



MUTANTES DE TOMATEIRO EM AULAS PRÁTICAS DE GENÉTICA

Fernando Angelo Piotto¹ e Giancarlo Conde Xavier Oliveira²

1 – Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Departamento de Genética. Laboratório de Genética Bioquímica de Plantas. Av. Pádua Dias, 11, Bairro Agronomia, Piracicaba, SP, CEP 13418-900. E-mail: fpiotto@gmail.com.

2 – Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Departamento de Genética. Laboratório de Evolução. Av. Pádua Dias, 11, Bairro Agronomia, Piracicaba, SP, CEP 13418-900. E-mail: gcxolive@gmail.com.

Palavras-Chave: *Solanum lycopersicum*, mutações, organismo modelo, didática, ensino, aulas práticas.

Introdução

Ao mesmo tempo que temos visto o aumento na quantidade de recursos didáticos para uso em aulas práticas de Genética, tais como novos livros, *softwares* e outros conteúdos disponíveis na Internet, a utilização de organismos vivos nessas aulas é, em geral, bastante restrita. Isso acontece devido, muitas vezes, à falta de material biológico adequado ou, quando este existe, às dificuldades de sua manutenção, tal como ocorre com *Drosophila melanogaster*, *Arabidopsis thaliana* (difícil adaptação em condições de casa de vegetação, sendo exigente em fotoperíodo e temperatura adequados) entre outros.

Dadas estas circunstâncias, apresentamos neste trabalho uma alternativa para os estudos das aulas práticas de Genética, usando uma planta modelo de fácil cultivo e manutenção. Trata-se da cultivar miniatura de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.), chamada de Micro-Tom (MT), que, além de ser um organismo modelo, também é uma planta cultivada, o que torna seu uso ainda mais interessante didaticamente, pois é uma espécie que está presente no dia a dia dos alunos.

A cv Micro-Tom (MT) possui várias vantagens para o uso em aulas práticas, pois as plantas apresentam pouco mais de 15 cm de altura, podendo ser cultivadas em pequenos vasos, copos plásticos ou saquinhos de mudas. Além disso, seu ciclo reprodutivo é bem menor quando comparado com outras plantas, florescendo entre 30 e 40 dias após a semeadura, colhendo-se os frutos entre 80 e 90 dias de idade (Meissner et al., 1997).

Neste trabalho, nós desenvolvemos a cv MT BB, a qual contém duas mutações que conferem fenótipos de fácil observação (tipo de folha e cor das flores), para uso em aulas práticas de genética clássica. O tamanho reduzido e o ciclo de vida curto tornam o cultivo e o

manuseio das cultivares MT e MT BB extremamente fácil e prático, com a estrutura necessária para seu uso em aulas práticas ficando limitada a poucos metros quadrados, poucos quilogramas de substrato e poucos gramas de fertilizantes.

Material e métodos

A cv MT possui folhas normais e flores amarelas (Figura 1C), cujos fenótipos são determinados pelos genes dominantes *Potato leaf* (C) e *White flower* (Wf), respectivamente, os quais se encontram em homozigose nesta cultivar. Utilizando a técnica de retrocruzamentos seguidos de seleção (6 gerações consecutivas), transferimos para a cv MT, as mutações recessivas *potato leaf* (c), que altera o formato das folhas para “folha batata” e *white flower* (wf), que confere às flores a coloração branca. Este procedimento deu origem à cultivar MT BB (Figura 1D), a qual é homozigota para ambos os recessivos. As mutações *white flower* e *potato leaf* encontram-se nos cromossomos 3 e 6, respectivamente. As linhagens a partir das quais isolamos os referidos mutantes foram obtidas no Tomato Genetics Resource Center (TGRC) (University of California, Davis, USA).

A semeadura dos tomateiros para avaliação de fenótipos pode ser feita de diversas maneiras. A forma mais comum é semear as sementes em bandejas de isopor próprias para a confecção de mudas de hortaliças. Outra opção é fazer a semeadura diretamente nos vasiinhos ou saquinhos usados para o cultivo das plantas (Figura 1A). Neste caso, o transplante deve ser feito de 10 a 15 dias após a semeadura.

O cultivo destes tomateiros é bastante fácil, demandando poucos recursos. Embora as plantas possam crescer no solo, o desenvolvimento das cultivares MT e MT BB apresenta melhores resultados quando estas são cultivadas em substratos comerciais. Atualmente existem várias marcas de substratos disponíveis, devendo-se dar preferência para aqueles com altos teores de matéria orgânica, que possuam textura leve e já sejam enriquecidos

com nutrientes. Geralmente, os substratos usados para o cultivo de hortaliças apresentam melhores resultados.

Quando usamos substratos comerciais ricos em matéria orgânica e acrescidos de fertilizantes, basta fazer uma aplicação de alguma formulação comercial à base de Nitrogênio, Fósforo e Potássio (NPK), nas concentrações de 10% de N, 10% de P_2O_5 e 10% de K_2O (formulação comercial de NPK 10-10-10) ou similar. A quantidade utilizada varia de 1 a 3 gramas por planta ou equivalente a uma colher de chá, a qual deve ser colocada o mais distante possível da base das plantas. O ideal é fazer um pequeno sulco no substrato, na lateral do vaso, e nele colocar o fertilizante que será disponibilizado aos poucos para as raízes. A fertilização pode ser feita uma única vez entre 30 a 40 dias após a semeadura.

O volume de substrato necessário para cada planta completar seu ciclo é bastante reduzido. Em geral, são necessários apenas 100 ml em volume para obter plantas bem desenvolvidas e saudáveis, embora a quantidade ideal seja de 150 a 250 ml por planta. Pequenos vasos plásticos contendo estes volumes, geralmente usados para o cultivo de violetas, podem ser encontrados facilmente em agropecuárias e floriculturas, custando poucos centavos (Figura 1B).

Alternativas também podem ser usadas com muito sucesso, como é caso do cultivo das plantas em pequenos saquinhos plásticos para mudas de hortaliças (Figura 1B) ou até mesmo o cultivo em copinhos plásticos encontrados no mercado. O único cuidado ao se cultivar plantas em copinhos plásticos é de fazer furos no fundo destes para a drenagem da água e também escolher aqueles de coloração escura. Copinhos plásticos de coloração branca ou transparentes prejudicam bastante o desenvolvimento das raízes, levando à ocorrência de clorose nas folhas em poucas semanas de cultivo. Neste caso, podem-se revestir os copinhos com papel escuro, jornal, papel alumínio ou algum outro revestimento, reduzindo os efeitos indesejáveis da luz sobre as raízes dos tomateiros.

O cruzamento entre MT e MT BB pode ser feito de forma bastante simples, bastando retirar, com o auxílio de uma pinça, o cone floral formado por pétalas e anteras, quando as flores se encontrarem fechadas (esbranquiçadas), conforme demonstrado na figura 2A-C. Uma vez feita a emasculação das flores que receberão o pólen, deve-se fazer a retirada do pólen de flores maduras (abertas e amarelas) (Figura 2D) da outra cultivar. Para isso, basta abrir o cone de anteras e raspar cuidadosamente a parte interna das anteras para coletar uma pequena massa de pólen (Figura 2E), a qual deve ser colocada na ponta da flor emasculada, conforme indicado na figura 2F. Os frutos com as sementes da geração F1 são coletados em aproximadamente 60 dias após os cruzamentos. Final-

mente, a população F2 segregando para dois caracteres (tipo de folha e cor de flores) pode ser obtida cultivando e deixando autofecundar as plantas F1, oriundas dos cruzamentos.

Resultados e discussão

Neste trabalho, apresentamos a cultivar MT e a cultivar MT BB, homozigótica para duas mutações recessivas (*c*, *wf*). Essas cultivares podem ser empregadas em aulas práticas que evidenciam as Leis de Mendel para estudantes de vários níveis: ensino médio, graduação e pós-graduação. Para tanto, basta cruzar estas duas cultivares, para produzir exemplos didáticos de herança monogênica e digênica.

Um exemplo prático do uso destes materiais em aulas práticas encontra-se na Figura 3, onde foram cruzadas as cultivares MT (Figura 1C) e MT BB (Figura 1D), para avaliação de uma população F2 segregando para as características de tipo de folha (batata e normal) e cor das flores (branca e amarela) (Figura 3A-D). É possível avaliar estas duas características individualmente, estudando a 1ª Lei de Mendel com base nas contagens de cada fenótipo e, assim, tirar conclusões sobre o tipo de segregação e a recessividade ou dominância dos genes estudados. Teste de *qui-quadrado*, pode ser utilizado em aulas de nível superior. Além disso, é possível avaliar conjuntamente as duas características para estudar a 2ª Lei de Mendel, contando os fenótipos observados e organizando as plantas de modo a proporcionar uma visão geral das proporções obtidas de plantas com cada uma das combinações de características (Figura 1 E).

Conclusões

As cultivares MT e MT BB possuem grande potencial como recurso didático para ensinar vários conceitos de genética clássica pertencentes aos currículos escolares. Uma pequena amostra de sementes de ambas as cultivares MT e MT BB, além de instruções adicionais de cultivo e manutenção destas, podem ser obtidas gratuitamente com os autores. Como essas sementes são linhas puras, elas podem ser multiplicadas por simples autofecundação natural, ou seja, o sistema normal de reprodução da planta. Neste caso, deve-se deixar que a planta produza frutos sem intervenção do professor. Para que as práticas possam ser aplicadas com grupos de alunos é necessário que (1) as sementes enviadas sejam multiplicadas pelo professor, para que ele crie seu próprio estoque; (2) as plantas das duas cultivares, assim que obtidas, deverão ser cruzadas pelo professor, para obter sementes da geração F1, que também ficarão em estoque; e (3) o professor plantará a descendência F1 e deixará que ela se autofecunde espontaneamente, produzindo assim as sementes F2, que também serão estocadas. Como o tamanho das turmas e o esquema das aulas variam de escola para escola, o próprio professor terá de

planejar o número de indivíduos de seu plantio anual ou semestral. Desse modo, o professor deve reservar pelo menos 6 meses para a preparação das aulas práticas a partir do recebimento da amostra pelo correio, para só então ministrá-las. As sementes podem ser solicitadas por professores de ensino fundamental, médio e superior, por meio de contato via e-mail, conforme instruções abaixo. Os autores e a Revista liberam a distribuição das sementes das cultivares para terceiros, desde que estas sejam utilizadas para finalidades didáticas.

As sementes podem ser solicitadas pelos seguintes endereços:

Fernando Angelo Piotto – fpiotto@gmail.com

Giancarlo Conde Xavier Oliveira – gcxolive@gmail.com

Ao fazer seu pedido por e-mail, pede-se que o professor, por favor, forneça aos autores seu nome e endereço para correspondência, o nome e endereço da instituição à qual está vinculado, a série e o grau que seus alunos estão cursando e a(s) cultivar(es) que requisita (MT, MT BB ou ambas). Essas informações serão usadas para a análise estatística do uso didático dos mutantes.

Referências Bibliográficas

Meissner, R. et al. A new model system for tomato genetics. The Plant Journal, 2010, 12:1465-1472.

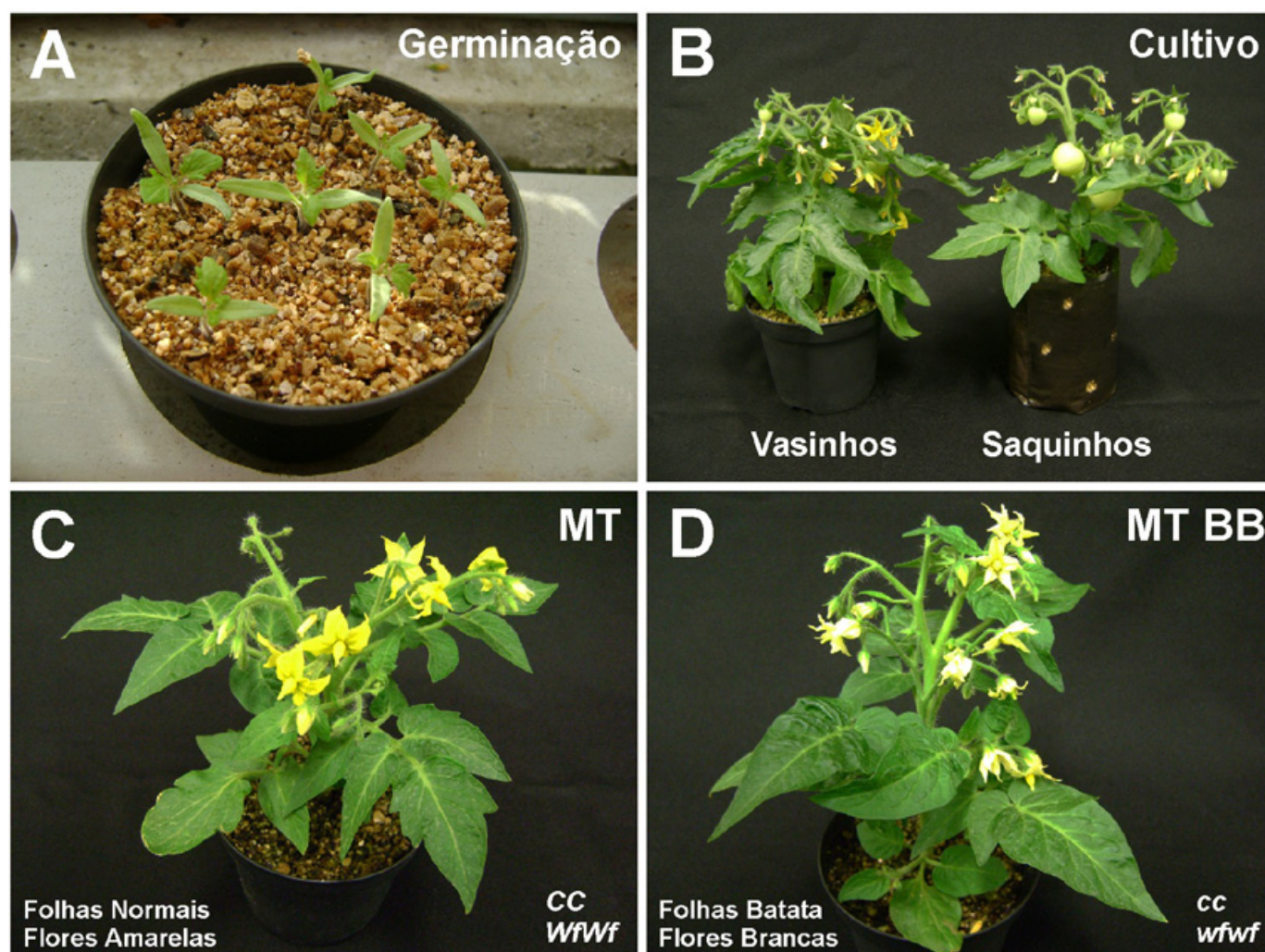


Figura 1. Germinação e cultivo das cultivares MT e MT BB. (A) exemplo de germinação em pequenos vasos de plástico; (B) cultivo das plantas em vasos e saquinhos de mudas de hortaliças; (C) fenótipo da cultivar MT e (D) fenótipo da cultivar MT BB.

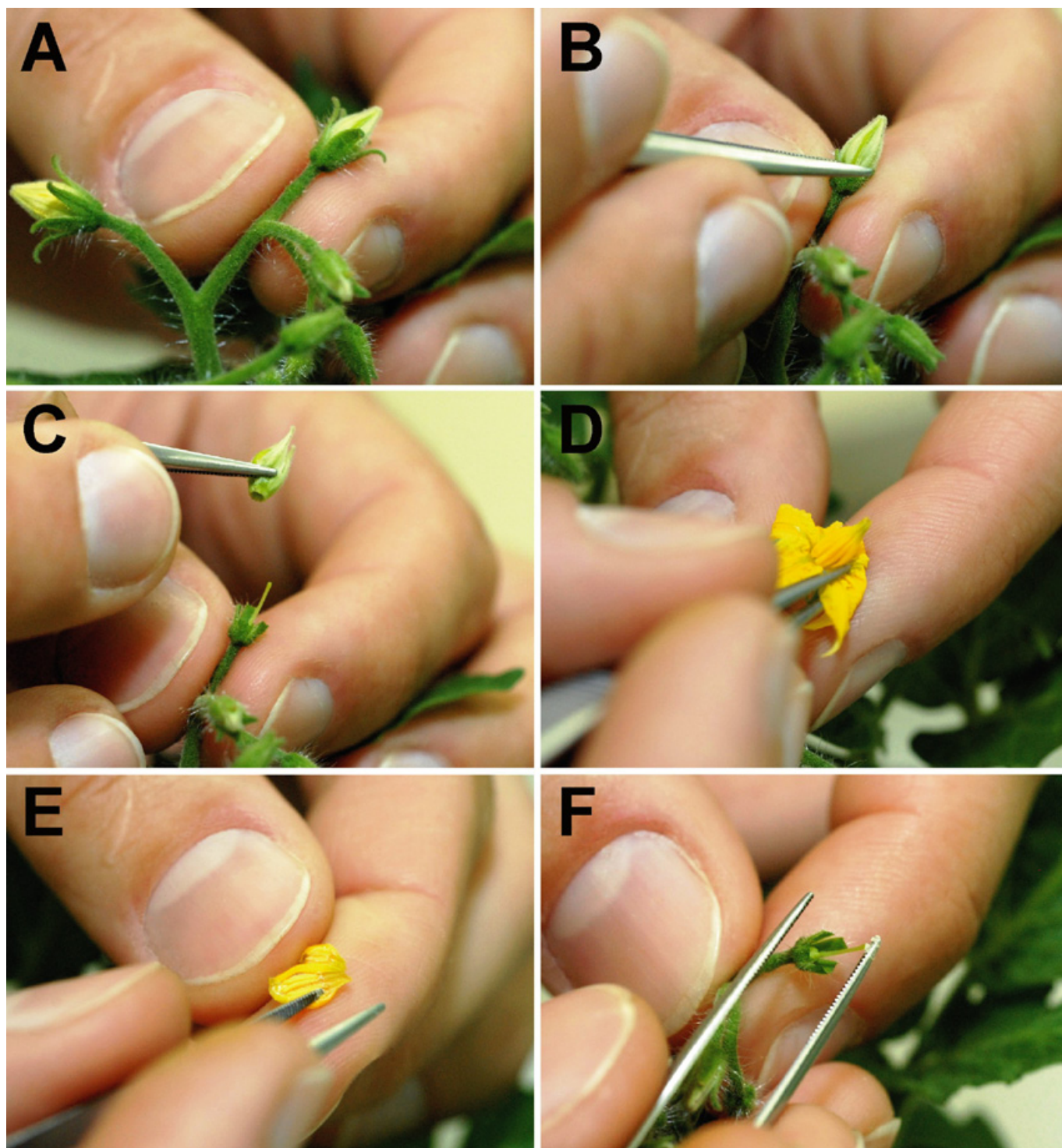


Figura 2. Cruzamento entre as cultivares MT e MT BB: (A) seleção de flores jovens (mais brancas, ainda em botão), que ainda não sofreram autofecundação, para emasculação; (B) e (C) emasculação, ou seja, retirada do cone formado por anteras e pétalas das flores que receberão pólen (este procedimento deixa o estilete, parte feminina da flor, exposto; (D) escolha de flores maduras para coleta de pólen; (E) retirada do pólen usando uma pinça e (F) fertilização da flor feminina (cruzamento).

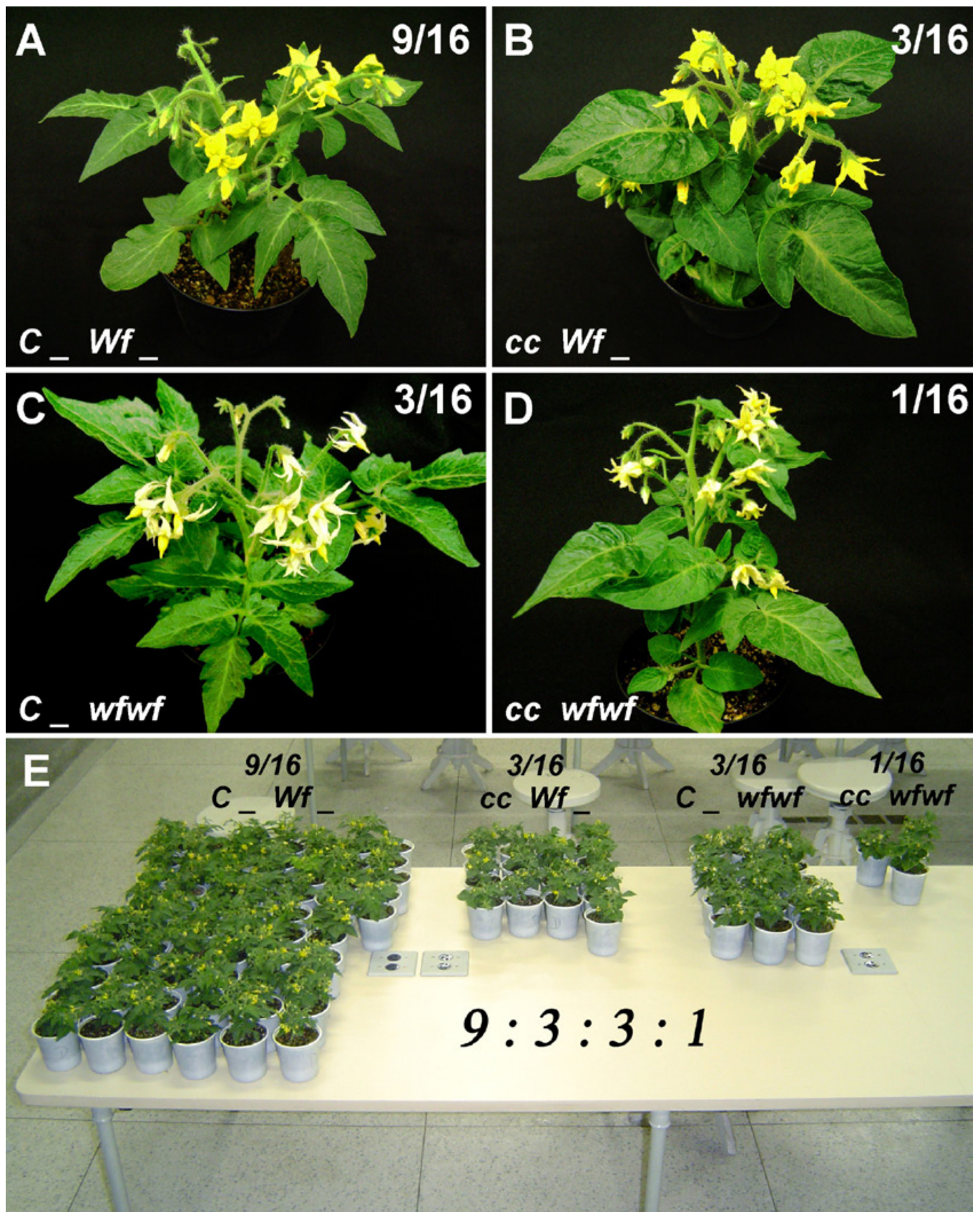


Figura 3. Segregação de plantas F2 (A, B, C e D), obtidas a partir do cruzamento entre MT (A) e MT BB (D). Devido à facilidade de manuseio das plantas, estas podem ser organizadas de forma a causar a impressão visual da proporção da segregação de cada fenótipo (E).