allele at the *nor* locus, and the symbol *nor^A* was substituted for *alc*.

Index terms: *Solanum lycopersicon*, plant breeding, tomato shelf life.

(Recebido em 23 de agosto de 2006 e aprovado em 26 de setembro de 2008)

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, dentre os quais destacam-se os alelos *rin* (*ripening inhibitor*), *nor* (*non ripening*), *alc* (*alcobaça*). Vários trabalhos foram

realizados, utilizando esses alelos em heterozigose ou duplas combinações heterozigotas, com a finalidade de se aumentar o tempo de conservação dos frutos em pós-colheita (Mutschler et al., 1992; Freitas et al., 1998; Andrade Junior et al., 2005; Santos Junior et al., 2005; Faria et al., 2006).

¹Universidade Federal de Campina Grande/UFCG – Pombal, PB

²Universidade Federal de Lavras/UFLA – Departamento de Agricultura/DAG – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – wrmaluf@ufla.br

³Universidade Federal de Lavras/UFLA – Departamento de Química/DQI – Lavras, MG

⁴Universidade Estadual do Centro-Oeste/UNICENTRO – Departamento de Agronomia – Guarapuava, PR

⁵Universidade Federal do Vale do Jequitinhonha e Mucuri/UFVJM – Departamento de Agronomia – Diamantina, MG

⁶Universidade Federal de Lavras/UFLA – Departamento de Agricultura/DAG – Lavras, MG

Desde o início da década de 1980, persiste na literatura uma divergência de resultados entre Lobo et al. (1984), por um lado, e Mutschler (1984), por outro, quanto à relação de alelismo entre *alc* e *nor*. Lobo et al. (1984) realizaram o teste de alelismo entre *alc* e *nor*, classificando as plantas quanto à coloração dos frutos, como normais (fruto vermelha) ou mutantes (coloração alaranjada ou amarelada). Os frutos da geração F_1 tinham fenótipo similar ao *alcobaça*. Na população F_2 não foram encontradas plantas de fenótipo normal, o que foi considerado indicativo de que os genes em estudo são alélicos. Já, Mutschler (1984) realizou o teste de alelismo entre *alc* e *nor* por meio de avaliação dos frutos quanto ao tempo de armazenamento, e seus resultados contrastam com o obtido por Lobo et al. (1984). A vida de prateleira dos frutos F_1 foi, em média, menor que a dos genitores *alc* e *nor*. Segundo Mutschler (1984), essa redução no período de armazenamento entre os genitores e a geração F_1 seria improvável se os dois mutantes fossem alélicos. Nas populações F_2 foram encontradas plantas com fenótipo normal, o que confirmaria que *alc* e *nor* são não-alélicos. A autora concluiu ainda que *alc* e *nor* estão ligados, a 17 cM de distância.

Quanto à coloração final dos frutos, Mutschler (1984) relata que na geração F_1 (*alc* x *nor*) estes adquirem uma coloração quase normal (vermelha) 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_1 (*alc* x *nor*) como tendo fenótipo normal quanto à coloração, em contraste com os homocigotos *alc/alc* ou *nor/nor* cujo fenótipo é mutante [hipótese ortodoxa de não-alelismo de Mutschler (1984)]. Contudo, uma análise literal da descrição pouco precisa da coloração dos frutos F_1 (*alc* x *nor*) feita pela autora, permite que se considere seu fenótipo como mutante, tendo em vista a variação na expressão fenotípica dos homocigotos *nor/nor* observada por Tigchelaar & Barman (1985). Assim, qualquer teste da hipótese de não-alelismo entre *alc* e *nor* proposta por Mutschler (1984) deve também levar em consideração a hipótese alternativa, de que F_1 (*alc* x *nor*) tenha fenótipo mutante (hipótese de não-alelismo alternativa), à luz do observado por Tigchelaar & Barman (1985).

Conduziu-se este estudo, com o objetivo de determinar a relação de alelismo entre *alc* e *nor*, por meio dos testes da hipótese de alelismo proposta por Lobo et al. (1984), bem como das hipóteses implícitas no trabalho de Mutschler (1984). Foram adotadas no presente trabalho para os genes *alcobaça* e *non-ripening* as notações *alc* e *nor*, respectivamente, na pressuposição inicial de se

tratarem de alelos em locos distintos. Uma vez demonstrada a sua relação de alelismo essa notação deverá ser revista, adotando-se, então, a notação nor^A para *alcobaça*, conforme a proposta de Lobo et al. (1984).

O experimento para elucidar a relação de alelismo entre os mutantes *alc* e *nor* foi conduzido em estufa plástica na Universidade Federal de Lavras, no ano de 2002. O teste de alelismo foi realizado utilizando-se a população segregante do cruzamento TOM-559 (*alc/alc*) x TOM-613 (*nor/nor*). 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 estádio *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_1 [(TOM-559 x TOM-613) = *alc^+/alc nor^+/nor*], F_1 [(Flora-Dade x TOM-559) = *alc^+/alc nor^+/nor^+*] e F_1 [(Flora-Dade x TOM-613) = *alc^+/alc^+ nor^+/nor*], bem como da linhagem de genótipo normal Flora-Dade (*alc^+/alc^+ nor^+/nor^+*).

Com base na coloração final de quatro frutos por planta, cada planta foi classificada fenotipicamente como normal (fenótipo semelhante à cultivar Floradade, ou seja, frutos vermelhos quando maduros) ou mutante (fenótipo semelhantes ao das linhagens TOM-559 ou TOM-613, frutos amarelados ou amarelo-alaranjados quando maduros). Foram analisadas três diferentes hipóteses quanto às relações de alelismo entre os mutantes *alc* e *nor*:

1) Hipótese de alelismo entre *alc* e *nor* admitida por Lobo et al. (1984) e Tigchelaar & Barman (1985). Admite-se que *alc* seja alélico a *nor*, semelhante ou idêntico a este.

2) Hipótese ortodoxa de não-alelismo entre *alc* e *nor*, defendida por Mutschler (1984). Esta hipótese admite que *alc* e *nor* são genes localizados em locos distintos, no mesmo cromossomo, a uma distância genética de $c = 0,17$ (17 Centimorgans). A autora admite também que o fenótipo da F_1 (*alc* x *nor*) quanto à coloração dos frutos é considerado normal. Nesse caso, a probabilidade de se obterem plantas de fenótipo normal em F_2 seria, pois, $[c^2/4 + 0,5]$. A probabilidade de uma população F_2 de N indivíduos, não se detectar nenhuma planta de fenótipo normal seria $p = [1 - (c^2/4 + 0,5)]^N = [0,5 - c^2/4]^N$.

3) Hipótese alternativa de não-alelismo entre *alc* e *nor*, derivada de uma interpretação alternativa dos dados de Mutschler (1984). Essa 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), mas interpreta o fenótipo F_1 (*alc x nor*) descrito pela autora (que não é suficientemente explícita quanto a ele) à luz do descrito por Tigchelaar & Barman (1985). Essa hipótese admite que o fenótipo do F_1 (*alc x nor*) quanto à coloração dos frutos é considerado mutante. Nesse caso, a probabilidade de se obterem plantas de fenótipo normal em F_2 seria pois, $[c(1-c) + c^2/4]^N$. A probabilidade de não se detectar nenhuma planta de fenótipo normal em uma população de N indivíduos seria então: $p = [c(1-c) + c^2/4]^N$.

Foram realizados testes de Qui-quadrado para verificar a aderência às três hipóteses formuladas quanto às possíveis relações de alelismo entre *alc* e *nor*, utilizando o programa SAS.

Na Tabela 1, indicam-se as frequências esperadas dos fenótipos normais e mutantes sob a hipótese de alelismo entre *alc* e *nor*, conforme sugerido por Lobo et al. (1984) e Tigchelaar & Barman (1985) (hipótese 1). Já, as Tabelas 2 e 3 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 (1984) (hipóteses 2 e 3). Na Tabela 2, admite-se a afirmação ortodoxa dessa autora de que os frutos F_1 (*alc x nor*) têm coloração (fenótipo) normal. Na Tabela 3, admite-se alternativamente a interpretação sugerida por Tigchelaar & Barman (1985) da descrição fenotípica dos frutos F_1 (*alc x nor*) feita por Mutschler (1984), segundo a qual o fenótipo dos frutos F_1 (*alc x nor*) pode ser considerada mutante.

As hipóteses de não-alelismo entre *alc* e *nor*, tanto em sua versão ortodoxa Mutschler (1984) 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 2 e 3), 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 χ^2 foram altamente significativos. A probabilidade de as hipóteses em questão serem verdadeiras, tendo-se obtidos esses resultados em F_2 , é de respectivamente $1,33 \times 10^{-122}$ e $4,17 \times 10^{-26}$, 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 (1984): 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 et al. (1984), não pode ser rejeitada, uma vez que as frequências observadas corresponderam exatamente às frequências esperadas (Tabela 1).

Os resultados obtidos nesse teste de alelismo permitem concluir que há uma grande probabilidade de que os genes *alc* e *nor* sejam alélicos, conforme sugerem Lobo et al. (1984) e Tigchelaar & Barman (1985). Segundo Lobo et al. (1984), *alc* seria um terceiro alelo no loco *nor*, ao qual se atribuiria o símbolo *nor^A*.

Tabela 1 – Frequências esperadas e observadas de plantas com frutos de fenótipos normal e mutante, admitindo-se a hipótese de alelismo entre *alc* e *nor*, proposta por Lobo et al. (1984).

Genótipo	Número de plantas avaliadas	Frequência Esperada		Frequência Observada	
		Fenótipo		Fenótipo	
		Normal	Mutante	Normal	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) (=alc ⁺ / <i>alc</i>)	20	20	: 0	20	: 0
F1(Floradade x TOM-613) (=nor ⁺ / <i>nor</i>)	20	20	: 0	20	: 0
F1(TOM-559 x TOM-613) [=F ₁ (<i>alc x nor</i>)]	20	0	: 20	0	: 20
F ₂ (TOM-559 x TOM-613) [=F ₂ (<i>alc x nor</i>)]	364	0	: 364	0	: 364 ⁽¹⁾

⁽¹⁾ $\chi^2 = 0$.

Tabela 2 – 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 Centimorgans; (b) o fenótipo do duplo heterozigoto [$F_1(alc \times nor)$] ser normal quanto à coloração de frutos.

Genótipo	Número de plantas avaliadas	Frequência Esperada		Frequência Observada	
		Fenótipo		Fenótipo	
		Normal	Mutante	Normal	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) (=alc ⁺ / <i>alc</i>)	20	20	:	0	20 : 0
F1(Floradade x TOM-613) (=nor ⁺ / <i>nor</i>)	20	20	:	0	20 : 0
F1(TOM-559 x TOM-613) [=F ₁ (<i>alc</i> x <i>nor</i>)]	20	20	:	0	0 : 20
F ₂ (TOM-559 x TOM-613) [=F ₂ (<i>alc</i> x <i>nor</i>)]	364	185	:	179	0 : 364 ⁽¹⁾

⁽¹⁾ $\chi^2 = 376,20$ **.

Tabela 3 – 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 [$F_1(alc \times nor)$] ser mutante quanto à coloração de frutos.

Genótipo	Número de plantas avaliadas	Frequência Esperada		Frequência Observada	
		Fenótipo		Fenótipo	
		Normal	Mutante	Normal	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) (=alc ⁺ / <i>alc</i>)	20	20	:	0	20 : 0
F1(Floradade x TOM-613) (=nor ⁺ / <i>nor</i>)	20	20	:	0	20 : 0
F1(TOM-559 x TOM-613) [=F ₁ (<i>alc</i> x <i>nor</i>)]	20	0	:	20	0 : 20
F ₂ (TOM-559 x TOM-613) [=F ₂ (<i>alc</i> x <i>nor</i>)]	364	54	:	310	0 : 364 ⁽¹⁾

⁽¹⁾ $\chi^2 = 63,40$ **.

Lobo et al. (1984) fazem distinções entre os fenótipos condicionados por *nor*^A (*alc/alc*) e *nor* e indicam ainda, que o fenótipo *nor*^A é dominante sobre o fenótipo *nor*. No presente trabalho, não se pode claramente distinguir os efeitos fenotípicos de *nor* dos de *alc*. Assim, os dados presentes não permitem concluir que *alc* (ou *nor*^A) 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:

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

A hipótese de alélismo entre *alc* e *nor* proposta por Lobo et al. (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*^A/*nor*^A, ao invés de *alc/alc*, conforme sugestão inicial de Lobo et al. (1984).

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.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE JUNIOR, V.C.; MALUF, W.R.; FARIA, M.V.; BENITES, F.R.G.; SANTOS JUNIOR, A.M. dos. Produção e qualidade de frutos de tomateiros portadores de alelos mutantes de amadurecimento e coloração. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.6, p.555-561, 2005.
- FARIA, M.V.; MALUF, W.R.; RESENDE, J.T.V.; ANDRADE JUNIOR, V.C. de; NASCIMENTO, I.R. do; BENITES, F.R.G.; MENEZES, C.B. de; AZEVEDO, S.M. de. Mutantes *rin*, *nor*^A, *ogc* e *hp* em diferentes backgrounds genotípicos de tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.5, p.793-800, 2006.
- FREITAS, J.A.; MALUF, W.R.; GOMES, L.A.A.; AZEVEDO, S.M. Efeitos dos alelos *alc*, *ogc* 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.
- LOBO, M.; BASSET, M.J.; HANNAH, L.C. Inheritance and characterization of the fruit ripening mutation in “alcobaça” tomato. **Journal of American Society for Horticultural Science**, v.109, p.741-745, 1984.
- MUTSCHLER, M.A. Inheritance and Linkage of the Alcobaça ripening mutant in tomato. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Madison, v.109, p.500-503, 1984.
- MUTSCHLER, M.A.; WOLFE, D.W.; COBB, E.D.; YOURSTONE, K.S. Tomato fruit quality and shelf life in híbridos heterozygous for the *alc* ripening mutante. **HortScience**, Alexandria, v.27, n.4, p.352-355, Apr. 1992.
- SANTOS JUNIOR, A.M. dos; MALUF, W.R.; FARIA, M.V.; ANDRADE JUNIOR, V.C. de; NASCIMENTO, I.R. do; BENITES, F.R.G.; GOMES, L.A.A. Produção, qualidade e conservação de tomates heterozigotos nos locos *alcobaça*, *nonripening* e *ripening inhibitor*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.12, p.1203-1210, 2005.
- TIGCHELAAR, E.C.; BARMAN, R.J. Allelism of the *alcobaça* ripening mutant and *nor*. **Tomato Genetics Cooperative Report**, v.35, p.20-21, 1985.