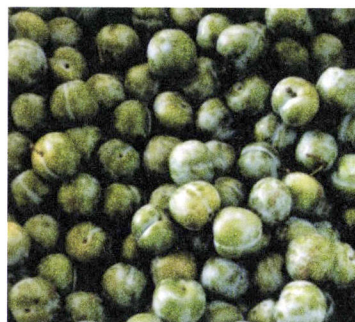


Universidade de Évora

Comportamento pós-colheita da ameixa ‘Rainha Cláudia Verde’
Prunus domestica L. – Efeitos do cálcio na maturação



Tese apresentada para a obtenção do Grau de Doutor em Agronomia

Ana Elisa de Mendonça Rato Barroso

Orientador: Professora Doutora Ana Cristina Pinto Agulheiro Santos

Co-orientador: Doutor Fernando Riquelme

‘Esta tese não inclui as críticas e sugestões feitas pelo júri’

Universidade de Évora

Comportamento pós-colheita da ameixa 'Rainha Cláudia Verde'
Prunus domestica L. – Efeitos do cálcio na maturação

Tese apresentada para a obtenção do Grau de Doutor em Agronomia



Ana Elisa de Mendonça Rato Barroso

168 660

Orientador: Professora Doutora Ana Cristina Pinto Agulheiro Santos

Co-orientador: Doutor Fernando Riquelme

'Esta tese não inclui as críticas e sugestões feitas pelo júri'

U.E. Serviços Académicos	N.º 60/24383
2008 Filomena	Sector: DEPG

2008

Agradecimentos

Gostaria de expressar o meu mais sincero agradecimento às instituições que permitiram a realização deste trabalho: ao Instituto de Ciências Agrárias Mediterrânicas, à Universidade de Évora, à Universidade de Aveiro, e ao Ministério da Agricultura Português pelo financiamento de parte deste trabalho através do programa AGRO, e a todos aqueles que nelas facilitaram a execução de muitas das tarefas realizadas para a concretização desta tese.

Aos meus orientadores Prof.^a Ana Cristina Agulheiro e Dr. Fernando Riquelme pela disponibilidade demonstrada durante toda a execução deste trabalho e pela leitura minuciosa e críticas apresentadas. Em particular gostaria de agradecer à minha amiga Ana Cristina pela amizade e confiança que sempre demonstrou, e que permitiram levar esta tarefa até ao fim.

Ao Professor Manuel António Coimbra da Universidade de Aveiro, pela forma como sempre me recebeu no seu laboratório, pela preciosa ajuda na discussão dos resultados, e a quem devo a frase: 'Escrever um doutoramento também é contar uma história', que tentei ter sempre presente na redacção deste documento.

Às Engenheiras Agrícolas Helena Marreiros e Célia Ventura pela colaboração durante os primeiros passos deste trabalho.

A todos os colegas e amigos do Laboratório de Química Alimentar da Universidade de Aveiro pela simpatia sempre presente nas minhas curtas estadias nesta Universidade. Em particular à Cláudia Nunes pela forma paciente com que sempre me ouviu e pela ajuda na interpretação de muitos dos resultados.

Ao Eng.^o Marino Martins, à sua esposa e filha e ao Eng.^o Jerónimo Cavaco pela facilidade que sempre me concederam na recolha das amostras dos pomares.

À empresa Fruteco Lda. pela disponibilidade demonstrada e facilidade na recolha das amostras e muito particularmente ao Eng.^o Victor Gameiro que enquanto técnico desta empresa, permitiu a concretização, no campo, deste e de muitos outros projectos como este...

Ao João, ao Miguel ao Luís e ao António pelo tempo que não passei com eles.

O meu obrigada

Aos meus pais e ao meu irmão

ÍNDICE

Abstract	3
Resumo	5
1. Introdução	
1.1 - A ameixa ‘Rainha Cláudia Verde’	
1.1.1 - Breve história da cultura e indústria	9
1.1.2 - Alterações que ocorrem nesta variedade durante a maturação	11
1.1.3 - Caracterização dos pomares e do material vegetal	13
1.1.4 - Objectivos gerais e âmbito do trabalho	15
1.2 – A maturação dos frutos	
1.2.1 - Definição de conceitos	17
1.2.2 - Produção de etileno	18
1.2.3 – O crescimento do fruto e a mobilização das substâncias de reserva	24
1.2.4 - Alterações da textura	27
1.2.5 - Factores culturais que afectam a qualidade dos frutos	42
1.3 – Bibliografia	54
2. Ensaio efectuados	
2.1- Colheita e análise do etileno produzido – desenvolvimento de um método para a ameixa ‘Rainha Cláudia Verde’	
2.1.1 - Enquadramento do ensaio	63
2.1.2 – Artigo 1	65
2.2- Efeito do solo e porta-enxerto na composição mineral dos frutos da ameixa ‘Rainha Cláudia Verde’ (<i>Prunus domestica</i> L.)	
2.2.1 - Enquadramento do ensaio	68
2.2.2 - Artigo 2	71
2.3- Influência da composição química do solo na alteração das propriedades físicas da ameixa ‘Rainha Cláudia Verde’ (<i>Prunus domestica</i> L.) durante a maturação.	
2.3.1 - Enquadramento do ensaio	77
2.3.2 - Artigo 3	78
2.4- Efeito do frio na conservação da ameixa ‘Rainha Cláudia Verde’ (<i>Prunus domestica</i> L.).	
2.4.1 - Enquadramento do ensaio	95
2.4.2 – Artigo 4	97

2.5 – Influência do cálcio das paredes celulares na firmeza dos frutos durante a maturação da ameixa ‘Rainha Cláudia Verde’ (*Prunus domestica* L.).

2.5.1 - Enquadramento do ensaio 102

2.5.2 – Artigo 5 103

3.Considerações finais e trabalhos futuros 124

Abstract

'Rainha Claudia Verde' is an old variety of *Prunus domestica* which is well adapted to a restrict zone of Alto Alentejo in the south region of Portugal. This variety is much appreciated either as a fresh fruit or as a sweet candy.

The candying process is a widespread technique in this region with much empirical knowledge. There are practical evidences which indicate that fruits origin may influence the boiling process. Some fruits produced in specific areas in this region had an inadequate behaviour during boiling, becoming to soft and improper to use in candying. More recently it has been also observed that these specific areas produced fruits with a poor postharvest behaviour. During storage these fruits loose texture very quickly and became improper to commercialize.

Many pre and postharvest factors may contribute to differences in fruit quality. Calcium is one of most important nutrients which have a major effect on cell wall structure and membrane integrity. Studies on the role of calcium in fruits indicate its involvement in delaying changes associated with softening.

Two orchards were selected because of their history of producing fruits with different characteristics either as a fresh or as a processed fruit, and because induced different calcium levels in the leaves. The main focus of this research work was to study the influence of the production region in fruit postharvest behaviour, specially the influence of calcium in fruit texture. The aims were: (1) to compare the rootstock and the soil influence on calcium fruit content, (2) to select a method to measure the production of ethylene in fruits of 'Rainha Claudia Verde' (3) to evaluate the effects of different calcium fruit content in the postharvest behaviour of fruits (4) to evaluate the cell wall calcium content and its influence in fruit firmness, (5) and to select the best cold storage temperatures to this variety.

It was found that 'Rainha Claudia Verde' is a climacteric variety and the studies on fruit firmness revealed a significant loss of fruit texture during ripening on or off the tree. During storage, fruits had a different behaviour depending on fruits origin. Usually fruits, which traditionally do not resist to boiling process, also exhibited an early softening, when compared to other fruits produced in adequate regions. The excessive fruit softening after harvest occurred in fruits with lower calcium content. However, at harvest, fruits from both orchards exhibited a similar firmness which may indicate that

other factors besides calcium should be implicated in fruit firmness at harvest. In spite of a better postharvest behaviour of fruits with higher calcium content, it was not evident the calcium influence in the climacteric rise.

The increase of calcium fruit content can be achieved with a proper rootstock selection. The rootstocks investigated in this study, induced different calcium fruit content, apparently vigorous rootstocks contributed to the dilution of calcium fruit level. The soil with higher calcium content induced a lower calcium fruit content, which may be due to the excess of potassium in this soil; in fact fruits with higher Ca/K ratio reached higher firmness values.

It is also proposed a method to evaluate the calcium content in the fruit independently of fruit mass. The calcium fruit content is usually expressed as a percentage of dry mass, however during the course of fruit development there are a huge increment of fruit weight because of water and sugar mobilization into the fruit. Most of the total calcium in the plants is associated with the cell wall which means that calcium fruit content expressed as a percentage of cell wall fraction is a much more reliable method. Orchards with an excess of potassium in the soil produced fruits with a significant lower calcium fruit content. However it was not possible to prove the gradually firmness decrease during the harvest period as a consequence of calcium fruit loss. In fact, it was not evident a gradual decrease of calcium fruit content during the harvest dates thus it was impossible to find at harvest, a good correlation between fruit firmness and calcium fruit content.

The analysis of cell wall polysaccharides evaluated during ripening in the tree showed a slight increase of more branched polysaccharides as ripening went. The small changes in pectic polysaccharides during the harvest season are in accordance with the small decrease in tissue firmness during this period.

In this variety the usual storage period is about of 3-4weeks with a temperature of 1-2°C and 90% of relative humidity. However upon rewarming fruits held at 7°C, during 14 days, produced more ethylene at 20°C and exhibited also a higher firmness than fruits held at 1°C. The reduction of ethylene production and fruit firmness upon rewarming, after fruits being held at lower temperatures, may suggest some chilling injury in this variety.

Key words: Fruit firmness, calcium, potassium, ethylene, storage temperature, rootstock

Resumo

‘Rainha Cláudia Verde’ é uma antiga variedade da ameixeira europeia *Prunus domestica* L. que se encontra bem adaptada a uma zona restrita do Alto Alentejo. Esta variedade é utilizada para o consumo em fresco e na doçaria regional, onde se emprega na confecção das famosas ‘Ameixas D’Elvas’. A confitagem é a técnica utilizada na confecção deste produto com denominação de origem protegida, e que faz parte de um saber tradicional muito divulgado na região. As informações que resultam de evidências práticas mostram que nem todos os frutos reagem da mesma forma à fase da cozedura. Existem zonas específicas que produzem frutos que não se adequam ao processo da confitagem, apresentando uma textura imprópria após a cozedura. Recentemente, e com o aumento das áreas produtoras, verificou-se que os frutos destas regiões específicas para além de inadequados para a cozedura, também apresentavam uma menor capacidade de conservação em fresco. Assim durante a conservação estes frutos, quando comparados com os das outras regiões, apresentavam uma perda de firmeza mais rápida tornando-se mais difíceis de comercializar.

Entre os factores culturais que contribuem para a qualidade pós-colheita dos frutos, o teor de cálcio presente no solo e nos frutos apresenta-se como um dos mais importantes. O cálcio é um dos nutrientes que mais frequentemente é associado à manutenção da estrutura das paredes celulares das plantas, estando envolvido directamente na redução das perdas de textura dos frutos.

Tendo em consideração os aspectos anteriormente referidos, foi delineado um trabalho que teve início com a selecção de dois pomares geograficamente distantes, e que tradicionalmente produziam frutos com diferentes comportamentos quer durante a conservação quer durante a confitagem. Associada ao conhecimento empírico, a prévia indicação de que estes pomares apresentavam concentrações de cálcio foliar significativamente diferentes, contribuiu também para a sua selecção.

O objectivo geral desta tese foi o de investigar o comportamento pós-colheita da ‘Rainha Cláudia Verde’ particularmente a influência do cálcio na textura dos frutos. Definiram-se os seguintes objectivos específicos: (1) determinar a influência do porta-enxerto e do solo na concentração de cálcio dos frutos e as respectivas consequências no seu comportamento pós-colheita; (2) seleccionar um método que permitisse avaliar a produção de etileno dos frutos e consequentemente a atribuição da designação de fruto climatérico ou não climatérico a esta variedade; (3) avaliar os efeitos durante a

conservação, de diferentes níveis de cálcio nos frutos; (4) quantificar nos frutos os níveis de cálcio da parede celular e avaliar a sua influência na firmeza dos frutos; (5) seleccionar as melhores temperaturas de conservação para os frutos desta variedade.

Os resultados apresentados nesta tese indicam que a variedade 'Rainha Cláudia Verde' é uma variedade de frutos climatéricos que apresentam uma acentuada perda de textura após a colheita. Durante a conservação frigorífica os frutos apresentaram comportamentos diferentes, de acordo com a sua origem. Os frutos com origem no pomar que tradicionalmente não produz frutos aptos a serem confitados, apresentam simultaneamente uma mais rápida perda de firmeza quando comparados com os frutos dos outros pomares. Sendo que o menor teor de cálcio nos frutos leva a que a diminuição da firmeza da polpa ocorra mais rapidamente. No entanto à colheita não se observaram diferenças significativas da firmeza da polpa dos frutos. Esta informação parece indicar que outros factores, além do nível de cálcio dos frutos, poderão estar implicados na firmeza revelada à colheita. Por outro lado os frutos com epiderme revelaram diferenças de firmeza nos testes efectuados à colheita. O efeito da epiderme na firmeza dos frutos à colheita parece indicar que outros factores tais como o estado de hidratação dos frutos poderão contribuir para o aumento desta característica dos frutos.

Apesar do teor de cálcio dos frutos melhorar o seu comportamento durante a conservação, a sua influência na emissão de etileno não foi evidente. O aumento do teor de cálcio nos frutos pode conseguir-se através de uma selecção adequada do porta-enxerto. Os porta-enxertos estudados induziram quantidades diferentes de cálcio nos frutos, aparentemente contribuindo o vigor do porta-enxerto para um efeito de diluição do cálcio na árvore. O estudo da influência do solo no teor do cálcio dos frutos revelou que os frutos com menor capacidade de conservação provinham de solos com maiores teores de cálcio, e que na sua constituição apresentavam uma menor concentração de cálcio na polpa. Apresenta-se ainda a hipótese de que o excesso de potássio presente nestes solos possa ter contribuído para um menor teor de cálcio nos frutos. De facto os frutos com uma razão Ca/K superior apresentaram também uma firmeza superior.

Sendo um dos objectivos do trabalho a adequação de métodos, é proposto um método para a avaliação do teor de cálcio dos frutos. De um modo geral, o teor de cálcio dos frutos é expresso em função quer da matéria seca quer da matéria fresca. No entanto durante o desenvolvimento dos frutos há um aumento muito acentuado destes dois constituintes o que origina problemas de rigor na quantificação deste nutriente. Sendo o cálcio um elemento que se encontra principalmente associado à parede dos frutos, a sua

determinação na fracção das paredes celulares, revelou-se ser uma técnica mais rigorosa. Com base neste método foi possível observar que os frutos provenientes dos dois pomares apresentavam teores de cálcio significativamente diferentes, estando os frutos com menores teores de cálcio associados ao solo com maiores níveis de potássio. No entanto a perda gradual de firmeza verificada nos frutos ao longo das várias colheitas não apresentou uma boa correlação com os níveis de cálcio nos frutos. De facto, ao longo das várias datas de colheita analisadas não foi evidente a existência de um decréscimo acentuado na concentração neste nutriente na polpa dos frutos . Pelo que não foi possível correlacionar nos frutos à colheita, firmeza e teor de cálcio.

A análise dos polissacarídeos das paredes celulares efectuada durante a época de colheita mostrou um aumento pouco expressivo na sua percentagem de ramificação. No entanto estes resultados estão de acordo com a evolução da firmeza dos frutos que, durante o período em questão, não apresentou alterações acentuadas.

A conservação desta variedade decorre habitualmente durante 3 a 4 semanas à temperatura de 1-2°C e com HR de 90%. Os trabalhos de conservação efectuados nesta variedade demonstraram que após a saída da câmara e a uma temperatura de 20°C os frutos que foram conservados à temperatura de 7°C apresentaram uma perda de firmeza menos acentuada que os frutos que foram conservados a 1°C. De igual modo a emissão de etileno a 20°C foi menor, nos frutos que foram submetidos a temperaturas mais baixas de conservação. Estes resultados parecem sugerir a existência nesta variedade de alguma reacção adversa à utilização de baixas temperaturas de conservação.

Palavras Chave: firmeza dos frutos, cálcio, potássio, etileno, temperatura de conservação, porta-enxertos

1. INTRODUÇÃO

1.1 – A ameixa ‘Rainha Cláudia Verde’

1.1.1 – Breve história da cultura e indústria

Embora muito antiga, a expansão da cultura da ameixeira ‘Rainha Cláudia Verde’ no Alto Alentejo teve o seu grande impulso a partir da década de 90. Referida muitas vezes como uma variedade autoestéril, foi com a resolução do problema da polinização, nos finais da década de 80 que a cultura desta variedade se tornou viável nesta região (Barroso, 1990). Até aqui, esta variedade aparecia dispersa um pouco por todo o país, sobretudo em hortas e jardins onde, por vezes, nunca chegava a produzir frutos.

Condicionada pelas exigências em frio durante o inverno, e pelas temperaturas elevadas durante a maturação dos frutos, esta variedade encontrou no Alto Alentejo interior as condições ideais para a sua cultura quer, não só, pelo tipo de clima como também pelo tipo de solo (Barroso, 1990). Actualmente a área de pomar estende-se pelos conselhos de Borba, Estremoz, Vila Viçosa, Campo Maior, Sousel e Elvas, sendo nos solos bem drenados e de boa fertilidade onde os frutos atingem melhor qualidade.

Embora não seja possível calcular a data de introdução no nosso país, não restam dúvidas quanto à origem Francesa desta variedade (Pereira, 1970; Moraes, 1986). Com efeito os nomes ‘Reine Claude’ ou ‘Apricot vert’ vêm referidos no ‘Traité des Arbres Frutières’ de Duhamel du Monceau (1768) como sendo um tipo de ‘Raínha Claudia’ de frutos grandes e redondos cuja maturação ocorre no início de Agosto e com boa aptidão quer para o consumo em fresco quer para compota.

Actualmente a ‘Rainha Cláudia Verde’ é comercializada em fresco (fig.1) na forma de passas e de frutos confitados (fig.2). Todos estes produtos apresentam-se sob a certificação ‘Ameixa D’Elvas’, com Denominação de Origem Protegida (DOP) desde 1999. A gestão da marca é efectuada por um agrupamento de produtores que se dedica à concentração da produção e comercialização do produto em fresco, estando a certificação a cargo de uma entidade privada de certificação. Quanto aos frutos confitados e passados existem na região algumas empresas de transformação que trabalham com estes produtos e os colocam nos respectivos circuitos comerciais.

A Denominação de Origem Protegida (DOP) obriga ao cumprimento de várias regras desde a produção e embalagem dos frutos em fresco até à transformação e embalagem dos frutos confitados e em passa. Para a obtenção das Ameixas D’Elvas, são utilizados apenas os frutos frescos, colhidos no início da campanha, que são sujeitos a uma cozedura lenta, e posteriormente colocados numa calda de açúcar que se vai concentrando até atingir os 74° Brix (confitagem passiva). A cozedura tem como objectivo permitir a posterior entrada do açúcar na polpa e pretende-se que após a cozedura os frutos permaneçam inteiros e com a epiderme ligeiramente fendilhada.



Fig. 1 - ‘Ameixas D’Elvas’ em fresco

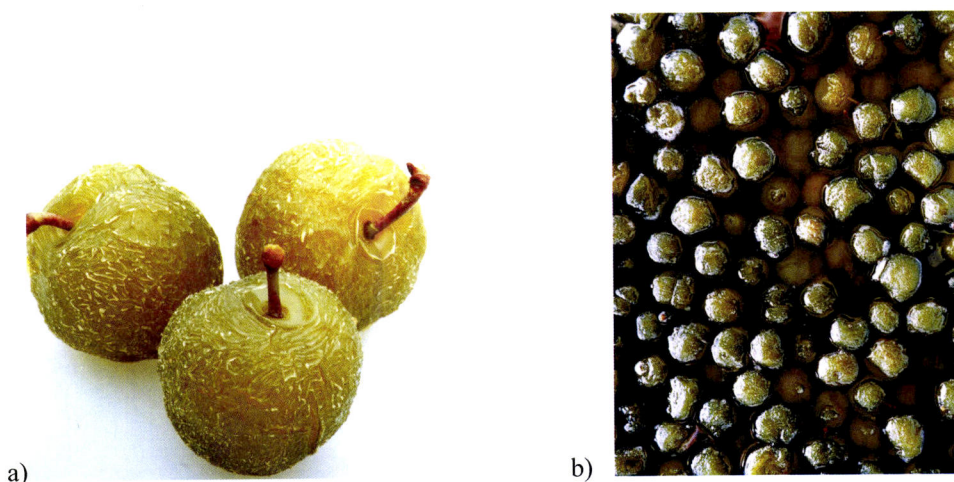


Fig. 2 - Ameixas D’Elvas confitadas - a) ameixas escorridas; b) ameixas em calda

A ameixa ‘Rainha Cláudia Verde’ propagada a nível regional adquiriu ao longo do tempo nesta região uma especificidade própria resultante das condições ecológicas, que a tornam hoje em dia um produto de alta qualidade, mostrando-se assim uma boa alternativa para a diversificação da produção agrícola e dos produtos regionais.

1.1.2 - Alterações que ocorrem nesta variedade durante a maturação

A ‘Rainha Cláudia verde’ é uma ameixeira do grupo Europeu que pertence à espécie *Prunus domestica* L..O fruto desta espécie denomina-se drupa porque provém de um pistilo monocarpelar e uniovulado. As drupas possuem um epicarpo membranáceo, que nesta variedade é revestido de pruína, destacando-se aqui a epiderme e o colênquima sub-epidérmico, mesocarpo carnudo e endocarpo esclerificado (fig.3)

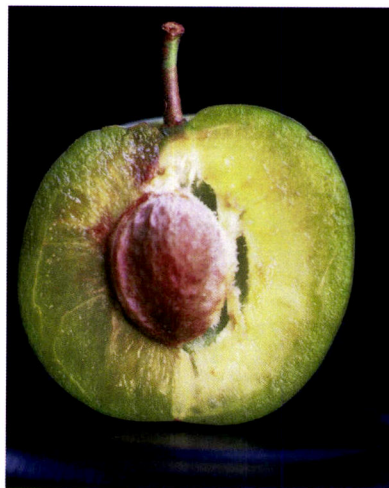


Fig. 3 - Drupa da ameixa ‘Rainha Cláudia Verde’ sendo visível epicarpo membranáceo, o mesocarpo e o endocarpo

Comparativamente aos frutos das ameixeiras Japonesas, esta variedade, tem um período de conservação pós-colheita mais reduzido e apresenta na maturação coloração verde escura, forma esférica ligeiramente achatada nos pólos, com um peso

médio de 30g. Os frutos são bastante doces e aromáticos, e apesar de não haver mudanças de coloração muito evidentes, durante a maturação é frequente observar-se o aparecimento de tonalidades avermelhadas em algumas zonas dos frutos. Com o decorrer da maturação torna-se visível à superfície dos frutos uma fina camada de pruina (Barroso, 1990). Segundo Ribeiro (2006) vários são os parâmetros que podem ser utilizados na ‘Rainha Cláudia Verde’ para avaliar o seu estado de maturação tais como: os SST (Sólidos Solúveis Totais), a acidez, a firmeza da polpa e a cor. Efectivamente no Alentejo a colheita comercial tem início quando os frutos apresentam um teor de SST de 17-18% SST e o mesocarpo se destaca facilmente do endocarpo (fig.3). No final da época de colheita os SST podem chegar aos 23-25% SST. A acidez apresenta, no início da campanha, valores aproximadamente de 1,10 meq ácido málico. A adstringência, também elevada no início da colheita, torna-se quase imperceptível no decorrer da maturação. São estas características organolépticas tão particulares que fazem com que a aceitação desta variedade no mercado seja bastante boa, apesar do seu pequeno calibre e reduzido poder de conservação.

O reduzido intervalo de tempo em que decorrem a comercialização e a conservação, aproximadamente de 3 semanas a 1 mês, deve-se ao facto destes frutos apresentarem, após a colheita, uma perda de consistência da polpa muito acentuada bem como um engelhamento característico da epiderme (fig.4).

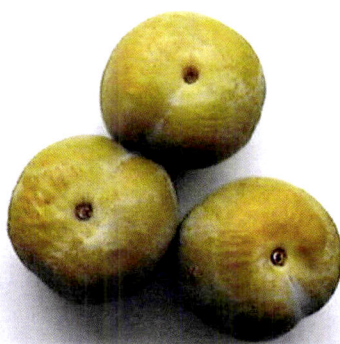


Fig. 4 - Ameixa ‘Rainha Cláudia Verde’ - pormenor do engelhamento dos frutos com 20 dias de conservação frigorífica

As temperaturas de conservação aconselhadas pelo INRA-França para a ‘Rainha Cláudia’ situam-se nos 2°C, e segundo Westercamp (1996) a conservação frigorífica a temperaturas inferiores, reduz a capacidade de conservação desta variedade uma vez regressados os frutos à temperatura ambiente, pelo que se evitam as temperaturas abaixo dos 2°C.

1.1.3 - Caracterização dos pomares e do material vegetal

O material vegetal utilizado neste trabalho teve origem em dois pomares localizados nas regiões de Vila Viçosa e Cano, concelhos de Vila Viçosa e Sousel respectivamente. Os pomares de Vila Viçosa e Cano foram plantados há 15 anos, com um compasso de 6mX4m ambos com sistema de rega gota-a-gota. Em Vila Viçosa o solo é originário de Xisto (Sr+Vx), de textura ligeira a mediana tal como nos Solos Argiluvitados. No pomar do Cano o solo é de origem calcária (Vcm) com abundância de carbonatos, com textura pesada (franco-argiloso).

Os dois porta-enxertos inter-específicos em estudo neste trabalho: Mariana GF8-1 e Mariana GF10-2, foram fornecidos pelo INRA-Bordeaux e enxertados com clone PUE 11 de ‘Rainha Cláudia Verde’ (*Prunus domestica* L.) seleccionado na Universidade de Évora. Este clone apresenta um bom vigor com ramificação média sendo resistente à moniliose. A floração ocorre, neste clone e nesta região, entre 20 e 25 de Março e a maturação dos frutos entre 8 e 15 de Julho (Barroso, 1990).

Segundo (Okei, 1987) os porta-enxertos Mariana GF8-1 e Mariana GF10-2 foram obtidos a partir do cruzamento entre *Prunus cerasifera* e *Prunus munsoniana* e posteriormente seleccionados pelo INRA na ‘Station de la Grande Ferrade’. Ambos os porta-enxertos apresentam boa afinidade com a ‘Rainha Cláudia Verde’, encontram-se bem adaptados a diversos tipos de solo conferindo bom vigor às árvores. O vigor avaliado com base na área seccional do tronco localizada 20 cm acima da zona de enxertia apresentou o porta-enxerto Mariana GF8-1, como o mais vigoroso, de entre os dois, observando-se no porta-enxerto Mariana GF10-2 uma redução média de vigor de 30% (Barroso, 1994). Segundo o mesmo autor não existem diferenças significativas

entre estes porta-enxertos no calibre induzido aos frutos, bem como na produção média verificada.

O pomar do Cano insere-se numa região em que o número de horas com temperaturas abaixo dos $7,2^{\circ}\text{C}$ se situa aproximadamente entre as 500 e 400 (indicado a vermelho na figura 6) horas enquanto que no pomar de Vila Viçosa se registam valores próximos das 600h (indicado a verde na figura 6). As necessidades em frio é uma característica genética de cada variedade que vai condicionar a quebra de dormência dos gomos e a entrada no novo ciclo.

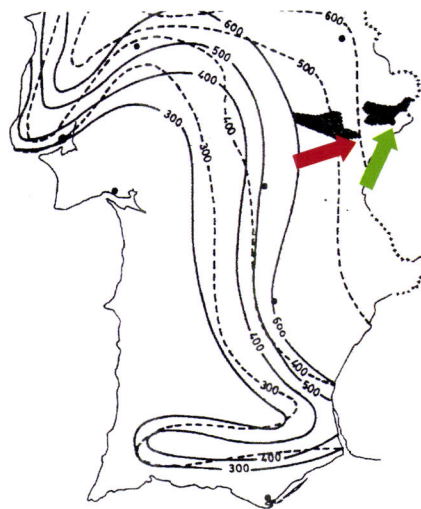


Fig. 5 - Isopletas da mediana e 2º decil do valor acumulado de horas de frio, ocorrido entre 1 Outubro e 30 de Março referente ao período de 1941 a 1966 – (Mediana ____; 2º Decil ___) (adapt. de Barroso, 1990).

No grupo das ameixeiras, a ‘Rainha Cláudia Verde’, é referida como tendo uma necessidade média de 800 horas de frio. Da observação da fig.6 verifica-se que em nenhum dos pomares em estudo, as necessidades de frio desta variedade, ficam completamente preenchidas na maioria dos anos. Relativamente a esta variável climática, o pomar do Cano é aquele em que esta variedade se encontra menos adaptada, verificando-se, por este motivo, um desfasamento fenológico entre os dois pomares de aproximadamente 10 dias na floração e maturação.

1.1.4 – Objectivos gerais e âmbito do trabalho

Inserida numa região heterogénea em termos edafo-climáticos, a variedade regional ‘Rainha Cláudia Verde’ desde sempre despertou algumas dúvidas a técnicos e agricultores, relativamente à definição da data da colheita comercial. Sendo uma variedade que está associada a um doce conventual e que faz parte da gastronomia regional, há muita informação dispersa, sendo a maior parte de carácter empírico. Entre outras particularidades é do conhecimento de quem produz o doce ‘Ameixa D’Elvas’, que nem todos os frutos se comportam de igual modo quando sujeitos à cozedura (fig.5), e para os mais experientes, esta é uma característica que se identifica nos frutos logo à colheita.



Fig. 6 - Processo de cozedura industrial dos frutos

De acordo com o conhecimento empírico da região, a falta de aptidão dos frutos para a cozedura encontra-se associada a determinadas zonas produtoras. Estes frutos quando cozidos, perdem a estrutura e desfazem-se ficando assim impróprios para serem processados.

A grande variabilidade genética desta população regional nunca permitiu estudar o problema de uma forma sistemática. Com a selecção clonal efectuada na década de 80 e a posterior expansão da cultura, ficaram reunidas as condições que permitiram estudar qual a verdadeira influência da localização do pomar no comportamento dos frutos durante a cozedura e posterior confitagem. Com a intensificação da cultura e o aumento da oferta surge, associado ao problema da cozedura, o problema da conservação dos frutos. Da mesma forma que a localização do pomar influencia o comportamento dos frutos face ao processo industrial, também se verificou que os frutos em fresco têm, após a colheita, comportamentos diferentes consoante a sua origem. Isto é, os frutos produzidos em determinadas zonas têm uma conservação pós-colheita inferior, apresentando rapidamente uma perda de consistência dos tecidos da polpa e um engelamento superficial da epiderme. Estes sintomas que são normalmente visíveis na generalidade dos frutos após a colheita, são mais intensos e ocorrem mais rapidamente em frutos de determinados pomares.

Este trabalho surgiu assim, da necessidade de conhecer melhorar alguns aspectos da colheita e conservação da ameixa ‘Rainha Cláudia Verde’ tendo em conta a localização do pomar. Os aspectos relacionados com o processamento não serão aqui abordados, sendo objecto de estudo de um trabalho de doutoramento realizado na Universidade de Aveiro.

1.2 – A maturação dos frutos**1.2.1 – Definição de conceitos**

Habitualmente o termo maturação utiliza-se para designar um conjunto de reacções fisiológicas que ocorrem nos frutos ou noutros órgãos edíveis tornando-os aptos a serem consumidos (Giovannoni, 2001). No entanto, são as expectativas dos consumidores face a um determinado produto que ditam as regras do seu consumo. No mercado da abundância muitas das exigências impostas para a qualidade, ou vêm explorar hábitos de consumo ou criar novos hábitos, obrigando a uma diversificação da oferta. A qualidade atribuída pelos consumidores está muito dependente dos seus hábitos de consumo, pelo que é difícil uniformizar parâmetros que permitam apresentar uma definição objectiva de maturação.

O termo de maturação comercial surgiu assim para definir um estado de desenvolvimento do órgão comestível à colheita, tendo em consideração as exigências específicas de cada mercado bem como o fim a que se destina. Fisiologicamente a maturação do fruto designa o estado de desenvolvimento da semente a partir do qual é possível dar origem a um novo indivíduo, não se considerando nesta definição a perspectiva do consumidor.

Na nomenclatura anglo-saxónica o termo ‘ripe’ que designa algo que está pronto, deu origem ao conceito de ‘fruit ripening’. Associado aos frutos carnudos, este conceito, designa um conjunto de reacções metabólicas que tornam os frutos mais atractivos e apetecíveis, facilitando assim a sua dispersão através de outros organismos (Giovannoni, 2001). A designação adoptada em português que melhor se adapta ao conceito de ‘fruit ripening’ é a de ‘maturação organoléptica’, na medida em que após esta fase os frutos, ou qualquer outro órgão edível, estão mais apetecíveis para o consumidor. Na ausência de um termo em Português que se aplique exclusivamente a frutos, é frequente em trabalhos de pós-colheita de frutos utilizar-se o termo ‘maturação’, como sinónimo de ‘fruit ripening’.

Nos frutos a maturação assinala o início da senescência não se identificando uma separação nítida entre estas duas fases (Grierson, 1987). As alterações que ocorrem nos frutos durante a maturação são, no geral, muito semelhantes entre espécies, no entanto há aspectos particulares da fisiologia da maturação que irão condicionar toda a

logística pós-colheita. A **produção de etileno**, o **crescimento dos frutos**, a **mobilização de reservas para o fruto**, e as **alterações da textura dos frutos** são alguns dos processos fisiológicas associados à maturação que mais condicionam a colheita e a conservação dos frutos.

1.2.2 – Produção de etileno

Métodos utilizados para a captação e detecção do etileno

A primeira constatação da existência do etileno foi feita por Dimitry Neljubow em 1901 que verificou que plantas que se desenvolviam anormalmente na presença do gás libertado pelos candeeiros de iluminação (Tiaz e Zieger, 2006). Só mais tarde com a utilização da cromatografia foi possível quantificar o etileno e reconhecer a sua importância enquanto hormona reguladora do crescimento nas plantas (Burg e Thimann, 1959).

Sendo um gás que se liberta facilmente dos tecidos vegetais, a captação do etileno libertado para posterior quantificação exigiu desde sempre a utilização da imaginação na obtenção de dispositivos específicos para cada tipo de material. Assim para a captação do etileno libertado pelos frutos pode optar-se por dois tipos de sistemas: sistemas abertos ou dinâmicos e sistemas fechados ou estáticos, em ambos os sistemas a colheita da amostra faz-se do interior do contentor através de um septo.

O sistema fechado consiste numa câmara estanque provida de um septo que irá conter durante um tempo limitado a amostra. A utilização deste tipo de sistema implica um conhecimento prévio da evolução da taxa de produção de etileno para a variedade estudada, na medida em que a amostragem é efectuada imediatamente antes da sua fase de acréscimos decrescentes, caso contrário a taxa poderá ter um valor estimado inferior ao real. Este tipo de sistema que se utiliza em muitas espécies (Candan *et al.*, 2008; Lelièvre *et al.*, 1995; Lippert and Blanke, 2004; Sekse, 1989; Tian *et al.*, 2002; Wild *et al.*, 2005; Zhou *et al.*, 2001), é mais fácil de instalar e exige menos material que os sistemas abertos. Há um outro tipo de sistemas fechados, em que nem todo o fruto se encontra dentro da câmara. Recorre-se a este tipo de sistemas quando os frutos são de

grande tamanho, como no caso do melão (Pech, comunicação pessoal), ou quando se pretende quantificar a produção de etileno em frutos ainda na árvore (Abdi *et al.*, 1997). Com este método, apenas uma zona do fruto é isolada do meio exterior através de uma pequena câmara provida de um septo. Ou ainda, como é também habitual em maçãs, utiliza-se a cavidade interior das sementes para se efectuar a colheita da amostra (Whale *et al.*, 2008). A quantidade de etileno vem expressa habitualmente em μl de etileno. $h^{-1}.g^{-1}$ e calcula-se a partir da expressão:

$$\mu\text{l de } C_2H_4.h^{-1}.g^{-1} = \mu\text{l de } C_2H_4 \times \text{Vol. do cont. } (\mu\text{l}) / [\text{peso da amostra (g)} \times t. \text{ de colh. (h)}]$$

Os sistemas abertos são constituídos por uma câmara onde os frutos estão sujeitos a uma contínua renovação da atmosfera interior através da utilização de uma bomba. Este sistema causa uma desidratação mais intensa dos frutos pelo que é frequente a humificação do ar circulante (Abdi *et al.*, 1997). Os valores dos fluxos de ar terão que ser previamente conhecidos e a quantidade de etileno calcula-se através da expressão:

$$\mu\text{l de } C_2H_4.h^{-1}.g^{-1} = \mu\text{l de } C_2H_4 \times \text{fluxo } (\mu\text{l/h}) / \text{peso da amostra (g)}$$

Os sistemas abertos apresentam uma avaliação mais natural da produção de etileno pelos frutos, na medida em que estes nunca estão sujeitos à ausência de oxigénio e podem utilizar-se em várias espécies (Bower *et al.*, 2003; Lara e Vendrell, 1998, 2003; Larrigaudière *et al.*, 1997; Lelièvre *et al.*, 1997).

Produção de etileno e respiração

A produção de etileno pode acontecer em qualquer região da planta, principalmente em zonas meristemáticas e influenciar a abscisão folhear e a senescência floral. Da mesma forma que qualquer tipo de ruptura da epiderme e situações de ‘stress’ fisiológico podem levar à síntese de etileno (Tiaz e Zieger, 2006). A produção de etileno associada à maturação assinala no entanto, o início de uma fase irreversível na fisiologia do fruto e que termina com a senescência, por isso é frequente nos trabalhos

de pós-colheita, registar o início desta mudança como uma referência do estado de maturação do fruto. Simultaneamente à produção de etileno é comum registar a produção de dióxido de carbono como indicador da actividade metabólica do fruto.

Durante a maturação ocorre a síntese de novos compostos tais como enzimas pectolíticas e compostos aromáticos, deste modo a taxa respiratória não é constante ao longo de todo o desenvolvimento do fruto e particularmente durante a maturação. A classificação dos frutos em climatéricos e não climatéricos tem como base não só a produção de etileno, mas também a evolução da actividade respiratória durante a maturação (Biale *et al.*, 1954). Os frutos climatéricos (tais como tomate, pêra abacate, maçã, ameixa, pêsego, pêra e banana) exibem um máximo na taxa respiratória que pode situar-se antes ou depois da fase óptima de consumo. Nos frutos climatéricos simultaneamente ao aumento da taxa respiratória há um aumento brusco da síntese de etileno, durante a maturação. Pelo contrário os frutos não climatéricos (tais como: morango, uva e citrinos em geral) exibem, durante a maturação, um decréscimo gradual na taxa respiratória e não se verifica um aumento brusco na síntese de etileno durante a maturação (Tucker, 1993). Uma outra característica comum aos frutos climatéricos é a síntese autocatalítica de etileno, em que a presença de pequenas concentrações deste gás na atmosfera envolvente induz a sua síntese (Burg e Burg, 1962). Este aspecto é particularmente importante durante a conservação frigorífica havendo a necessidade de ventilar as câmaras para reduzir os níveis de etileno.

Apesar de haver para a maioria das espécies de frutos, unanimidade quanto à classificação de climatérica ou não climatérica, há situações em que esta divisão é demasiado subjectiva. Bower *et al.* (2002) verificaram que em frutos antes da colheita, a relação entre a aplicação de etileno e o aumento da respiração não apresentava a evolução esperada. Também em kiwi Antunes e Sfakiotakis (2002a), e em pêra ‘Passe Crassane’ Lelièvre *et al.* (1997) verificaram que a produção de etileno não surgia naturalmente associada à maturação mas estava dependente das condições ambientais. De igual modo em algumas variedades de maçãs (Gussman *et al.*, 1993), pêras (Abdi *et al.*, 1998; Downs *et al.*, 1991), e algumas variedades de ameixas Japonesas, registaram-se baixas produções de etileno.

De acordo com Abdi *et al.* (1997) as ameixas Japonesas podem dividir-se em dois grupos de acordo com a produção de etileno e a taxa respiratória. Um grupo que se

caracteriza por baixas taxas respiratórias e baixos níveis de etileno produzidos no final da maturação denominado de variedades de climatérico reduzido e outro grupo que apresenta características próprias de frutos tipicamente climatéricos. O primeiro grupo apresenta uma capacidade de conservação pós-colheita superior, e os frutos mostram-se mais sensíveis à acção dos inibidores da síntese do etileno (Abdi *et al.*, 1998). Estes resultados foram confirmados posteriormente por Menniti *et al.* (2004) na variedade ‘Angelino’ (de climatérico reduzido) onde a aplicação do 1-MCP (1-metilciclopropeno) aumentou o período de conservação frigorífica relativamente a outras variedades de climatérico normal.

Quanto ao grupo Europeu a informação disponível relativamente à produção de etileno e taxas respiratórias das ameixas é escasso. Os níveis de etileno e dióxido de carbono produzidos por algumas variedades de *Prunus domestica* L. permitiram a Sekse (1989) identificar um padrão característico dos frutos climatéricos. Mais recentemente Lippert e Blanke (2004) classificaram a variedade ‘Hauszwetsche’ de *Prunus domestica* L. como climatérica.

Biossíntese de etileno e conservação frigorífica

O etileno é um hidrocarboneto muito simples do grupo das olefinas, apresenta-se como um gás com uma densidade menor que a do ar e é facilmente libertado pelos tecidos vegetais através dos espaços intercelulares (Tiaz e Zieger, 2006). O processo de biosíntese do etileno só começou a ser conhecido na década de 60 quando Liberman *et al.* (1966) sugeriram a metionina como o precursor deste hidrocarboneto, e mais tarde em 1967 Burg e Clagett (Burg, 1973) identificaram o composto S-adenosil-L-metionina (AdoMet), sintetizado a partir da metionina, como um composto intermédio da biosíntese do etileno. Posteriormente Adams e Yang (1979) identificaram o composto ACC (Ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano) como o precursor imediato do etileno. Actualmente considera-se ser esta reacção metabólica, o passo limitante na produção deste composto. Hoje em dia sabe-se que a enzima ACC sintetase (Boller *et al.*, 1979) catalisa a produção de ACC a partir da AdoMet e que, por sua vez, EFE (ethylene forming enzyme) mais tarde designada, ACC oxidase, catalisa a produção de etileno a partir do composto ACC (Hoffman e Yang, 1982).

A conservação frigorífica é utilizada com o objectivo de reduzir as taxas metabólicas dos frutos permitindo assim uma conservação mais duradoura. A redução da transpiração associada a menores taxas de respiração contribuem para uma diminuição da perda de água e de substâncias de reserva dos frutos. No entanto a tolerância às baixas temperaturas não é igual em todas as espécies (Wills *et al.*, 1998). As espécies de origem tropical e sub-tropical apresentam um intervalo óptimo de temperaturas de conservação geralmente acima de 12°C. Temperaturas inferiores, ainda que acima do ponto de congelação dos tecidos, podem provocar o aparecimento de danos nos frutos. Nas espécies da região temperada que apresentam uma maior sensibilidade ao frio destacam-se os pêsegos e nectarinas, onde se observaram danos pelo frio em frutos conservados a uma temperatura constante de 1°C (Lill, 1985). Observou-se também o aparecimento de danos pelo frio em pepino (*Solanum muricatum* Ait.) conservados a 1°C (Martinez-Romero *et al.*, 2003), assim como em aboborinha, designada também por ‘courgette’ (*Cucurbita pepo* L.) conservadas a 2,5°C (Baldañ-Quintana *et al.*, 2003). Na generalidade das espécies os danos provocados pelo frio só se tornam visíveis após a saída dos frutos para a temperatura ambiente e caracterizam-se por um aumento da permeabilidade das membranas celulares por alteração da sua estrutura lipídica (Lyons e Raison, 1970). Na maioria dos casos descritos - tangerina (Ghasemmezhad *et al.*, 2007; Lafuente *et al.*, 2003); beringela (Concéllon *et al.*, 2005); kiwi (Antunes e Sfakiotakis, 2002b), o aparecimento dos danos pelo frio vem associado a um aumento na produção de etileno. Por este motivo a aplicação de 1-MCP reduziu em algumas espécies a ocorrência deste tipo de danos por minimizar a produção de etileno (Koukounaras e Sfakiotakis, 2007; Manganaris *et al.*, 2008; Singh e Pal, 2008). Apesar da maioria das referências da bibliografia citar o aumento da produção de etileno como uma consequência dos danos provocados pelo frio, Zhou *et al.* (2001) verificaram em nectarinas que a conservação frigorífica para além de favorecer o aparecimento de frutos com sintomas de ‘lanosidade’ tinha como consequência uma redução na taxa de produção de etileno.

Nas ameixas Japonesas e dependendo da variedade, assim se pode observar uma incidência maior ou menor dos danos provocados pelo frio. Candan *et al.* (2008) verificaram que em algumas variedades de climatérico normal a incidência de danos em frutos conservados a 0°C era superior à observada em variedades de climatérico

reduzido, o que confirma a redução deste tipo de danos pela-utilização de inibidores da síntese de etileno. Os mesmos autores afirmam ainda que, nas variedades de climatérico normal, a incidência dos danos pelo frio poderá estar relacionada quer com a rápida activação da síntese de etileno durante a conservação no frio, quer com a elevada capacidade para sintetizar esta hormona, que se observou após a saída dos frutos para a temperatura ambiente. A produção de etileno induzida pelo frio também se observou em algumas espécies da região temperada sem que contudo se observasse ocorrência de danos nos frutos. Nas variedades de pêra de maturação mais tardia, tais como, ‘Bartlett’, ‘D’Anjou’ e ‘Passe-Crassane’ é usual a aplicação de um tratamento pelo frio para que a maturação ocorra normalmente (Agar *et al.*, 1999; Gerasopoulos e Richardson, 1997a; Lelièvre *et al.*, 1997). Em variedades de maçãs ‘Granny Smith’ e ‘Pacific Rose’, observou-se que o efeito dos tratamentos prévios pelo frio poderiam substituir os efeitos de um pré-tratamento por etileno, para que os frutos atingissem a consistência pretendida (Johnston *et al.*, 2002a; Lelièvre *et al.*, 1995).

A informação quanto aos efeitos do frio na produção de etileno nas ameixas do grupo europeu é praticamente inexistente. Guerra e Casquero (2008), num trabalho efectuado com a variedade ‘Green Gage’, também conhecida por ‘Rainha Cláudia Verde’, utilizaram temperaturas de 2°C para a conservação dos frutos sem que contudo tivessem referido alterações na qualidade dos frutos. Para a mesma temperatura de conservação, Lippert e Blanke (2004) na variedade ‘Hauszwetsche’ de ‘*Prunus domestica*’ observaram danos na epiderme dos frutos ao fim de 3 semanas de conservação, não tendo registado qualquer alteração na produção de etileno.

Na origem da resposta dos frutos ao frio estão as enzimas responsáveis pela síntese do etileno. Desde os finais da década de 80 que se conhece o efeito do frio em variedades de pêra mais tardias, no aumento da actividade das enzimas ACC oxidase e ACC sintetase (Blankenship e Richardson, 1985; Lara e Vendrell, 1998; Lelièvre *et al.*, 1997). Resultados semelhantes foram obtidos posteriormente noutras espécies: kiwi, manga, (Antunes e Sfakiotakis, 2002b; Lederman *et al.*, 1997). Mais recentemente verificou-se em maçã ‘Granny Smith’, que a activação da enzima ACC-oxidase a 20°C, após a acção do frio, induziu a produção de etileno e conseqüentemente um aumento da transcrição da ACC-sintetase levando ao aparecimento do climatérico. O frio parece ter efeitos diferentes sobre a actividade destas duas enzimas ainda que continue por

esclarecer qual das enzimas, ACC-oxidase ou ACC-sintetase é mais sensível (Lara e Vendrell, 2003; Larrigaudière *et al.*, 1997; Tian *et al.*, 2002; Zhou *et al.*, 2001).

1.2.3 – O crescimento do fruto e a mobilização das substâncias de reserva

A produção de frutos de grande calibre e a valorização destes no mercado, são aspectos bem conhecidos dos produtores. Dentro dos limites impostos pela variedade, o calibre final dos frutos pode ser melhorado através da utilização de várias técnicas culturais. Para a maioria das ameixeiras, uma boa gestão da rega e controlo do número de frutos é suficiente para que seja atingido um calibre razoável. Não havendo muita informação disponível relativamente à influência que o calibre tem na conservação dos frutos, principalmente na firmeza, é mais ou menos aceite que para a mesma variedade, frutos maiores apresentam uma dureza inferior. Este aspecto tem particular interesse quando se avaliam frutos de vários pomares sujeitos a diferentes intensidades de rega.

O crescimento da generalidade dos frutos segue uma curva sigmoide característica, que nas espécies da sub-família das prunoideas se apresenta como uma dupla sigmoide (Faust, 1989; Ognjanov *et al.*, 1995; Williamson e Coston, 1989). Este tipo de curva não é exclusivo das prunoideas e já foi descrito noutras espécies: figo, amoras, uvas e azeitona (Coombe, 1976).

O crescimento do fruto ocorre quer pela divisão celular quer pelo aumento do volume das células. Nas prunoideas a fase inicial corresponde à fase de multiplicação celular, a fase intermédia corresponde ao período de lenhificação do endocarpo e maturação do embrião (semente) em que praticamente não há crescimento do fruto, e a fase final corresponde ao aumento do volume das células. Esta última fase, segundo Faust (1989) contribui em cerca de 80 a 90% para o volume final do fruto. Nas prunoideas a duração da fase intermédia varia consoante a espécie e a variedade. Assim a curva de crescimento é praticamente uma sigmoide simples em variedades mais precoces, e apresenta-se como uma dupla sigmoide em variedades de maturação mais tardia.

O tamanho final dos frutos é muito variável entre espécies, e é definido essencialmente por factores genéticos. Dentro da mesma espécie a componente varietal tem de igual modo uma influência decisiva no calibre final dos frutos. Segundo Scorza *et al.* (1991), entre variedades de calibres diferentes, o aumento do calibre resulta de um maior número de células dos frutos e não de células com maior volume. Também as alterações ambientais que acontecem entre ciclos vegetativos vão por sua vez influenciar o crescimento da flôr, ficando assim condicionado o tamanho final do fruto. Cruz-Castillo *et al.* (2002) verificaram em kiwi que o calibre dos frutos está parcialmente definido desde a ântese. Faust (1989) refere que a maior parte do crescimento do fruto deve-se à fase de alongamento celular, pelo que é a água disponível no solo o factor que mais condicionará o seu calibre final. O estado hídrico da planta tem um efeito decisivo no crescimento final dos frutos. Segundo Coombe (1976) para haver aumento de volume da célula é necessário haver, entre outros factores, uma pressão de turgescência acima de determinado valor. Assim, quando a planta se encontra em condições de stress hídrico, o engrossamento dos frutos baixa rapidamente (Grange, 1996). Em fruteiras é frequente o recurso ao stress hídrico, principalmente durante a fase intermédia de crescimento do fruto, com o objectivo de controlar o crescimento vegetativo das plantas, e com benefícios evidentes na qualidade dos frutos nomeadamente no teor de sólidos solúveis totais (SST). O aumento da firmeza dos frutos e do teor de SST como consequência do stress hídrico moderado já foi constatado por alguns autores (Crisosto *et al.*, 1994; Kilili *et al.*, 1996). Segundo Mpelasoka *et al.* (2000) a densidade dos frutos, sujeitos a stress hídrico moderado, é igualmente superior quando comparada com frutos sujeitos a dotações de rega normais.

A contribuição do sistema radical na disponibilidade de água e nutrientes para a planta foi estudado por Williamson e Coston (1989) em pessegueiro. Estes autores constataram, ao comparar árvores com e sem frutos, que a presença destes reduzia significativamente o crescimento radical, que ocorre simultaneamente ao engrossamento do fruto. Isto limitará não só o engrossamento mas também a acumulação de reservas importantes para o crescimento da árvore no ano seguinte.

Simultaneamente ao aumento do volume das células, ocorre nos frutos uma degradação dos compostos pécticos da parede e como consequência um aumento dos espaços intercelulares. Nas pomoideas os espaços intercelulares dão uma contribuição



importante no tamanho final do fruto bem como no decréscimo da sua densidade específica, razão pela qual as maçãs apresentam na maturação densidades da ordem 0.79-0.89, e os pêsegos, pelo contrário, apresentam na maturação valores da ordem de 1.0-0.9 (Faust, 1989).

Além do calibre, outro dos factores que contribui para a qualidade dos frutos é o teor de SST. Esta característica associada a um bom calibre contribui para uma boa aceitação de qualquer variedade no mercado.

Os SST, nos frutos, são constituídos principalmente por açúcares (Wills *et al.*, 1998) o que justifica a preferência dos consumidores por frutos com o teor de SST elevado (Crisosto *et al.*, 1997). Para além dos açúcares, a grande contribuição para o sabor e aroma dos frutos é dada pela presença dos compostos voláteis e ácidos orgânicos (Tucker, 1993).

No início do seu desenvolvimento os frutos apresentam alguma capacidade fotossintética, ainda que limitada. À medida que o seu desenvolvimento decorre, esta capacidade vai-se perdendo da mesma forma que se observa frequentemente nos frutos uma perda gradual da coloração verde. Os frutos passam assim a depender dos fotoassimilados produzidos noutras regiões da planta (Tiaz e Zieger, 2006). A forma como estes fotoassimilados são mobilizados e se acumulam, varia bastante de espécie para espécie. Há espécies que mobilizam para o fruto, durante as primeiras etapas do crescimento, a maior parte dos açúcares, acumulando quantidades significativas de amido. Estas espécies, tais como as pomoideas de um modo geral, podem colher-se muito antes da maturação sem afectar a qualidade. Noutras espécies, tais como nas prunoideas, a acumulação de açúcares decorre durante toda a maturação pelo que a excessiva antecipação da colheita far-se-á sempre, nestas espécies, com custos na sua qualidade organoléptica (Tucker, 1993). O compromisso entre a antecipação da colheita, com benefícios visíveis para a conservação dos frutos, e a qualidade, está sempre presente durante a colheita da maioria das espécies das prunoideas. Dentro do grupo das ameixeiras, esta relação torna-se especialmente difícil de gerir nas variedades do grupo Europeu pela sua menor capacidade de conservação, quando comparadas com as ameixeiras Japonesas.

1.2.4 – Alterações da textura

Uma das formas mais comuns a que os consumidores recorrem, para terem uma percepção da qualidade dos frutos, é a avaliação da sua firmeza. Esta característica faz parte de uma noção mais vasta que se define como textura e que para a maioria dos consumidores não é fácil descrever. Segundo (Morais *et al.*, 2001) a textura de um produto alimentar corresponde a um conjunto de características físicas com implicações sensoriais que podem ser avaliadas pelo sentido do tacto, visão e audição, integrando assim na definição de textura os conceitos reológicos de deformação, elasticidade e plasticidade. Apesar destas propriedades físicas poderem ser avaliadas de forma objectiva através da quantificação das variáveis - tempo, força e distância, quando um consumidor descreve a textura de um alimento recorre a inúmeros atributos, muitas vezes difíceis de definir e quantificar.

A penetrometria é das técnicas mais antigas utilizadas na medição da textura em produtos alimentares e baseia-se na resistência à penetração de uma sonda de forma esférica, cónica ou cilíndrica (Morais *et al.*, 2001). No caso particular dos frutos frescos o teste mais divulgado para avaliação da firmeza é o teste de Magness-Taylor que avalia a força necessária para uma sonda cilíndrica atingir uma determinada profundidade na polpa. Este dispositivo é constituído por um dinamómetro associado à sonda que regista a força máxima exercida na penetração. A firmeza, definida como o valor da força máxima resultante da penetração da sonda na polpa do fruto, depende da taxa de deformação o que justifica que por vezes surjam para o mesmo produto valores diferentes de firmeza, consoante o operador (Abbott *et al.*, 1976).

Actualmente existem muitos outros dispositivos que dão informações mais completas acerca da textura dos frutos, como por exemplo o texturómetro. Este equipamento é constituído por um dinamómetro que fornece energia mecânica a taxa constante. A variação da textura do material é dada pela evolução da força, expressa em função da distância ou do tempo.

A firmeza dos frutos é considerada por Barreiro (1994), um importante atributo da textura sendo, segundo Morais *et al.* (2001), uma das propriedades físicas mais utilizada na avaliação instrumental da textura. Recentemente outras variáveis têm sido

utilizadas para descrever o comportamento físico dos frutos. Singh e Reddy (2006) utilizaram para além da firmeza, a energia de corte do fruto inteiro para caracterizarem o comportamento físico de laranjas após a colheita, da mesma forma que Guillermin *et al.* (2006) utilizaram a energia necessária para a ruptura da epiderme para caracterizar a textura de algumas variedades de maçã.

As alterações da textura dos frutos ocorrem durante todo o seu desenvolvimento não sendo exclusivas da maturação (Heyes e Sealey, 1996; Muskovics *et al.*, 2006). Em nectarinas (*Prunus persica* L.) estudadas 10 semanas antes da colheita, (Heyes e Sealey, 1996) observaram durante este período, decréscimos significativos na firmeza dos frutos. Após os testes de penetração, os frutos mais imaturos quando observados ao microscópio, mostraram ruptura das células, apresentando os frutos mais maduros, ruptura e separação das células. A contribuição simultânea destes dois fenómenos para a diminuição da firmeza dos frutos foi estudada em maçã por DeSmedt *et al.* (1998) e Harker e Hallet (1992) que concluíram de igual modo, que a contribuição da separação das células para a perda de textura aumenta com o aproximar da maturação.

Nos frutos imaturos, o aumento de volume das células provoca uma diminuição relativa da área de paredes celulares em cerca de 60%, o que justifica também os decréscimos na firmeza. A firmeza dos frutos à colheita depende, assim não só da área de paredes celulares existente mas também da adesão entre células (Heyes e Sealey, 1996; Johnston *et al.*, 2002b; O'Donoghue *et al.*, 1997). Em cereja (*Prunus avium* L.) a evolução da firmeza durante as várias fases do desenvolvimento dos frutos foi estudada por Muskovics *et al.* (2006) que verificaram que esta aumentava na primeira fase, decrescia na segunda fase até atingir um mínimo, mantendo-se depois praticamente constante na terceira fase.

A diminuição da firmeza dos frutos que ocorre durante a maturação, é das alterações da textura, a que mais influencia a decisão final do consumidor. Segundo Johnston *et al.* (2002b) a diminuição da firmeza dos frutos deve-se a dois fenómenos fundamentais: à **diminuição da pressão de turgescência das células** (Ψ) por perda de água após a colheita e à **degradação das paredes celulares**. Sendo este último, o factor que mais contribui para as alterações da textura dos frutos observadas durante a maturação (Tucker, 1993). A degradação das paredes celulares é um processo

bioquímico que tem início com a maturação, e que para a maioria das espécies, é independente da colheita. Pelo contrário, a perda de água só contribui para a diminuição da firmeza dos frutos após a colheita, quando a água perdida pela transpiração não é repostada pela planta.

Diminuição da pressão de turgescência

A perda de água após a colheita, apesar de não influenciar os processos fisiológicos do fruto, pode representar uma perda significativa do produto. Ainda que os frutos sejam dos produtos agro-alimentares, aqueles que menor superfície específica têm, as perdas de água podem atingir valores de 5-10% do seu peso inicial (Tucker, 1993). Shackel *et al.* (1991) constataram que imediatamente após a colheita os frutos perdem água, provocando alterações ao nível da textura, muito antes de se observarem mudanças na composição química das paredes celulares. Segundo Lin e Pitt (1986) os tecidos mais túrgidos quando sujeitos a forças de compressão cedem por ruptura das células, enquanto os tecidos menos túrgidos cedem por separação das mesmas. Imediatamente a seguir à colheita a saída da água dos frutos faz-se segundo um gradiente que se estabelece entre o fruto e a atmosfera envolvente. A forma mais eficaz para reduzir a saída de água é minimizar este gradiente, isto é diminuindo a temperatura ambiente ou aumentando a humidade relativa do ar. No entanto, associados às temperaturas baixas e humidades relativas altas durante a conservação, podem aparecer fenómenos de condensação sobre as superfícies arrefecidas. No caso particular dos frutos com pruína esta situação confere também um aspecto demasiado brilhante à epiderme, levando conseqüentemente a uma perda de qualidade.

Sendo a resposta dos frutos à aplicação de uma força de compressão dada pela deformação tanto das células, como da lamela média, e apresentando os conteúdos celulares a propriedade de serem relativamente incompressíveis, a aplicação desta força irá forçosamente aumentar a pressão de turgescência das células (Ψ). Segundo Lin e Pitt (1986) para valores de Ψ baixos, a aplicação de uma força aos frutos resultará na separação das células, e valores de Ψ mais elevados resultará na ruptura das células. No entanto a evolução da firmeza dos frutos após a colheita nem sempre acontece de acordo

com o modelo apresentado por Johnston *et al.* (2002b), em que se observam três fases: na primeira a perda de consistência dos tecidos dos frutos dá-se mais lentamente, a segunda em que esta perda é mais rápida, e a terceira em que se atinge um valor mais ou menos constante. Nos testes de compressão realizados em frutos, é frequente registarem-se, durante alguns dias após a colheita, valores sucessivamente crescentes para a força máxima. Murillo *et al.* (1997) verificaram em algumas variedades de pêssigo, ligeiros aumentos na força máxima de penetração ao fim de 24 h à temperatura ambiente. De igual modo Guerra e Casquero (2008), observaram numa variedade europeia de ameixa que ao fim de 10 dias de conservação frigorífica, a força máxima obtida nos testes de compressão apresentava uma tendência crescente relativamente aos valores obtidos à colheita.

Estas alterações da textura que têm origem nas diferenças da pressão de turgescência das células, podem ocorrer imediatamente a seguir à colheita, antes mesmo de haver alterações na composição química das paredes celulares. Nestas circunstâncias em que há saída de água das células, uma força de compressão aplicada ao fruto provocará uma deformação tanto maior quanto menor for Ψ o que torna mais difícil a ruptura das células com valores de Ψ reduzidos.

Degradação das paredes celulares

(a) As paredes celulares das plantas

As células vegetais distinguem-se das animais, entre outros aspectos, pela existência de uma parede celular. A parede celular é uma estrutura complexa que confere à célula uma relativa rigidez e possibilita a existência de elevadas pressões intracelulares. Nos organismos procariotas a parede celular tem duas funções principais: a manutenção do volume e da forma da célula. É ainda na parede celular que se localiza a maioria do carbono fixado na fotossíntese (Tiaz e Zieger, 2006).

Entre as várias funções da parede celular destacam-se: o controlo da expansão celular, a manutenção de uma estrutura rígida nas plantas e a protecção contra agentes

exteriores. A parede celular limita o crescimento das células e conseqüentemente o crescimento das plantas através de mecanismos complexos de regulação do processo de expansão. A capacidade de manutenção de uma estrutura mais ou menos rígida nas plantas, tem origem na capacidade que as paredes de células adjacentes têm de se fixarem entre si, denominando-se, esta zona de contacto entre paredes de células vizinhas, lamela média. A lamela média é maioritariamente constituída por polissacarídeos pécticos e é a primeira estrutura a formar-se após a divisão celular, só posteriormente se forma a parede celular primária. Esta é uma estrutura característica da generalidade das células em crescimento e assim que este cessa, a parede celular aumenta a sua espessura por deposição de outros constituintes sobre a parede celular primária, formando-se a parede celular secundária (fig.7). Esta difere da anterior quer pela sua espessura quer pela sua composição química e confere às células a sua forma final. A parede celular secundária apresenta na sua constituição 3 camadas (S1,S2,S3) de espessuras distintas que diferem entre si pela sua estrutura e composição química (Tiaz e Zieger, 2006).

O aparecimento da parede celular secundária corresponde à lenhificação típica dos tecidos vegetais, que acontece em algumas regiões especializadas tais como as células do xilema, do floema e do esclerênquima. Segundo Selvendran e O'Neil (1987) a lenhina pode representar 15-35% dos tecidos lenhificados. A deposição da lenhina tem início na parede celular primária e lamela média e estendendo-se para o interior da célula, onde se forma a parede celular secundária. Esta é constituída por celulose, polissacarídeos hemicelulósicos, lenhina e pode apresentar pequenas quantidades de polissacarídeos pécticos.

A parede celular secundária é o principal constituinte de algumas matérias primas economicamente importantes tais como, a madeira, a cortiça e o papel. De um modo geral os frutos, tais como outros tecidos parenquimatosos, sendo órgãos de reserva e portanto em crescimento, as células que os constituem apresentam apenas parede celular primária. No entanto, ainda que em menor quantidade, podem surgir na polpa dos frutos células lenhificadas, tais como os escleritos, típicas de algumas variedades de pêra e que, de acordo com Nunes *et al.* (2008a), podem também aparecer na ameixa 'Rainha Cláudia Verde'.

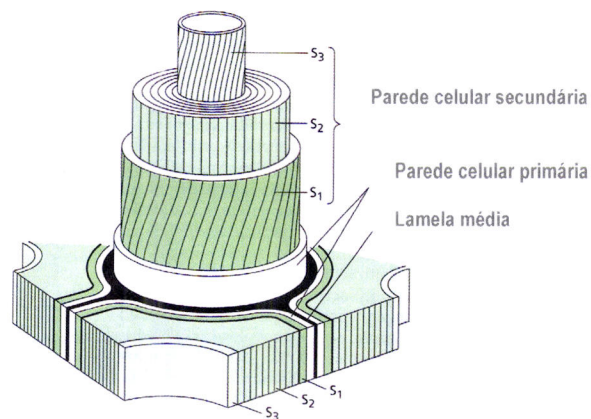


Fig.7 - Representação da parede celular secundária (com as 3 camadas distintas: S1, S2, S3) de um traqueídeo de uma pinha (adaptado de Tiaz e Zieger, 2006)

(b) Composição das paredes celulares

As paredes celulares apresentam uma arquitetura complexa, composta por uma estrutura microfibrilar com elevado grau de cristalização que está envolvida por matriz constituída principalmente por polissacarídeos não celulósicos, designando-se também por polissacarídeos hemicelulósicos e pécticos, algumas glicoproteínas e por vezes lenhina (Fischer e Bennett, 1991). A fase microfibrilar relativamente homogénea é constituída por moléculas de celulose formando uma rede de microfibrilas longas e finas .

Nas plantas superiores podem encontrar-se dois tipos de paredes celulares primárias. As do tipo I, característica da maioria das espécies mono e dicotiledóneas e as do tipo II que se encontram em determinadas famílias de gramíneas da ordem Poales, tais como a *Dactilis glomerata* L. e o *Lolium perene* L. da família das Poaceae. As paredes celulares primárias do tipo I são constituídas por microfibrilas de celulose

interligadas por xiloglucanas (hemicelulose) (fig.8). As paredes celulares primárias do tipo II apresentam em vez de xiloglucanas, glucuronoarabinoxilanas como polímero que interliga as microfibrilhas de celulose (Gibeaut e Carpita, 1994; Smith e Harris, 1999).

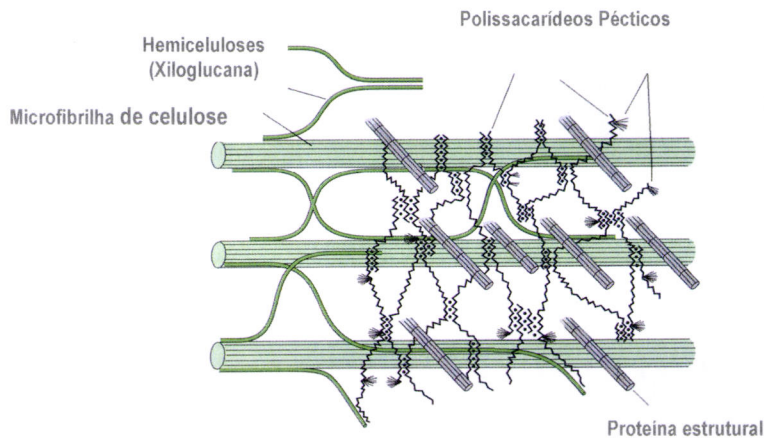


Fig.8 - Representação esquemática da estrutura da parede celular primária do tipo I com as microfibrilhas de celulose interligadas por xiloglucanas (adaptado de Tiaz e Zieger, 2006).

A maioria das células que formam os tecidos parenquimatosos dos frutos apresentam na constituição da sua parede celular, **celulose**, **polissacarídeos pécticos**, **polissacarídeos hemicelulósicos** e algumas **glicoproteínas** (Selvendran e O'Neil, 1987). A **celulose** é um polímero linear de glucose (*D-Glcp*) em ligação β -(1→4) e representa cerca de 20 a 30 % das paredes celulares primárias. Os resíduos de glucose agregam-se fortemente por pontes de hidrogénio, formando microfibrilhas que se agregam numa estrutura cristalina relativamente estável à acção enzimática. O grau de polimerização da celulose varia com o tipo de tecido, sendo muito mais elevado nas paredes celulares secundárias do que nas paredes celulares primárias (Coimbra e Delgadillo, 1997).

Os **polissacarídeos pécticos** constituem um grupo heterogéneo de compostos de complexidade variável e são os componentes principais das paredes celulares primárias das plantas dicotiledóneas e da lamela média, existindo aqui em maior concentração. Os polissacarídeos pécticos são por definição polissacarídeos que se solubilizam em agentes quelantes, água quente ou ácidos diluídos, ou não sendo extractáveis com estes agentes, lhes são quimicamente semelhantes. Quimicamente os polissacarídeos pécticos são constituídas por ácido D-galacturónico em cadeias lineares (GalpA) em ligação α -(1→4), podendo este apresentar-se metilesterificado (pectinas) ou desesterificado (ácidos pécticos). Associadas às cadeias de GalpA podem ainda surgir ramificações de arabinose e galactose.

Nas paredes celulares podem aparecer polissacarídeos pécticos (fig.8): as homogalacturonanas que consistem em cadeias lineares de ácido D-galacturónico em ligação α -(1→4) com grau de esterificação variável; as ramnogalacturonanas em que a cadeia principal para além de conter GalA pode ainda conter L-ramnose (Rha) em ligação α -(1→2). Os resíduos de GalA podem ser parcialmente esterificados por grupos metilo ou acetilados, podendo os resíduos de Rha ser em maior ou menor extensão substituídos por arabinose ou galactose. As xilogalacturonanas são polissacarídeos pécticos que podem aparecer na polpa dos frutos tal como foi constatado em maçãs por Schols e Voragen (1996), e mais tarde por Pena e Carpita (2004). Estes polissacarídeos pécticos apresentam uma cadeia principal de GalA com ramificações de D-xilose podendo apresentar um grau de ramificação variável (Le Goff *et al.*, 2001). Há outros polissacarídeos que fazem parte dos polissacarídeos pécticos que no entanto não possuem cadeia de ácido galacturónico, incluindo-se neste grupo as arabinanas, galactanas e arabinogalactanas. As galactanas e as arabinogalactanas apresentam ambas na cadeia principal, D-galactose (Gal) em ligação β -(1→4). Os componentes estruturais das paredes celulares primárias estão indicadas na Tabela 1.

As **hemiceluloses** são polímeros que se ligam às microfibrilhas de celulose através de pontes de hidrogénio e são extractáveis por soluções alcalinas de bases fortes (Selvendran e O'Neil, 1987). Geralmente apresentam uma cadeia principal relativamente comprida com ramificações curtas.

Tabela 1 - Componentes estruturais das paredes celulares primárias

Celulose	Microfibrilhas de β -(1→4)-D-Glcp
Polissacarídeos	Homogalacturonanas (pectinas e ácidos pécticos)
Pécticos	Ramnogalacturonanas
	Arabinanas
	Galactanas
	Arabinogalactanas (tipo I)
	Xilogalacturonanas
Hemiceluloses	Xiloglucanas
	Xilanas
	Glucomananas
	Mananas
	Glucuronoxilanas
	Glucanas
	Calose

(adaptado de Tiaz e Zieger, 2006)

A sua composição varia de acordo com a espécie e com o tecido analisado. As xiloglucanas são o polissacarídeo mais abundante em paredes celulares primárias de dicotiledóneas e gimnospérmicas e consistem numa cadeia principal de resíduos de D-Glcp em ligação β -(1→4) a maioria substituídos por D-xilose (D-Xylp). Podem ainda aparecer em menores quantidades resíduos de L-fucose (L-Fucp) e D-galactose (D-Galp) (Zarra e Revilla, 1996), e também resíduos de arabinose (Vierhuis *et al.*, 2001). As xilanas constituem um dos principais polissacarídeos das paredes primárias das gramíneas e dos tecidos lenhificados das angiospérmicas, sendo um dos principais componentes da madeira (Zarra e Revilla, 1996). As glucomananas são o principal polissacarídeo não celulósico das paredes celulares lenhificadas das gimnospérmicas. As mananas formam um grupo de polissacarídeos muito heterogéneo em que a manose é o componente maioritário e estão presentes nos tecidos de reserva de algumas sementes ou nos tecidos lenhificados de algumas gimnospérmicas. A calose é um polímero que aparece como resposta das células a feridas ou infeções por microorganismos, ou então associado a determinadas estruturas transitórias das plantas como as placas crivosas e o tubo polínico (Gibeaut e Carpita, 1994).

Além das hemiceluloses, as proteínas estruturais ou glicoproteínas podem apresentar nas paredes celulares primárias concentrações até 10%. Estas proteínas, também denominadas por extensinas, são ricas em hidroxiprolina. Porque estão implicadas no processo de extensão das paredes celulares, as extensinas, são fundamentais durante a germinação das sementes e maturação dos frutos, podendo estar também implicadas no processo de diminuição dos danos pelo frio observado nos frutos (Wang *et al.*, 2006).

Existem vários tipos de ligações entre os diferentes polímeros constituintes da parede celular. As microfibrilhas de celulose estabelecem entre si ligações por pontes de hidrogénio, tal como se verifica entre as microfibrilhas e as hemiceluloses. Ao contrário dos polissacarídeos das paredes celulares primárias, os polissacarídeos da lamela média têm ainda a particularidade de se associarem por intermédio de catiões, tais como o cálcio. Desta forma, os iões Ca^{2+} na lamela média vão ligar-se aos grupos carboxilo não esterificados do ácido galacturónico formando ‘cross-linking bridges’ ou ligações por pontes de cálcio, dando origem a uma estrutura conhecida por ‘egg-box’. Esta conformação liga de forma não covalente duas cadeias antiparalelas adjacentes. A ligação por pontes de cálcio, embora não seja das mais resistentes vão tornar as paredes estruturas mais sólidas (Tucker, 1993).

(c) Modificação da estrutura e composição das paredes celulares durante a maturação

Na maioria dos frutos, durante a maturação, ocorre uma perda de firmeza devido a alterações da estrutura e da composição da parede celular e lamela média (Brady, 1987; Fischer e Bennett, 1991). Estas alterações que ocorrem durante a maturação estão bastante bem estudadas em tomate (Chun e Huber, 1998), pêssigo (Brummell *et al.*, 2004), maçã (Pena e Carpita, 2004), azeitona (Mafra *et al.*, 2007), sendo no entanto escassa a informação disponível para o grupo das ameixeiras. Estas alterações provocam nos frutos um aumento da susceptibilidade quer aos danos físicos quer aos agentes patogénicos, limitando assim a sua conservação frigorífica.

Nas espécies da região temperada há um grupo que se destaca quer pela duração do período de conservação frigorífica quer pelo conjunto das alterações das paredes celulares associadas à maturação. A generalidade das variedades de pêras e maçãs, por oposição à maioria das espécies de prunoideas, apresentam características fisiológicas particulares que lhes permitem serem conservadas com qualidade durante vários meses. Dentro do grupo das ameixeiras japonesas há no entanto variedades que se destacam pela maior duração da sua conservação frigorífica. A variedade ‘Angeleno’, por exemplo, pode em condições normais, atingir facilmente 3 meses de conservação frigorífica apresentando no final uma perda de consistência da polpa moderada. Pelo contrário as variedades de ameixas do grupo europeu, assim como as restantes espécies de prunoideas apresentam uma menor capacidade de conservação frigorífica, tal como a variedade ‘Rainha Cláudia Verde’ que ao fim de três semanas de conservação pode apresentar uma excessiva perda de consistência da polpa.

Segundo Bourne (1979) os frutos podem ser divididos em dois grupos, de acordo com as alterações da textura verificadas na polpa durante a maturação: aqueles que apresentam um amolecimento excessivo, pêsegos, ameixas, kiwi, e aqueles que, pelo contrário, apresentam um amolecimento moderado, maçãs, melancia e algumas variedades de pêra. Conhecem-se diferentes origens para as mudanças de textura dos frutos ao longo do crescimento e maturação. Diferenças observadas no número e tamanho das células da polpa dos frutos, turgidez, composição celular e constituição das paredes celulares são alguns dos factores que condicionam a textura dos frutos no final da maturação.

A solubilização e a despolimerização são os processos através dos quais, durante a maturação se dão as modificações dos polissacarídeos das paredes celulares sendo a extensão destes processos um dos factores que contribuem para o amolecimento da polpa dos frutos. Os compostos pécticos da lamela média e das paredes celulares dos frutos imaturos são insolúveis em água tornando-se cada vez mais solúveis com a maturação. Há muito que se conhece a relação directa que existe entre o aumento da solubilização das pectinas associado à diminuição da cadeia de ácido galacturónico e o amolecimento da polpa da pêra da variedade ‘Spadona’ (Ben-Arie *et al.*, 1979a). Razão pela qual Ahmed e Labavitch (1980), observaram nos extractos aquosos de pêras

sucessivamente mais maduras um aumento da concentração de GalA e Ara, esta provavelmente proveniente das cadeias laterais dos resíduos de Rha das ramnagalacturonanas das paredes celulares primárias. No entanto a perda intensa de Ara antes do amolecimento dos frutos foi observada por Pena e Carpita (2004) em quatro variedades de maçã, parecendo indicar que a perda de Ara da parede não será a causa directa da diminuição da firmeza do fruto.

Segundo Toivonen e Brummell (2008), a degradação das cadeias de laterais ricas em arabinose das ramnagalacturonanas, não sendo directamente responsáveis pelo amolecimento da polpa, aumentam a porosidade da lamela média tornando os polissacarídeos mais acessíveis à acção das enzimas degradativas. Por outro lado Brummell *et al.* (2004) observaram em variedades de pêsego com amolecimento da polpa na maturação, conhecidas por variedades ‘melting’, que a maior perda de arabinose ocorria nesta fase. De igual modo Pressey e Avants (1978) ao comparar variedades de pêsego com e sem amolecimento da polpa na maturação, verificaram que os polissacarídeos pécnicos destas últimas apresentavam baixas capacidades de solubilização e despolimerização. No entanto Pena e Carpita (2004) detectaram em maçã duas populações de arabinanas com diferentes níveis de ramificação, sendo a mais ramificada mais sensível à acção das enzimas degradativas.

Também as alterações nos polissacarídeos hemicelulósicos têm sido referidas como contribuindo para a perda de textura dos frutos que apresentam um amolecimento excessivo durante a maturação. Em algumas espécies observou-se associado à maturação, um decréscimo no peso molecular dos polissacarídeos hemicelulósicos (Huber, 1984; Paull *et al.*, 1999). Pelo contrário Percy *et al.* (1997), não observaram em maçã durante a maturação, alterações no tamanho destes polímeros, no entanto sugerem a existência de hidrólise e síntese *de novo* de novas xiloglucanas durante o crescimento do fruto, o que deve ter contribuído para as reduzidas alterações do peso molecular verificada nos polissacarídeos hemicelulósicos.

Estes resultados sugerem que o amolecimento da polpa é o resultado de várias modificações que ocorrem nas paredes celulares durante a maturação, não se conseguindo isolar um só factor que seja comum a várias espécies e que só por si justifique as diferenças apontadas por (Bourne, 1979).

Têm sido identificadas, nos frutos e durante a maturação, várias enzimas capazes de degradar os polímeros das paredes celulares, destacando-se as poligalacturonases (PG), as pectinametilsterases (PME) e as Cx-celulases (Ahmed e Labavitch, 1980; Bourains e Niavis, 1992; Brady, 1987; Fischer e Bennett, 1991; Heyes *et al.*, 1994; Wegrzyn e MacRae, 1992). Outras enzimas que degradam as paredes celulares têm sido identificadas embora com menor importância tal como a β -galactosidase (β -gal) (Ahmed e Labavitch, 1980; Wegrzyn e MacRae, 1992).

As PME actuam removendo o grupo metilo do ácido galacturónico das pectinas. As PG catalisam a hidrólise da ligação α -(1→4) entre resíduos adjacentes não metilados de ácido galacturónico. Estas duas enzimas podem actuar em sequência, isto é, a PME actua primeiro tornando as pectinas acessíveis à acção da PG. Esta sequência de acontecimentos ocorre na maturação, o que leva a uma diminuição primeiro do grau de esterificação das pectinas e posteriormente do tamanho das moléculas (Zhou *et al.*, 2000). Segundo Willats *et al.* (2001) a PME é a enzima mais importante que intervém na manutenção e degradação da rede péctica existente na lamela média e parede celular primária. Das PG identificadas em frutos já foram caracterizadas as formas endo e exopoligalacturonases, ainda que em determinadas espécies ambas as formas já tenham sido identificadas simultaneamente é a endopoligalacturonase que é referida como responsável pelo amolecimento dos frutos durante a maturação. As Cx-celulases caracterizam-se por hidrolisar a ligação β -(1→4) entre resíduos adjacentes de glucose, sendo incapazes de degradar a celulose cristalina (Fischer e Bennett, 1991).

A presença da PG tem sido identificada em várias espécies: maçã e pêra (Ben-Aire *et al.*, 1979b), tomate (Crookes e Grierson, 1983), kiwi (Wegrzyn e MacRae, 1992), pepino (Heyes *et al.*, 1994; Heyes e Sealey, 1996), cereja (Andrews e Li, 1995), ameixa (Nunes, *et al.*, 2008b), e o aumento da sua concentração parece estar correlacionado com a despolimerização dos polissacarídeos pécticos. Estudos efectuados em tomate transgénico (antisense para a PG) revelaram que estes frutos, com níveis mais baixos de PG, apresentaram uma menor solubilização das pectinas quando comparados com frutos normais (Carrington *et al.*, 1993). O acelerar da maturação observado em tomate, provocada pela adição de PG extraída e purificada a partir de frutos mais maduros, confirmam a sua importância na perda de textura observadas nesta

espécie (Crookes e Grierson, 1983). De igual modo Heyes *et al.* (1994) verificaram que em pepino, apesar de serem vários os factores que contribuem para a perda de textura dos frutos durante a maturação, a actividade da PG é um dos que mais contribui para a perda de firmeza dos tecidos.

Embora a PG seja a enzima mais estudada no amolecimento dos frutos, este não tem origem exclusivamente na acção desta enzima. Ben-Aire *et al.* (1979b), observaram durante a maturação de pêras da var. ‘Spadona’ que para a degradação da parede contribuíam não só a PG mas também a celulase. Smith *et al.* (1989), verificaram que em tomate (antisense para a PG) o amolecimento da polpa ocorria de igual modo, mesmo quando a concentração de PG se encontrava reduzida para valores de 1% da concentração das variedades comuns. Tal como Mitcham e McDonald (1992), verificaram em mangas que só a actividade da enzima PG não explicava a acentuada perda de firmeza observada durante a maturação desta espécie, também em nectarinas o aumento dos ácidos urónicos na fracção péctica solúvel em água, verificado após a conservação frigorífica não apresentou, segundo Manganaris *et al.* (2005), uma correlação directa com a actividade da PG. Este facto parece indicar que outros factores, que não só a actividade enzimática, participam na modificação das pectinas da lamela média durante a maturação dos frutos. Lester *et al.* (1994), verificaram em variedades de pêsego sem amolecimento da polpa na maturação, existir uma insignificante actividade da PG, embora a transcrição ocorra normalmente, parece haver alterações ao nível da sequência das bases no RNA que impede a produção desta enzima.

É uma constatação frequente que variedades que amadurecem rapidamente têm também uma rápida perda de firmeza. Não há informação conclusiva acerca da origem das alterações que ocorrem nas paredes celulares dos frutos bem como de outros acontecimentos associados à maturação. Segundo Brady (1987), a produção de etileno verificada durante a maturação em algumas espécies poderá induzir a produção de enzimas hidrolíticas das paredes celulares. Em tomate Ahrens e Huber (1990), verificaram que a actividade da PG estava bastante correlacionada com o máximo de produção de etileno, no entanto Wegrzyn e MacRae (1992), constataram em kiwi que a indução das enzimas PG e β -gal como resposta à aplicação de etileno aos frutos, não foi tão evidente como seria de esperar nesta espécie. Por outro lado em pepino, fruto

não climatérico, registou-se imediatamente após o aumento da actividade enzimática da PME e PG a mudança de cor dos frutos que assinala o início da maturação (Heyes *et al.*, 1994). De igual modo em variedades não climatéricas de cereja, foi registado um aumento da actividade da PG no início da maturação (Andrews e Li, 1995). O registo de actividade enzimática da PME e PG em frutos não climatéricos parece indicar que outros factores além do etileno poderão estar envolvidos na indução enzimática.

Há alterações da textura das paredes celulares que não sendo características da maturação, estão associadas a problemas da conservação e que parece terem origem na acção das enzimas PG e PME. Verificou-se em pêsego que após a conservação frigorífica, a actividade da PME aumentava e simultaneamente ocorria uma inibição da PG o que originou o aparecimento de sintomas de ‘lanosidade’ da polpa dos frutos. A ‘lanosidade’ é uma desordem fisiológica que resulta da acumulação de pectina com baixo nível de esterificação (Zhou *et al.*, 2000). Segundo estes autores, o baixo nível de esterificação originou uma gelificação das pectinas e como consequência uma imobilização da água livre dos frutos, conduzindo à aparente falta de sumo, característica desta desordem fisiológica. Esta situação pode ser ainda agravada pela presença de iões cálcio por terem a capacidade de aumentarem a gelificação das pectinas. Estes resultados foram também confirmados em nectarinas por Manganaris *et al.* (2005) que verificaram um aumento desta desordem fisiológica com períodos de conservação frigorífica superior a 2 semanas. No entanto, a recuperação da actividade da PG observada em períodos de conservação inferiores, levou à degradação das pectinas e consequentemente à ausência de sintomas de ‘lanosidade’ da polpa dos frutos.

1.2.5 - Factores culturais que afectam a qualidade dos frutos

São inúmeros os factores que podem influenciar a qualidade dos frutos no final da maturação. A intensidade luminosa e a temperatura, a produtividade das árvores, a intensidade da monda e da rega, são alguns dos factores que influenciam a qualidade (Johnston *et al.*, 2002b). No âmbito deste trabalho serão referidos, como factores mais importantes, a **disponibilidade de nutrientes**, e o **efeito do porta-enxerto**.

Disponibilidade de nutrientes

A fertilização do pomar é dos factores culturais aquele que mais directamente actua na qualidade dos frutos. Em particular o *azoto*, o *potássio* e o *cálcio* são de todos os nutrientes aqueles que mais influência têm na textura dos frutos (Sams, 1999).

(a) Azoto

Há muito que se conhece o efeito negativo na qualidade dos frutos, das adubações azotadas efectuadas após ter cessado o crescimento vegetativo das árvores (Faust, 1989). As consequências do excesso de azoto ou de adubações mal planeadas podem ser observadas quer na textura dos frutos quer na sua composição química (Raese *et al.*, 2007; Vizzotto, 1999). Apesar das adubações azotadas aumentarem a quantidade de matéria seca (Cmelik, 2006), e desta ser uma resposta tipicamente conhecida, Jakopic *et al.* (2007), detectaram em maçã ‘Golden Delicious’ uma diminuição dos níveis de sacarose e frutose bem como um aumento da acidez dos frutos, com o aumento da adubação azotada. Também Opara (2007) detectou um aumento da susceptibilidade aos danos físicos em maçã com o aumento da adubação azotada e Parisi (2004) observou uma diminuição dos SST, do pH e dos níveis de glucose e frutose, em tomate sujeito a níveis elevados de adubação azotada.

O azoto é absorvido pelas plantas sob a forma de nítrica e amoniacal. De um modo geral a forma amoniacal é incorporada nos aminoácidos enquanto a nítrica é a forma móvel que pode ser utilizada por qualquer órgão da planta. Independentemente da forma absorvida o azoto é muito utilizado pelas raízes o que requer grandes quantidades

de hidratos de carbono que são mobilizados para as raízes. Esta é a razão pela qual a absorção de azoto começa só depois do crescimento vegetativo se ter iniciado, depois de haver já a produção de fotoassimilados, e decresce quando começa a senescência folhear (Faust, 1989). A importância das reservas de azoto na rebentação da primavera foram constatadas em maçãs por Cheng e Fuchigami (2002), que verificaram que havia uma correlação linear e positiva entre o azoto acumulado na árvore na estação anterior e a quantidade de azoto mobilizado para os crescimentos folheares e florais do ano seguinte. De igual modo, Grassi *et al.* (2003), confirmaram também em cerejeira a relação entre as reservas de azoto e a rebentação da Primavera do ano seguinte.

O azoto é um dos nutrientes que pode alterar composição química das paredes celulares das plantas. Pitre *et al.* (2007) constataram numa espécie de choupo que a estrutura química da lenhina pode ser afectada por excesso de adubação azotada, apresentando este polímero uma redução no número das unidades envolvidas nas ligações β -(O \rightarrow 4) assemelhando-se assim à lenhina formada nas árvores jovens.

(b) Cálcio

O cálcio é um catião de dimensões relativamente grandes, sendo o tamanho do seu ião hidratado de 0,412 nm. É um elemento essencial para as plantas pois está envolvido na estabilidade estrutural das paredes celulares. A presença deste catião pode atingir na matéria seca valores de 10% sem contudo causar toxicidade (Marschner, 1995). Nas plantas, e ao contrário dos outros macronutrientes, o cálcio encontra-se fundamentalmente localizado nas paredes celulares (Faust, 1989). Este facto deve-se quer à capacidade que as cadeias helicoidais de ácido poligalacturónico da lamela média têm de se condensar por pontes de cálcio (Tucker, 1993), quer à pouca mobilidade que este elemento tem para se deslocar (Marschner, 1995). Segundo Reid e Smith (1992), a razão entre o cálcio da parede e o cálcio do citoplasma na espécie *Chara corallina* é de 6:1. Embora em menor concentração, o cálcio também se encontra na zona exterior da membrana plasmática, no retículo endoplasmático e nos vacúolos em conjunto com os ácidos orgânicos e outros iões. É também nos vacúolos das células que se localiza a maioria do cálcio solúvel em água. A presença de Ca²⁺ no citoplasma é baixa devido à actividade dos transportadores de cálcio que se situam nas membranas celulares e

removem este ião para o exterior das células ou o depositam no retículo endoplasmático, no cloroplasto ou no vacúolo (Marschner, 1995). Chardonnet *et al.* (2003) observaram em maçãs sujeitas a 6 meses de conservação que a concentração do cálcio total se mantinha estável, enquanto que a concentração do cálcio da parede triplicava, sugerindo ainda que esta redistribuição é um processo natural que decorre durante a conservação.

Foi De Long em 1936 quem primeiro referiu que a susceptibilidade das maçãs ao ‘Bitter pit’, desordem fisiológica da conservação, estava relacionada com a baixa concentração de cálcio nos frutos (Fuller, 1976). Desde então têm sido referidos vários aspectos do metabolismo dos frutos associados à carência deste elemento, sendo a firmeza aquele que mais beneficia pela presença do cálcio. A relação directa entre o aumento da firmeza dos frutos e o aumento da quantidade de cálcio nos frutos foi constatada em várias espécies: tais como morango (Chéour *et al.*, 1991), pêsego (Ochei *et al.*, 1993), maçã (Chardonnet *et al.*, 2003; Mason *et al.*, 1975; Sams e Conway, 1993), papaia (Qiu *et al.*, 1995), kiwi (Gerasopoulos *et al.*, 1996), pêra (Gerasopoulos e Richardson, 1997b), melão (Luna-Guzmán *et al.*, 1999), ameixa (Vangdal e Borve, 2002). No entanto outros aspectos do metabolismo dos frutos são influenciados pela presença maior ou menor deste catião. Chéour *et al.* (1990), observaram em morango um atraso na maturação, expressa em função dos SST e da acidez, com o aumento do cálcio na parede celular. A evolução do climatérico também pode ser alterada pela presença de cálcio nos frutos. Gerasopoulos e Richardson (1996,1997b) observaram em pêra da variedade ‘d’Anjou’ um atraso no climatérico associado aos frutos com mais cálcio. Tanaka *et al.* (1998), a partir da adição de compostos antagonistas da calmodulina, estudaram a produção de etileno em pêra concluindo que a conversão de ACC a etileno era inibida pela presença daqueles compostos.

A capacidade que o ião cálcio tem de se ligar aos grupos carboxilo dos polissacarídeos pécticos da lamela média confere-lhe uma função de estabilização na estrutura das paredes celulares (Demarty *et al.*, 1984), tornando assim os polímeros da parede celular menos acessíveis à acção das enzimas degradativas, da mesma forma que dificulta a sua solubilização em soluções aquosas. Apesar de não ter obtido uma boa correlação entre o cálcio do fruto e a firmeza Facticeau (1982), observou uma redução da fracção de pectinas solúveis em água em frutos de cerejeira mais firmes

comparativamente a outros menos firmes. Apesar destes resultados poderem indicar um maior conteúdo em cálcio nos frutos mais firmes, a correlação entre a quantificação de cálcio nos frutos e a firmeza foi relativamente baixa.

Para além do efeito nas paredes celulares, o cálcio tem também um efeito semelhante na estabilidade das membranas celulares através das ligações aos grupos fosfato e carboxilo dos fosfolípidos, e às proteínas localizadas à superfície das membranas (Marschner, 1995). Fuller (1976), constatou que frutos de laranja com menor concentração de cálcio na polpa apresentavam no final da conservação uma desorganização maior da membrana plasmática e da membrana nuclear. De igual modo Picchioni *et al.* (1996), verificaram em cenoura que aplicações de cálcio após a colheita preservaram não só a estrutura lipídica das membranas celulares, mas também favoreceram a sua reconstrução. Também Lester (1996) observou em melão que a aplicação de cálcio a pequenas porções da polpa induzia um atraso na perda dos fosfolípidos e proteínas constituintes da membrana plasmática. Além do efeito na estabilidade, o cálcio permite também uma melhoria na permeabilidade das membranas, tornando-se a sua presença fundamental em condições de salinidade moderada. Tuna *et al.* (2007), observaram em tomate cultivado na presença de NaCl, que a concentração elevada de Ca^{2+} na solução externa reduzia a permeabilidade da membrana plasmática ao Na^+ , favorecendo desta forma a qualidade dos frutos.

A nutrição cálcica apresenta aspectos particulares quer pelo facto de ser nos frutos que se faz sentir mais a sua carência quer pela baixa mobilidade que este catião apresenta. Este ião ao contrário do azoto, fósforo e potássio é muito pouco móvel na planta. O transporte do cálcio da solução externa através das paredes celulares das células das raízes é, tal como para os solutos de baixo peso molecular (iões, ácidos orgânicos, aminoácidos e açúcares), um processo passivo. Enquanto estrutura microfibrilar, as paredes celulares primárias contêm poros que permitem a passagem de iões sem oferecer qualquer tipo de resistência. Esta particularidade resulta da dimensão dos poros que se apresenta muito superior ao tamanho dos iões hidratados. Assim iões do tamanho do Ca^{2+} e K^+ irão ocupar apenas 10 a 20% do espaço livre do poro. Embora o tamanho dos poros não represente barreira selectiva para os solutos de baixo peso molecular, existe uma determinada selectividade nos iões que

preferencialmente se ligam às paredes celulares. Os grupos carboxílicos ($R.COO^-$) dos polissacarídeos pécticos das paredes celulares, constituem os locais de troca onde os catiões se irão ligar. O número de locais de troca é muito variável entre espécies, o que resulta em diferentes capacidades de troca catiónica. Também as espécies dicotiledóneas apresentam uma maior afinidade para os catiões bivalentes em comparação com os monovalentes (Marschner, 1995). Apesar da selectividade existente nos locais de troca das paredes celulares, a selectividade na absorção de iões e na difusão de solutos, é em geral exercida, ao nível celular, pela membrana plasmática e pelo tonoplasto. Segundo Marschner (1995) esta selectividade é visível nas diferentes velocidades de transporte que os iões Ca^{2+} e K^+ têm ao atravessar a membrana plasmática e o tonoplasto, sendo a velocidade deste último muito superior.

De uma forma geral os iões, após atingirem a raiz, serão transportados através do simplasto e do apoplasto até ao xilema (Tiaz e Zieger, 2006). Foram os trabalhos de Raven (1977) que permitiram constatar a relativa imobilidade do cálcio no floema e no simplasto, concluindo assim que o transporte deste catião através das células vivas era praticamente inexistente. Actualmente considera-se que o transporte deste catião ocorre fundamentalmente através do apoplasto até atingir o xilema onde percorre as maiores distâncias na planta. Segundo Saure (2005), o movimento do cálcio no xilema parece ter origem em três processos diferentes e que poderão actuar conjuntamente, são eles: a pressão negativa provocada pela transpiração; a translocação do cálcio no xilema através da ligação aos polissacarídeos pécticos das paredes do xilema e a existência de pressão radicular, sendo esta última mais importante no início do ciclo vegetativo quando ainda não existe transpiração.

No solo, o ião Ca^{2+} adsorvido no complexo de troca constitui geralmente o catião predominante sendo a principal fonte de cálcio para as plantas. De um modo geral as deficiências de cálcio nas plantas não são frequentes a não ser nos solos muito ácidos (Quelhas dos Santos, 1996). No entanto a disponibilidade de um ião não depende unicamente das suas características físico químicas. Em condições naturais são de esperar fenómenos de competição entre iões com a mesma carga. Estes fenómenos ocorrem com mais intensidade à medida que o tamanho dos iões se aproxima (Marschner, 1995). Um dos casos frequentemente referidos na bibliografia é a

competição entre K^+ e Ca^{2+} em pastagens de leguminosas e gramíneas quando ocorre um excesso de adubação cálcica. Nestas circunstâncias, e considerando as capacidades de troca catiónica radicular de ambas as culturas, um excesso de cálcio no solo levará a uma redução na absorção de potássio nas dicotiledóneas, enquanto as monocotiledóneas não apresentarão qualquer sintoma (Quelhas dos Santos, 1996). Estes dois catiões em conjunto podem ter igualmente um efeito negativo sobre a absorção de Mg^{2+} , pelo que é frequente ocorrer deficiência de magnésio em culturas sujeitas a adubações excessivas de cálcio e potássio isto porque é muito pequena a força de retenção nos locais de troca para o ião Mg^{2+} . De igual modo, catiões que sejam rapidamente transportados através da membrana plasmática, tal como o K^+ , podem reduzir a absorção de outros catiões que tenham velocidades de transporte inferiores, tais como o Ca^{2+} e o Mg^{2+} (Marschner, 1995). De um modo geral no solo as concentrações de K^+ são baixas quando comparadas com as concentrações dos iões Ca^{2+} e Mg^{2+} . À medida que a concentração aumenta, a relação entre a taxa de absorção e a concentração externa de alguns catiões, assume segundo Marschner (1995) uma função do tipo apresentado na figura 9. Em condições de elevada concentração de K^+ relativamente ao Ca^{2+} , ainda que menos frequentes do que a situação contrária, é provável que a absorção de cálcio seja afectada.

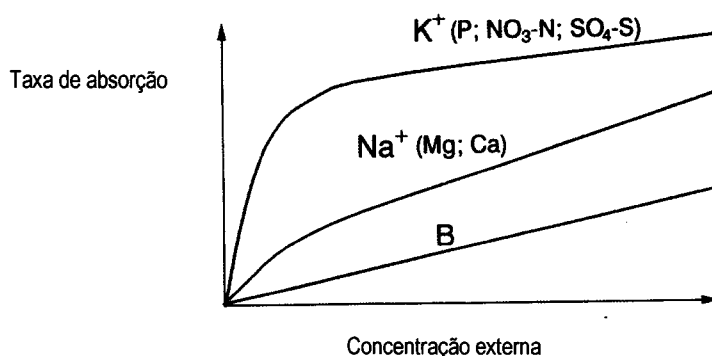


Fig.9 - Variação da taxa de absorção de vários catiões com a concentração externa (Marschner, 1995).

Segundo Saure (2005), os resultados da quantificação do cálcio nos frutos apresentam grandes variações, não existindo uma boa correlação entre a quantidade de cálcio presente nas folhas e a quantidade presente nos frutos (Faust, 1989). As determinações do cálcio efectuadas em duas variedades de morango por Chéour *et al.*, (1991), mostraram que a comparação dos valores da concentração de cálcio na matéria seca apresentava, para folhas e frutos, tendências contrárias. Na origem destes resultados Saure (2005), identificou o calibre dos frutos como sendo um dos factores que influencia os valores da concentração de cálcio assim como o facto de não haver uma metodologia padrão para a análise de frutos, que defina por exemplo se os frutos são analisados com ou sem epiderme. Segundo Faust (1989), com o crescimento do fruto a concentração de cálcio vai diminuindo, apesar do valor absoluto deste catião se manter constante, pelo que nos frutos maiores haverá um efeito de diluição superior relativamente aos frutos mais pequenos. De modo a minimisar as variações entre frutos Saure (2005), defende a amostragem de menos frutos num número maior de árvores. De igual modo, a forma como vêm expressos os resultados é outro dos factores que contribui para esta disparidade de resultados. O cálcio dos frutos é expresso geralmente em função da matéria seca (Sánchez-Alonso e Lachica, 1987) ou da matéria fresca (Gerasopoulos e Richardson, 1997b; Qiu *et al.*, 1995). Em ambos os casos o conteúdo determinado vem expresso em função de outras duas variáveis: o açúcar e a água respectivamente. Estes factos poderão estar na origem das observações feitas por Gerasopoulos e Richardson (1997b) em pêra onde se observa que os frutos imaturos apresentaram concentrações superiores de cálcio em comparação com os frutos maduros ou sobremaduros.

Na tentativa de aumentar a concentração do cálcio nos frutos têm-se recorrido frequentemente a pulverizações periódicas efectuadas antes da colheita. No entanto Qiu *et al.* (1995), verificaram em papaia, que após 6 pulverizações a quantidade de cálcio nos frutos não aumentava significativamente. Também Zavalloni *et al.* (2000), após 10 aplicações de uma solução comercial de CaCl_2 em macieiras, não obtiveram um aumento significativo da concentração do cálcio nos frutos. De igual modo em macieira e cerejeira, não se verificaram alterações na firmeza, SST, acidez e espessura da parede celular, após aplicações foliares de uma solução de hidróxido de cálcio (Brown *et al.*,

1995; Brown *et al.*, 1996). Mais recentemente, Gerasopoulos e Drogoudi (2005), conseguiram em kiwi, conjugando a poda em verde e as aplicações de cálcio aos frutos antes da colheita, aumentar a concentração de cálcio. A aplicação aos frutos através da utilização de pressão (Ochei *et al.*, 1993) e da imersão de frutos em soluções contendo cálcio (Mason *et al.*, 1975), têm mostrado alguma eficácia na obtenção de frutos com maiores teores em cálcio. No entanto, e até ao momento, nenhuma destas técnicas é utilizada como rotina em larga escala para a melhoria da qualidade dos frutos. Segundo Ferguson e Watkins (1989), em situações de carência deste catião, os tratamentos aos frutos podem minimizar os efeitos provocados por esta deficiência, mas não os eliminarão.

(c) Potássio

O potássio é um catião univalente cujo tamanho do seu ião hidratado é de 0,331nm e é caracterizado por uma grande mobilidade nas plantas (Quelhas dos Santos, 1996). Ao contrário do cálcio, a concentração do potássio no apoplasto é em geral baixa. Este é o catião mais abundante no citoplasma, e entre outras funções, a sua presença está associada à manutenção do potencial osmótico das células, ao processo de transporte através das membranas e à activação enzimática (Marschner, 1995).

O transporte deste ião entre diferentes células e dentro da célula, faz-se através das vias de potássio e de transportadores específicos para este catião, podendo efectuar-se a favor ou contra o potencial de membrana. Hedrich e Kudla (2006) defendem a existência nas plantas de canais de transporte para o potássio, que em condições de baixa disponibilidade deste catião no solo são activados pela entrada de cálcio nas células. Estes autores especulam ainda sobre a existência de vias de transporte específicas para o cálcio envolvidas no despoletar deste mecanismo.

O potássio não é metabolizado pelas plantas ao contrário do que se verifica para o azoto que intervém na composição de substâncias vitais. No entanto nas plantas que apresentam deficiência de potássio, surgem frequentemente alterações no metabolismo dos hidratos de carbono. A influência deste catião na fotossíntese faz-se sentir a vários níveis. Reddy e Zhao (2005), observaram na planta do algodão cultivada com níveis de

potássio insuficientes, uma redução na produção de biomassa resultante de um decréscimo na fotossíntese e na área foliar. Estes autores verificaram ainda que a sensibilidade destas plantas à deficiência de potássio era tanto maior quanto maior era a sua taxa fotossintética. A constatação de que a carência de potássio induzia alterações na fotossíntese foi feita por Basile *et al.* (2003), que observaram em amendoeira que as árvores com carência de potássio apresentavam uma menor área foliar e uma queda prematura das folhas. De igual modo Peuke *et al.* (2002), observaram que a deficiência deste catião induziu menores taxas fotossintéticas em rícino. A redução na quantidade de luz interceptada associada ao facto da respiração às escuras aumentar, levam a que a quantidade de fotoassimilados seja menor em plantas com carência de potássio. O aumento do calibre dos frutos (Ruiz, 2006), do conteúdo em SST e açúcares totais (Hudina, 2002; Lester, 2005) e da firmeza (Wojcik, 2005) são algumas das respostas das plantas à aplicação de adubos potássicos. Ainda que o potássio tenha um efeito benéfico na qualidade dos frutos, e o seu excesso não tenha os inconvenientes associados ao excesso de azoto, é necessário assegurar, tal como refere (Quelhas dos Santos, 1996) que não existam fenómenos de antagonismo iónico que possam, em situações de excesso de potássio, reduzir a absorção de outros catiões, tais como o cálcio e o magnésio.

Seleção do porta-enxerto

A utilização da enxertia em fruticultura é actualmente uma técnica corrente que possibilita, de um modo geral, uma melhor adaptação edafo-climática da espécie em causa. Um dos efeitos mais visíveis da utilização de porta-enxertos é o controlo do vigor das árvores para além dos efeitos na precocidade, na capacidade para retirar os nutrientes do solo e na dormência (Rom, 1987). Beckman *et al.* (1992), referem também a entrada em floração e o período de maturação como sendo afectados pelo porta-enxerto.

O vigor das árvores é uma característica que se manifesta com a taxa de crescimento, pelo que árvores mais vigorosas crescem mais depressa que árvores menos vigorosas. O vigor expressa-se de um modo geral com base na circunferência do tronco

avaliada a uma altura constante acima do ponto de enxertia (Boyhan *et al.*, 1995; Giorgi *et al.*, 2005; Mourao Filho *et al.*, 2007; Perez-Perez *et al.*, 2005). Ainda que o vigor seja uma característica genética da variedade, este pode ser controlado através de algumas técnicas culturais entre as quais a utilização de porta-enxertos menos vigorosos (Faust, 1989).

Actualmente a variedade de porta-enxertos no mercado é grande. São vários os problemas que os produtores querem ver, senão resolvidos, pelo menos minimizados quando optam por determinada espécie de porta-enxertos. Entre os vários aspectos da cultura que podem ser controlados pela utilização do porta-enxerto estão: a adaptação ao tipo de solo e disponibilidade de água, resistência a agentes patogénicos e a resistência ao frio (Okei, 1987).

Os porta-enxertos mais divulgados na Europa para a cultura da ameixeira pertencem à espécie *Prunus cerasifera* e ao híbrido *Prunus cerasifera* X *Prunus munsoniana* conhecido por ‘Marianna’. Tradicionalmente, em Portugal, utilizaram-se na cultura da ameixeira, porta-enxertos vigorosos tais como o ‘Marianna’, o ‘GF8-1’ ‘Mirabolano’ (*Prunus cerasifera*) e alguns ‘S. Julião’ (*Prunus insititia*). Actualmente, e de acordo com uma tendência geral presente por toda a Europa, é frequente recorrer-se à utilização de porta-enxertos que induzem um menor vigor. A produção em fruticultura intensiva que previlgia o porte ananicante das árvores e uma rápida entrada em produção atinge a sua expressão máxima, com as pomoideas, em países do Norte da Europa. Em Portugal, e particularmente nas ameixeiras, este sistema tem algumas dificuldades em se impor quer pela menor fertilidade dos solos, comparativamente aos países do Norte, quer pelas características das espécies deste grupo de fruteiras. A utilização de porta enxertos ananicantes em espécies cuja produção dependa muito da renovação anual da madeira, como as ameixeiras, compromete a curto ou médio prazo a própria sobrevivência da árvore. Razão pela qual Barroso (1997) observou uma insuficiente renovação da madeira em ameixeiras enxertadas em ‘Pixy’, tornando-se evidente ao fim de sete anos a presença de um reduzido número de esporões nestas árvores. Segundo este autor, o vigor induzido pelo porta-enxerto ‘Pixy’, cerca de 50% do vigor da espécie, é insuficiente para uma boa frutificação e renovação da madeira. Actualmente em Portugal é frequente optar-se por porta-enxertos que induzem um vigor

médio, em alternativa aos porta-enxertos mais vigorosos. Considera-se um vigor médio quando o porta-enxerto induz cerca de 60-70% do vigor da espécie e estão incluídos neste grupo: Marianna 2624, Isthara, S.Julião 655-2, e GF10-2, embora este último não seja um porta-enxerto divulgado em Portugal.

A influência do porta-enxerto na qualidade dos frutos tem sido referida por vários autores (Forner-Giner *et al.*, 2003; Giorgi *et al.*, 2005; Perez-Perez *et al.*, 2005; Sharma *et al.*, 2006; Sharma e Saxena, 2004). Os factores que condicionam o desenvolvimento das plantas enxertadas permanecem pouco esclarecidos. Segundo (Giorgi *et al.*, 2005) é o balanço hormonal o principal mecanismo que condiciona o desenvolvimento do conjunto raiz/parte aérea presente nas plantas enxertadas. O controlo específico exercido pelas raízes ao nível do desenvolvimento da planta faz-se sentir também nas relações ‘source’/‘sink’ existentes na parte aérea. É frequente associar-se a porta-enxertos menos vigorosos uma maior capacidade para enviar nutrientes para os frutos, na medida em que a competição exercida pela parte aérea é menor nestes casos. Da mesma forma, uma maior abertura da copa favorece a entrada de luz e consequentemente o aumento da taxa fotossintética (Faust, 1989). No entanto para Giorgi *et al.* (2005), as taxas de crescimento observadas em pessegueiro associadas aos porta-enxertos mais vigorosos, tais como o GF677, estão relacionadas com concentrações superiores de algumas citoquininas presentes nos gomos foliares. Os mesmos autores defendem ainda, existir uma relação directa entre o vigor vegetativo das árvores e a actividade anti-oxidante presente nos frutos.

Em pêsego Tsipouridis e Thomidis (2005), verificaram que para além da qualidade dos frutos, também a absorção de nutrientes é condicionada pelo porta-enxerto. Isto é, porta-enxertos mais vigorosos apresentaram concentrações de cálcio foliares superiores aos porta-enxertos de menor vigor. Também Boyhan *et al.* (1995), verificaram, em ameixeiras enxertadas em ‘Pixy’, menores concentrações foliares de cálcio e magnésio, quando comparadas com árvores enxertadas em porta-enxertos mais vigorosos. Pelo contrário, a concentração de potássio pareceu não ter sido afectada pelo vigor do porta-enxerto. Os mesmos autores correlacionam ainda a menor longevidade das árvores com os níveis baixos de cálcio foliar presente nas árvores enxertadas em ‘Pixy’. Também (Barroso, 1997) observou em ‘Rainha Claudia Verde’ de acordo com

o vigor do porta-enxerto, diferenças significativas nos valores de Ca, K, P, Mg e B obtidos a partir de análises foliares. No entanto este autor verificou, entre porta-enxertos de médio vigor, GF8-1 e GF10-2, existir uma correlação negativa entre o vigor dos porta-enxertos e a concentração de cálcio foliar, não se mantendo esta tendência nos porta-enxertos ananícantes, Citation e Pixy. Este último porta-enxerto apresentou, tal como Boyhan *et al.* (1995), observaram, valores de cálcio foliar inferiores comparativamente aos valores induzidos por porta-enxertos de maior vigor. Aparentemente os porta-enxertos ananícantes apresentam ao nível radical, uma resistência superior à entrada de água o que se reflectirá na planta num potencial de água inferior (Olien e Lako, 1984). Esta situação é provável afectar tanto a entrada como o transporte de cálcio na planta, sendo agravada com o porta-enxerto ‘Pixy’ na medida que este, segundo Okei (1987), e contrariamente ao ‘Citation’, apresenta simultaneamente um fraco desenvolvimento radical.

Também a produção pode ser afectada pelo vigor do porta-enxerto. Giorgi *et al.*, (2005), observaram em pessegueiro e com diferenças significativas, menores produções associadas ao porta-enxerto ‘Citation’, da mesma forma que as produções máximas foram obtidas para os porta-enxertos mais vigorosos. Barroso (1997), verificou em ameixeira *Prunus domestica* existir uma relação negativa entre o vigor e a produção acumulada. Estes resultados estão de acordo com os trabalhos de Layne (1994), que para além da influência na produção, observou uma redução no tamanho dos frutos associada à utilização de porta-enxertos ananícantes. A influência destes porta-enxertos na dimensão da árvore e no volume da colheita condiciona negativamente o calibre dos frutos. No entanto o efeito do vigor no calibre, para os porta-enxertos que induzem um vigor médio, não apresenta o mesmo tipo de tendência verificada para os porta-enxertos ananícantes. Alguns trabalhos efectuados em pessegueiro mostraram haver um acréscimo significativo no calibre com a utilização de porta-enxertos de médio vigor relativamente aos de vigor superior (Giorgi *et al.*, 2005; Layne, 1994).

1.3 - Bibliografia

- Abbott, J. A., Watada, A. E., and Massie, D. R. (1976). Effe-gi, Magness-Taylor, and Instron Fruit Pressure Testing Devices for apples, peaches, and nectarines. *J.Am.Soc.Hort.Sci* **101(6)**, 698-700.
- Abdi, N., Holford, P., McGlasson, W., and Mizrahi, Y. (1997). Ripening behaviour and responses to propylene in four cultivars os Japanese type plums. *Post. Biol. Technol.* **12**, 21-34.
- Abdi, N., McGlasson, W. B., Holford, P., Williams, M., and Mizrahi, Y. (1998). Responses of climateric and suppressed-climateric plums to treatment with propylene and 1-methylcyclopropene. *Post. Biol. Technol.* **14(1)**, 29-39.
- Adams, D., and Yang, F. (1979). Ethylene biosynthesis: Identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **76**, 170-174.
- Agar, T., Biasi, W., and Mitcham, E. (1999). Exogenous ethylene accelerates ripening responses in Bartlett pears regardless of maturity or growing region. *Postharvest Biol. Technol.* **17**, 67-78.
- Ahmed, A. E., and Labavitch, J. M. (1980). Cell wall metabolis in ripening fruit - II.Changes in carbohydrate-degrading enzymes in rioening 'Bartlett' pears. *Plant Physiol.* **65**, 1014-1016.
- Ahrens, M. J., and Huber, D. J. (1990). Physiology and firmness determination of ripening tomato fruit. *Physiologia Plant.* **78**, 8-14.
- Andrews, P. K., and Li, S. (1995). Cell Wall hydrolytic enzyme activity during development of monclimacteric sweet cherry. *J. Hort. Sci.* **70(4)**, 561-567.
- Antunes, M. D. C., and Sfakiotakis, E. M. (2002a). Ethylene biosynthesis and ripening behavior of 'Hayward' kiwifruit subjected to some controled atmospheres. *Postharvest Biol. Technol.* **26**, 167-179.
- Antunes, M. D. C., and Sfakiotakis, E. (2002b). Chilling induced ethylene biosynthesis in 'Hayward' kiwifruit following storage. *Scientia Hort.* **92**, 29-39.
- Baldarán-Quintana, R., Mendoza-Wilson, A., Gardea-Béjar, A., Vargas-Arispuro, I., and Martínez-Télles, M. (2003). Irreversibility of chilling injury in zucchini squash (*Cucurbita pepo* L.) could be a programmed event long before the visible symptoms are evident. *Bichem. Bioph. Res. Communications* **307**, 553-557.
- Barreiro, P. (1994). Modelos para la simulacion de danos mecanicos y desarrollo de un algoritmo de evaluacion de maquinaria para los principales cultivares de Albaricoque, Manzana, Melocoton y Pera. Tese de Doutoramento, Universidade Politécnica de Madrid,, Madrid.
- Barroso, J. (1990). Estudo da biologia floral numa população regional de ameixeira 'Rainha Cláudia Verde' (*Prunus domestica* L.), Universidade de Évora.
- Barroso, J. (1997). Evaluation of different rootstocks for 'greengage' plum. *Acta Hort.* **478**, 331-339.
- Basile, B., Reidel, E. J., Weinbaum, S. A., and DeJong, T. M. (2003). Leaf potassium concentration, CO₂ exchange and light interception in almond trees (*Prunus dulcis* (Mill) D.A. Webb). *Scientia Hort.* **98**, 185-194.
- Beckman, T. G., Okie, W. R., and Meyers, S. C. (1992). Rootstocks affect bloom date and fruit maturation of 'Redhaven' peach. *J.Am.Soc.Hort.Sci* **117(3)**, 377-379.
- Ben-Arie, R., Sonogo, L., and Frenkel, C. (1979a). Changes in Pectic Substances in Ripening Pears. *J. Amer. Soc. Hort. Sci* **104(4)**, 500-505.
- Ben-Aire, R., Kislev, N., and Frenkel, C. (1979b). Ultrastructural Changes in the Cell Wall of Ripening Apple and Pear Fruit. *Plant Physiol.* **64**, 1979-202.
- Biale, J., Young, R., and Olmstead, A. (1954). Fruit respiration and ethylene production. *Plant Physiol.* **29(2)**, 168-174.
- Blankenship, S., and Richardson, D. G. (1985). Development of ethylene bisynthesis and ethylene-induced ripening in 'd'Anjou pears during the cold requirements for ripening. *J.Amer.Soc.Hort.Sci* **110(4)**, 520-523.
- Boller, T., Herner, R., and Kende, H. (1979). Assay for and enzymatic formation of ethylene precursor, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. *Planta* **145**, 293-303.
- Bourains, D. L., and Niavis, C. A. (1992). Cell wall matabolism in Growing and ripening stone fruits. *Plant Cell Physiol.* **33(7)**, 999-1008.

- Bourne, M. (1979). Texture of temperate fruits. *J. Texture Studies* **10(1)**, 25-44.
- Bower, J., Biasi, W., and Mitcham, E. (2003). Effect of ethylene in the storage environment on quality of 'Bartlett pears'. *Postharvest Biol. Technol.* **28**, 371-379.
- Bower, J., Holford, P., Latché, A., and Pech, J.-C. (2002). Culture conditions and detachment of the fruit influence the effect of ethylene on the climacteric respiration of melon. *Postharvest Biol. Technol.* **26**, 135-146.
- Boyhan, G. E., Norton, J. D., and Pitts, J. A. (1995). Establishment, Growth, and foliar nutrient content of plum trees on various rootstocks. *HortScience* **30(2)**, 219-221.
- Brady, C. J. (1987). Fruit ripening. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **38**, 155-178.
- Brown, G., Wilson, S., Boucher, W., Graham, B., and McGlasson, B. (1995). Effect of copper-calcium sprays on fruit cracking in sweet cherry (*Prunus avium*). *Scientia Hort.* **62-1e2**, 75-80.
- Brown, G. S., Kitchener, A. E., McGlasson, W. B., and Barnes, S. (1996). The effects of copper and calcium foliar spray on cherry and apple fruit quality. *Scientia Hort.* **67(3-4)**, 219-227.
- Brummell, D. A., Dal Cin, V., Crisosto, C., and Labavitch, J. (2004). Cell wall metabolism during maturation, ripening and senescence of peach fruit. *J. Exp. Bot.* **55**, 2029-2039.
- Burg, E. (1973). Ethylene in plant growth. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **70 (2)**, 591-597.
- Burg, S., and Burg, E. (1962). Role of ethylene in fruit ripening. *Plant Physiol.* **37**, 179-189.
- Burg, S., and Thimann, K. (1959). The physiology of ethylene formation in apples. *Proc. Nat. Ac. Sci. USA* **45(3)**, 335-344.
- Candan, A., Jordi, G., and Larrigaudière, C. (2008). Roles of climacteric ethylene in the development of chilling injury in plums. *Postharvest Biol. Technol.* **47**, 107-122.
- Carrington, C. M. S., Greve, L. C., and Labavitch, J. M. (1993). Cell Wall metabolism in ripening fruit VI. Effect of Antisense Polygalacturonase gene on cell wall changes accompanying ripening in transgenic tomatoes. *Plant Physiol.* **103**, 429-434.
- Chardonnet, C., Charron, C., and Sams, C. (2003). Chemical changes in the cortical tissue and cell walls of calcium-infiltrated 'Golden Delicious' apples during storage. *Postharvest Biol. Technol.* **28**, 97-111.
- Cheng, L. L., and Fuchigami, L. H. (2002). Growth of young trees relation to reserve nitrogen and carbohydrates. *Tree Physiol.* **22(18)**, 1297-1303.
- Chéour, F., Willemot, C., Arul, J., Desjardins, Y., Makhlof, J., Charest, P. M., and Gosselin, A. (1990). Foliar application of calcium chloride delays postharvest ripening of strawberry. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* **115(5)**, 789-792.
- Chéour, F., Willemot, C., Arul, J., J., M., and Desjardins, Y. (1991). Postharvest response of two strawberry cultivars to foliar application of CaCl₂. *HortScience* **26(9)**, 1186-1188.
- Chun, J., and Huber, D. J. (1998). Polygalacturonase-mediated solubilisation and depolymerization of pectic polymers in tomato fruit cell walls. *Plant Physiol.* **117**, 1293-1299.
- Cmelik, Z. (2006). Fruit quality of 'Fuji' apple as affected by crop load and rates of nitrogen. In "5th International Symposium on Mineral Nutrition of Fruit Plants" (S. Tojnko and T. Unuk, eds.), pp. 147-152, Talca, Chile.
- Coimbra, M. A., and Delgado, I. (1997). Homoglicanas. In "Bioquímica" (M. J. Halpern, ed.). Lidel, Lisboa.
- Concellon, A., Anón, M., and Chaves, A. (2005). Effect of chilling on ethylene production in eggplant fruit. *Food Chemistry* **92**, 63-69.
- Coombe, B. G. (1976). The development of fleshy fruits. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **27**, 507-528.
- Crisosto, C. H., Johnson, R. S., DeJong, T., and Day, K. R. (1997). Orchard factors affecting postharvest stone fruit quality. *HortScience* **32(5)**, 820-823.
- Crisosto, C. H., Johnson, R. S., Luza, J. G., and Crisosto, G. M. (1994). Irrigation regimes affect fruit soluble solids concentration and rate of water loss of 'O'Henry' peaches. *HortScience* **29(10)**, 1169-1171.
- Crookes, P. R., and Grierson, D. (1983). Ultrastructure of Tomato Fruit Ripening and the Role of Polygalacturonase Isoenzymes in Cell Wall Degradation. *Plant Physiol.* **72**, 1088-1093.
- Cruz-Castillo, J. G., Woolley, D. J., and Lawes, G. S. (2002). Kiwifruit size and CPPU response are influenced by the time of anthesis. *Scientia Hort.* **95**, 23-30.
- Demarty, M., Morvan, C., and Thellier, M. (1984). Calcium and the cell wall. *Plant, Cell and Environment* **7**, 441-448.

- DeSmedt, V., Pauwels, E., Baerdemaeker, J. D., and Nicolai, B. (1998). Microscopic observations of mealiness in apples: a quantitative approach. *Postharvest Biol. Technol.* **14**, 151-158.
- Downs, C. G., Brady, C. J., Campbell, J., and McGlasson, W. B. (1991). Normal ripening cultivars of *Prunus serotina* are either climateric or non-climateric. *Scientia Hort.* **48**, 213-221.
- Duhamel du Monceau, M. (1768). "Traité des arbres fruitières."
- Facteau, T. J. (1982). Relationship of Soluble Solids, Alcohol-insoluble Solids, Fruit Calcium, and Pectin Levels to Firmness and Surface Pitting in 'Lambert' and 'Bing' Sweet Cherry Fruit. *J.Am.Soc.Hort.Sci* **107**(1), 151-154.
- Faust, M. (1989). "Physiology of temperate zone fruit trees," John Wiley & Sons, Bestville, Maryland.
- Ferguson, I. B., and Watkins, C. B. (1989). Cation distribution and balance in apple fruit in relation to calcium treatments for bitter pit. *Scientia Hort.* **19**, 301-310.
- Fischer, R. L., and Bennett, A. B. (1991). Role of cell wall hydrolases in fruit ripening. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **42**, 675-703.
- Forner-Giner, M. A., Alcaide, A., Primo-Millo, E., and Forner, J. B. (2003). Performance of 'Navelina' orange on 14 rootstocks in Northern Valencia (Spain). *Scientia Hort.* **98**, 223-232.
- Fuller, M. M. (1976). The ultrastructure of the outer tissues of cold-stored apple fruits of high and low calcium content in relation to cell breakdown. *Ann. appl. Biol.* **83**, 299-304.
- Gerasopoulos, D., Chouliaras, V., and Lionakis, S. (1996). Effects of preharvest calcium chloride sprays on maturity and storability of Hayward kiwifruit. *Post. Biol. Technol.* **7**, 65-72.
- Gerasopoulos, D., and Drogoudi, P. D. (2005). Summer-prunning and preharvest calcium chloride sprays affect storability and low temperature breakdown incidence in kiwifruit. *Postharvest Biol. Technol.* **36**, 303-308.
- Gerasopoulos, D., and Richardson, D. G. (1996). Effects of exogenous propylene and fruit calcium on ripening of non-chilled and chilled Anjou pears. *Postharvest Biol. Technol.* **8**(2), 111-120.
- Gerasopoulos, D., and Richardson, D. G. (1997a). Storage-temperature-dependent time separation of softening and chlorophyll loss from the autocatalytic ethylene pathway and other ripening events of 'Anjou' pears. *J.Am.Soc.Hort.Sci* **122**(5), 680-685.
- Gerasopoulos, D., and Richardson, D. G. (1997b). Fruit Maturity and Calcium Affect Chilling Requirements and Ripening of 'd' Anjou Pears. *HortScience* **32**(5), 911-913.
- Ghasemmezhad, M., Marsh, K., Shilton, R., Babalar, M., and Woolf, A. (2007). Effect of hot water treatments on chilling injury and heat damage in 'satsuma' mandarins: Antioxidant enzymes and vacuolar ATPase, and pyrophosphatase. *Postharvest Biol. Technol.* **48**, 346-371.
- Gibeaut, D., and Carpita, N. (1994). Biosynthesis of plant cell wall polysaccharides. *Journal of the FASEB* **8**, 904-915.
- Giorgi, M., Capocasa, F., Scalzo, J., Murri, G., Battino, M., and Mezzetti, B. (2005). The rootstock effects on plant adaptability, production, fruit quality, and nutrition in the peach (cv. 'Suncrest'). *Scientia Hort.* **107**, 36-42.
- Giovannoni, J. (2001). Molecular Biology of Fruit Maturation and Ripening. *Plant Mol. Biol.* **52**, 725-749.
- Grange, R. (1996). Crecimiento del fruto. In "Fisiología Y Bioquímica Vegetal" (J. Azcon-Bieto and M. Talon, eds.). McGraw-Hill-Interamericana de Espana, Madrid.
- Grassi, G., Tagliavini, M., Millard, P., and Gioacchini, P. (2003). Recycling of nitrogen in the xylem of *Prunus avium* trees strats when spring remobilization of internal reserves declines. *Tree Physiol.* **23**(15), 1061-1068.
- Grierson, D. (1987). Senescence in Fruits. *HortScience* **22**(5), 859-862.
- Guerra, M., and Casquero, P. A. (2008). Effect of harvest date on cold storage and postharvest quality of plum cv. Green Gage. *Postharvest Biol. Technol.* **47**(3), 325-332.
- Guillermin, P., N.Dupont, N., Morvan, L. C., Quérec, J.-M. L., Langlais, C., and Mauget, J. C. (2006). Rheological and technological properties of two cider apple cultivars. *LTW* **39**, 995-1000.
- Gussman, C. D., Goffreda, J. C., and Gianfagna, T. J. (1993). Ethylene production and fruit-softening rates in several apple fruit ripening variants. *HortScience* **28**(2), 135-137.
- Harker, F., and Hallet, I. (1992). Physiological changes associated with development of mealiness of apple fruit during cool storage. *HortScience* **27**, 1291-1294.
- Hedrich, R., and Kudla, J. (2006). Calcium signaling networks Channel Plant K⁺ uptake. *Cell* **125**, 1221-1223.

- Heyes, J. A., Blaikie, F. H., C.G.Downs, and Sealey, D. F. (1994). Textural and physiological changes during pepino (*Solanum muricatum* Ait) ripening. *Scientia Hort.* **58**, 1-15.
- Heyes, J. A., and Sealey, D. F. (1996). Textural changes during nectarine (*Prunus persica*) development and ripening. *Scientia Hort.* **65**, 49-58.
- Hoffman, N. E., and Yang, S. F. (1982). Enhancement of wound-induced ethylene synthesis by ethylene in preclimateric Cantaloupe. *Plant Physiol.* **69**, 317-322.
- Huber, D. J. (1984). Strawberry fruit softening: The potential roles of polyuronides and hemicelluloses. *Journal Food Science* **49(5)**, 1310-1315.
- Hudina, M. (2002). Effect of phosphorus and potassium foliar fertilization on fruit quality of pears. *Acta Hort.* (ISHS) **594**, 487-493.
- Jakopic, J., Veberic, R., Zupancic, K., and Stampar, F. (2007). Influence of nitrogen on the contents of carbohydrates and organic acids in apples (*Malus domestica* Borkh.) cv. 'Golden Delicious'. *Europ. J. Hort. Sci.* **72(2)**, 66-72.
- Johnston, J., Hewett, E., Hertog, M., and Harker, R. (2002a). Temperature and ethylene affect induction of rapid softening in 'Granny Smith' and 'Pacific Rose' apple cultivars. *Postharvest Biol. Technol.* **25**, 257-264.
- Johnston, J. W., Hewett, E., and M.L.A.T., H. (2002b). Postharvest softening of apples (*Malus domestica*) fruit: a review. *New Zeal. J. Crop Hort. Sci.* **30**, 145-160.
- Kilili, A. W., Behboudian, M. H., and Mills, T. M. (1996). Composition and quality of 'Braeburn' apples under reduced irrigation. *Scientia Hort.* **67**, 1-11.
- Koukounaras, A., and Sfakiotakis, E. (2007). Effect of 1-MCP prestorage treatment on ethylene and CO₂ production and quality of 'Hayward' kiwifruit during shelf-life after short, medium and long term cold storage. *Postharvest Biol. Technol.* **46**, 174-180.
- Lafuente, M., Zacarias, L., Martínez-Telléz, M., Sanchez-Ballesta, M., and Graell, A. (2003). Phenylalanine ammonia-lyase and ethylene in relation to chilling injury as affected by fruit age in citrus. *Postharvest Biol. Technol.* **29**, 308-317.
- Lara, I., and Vendrell, M. (1998). ACC oxidase activation by cold storage on 'Passe-Crassane' Pears: Effect of calcium treatment. *J. Sci. Food Agric.* **76**, 421-426.
- Lara, I., and Vendrell, M. (2003). Cold-induced ethylene biosynthesis is differentially regulated in peel and pulp tissues of 'Granny Smith' apple fruit. *Postharvest Biol. Technol.* **29**, 109-119.
- Larrigaudière, C., Graell, A., Salas, J., and Vendrell, M. (1997). Cultivar differences in the influence of short period of cold storage on ethylene biosynthesis in apples. *Postharvest Biol. Technol.* **10**, 21-27.
- Layne, R. E. C. (1994). Prunus Rootstocks affect long-term Orchard performance of 'Redhaven' peach on brookston clay loam. *HortScience* **29(3)**, 167-171.
- Le Goff, A., Renard, C. M. G. C., Bonnin, E., and Thibault, J.-F. (2001). Extraction, purification and chemical characterisation of xylogalacturonans from pea hulls. *Carboh. Polym.* **45**, 325-334.
- Lederman, I., Zauberman, G., Weksler, A., Rot, I., and Fuchs, Y. (1997). Ethylene-forming capacity during cold storage and chilling injury development in 'Keitt' mango fruit. *Postharvest Biol. Technol.* **10**, 107-112.
- Lelièvre, J., Tichit, L., Dao, P., Fillion, L., Nam, Y., Pech, J.-C., and Latché, A. (1997). Effects of chilling on the expression of ethylene biosynthesis genes in Passe-Crassane pear (*Pyrus communis* L.) fruits. *Plant Mol. Biol.* **33**, 847-855.
- Lelièvre, J., Tichit, L., Fillion, L., Larrigaudière, C., Vendrell, M., and Pech, J.-C. (1995). Cold-induced accumulation of 1-aminocyclopropane 1-carboxylate oxidase protein in Granny Smith apples. *Postharvest Biol. Technol.* **5**, 11-17.
- Lester, D., Speirs, J., Orr, G., and Brady, C. J. (1994). Peach (*Prunus persica*) Endopolygalacturonase cDNA Isolation and mRNA in Melting and Nonmelting Peach Cultivars. *Plant Physiol.* **105**, 225-231.
- Lester, G. (1996). Calcium alters senescence rate of postharvest muskmelon fruit disks. *Postharvest Biol. Technol.* **7**, 91-96.
- Lester, G. (2005). Whole plant applied potassium: Effects on cantaloupe fruit sugar content and related human wellness compounds. In "5th International Postharvest symposium", Vol. 1-3, pp. 487-492.
- Liberman, M., Kunishi, A., Mapson, L., and Wardale, D. (1966). Stimulation of ethylene production in apple tissue slices by methionine. *Plant Physiol.* **41**, 376-382.

- Lill, R. E. (1985). Alleviation of internal breakdown of nectarines during cold storage by intermittent warming. *Scientia Hort.* **25**(3), 241-246.
- Lin, T., and Pitt, R. (1986). Rheology of apple and potato tissue as affected by cell turgor pressure. *J. Texture Studies* **17**, 291-313.
- Lippert, F., and Blanke, M. M. (2004). Effect of mechanical harvest and timing of 1-MCP application on respiration and fruit quality of European plums *Prunus domestica* L. *Postharvest Biol. Technol.* **34**(3), 305-311.
- Luna-Guzmán, I., Cantwell, M., and Barrett, D. M. (1999). Fresh-cut cantaloupe: effects of CaCl₂ dips and heat treatments on firmness and metabolic activity. *Postharvest Biol. Technol.* **17**, 201-213.
- Lyons, J., and Raison, J. (1970). Oxidative activity of mitochondrial isolated from plant tissues sensitive and resistant to chilling injury. *Plant Physiol.* **45**, 386-389.
- Mafra, I., Barros, A. S., and Coimbra, M. A. (2007). The combined effects of black oxidizing table olive process and ripening on the cell wall polysaccharides of olive pulp. *Carb. Polym.* **68**, 647-657.
- Manganaris, G., Vasilakakis, G., Diamantinis, G., and Mignani, I. (2005). Cell wall cation composition and distribution in chilling-injured nectarine fruit. *Postharvest Biol. Technol.* **37**, 72-80.
- Manganaris, G., Vicente, A., Crisosto, C., and Labavitch, J. (2008). Cell wall modifications in chilling-injured plum fruit (*Prunus salicina*). *Postharvest Biol. Technol.* **48**, 77-83.
- Marschner, H. (1995). "Mineral Nutrition of Higher Plants," second edition/Ed. Academic Press, London.
- Martinez-Romero, D., Serrano, M., and Valero, D. (2003). Physiological changes in pepino (*Solanum muricatum* Ait.) fruit stored at chilling and non.chilling temperatures. *Postharvest Biol. Technol.* **30**, 177-186.
- Mason, J. L., Jasmin, J. J., and Granger, R. L. (1975). Softening of 'McIntosh' Apples Reduced by a Postharvest Dip in Calcium Chloride Solution plus Thickener. *HortScience* **10**(5), 524-525.
- Menniti, A., Gregori, R., and Donati, I. (2004). 1-Methylcyclopropene retards postharvest softening of plums. *Postharvest Biol. Technol.* **31**, 269-275.
- Mitcham, E. J., and McDonald, R. E. (1992). Cell Wall modification during ripening of 'keitt' and 'tommy Atkins' mango fruit. *J. Amer. Soc. Hort. Sci* **117**(6), 919-924.
- Moraes, P. (1986). "Manual prático da agricultura," António Maria Pereira, Lisboa.
- Morais, J., Castro, A. G., and Diogo, A. C. (2001). Noções básicas de reologia. In "Reologia e suas aplicações industriais" (A. G. Castro, J. A. Covas and A. C. Diogo, eds.). Instituto Piaget, Lisboa.
- Mourao Filho, F. d. A. A., Espinoza-Nunez, E., Stuchi, E. S., and Ortega, E. M. M. (2007). Plant growth, yield, and fruit quality of 'Fallglo' and 'Sunburst' mandarins on four rootstocks. *Scientia Hort.* **114**, 45-49.
- Mpelasoka, B. S., Behboudian, M. H., Dixont, J., Neal, S., and Caspari, H. (2000). Improvement of fruit quality and storage potencial of 'Braeburn' apple through deficit irrigation. *JHSB* **75**(5), 615-621.
- Murillo, J. A., Brusewitz, G. H., and Maness, N. O. (1997). Peach texture during ripening after extended storage. *J. Food Quality* **20**, 61-72.
- Muskovics, G., Felföldi, J., Kovács, E., Perlaki, R., and Kállay, T. (2006). Changes in physical properties during fruit ripening of Hungarian sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars. *Postharvest Biol. Technol.* **40**, 56-63.
- Nunes, C., Santos, C., Pinto, G., Lopes-da-Silva, J. A., Saraiva, J., and Coimbra, M. A. (2008a). Effect of candying on microstructure and texture of plums (*Prunus domestica* L.). *LWT - Food Science and Technology* **14**(10), 1776-1783.
- Nunes, C., Saraiva, J. A., and Coimbra, M. A. (2008b). Effect of candying on cell wall polysaccharides of plums (*Prunus domestica* L.) and influence of cell wall enzymes. *Food Chemistry* **111**, 538-548.
- Ochei, C. O., Basiouny, F. M., and Woods, F. M. (1993). Calcium-mediated postharvest changes in storageability and fruit quality of peaches. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* **106**, 266-269.
- O'Donoghue, E. M., Somerfield, S. D., Vré, L. A. d., and Heyes, J. A. (1997). Developmental and ripening-related effects on cell wall of pepino (*Solanum muricatum*) fruit. *J. Sci Food Agric* **73**, 455-463.
- Ognjanov, V., Vujanic-Varga, D., Misic, P. D., Veresbaranji, I., Macet, K., Tesovic, Z., Krstic, M., and Petrovic, N. (1995). Anatomical and biochemical studies of fruit development in peach. *Scientia Hort.* **64**, 33-48.
- Okei, W. (1987). Plum Rootstocks. In "Rootstocks for fruit crops" (R. Rom and R. Carlson, eds.), pp. 321-360. John Wiley & Sons, New York.

- Olien, W., and Lako, A. (1984). A comparison of the dwarfing character and water relations of five apple rootstocks. In "International Workshop on controlling vigor in fruit trees" (M. Faust, ed.), Vol. 146, pp. 151-158. Acta Hort. (ISHS), Beltsville, Maryland, USA.
- Opara, L. (2007). Bruise susceptibilities of 'Gala' apples as affected by orchard management practices and harvest date. *Postharvest Biol. Technol.* **43**, 47-54.
- Parisi, M. (2004). Effects of different levels of nitrogen fertilization on yield and fruit quality in processing tomato. In "International Symposium on towards ecologically sound fertilisation strategies for field vegetable production" (I. Giordano, A. Pentagelo and G. Villari, eds.), Vol. 700, pp. 129-132, Perugia, Italy.
- Paull, R. E., Gross, K., and Qiu, Y. (1999). Changes in papaya cell walls during fruit ripening. *Postharvest Biology and Technology* **16**, 79-89.
- Pena, M., and Carpita, N. (2004). Loss of highly branched arabinans and debranching of rhamnogalacturonan I accompany loss of firm texture and cell separation during prolonged storage of apple. *Plant Physiol.* **135**, 1305-1313.
- Percy, A., Melton, L. D., and Jameson, P. E. (1997). Xyloglucan and hemicellulose in the cell wall during apple fruit development and ripening. *Plant Science* **125**, 31-39.
- Pereira, A. M. M. (1970). "Estudo da zonagem da 'Rainha Cláudia Verde' nos concelhos de Elvas e Estremoz," Lisboa.
- Perez-Perez, J. G., Castillo, I. P., Garcia-Lidon, A., Botia, P., and Garcia-Sanchez, F. (2005). Fino lemon clones compared with the lemon varieties Eureka and Lisbon on two rootstocks in Murcia (Spain). *Scientia Hort.* **106**, 530-538.
- Peuke, A., Jeschke, W., and Hartung, W. (2002). Flows of elements, ions and abscisic acid in *Ricinus communis* and site of nitrate reduction under potassium limitation. *J. Exp. Botany* **53**, 241-250.
- Picchioni, G. A., Watada, A. E., Whitaker, B. D., and Reyes, A. (1996). Calcium delays senescence-related membrane lipid changes and increases net synthesis of membrane lipid components in shredded carrots. *Postharvest Biol. Technol.* **9(2)**, 235-245.
- Pitre, F. E., Pollet, B., Lafarguette, F., Cooke, J. E., MacKay, J., and Lapierre, C. (2007). Effects of increased nitrogen supply on the lignification of poplar wood. *J. Agric. Food Chem.* **55(25)**, 10306-10314.
- Pressey, R., and Avants, J. K. (1978). Difference in polygalacturonase composition of clingstone and freestone peaches. *J. Food Sci.* **43(5)**, 1415-1417.
- Qiu, Y., Nishina, M. S., and Paull, R. E. (1995). Papaya Fruit Growth, Calcium Uptake, and Fruit Ripening. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* **120(2)**, 246-253.
- Quelhas dos Santos, J. (1996). "Fertilização - Fundamentos da utilização dos adubos e correctivos," Publicações Europa-América, Sintra.
- Raese, J., Drake, S., and Curry, E. (2007). Nitrogen fertilizer influences fruit quality, soil nutrients and cover crops, leaf color and nitrogen content, biennial bearing and cold hardiness of 'Golden Delicious'. *J. Plant Nut.* **30**, 1585-1604.
- Raven, J. A. (1977). H^+ and Ca^{2+} in phloem and symplast: relation of relative immobility of the ions to the cytoplasmic nature of the transporters paths. *New Phytol.* **79**, 465-480.
- Reddy, K. R., and Zhao, D. (2005). Interactive effects of elevated CO_2 and potassium deficiency on photosynthesis, growth, and biomass partitioning of cotton. *Field Crops Res.* **94**, 201-213.
- Reid, R. J., and Smith, F. A. (1992). Measurement of Calcium fluxes in plant using Ca. *Planta* **186**, 558-566.
- Ribeiro, G. (2006). Estudio del comportamiento poscosecha de la ciruela 'Reina Claudia Verde', Universidad de Extremadura, Badajoz.
- Rom, R. (1987). Roots. In "Rootstocks for fruit crops" (R. Rom and R. Carlson, eds.), pp. 5-28. John Wiley & Sons, New York.
- Ruiz, R. (2006). Effects of different potassium fertilizers on yield, fruit quality and nutritional status of 'Fairlane' nectarine trees and on soil fertility. In "5th International Symposium on mineral nutrition of fruit plants", pp. 185-190, Talca, Chile.
- Sams, C. E. (1999). Preharvest factor affecting postharvest texture. *Postharvest Biol. Technol.* **15**, 249-254.
- Sams, C. E., and Conway, W. S. (1993). Postharvest Calcium infiltration improves fresh and processing quality apples. *Acta Hort.* **326**, 123-129.

- Sánchez-Alonso, F., and Lachica, M. (1987). Seasonal trends of calcium and iron fractions in sweet cherry leaves and their relationships. *J.Am.Soc.Hort.Sci* **112(5)**, 801-803.
- Saure, M. C. (2005). Calcium translocation to fleshy fruit: its mechanism and endogenous control. *Scientia Hortica*. **105**, 65-89.
- Scorza, R., May, L., Purnell, B., and Upchurch, B. (1991). Differences in number and area of mesocarp cells between Small- and large-fruited peach cultivars. *J.Am.Soc.Hort.Sci* **116(5)**, 861-864.
- Sekse, L. (1989). Storage and storage potencial of Plums (*Prunus domestica* L.) as related to respiration rate. *Acta Hortica. Scand* **39**, 15-21.
- Selvendran, R., and O'Neil, M. (1987). Isolation and analysis of cell walls from plant material. In "Methods of biochemical analysis" (D. Glick, ed.), Vol. 32, pp. 25-153. Wiley, NY.
- Shackel, K. A., Greve, C., Labavitch, J. M., and Ahmadi, H. (1991). Cell Turgor Changes Associated with ripening in Tomato Pericarp Tissue. *Plant Physiol.* **97**, 814-816.
- Sharma, R. R., Krishna, H., Patel, V. B., Dahuja, A., and Singh, R. (2006). Fruit calcium content and lipoxygenase activity in relation to albinism disorder in strawberry. *Scientia Hortica*. **107**.
- Sharma, R. R., and Saxena, S. K. (2004). Rootstocks influence granulation in Kinnow mandarin (*Citrus nobilix*C. *deliciosa*). *Scientia Hortica*. **101**, 235-242.
- Schols, H. A., and Voragen, A. G. J. (1996). Complex pectins: Structure and elucidation using enzymes. *Prog. Biotechnol.* **14**, 3-14.
- Singh, K., and Reddy, B. (2006). Post-harvest physico-mechanical properties of orange peel and fruit. *J. Food Eng.* **73**, 112-120.
- Singh, S., and Pal, R. (2008). Response of climacteric-type guava (*Psidium guajava* L.) to postharvest treatment with 1-MCP. *Postharvest Biol. Technol.* **47**, 307-314.
- Smith, B. G., and Harris, P. J. (1999). The polysaccharide composition of Poaceae cell walls are not unique. *Biochem. Syst. Ecol.* **27**, 33-53.
- Smith, C. J. S., Watson, C. F., Ray, J., Bird, C. R., Morris, P. C., Schuch, W., and Grierson, D. (1989). Antisense RNA inhibition of polygalacturonase gene expression in transgenic tomatoes. *Nature* **334**, 724-726.
- Tanaka, K., Yokota, M., Ishikawa-Takano, Y., Asakura, T., Miyairi, K., and Okuno, T. (1998). Role of Calcium in Fruit involved in Ethylene Production. *Acta Hortica*. **464**, 504.
- Tian, M. S., Prakash, S., Zhang, N., and Ross, G. (2002). Chilling-induced ethylene biosynthesis in Braeburn apples. *Plant Growth Regul.* **38**, 249-257.
- Tiaz, L., and Zieger, E. (2006). "Plant Physiology," 4th/Ed. Sinauer Associates, Inc., Sunderland., USA.
- Toivonen, P. M. A., and Brummell, D. A. (2008). Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. *Postharvest Biol. Technol.* **48(1)**, 1-14.
- Tsipouridis, C., and Thomidis, T. (2005). Effect of 14 peach rootstocks on the yield, fruit quality, mortality, girth expansion and resistance to frost damages of May Crest peach variety and their susceptibility on *Phytophthora citrophthora*. *Scientia Hortica*. **103**, 421-428.
- Tucker, G. A. (1993). Respiration and energy. In "Biochemistry of fruit ripening" (G. B. Seymour, J. E. Taylor and G. A. Tucker, eds.). Chapman & Hall, London.
- Tuna, A. L., Kaya, C., Ashraf, M., Altunlu, H., Yokas, I., and Yagmur, B. (2007). The effects of calcium sulphate on growth, membrane stability and nutrient uptake of tomato plants grown under salt stress. *Envir. Exp. Bot.* **59**, 173-178.
- Vangdal, E., and Borge, J. (2002). Pre-and Postharvesting Ca-Treatment of Plums (*Prunus domestica* L.). *Acta Hortica*. **577**, 125-128.
- Vierhius, E., Schols, H. A., Beldan, G., and Voragen, A. G. J. (2001). Structural characterization of xyloglucan and xylans present in olive fruit. *Carb. Polym.* **44**, 51-62.
- Vizzotto, G. (1999). Relationship between nitrogen and fruit quality kiwifruit. In "4th International Symposium on Kiwifruit" (O. Lain and G. Costa, eds.), Vol. 498, pp. 165-172, Santiago, Chile.
- Wang, Y., Lu, W., Jiang, Y., Luo, Y., Jiang, W., and Joyce, D. (2006). Expression of ethylene-related expansin genes in cool-stored ripening banana fruit. *Plant Sci.* **170(5)**, 962-967.
- Wegrzyn, T. F., and MacRae, E. A. (1992). Pectinesterase, Polygalacturonase, and B-galactosidase during softening of ethylene-treated kiwifruit. *HortSci.* **27(8)**, 900-902.
- Whale, S. K., Singh, Z., Behboudian, M. H., Janes, J., and Dhaliwal, S. S. (2008). Fruit quality in 'Cripp's Pink' apple, especially colour, as affected by preharvest sprays of aminoethoxyvinylglycine and ethephon. *Scientia Hortica*. **115**, 342-351.

- Wild, H., Balk, P., E., F., and Peppelenbos, H. (2005). The action of carbon dioxide in relation to inhibition of ethylene production in tomato fruit. *Postharvest Biol. Technol.* **36**, 273-280.
- Willats, W., McCartney, L., Makie, W., and Knox, P. (2001). Pectin: cell biology and prospects for functional analysis. *Plant Mol. Biol.* **47**, 9-27.
- Williamson, J., and Coston, D. (1989). The relationship among root growth, shoot growth and fruit growth of peach. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* **114**(2), 180-183.
- Wills, R., McGlasson, B., Graham, D., and Joyce, D. (1998). "Postharvest: an Introduction to the physiology and handling of fruit, vegetables and ornamentals," Cab International, Wallingford.
- Wojcik, P. (2005). Effect of foliar potassium sprays on apple tree yielding, and fruit quality under conditions of low soil potassium availability. In "International Conference on Environmentally Friendly Fruit Growing", pp. 44-50, Tartu, Estonia.
- Zarra, I., and Revilla, G. (1996). Pared celular. Estructura e función. In "Fisiología Y Bioquímica Vegetal" (J. Azcon-Bieto and M. Talon, eds.). McGraw-Hill, Madrid.
- Zavalloni, C., Marangoni, B., and Scudellari, D. (2000). Dynamics of uptake of calcium, potassium and magnesium into apple fruit in a high density planting. In "Fourth International Symposium on mineral nutrition of deciduous fruit crops" (G. H. Nielsen, ed.), pp. 113-116, Idaho, USA.
- Zhou, H.-W., Ben-Aire, R., and Lurie, S. (2000). Pectin esterase, polygalacturonase and gel formation in peach pectin fractions. *Phytochemistry* **55**, 191-195.
- Zhou, H.-W., Dong, L., Ben-Aire, R., and Lurie, S. (2001). The role of ethylene in the prevention of chilling injury in nectarines. *J. Plant Physiol.* **158**, 55-61.

2. ENSAIOS EFECTUADOS

2.1 - Colheita e análise do etileno produzido – desenvolvimento de um método para a ameixa ‘Rainha Claudia Verde’

2.1.1 - Enquadramento do ensaio

A maioria das espécies de ameixa são incluídas na bibliografia, no grupo dos frutos climatéricos. Neste grupo encontram-se muitas espécies de ameixeiras Japonesas e algumas Europeias. As referências relativamente à produção de etileno feitas à variedade ‘Rainha Cláudia Verde’ são escassas, e dizem respeito às variedades francesas denominadas ‘Reine Claude’ que apesar da semelhança do nome, constituem um grupo diferente e heterogéneo.

A necessidade de perceber nesta variedade, a existência ou não de um máximo na produção de etileno e de localizá-lo relativamente à colheita comercial, levou a que se desenvolvesse um método para a colheita deste gás.

Avaliação da produção de etileno dos frutos

Para a avaliação da produção de etileno pelos frutos recorreu-se a um sistema aberto, no qual os frutos eram colocados em contentores de volumes conhecidos com ventilação controlada. A amostra foi recolhida do espaço de cabeça através de um septo de silicone existente em cada um dos contentores (fig.10). Para a ventilação recorreu-se à utilização de uma bomba de ar em que o fluxo por contentor era de 14ml/s. A ventilação forçada leva a grandes perdas de água por evaporação dos frutos, pelo que o ar foi previamente humidificado antes de entrar nos contentores.



Fig.10 - Contentores ventilados com frutos

A análise do etileno produzido foi efectuada por cromatografia gasosa, as amostras foram recolhidas do espaço de cabeça sendo injectado 1 ml num cromatógrafo HP serie 5710A equipado com detector FID a 150°C com uma coluna de enchimento PORAPAK N (80/100 mesh). O gás de arraste utilizado foi azoto (25ml/min) e a temperatura do forno foi 50° C (Song and Bangerth, 1996). A quantificação deste gás foi efectuada recorrendo a padrões externos. As rectas de calibração foram traçadas com 6 concentrações entre os 0,005 e 0,4 µl de etileno, tendo-se sempre obtido um $R^2 > 0,990$. Estes padrões foram injectados nas mesmas condições da amostra, traçando posteriormente as rectas de calibração.

2.1.2 - ARTIGO

Ethylene production and respiration rate in 'Green Gage' plums (*Prunus domestica* L.)

ETHYLENE PRODUCTION AND RESPIRATION RATE IN 'GREEN GAGE' PLUMS (*PRUNUS DOMESTICA* L.)

A.E. RATO

Departamento de Fitotecnia, Universidade de Évora, Apartado 94, 7002-554 Évora, Portugal.

Introduction

'Rainha Claudia Verde' is a regional cultivar within the 'Green Gage' plums group. Traditionally 'Rainha Claudia Verde' plums are collected for fresh market with 17% of soluble solids content (SSC) and when the endocarp detaches easily from the mesocarp. The fruits are usually consumed within three weeks after harvest. During storage the fruits soften and shrivel very quickly which limits the time available for marketing. Harvesting plums at a premature stage may improve fruit quality [3]. On the other hand, less mature fruits generally do not develop typical taste characteristics [4].

Ethylene and CO₂ production are closely associated with fruit ripening [2, 5] while acidity, SSC and fruit firmness have a strong impact on sensory quality. The present study was carried out to investigate the postharvest behaviour of 'Rainha Claudia Verde' plums obtained at various stages of harvest maturity.

1. Material and methods

The fruits were harvested at three ripening stages: I - pre-commercial harvesting date; II - commercial harvesting date; III - post-commercial harvesting date. After harvest, the fruits were kept at room temperature (20°C) during 4 weeks, at maximum. During storage at room temperature the ethylene and CO₂ production were determined daily and titratable acidity, soluble solids content and firmness were determined weekly. For respiration and ethylene production measurements, 10 fruits were placed in a 724ml glass container and continuously ventilated with 14ml/s of air humidified to 100% RH. Gas samples of 1ml were taken from the glass container and injected into a Gas Chromatograph, equipped with a flame ionisation detector and a 6 ft length stainless steel column packed with Porapak N (80-100 mesh) and held at 50°C. The carrier gas was Nitrogen and the column flow was 25ml/min.

The SSC were measured by refractometry using a digital Refractometer. Fruit firmness was measured with a Texture Analyser using a 3mm-diameter rod with a compression load cell of 25 Kg and the test speed was 1mm/s. The test was performed in the entire fruit. Maximum Penetration Force (MPF) and the Depth to the Maximum Penetration Force (DMPF) were measured and the MPF/DMPF was calculated.

2. Results and discussion

A large decrease in firmness (100% to 36%) was observed during the first week after har-

vest, in plums collected in ripening stages I and II, as has been found in other prunes [1]. As other authors observed for plums [3] and apples [4], fruits collected in pre-commercial harvesting date (I) exhibited a lower and later climacteric rise (Fig.1). Fruits collected in the post-commercial harvesting stage (III) exhibited the climacteric rise during the main loss in flesh firmness. As harvest approached commercial harvesting date the climacteric rise occurred 7 days after the main loss in flesh firmness.

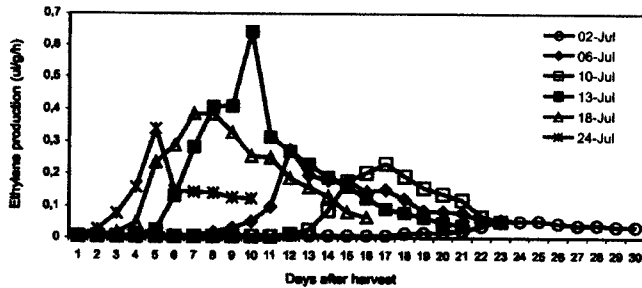


Fig.1 - Ethylene production rate of 'Rainha Claudia Verde' plums from six different harvest dates

Measurements of CO₂ evolution from 'Rainha Claudia Verde' plums showed a respiration pattern of the climacteric type as described earlier for 'Victoria' plums (*Prunus domestica* L.) [2]. The amount of CO₂ increased from approximately 0,03-0,05mlCO₂/g/h to a maximum of 0,09-0,10mlCO₂/g/h except for the first harvesting date (Fig.2). Fruits collected with

13,6% and 12,8% of SSC (ripening stage I), remained firmer during a longer period but with a lower quality (measured as titratable acidity, data not shown). The fruits collected during commercial harvest exhibited a considerable storage potential with a good ripening quality.

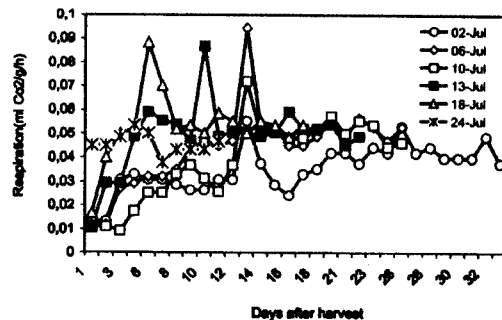


Fig.2 - Respiration rate of 'Rainha Claudia Verde' plums from six different harvest dates

Acknowledgements. We are grateful to Dr. José Maria Peiró at Universidad de Zaragoza for the information on gas chromatography.

References

- [1] Murillo, J.A., Bruswitz, G.H. and Maness, N.O. (1996). *Journal of Food Quality*, 20:61-72.
- [2] Sekse, L. (1988). *Acta Agric.Scand.*, 38:317-320.
- [3] Sekse, L. (1989). *Acta Agric.Scand.*, 39:15-21.
- [4] Song, J. and Bangerth, F. (1996). *Postharvest Biol. Technol.*, 8:259-269.
- [5] Zuzunaga, M., Serrano, M., Valero, D., Martinez-Romero, D. and Riquelme, F. (2001). *Acta Hort.*, 553:179-180

2.2 -Efeito do solo e porta-enxerto na composição mineral dos frutos da ameixa ‘Ráinha Claudia Verde’ (*Prunus domestica* L.)

2.2.1 - Enquadramento do ensaio

Este ensaio integra-se num estudo mais abrangente de 8 porta-enxertos e 6 clones de ‘Ráinha Claudia Verde’ instalado em 1990 pela Universidade de Évora em colaboração com o INRA-Bordeaux, com o objectivo de seleccionar aqueles que melhor se adaptavam às nossas condições edafo-climáticas do Alto Alentejo.

Estando em causa perceber a origem das diferenças observadas entre frutos relativamente à perda acentuada da consistência dos tecidos da polpa, e sendo o cálcio um elemento cuja presença é frequentemente associada a um aumento da resistência das paredes celulares, decidiu-se avaliar os níveis de cálcio nos frutos e a sua influência na textura dos frutos.

Com a indicação prévia de que os níveis de cálcio foliar, existente na matéria seca, apresentavam valores significativamente superiores em árvores enxertadas em ‘Mariana GF-10.2’ quando comparados com árvores enxertadas em ‘Mariana GF-8.1’, efectuou-se a avaliação do efeito do porta-enxerto na capacidade de conservação dos frutos. De igual modo a informação existente ao nível do conhecimento empírico que associa aos frutos produzidos em determinadas manchas de solo uma menor qualidade, fez-nos também incluir a região como factor a ser estudado.

Assim para este ensaio, seleccionaram-se dois pomares em duas regiões diferentes, um no concelho de Vila Viçosa (designado por pomar de Vila Viçosa) o outro no concelho de Sousel (designado por pomar do Cano), dos quais havia a informação prévia de que os frutos apresentavam um comportamento distinto quer durante a cozedura quer durante a conservação. Seleccionaram-se também, em cada um dos pomares, dois porta-enxertos (‘Mariana GF-10.2’; ‘Mariana GF-8.1’) com três repetições cada.

Inicialmente efectuou-se uma caracterização prévia dos pomares e dos dois porta-enxertos relativamente à composição química dos frutos. Para isso quantificaram-se alguns dos nutrientes presentes no solo e nos frutos e posteriormente avaliou-se o comportamento durante a conservação dos frutos com diferentes origens.

A metodologia descrita neste ponto refere-se apenas aquela que não foi suficientemente promenorizada no artigo.

Análise de Catiões (P, Mg, Ca, K)

Neste material, por ter um elevado conteúdo em açúcar, é impossível determinar a matéria seca através do procedimento normal de secagem a 100°C até peso constante, pelo que se utilizou a liofilização como processo para a determinação da matéria seca.

Desta forma e após a colheita, os frutos foram descaroçados, cortados em pequenos pedaços, congelados e posteriormente liofilizados. Efectuou-se uma moagem grosseira da amostra. Desta amostra pesou-se 1 g à qual se adicionaram 12 ml de HNO₃ (69%). A digestão ácida foi efectuada durante 1h no banho seco a 80°C, e após este período toda a amostra se apresentava totalmente translúcida. Deixa-se arrefecer um pouco e adicionam-se 10 ml de HCl a 0,5N e levam-se novamente as amostras a 80°C durante 15 min. Transfere-se o conteúdo para um balão volumétrico de 50 ml e completa-se o volume com H₂O desmineralizada. Posteriormente filtra-se o conteúdo para um frasco de polietileno de alta densidade. No filtrado foram quantificados os catiões por ICP (Inductively Coupled Plasma).

Determinação do Azoto total

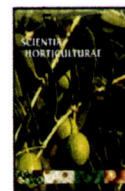
O teor de azoto das amostras foi doseado pelo método de Kjeldahl (NP EN ISO 5983-1:2007). Este método fundamenta-se na digestão a quente do azoto orgânico por meio do ácido sulfúrico concentrado e em presença de um catalisador. Inicialmente a amostra é digerida a quente em meio ácido na presença do catalisador. Na segunda fase ocorre a libertação de amoníaco do sulfato de amónio por adição de uma base. O amoníaco é posteriormente recolhido numa solução de ácido bórico diluída. Na fase final o amoníaco é doseado através de uma titulação com HCl a 0,1N e em presença de uma solução indicadora de pH.

Esta determinação efectuou-se no mesmo tipo de material que foi utilizado para os restantes catiões. Assim após a liofilização da amostra colocaram-se 5g em 10 ml de

H₂SO₄ conc. e o catalisador. A digestão decorre durante 30 min a 400°C, e após terminar, os tubos arrefecem fora do bloco de aquecimento, adicionam-se 70 ml de H₂O destilada e efectua-se a destilação seguindo-se a titulação.

2.2.2 - ARTIGO

Soil and rootstock influence on fruit quality of plums (*Prunus domestica*.L)



Soil and rootstock influence on fruit quality of plums (*Prunus domestica* L.)

A.E. Rato^{a,*}, A.C. Agulheiro^a, J.M. Barroso^a, F. Riquelme^b

^a ICAM – Instituto de Ciências Agrárias Mediterrâneas, Universidade de Évora, Apartado 94, 7002-554 Évora, Portugal

^b CEBAS-CSIC, Campus de Espinardo, Apdo 164, 30100-Espinardo, Murcia, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 4 March 2008

Received in revised form 28 May 2008

Accepted 3 June 2008

Keywords:

Plums
Rootstock vigour
Soil fertility
Calcium
Firmness

ABSTRACT

Soil and rootstock can particularly affect the 'Rainha Claudia Verde' (*Prunus domestica*) fruit quality, mainly its firmness characteristics. To investigate the variation in fruit quality, plums were harvested at commercial maturity from trees grafted on Marianna GF8-1 (*Prunus cerasifera* × *munsoniana*) and Marianna GF10-2 (*P. cerasifera* × *munsoniana*) rootstocks on two different soils: Haplic Luvisol and Vertic Luvisol. After harvest fruits were stored at 2 °C for 3 weeks. At the harvest day a small group of fruits were analysed without cold storage. During storage fruits were tested for firmness, soluble solids content, titratable acidity and fruit mineral content. Tree vigour was evaluated from trunk cross-sectional areas values.

The GF8-1 rootstock promoted the highest vegetative development, comparing to GF10-2. This rootstock promoted the largest fruits size and the higher calcium fruit level. Positive correlations were found between higher concentrations of calcium in the pulp fruits and firmness. Fruits from two different rootstocks showed the same firmness at harvest but during cold storage, fruits from GF10-2 rootstock exhibited the highest firmness pulp values. There weren't significant differences in fruit nitrogen and potassium levels for any studied factor.

At harvest solids soluble content and solids soluble content/titratable acidity ratio weren't affected by soil type or rootstock. As expected, solids soluble content during cold storage increased and solids soluble content/titratable acidity had a slight increase.

GF10-2 revealed to be a good option as a 'Rainha Claudia Verde' rootstock for plums growers due to its intermediate-vigour. Also GF10-2 fruits presented better quality during storage comparing with GF8-1.

© 2008 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

'Rainha Claudia Verde' is a traditional variety of '*Prunus domestica* L.' much appreciated in Portugal either as a fresh fruit or as a sweet candy. In the past 15 years the production area for this plum in South of Portugal increased. 'Rainha Claudia Verde' is grown for local consumption and for export markets as United Kingdom and Spain. Among other *Prunus*, this plum variety has a short postharvest life.

The accurate evaluation of rootstocks responses to different growth conditions and the identification of the best scions/rootstocks combinations are of major importance to obtain high quality crops.

Several different rootstocks are available for plums. Portuguese plum growers use mainly Marianna GF8-1 (*Prunus cerasifera* × *munsoniana*). This rootstock appears to be well adapted, but exhibits an excess of vigour on fertile soils and a high presence of

root suckers (Barroso, 1997). One of the plums rootstocks, that have less vigour than GF8-1, is GF10-2 (*P. cerasifera* × *munsoniana*) which could be a good option to regional plums growers.

Rootstocks can have profound effects on scions such as controlling tree size, time of flowering (Beckman et al., 1992; Layne, 1994) and nutritional composition of the plant (Boyhan et al., 1995). Also rootstock/scion interaction plays an important role in fruit quality (Hofman et al., 2002).

Fruit mineral concentrations have been related to fruit ripening, yield and quality in a number of species (Giorgi et al., 2005; Hofman et al., 2002; Smith and Clark, 1989). It has been shown that dwarf rootstocks are generally more able to send nutrients to the fruit because there is less competition from vegetative parts (Faust, 1989). Nevertheless Boyhan et al. (1995) found lower calcium levels in leaves of plum trees grafted on 'Pixy', a dwarf rootstock, than those from the vigorous ones.

Particularly, calcium is one of the most important nutrients implicated in fruit ripening because of its role in cell wall strength and membrane function (Poovaiah et al., 1988). Improving fruit calcium concentrations is often difficult to achieve. Attempts to increase calcium fruit levels have not always been successful.

* Corresponding author. Tel.: +351 266760800; fax: +351 266760828.
E-mail address: aerato@uevora.pt (A.E. Rato).

There are some reports of contradictory results (Glenn and Poovaiah, 1990; Joyce et al., 2001; Kadir, 2004; Roy et al., 1999).

To a large extent, transpiration controls upward translocation rate of Ca^{2+} , so accumulation in low transpiring organs such as fruit is often unpredictable (Marschner, 1995), nevertheless attempts to increase fruit calcium levels are more successful during fruit growth than after harvest (Hofman et al., 2002).

Magnesium, nitrogen, potassium and phosphorous can influence fruit quality and yield. The effect of nitrogen fertilizer applications late in the season is well known (Faust, 1989). Potassium is one of the major nutrients that need to be supplied in relatively large quantities to fruit crop plants, it is the most abundant cation in the cytoplasm and it makes a major contribution to the osmotic potential of cells. There is a clear relationship between potassium accumulation in the plant tissues, including fruits, and their carbohydrate content (Marschner, 1995). Boyhan et al. (1995) found a correlation between low potassium concentrations in leaves and poor tree survival. Also phosphorus level in apples has been positively correlated with fruit firmness (Faust, 1989).

Understanding plant nutrient content effects on the tree is a complex matter as one nutrient can influence the concentration of another. After a massive application of potassium and calcium fertilizers, K^+ and Ca^{2+} cations compete, quite effectively, with Mg^{2+} and strongly depress its uptake rate, which can induce magnesium deficiency (Marschner, 1995).

It is important that regional plum growers acquire additional information about attributes and limitations of specific rootstocks and the effects of the two major soil types on the fruit mineral composition. The aim of the present study was to compare the effects induced by two different plum rootstocks (GF8-1 and GF10-2) and two different soils (Haplic Luvisol and Vertic Luvisol) on growth, fruit yield, mineral composition and fruit quality of plums.

2. Materials and methods

2.1. Plant growth conditions

This research was carried out in two experimental orchards located in South region of Portugal in two different soils. According to FAO one soil is a Haplic Luvisol and the other soil is a Vertic Luvisol, respectively. Both orchards have a drip irrigation system. 'Rainha Claudia Verde', is grafted in two different rootstocks Mariana GF8-1 and Mariana GF10-2, with three replications in each soil type.

Tree vigour was measured 20 cm above the grafting point and is expressed by trunk cross-sectional area (TCSA) (Layne, 1994).

2.2. Fruit chemical analysis

Fruits were harvested during 2002 and 2003. Harvest maturity was based on chemical and physical fruit attributes: at 17% of SSC (solids soluble content) and when the mesocarp detached easily from endocarp. Fruit samples were harvested from each single-tree repetition, around the tree, from the middle branch portion and transported to the laboratory at a constant temperature.

In the laboratory fruits were selected without defects, weighted, de-seeded and cut in small pieces. Pell and pulp were

used for chemical analysis. SSC was measured twice, in a 10 fruits sample per tree, using a digital refractometer ATAGO (PR-101) at 20 °C, and expressed as Brix. TA (titratable acidity) was determined in a Compact Titrator CRISON by potentiometric titration with 0.1N NaOH up to 8.2 using 6 g of peel and pulp filtrate, in 50 ml of distilled H_2O . The results were expressed as gram of malic acid per 100 g of fresh weight as suggested in NP-1421 (CT 31, 1977).

Sixty fruits were harvested (20 fruits per tree), and two replicates were prepared for each sample to mineral extraction and analysis. Fruits were de-seeded and freeze dried, P, K, Ca and Mg content were estimated by inductively coupled plasma (ICP)–optical emission spectroscopy (OES) in a Jobin Yvon JY-70. Prior to ICP analysis, fruit tissue samples were acid extracted. Total N was analysed by a modified Kjeldahl method with a selenium catalyst (Baker and Thompson, 1992). Samples were prepared in two replicates.

2.3. Firmness characterization

At harvest day a 10 fruits sample per tree was tested in the laboratory and other fruits were stored during 3 weeks at 2 °C and 98% RH being tested every week. Firmness was evaluated in all fruit groups using a texturometer TAHDi Texture Analyser (Stable Microsystems) fitted with a cylindrical probe of 3 mm of diameter. In the penetration test, the probe was forced into fruit pulp at a constant speed of 1 mm s^{-1} until 7 mm depth. The fruit firmness was evaluated after eliminating a thin layer of the epicarp.

2.4. Soil analysis

Soil samples were taken using a soil probe to a depth of 50 cm randomly in each orchard. These soil cores were mixed to make a composite sample.

Soil analyses were performed in Soil Laboratory in Évora University. Total nitrogen was determined in a 'Gerhardt' digester. Potassium determination was done by flame photometry the detector used was a PFP manufactured by Jenway Ltd. and Ca and Mg were measured by atomic absorption spectrophotometry in a PerkinElmer 2380 spectrophotometer.

2.5. Statistical analysis

Data were analysed according to a factorial design, years, soil and rootstocks were considered factors, with two levels each (soil: Haplic Luvisol and Vertic Luvisol; rootstock: GF8-1 and GF10-2). Analyses of variance were performed with a significance level of 95%, followed by a Tuckey test using the Statistica 6.0 software (StatSoft Inc.).

3. Results

3.1. Tree growth and soil analysis

Vertic luvisol has a higher fertility level compared to Haplic Luvisol soil (Table 1). Both factors soil and rootstock caused a significant difference in TCSA. Vertic Luvisol soil caused a significant

Table 1
Soil fertility in different orchards after planting

Soil	Depth (cm)	NO_3^- (ppm)	P_2O_5 (ppm)	K_2O (ppm)	Ca^{2+} (mequiv./100 g)	Mg^{2+} (mequiv./100 g)	pH H_2O
Vertic Luvisol	0–20	7.50	12.00	700.00	15.19	1.46	7.94
	20–50	4.00	6.00	356.00	13.13	1.30	7.77
Haplic Luvisol	0–20	7.50	72.00	114.00	8.72	1.46	7.47
	20–50	2.00	24.00	74.00	7.47	1.98	7.61

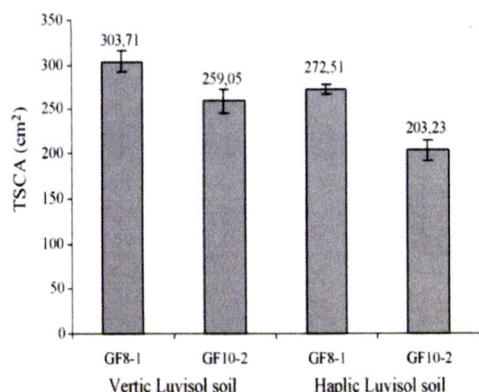


Fig. 1. Effect of soil and rootstock on trunk cross-sectional area increase after 12 years of 'Rainha Claudia Verde' on either GF8-1 and GF10-2 rootstocks in Alentejo (Portugal). Vertical bars represent S.E.

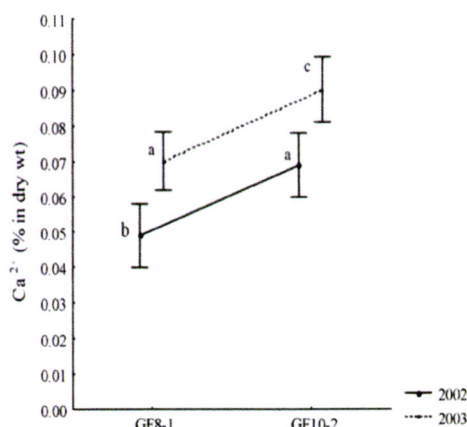


Fig. 2. Means and confidence intervals of calcium pulp levels in 2002 and 2003. Means with same letters are not significantly different at $p < 0.05$.

increase in TCSA ($p = 0.03$) and GF10-2 rootstock caused a significant ($p = 0.005$) reduction in TCSA (Fig. 1).

3.2. Fruit yield

The total accumulated yield was registered from 1991 to 2003 and the rootstock influence was not significant. Trees on GF10-2 and GF8-1 showed an accumulated yield of 128 kg/tree and 134 kg/tree, respectively.

3.3. Fruit mineral content

Ca and Mg fruit pulp level were significantly lower in 2002 compared to 2003 ($p = 0.0002$), and, between rootstocks, fruits from GF10-2 had a significant ($p = 0.0003$) higher Ca fruit level and this was observed with significant differences in both years (Fig. 2). The

Table 2

Soil and rootstock effect on fruit pulp mineral content of 'Rainha Claudia verde' plums

Year	Soil type	Rootstock	Mineral concentration (% in dry matter)			
			P	K	Mg	N
2002	Haplic Luvisol	GF8-1	0.120 ^a	1.117 ^a	0.045 ^a	0.659 ^a
		GF10-2	0.144 ^a	1.216 ^a	0.048 ^a	0.834 ^a
	Vertic Luvisol	GF8-1	0.081 ^b	1.183 ^a	0.042 ^a	0.755 ^a
		GF10-2	0.098 ^b	1.113 ^a	0.042 ^a	0.685 ^a
2003	Haplic Luvisol	GF8-1	0.098 ^a	1.168 ^a	0.056 ^b	0.549 ^a
		GF10-2	0.116 ^a	1.132 ^a	0.051 ^b	0.670 ^a
	Vertic Luvisol	GF8-1	0.079 ^b	1.245 ^a	0.050 ^b	0.766 ^a
		GF10-2	0.093 ^b	1.284 ^a	0.055 ^b	0.756 ^a

Means separation of soils and rootstocks within columns according Tukey's multiple range test ($p < 0.05$).

results for N and K nutrients in the fruit pulp did not show any significant differences for any studied factor, but in Vertic Luvisol soil fruits presented in general a higher value for both N and K. Also between soils, fruits from the Haplic Luvisol soil showed a significant ($p = 0.006$) higher P level in the pulp (Table 2). None of the trees in both orchards showed any deficiency symptoms.

3.4. Fruit quality

3.4.1. Firmness

At harvest fruit firmness was significantly ($p = 0.0001$) higher in 2003 than 2002, as well as on fruits from Vertic Luvisol soil ($p = 0.003$) (Table 3). Comparing rootstocks, fruits from GF10-2 exhibited a significant ($p = 0.01$) higher firmness. Also during cold storage, fruits from this rootstock remained generally firmer than fruits from GF8-1 (Fig. 3) but this was not statistically significant. As expected, firmness decreased in all storage periods but fruits collected in 2003 remained highly significantly firmer for a longer period.

3.4.2. Fruit weight

Fruit weight did not show any significant differences with regards to the variable year, therefore the weight analysis was conducted on data combined for the 2 years. Fruits from GF10-2 trees were significantly ($p = 0.0002$) heavier than fruits from GF8-1 and between orchards fruits from Vertic Luvisol soil presented a significant decrease in fruit weight ($p = 0.0001$) (Table 4).

3.4.3. SSC and SSC/TA

At harvest, fruits from different grafted trees did not differ significantly in their SSC and SSC/TA ratio which means that fruits, at harvest, have the same maturity and maintained similar fruit quality (Table 3).

As expect in both years, SSC increased during cold storage period and SSC/TA ratio had a slight increase during the same period (data not shown).

Table 3

The effect of soil, rootstocks and year on qualitative attributes of the 'Rainha Claudia Verde' plums and firmness at harvest

	Vertic Luvisol soil				Haplic Luvisol soil			
	GF8-1		GF10-2		GF8-1		GF10-2	
	2002	2003	2002	2003	2002	2003	2002	2003
Firmness (N)	5.5 ± 0.36	7.8 ± 0.34	4.6 ± 0.43	7.8 ± 0.24	5.3 ± 0.24	6.9 ± 0.36	5.2 ± 0.27	6.5 ± 0.17
SSC (°Brix)	18.5 ± 0.1	15.5 ± 0.10	19.5 ± 0.05	15.6 ± 0.25	20.3 ± 0.05	17.3 ± 0.53	19.5 ± 0.05	17.4 ± 0.35
SSC/TA (mequiv. NaOH/100 g of pulp)	18.33 ± 0.06	14.29 ± 0.10	21.09 ± 0.47	14.49 ± 0.8	19.83 ± 0.05	17.38 ± 0.47	19.35 ± 0.038	17.92 ± 0.76

Values registered at harvest in fruits without cold storage are means ± S.E.

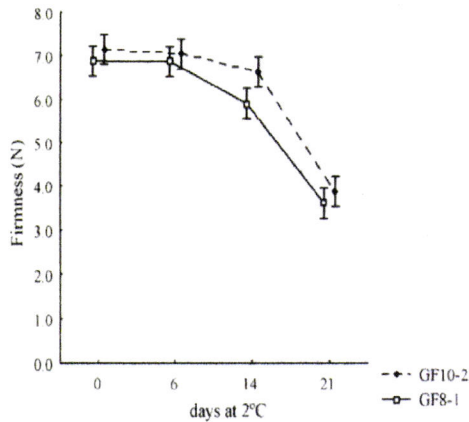


Fig. 3. Pulp firmness evolution during cold storage in 2003. Each point represents 10-sample mean.

Table 4
Average fruit weight from different soils and rootstocks considering both years

Soil	Rootstock	Fruit weight (g)
Haplic Luvisol soil	GF8-1	28.91 ± 0.75
	GF10-2	30.85 ± 0.51
Vertic Luvisol soil	GF8-1	26.24 ± 0.54
	GF10-2	28.56 ± 0.51

Mean ± S.E. Values registered at harvest in fruits without cold storage.

4. Discussion and conclusion

Rootstocks can dramatically influence the orchard performance affecting fruit minerals concentrations. In previous studies, GF10-2 rootstock induced an intermediate vigour (Barroso, 1997). In the present study GF10-2 rootstock confirmed its intermediate-vigour characteristics producing a lower tree cumulative growth comparing with GF8-1 rootstock. According to Robinson (2006) there is a positive correlation between rootstock vigour and trunk cross-sectional area. Research into *Prunus* rootstock effect on fruiting, indicates that cumulative yields were highest on the more vigorous rootstocks (Layne, 1994). Also Barroso (1997) found a positive correlation between tree vigour and cumulative yield in these rootstocks of *P. domestica* L.

In this study between rootstocks, fruits from trees grafted on GF10-2 rootstock were significantly bigger. Also cumulative yield did not show significant differences between two rootstocks. Tree yield has also been related to fruit weight. Fruit weight is a function of crop load, tree vigour and growing conditions before harvest. Layne (1994) found that peach fruit weight was significantly influenced by rootstocks vigour; largest fruits were found on intermediate-vigour rootstocks comparing with vigorous ones.

Between soils, fruits were bigger in the Haplic Luvisol soil, which was confirmed in average fruit weight, and consequently it was observed a decrease in fruit firmness. Fruit size is negatively correlated to firmness, due to a greater percentage of cell wall material in small fruits (Sams, 1999).

Fruit flesh calcium concentration was significantly higher in fruits from trees grafted on GF10-2 however no differences were found between soils. This was also supported by Witney et al. (1990) who found that 'Hass' and 'Fuerte' avocado fruits from less vigorous trees had higher flesh calcium concentrations than those from more vigorous trees. The dilution of calcium is minimised in less vigorous trees, which explains the relationship between tree vegetative growth and calcium fruit level. Also Hofman et al.

(2002) found a negative correlation between fruit size and calcium fruit level in avocado. As regards calcium fruit content and rootstock selection these results may indicate that GF10-2 fruit size contributed to reduce the differences on calcium fruit level between the two rootstocks. Generally Alentejo is a region of poor soil fertility and GF8-1 is the most commonly diffused plum rootstock because it induces good plant vigour. It was confirmed that fruits from trees grafted on Marianna GF8-1 had lower calcium fruit content than fruits from trees grafted on Marianna GF10-2. It was expected that Vertic Luvisol soil, with a higher calcium level would induced a higher calcium fruit level than Haplic Luvisol soil. Nevertheless there was a strong and positive correlation between soil fertility and tree vigour which apparently contributed to a dilution of calcium fruit level between orchards. GF10-2 rootstock can be a good option in more fertile soils because it induces a reduction in vegetative growth and minimised the calcium dilution in the fruit.

In this study, no significant rootstock effect was found on potassium, nitrogen, phosphorus and magnesium fruit content. Nevertheless the concentration of phosphorus in the soil has influenced the phosphorus level in the pulp fruit. Fruits from the Haplic Luvisol soil had higher phosphorus levels in the pulp.

As expected, fruit pulp firmness decreased during fruit storage (Fig. 3). The loss of fruit firmness is a physiological process that occurs during fruit ripening. The reduction in cell wall strength and cell-to-cell adhesion in mature fruits have been described in many *Prunus* species (Heyes and Sealey, 1996; Murillo et al., 1997; Taylor et al., 1995).

During storage fruit from GF10-2 trees had the highest pulp firmness comparing with GF8-1 rootstock (Fig. 3) nevertheless no differences were found, at harvest, between two rootstocks. Initial flesh firmness values were similar for two rootstocks. After the first period of cold storage fruits from GF10-2 began to show a significant higher firmness. Also Alcaraz-Lopez et al. (2003) and Botia et al. (2005) found a significant higher firmness in fruits with higher calcium fruit content. The changes in cell wall polymers that accompany fruit ripening implicate the action of enzymes capable of degrading specific cell wall components (Fischer and Bennett, 1991). The role of Ca^{2+} in maintaining cell wall integrity was described in many fruit species (Glenn and Poovaiah, 1989; Glenn and Poovaiah, 1990; Lidster et al., 1979; Tzoutzoukou and Bouranis, 1997).

Fruits from different rootstocks did not demonstrate differences for solids soluble content at harvest time. The strong negative correlation between firmness and SSC at harvest (Fig. 4) justifies the local growers' practice of harvesting on the basis of SSC only.

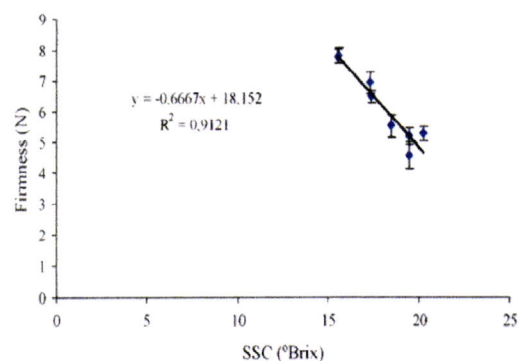


Fig. 4. Correlation between SSC and flesh firmness at harvest in 2002 and 2003 in plum fruits from trees grafted on GF8-1 and GF10-2. Each firmness value represents a 10-sample mean ± S.E.

These results underline, to 'Rainha Claudia Verde', variety the important relationships between soil fertility and rootstock vigour on tree size and fruit quality. In this variety a proper rootstock selection can help to increase fruit quality while its regional adaptability is retained.

Acknowledgments

We would like to thank Prof. Manuel António Coimbra from Universidade de Aveiro for his support in nutrient analysis and Dr. Eugénio Soares, his colleague from Chemistry Laboratory of Universidade de Aveiro for his assistance with ICP. This work was supported by Portuguese Ministry of Agriculture, Agro Program.

References

- Alcaraz-Lopez, C., Botia, M., Alcaraz, C.F., Riquelme, F., 2003. Effects of foliar sprays containing calcium, magnesium and titanium on plum (*Prunus domestica* L.) fruit quality. *J. Plant Physiol.* 160, 1441–1446.
- Baker, W.H., Thompson, T.L., 1992. Determination of total nitrogen plant samples by Kjeldahl. *Southern Coop. Serv. Bull.* 368, 13–16.
- Barroso, J., 1997. Evaluation of different rootstocks for 'Greengage' plum. *Acta Hort.* 478, 331–339.
- Beckman, T.G., Okie, W.R., Meyers, S.C., 1992. Rootstocks affect bloom date and fruit maturation of 'Redhaven' peach. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 117 (3), 377–379.
- Botia, M., Riquelme, F., Alcaraz-López, C., Alcaraz, C., 2005. Induction of fruit calcium assimilation, its influence on the quality of table grapes. *Spanish J. Agric. Res.* 3, 335–343.
- Boyhan, G.E., Norton, J.D., Pitts, J.A., 1995. Establishment, growth, and foliar nutrient content of plum trees on various rootstocks. *HortScience* 30 (2), 219–221.
- CT 31, 1977. *Produtos alimentares derivados de frutos e de produtos hortícolas. Determinação da acidez.* NP 1421, IPQ, Lisboa.
- Faust, M. (Ed.), 1989. *Physiology of Temperate Zone Fruit Trees.* John Wiley & Sons, New York.
- Fischer, R.L., Bennett, A.B., 1991. Role of cell wall hydrolases in fruit ripening. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 42, 675–703.
- Giorgi, M., Capocasa, F., Scalzo, J., Murri, G., Battino, M., Mezzetti, B., 2005. The rootstock effects on plant adaptability, production, fruit quality and nutrition in the peach (cv. 'Suncrest'). *Sci. Hortic.* 107, 36–42.
- Glenn, G.M., Poovaiah, B.W., 1989. Cuticular properties and postharvest calcium application influence craking of sweet cherries. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 5, 781–788.
- Glenn, G.M., Poovaiah, B.W., 1990. Calcium-mediated postharvest changes in texture and cell wall structure and composition in 'Golden Delicious' Apples. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 6, 962–968.
- Heyes, J.A., Sealey, D.F., 1996. Textural changes during nectarine (*Prunus persica*) development and ripening. *Sci. Hortic.* 65, 49–58.
- Hofman, P.J., Vuthapanich, S., Whiley, A.W., Klieber, A., Simons, D.H., 2002. Tree yield and fruit minerals concentrations influence 'Hass' avocado fruit quality. *Sci. Hortic.* 92, 113–123.
- Joyce, D.C., Shorter, A.J., Hockings, P.D., 2001. Mango fruit calcium levels and the effect of postharvest calcium infiltration at different maturities. *Sci. Hortic.* 91, 81–99.
- Kadir, S.A., 2004. Fruit quality at harvest of 'Jonathan' apple treated with foliar applied calcium chloride. *J. Plant Nutr.* 27 (11), 1991–2006.
- Layne, R.E.C., 1994. *Prunus* rootstocks affect long-term orchard performance of 'Redhaven' peach on brookston clay loam. *HortScience* 29 (3), 167–171.
- Lidster, P.D., Podditt, S.W., Tung, M.A., 1979. Effects of a delay in storage and calcium chloride dip on surface disorder incidence in 'Van Cherry'. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 3, 298–300.
- Marschner, H. (Ed.), 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants.* Academic Press, London.
- Murillo, J.A., Brusewitz, G.H., Maness, N.O., 1997. Peach texture during ripening after extended storage. *J. Food Qual.* 20, 61–72.
- Poovaiah, B.W., Glenn, G.M., Reddy, A.N., 1988. Calcium and fruit softening, physiology and biochemistry. *Hortic. Rev.* 10, 107–152.
- Robinson, T.L., 2006. Interaction of fertilization, rootstock and irrigation on growth, thinning efficiency, yield and fruit quality of 'Empire' apple. *Acta Hort.* 721, 41–47.
- Roy, S., Conway, W.S., Watada, A.E., Sams, C.E., Erbe, E.F., Wergin, W.P., 1999. Changes in the ultrastructure of the epicuticular wax and postharvest calcium uptake in apples. *HortScience* 34 (1), 121–124.
- Sams, C., 1999. Preharvest factors affecting postharvest texture. *Postharvest Biol. Technol.* 15, 249–254.
- Smith, G.S., Clark, C.J., 1989. Effect of excess boron on yield and postharvest storage of kiwifruit. *Sci. Hortic.* 38, 105–115.
- Taylor, M.A., Rabe, E., Jacobs, G., Dodd, M.C., 1995. Effect of harvest maturity on pectic substances, internal conductivity, soluble solids and gel breakdown in cold storage 'Songold' plums. *Postharvest Biol. Technol.* 5, 285–294.
- Tzoutzoukou, C.G., Bouranis, D.L., 1997. Effect of preharvest application of calcium on the postharvest physiology of apricot fruit. *J. Plant Nutr.* 20 (2/3), 295–309.
- Witney, G.W., Hofman, P.J., Wolstenholme, B.N., 1990. Effect of cultivar, tree vigour and fruit position on calcium accumulation in avocado fruits. *Sci. Hortic.* 44, 113–123.

2.3 – Influência da composição química do solo nas alterações das propriedades físicas da ameixa ‘Rainha Claudia Verde’ (*Prunus domestica* L.) durante a maturação

2.3.1 - Enquadramento do ensaio

A existência de um número limitado de repetições no ensaio descrito em 2.2 não permitiu estudar convenientemente a influência do solo na composição química da polpa dos frutos. Desta forma, e com o objectivo de perceber melhor a influência do solo no comportamento dos frutos após a colheita, bem como a forma como a maturação influencia este comportamento, efectuou-se outro ensaio nos pomares do Cano e de Vila Viçosa, em que se utilizaram frutos do mesmo clone (PUE-11) e do porta-enxerto mais divulgado na região (GF8-1). Para o efeito seleccionaram-se 20 árvores por pomar e realizaram-se 3 datas de colheita em ambos os pomares. Utilizando como referência a colheita comercial, efectuou-se uma colheita anterior e outra posterior. O ensaio decorreu a uma temperatura de 20°C, o que permitiu avaliar mais rapidamente os efeitos da perda de textura dos tecidos observada nos frutos.

A amostragem dos frutos que no ensaio anterior dizia respeito apenas a três árvores de cada porta-enxerto, neste ensaio envolveu 20 árvores por pomar, e o ensaio decorreu durante dois anos consecutivos. As árvores sensivelmente homogéneas, foram previamente seleccionadas tendo em consideração o seu vigor, bem como o seu estado fenológico. As colheitas efectuaram-se com base nos SST de forma a garantir que a primeira colheita fosse ligeiramente antecipada relativamente à colheita comercial. Desta forma definiu-se para o SST os valores de: 16-17 °Brix para os frutos da primeira colheita, 17-19° para a segunda, e valores superiores a 19 ° Brix para os frutos da última colheita.

A metodologia utilizada neste artigo para a determinação do teor de nutrientes dos frutos foi descrita no ponto 2.1.2.

2.3.2 - ARTIGO

The effect of different calcium fruit content in physical and mechanical properties of European plum (*Prunus domestica* L.)

**The effect of different calcium fruit content in physical and mechanical properties
of European plum (*Prunus domestica* L.)**

Rato,A.E.^a; Agulheiro,A.C.^a; Barroso,J.M.^a; Riquelme F.^b

^aICAM - Universidade de Évora, 7002-554 Évora, Portugal. ^bCEBAS – Murcia, Espanha

Abstract

Fruits from *Prunus domestica* cv ‘Rainha Claudia Verde’ were harvested in two consecutive years, from two production sites (‘Cano’ and ‘Vila Viçosa’). Fruits were collected and tested periodically for: weight, firmness, solids soluble content, titratable acidity and ethylene production rate. It was also evaluated the level of potassium (K), calcium (Ca), magnesium (Mg) and nitrogen (N), in the fruit flesh and in the soil. Fruits from ‘Cano’ exhibited a lower flesh Ca/K ratio and a shorter postharvest life than fruits from ‘Vila Viçosa’. During storage fruits with a lower Ca/K ratio exhibited a lower firmness. The results support the hypothesis that the excessive potassium in ‘Cano’ soil might interfere with calcium uptake and affected the Ca/K fruit content. It is also suggested that high levels of nitrogen in this soil, might caused a dilution of calcium in the fruit flesh due to high vegetative growth.

Key words: plums firmness, Ca/K ethylene, soil

1. - Introduction

‘Rainha Claudia Verde’ is a variety of *Prunus domestica* which is much appreciated in Portugal. This variety is produced in a restrict zone of Alto Alentejo (South region of Portugal). Its short postharvest life has been widely reported (Aguilheiro Santos *et al.*, 2005; Pacheco Ribeiro *et al.*, 2004). For consumers’ decision, the most important physical properties of this variety are fruit firmness and fruit size. These European plums are usually harvested when soluble solids content (SSC) reaches 17° Brix and when the endocarp detaches easily from the mesocarp. However after harvest fruits become too soft and loose quality very quickly.

This variety is commercialized as fresh and candied fruits. During the candying process fruits are boiled until the epidermis ruptures, before sugar penetrates the entire flesh. There are practical evidences which indicate that fruits from this variety have different behaviour during boiling, depending on their production site. Some orchards, in this region, produce fruits that don’t resist very well to the boiling process and became too soft to be used in the candying process. Also, to be used as fresh fruits, postharvest behaviour depends on fruits origin. Comparing regions, fruits from the west border of the production region, ‘Cano’, don’t ripen normally producing a shorter postharvest life. Nevertheless fruits from ‘Vila Viçosa’ located on the south of the production region, have a normal postharvest behaviour.

Many pre and postharvest factors influence fruits texture during ripening. Abiotic factors such as available soil moisture and temperature, relative humidity and soil nutrient availability, directly influence texture (Sams, 1999). Calcium (Ca) is the plant nutrient most frequently associated with fruit firmness. The influence of Ca on quality related disorders of many fruit species has been widely reported (Conway *et al.*, 1992; Tzoutzoukou and Bouranis, 1997). Calcium, in the cell wall, appears to serve as an intermolecular binding agent that stabilises pectin-protein complex of the middle lamella and there are evidences that Ca maintains the cell wall structure (Poovaiah *et al.*, 1988). It is well known the beneficial effects of calcium applications into fruits on firmness of a wide range of prune species (Alcaraz-Lopez, 2003; Brown *et al.*, 1996; Manganaris *et al.*, 2005; Tzoutzoukou and Bouranis, 1997). Also as Ca, nitrogen (N), and potassium (K) have been reported to have pronounced effects on fruit quality (Lin *et al.*, 2004; Sams, 1999).

Available nutrients in the soil and their effects on the tree can be complex, whereby one nutrient can influence the availability of another. The excess of Ca fertilizers can reduce K uptake by roots (Quelhas dos Santos, 1996). The higher affinity of dicotyledonous plants to divalent cations facilitates the Ca^{2+} uptake relative to K^+ uptake (Dilmanghani *et al.*, 2004) which may induce K deficiency as a consequence of excessive Ca fertilizations (Marschner, 1995). Further, excessive K and low Ca might increase fruit K/Ca ratio to undesirable levels leading to reduce shelf-life (Fallahi *et al.*, 1997). In general, when the K supply is abundant, 'luxury consumption' of K often occurs. The possible interference of K on the uptake and physiological availability of Ca is still not well understood (Maschner, 1995). Also excessive amount of N fertilization has been shown to decrease Ca content in the fruit (Faust, 1989).

Fruit firmness can be influenced by several production factors such as irrigation and vegetative/reproductive balance (Opara, 2007). Kilibi *et al.* (1996) found a positive correlation between water irrigation deficit and fruit firmness. In opposite studies about irrigation regimes and fruit quality reveal that flesh firmness had not been altered, at harvest, by lower water supply (Crisosto *et al.*, 1994). Garcia *et al.* (1995) reported that with apples there was an increase of fruit firmness when trees were watered. Compared to unwatered trees, Mpelasoka *et al.* (2001) found that apples, under different water irrigation regimes, showed similar values for firmness of fruit flesh, after a 7-day shelf-life period at 20°C.

The rheological characterization of this plum variety during ripening could be of great importance to plum growers in this region of Portugal. The objectives of the present study were to evaluate and compare some physical, mechanical and chemical fruit properties during ripening of 'Rainha Claudia Verde' from different production sites.

2. Material and Methods

2.1 – Soils and Plant material

In 2002 and 2003 fruits from 'Rainha Claudia Verde' variety were harvested in two orchards located in west and south of the production region, 'Cano' and 'Vila Viçosa' respectively. Fruits were harvested at three stages during ripening: early ($16^\circ < \text{SSC} < 17^\circ$ - when endocarp detaches easily from mesocarp and it was coincident to the time of commercial harvest); mid ($17^\circ < \text{SSC} < 19^\circ$ - 3 days after endocarp detachment) and late ($\text{SSC} > 19^\circ$ - 8 days after endocarp detachment).

Following the recommendations of Saure (2005) to overcome the tree to tree variation in mean Ca concentrations, a group of trees with similar vigour was isolated in each commercial orchard and approximately 500 fruits per orchard were handpicked. After harvest, fruits were kept at $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}$ for two weeks. In the laboratory, a group of ten fruits was selected, considering size and defects, and were evaluated periodically for: SSC, titratable acidity (TA), firmness and ethylene production rate. At each harvest date a twelve fruit sample was collected and ethylene was daily measured. Cations levels in the flesh were evaluated in triplicate in a twenty fruit sample. Except for ethylene and fruit cations contents, all other parameters were measured at all harvest dates and re-measured after 1, 2, 3, 6, 11 and 16 days at $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}$.

2.2 - Fruit physical evaluations (*Fruit firmness*)

Fruit firmness was measured after eliminating a thin layer of epicarp using a texturometer TAHDi Texture Analyser (Stable Microsystems) that was equipped with a 25 Kg load cell and a stainless cylinder with a 3mm of diameter flat base probe. The probe was forced into the fruit at a constant speed (1mms^{-1}) to a 7mm depth. Firmness values were extracted from the force-deformation curve (Fig.1) which estimate the energy needed to fail the fruit flesh (Singh and Reddy, 2006). These measurements were performed in opposite sides in the equatorial zone of the fruit.

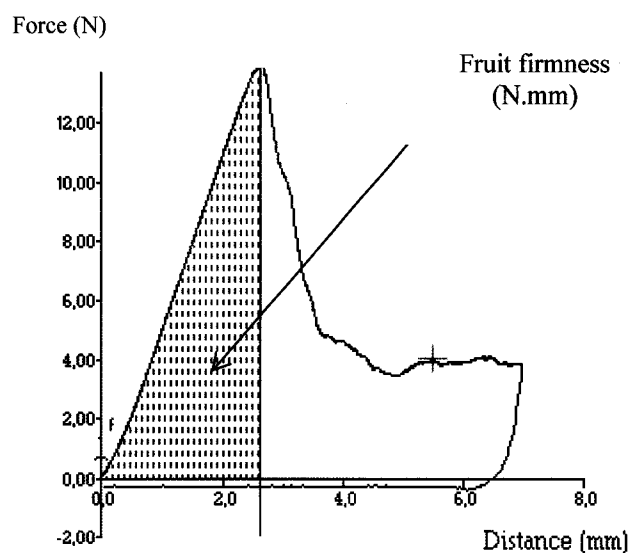


Fig.1 – A typical force-deformation curve for unpeel fruits . Fruit firmness extracted from the puncture curves

2.3 - Fruit chemical evaluations

Ethylene production rates

To evaluate ethylene production rate, a group of 10 fruits were placed in closed 1L containers and continuously aerated at a constant flow 14ml/s of humidified air. Ethylene measurements were performed by withdrawing a 1ml headspace gas sample with a syringe and injected it into a gas chromatograph (model HP 6890 series) equipped with a flame ionisation detector and an alumina column (Porapak N, 80-100 mesh) The N₂ carrier gas was supplied at a flow rate of 30 ml/s. The oven temperature was 70°C.

Soluble solids content and titratable acidity

Ten fruits were deseeded and juiced together to give a composite sample. SSC were used to characterize fruit maturity level and were determined by using a digital refractometer (Atago) and TA was measured using an automatic titrator (Crisson compact titrator). Titration was conducted with 0,1N NaOH to an endpoint of pH 8.2 and expressed as % malic acid.

Fruit weight loss

Thirty fruits of each harvest date were kept at 20° C ± 1° during 16 days for determining fruit weight loss. Fruit weight was measured using an electronic balance, having least count of 0.01 g. The weight loss was expressed as a percentage of initial fresh weight at harvest. It was calculated for each harvest date and as the cumulative weight loss.

Calcium, potassium, nitrogen and magnesium fruit content

Samples were collected in the early harvest date and analyses were performed in three replications of twenty fruits each. On the day of harvest fruits were deseeded, freeze dried and moisture percentage was calculated. Calcium, K and Mg were acid extracted in 1g samples mixed with 12ml HNO₃ (69%) at 80°C, filtered and then brought to a final volume of 50ml with distilled water. Samples were prepared in duplicate and cations were estimated by inductively coupled plasma (ICP)-optical emission spectroscopy (OES) in a Jobin Yvon JY-70. Total N was analysed by a modified Kjeldahl method with a selenium catalyst (Baker and Thompson, 1992).

2.4 – Soil analysis

In each orchard, 5 samples/ha were taken randomly using a soil probe to a depth of 50 cm (Quelhas dos Santos, 1996). Soil cores were mixed together to make a composite sample.

Soil analyses were performed in Soil Laboratory in Évora University. Total N was determined in a ‘Gerhardt’ digester. Potassium determination was by flame photometry the detector used was a PFP manufactured by JENWAY Ltd. and Ca and Mg were measured by atomic absorption spectrophotometry using a PERKIN ELMER 2380 spectrophotometer. All the analysis was done in triplicate.

2.5 - Statistical analysis

Data were analysed according to a factorial design. Data was analysed by years Analysis of variance (ANOVA) with a significance level of $p < 0.05$, followed by a Tuckey test, were performed using the STATISTICA 6.0 software (StatSoft Inc.).

3 - Results

3.1. Physical evaluations

3.1.1 - Fruit firmness

In both orchards and years, it was observed, as expected, a significant firmness decrease from the beginning of harvest period until the end. However in each year, fruit firmness did not show any significant differences between orchards. Fruits collected in 2003 showed a significantly higher firmness than fruits collected in 2002 (Fig.2).

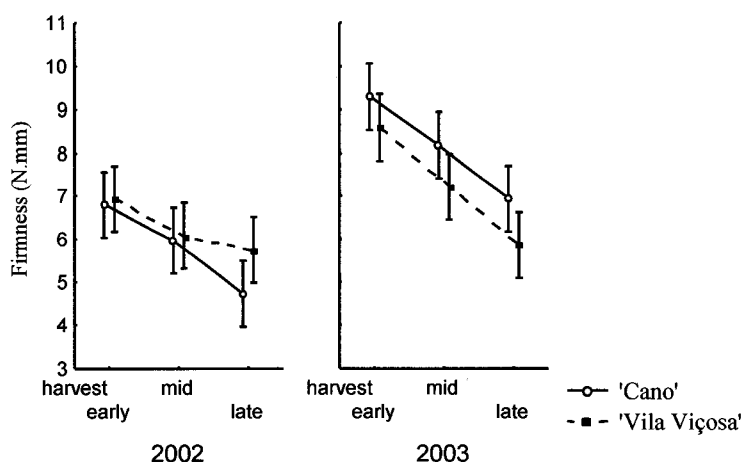


Fig. 2 – Means and confidence intervals (95%) of fruit firmness (N.mm) at harvest in fruits from both orchards and years. Each point represents a twenty sample mean

Also during 2002, after two days at 20° C fruits from ‘Vila Viçosa’ usually had higher firmness than fruits from ‘Cano’ in early and mid harvest dates and it was significantly higher in late harvest date ($p=0.006$) (Fig.3).

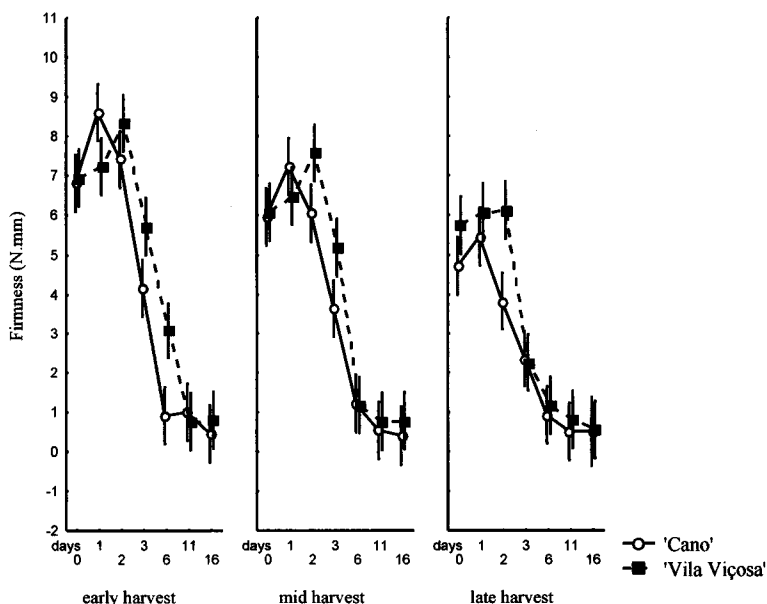


Fig. 3 – Means and confidence intervals (95%) of fruit firmness (N.mm) in 2002 season during 16 days at 20°C (---'Vila Viçosa' —'Cano'). Each point represents a twenty sample mean.

After 6 days at 20°C all fruits from both orchards presented the same fruit firmness which was the minimum value reached and usually remained constant until the end of storage period. Among orchards in 2003 fruits from ‘Cano’ had a significantly higher firmness after 1 days at 20°C, in early ($p=0.00004$) and late harvest ($p=0.038$) dates (Fig.4).

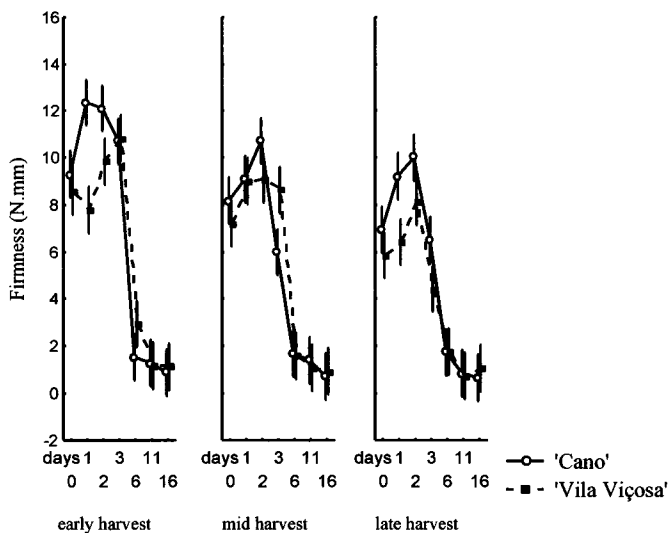


Fig. 4 – Means and confidence intervals (95%) of fruit firmness (N.mm) in 2003 season during 16 days at 20°C (---'Vila Viçosa' —'Cano'). Each point represents a twenty sample mean.

After 6 days at 20°C, all fruits reached the same values in both orchards.

For both years and orchards, it was found a typical pattern for firmness evolution during the storage period. Three phases could be distinguished during fruit storage at 20°C: a slight increase in fruit firmness was detected in the initial storage period, which was followed by a decrease until an almost constant minimum value was reached.

Days at 20°C to reach the maximum firmness value varied according to year and orchard. Fruits from ‘Vila Viçosa’ in 2003, for early and mid harvest dates, reached the maximum value in 3 days and fruits from late harvest date reach the maximum value after 2 days at 20°C. Nevertheless, fruits from ‘Cano’ in 2003 reached the firmness maximum value after 2 days at 20°C for all harvest dates (Fig.4). In 2002, fruits from ‘Vila Viçosa’ reached the firmness maximum value in 2 days, nevertheless fruits from ‘Cano’ reached the maximum in 1 day, in all harvest dates (Fig.3).

3.1.2 - Fruit weight and weight loss

During 2002 fruit weight didn’t have a significant increase during harvest period and this was consistent in both orchards. However, in 2003, fruits from ‘Cano’ had a significant ($p=0.00084$) increase from early to mid harvest date (Fig.5). Fruits harvested

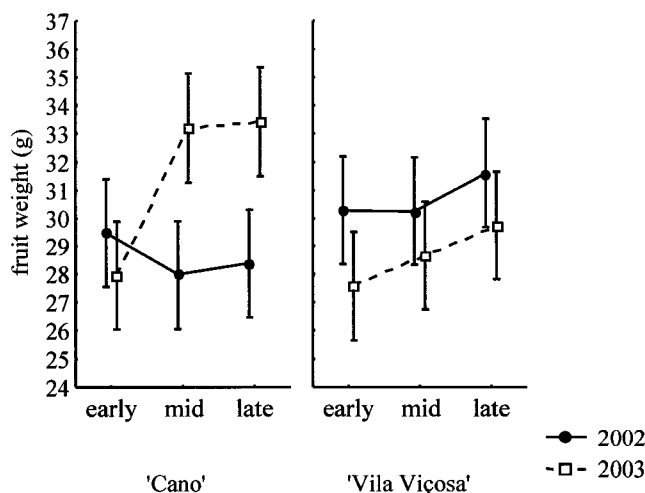


Fig.5 – Differences in fruit weights (g) at harvest time in two orchards during 2002 and 2003. Each point represents a thirty sample mean.

from ‘Vila Viçosa’ in 2002 had the highest value for cumulative weight loss (%). Nevertheless the highest value for cumulative weight loss was registered in fruits from Cano in 2003 (Table 1).

Table 1 - Cumulative fruit weight loss (%) during 16 days at 20°C

Harvest Date	2002		2003	
	'Cano'	'Vila Viçosa'	'Cano'	'Vila Viçosa'
earlier	22,77	23,90	26,39	17,25
middle	18,59	23,77	28,14	21,73
late	17,73	20,71	28,77	20,32

Average data of 30 fruits expressed as a cumulative percentage of weight loss registered during 16 days

3.2. Chemical evaluations

Ca, Mg, N and K content and Ca/K ratio of fruit

Fruits harvested in 2003 had a significantly ($p=0.00023$) higher Ca/K ratio than fruits harvested in 2002. Fruits from 'Vila Viçosa' orchard had a significantly higher Ca/K ratio than fruits harvested from 'Cano' orchard (Fig.6). Calcium levels in fruits

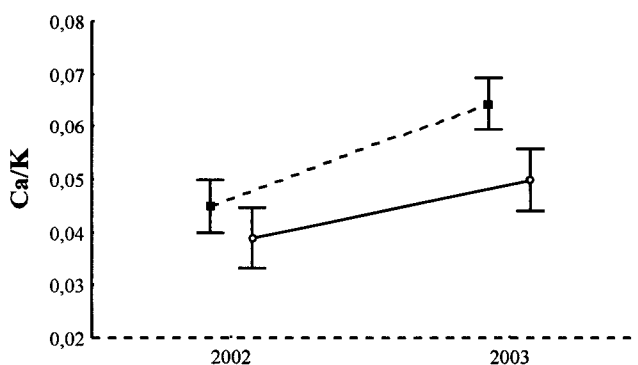


Fig. 6 – Comparison of years and orchards on fruit Ca/K ratio. Each point represents a 4 sample mean. Means separation by Tuckey's test at $p<0.05$ (—■— 'Vila Viçosa', —○— 'Cano')

were significantly higher in 2003 than in 2002 (Table 2). Except for N, neither Ca or other cations were significantly different between orchards. However in 'Vila Viçosa' orchard, Ca fruit content had higher values but not significantly different ($p=0.053$).

Table 2 - Content of fruit nutrients (% in dry matter) in both orchards and years

	2002		2003	
	'Cano'	'Vila Viçosa'	'Cano'	'Vila Viçosa'
Calcium	0,049±0,002	0,052±0,004	0,062±0,003	0,075±0,005
Nitrogen	0,77±0,014	0,64±0,026	0,76±0,010	0,54±0,029
Potassium	1,26±0,076	1,16±0,043	1,24±0,019	1,17±0,032
Magnesium	0,044±0,003	0,047±0,002	0,049±0,002	0,055±0,002

Means ±SE

Soil analysis

Soils on the experimental sites had different chemical composition (Table 3). This is in agreement with Barroso (1997) who reported that soils at 'Vila Viçosa' site contained lower levels of organic matter, K⁺ and Ca²⁺, while soils at 'Cano' site had seven times more K than soils at 'Vila Viçosa' site

Table 3 – Soil fertility for 'Cano' and 'Vila Viçosa' orchards after planting.

Soil	Depth. (cm)	NO ₃ ⁻ (ppm)	P ₂ O ₅ (ppm)	K ₂ O (ppm)	Ca ²⁺ (meq/100g)	Mg ²⁺ (meq/100g)	pH H ₂ O
Vertic Luvisol	0-20	7.50	12.00	700.00	15.19	1.46	7.94
	20-50	4.00	6.00	356.00	13.13	1.30	7.77
Haplic Luvisol	0-20	7.50	72.00	114.00	8.72	1.46	7.47
	20-50	2.00	24.00	74.00	7.47	1.98	7.61

Ethylene production

Fruits from 2002 for both orchards had a typical ethylene emission pattern with a visible decrease in the maximum emission peak from early to late harvest dates (Fig.7). However in 2003 fruits didn't show a gradual decrease from early to late harvest date (Fig.8). The maximum of ethylene production in 2002 was 0.111 µl/g/h and 0.118 µl/g/h respectively, for 'Vila Viçosa' and 'Cano'. These maximum values were reached, in early harvest, in 'Vila Viçosa' and 'Cano' after 6 and 8 days at 20°C, respectively.

The maximum of ethylene production for fruits sampled in 2003 was 0.147 µl/g/h and 0.110 µl/g/h for 'Vila Viçosa' and 'Cano' orchards, respectively. Maximum

values for ethylene production at 20°C were reached in late harvest in ‘Vila Viçosa’ after 6 days and in early harvest in ‘Cano’, after 5 days.

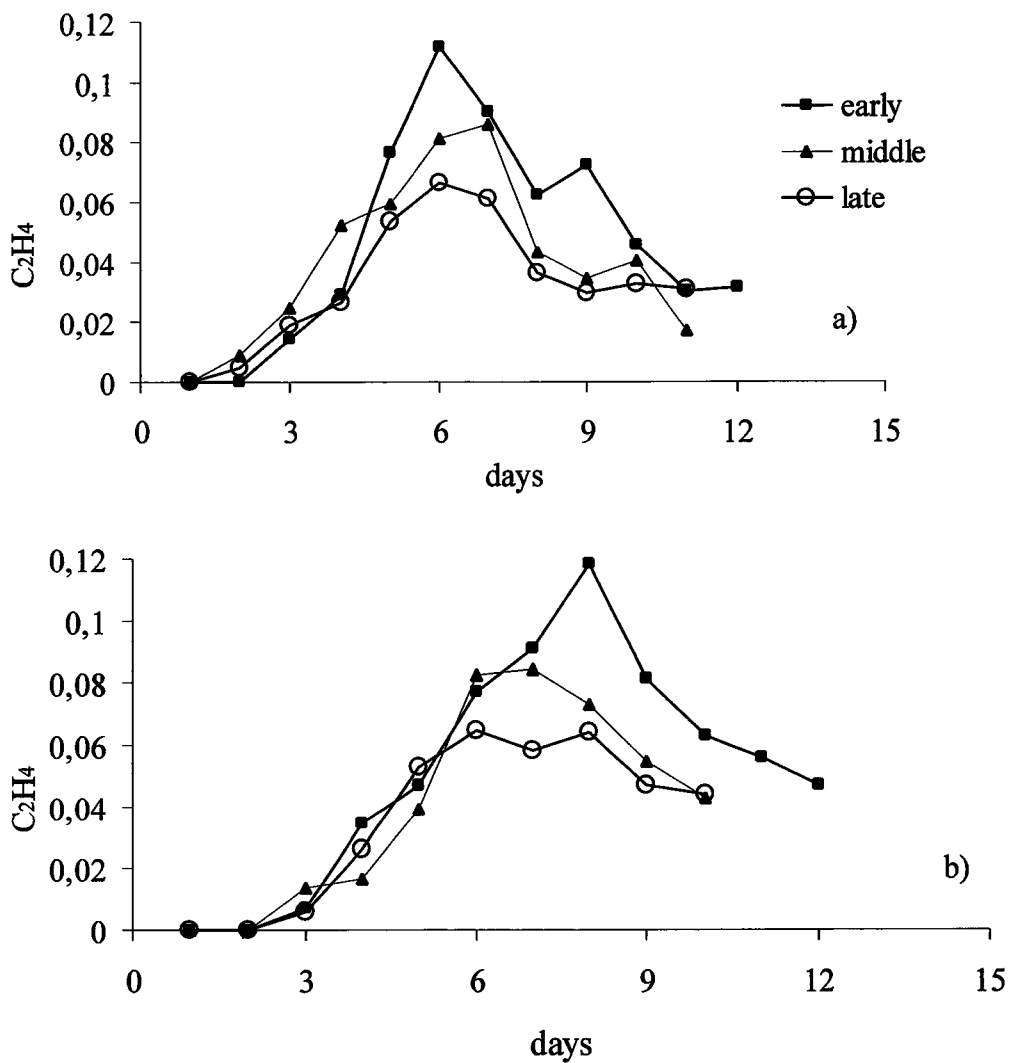


Fig.7 – Ethylene emission rates (µl/g/h) of fruits from ‘Vila Viçosa’ (a) and ‘Cano’ (b) in 2002. The symbols distinguish each harvest date.

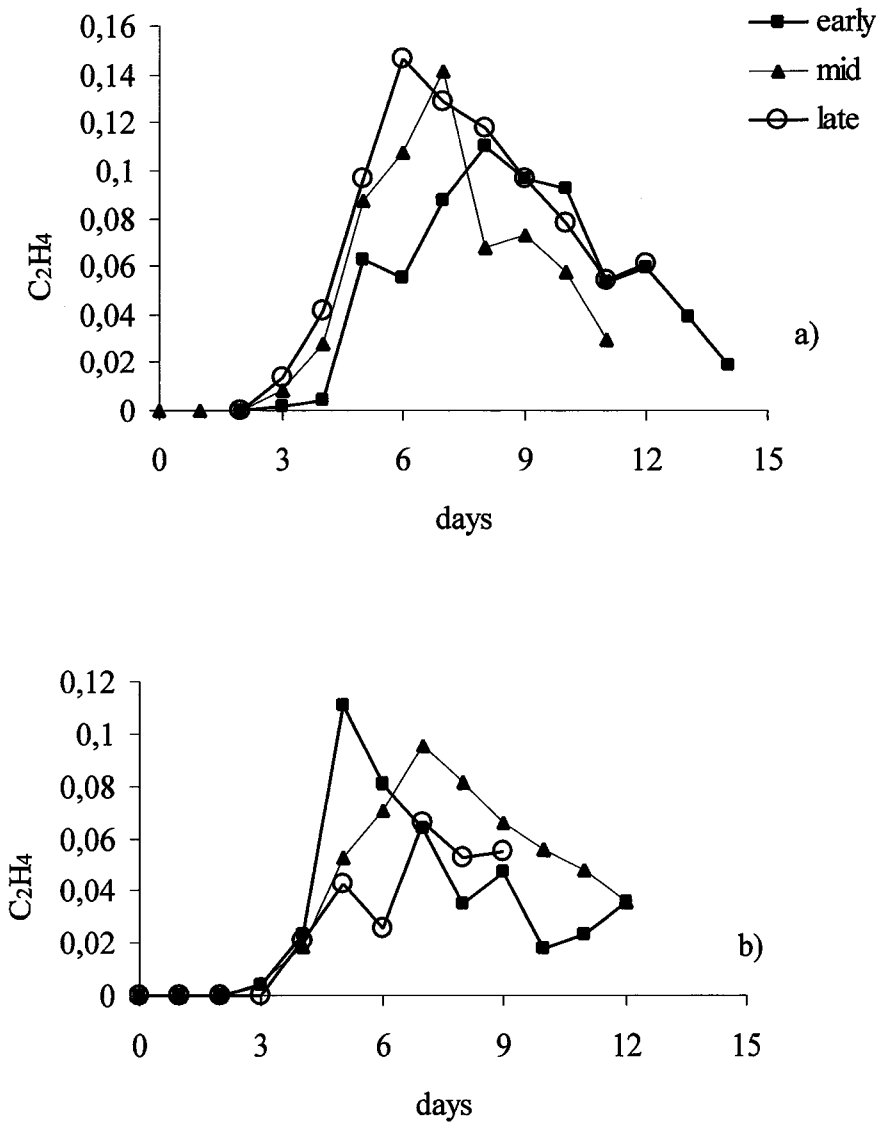


Fig. 8 – Ethylene emission rates ($\mu\text{l/g/h}$) of fruits from ‘Vila Viçosa’ (a) and ‘Cano’ (b) in 2003. The symbols distinguish each harvest date.

4 - Discussion

These results confirm the significant differences between fruits of ‘Rainha Claudia Verde’ produced in two orchards with soils having different chemical composition. Fruits from the ‘Vila Viçosa’ orchard ripened earlier than fruits from ‘Cano’ orchard, therefore the harvest season, in ‘Cano’ orchard can usually begin, a week later.

Ethylene production rate between years had the same emission pattern but comparing orchards, the period between harvest and ethylene peak didn’t show a

consistent value. The maximum ethylene production at 20°C occurred in both years and orchards, between 5 and 8 days. However the maximum softening rate of 'Rainha Claudia Verde' occurred after 2 days at 20°C. Lau *et al.* (1986) found that firmness decline before the ethylene peak which suggests that ethylene may not be required for initiation of fruit softening. We did not find strong evidences between fruit Ca level and days to reach the ethylene peak. This was contrary to Tzoutzoukou and Bouranis (1997), who reported in apricot a positive correlation between Ca fruit content and days to reach the climacteric rise.

During 2002 and 2003, fruit firmness decline from early to late harvest date in both orchards. The decrease in fruit firmness has a strong relationship with natural fruit softening during harvest season, and this is in agreement with other reports (Heyes and Sealey, 1996; Tzoutzoukou and Bouranis, 1997; Opara, 2007). The slightly increase detected in fruit firmness in the beginning of storage, has been described, in previous work, as a consequence of fruit dehydration (Heyes and Sealey, 1996; Pitt, 1982).

Days to reach the maximum firmness varied according to year and fruits origin. Fruits from 'Cano', in 2003, reached higher values of firmness but values decline earlier than fruit from 'Vila Viçosa'. The decrease in fruit firmness after a storage period has been described as a process by which flesh softening is caused by cell wall degrading enzymes (Poovaiah *et al.*, 1988). It has been found that Ca delays softening by virtue of its ability to reduce degradation of the cell wall polymers by cell wall hydrolases (Sams and Conway, 1984). Further excessive K content relative to Ca has been reported to increase the occurrence of fruit disorders associated with undesirable texture (Sharples, 1984). We also found that the Ca/K ratio concentration varied between orchards and years. Fruits from 'Vila Viçosa' had significantly higher Ca/K ratios in the flesh than fruits from 'Cano' and remained firmer during a longer storage period, as well as Dilmaghani *et al.* (2004), who found in apples, at harvest, a negative correlation between K/Ca ratio and fruit firmness. Also between years fruits in 2003 had a significant higher Ca/K ratio and reached higher firmness values. Excess of K in the soil of 'Cano' didn't result in a significant difference in K fruit content but generally this cation was lower in fruits from 'Vila Viçosa'. Also fruits from 'Cano' revealed a higher N concentration in the flesh in both years (Table 2) which could negatively affected Ca concentration in the fruit. The dilution of Ca in the flesh fruits in more vigorous trees was also been reported by Hofman *et al.* (2002). Besides vigour, differences between soils in relation to cations concentration, especially K, may partially explain the

variations of fruit mineral concentrations between orchards. Although soil analyses indicate a much higher Ca level in 'Cano' than in 'Vila Viçosa' fruits didn't reflect those differences. These results suggest that excessive K in the soil of 'Cano' might interfere with Ca absorption. Under high external concentration of K^+ , non-specific competition between ions of the same charge can occur. Cations such as K^+ which are rapidly transported through the plasma membrane may depress the uptake rate of cations with slower transport rates such as Mg^{2+} and Ca^{2+} . This competition occurs not in the binding sites but by non-specific competition for native anions required to charge compensation (Marschner, 1995). K^+ and Ca^{2+} can also compete quite effectively with Mg^{2+} . The binding strength of the highly hydrated Mg^{2+} is rather low at the exchange sites in the cell walls, therefore K^+ and Ca^{2+} strongly depress the uptake rate of Mg^{2+} . This is in agreement with our observations of Mg^{2+} in the fruit flesh and K^+ in the soil. Fruits from 'Vila Viçosa' had generally higher values of Mg^{2+} but statistically non-significant ($p=0.096$) and soil analysis indicated in 'Vila Viçosa' comparing to 'Cano' a much lower value for K^+ .

5 – Conclusions

Postharvest behaviour of plums ('Rainha Claudia Verde') had been significantly influenced by fruits production sites. Comparing orchards locations, fruits from 'Cano', in west region of the production area, presented a short postharvest period, with lower values for fruit firmness and fruit Ca/K ratio. The differences between soil mineral concentration, mainly K and N, seem to influence Ca absorption and accumulation in the fruits. Further, in fruits from 'Cano', the usual maturity indices used in this variety (17° of SSC and the endocarp detachment from mesocarp) were not accurate enough. In spite of using the same maturity indices, fruits from 'Cano' presented a lower firmness during storage comparing to fruits from 'Vila Viçosa'. In the future, new approaches to maturation parameters as well as new cultural practices that increase the Ca fruit level are needed, particularly in soils with high K content.

References

- Agulheiro Santos, A.C.; M.G. Pacheco-Ribeiro, M.J. Garcia Bernalte and C. Ventura. 2005. The use of Plastic Film under cold Conditions to Storage 'Rainha Claudia Verde' Plums. *Acta Horticulturae* 682(3): 1761-1768.
- Alcaraz-Lopez, C., M. Botia, C.F. Alcaraz, and F. Riquelme. 2003. Effects of foliar sprays containing calcium, magnesium and titanium on plum (*Prunus domestica* L.) fruit quality. *Journal of Plant Physiology* 160: 1441-1446.
- Baker, W.H. and Thompson, T.L. 1992. Determination of total nitrogen plant samples by Kjeldahl. *Southern Coop. Serv. Bul.* 368:13-16.
- Barroso, J. 1997. Evaluation of different rootstocks for 'greengage' plum. *Acta Horticulture* 478: 331-339.
- Brown, G.S., A.E. Kitchener, W.B. McGlasson, and S. Barnes. 1996. The effects of copper and calcium foliar spray on cherry and apple fruit quality. *Scientia Horticulturae* 67(3-4): 219-227.
- Conway, S.C., C.E. Sams, R.G. McGuire, and A. Kelman. 1992. Calcium treatment of apples and potatoes to reduce postharvest decay. *Plant Disease* 76: 392-334.
- Crisosto, C.H., R.S. Johnson, J.G. Luza, and G.M. Crisosto. 1994. Irrigation regimes affect fruit soluble solids concentration and rate of water loss of 'O'Henry' peaches. *HortScience* 29(10): 1169-1171.
- Dilmanghani, M.R., M.J. Malakouti, G.H. Neilsen, and E. Fallahi. 2004. Interactive Effects of Potassium and Calcium on K/Ca Ratio and its Consequences on Apple fruit quality in calcareous soils of Iran. *Journal of Plant Nutrition* 27: 1149-1162.
- Fallahi, E., W.S. Conway, K.D. Hickey, and C.E. Sams. 1997. The role of calcium and nitrogen in postharvest quality and disease resistance of apples. *HortScience* 32: 831-835.
- Faust, M. 1989. *Physiology of temperate zone fruit trees*. Bestville, Maryland: John Wiley & Sons.
- Garcia, J.L., M. Ruiz-Altisent, and P. Barreiro. 1995. Factors Influencing Mechanical Properties and Bruise Susceptibility of Apples and pears. *Journal of Agricultural Engineering Research* 61: 11-18.
- Heyes, J.A. and D.F. Sealey. 1996. Textural changes during nectarine (*Prunus persica*) development and ripening. *Scientia Horticulturae* 65: 49-58.
- Hofman, P.J., S. Vuthapanich, A.W. Whiley, A. Klieber, and D.H. Simons. 2002. Tree yield and fruit minerals concentrations influence 'Hass' avocado fruit quality. *Scientia Horticulturae* 92: 113-123.
- Kilili, A.W., M.H. Behboudian, and T.M. Mills. 1996. Composition and quality of 'Braeburn' apples under reduced irrigation. *Scientia Horticulturae* 67: 1-11.
- Lau, O.L., Y. Liu, and S.F. Yang. 1986. Effects of fruit detachment on ethylene biosynthesis and loss of flesh firmness, skin colour and starch in ripening 'Golden Delicious' apples. *Journal of American Society of Horticultural Science* 111: 731-734.
- Lin, D.; Huang, D.; Wang, S. 2004. Effects of potassium levels on fruits quality of muskmelons in soilless medium culture. *Scientia Horticulturae*. 120 (1): 53-60
- Manganaris, G.A.; Vasilakakis, M.; Mignani, I.; Diamantidis, G.; Tzavella-Klonari, K. (2005). The effect of preharvest calcium sprays on quality attributes, physicochemical aspects of cell wall components and susceptibility to brown rot of peach fruits (*Prunus persica* L. cv. Andross). *Scientia Horticulturae* 107(1): 43-50

- Marschner, H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. London, United Kingdom. Academic Press.
- Mpelasoka, B.S., M.H. Behboudian, and T.M. Mills. 2001. Effects of deficit irrigation on fruit maturity and quality of 'Braeburn' apple. *Scientia Horticulturae* 90: 279-290.
- Opara, L. 2007. Bruise susceptibilities of 'Gala' apples as affected by orchard management practices and harvest date. *Postharvest Biology and Technology* 43: 47-54.
- Pacheco-Ribeiro, M.G. and A.C. Agulheiro Santos, A. 2004. Maintaining the quality of 'Rainha Claudia Verde' plum during cold storage postharvest period. *Revista da Associação de Biologia Vegetal e Agro-Industrial* 5: 45-48.
- Pitt, R.E. 1982. Models for the rheology and statistical strength of uniformly stressed vegetable tissue. *Transactions of the ASAE* 25 (6): 1776-1784.
- Poovaiah, B.W., G.M. Glenn, and A.S.N. Reddy. 1988. Calcium and Fruit Softening: Physiology and Biochemistry. *Horticultural Reviews* 10: 107-152.
- Quelhas dos Santos, J. 1996. Fertilização - *Fundamentos da utilização dos adubos e correctivos*. Sintra, Portugal: Publicações Europa-América.
- Sams, C.E. 1999. Preharvest factor affecting postharvest texture. *Postharvest Biology and Technology* 15: 249-254.
- Sams, C.E. and S.C. Conway. 1984. Effect of calcium infiltration on ethylene production, respiration rate, soluble polyuronide content, and quality of 'Golden Delicious' apple fruit. *Journal of American Society of Horticultural Science* 109: 53-57.
- Saure, M.C. 2005. Calcium translocation to fleshy fruit: its mechanism and endogenous control. *Scientia Horticulturae* 105: 65-89.
- Sharples, R.O. 1984. The influence of preharvest conditions on the quality of stored fruit. *Acta Horticulture* 157: 93-104.
- Singh, K.K. and B.S. Reddy. 2006. Post-harvest physico-mechanical properties of orange peel and fruit. *Journal of Food Engineering* 73: 112-120.
- Tzoutzoukou, C.G. and D.L. Bouranis. 1997. Effect of Preharvest Application of Calcium on the Postharvest Physiology of Apricot Fruit. *Journal of Plant Nutrition*. 20(2&3): 295-309.

2.4 – Efeito do frio na conservação da ameixa ‘Rainha Claudia Verde’

2.4.1 – Enquadramento do ensaio

É prática corrente na ‘Rainha Claudia Verde’ utilizar como temperaturas óptimas de conservação valores entre 1-2°C, à semelhança da ‘Rainha Cláudia’ em França. A relativa susceptibilidade dos frutos destas variedades às baixas temperaturas leva, a que se evitem as temperaturas de 0°C, no entanto e relativamente à ‘Rainha Claudia Verde’ não existe informação sistematizada que permita eleger uma temperatura óptima de conservação.

Nos estudos iniciais de conservação efectuados com esta variedade observámos que à medida que o período de conservação frigorífica ia aumentando, após os frutos serem retirados para a temperatura ambiente, o máximo na produção de etileno apresentava valores sucessivamente decrescentes, isto é, aparentemente os frutos iam perdendo a capacidade de produzir etileno e os decréscimos observados foram tanto maiores quanto maior era o período de conservação. As maiores diferenças situaram-se entre os 6 e os 14 dias de conservação frigorífica, em que o valor máximo decresce cerca de $\frac{1}{4}$ do valor máximo inicial obtido em frutos sem conservação frigorífica. Embora a susceptibilidade ao frio na generalidade dos frutos seja frequentemente associada, na bibliografia, a aumentos na produção de etileno, há referências a decréscimos na produção deste gás resultantes da acção do frio.

A prática corrente entre produtores, e a observação do decréscimo do valor máximo na produção de etileno em frutos armazenados no frio, levou-nos a delinear um ensaio que permitisse avaliar o efeito do frio na conservação desta variedade.

Colheita do etileno em frutos sujeitos à acção do frio

Ao contrário dos outros ensaios em que se avaliou a produção de etileno em contentores com ventilação, neste ensaio a colheita de etileno efectuou-se em contentores fechados. O facto de se ter inicialmente observado uma diminuição no valor máximo na produção deste gás levou a que se colocasse a hipótese dos frutos desta variedade em câmara frigorífica produzirem pequenas quantidades de etileno. Este facto contribuiria assim para a redução na capacidade de produção de etileno, após a saída dos frutos para a temperatura ambiente. Desta forma justificar-se-ia os decréscimos sucessivos do valor máximo da taxa de produção deste gás, com a duração do período de conservação em câmara.

Para testar esta hipótese os frutos foram colocados em contentores dentro da câmara frigorífica. Cada conjunto de frutos permanecia na câmara dentro do contentor destapado, até atingir o período de conservação que lhe tinha sido atribuído e diariamente eram recolhidas as amostras dos espaço de cabeça. Duas horas antes de se efectuar a colheita das amostras o frasco era fechado para impedir que o etileno se perdesse com a abertura da câmara. Após este período os frutos eram retirados da câmara, e à temperatura ambiente o etileno era recolhido da forma acima descrita. Para a colheita do etileno no ensaio em branco, os frutos foram encerrados durante 2 horas nos contentores (sem ventilação) à temperatura ambiente, e posteriormente era recolhida uma amostra do espaço de cabeça.

A determinação do tempo de colheita efectuou-se com base na evolução da taxa de produção do etileno feita previamente para esta variedade. Para o efeito um grupo de frutos foi encerrado num contentor durante 5 horas, e de 15 em 15 min foi recolhida uma amostra, a curva foi traçada com base nos valores obtidos tendo-se verificado acréscimos decrescentes ao fim de 2 horas dos frutos estarem encerrados nos contentores.

2.4.2 - ARTIGO

Ethylene production by 'Prunus domestica' plums during storage at different temperatures

Ethylene production by '*Prunus domestica*' plums during storage at different temperatures

Rato, A.E.*, Campos, D., Barroso, J.M. and Agulheiro, A.C.

Universidade de Évora – Instituto de Ciências Agrárias Mediterrânicas.
Depto. De Fitotecnia - Apt 94 – 7002-554 Évora. (*Corresponding author:
aerato@uevora.pt)

Abstract

'Rainha Claudia verde' plums fruits are usually stored at 0–2°C. This cultivar has a small commercial period because of its short postharvest life. In cold chambers fruits became soft very quickly and were not adequate for sale.

The aim of this study was to compare the effect of two different storage temperatures (1°C and 7 ±1°C) during 2, 5, 8 and 14 days in ethylene production upon rewarming. We also studied the evolution of fruits softening rate, % acidity and SSC (soluble solids content) in response to cold storage conditions.

1. Introduction

Ethylene is necessary for a normal ripening process in all climacteric fruits. The magnitude of the ethylene peak production in normal ripening conditions can vary enormously between fruit species. Low temperatures interact with ethylene biosynthesis and ripening in many species. Exposure of pears to low temperatures promotes ethylene synthesis (Gerasopoulos and Richardson, 1997) some apple cultivars exhibited a similar behaviour (Johnston *et al.*, 2002).

In '*Prunus domestica*' cv 'Rainha Claudia verde' plums, it was observed after a cold storage period a decrease in ethylene production upon rewarming. The longer the storage period the stronger is the depression in ethylene biosynthesis (Rato *et al.*, 2005). In nectarines it was observed that a decrease in ethylene production occurs in fruits stored at 0°C for 35 days after transfer to 20°C. This lack of ethylene production promotes severe chilling symptoms in this species (Zhou *et al.*, 2001).

2. Material and Methods

After collecting the fruits a group of eight was separated to evaluate ethylene production without cool storage. Other fruits were split in two groups and stored at 1°C and 7 ± 1°C. Two subsamples of fruits, from each temperature (1°C and 7°C), were taken periodically (2, 5, 8 and 14 days). Fruits were analysed for firmness, % acidity and SSC and ethylene production.

One ml gas samples were withdrawn from the headspace and injected into a gas chromatograph fitted with a FID detector on a daily basis.

3. Results and Discussion

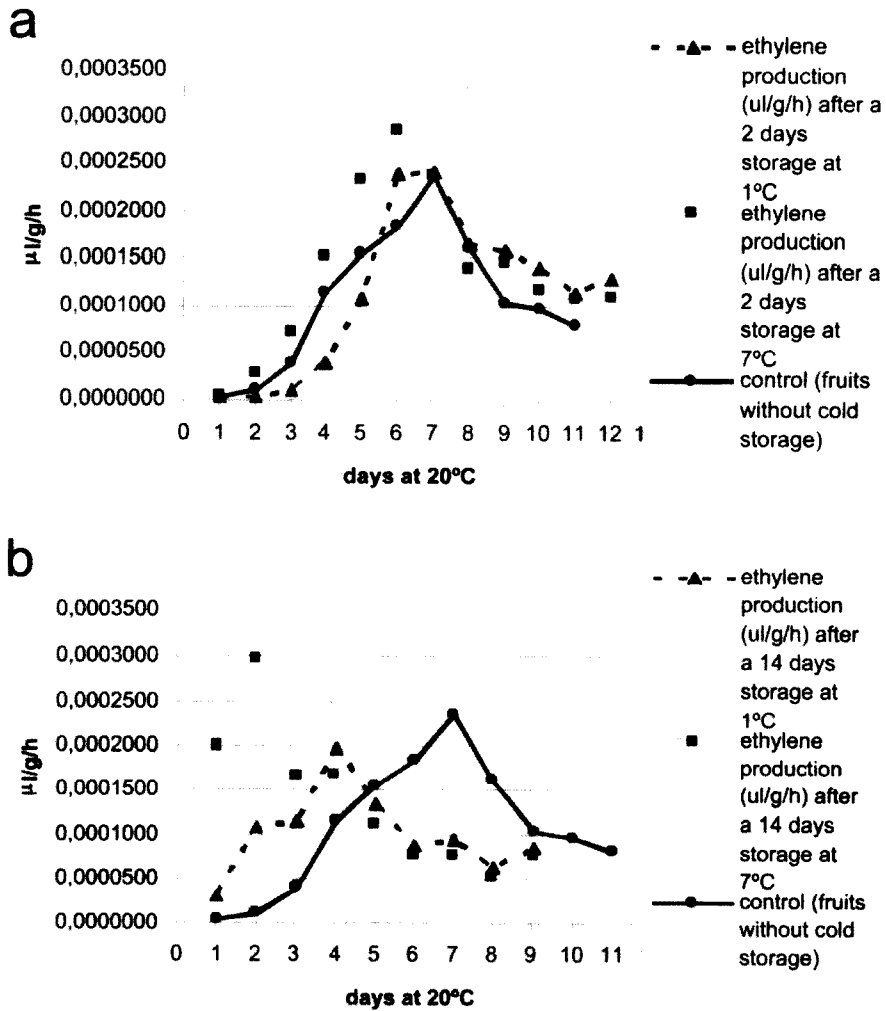


Fig. 1. (a) Ethylene fruit production after 2 days of cold storage. **(b)** Ethylene fruit production after 14 days of cold storage.

SSC and % acidity showed an expected evolution rate. Fruits held at 7°C showed a higher SSC and a lower % acidity than fruits held at 1°C (data not shown). Because this specie doesn't have starch as a primary carbohydrate reserve, the higher SSC observed is due to fruit dehydration. Upon rewarming, fruits stored during 14 days at 1°C produce less ethylene than control (Fig. 1). Storage temperature of 7°C didn't affect the ethylene production rate (0.3 nl/g/h) in all storage periods.

All fruits stored for 14 days exhibited an ethylene maximum production earlier than those stored for shorter periods. A short period of cold storage (2 days at 7°C) induced an enhancement of ethylene production relative to fruits held at 20°C.

Fruit firmness decreased during the storage period no matter the temperature (Fig. 2). Fruits held at 7°C for 14 days, remained significantly firmer ($p < 0.0011$) than fruits held at 1°C. Similar results were obtained with pepino (*Solanum muricatum*) when fruits held at lower temperatures became softer than fruits held at higher temperatures due to chilling injury (Martinez-Romero *et al.*, 2003). In nectarine a delayed storage prevented woolliness; this treatment allows normal ethylene production. Fruits subjected to immediate storage developed severe woolliness (Zhou *et al.*, 2001).

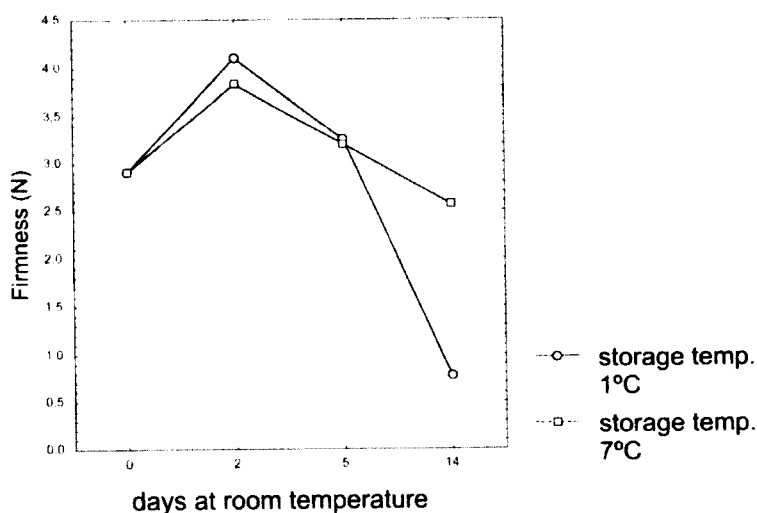


Fig. 2. Fruit firmness after 14 days of cold storage for two different temperatures.

Despite data of SSC and % acidity evolution suggesting that fruit storage conditions are better at lower temperatures, fruits held at 7°C showed a lower softening rate and a higher ethylene production rate than fruits held at 1°C which may indicate some chilling injury in this variety.

Ethylene-related cold induction and fruit softening should be clarified in this variety by future research.

References

- Gerasopoulos, D.; Richardson, D.G. 1997. Ethylene production by 'd'Anjou' pears during storage at chilling and nonchilling temperature. *Postharvest Biology and Technology*, 32(6):1092–1094.
- Johnston, J.W.; Hewett, E.W.; Hertog, M.; Harker, F.R. 2002. Temperature and ethylene affect induction of rapid softening in 'Granny Smith' and 'Pacific Rose TM' apple cultivars. *Postharvest Biology and Technology*, 25:257–264.
- Martinez-Romero, D.; Serrano, M.; Valero, D. 2003. Physiological changes in pepino (*Solanum muricatum* Ait.) fruit stored at chilling and non-chilling temperatures. *Postharvest Biology and Technology*, 30:177–186.
- Rato, A.E.; Marreiros, H.I.; Santos, A.C.; Barroso, J.M. 2005. Effects of different fruit calcium levels on the postharvest physiology of plums (*Prunus domestica* L.). proceedings of 5th International Postharvest Symposium (682) pp 171–175. Verona, Italy.
- Zhou, H.; Dong, L.; Ben-Arie, R.; Lurie, S. 2001. The Role of Ethylene in the Prevention of chilling injury in nectarines. *Journal of Plant Physiology*, 158:55–61.

2.5 – Influência do cálcio das paredes celulares na firmeza dos frutos durante a maturação na ameixa ‘Rainha Caludia Verde’ *Prunus domestica* L.

2.5.1 – Enquadramento do ensaio

A necessidade de perceber se as alterações da firmeza dos frutos tinham origem em alterações na composição dos polissacarídeos das suas paredes celulares nomeadamente nos polissacarídeos pécticos, levou a que se delineasse este ensaio. Sendo o cálcio o elemento que mais interfere com a estabilidade das paredes celulares no decurso da maturação, foi também avaliado o teor deste nutriente nos frutos durante esta fase. A quantificação deste catião nos frutos efectuou-se nos ensaios anteriores, de acordo com as metodologias descritas na bibliografia consultada. Estas determinações, por envolverem a totalidade da massa do fruto, têm associado um erro proveniente das variações tanto da água como do açúcar dos frutos.

As diferenças obtidas nos ensaios anteriores, relativamente ao teor de cálcio dos frutos com origens diferentes, não demonstram claramente a existência de uma influência significativa do pomar na concentração deste catião. Desta forma é proposto neste ensaio, um método que permite quantificar nos frutos o teor de cálcio associado à parede celular. Este método permite expressar este elemento em função da massa de paredes celulares, e assim minimizar o erro associado a esta determinação.

Assim, com o objectivo de caracterizar as alterações dos polissacarídeos das paredes celulares desta variedade, colheram-se duas amostras de frutos, no início e no fim da época de colheita no pomar que melhor caracterizava o ‘pomar tipo’ da região, isto é o pomar de Vila Viçosa. A selecção das datas de colheita foi efectuada com o objectivo de se conseguir o maior afastamento temporal possível dentro da época normal de colheita. Com as datas de colheita suficientemente afastadas aumenta a probabilidade das alterações da firmeza dos frutos se tornarem mais evidentes.

Para quantificar o teor de cálcio associado à parede celular dos frutos seleccionaram-se os dois pomares onde anteriormente já se tinham encontrado algumas diferenças quanto à presença deste catião, ainda que pouco significativas: designados por Vila Viçosa e Cano. Estas quantificações foram efectuadas durante a época normal de colheita nos dois pomares.



2.5.2 - ARTIGO

Influence of cell wall calcium content in fruit firmness during ripening of European plum (*Prunus domestica* L.)

Influence of cell wall calcium content in fruit firmness during ripening of plums
(*Prunus domestica* L.)

Rato, A.E.^{a,*}; Nunes^b, C.; Agulheiro, A.C.^a; Barroso, J.M.^a; Riquelme, F.^c; Coimbra^b, M.A.
^aUniversidade de Évora, 7002-554 Évora, Portugal. ^b Universidade de Aveiro, 3810-193 Aveiro, Portugal.
^c CEBAS-CSIC – Murcia, Espanha

Abstract

‘Rainha Claudia Verde’ is regional variety of *Prunus domestica* L. well adapted to a specific region in South of Portugal. In order to understand the reason for the different postharvest behaviour of this variety produced in different orchards, cell wall polysaccharides and cell wall calcium fruit content were studied during ripening in two consecutive years.

During harvest period pectic fractions soluble in water, carbonate and KOH were prepared from alcohol-insoluble residue (AIR) of plums. Galacturonic and neutral sugars contents were measured during fruit ripening and fruit firmness was also evaluated. The calcium fruit level was determined in the AIR during harvest season as well as in dry matter.

Fruit firmness was significantly higher in second year and it was probably related with calcium fruit content and pectic polysaccharides. Also between orchards there was a significant difference in calcium fruit content, and this might influence the overall fruit texture during postharvest. During fruit ripening water soluble pectic polysaccharides does not change significantly, which was in accordance with the small decrease in tissue firmness. The occurrence in the supernatant of the cellulosic residue of highly branched polysaccharides might be the consequence of matrix material associated with microfibrillar phase. During ripening, it was not evident the depolymerization of hemicellulosic fraction. The loss of fruit firmness is a consequence of many cellular events which are influenced by external factors. The knowledge of calcium content in the cell wall and the pectic polysaccharides could be of great importance to predict fruit texture.

Key words: Plums, polysaccharides, calcium, cell wall, firmness

1. Introduction

Physiologically, ripening is a crucial process for plants, which renders fruit attractive and palatable to a variety of seed dispersing organisms (Giovannoni, 2001). From the horticultural point of view many changes occur during fruit ripening that affect their quality and storage life. In general these involve modifications in colour, flavour, texture and aroma (Patten and Patterson, 1985; Sams, 1999). Texture is one of the most important quality attributes for consumer's acceptance. Many metabolic events are responsible for the textural changes that occur during ripening. Cell wall structural and compositional changes and loss of turgor pressure are some of the most important events that lead to the loss of fruit firmness during ripening (Goulão and Oliveira, 2008).

Many attempts have been undertaken to correlate texture changes to cell wall and middle lamella modifications. The primary cell wall is a complex structure built as a network of cellulose microfibrils embedded in a matrix of hemicellulose and pectin, important for imposing cell shape and rigidity. Pectic polymers are the main constituents of the middle lamella and act as the glue holding neighbouring cells together responsible to cell-to-cell adhesion (Cosgrove, 2000). During ripening a number of selective modifications of the cell wall and middle lamella components take place which are characterised by a decrease in cell wall strength and cell- to-cell adhesion (Heyes and Sealey, 1996). Fruit ripening is usually associated with increased content of water soluble pectin and loss of neutral sugars from pectin side chains, nevertheless these changes may occur at distinct extents depending on the fruit species. For example during apple fruit development, hemicelluloses do not decrease in molecular weight (Percy et al., 1997) also, in apples submitted to a forced softening, polyuronides do not depolymerise extensively (Yoshioka et al., 1992). During tomato fruit ripening the cell walls modifications include both solubilization and extensive pectin breakdown (Koch and Nevis, 1989). Also in peach polyuronides solubilization began when softening was well advanced and depolymerization did not occur until late ripening, coincident with the rapid softening (Brummell et al., 2004). It is commonly accepted that during fruit ripening occurs an increase in soluble polyuronides, nevertheless Murayama *et al.* (1998) did not found a significant increase of water soluble polyuronides in pear fruits ripened on the tree, probably due to cell wall synthesis which may continue on attached fruits.

Firmness is a complex fruit characteristic which is influenced by many external factors. Calcium is the plant nutrient most frequently associated with fruit firmness. The influence of calcium in quality related disorders of many fruit species has been widely reported (Conway *et al.*, 1992; Tzoutzoukou and Bouranis, 1997). Calcium, in the cell wall, appears to serve as an intermolecular binding agent that stabilises pectin-protein complex of the middle lamella, maintaining the cell wall structure (Poovaiah *et al.*, 1988). Much emphasis has been done to the calcium accumulation in the course of fruit development. The calcium content of fruit is usually expressed as either a percentage of fresh mass or dry mass, which justifies the decrease in the calcium concentration with increasing fruit mass. Apparently calcium uptake is rapidly and linear in the season but declines after then (Faust, 1989), however it is not clear the overall implications of fruit growth in Ca accumulation.

The fruit cell wall has generally been viewed as a static structure which is enzymically degraded during ripening leading to fruit softening (Mitcham *et al.*, 1989). Indeed during ripening cell wall polysaccharides are extensively modified by a variety of ripening-related enzymes secreted from symplast into the cell wall and these changes affect the cell wall structure (Toivonen and Brummell, 2007, 2008). A number of cell wall modifying enzymes have been found in ripening fruits and presumably a variety of cell wall modifications are responsible for changes in firmness. Pectolytic enzymes are able to cleave or modify the nature of the polysaccharide backbone or to remove neutral sugars from branched side chains. Since much of the wall bound pectic polysaccharides are highly branched, the removal of side chains makes the molecule more prone to the enzyme attack (Goulao *et al.*, 2007).

Little is known about cell wall modifications during ripening of *Prunus domestica* L. plums. Nunes *et al.* (2008b) found highly esterified pectic polysaccharides in this species at commercial harvest, but no evolutionary study along the harvest season was done. These authors also suggest that the activity of pectin methylesterase, polygalacturonase and cellulase, detected in these fruits, might explain the higher extension degradation of cell wall polysaccharides along ripening.

Knowledge of the mechanism of fruit softening, cell wall structure and cell wall-breakdown is very important to understand and improve the texture and quality of fruits. The aim of the present work was to study the cell wall polysaccharides during normal ripening on tree in 'Rainha Claudia Verde' plums. Also analyses of cell wall calcium were performed during ripening in order to clarify what is the really

contribution of fruit growth in calcium accumulation in the cell walls, and how these changes are involved in fruit softening.

2. Materials and Methods

2.1. Plant Material

In two consecutive years (2002/2003) fruits from 'Rainha Claudia Verde' variety were picked during 5 harvest dates from two different orchards, namely Vila Viçosa (VV) and Cano (CA). The harvest maturity did not occur in the same day in VV and CA orchards and maturity parameters were based on chemical and physical fruit attributes: at $17\pm 1\%$ of SSC (solids soluble content) and when the mesocarp detached easily from endocarp. In both years and orchards the harvest season occurred between commercial and late harvest date. Both orchards have a drip irrigation system and trees were grafted in Mariana GF8-1.

A group of ten trees with the same vigour was selected in each orchard and fruits were picked considering size and defects. Both orchards VV and CA belong to the same geographic region and are located, in this region, in the south and the west, respectively. The west region is a particular one, having different edaphic and climatic conditions, in CA orchard the blooming period usually occurred 8-10 days later than in VV orchard. Orchards were selected for their history of providing fruits with contrasting textural characteristics. The differences previously observed in soils and fruits mineral composition mainly calcium and potassium, (Rato et al., 2008), elected these two orchards as a case study.

2.2 - Fruit firmness and total soluble solids

In the laboratory, in each harvest date a group of ten fruits from both orchards were weighed and evaluated for firmness and SSC. Firmness was also evaluated during postharvest, using another group of 10 fruits from both orchards. Fruits were collected during the harvest season and after harvest fruits were left at 20°C during 6 days and firmness was assessed periodically (0, 1, 2, 3 and 6 days). Fruit firmness was determined using a texturometer TAHDi Texture Analyser (Stable Microsystems) equipped with a load cell of 25 kg fitted with a cylinder stainless flat base probe of 3

mm of diameter which was forced into the fruit at a constant speed (1 mms^{-1}) to a 7 mm depth. Firmness (N.mm) values were extracted from the force-deformation curve, which estimates the energy needed to fail the fruit flesh and skin (Singh and Reddy, 2006). These measurements were performed in opposite sides of the equatorial zone of the fruit.

2.3 Preparation of cell wall material (AIR)

Fruits from both orchards and from all harvest dates were de-seeded, and 20 fruits, approximately 500g of fruit pulp and peel were ground in ethanol (2L) at a final concentration of 85% (v/v) and boiled during 10 min. The mixture was cooled, filtered through a glass fibre filter (Whatman GF/C) and the residue was then washed with diethyl ether and allowed to dry at room temperature. The dried material constitutes the alcohol insoluble residue (AIR).

2.4. Sequential extraction of AIR

In order to isolate and analyse the cell walls plant material during ripening, fruits from VV 2003 were picked in the commercial and late harvest dates, and were further sequentially extracted.

The AIR (8 g) was first extracted with water (600 mL) for 16h at 4°C . The suspension was filtered through a GF/C filter paper and under suction. The residue was further extracted with water, (500 ml) for 6h at room temperature, the suspension was filtered again and the residue was extracted with 600ml of 0.5 M imidazole/HCl (pH 7.0) for 16 h, at room temperature. After filtration, the insoluble residue was extracted again with 500 ml of 0.5 M imidazole/HCl (pH 7.0) for 2h, at room temperature. All the supernatants were dialysed and concentrate under reduced pressure at $T < 40^{\circ}\text{C}$ to about one tenth of the original volume. The insoluble residue from imidazole was further extracted with 600 ml of 50mM Na_2CO_3 containing 20mM NaBH_4 for 16 h at 4°C and after filtration the residue was extracted again with 500 ml of 50mM $\text{Na}_2 \text{CO}_3$ containing 20 mM NaBH_4 for 2h at room temperature. Both Na_2CO_3 soluble extracts were adjusted to pH 5.0 with glacial acetic acid and the material was isolated as before. The depectinated residue was then extracted with 500 ml of 0.5 M KOH containing 20

mM NaBH₄ for 2 h at 4°C. The insoluble residue was further extracted with 500 ml of 1M KOH containing 20mM NaBH₄ at 4°C for 2h and then with 500ml of 1M KOH containing 20 mM NaBH₄, at room temperature for 2 h. To solubilize the strongly hydrogen bonded material the insoluble residue was extracted with 500 ml of 4M KOH containing 20mM NaBH₄ for 2 h at room temperature, then with 500 ml of 4M KOH containing 3.5% H₃BO₃ and 20mM NaBH₄ for 2 h at room temperature and finally with 500ml of 8 M KOH containing 20mM NaBH₄ for 2h at room temperature. All the alkali extractions were performed in a N₂ atmosphere. After filtration, alkaline extracts were acidified to pH 5 with glacial acetic acid, dialysed to remove salts. After dialysis, all extracts were concentrated under reduced pressure and precipitates were collected separately by centrifugation (24400g for 10min at 4°C) The final residue (Cellulosic Residue-CR) obtained after the alkali extractions was suspended in water, neutralised (pH5-6) and dialysed. The supernatant from dialysis of the CR (sn-CR) was collected separately from the residue by centrifugation and filtration as before. All extracts were frozen and freeze-dried.

2.4. Quantification of Ca in the fruit

In each harvest date Ca fruit content was estimated in the dry matter as well as in the AIR material. In dry matter, a twenty fruits sample was mixed to create a composite sample for mineral extraction and analysis. Fruits were de-seeded and freeze dried. Samples of approximately 1g were weighed in three replicates, and cations were obtained after treatment of the organic matter by concentrated nitric acid.

In the AIR previously extracted, samples of approximately 0,1g were weighed in three replicates, and treated with concentrated nitric acid.

K and Ca were estimated by inductively coupled plasma (ICP)-optical emission spectroscopy (OES) in a Jobin Yvon JY-70.

2.6. Carbohydrate analysis

Monosaccharides were released from cell wall polysaccharides by a pre-hydrolysis in 0.2 mL of 72% of H₂SO₄ for 3 h at room temperature followed by 2.5h hydrolysis in 1M H₂SO₄ at 100°C (Selvendran et al., 1979). Neutral sugars were

analysed after conversion to their alditol acetates by GC- FID using 2-desoxyglucose as an internal standard (Coimbra *et al.*, 1996). GC analysis was performed as described by (Nunes *et al.*, 2006).

Uronic acids (UA) were quantified by a modification (Coimbra *et al.*, 1996) of the 3-phenylphenol colorimetric method (Blumenkrantz and Asboe-Hasen, 1973), using a calibration curve made with D-galacturonic acid. Samples were prepared by hydrolysis in 0.2 mL of 72% H₂SO₄ for 3 h at room temperature followed by 1h in 1M H₂SO₄ at 100°C. The hydrolysis of all samples was done in duplicate and after hydrolysis samples were filtered through a glass fibre filter (Whatman GF/C). A third analysis was done in a few samples with higher variability.

2.7. Statistical analysis

Quantitative analysis is presented as means values and the reproducibility of the results is expressed as standards deviation. For fruit firmness were analysed according to a factorial design, years and orchards were considered factors. Analyses of variance were performed with a significance level of 95%, followed by a LSD test using the STATISTICA 6.0 software (StatSoft Inc.).

3. Results and Discussion

Table 1 shows the physics characteristics and composition of ‘Rainha Claudia Verde’ plums used in the present study. Maturity parameters were based on chemical and physical fruit attributes. The beginning of the commercial harvest (Day 0) was established when both of these parameters were reached: a solids soluble content (SSC) of 17±1% and the mesocarp detach easily from the endocarp. These criteria used for harvesting of fruits for fresh consumption were established considering that these fruits should be in a more advanced stage of maturity than those harvested for candying, 16% SSC and 1.0 meq malic acid/100 g fruit fresh weight (Nunes *et al.*, 2009). In both years, the harvest maturity of the fruits from Cano (CA) orchard occurred seven days later than the harvest maturity of the fruits from Vila Viçosa orchard (VV). In both years and orchards, fruits

Table 1. Physics characteristics and composition of ‘Rainha Claudia Verde’ plums

Year	Orchard	Harvest	date	Fruit Weight (g)	SSC %	Firmness (N.mm)	g AIR/g fresh weight
2002	VV	Early	5/7	29.3 ± 1.1	16.2	19.10 ± 0.71	0.035
		Commercial	10/7	29.2 ± 1.0	17.4	15.53 ± 0.76	0.034
		Intermediate	12/7	30.7 ± 0.9	18.8	16.43 ± 0.82	0.032
		Late	16/7	32.1 ± 0.6	20.4	12.80 ± 0.73	0.032
		Advanced	24/7	35.3 ± 0.9	24.3	11.52 ± 0.57	0.032
	CA	Early	12/7	27.7 ± 0.9	15.5	18.44 ± 0.73	0.035
		Commercial	17/7	28.8 ± 0.9	16.2	16.01 ± 0.79	0.035
		Intermediate	19/7	30.0 ± 1.3	19.8	15.80 ± 0.72	0.035
		Late	23/7	29.9 ± 1.2	20.9	12.14 ± 0.42	0.032
		Advanced	30/7	31.4 ± 0.5	21.0	12.01 ± 0.48	0.030
2003	VV	Early	10/7	26.2 ± 1.1	14.8	15.83 ± 0.57	0.035
		Commercial	15/7	27.6 ± 0.8	15.0	20.34 ± 0.68	0.032
		Intermediate	18/7	28.6 ± 0.7	16.7	21.32 ± 0.82	0.031
		Late	22/7	29.7 ± 1.1	18.8	18.84 ± 0.62	0.033
		Advanced	25/7	31.2 ± 0.9	21.2	17.48 ± 0.64	0.033
	CA	Early	15/7	26.5 ± 0.6	12.7	22.51 ± 0.71	0.032
		Commercial	22/7	28.0 ± 0.9	15.6	24.98 ± 0.95	0.034
		Intermediate	25/7	33.2 ± 0.8	19.7	18.87 ± 1.02	0.033
		Late	30/7	33.4 ± 0.7	21.7	15.88 ± 0.78	0.033
		Advanced	1/8	34.3 ± 0.9	21.9	17.48 ± 0.58	0.040

Mean ± standard error.

were collected and analyzed in an early harvest (Early) 5 days before the commercial harvest, at the commercial harvest (Commercial) 2-3 days after the commercial harvest (Intermediate), at a late commercial harvest (Late) 6-8 days after the commercial harvest, and 10-14 days after the commercial harvest (Advanced), when the fruits were in an advanced stage of ripening, not suitable for commercialization.

3.1. Fruit firmness

Figure 1 shows the firmness of ‘Rainha Claudia Verde’ plums harvested in different days during ripening on tree. Between years, at harvest fruit firmness was significantly higher in 2003. On Commercial and Intermediate harvests, the fruit firmness was constant for both years in VV and for CA fruits of 2002. The exception

was the CA fruits in 2003 that sharply decreased 25% of its firmness in these three days. After the Intermediate harvest, the decrease in firmness was observed for all fruits.

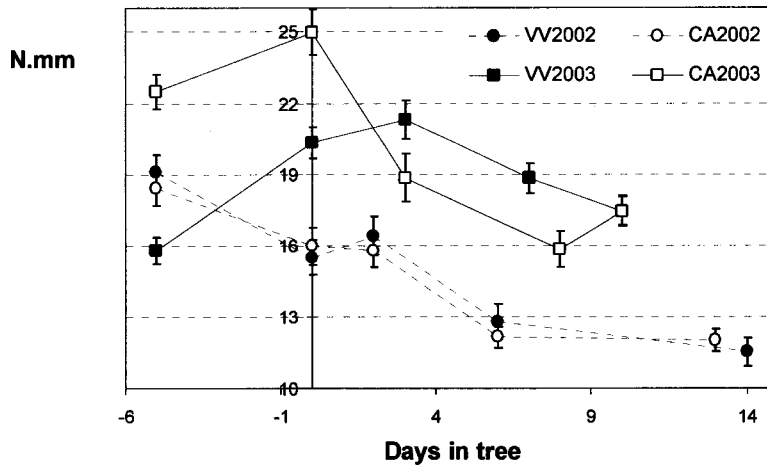


Fig.1 – Fruit firmness evolution during harvest in both years. Each point represents a twenty sample mean \pm standard error.

From the Intermediate to the Late harvest this decrease was 22-23% in fruits from 2002 and 12-16% in fruits from 2003, which is in accordance with the 4.5% of firmness loss per day reported by Guerra and Casquero (2008), for *Prunus domestica* L. plums during a similar harvest period, although having less mature fruits, as shown by the lower SSC.

In the last stage of development, fruit size is largely caused by cell enlargement and water status, which is an important determinant of fruit volume and, consequently, fruit weight (Faust, 1989). In both years, fruits weight showed a gradually increase as ripening went on. From the Commercial to Late harvest, the weight increase in fruits from VV was 19-20% in both years while for CA fruits was only 13.4% in 2002 but 34.4% in 2003 (Table 1). It is commonly accepted that smaller fruits are firmer than larger ones (Kilili *et al.*, 1996; Mpelasoka *et al.*, 2000). Another factor that seems to contribute for firmness is irrigation, (Garcia *et al.*, 1995) found that firmness increases in fruits from normally irrigated trees when compared to fruits from less-irrigated trees.

The study of the microstructure of this variety showed that the tissues of the plums are composed by isodiametric parenchyma cells with a regular shape (Nunes *et al.*, 2008a). These parenchyma cells have been shown to increase progressively in size with distance from the epidermis. These cells were reported to be perfectly turgid with very few intercellular spaces, with an apparently consistent cell wall structure, and a

well defined middle lamella between parenchyma cells and small intercellular spaces. No significant differences in microstructure and texture have been observed in the tissues from VV and CA plums by Nunes *et al.* (2008a). However, upon candying, the plums from CA orchard presented poor texture characteristics on the flesh, which have been related to cell wall polysaccharide degradation (Nunes *et al.*, 2008b).

The shorter postharvest life presented by the fruits from CA orchard, which became too soft and loose texture very quickly, has also been reported by Agulheiro Santos *et al.* (2005). Figure 2 shows the postharvest evolution from commercial to late harvest date from both orchards, during 6 days at 20°C.

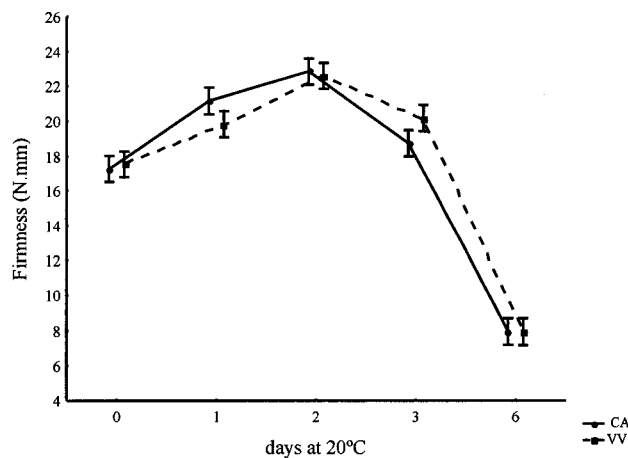


Fig.2 – Firmness evolution at 20°C in fruits from both orchards. Each point represents a sample mean (n=120) with confidence intervals at 95%.

After 3 days fruits from CA became significantly ($p=0.008$) less firm than those from VV. However at harvest there were no significant differences in fruit firmness, and at 6th day at 20°C fruit firmness reach the same lowest value.

3.1. Cell wall material composition

The cell wall synthesis during ripening has been speculated by some authors. According to Mitcham *et al.* (1989) synthesis continues throughout ripening and increases transiently until the climacteric phase. Thus, fruit softening resulted from insertion of modified polymers and removal of other polymers, producing a less rigid cell wall. Nevertheless it should be notice that ripening occurs differently if fruits are attached or detached from the tree. Murayama *et al.* (1998), found a different texture evolution in fruits ripened on and off the tree. In fruits ripened on the tree, softening was not accompanied, as expected, by an increase in water soluble pectin apparently due to cell wall synthesis. Also, in this plum variety the amount of pectic polysaccharides recovered with water and imidazole between commercial and late harvest, did not show a significant increase (table 2). This may indicate that, pectins from middle lamella did not solubilize differently from commercial to late harvest. Contrarily to Manrique and Lajolo (2004), who found in papaya fruit, a gradually increase of polymeric material present in water soluble fraction during the entire ripening period. However this study occurred entirely off the tree and fruits, after harvest, were left to ripen in an incubator.

The AIR (mgAIR/g fresh weight) which reflects the content of cell wall material in fresh weight did not have consistent differences between all harvest dates. During ripening the AIR content presents a slight decrease (table 1), however in 2003 in CA the AIR content increase during harvest dates. Table 1 shows in 2002 a decrease of 8.5% of AIR content in VV against 14% of CA, and in 2003 VV has a AIR content decrease of 5.7% and in CA orchard the AIR content had an increase of 25%. Also Rosli *et al.* (2004), found a decrease in AIR content as fruits matures but no clear correlation has been established during harvest dates between fruit firmness and AIR content. However between years, major differences have been found in fruit firmness (fig.1) which indicates that the content in cell wall material is not the only contributor to firmness.

The uronic acids present in AIR, which represent the pectic polysaccharides, have been used to define a reliable maturation parameter by Nunes *et al.* (2009) in order to predict fruit texture upon candying. In our study, and also as firmness, the UA content in the AIR, in year 2002, was significantly lower than in 2003, and this was consistent in both orchards (fig. 3).

The pectic polysaccharides extracts can be recovered with water, with aqueous solutions of chelating agents and with solutions of diluted carbonate (Coimbra *et al.*, 1996). In these plums the water and the imidazole extracts were very rich in pectic polysaccharides as has been reported by Nunes *et al.* (2008b). The ratio UA/ neutral

Table 2 - Sugar composition of plums harvested in commercial and late harvest date obtained by sequential extraction with aqueous solvents in VV orchard

Extract	Harvest	Yield ^a %	Cell wall sugars (% mol)								Total (mg/g)
			Rha	Fuc	Ara	Xyl	Man	Gal	Glc	UA	
Water	Comercial	2.9	2 ±0	1 ±0	20 ±0	5 ±0	6 ±0	24 ±1	11 ±1	32 ±3	408
	Late	2.9	2 ±0	1 ±0	18 ±1	4 ±0	6 ±0	23 ±1	10 ±0	36 ±2	490
Imid.	Comercial	1.9	1 ±0	0 ±0	7 ±1	1 ±0	2 ±0	9 ±1	5 ±0	75 ±2	784
	Late	1.6	1 ±0	0 ±0	6 ±1	1 ±0	1 ±0	8 ±1	2 ±0	80 ±3	786
Na ₂ CO ₃ 4°C	Comercial	15.4	1 ±0	0 ±0	7 ±0	0 ±0	1 ±1	7 ±0	0 ±0	83 ±1	938
	Late	13.7	1 ±0	0 ±0	9 ±1	0 ±0	1 ±0	10 ±1	0 ±0	79 ±1	757
Na ₂ CO ₃ 20°C	Comercial	5.2	2 ±0	0 ±0	33 ±2	1 ±0	0 ±0	42 ±2	1 ±0	21 ±3	474
	Late	5.1	2 ±0	0 ±0	27 ±1	1 ±0	1 ±0	36 ±2	0 ±0	34 ±1	571
0,5M KOH sn	Comercial	4.8	1 ±0	1 ±0	17 ±1	7 ±0	1 ±0	29 ±2	9 ±0	36 ±4	586
	Late	4.2	1 ±0	1 ±0	21 ±0	11 ±0	1 ±0	33 ±1	9 ±0	23 ±0	625
0,5M KOH pp	Comercial	1.6	1 ±0	0 ±0	27 ±0	1 ±0	1 ±0	41 ±2	2 ±0	27 ±3	572
	Late	0.4	1 ±0	0 ±0	30 ±1	1 ±0	0 ±0	42 ±1	2 ±0	24 ±2	501
1M KOH sn	Comercial	2.1	1 ±0	4 ±0	8 ±0	21 ±0	5 ±0	19 ±0	27 ±0	15 ±1	754
	Late	1.4	1 ±0	4 ±0	9 ±0	24 ±0	5 ±0	19 ±1	25 ±1	13 ±1	673
1M KOH pp	Comercial	1.1	1 ±0	0 ±0	38 ±0	8 ±0	0 ±0	23 ±0	7 ±0	22 ±1	276
	Late	1.2	1 ±0	1 ±0	41 ±1	13 ±0	2 ±0	23 ±0	4 ±0	16 ±0	341
4M KOH sn	Comercial	1.3	1 ±0	1 ±0	15 ±1	6 ±0	13 ±0	24 ±1	23 ±0	16 ±1	584
	Late	1.1	1 ±0	2 ±0	13 ±1	10 ±1	16 ±1	24 ±1	23 ±1	12 ±2	608
4M KOH pp	Comercial	1.2	1 ±0	0 ±0	48 ±1	2 ±0	1 ±0	16 ±1	8 ±1	23 ±1	186
	Late	1.5	1 ±0	0 ±0	50 ±1	5 ±1	2 ±0	15 ±1	4 ±0	22 ±1	199
8M KOH sn	Comercial	1.0	2 ±0	1 ±0	34 ±3	5 ±0	4 ±1	31 ±1	8 ±1	15 ±2	937
	Late	0.7	2 ±0	0 ±0	31 ±1	3 ±0	5 ±0	37 ±1	8 ±0	13 ±0	754
8M KOH pp	Comercial	0.8	2 ±0	0 ±0	30 ±1	1 ±0	1 ±0	30 ±1	2 ±1	35 ±1	551
	Late	2.2	1 ±0	0 ±0	31 ±1	2 ±0	0 ±0	36 ±2	1 ±0	29 ±1	725
sn CR	Comercial	3.6	2 ±0	0 ±0	26 ±1	0 ±0	0 ±0	29 ±0	0 ±0	44 ±1	429
	Late	2.5	1 ±0	0 ±0	31 ±2	1 ±0	0 ±0	25 ±0	1 ±0	42 ±2	616
CR	Comercial	13.0	1 ±0	0 ±0	13 ±1	2 ±0	2 ±0	13 ±1	52 ±2	17 ±3	941
	Late	15.4	1 ±0	0 ±0	12 ±1	2 ±0	1 ±0	14 ±0	53 ±1	18 ±1	935

^a Yield is expressed in mg of dry weight material per 100g of AIR
Mean ± standard deviation (n=4)

sugars provide information about the composition and structure of polysaccharides. In water and imidazole extracts the ratio between the UA amount and the arabinose (Ara) and galactose (Gal) amount did not change from commercial to late harvest date. The UA/Ara+Gal ratio has similar values in both extracts and harvest dates. However in dilute sodium carbonate extracts at 4°C, the ratio was 6 and 4 in commercial and late

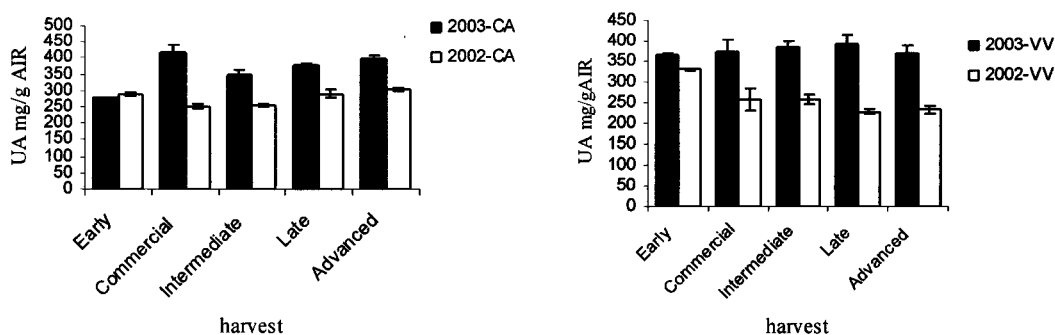


Fig.3 – Changes in the UA (mg/g AIR) content in the AIR for CA and VV orchards in both years (Mean±standard deviation with n=4)

harvest, respectively. The slight decrease of UA/Ara+Gal ratio suggests a slight increased of more branched polysaccharides from commercial to late harvest date. In this variety the UA/Ara+Gal ratio values in commercial and late harvested fruits are in accordance to fruit firmness. In fact fruit firmness exhibited a slight decrease, but did not significantly change between commercial and late harvest date.

Manrique and Lajolo (2004), obtained greater UA/Ara+Gal ratios in polymers extracted with sodium carbonate than with water and imidazole solutions, which suggested the existence in those solutions, of more branched polysaccharides, such as cell wall covalently linked pectins. In carbonate pectic polysaccharides extracted at 20°C the UA/Ara+Gal ratio almost duplicate between commercial and late harvest date indicating that pectins have fewer side chains at this stage.

Also as Nunes *et al.* (2008b), it was found in both harvest dates, in sn-CR extract, the occurrence of highly branched polysaccharides which might be a consequence of matrix material associated with the microfibrillar phase (Coimbra *et al.*, 1994).

Neutral sugars values obtained for sodium hydroxide fractions were not indicative of hemicellulose degradation between harvest dates. In most fractions, it was observed that hemicellulosic polymers solubilization did not significantly change. The role of hemicelluloses in the overall fruit softening is not yet fully understood and some contradictory results have been found. Loss of hemicelluloses and cellulose has been described in many species (Brummell *et al.*, 2004). However Percy *et al.* (1997), did not find any changes in the molecular weight profile in both hemicellulose and xyloglucans polymers, as well as Rosli *et al.* (2004), who did not find a good correlation between firmness loss and hemicellulose content.

3.3 – Calcium cell wall

The calcium extracted in fruit dry matter represents total calcium which can be separated into several fractions: the water soluble calcium and the exchangeable calcium complexed with pectic polysaccharides. Also the concentrations of these forms may vary during fruit development (Saure, 2005). During ripening, fruits increase their weight due to water accumulation and sugars mobilization into the fruit and its contribution are particularly intense in last ripening phases (Faust, 1989). When calcium fruit content results are expressed in terms of fresh mass or dry mass, there is always an associated error. This error becomes greater as fruits ripen and in varieties with higher SSC.

Sophisticated techniques have been used to measure the level and the distribution of calcium in the cell walls (Huxham *et al.*, 1999). The use of simple techniques to evaluate the accumulation of calcium in the course of fruit development independently of fruit mass, must be used. AIR extraction technique is an easy and quite efficient method used to the extraction of plum cell wall polymers because of the proven inactivation effect that ethanol exerts against cell wall degrading enzymes (Coimbra *et al.*, 1996).

The calcium presented in the AIR material reached average values between 54-80% of the calcium extracted from dry matter (fig.4). Marschner (1995), estimated that up to 50% of the total calcium in the cell can be bound to the carboxylic groups of the polygalacturonic acids in the cell walls.

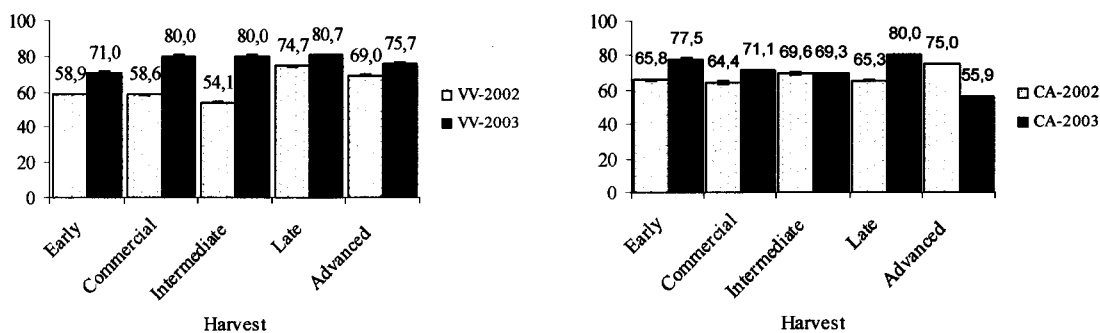


Fig.4 – %Ca extracted in AIR considering calcium extracted from dry matter. (Mean±standard deviation with n=4)

Calcium fruit content was significantly different between orchards; fruits from CA orchard have lower calcium fruit content in both years (fig.5).

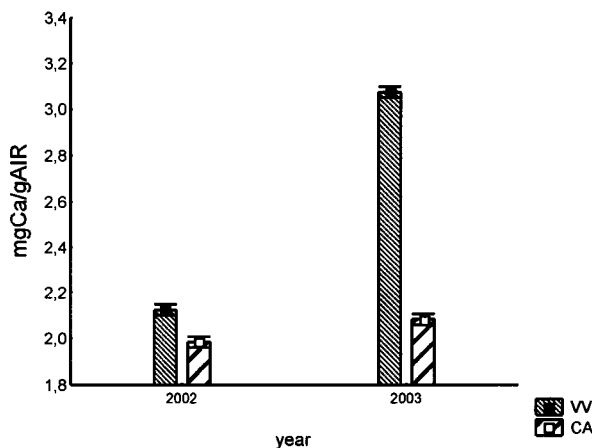


Fig.5 – Calcium fruit level (mgCa/gAIR) in both orchards (VV and CA) and years. Each point represents a twenty sample mean with confidence intervals at 95%.

The orchard which maintained, during postharvest, firmer fruits (VV) had significantly higher levels of calcium in the AIR. Strong positive correlations between calcium and apple fruit firmness have been reported by several other authors (Brown *et al.*, 1996; Glenn and Poovaiah, 1990; Mason *et al.*, 1975), however Huxham *et al.*, (1999), found in apples a negative correlation between cell wall calcium and fruit firmness. During ripening cell wall becomes negatively charged due to the removal of methylester groups by PME (pectin methyl esterase). In the presence of calcium, negatively charged GalA residues associate together through ionic Ca^{2+} bonds which provide, accordingly to Toivonen and Brummell (2008), most of the intermolecular bonding force in ripening fruits. Between orchards the differences registered in fruit firmness after 3 days at 20°C are also in accordance with the values of calcium content in the cell wall. Fruits from CA orchard had a significant lower value of calcium in the cell wall than fruits from VV orchards. Also fruits from both orchards had different postharvest behaviour after 3 days at 20°C. Comparing orchards, fruits from CA had a significant lower firmness values.

Nunes *et al.* (2008b) reported at harvest a degree of methylesterification in this plum variety of 38% and 57% in CA and VV orchards, respectively. Also the PME activity was 28% higher in VV than in CA orchard. These results might indicate that calcium in VV fruits is directly involved in strengthening fruit cell wall through ripening. In opposite, fruits from CA orchard, in spite of a lower DM, have also a much lower calcium fruit content which renders the cell wall polysaccharides much more susceptible to enzyme attack.

4. Conclusion

Knowledge of the mechanism of fruit softening, cell wall structure and cell wall breakdown is important to improve fruit quality. As expected during ripening there was a gradual decrease in fruit firmness but apparently it does not compromise the middle lamella structure between commercial and late harvest dates. In fact, these fruit plums ripened in the tree which might influence cell wall breakdown and also fruit firmness did not significantly change during this period. However it was detected during ripening a relative loss of neutral sugars in pectic polysaccharides.

The evaluation of calcium content in the AIR allowed studying this cation evolution in the fruit with a minor interference of fruit mass increase. In contrast to SSC increase and rapid fruit growth during harvest, the AIR material presents just a slight decrease.

Between orchards fruits from CA showed a higher softening after 3 days at 20°C contrarily to calcium fruit content in the AIR. Fruits from VV orchard had a significant higher calcium content in the AIR. In the second year fruit firmness was significantly higher than in the first year as well as calcium fruit content and pectic polysaccharides fruit level.

Firmness is a complex fruit property which is influenced by different preharvest, at-harvest, and postharvest factors. Further the influence of preharvest factors in fruit firmness has been widely reviewed, and is commonly accepted that predictive accuracy of firmness measurements varied substantially between seasons. In the future new approaches to study the mechanism of plum fruit softening off the tree are needed, in order to understand the changes in the cell wall composition in this variety during postharvest ripening. The prediction of fruit quality upon storage is one of the major problems that concerns agricultural technicians. The previous knowledge about fruit calcium content and as well as pectic polysaccharides could be important in the future to predict changes that occur in plum fruits during postharvest ripening.

Acknowledgments:

We would like to thank to Portuguese Ministry of Agriculture, Agro Program and FCT (Portugal) for the PhD grant (SFRH/BD/12928/2003).

5. References

- Agulheiro Santos, A. C., Ventura, C., Garcia Bernalte, M. J., and Pacheco Ribeiro, G. (2005). The use of plastic film (oriented polypropylene) under cold conditions for storage of 'Rainha Caludia Verde' plums. *Acta Hort.* **682**, 1761-1768.
- Blumenkrantz, N., and Asboe-Hasen, G. (1973). New method for quantitative determination of uronic acids. *Anal. Biochem.* **54(2)**, 484-489.
- Brown, G. S., Kitchener, A. E., McGlasson, W. B., and Barnes, S. (1996). The effects of copper and calcium foliar spray on cherry and apple fruit quality. *Scientia Hort.* **67(3-4)**, 219-227.

- Brummell, D. A., Dal Cin, V., Crisosto, C., and Labavitch, J. (2004). Cell wall metabolism during maturation, ripening and senescence of peach fruit. *J. Exp. Bot.* **55**, 2029-2039.
- Coimbra, M. A., Delgadillo, I., W., W. K., and Selvendran, R. (1996). Isolation and analysis of cell wall polymers from olive pulp. In "Moderns Methods of Plant Analysis" (H.-F. Linskens and J. F. Jackson, eds.), Vol. 17, pp. 19-44. Springer-Verlag, Berlin.
- Coimbra, M. A., Waldron, K. W., and Selvendran, R. (1994). Isolation and characterisation of cell wall polymers from olive pulp (*Olea europeae* L.). *Carb. Res.* **252**, 245-262.
- Conway, S. C., Sams, C. E., McGuire, R. G., and Kelman, A. (1992). Calcium treatment of apples and potatoes to reduce postharvest decay. *Plant Disease* **76**, 392-334.
- Cosgrove, D. J. (2000). Expansive growth of plant cell walls. *Plant Physiol. Biochem.* **38**, 109-124.
- Faust, M. (1989). "Physiology of temperate zone fruit trees," John Wiley & Sons, Bestville, Maryland.
- Garcia, J. L., Ruiz-Altisent, M., and Barreiro, P. (1995). Factors Influencing Mechanical Properties and Bruise Susceptibility of Apples and pears. *J.Agric.Engng Res.* **61**, 11-18.
- Giovannoni, J. (2001). Molecular Biology of Fruit Maturation and Ripening. *Plant Mol. Biol.* **52**, 725-749.
- Glenn, G. M., and Poovaiah, B. W. (1990). Calcium-mediated Postharvest Changes in Texture end Cell Wall Structure and Comosition in 'Golden Delicious' Apples. *J.Am.Soc.Hort.Sci* **6**, 962-968.
- Goulao, L. F., and Oliveira, C. M. (2008). Cell wall modifications during fruit ripening: when a fruit is not the fruit. *Trends in Food Science & Technology* **19**, 4-25.
- Goulao, L. F., Santos, J., de Sousa, I., and Oliveira, C. M. (2007). Patterns of enzymatic activity of cell wall-modifying enzymes during growth and ripening of apples. *Postharvest Biol. Technol.* **43**, 307-318.
- Guerra, M., and Casquero, P. A. (2008). Effect of harvest date on cold storage and postharvest quality of plum cv. Green Gage. *Postharvest Biol. Technol.* **47(3)**, 325-332.
- Heyes, J. A., and Sealey, D. F. (1996). Textural changes during nectarine (*Prunus persica*) development and ripening. *Scientia Hortic.* **65**, 49-58.
- Huxham, I., Jarvis, M., Shakespeare, L., Dover, C. J., Johnson, D., Knox, J. P., and Seymour, G. B. (1999). Electron energy loss spectroscopic imaging of calcium and nitrogen in the cell walls of apple fruits. *Planta* **208**, 438-443.
- Kilili, A. W., Behboudian, M. H., and Mills, T. M. (1996). Composition and quality of 'Braeburn' apples under reduced irrigation. *Scenia Hortic.* **67**, 1-11.
- Koch, J. L., and Nevis, D. J. (1989). Tomato Fruit Cell Wall - I. use of purified tomato polygalacturonase and pectinmethylesterase to identify developmental changes in pectins. *Plant Physiol.* **91**, 816-822.
- Manrique, G. D., and Lajolo, F. M. (2004). Cell wall polysaccharide modifications during postharvest ripening of papaya fruit (*Carica papaya*). *Postharvest Biol. Technol.* **33**, 11-26.
- Marschner, H. (1995). "Mineral Nutrition of Higher Plants," second edition/Ed. Academic Press, London.
- Mason, J. L., Jasmin, J. J., and Granger, R. L. (1975). Softening of 'McIntosh' Apples Reduced by a Postharvest Dip in Calcium Chloride Solution plus Thickener. *HortScience* **10(5)**, 524-525.

- Mitcham, E. J., Gross, K. C., and Ng, T. J. (1989). Tomato fruit cell wall synthesis during development and senescence. *Plant Physiol.* **89**, 477-481.
- Mpelasoka, B. S., Behboudian, M. H., Dixont, J., Neal, S., and Caspari, H. (2000). Improvement of fruit quality and storage potential of 'Braeburn' apple through deficit irrigation. *JHSB* **75(5)**, 615-621.
- Murayama, H., Takahashi, T., Honda, R., and Fukushima, T. (1998). Cell wall changes in pear fruit softening on and off the tree. *Postharvest Biol. Technol.* **14**, 143-149.
- Nunes, C., Rato, A. E., Barros, A. S., Saraiva, J. A., and Coimbra, M. A. (2009). Search for suitable maturation parameters to define the harvest maturity of plums (*Prunus domestica* L.): A case study of candied plums. *Food Chem.* **112(3)**, 570-574.
- Nunes, C., Rocha, S. M., Saraiva, J., and Coimbra, M. A. (2006). Simple and solvent-free methodology for simultaneous quantification of methanol and acetic acid content of plant polysaccharides based on headspace solid phase microextraction-gas chromatography (HS-SPME-GC-FID). *Carb. Polym.* **64**, 306-311.
- Nunes, C., Santos, C., Pinto, G., Lopes-da-Silva, J. A., Saraiva, J., and Coimbra, M. A. (2008a). Effect of candying on microstructure and texture of plums (*Prunus domestica* L.). *LWT - Food Science and Technology* **14(10)**, 1776-1783.
- Nunes, C., Saraiva, J. A., and Coimbra, M. A. (2008b). Effect of candying on cell wall polysaccharides of plums (*Prunus domestica* L.) and influence of cell wall enzymes. *Food Chem.* **111**, 538-548.
- Patten, K., and Patterson, M. (1985). Fruit moisture status effects on the texture and mechanical properties of Sweet Cherries. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **110(4)**, 537-541.
- Percy, A., Melton, L. D., and Jameson, P. E. (1997). Xyloglucan and hemicellulose in the cell wall during apple fruit development and ripening. *Plant Sci.* **125**, 31-39.
- Poovaiyah, B. W., Glenn, G. M., and Reddy, A. S. N. (1988). Calcium an Fruit Softening: Physiology and Biochemistry. *Hort. Rev.* **10**, 107-152.
- Rato, A. E., Agulheiro, A. C., Barroso, J. M., and Riquelme, F. (2008). Soil and rootstock influence on fruit quality of plums (*Prunus domestica* L.). *Scientia Hort.* **118(3)**, 218-222.
- Rosli, H. G., Civello, P., and Martinez, G. A. (2004). Changes in cell wall composition of tree *Fragaria* x *ananassa* cultivars with different softening rate during ripening. *Plant Physiol. Biochem.* **42**, 823-831.
- Sams, C. E. (1999). Preharvest factor affecting postharvest texture. *Postharvest Biol. Technol.* **15**, 249-254.
- Saure, M. C. (2005). Calcium translocation to fleshy fruit: its mechanism and endogenous control. *Scientia Hort.* **105**, 65-89.
- Selvendran, R., March, J. F., and Ring, S. G. (1979). Determination of aldoses and uronic acid content of vegetables fiber. *Anal. Biochem.* **96 (2)**, 282-292.
- Singh, K., and Reddy, B. (2006). Post-harvest physico-mechanical properties of orange peel and fruit. *J. Food Eng.* **73**, 112-120.
- Toivonen, P. M. A., and Brummell, D. A. (2008). Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. *Postharvest Biol. Technol.* **48(1)**, 1-14.
- Tzoutzoukou, C., and Bouranis, D. (1997). Effect of preharvest application of calcium on the postharvest physiology of apricot fruit. *J. Plant Nut.* **20**, 295-309.

Yoshioka, H., Aoba, K., and Kashimura, Y. (1992). Molecular weight and degree of methoxylation in cell wall polyuronide during softening in pear and apple fruit. *J. Amer. Soc. Hort. Sci* **117**(6), 600-606.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS E TRABALHOS FUTUROS

3. Considerações Finais e Trabalhos Futuros

Os resultados desta tese permitiram incluir a variedade ‘Rainha Cláudia Verde’ no grupo dos frutos climatéricos. Devido à diferença observada nas taxas de produção de etileno recolhido em sistema aberto e sistema fechado, é necessário no futuro, para se estabelecerem valores exactos para estas taxas, utilizar outro tipo de dispositivos que permitam um controlo rigoroso da ventilação dos contentores. O estudo sobre os efeitos da conservação frigorífica nesta variedade indicaram uma aparente sensibilidade às baixas temperaturas, que se revelou quer na diminuição da taxa de produção de etileno quer na alteração da textura dos frutos. O estudo da actividade enzimática da ACC-sintetase e ACC-oxidase nos frutos desta variedade, sujeita a regimes de temperaturas diferentes, permitirá esclarecer que efeito têm as baixas temperaturas na conservação dos frutos.

Os resultados sobre a influência do porta-enxerto na qualidade dos frutos permitiram eleger o porta-enxerto GF10-2 em alternativa ao GF8-1, como uma boa opção para as condições edafo-climáticas do Alentejo. Sendo este último porta-enxerto mais vigoroso que o GF10-2, apresentou também um maior crescimento acumulado e induziu um menor teor de cálcio dos frutos. No entanto nem sempre a redução de vigor tem como consequência o aumento da concentração de cálcio nos frutos. Segundo a bibliografia consultada, esta relação não se verifica para porta-enxertos ananícantes ou semi-ananícantes. Dentro deste grupo, um vigor maior da árvore corresponde de um modo geral, a um teor de cálcio nos frutos maior. A hipótese de haver um limite a partir do qual o menor vigor das árvores deixa de ser vantajoso para o aumento do teor de cálcio nos frutos, torna estes dois porta-enxertos como uma boa alternativa para estudar os efeitos de diferentes níveis de cálcio na conservação nos frutos. Nem sempre as aplicações aos frutos se mostram eficazes, pelo que se torna extremamente vantajoso ter alguma garantia no início da conservação de que haverá diferenças na concentração deste catião nos frutos.

As diferenças observadas entre estes dois porta-enxertos ao nível da indução de diferentes teores de cálcio dos frutos leva-nos a especular acerca da origem destas diferenças. Pode assim justificar-se a maior concentração deste catião nos frutos com base no menor vigor induzido pelo porta-enxerto e relacionar este efeito com um problema de diluição deste catião na árvore. No entanto, dadas as diferenças observadas

nos frutos pode ainda especular-se acerca da maior afinidade que o porta-enxerto GF10-2 tem ao nível da absorção radical deste catião, apresentando assim uma vantagem acrescida sobre o porta-enxerto GF8-1. Na entrada e no transporte do cálcio na planta parece estarem envolvidos vários processos, entre os quais fenómenos de troca catiónica ao nível dos polissacarídeos das paredes celulares do xilema. No futuro, o estudo da composição e quantificação dos polissacarídeos pécticos ao nível da zona radical poderá esclarecer quanto à origem das diferenças apresentadas por ambos os porta-enxertos.

Nos primeiros trabalhos efectuados, a influência do pomar no teor de cálcio dos frutos não se mostrou tão evidente como a influência do porta-enxerto. Os solos dos dois pomares em estudo mostraram diferenças quanto à sua composição química, nomeadamente quanto ao teor de potássio. Embora a competição entre catiões presentes no solo esteja bem documentada no que diz respeito à absorção de cálcio e de potássio, a maioria dos autores refere os efeitos do excesso de cálcio na absorção do potássio. O efeito antagonista do excesso de potássio relativamente à absorção de cálcio poderá ser confirmado no futuro através de ensaios de adubação.

O estudo da evolução dos níveis de cálcio nos frutos durante a maturação tem apresentado de um modo geral, resultados pouco conclusivos. As determinações deste catião efectuadas nos frutos vêm sempre expressas em função de outra variável, o que origina grande heterogeneidade de resultados. A determinação do teor de cálcio na fracção de paredes celulares dos frutos efectuada neste trabalho, permitiu minimizar o erro associado ao aumento da massa do fruto. Utilizando este método foram avaliar-se novamente os frutos provenientes dos dois pomares e concluiu-se que os frutos apresentavam concentrações de cálcio significativamente diferentes. Sendo o pomar que apresentava maiores teores de nutrientes no solo, nomeadamente cálcio e potássio, aquele em que os frutos apresentavam menores teores de cálcio.

O cálcio presente na parede celular contribui para o aumentando da sua estabilidade, no entanto não se obteve neste trabalho, uma correlação nítida entre o teor de cálcio associado à parede e a firmeza dos frutos. A firmeza dos frutos é de facto, uma característica complexa para a qual contribuem uma variedade de factores, sendo o cálcio um deles. No entanto, porque a variabilidade entre frutos é muito grande, a correlação entre o teor de cálcio dos frutos e a firmeza deverá, no futuro, ser efectuada na mesma amostra.