



3º Simpósio Nacional de Fruticultura

Vila Real, 4 e 5 de dezembro de 2014



Associação
Portuguesa de
Horticultura

utad



Ficha Técnica:

Título: 2º Simpósio Nacional de Fruticultura

Colecção: Actas Portuguesas de Horticultura, nº 23

Editor: ASSOCIAÇÃO PORTUGUESA DE HORTICULTURA

Rua da Junqueira, 299 – 1300-338 Lisboa

Coordenação: Raúl Rodrigues e Ana Paula Silva

Autores: vários

Edição e Coordenação: Raúl Rodrigues e Ana Paula Silva

Tiragem: 200 exemplares

ISBN: 978-972-8936-16-7

3º Simpósio nacional de Fruticultura

Organização:

- Associação Portuguesa de Horticultura (APH)
- Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD)
- Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB)
- Centro Operativo e Tecnológico de Hortofrutícola Nacional (COTHN)

Comissão organizadora:

- Ana Paula Silva (UTAD/CITAB) (Presidente)
- Ana Alexandra Oliveira (UTAD/CITAB)
- Ana Paula Nunes (COTHN)
- Berta Gonçalves (UTAD/CITAB-APH)
- Carlos Ribeiro (UTAD/CITAB)
- Eduardo Rosa (UTAD/CITAB)
- M^a Carmo Martins (COTHN)
- Raúl Rodrigues (ESA-IPVC/APH/CIMO)

Comissão Científica:

- Prof. Doutor Alberto Santos – UTAD
- Prof. Doutor Amílcar Duarte – UAlg
- Prof. Doutor António Ramos – ESA-IPCB
- Prof.^a Doutora Cristina Oliveira – ISA
- Prof. Doutor David Horta Lopes – UAçores
- Prof. Doutor Domingos Almeida – ISA
- Prof. Doutor Eduardo Rosa – UTAD
- Doutora Graça Barreiro – INIAV
- Prof.^a Doutora Isabel Mourão – ESA-IPVC
- Prof. Doutor José Alberto Pereira – ESA-IPB
- Prof.^a Doutora Justina Franco – ESAC
- Prof.^a Doutora Laura Torres – UTAD
- Prof. Doutor Miguel Brito – ESA-IPVC

Prefácio

O **3º Simpósio Nacional de Fruticultura**, é uma organização conjunta da APH, UTAD/CITAB e COTHN. É um evento que pretende reunir a fileira da fruticultura nacional e destaca a importância do trabalho desenvolvido pela **APH**, como principal fórum de intercâmbio técnico-científico dos agentes ligados ao sector. Trata-se de um evento dirigido a produtores, empresários, investigadores, professores, estudantes de graduação e de pós-graduação, técnicos e demais profissionais ligados à fileira da fruticultura, procurando-se desta forma, dar a conhecer a realidade da fruticultura nacional, tendências e necessidades de investigação.

Tal como nas edições anteriores, o programa do 3º Simpósio Nacional de Fruticultura está estruturado ao longo de dois dias. Os grandes temas em debate neste evento relacionam-se com: Produção Frutícola; Proteção das Culturas; Pós-colheita; Políticas, Marketing e competitividade e Biotecnologia. Para tal, está confirmada a presença de cinco oradores convidados, especialistas nos diversos domínios do conhecimento.

A Edição nº 23 das Actas Portuguesas de Horticultura, é dedicada exclusivamente ao 3º Simpósio Nacional de Fruticultura, realizado nos dias 4 e 5 de dezembro de 2014, na Aula Magna da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. Nela constam um total de 74 comunicações apresentadas e debatidas durante o evento, sob as formas de comunicações orais ou em painel.

A realização do 3º Simpósio Nacional de Fruticultura só foi possível graças ao empenho de uma vasta e diversificada equipa. Assim, a todos os membros da Comissão Organizadora, da Comissão Científica, palestrantes convidados, autores de todas as comunicações, às instituições que de forma direta ou indireta apoiaram e patrocinaram a realização deste evento, endereçamos os nossos sinceros agradecimentos.

J. Raúl Rodrigues
Ana Paula Silva

Índice

<i>Monda em macieira ‘Gala’ (Malus domestica Borkh.). Estudo de novas substâncias ativas</i>	<i>1</i>
<i>Utilização de vários agentes de monda química em macieira, em período pré-floral, floral e pós-floral, numa utilização isolada ou sequencial, nas variedades ‘Lysgolden’, ‘Golden Smothee’, ‘Royal Gala’ e ‘Fuji’</i>	<i>9</i>
<i>Utilização de redes de ensombramento para monda de flores em uva de mesa ‘Thompson Seedless’ e ‘Crimson Seedless’</i>	<i>21</i>
<i>Monda química de frutos com 6-benziladenina e ácido 1-naftilacético em pereira ‘Rocha’</i>	<i>29</i>
<i>Avaliação do efeito da altura do ponto de enxertia no vigor, na produção e na qualidade dos frutos em macieiras, cv. ‘Galaxy’/M9 EMLA.....</i>	<i>37</i>
<i>Comportamento da cultura da figueira (Ficus carica L.) no Alentejo.....</i>	<i>46</i>
<i>Utilização de reguladores de crescimento na citricultura. O caso da citricultura portuguesa, em comparação com outros países</i>	<i>54</i>
<i>Efeito da densidade de plantação e da cultivar na fisiologia e produção da cerejeira em Trás-os-Montes</i>	<i>61</i>
<i>Pêra ‘Rocha’ do Oeste em pomares com sistema integrado de rega de precisão: variação sazonal de parâmetros fisiológicos e bioquímicos</i>	<i>70</i>
<i>A mecanização da poda em pereira ‘Rocha’ – utilização de máquina de podar de discos.....</i>	<i>78</i>
<i>Aspectos de produção e qualidade em quatro sistemas de condução em pereira ‘Rocha’</i>	<i>87</i>
<i>Avaliação da influência das manchas de vegetação semeadas no incremento das populações de insectos polinizadores e na qualidade dos frutos, na cultura da macieira</i>	<i>93</i>
<i>Avaliação do comportamento de quatro porta-enxertos de pereira com a cv. ‘Rocha’</i>	<i>101</i>
<i>Caraterização morfo-fisiológica de populações de Sambucus nigra L. da região do Vale do Varosa</i>	<i>108</i>
<i>Comportamento biológico de folhas expostas versus folhas de sombra em cerejeira.....</i>	<i>117</i>
<i>Composição química de folhas de quatro cultivares de mirtilo em modo de produção biológico.....</i>	<i>125</i>
<i>Custo de utilização de máquina de podar de discos na poda de pereiras ‘Rocha’</i>	<i>133</i>
<i>Efeito da aplicação de um bioestimulante em duas cultivares de cerejeira (Sweetheart e Skeena): I) no perfil sensorial dos frutos</i>	<i>141</i>
<i>Efeito da forma de condução nas cultivares de aveleira “Butler” e “Segorbe” (I): características morfo-anatómicas e químicas de folhas.....</i>	<i>149</i>
<i>Efeito da forma de condução nas cultivares de aveleira “Butler” e “Segorbe” (II): características fisiológicas de folhas.....</i>	<i>158</i>

<i>Efeito da rega na produtividade fotossintética do castanheiro.....</i>	166
<i>Eficiência do pomar de pera ‘Rocha’ no Oeste (Portugal). I – modelo para avaliação da eficiência produtiva e económica.....</i>	174
<i>Eficiência do pomar de pera ‘Rocha’ no Oeste (Portugal). II – modelo para previsão e gestão da carga</i>	179
<i>Estudo comparativo do comportamento agronómico de cinco clones de pereira (Pyrus communis L.) cv. ‘Rocha’ em três porta-enxertos.....</i>	184
<i>Impacto da irrigação suplementar diurna na fisiologia de pereira ‘Rocha’ do Oeste.....</i>	191
<i>Melão Casca de Carvalho (Cucumis melo L.) – a cultura de um fruto promissor</i>	198
<i>Produtividade irregular em tangerineira ‘Fortune’. Efeitos do ácido giberélico e da incisão anelar</i>	206
<i>Qualidade das cerejas na região da Beira Interior</i>	213
<i>Qualidade de 13 cultivares de melão (Cucumis melo L.) em Évora, Almeirim e Amareleja....</i>	219
<i>SIGP – Sistema Integrado de Gestão de Propriedades</i>	227
<i>Valores foliares de ocorrência de nutrientes em marmeleiro na região de Alcobaça.....</i>	234
<i>Efeito do inseticida lufenurão no controlo das populações selvagens de Ceratitis capitata Wiedemann, Ilha Terceira, Açores.....</i>	241
<i>Toxidade de campo de spirotetramat (Movento®) sobre ácaros predadores (Acari: Phytoseiidae) em macieira na região do Minho.</i>	249
<i>Avaliação do efeito antagonista de fungos endofíticos contra Verticillium dahliae em condições in vitro</i>	257
<i>Dryocosmus kuriphilus: uma nova e preocupante praga do castanheiro em Portugal.....</i>	264
<i>A mosca-da-fruta Bactrocera invadens Drew (Diptera: Tephritidae) na Ilha de Santiago, Cabo Verde</i>	270
<i>Avaliação da atividade antimicrobiana e propriedades biológicas de fungos endofíticos.....</i>	279
<i>Avaliação da comunidade microbiana endo e epifítica em Olea europaea e seu potencial na luta biológica da tuberculose da oliveira.....</i>	287
<i>Avaliação do potencial antimicrobiano de fungos endofíticos da oliveira.....</i>	295
<i>Efeito da planta hospedeira no potencial antagonista de fungos endofíticos contra Colletotrichum acutatum em condições in vitro.....</i>	302
<i>Monitorização do declínio do castanheiro com fotografia aérea de pequeno formato</i>	308
<i>O problema da sésia (Synanthedon sp.) (Lepidoptera: Sesiidae) em pomares de macieira na região Oeste</i>	317

<i>Vírus da granulose de Cydia pomonella numa estratégia de mini-dose para reduzir danos e populações de bichado da fruta</i>	<i>325</i>
<i>Como pode o design acrescentar valor à fruticultura?</i>	<i>331</i>
<i>Análise do mercado sobre as potencialidades do consumo de medronho em fresco: Resultados preliminares.</i>	<i>337</i>
<i>Atmosfera controlada dinâmica na prevenção do acastanhamento interno em pera ‘Rocha’: eficácia dos sensores de etanol e de fluorescência de clorofilas</i>	<i>345</i>
<i>Qualidade da pera ‘Rocha’: efeito do tempo de prateleira na textura e na preferência do consumidor.....</i>	<i>353</i>
<i>Estudo comparativo do teor em fitoquímicos de pequenos frutos produzidos em Portugal e provenientes de mercados longínquos</i>	<i>359</i>
<i>Efeito da desidratação osmótica nas propriedades físico-químicas de castanha fatiada</i>	<i>372</i>
<i>Otimização da aplicação de um bio-estimulante para o aumento da produtividade e qualidade do morango</i>	<i>380</i>
<i>Efeito da aplicação de um bioestimulante em duas cultivares de cerejeira (Sweetheart e Skeena): II) produção, calibre, índice de rachamento e características químicas dos frutos.....</i>	<i>389</i>
<i>Gestão de tecnologia na fruticultura portuguesa: teoria e estudo de caso da resposta do setor da pera ‘Rocha’ à proibição da difenilamina.....</i>	<i>397</i>
<i>Agricultura biológica vs convencional: avaliação de parâmetros bioquímicos e qualidade sensorial da variedade de Amora Chester Thornless</i>	<i>405</i>
<i>Agricultura biológica vs agricultura convencional: avaliação de parâmetros bioquímicos e qualidade sensorial de framboesa Tulameen.....</i>	<i>411</i>
<i>Análise imediata de açúcares e acidez titulável em mirtilos através de espectroscopia de Infravermelho.....</i>	<i>419</i>
<i>Avaliação das propriedades físico-químicas e sensoriais do figo-da índia (Opuntia ficus-indica) desidratado.....</i>	<i>425</i>
<i>Composição química de frutos de quatro cultivares de mirtilo em modo de produção biológico.....</i>	<i>432</i>
<i>Efeito de revestimentos edíveis à base de alginato na conservação de framboesas.....</i>	<i>439</i>
<i>Incremento do tempo de conservação de medronhos para consumo em fresco com utilização de películas edíveis</i>	<i>446</i>
<i>Qualidade e conservação da cultivar de uva de mesa ‘Crimson Seedless’</i>	<i>455</i>
<i>Utilização de películas edíveis no aumento da vida útil de maçã ‘Bravo de Esmolfe’ minimamente processada.....</i>	<i>462</i>
<i>Associação UC InProPlant: micropropagação e certificação de genótipos de espécies fruteiras.....</i>	<i>471</i>

<i>Contributo para a caracterização de uma variedade de pêra tida como Portuguesa (Pyrus communis L.)</i>	478
<i>Composição da semente e caracterização do óleo de semente de maracujá, Passiflora edulis Sims edulis, proveniente de Portugal</i>	486
<i>Biotechnologia do medronheiro (Arbutus unedo L.): ensaios de cultura in vitro e hibridação</i> .	494
<i>Atividade antioxidante de polpa de maracujá, Passiflora edulis Sims edulis: comparação entre polpa fresca e comercial embalada</i>	500
<i>Avaliação do conteúdo fenólico e atividade antioxidante de suplementos alimentares baseados em frutas e frutos vermelhos</i>	508
<i>Caracterização físico-química e atividade antioxidante da casca de diferentes cultivares de romã produzidas em Espanha</i>	516
<i>Caracterização molecular de variedades regionais de macieira do Norte de Portugal</i>	523
<i>Estudo da diversidade genética de variedades regionais de macieira do Algarve (“Pêro de Monchique”)</i>	531
<i>Utilização da biotecnologia vegetal para a propagação e melhoramento do tamarilho (Cyphomandra betacea)</i>	538

Monda em macieira ‘Gala’ (*Malus domestica* Borkh.). Estudo de novas substâncias ativas¹

Catarina Rosário, Cristina Moniz Oliveira e Mariana Mota

DCEB, CEER, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa, catarina.rosario27@gmail.com, crismoniz@isa.ulisboa.pt, mariana@isa.ulisboa.pt

Resumo

No ano de 2013, estudou-se o efeito de monda de aplicações simples ou combinadas de 6-benziladenina (BA) (100 ppm), prohexadiona-cálcio (Pro-Ca) (50, 75 e 100 ppm) e giberelinas (GA₄₊₇) (5 e 10 ppm), em macieiras ‘Gala’, clone ‘Schniga’, sobre M9 e plantadas em 2011. A percentagem de abscisão mostrou diferenças significativas entre a monda manual (MM) (84%), BA (76%) e Pro-Ca_BA (63%), resultando em diferenças significativas na massa por fruto, MM (164,1 g), BA (142,6 g) e Pro-Ca_BA (127,3 g) e no número final de frutos em 10 corimbos por árvore, MM (0,87), BA (1,31) e Pro-Ca_BA (2,04). Comparando a MM e Pro-Ca_BA, foram obtidas diferenças significativas no calibre (mm) dos frutos, MM (71,7±0,65) e Pro-Ca_BA (60,9±0,62), no teor de sólidos solúveis (°Brix), MM (11,2) e Pro-Ca_BA (10,0) e nas cores, tanto de fundo como na cor vermelha. A MM e a BA revelaram diferenças significativas na forma do fruto, maiores diâmetros dos frutos, maior % de frutos com calibre > 70 mm (72% e 49% respetivamente), e melhores características de qualidade relativamente ao tratamento com Pro-Ca_BA. Os tratamentos Pro-Ca + GA₄₊₇ não foram eficazes como agentes de monda. O modelo de previsão de abscisão de frutos pequenos revelou-se preciso entre 13 e 20 dias após a plena floração (DAFP).

Palavras-chave: Abscisão, benziladenina, crescimento do fruto, monda química, prohexadiona-cálcio, GA₄₊₇

Abstract

In 2013, the thinning effect of single or combined applications of 6 - benzyladenine (BA) (100 ppm), prohexadione calcium (Pro-Ca) (50, 75 and 100 ppm) and gibberellins (GA₄₊₇) (5 and 10 ppm) in 'Gala' clone 'Schniga' grafted onto M9 and planted in 2011 was studied. The percentage of abscission showed significant differences between the hand thinning (MM) (84%), BA (76%) and Pro-Ca_BA (63 %), there were also differences in fruit weight, MM (164.1 g), BA (142.6 g) and Pro-Ca_BA (127.3 g) and in the final number of fruits in 10 clusters per tree, MM (0.87), BA (1.31) and Pro-Ca_BA (2.04). Comparing MM and Pro-Ca_BA treatments, significant differences in the fruit size (mm), MM (71.7 ± 0.65) and Pro-Ca_BA (60.9 ± 0.62), in the soluble solid content (°Brix), MM (11.2) and Pro-Ca_BA (10.0) and in colour were registered. The MM and BA revealed significant differences in fruit shape, and higher percentages of

¹ Este artigo resume a dissertação de Mestrado em Engenharia Agronómica (ISA/UTL) de Catarina Rosário. 2013. “Monda em macieira ‘Gala’ (*Malus domestica* Borkh.). Estudo de novas substâncias ativas”.

abscission, larger fruits, higher percentage of fruits >70 mm (72% and 49%, respectively), and better quality characteristics comparing with Pro-Ca_BA treatment. Pro-Ca + GA₄₊₇ applications had no significant effect as thinning agents. The prediction model of young fruitlets abscission proved accurate between 13 and 20 days after full bloom.

Keywords: Abscission, benzyladenine, chemical thinning, fruit grow, prohexadione-calcium, GA₄₊₇

Introdução

A maçã é um fruto de grande importância a nível mundial, tendo a sua produção vindo a aumentar ao longo dos anos, enquanto a produção nacional tende a diminuir desde 2011. A exigência por parte dos consumidores tem sido um facto determinante para a mudança de perspetivas, no que diz respeito à produção. Hoje em dia a qualidade começa a sobrepor-se à quantidade e para que seja possível oferecer produtos de elevada qualidade é necessário apostar na informação, formação e em técnicas que permitam obter produtos com as características desejadas pelos consumidores. A monda é uma importante técnica pois permite, reduzindo o número de frutos por árvore, melhorar significativamente a qualidade da produção. Tendo a monda química um efeito pouco seletivo e bastante variável, torna-se necessário prever a eficiência de cada aplicação de forma a prevenir cargas ou mondas excessivas. Assim sendo, modelos de previsão estão a ser estudados e no presente ensaio foi seguido um modelo que permite correlacionar a taxa de crescimento diária do volume dos frutos (log mm³/dia) com a percentagem de abscisão dos mesmos. De acordo com Schröder et al. (2013) o conhecimento sobre o modo de ação da benziladenina (BA) ainda é muito limitado. Segundo estes autores a abscisão de frutos em três cultivares de macieira ‘Golden Delicious’, ‘Elstar’ e ‘Jonagold’ coincidiu com uma diminuição, estatisticamente significativa, do transporte polar da auxina nos frutos e nos esporões após a aplicação de BA. De acordo com este modelo, a aplicação de substâncias retardadoras do crescimento como a prohexadiona-cálcio (Pro-Ca) em combinação com a benziladenina (BA) teria um efeito inibitório da abscisão. Por outro lado, Lafer (2013) numa comunicação oral do Grupo de Monda de Frutos da EUFRIN (European Fruit Research Institutes Network) apresentou novas combinações com eficácia de monda em macieiras, como a mistura de prohexadiona-cálcio com (GA₄₊₇). De acordo com este autor, a Pro-Ca bloqueia a biossíntese das giberelinas e as que ficam nos frutos atingem uma concentração supra ótima que induz a queda dos frutos.

Este trabalho, realizado em macieira ‘Gala’, clone ‘Schniga’ teve como objetivo estudar os seguintes efeitos: a eficiência da monda química após a aplicação de BA, a capacidade de diminuição da abscisão com a mistura de Pro-Ca e BA e verificar qual a relação entre a abscisão de frutos pequenos e a evolução da taxa de crescimento dos frutos.

Materiais e Métodos

O ensaio, realizado no ano de 2013, teve lugar num pomar de macieira ‘Royal Gala’, clone Schniga (*Malus domestica* Borkh.), com cerca de 1,46 ha, plantado no ano de 2011 na exploração Fazenda Nova, localizada na freguesia de Pero Moniz, Cadaval. As árvores encontram-se enxertadas em M9, distribuídas num compasso de 4,5 x 1,2 m em linhas com orientação Norte-Sul. O sistema de condução é o eixo central revestido e o pomar possui como polinizadora a macieira ‘Fuji’. O ensaio foi distribuído em 3 blocos, com 6 modalidades. Cada uma das modalidades foi constituída por 5 árvores, sendo as observações feitas nas 3 árvores centrais. A distribuição das modalidades em cada bloco foi aleatória. Em 10 corimbos por árvore efetuou-se a numeração dos frutos. A plena

floração ocorreu no dia 22 de Abril e o início da queda da pétala dia 24 do mesmo mês. O volume de calda a aplicar por árvore foi apurado através de um ensaio em branco, sendo gastos por modalidade (5 árvores), 3 L de água, o que corresponde a um débito de 1100 L/ha. No quadro 1 encontram-se as modalidades realizadas, as substâncias ativas e respectivas concentrações, datas de aplicação e o estado fenológico das árvores à data do tratamento. Na monda manual (MM) eliminaram-se todos os frutos do corimbo exceto o de maior tamanho, mantendo-se apenas um fruto por corimbo. A taxa de crescimento dos frutos marcados foi determinada através da variação do volume destes ao longo do tempo, com base na medição do maior diâmetro equatorial (d_1) de cada fruto. O registo dos diâmetros foi feito nas seguintes datas: 4 e 5 de Maio, 11 e 12 de Maio, 25 e 26 de Maio, 2 e 3 de Junho, 12 e 13 de Junho, 26 e 27 de Junho, 15 e 16 de Julho e 29 e 30 de Agosto. Foi feita ainda a medição do comprimento (cm) dos lançamentos dos corimbos previamente marcados e a contagem do número de folhas (20 e 21 de Maio) com mais de 2 cm na base do corimbo e nos lançamentos do mesmo. A colheita do ensaio teve lugar no dia 3 de Setembro. Os frutos de cada árvore foram colhidos separadamente para caixas devidamente identificadas. Seguidamente foi feita a contagem do número total de frutos por árvore e a determinação da produção unitária (kg/árvore). Para a análise qualitativa dos frutos retirou-se uma amostra aleatória de 10 frutos por árvore, isto é, 30 frutos cada modalidade e por bloco (total 540 frutos). Cada um foi posteriormente pesado, medido os seus diâmetros equatorial e longitudinal (mm), tendo sido ainda determinados o teor de sólidos solúveis (°Brix) com um refratómetro digital (ATAGO PR-32, Japão) a firmeza com um penetrómetro de bancada digital equipado com uma sonda de 11 mm (TR, Itália). Foram também avaliadas as cores de fundo e a intensidade de vermelho dos frutos através de uma carta de cores para maçã Gala (Ctifl, França) sendo que a cor de fundo pode variar desde o verde (1) ao amarelo (5), e a intensidade de vermelho, conforme o nível de maturação, vai ser menor (1) ou maior (5). A avaliação qualitativa foi feita no dia seguinte à colheita, 4 de Setembro de 2013. O tratamento dos dados foi feito através do programa Statistix 9.0 utilizando uma análise de variâncias (ANOVA) a um fator (tratamentos aplicados). De forma a identificar diferenças significativas entre os valores médios das variáveis, foi utilizado o teste de Tukey para $\alpha < 0,05$.

Resultados e Discussão

A percentagem de abscisão foi determinada com base no número de frutos existentes, ao longo do tempo, em cada corimbo marcado, sendo que a média do número de frutos decresce até estabilizar num valor correspondente à produção final. Ao observar a fig.1, é possível concluir que a BA é a substância ativa que provoca maior abscisão, com um valor médio da percentagem de abscisão de 76%.

Segundo Schröder et al. (2013), a mistura de Pro-Ca com BA, deve reduzir o efeito de monda da BA e aumentar o vingamento natural, dado o efeito da Pro-Ca como retardador de crescimento. Este facto foi confirmado no âmbito do presente ensaio, pois os dados obtidos relativamente à percentagem de abscisão mostram que a modalidade Pro-Ca_BA foi a que provocou menor abscisão. A explicação do modo de ação da BA, quando usado como agente de monda através do modelo da inibição do transporte polar da auxina, pode ser, de acordo com os resultados deste ensaio, indiretamente validado. As giberelinas influenciam o transporte polar das auxinas e trabalhos em várias espécies de plantas sugerem que as giberelinas promovem o transporte de auxina. Assim a aplicação de Pro-Ca ao diminuir as giberelinas endógenas poderá diminuir o transporte das auxinas reduzindo o efeito da BA, conforme Schoder et al. (2013) sugeriram. Em termos técnicos a utilização desta mistura de substâncias ativas pode revelar-se vantajosa em cultivares

pouco produtivas e cujo vingamento é baixo ou quando se registam condições meteorológicas adversas. A evolução do diâmetro equatorial dos frutos foi registada ao longo do tempo de forma a estabelecer as curvas de crescimento de cada modalidade. A modalidade MM registou os maiores diâmetros, pois quanto maior a taxa de abscisão menos intensa será a competição entre os frutos por fotoassimilados, tal como é defendido por Addicott (1982). À semelhança, frutos debilitados ou de vingamento tardio encontram-se em desvantagem. Assim sendo, como a modalidade MM manteve um fruto em cada corimbo, a carga foi muito reduzida, podendo motivar o desenvolvimento do diâmetro equatorial dos frutos desta modalidade. Na Pro-Ca_BA, verificou-se o efeito contrário, pois se a média da percentagem de queda para esta modalidade foi a menor, a carga de cada árvore nesta modalidade é maior, o que leva a uma maior competição entre os frutos. Esta competição vai-se refletir em frutos de menor calibre e sem interesse comercial. As aplicações de prohexadiona-cálcio (100 ppm e 50 ppm), juntamente com GA₄₊₇ (10 ppm e 5 ppm, respetivamente), não tiveram um efeito significativo na taxa de abscisão, não se verificando o mesmo resultado descrito por Lafer (2013) provavelmente devido a condições climáticas diferentes aquando da aplicação dos produtos (trabalho realizado em Graz, Áustria), data de aplicação, ratio Pro-Ca/GA, formulação dos produtos entre outros fatores.

Os parâmetros de qualidade normalmente considerados dependem em grande parte da quantidade de frutos por árvore. Ao reduzir a carga, a relação entre o número de frutos e folhas vai aumentar e desta forma há uma redução do poder *sink* inicial para o mesmo poder *source*. Segundo Cavaco et al. (2006) e Trillot et al. (1995), para a cultivar 'Gala', a colheita comercial deve ser iniciada quando a firmeza está compreendida entre 7 e 9 kg cm⁻² e o TSS entre 12 e 14 °Brix. Após o tratamento dos dados obtidos, constata-se que apenas a firmeza se encontra dentro dos parâmetros de qualidade supramencionados. No quadro 2 observa-se que a modalidade com os melhores resultados foi a MM com um TSS de 11,2 °Brix, maior massa do fruto (164,1 g), cor de fundo mais avançada (mais próxima de 5) e cor mais vermelha. Estes aspetos aparentam mostrar a existência de um maior avanço a nível da maturação em relação às outras modalidades, principalmente quando comparada com a Pro-Ca_BA, modalidade com a menor percentagem de abscisão, revelando parâmetros qualitativos mais desfavoráveis, nomeadamente menor TSS, menor massa individual do fruto, e cores menos desenvolvidas. Segundo Greene et al. (1992) e Wertheim et al. (2000), a aplicação de BA em macieira já mostrou, por várias vezes, aumentar o tamanho dos frutos, para além de melhorar o nível qualitativo, como a firmeza e o TSS. Apesar de esta modalidade não ter apresentado os valores mais próximos dos padrões comerciais, foi a que mais se aproximou da monda manual. Assumindo que a monda manual não é considerada uma técnica viável para a monda de frutos em pomóideas, devido ao seu elevado custo, a BA é a substância ativa que apresentou, neste ensaio, os resultados a nível de qualidade mais próximos da MM, apesar de significativamente diferentes entre si em todos os parâmetros.

A produtividade é o fator determinante do sucesso económico desta cultura. No entanto, não é este indicador que vai mostrar se as técnicas realizadas tiveram ou não efeito e se esses são ou não vantajosos, pois a monda não tem como objetivo aumentar a produtividade mas sim melhorar a qualidade dos frutos, a valorização destes e consequentemente a rentabilidade da cultura. O primeiro e principal efeito da monda no calibre final dos frutos expressa-se normalmente na redução do número de frutos de baixo calibre, e não no aumentar drasticamente o número de frutos de calibre elevado (Forshey & Elfving, 1977). A MM foi a modalidade cujas árvores foram sujeitas a menores cargas, como consequência, foi nesta modalidade que se encontrou a maior percentagem de frutos

na classe de calibre comercialmente mais valorizada (70 – 75 mm). Esta modalidade não apresenta ainda nenhum fruto com calibres inferiores a 55 mm. A maior frequência de calibres pequenos e sem qualquer valorização foi obtida na modalidade Pro-Ca_BA, possivelmente como consequência da baixa percentagem de abscisão registrada.

Segundo o modelo em estudo, poderá ser possível prever com uma relativa exatidão quais os frutos que tendem a sofrer abscisão e os que vão persistir na árvore. De forma a distinguir os vários frutos dentro de cada corimbo selecionado, estes foram numerados seguindo um critério em que o fruto correspondente ao número 5 apresenta o maior diâmetro, o fruto com número 1 ao segundo maior diâmetro com os números 2, 3, 4, 6 e 7, com diâmetros sucessivamente decrescentes. Apesar de este modelo ter como objetivo avaliar a eficácia da primeira aplicação das substâncias ativas de monda química, no presente trabalho foi feita uma correlação entre o logaritmo da taxa de crescimento em volume ($\log \text{ mm}^3/\text{dia}$), entre a primeira e a segunda medição (antes da aplicação dos produtos de monda), e a percentagem de queda para cada tipo de fruto (fig. 2). Esta correlação teve como objetivo fundamental perceber se os frutos com maior diâmetro (5, 1, 2) apresentam menor percentagem de abscisão, tal como seria de prever segundo o modelo. Os resultados obtidos mostram que, tal como já tinha sido referido anteriormente em relação à evolução do diâmetro equatorial, os frutos cujo desenvolvimento foi mais precoce, terão possivelmente um forte poder *sink*, quando comparado com frutos de menor tamanho ou debilitados, acabando por resistir mais à abscisão. Esta correlação pode ser útil quando realizada antes da tomada de decisão para a intervenção com agentes de monda, pois permitirá possivelmente avaliar a quantidade de frutos vingados e determinar a necessidade de monda. Numa situação em que existam muitos frutos com as características do fruto 7 (menor diâmetro), poderá não ser necessário proceder à monda pois a taxa de abscisão deverá ser muito elevada nesse tipo de frutos. Para o modelo ser um previsor da necessidade de um segundo tratamento de monda terá que se efetuar uma medição do diâmetro dos frutos de 3 em 3 dias após a aplicação dos produtos durante cerca de 15 dias.

Conclusões

Do presente trabalho foram retirados resultados referentes à utilização de várias substâncias ativas para a monda de macieiras da cultivar ‘Gala’, clone ‘Schniga’. As condições iniciais do ensaio foram consideradas homogêneas. A monda com BA é bastante eficaz para esta cultura e apresenta os resultados a nível produtivo e qualitativos mais próximos das exigências comerciais, sendo desta forma uma alternativa viável à monda manual. A monda manual, feita deixando um fruto por corimbo, é excessiva e torna a técnica ainda mais dispendiosa; apesar de poder levar a uma melhoria significativa da qualidade dos frutos, não é suportável a nível financeiro; As aplicações de prohexadiona-cálcio (100 ppm e 50 ppm), juntamente com GA₄₊₇ (10 ppm e 5 ppm, respetivamente), não revelaram ser combinações com efeito significativo de agentes de monda. A prohexadiona-cálcio em conjunto com a BA permitiu diminuir a percentagem de abscisão de frutos, o que foi de encontro com o objetivo inicial. Esta aplicação pode vir a ser bastante útil em cultivares alternantes ou cujo vingamento seja difícil. Perante as modalidades cuja percentagem de abscisão é maior, observaram-se melhores resultados qualitativos como o TSS, a massa média dos frutos (g) e cor. A separação dos vários frutos por classes de calibre também leva a crer que existe uma relação entre esta distribuição e a percentagem de abscisão, isto é, com a carga final. A utilização de modelos que permitam a previsão ou uma aproximação do número de frutos que vai efetivamente

sofrer abscisão pode vir a ser bastante vantajoso pois levam à redução da aplicação de substâncias químicas, à redução de gastos e menores riscos de monda excessiva.

Agradecimentos

Os autores desejam expressar o seu agradecimento ao proprietário do pomar onde decorreu o ensaio, João Duarte, à Ecofrutas na pessoa da Eng. Carla Fernandes e à Associação dos Produtores Agrícolas da Sobrena.

Referências

- Addicott, F.T. 1982. Abscission. University of California Press, Berkeley. 13 – 16 pp.
- Assaf, R., Levin, I. & Bravdo, B. 1982. Apple fruit growth as a measure of irrigation control. *Horticultural Science* 17: 59 – 61.
- Bregoli, A.M., Fabbroni, C., Vancini, R., Galliano, A. & Costa, G. 2006. Results obtained on the efficacy of 6-BA alone, and in combination with other thinning agents from different apple producing areas of northern Italy. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* 14: 23 – 38.
- Cavaco, M., Jordão, O. & Sousa, R. 2006. Produção Integrada da Cultura de Pomóideas. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Direcção-Geral de Protecção das Culturas, Oeiras
- Corelli Grappadelli, L. 2003. Light relations. In: Apples: Botany, Production and Uses. D.C. Feree, I. Warrington (eds.). USA. CAB International: 195-216.
- Forshey, C.G. & Elfving, D.C. 1977. Fruit numbers, fruit size, and yield relationships in ‘McIntosh’ apples. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 102: 399 – 402.
- Green, D.W., Autio, W.R., Erf, J.A. & Mao, Z.Y. 1992. Mode of action of benzyladenine when used as a chemical thinner on apples. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 117: 775 – 779.
- Schröder, M., Link, H. & Bangerth, K.F. 2013. Correlative polar auxin transport to explain the thinning mode of action of benzyladenine on apple. *Scientia Horticulturae* 153: 84 – 92.
- Silverstone, A.L., Mak, P.Y., Martinez, E.C., & Sun, T.P. 1997. The new RGA locus encodes a negative regulator of gibberellin response in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* 146: 1087–1099.
- Trillot, M., Masseron, A., Tronel, C. & Mathieu, V. 1995. Gala. Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes, Paris.
- Wertheim, S.J. 2000. Developments in the chemical thinning of apple and pear. *Plant Growth Regulation* 31: 85 – 100.
- Willige, B.C., Isono, E., Richter, R., Zourelidou, M. & Schwechheimer, C. 2011. Gibberellin Regulates PIN-FORMED Abundance and Is Required for Auxin Transport-Dependent Growth and Development in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell* 6: 2184-2195.

Quadro 1. Modalidades, substâncias ativas, concentrações e datas de aplicação.

Substância Ativa	Concentração (ppm)	Data de Aplicação/Operação			
		24/04	13/05	20/05	12/06
BA	100		X		
2 x Pro-Ca_BA	100+75+100	X	X	X	
Pro-Ca + GA ₄₊₇	100 + 10		X		
Pro-Ca + GA ₄₊₇	50 + 5		X		
Não monda					
Monda Manual					X

24/04 – queda da pétala, 13/05 – vingamento, 20/05 – frutos com 10-12 mm de diâmetro, 12/06 – antes da queda de junho.

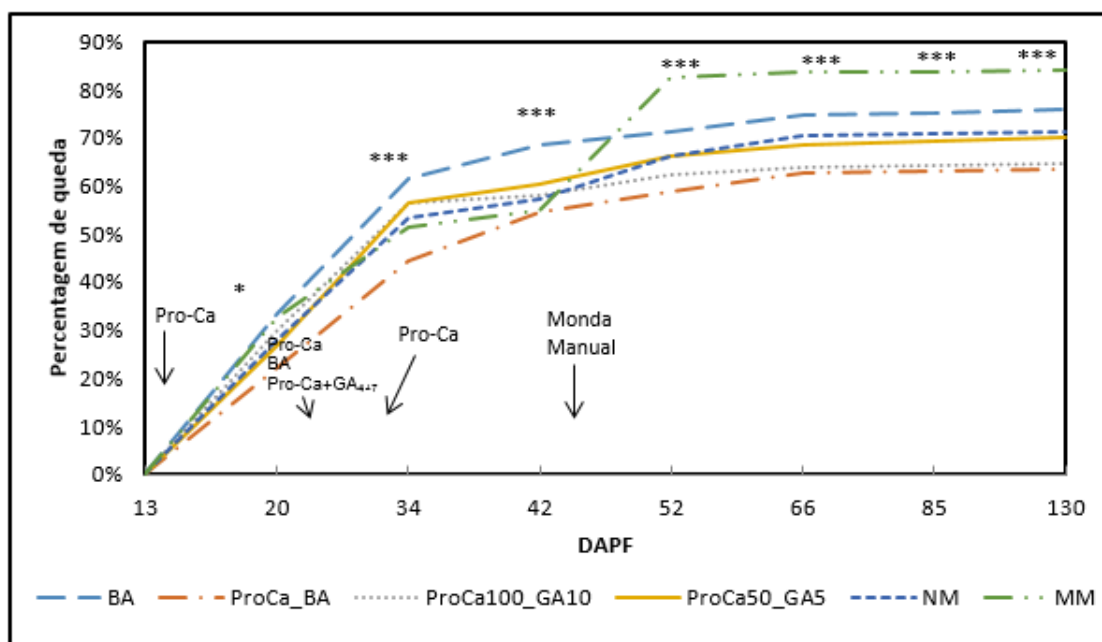


Figura 1. Percentagem de queda ao longo dos vários dias após a plena floração (DAPF). * e *** indicam diferenças significativas a $P \leq 0,05$ e significativas a $P \leq 0,001$, respectivamente. N = 90 frutos por tratamento.

Quadro 2 - Análises qualitativas: média da firmeza (kg cm^{-2}), média do teor em sólidos solúveis ($^{\circ}\text{Brix}$), média da massa média por fruto (g), média da cor de fundo e cor vermelha e média da forma (razão entre o diâmetro longitudinal/diâmetro equatorial). Dados obtidos a 04/09/2013. EPM – erro padrão da média. Nível de significância P ou n.s. não significativo, de acordo com a análise de variância (ANOVA). Médias seguidas pela mesma letra não são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($\alpha \leq 0,05$).

Modalidade	Firmeza (kg cm^{-2})	TSS ($^{\circ}\text{Brix}$)	Massa fruto (g)	Cor de Fundo	Cor Película	Forma
BA	8,21	10,5 b	142,56 b	2,0 bc	2,3 ab	0,85 b
2x Pro-Ca_BA	8,40	10,0 c	127,23 c	1,6 c	2,0 b	0,88 ab
Pro-Ca100_GA10	8,04	10,2 bc	131,21 bc	1,9 bc	2,0 b	0,90 a
Pro-Ca50_GA5	11,86	10,4 b	142,01 b	1,9 bc	2,4 ab	0,88 ab
NM	8,05	10,4 b	129,93 bc	2,0 ab	2,5 a	0,87 ab
MM	8,05	11,2 a	164,10 a	2,4 a	2,7 a	0,89 a
Média	8,77	10,5	139,51	2,0	2,3	0,88
EPM	1,479	0,083	3,389	0,104	0,107	0,009
Prob. P	ns	0,000	0,000	0,000	0,000	0,003

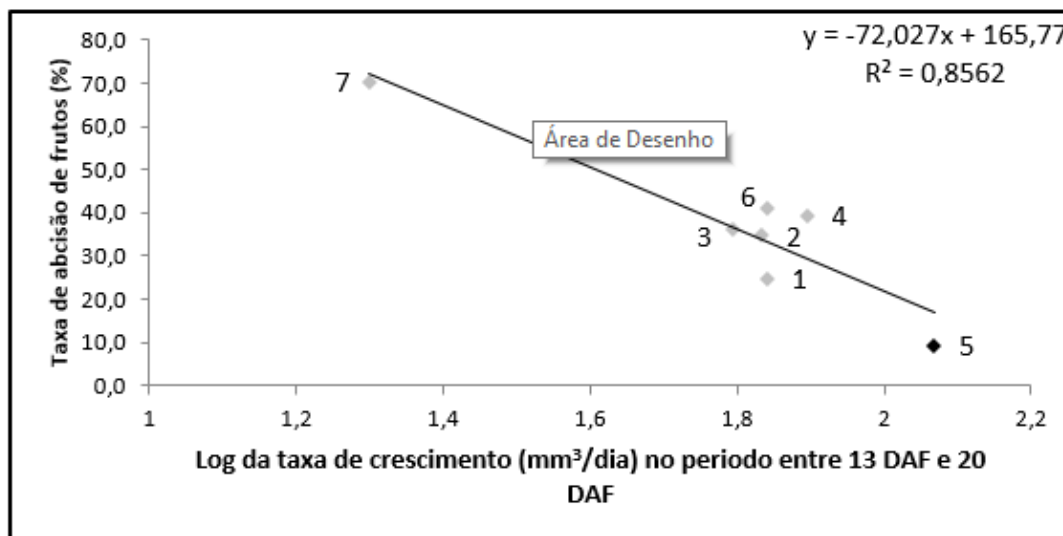


Figura 2. Relação entre o Log da taxa de crescimento (mm^3/dia) entre o período de 13 e 20 DAF e a percentagem de abscisão dos frutos. $P=0,003$

Utilização de vários agentes de monda química em macieira, em período pré-floral, floral e pós-floral, numa utilização isolada ou sequencial, nas variedades ‘Lysgolden’, ‘Golden Smothee’, ‘Royal Gala’ e ‘Fuji’

Carlos Silva¹

¹Agrosafety Lda, Rua Fernando Pessoa nº 71, 4420-143 Gondomar, agrosafety@gmail.com

Resumo

A monda química de frutos é uma das práticas culturais mais relevantes na produção de maçã, promove a qualidade dos frutos, a diferenciação floral e reduz os encargos com a monda manual. Os agentes de monda, são normalmente aplicados antes da floração, durante a floração ou no período pós floral. Pretende-se com este trabalho, apresentar os resultados obtidos no triénio de 2008 a 2010, proveniente da realização de um total de seis ensaios, na cultura da macieira e na região da Beira-Alta, nas variedades: ‘Lysgolden’ (3 ensaios, 2008/09/10), ‘Golden Smothee’ (1 ensaio, 2009), ‘Royal Gala’ (1 ensaio, 2009) e ‘Fuji’ (1 ensaio, 2010). As bases de avaliação dos ensaios de monda química de frutos, incidiu na contagem de corimbos num determinado número de pernadas antes da floração, a sua marcação e contagem posterior do número de frutos vingados, no período estival e à colheita, Deu-se especial atenção à avaliação dos calibres dos frutos nas pernadas previamente marcadas. Ao longo deste triénio procedemos à utilização de agentes químicos de monda menos conhecidos por parte de técnicos e agricultores, como é o caso do tiosulfato de amónio no período de floração, o metamitrão em período pós floral ou o etefão em prefloração, mas estes nem sempre permitiram ultrapassar a falta do carbaril nas estratégias de monda, particularmente nas variedades de mais difícil monda (Royal Gala e Fuji).

Palavras-chave: Tiosulfato de Amónio, Ácido Naftalenoacético (ANA), Benziladenina, Etefão, Metamitrão.

Abstract

Isolated or sequential use of various chemical thinning agents in the Lysgolden, Golden Smothee, Royal Gala, and Fuji cultivars of apples during the pre-bloom, bloom and post-bloom periods.

Chemical thinning of fruits is one of the most important cultural practices in apple production. It promotes fruit quality and flower differentiation and reduces the costs associated with manual thinning. Thinning agents are usually applied before, during or after bloom. Here we present the results obtained in six trials conducted over a period of three years, between 2008 and 2010, in apple crops in the region of Beira-Alta, using the following cultivars: Lysgolden (3 trials, 2008/09/10), Golden Smothee (1 trial, 2009), Royal Gala (1 trial, 2009), and Fuji (1 trial, 2010). The assessment of chemical fruit thinning in these trials consisted in counting the corymbs of a certain number of plants before bloom, marking them, and subsequently counting the fruits, during the summer period and during the harvest. The size of the fruits in the previously marked plants was specifically evaluated. Throughout this three-year period we used chemical thinning agents that are less well-known by technicians and farmers, such as ammonium thiosulphate during the bloom period, metamitron during the post-bloom period, and etephon during the pre-bloom period; however, these agents were not always able to compensate the

absence of carbaryl in the thinning strategies, particularly in the cultivars that are more difficult to thinning (Royal Gala and Fuji).

Keywords: Ammonium Thiosulphate (ATS), Naphthalene acetic acid (NAA), Benzyladenine (BA), Etephon, Metamitron.

Introdução

A monda química de frutos é executada para remover o excessivo número de frutos, sendo uma das técnicas mais eficazes para melhorar o tamanho dos frutos, a qualidade e a cor dos frutos à colheita, incrementando a floração no ano seguinte e consequentemente reduzir a alternância da produção (Yuan, 2006; Basak, 2011), minorando desta forma os encargos com a monda manual, técnica habitual e normalmente necessária para complementar a primeira. Recentemente, agentes de monda com capacidade para inibição da atividade fotossintética têm sido testados (Basak, 2011). Tais métodos introduzem novas possibilidades para regulação da frutificação (Widmer, 2007; Kelderer et al., 2008). Dois desses compostos, terbacil e metamitrão, conhecidos pela atividade de inibição da fotossíntese, foram usados com sucesso para a monda de macieiras e pessegueiros (Byers et al., 1990; Dorigoni & Lezzer, 2007). Os agentes de monda química de frutos, podem ser aplicados antes da floração, durante a floração ou no período pós floral. A utilização de monda química de frutos é uma técnica habitual, mas em Portugal é essencialmente aplicada em período pós-floração, sendo utilizada com alguma regularidade apenas o ácido naftaleno acético e mais recentemente a benziladenina homologada em Portugal. Com este propósito, decidimos executar uma série de 6 ensaios no período de 2008 a 2010, na cultura da macieira e na região da Beira-Alta, nas variedades: 'Lysgolden' (3 ensaios, 2008/09/10), 'Golden Smothee' (1 ensaio, 2009), 'Royal Gala' (1 ensaio, 2009) e 'Fuji' (1 ensaio, 2010), tendo sido aplicados os produtos químicos mais frequentemente utilizados em Portugal (ANA e 6-BA) e outros que possuem ação cáustica sobre flores como o tiosulfato de amónio (TSA), ou que interferem na atividade fotossintética como é o caso do herbicida metamitrão (MM).

Material e Métodos

O Ensaio 1 (Lysgolden - 2008) decorreu em 2008 na localidade de Granja dos Oleiros (Moimenta da Beira), em macieiras da variedade 'Lysgolden' com 9 anos de idade, enxertadas no porta-enxerto EMLA 9. As árvores selecionadas eram homogêneas relativamente ao vigor, à intensidade de floração, tendo sido selecionadas duas linhas, com 3 árvores para cada tratamento. O compasso de plantação é de 4,5m x 2m. Em média foram gastos 1,0 a 1,2 L de calda por árvore, para assegurar uma pulverização uniforme mas sem escorrimento. A pulverização foi efetuada sempre com recurso a um atomizador dorsal Stihl SR420, à pressão de 1,6 bar e com bico 1.0 que proporciona a formação de gotas finas (200 a 500 µm). As mesmas árvores foram utilizadas para o ensaio 2 e 3 no decurso dos anos 2009 e 2010, respetivamente. Os ensaios foram realizados segundo o delineamento de blocos completos aleatórios, com parcelas elementares de 3 árvores e 4 repetições, existindo uma modalidade testemunha sem aplicação de monda química.

Os métodos de monda testados, envolveram a aplicação de ácido naftaleno acético em aplicação simples aos 8/10 mm do fruto central na madeira de 2 anos, ou a sua aplicação 8 dias mais tarde em mistura com carbaril aos 10/12 mm do fruto central (quadro 1). Foram testados ainda a benziladenina no mesmo momento em aplicação simples e a aplicação de etefão aos 14mm de diâmetro do fruto central. Como comparação executamos uma modalidade com ausência de monda química de frutos, mas apenas e só

duas passagens de monda manual realizadas a 17 de Junho e a 30 de Julho, tendo-se procedido à retirada de 80 e 48 frutos por árvore, respetivamente com o objetivo de deixar 2 frutos por corimbo. Os efeitos no vingamento dos frutos foram determinados, recorrendo à determinação dos seguintes parâmetros: determinação do número de inflorescências em 4 pernadas marcadas em cada árvore (antes da floração), medição da seção da perna na base de inserção junto ao tronco (ASR), contagem e medição dos calibres de todos os frutos da perna previamente marcada em Junho ou Julho e à colheita, e ainda determinação na primavera seguinte do número de inflorescências de cada perna.

Ensaio 2 (Lysgolden – 2009), a metodologia seguida foi a mesma, mas retiramos a modalidade com monda manual de frutos e decidimos utilizar outros agentes de monda em alguns programas, nomeadamente o tiosulfato de amónio (TSA) e a amida do ácido naftaleno acético (NAD), em período de floração (quadro 2).

Ensaio 3 (Lysgolden – 2010), com a mesma metodologia do ano anterior, decidimos introduzir em algumas modalidades a aplicação em período pré-floral do etefão (quadro 3), na fenologia de botão branco (E3). Além disso incluímos o herbicida metamitrão a um dos programas de monda.

Ensaio 4 (Golden Smothee – 2009), decorreu em 2009 na localidade de Beira-Valente (Moimenta da Beira), em macieiras da variedade Golden Smothee com 5 anos de idade enxertadas no porta-enxerto Pajan 2. As árvores selecionadas eram homogéneas, relativamente ao vigor, à intensidade de floração, foram selecionadas quatro linhas, com 4 árvores para cada tratamento. O compasso de plantação é de 4,0m x 1,5m. Em média foram gastos 0,8 a 1,0 L de calda por árvore, para assegurar uma pulverização uniforme mas sem escorrimento. Neste ensaio comparamos numa única aplicação, aos 12 mm de diâmetro do fruto central na madeira de dois anos, a utilização de três tipos de benziladenina (quadro 4), sendo que a duas delas foi adicionado metamitrão, para avaliar algum eventual melhoria de eficácia na monda. Na modalidade testemunha deste ensaio, foi executada uma monda manual tardia no dia 3 de Agosto, dado o reduzido calibre que a maçã apresentava à semelhança do realizado pelo agricultor. Na data de início do ensaio não foi possível contabilizar o número de corimbos de forma a poder avaliar a taxa de vingamento atendendo ao nº de frutos por corimbo. Neste ensaio procedeu-se a avaliação do calibre médio por modalidade em 6 datas distintas. Procedeu-se igualmente à determinação do conteúdo em clorofila com recurso a Minolta Spad 502 em amostras de 40 folhas por repetição.

Ensaio 5 (Cv. Gala – 2009), decorreu em 2009 na localidade de Antas (Sernancelhe), em macieiras da cultivar Gala com 5 anos de idade enxertadas em M9. As árvores selecionadas eram homogéneas, relativamente ao vigor, à intensidade de floração, foram selecionadas quatro linhas, com 4 árvores para cada tratamento. O compasso de plantação é de 4,5m x 2,0m. Em média foram gastos 0,8 a 1,0 L de calda por árvore, para assegurar uma pulverização uniforme mas sem escorrimento. Neste ensaio foi comparada a aplicação de diferentes formulações de benziladenina numa única aplicação (quadro 5), com a aplicação isolada do metamitrão ou uma sequência de duas passagens deste último. Neste ensaio foi efetuada apenas uma avaliação da taxa de vingamento e medição dos calibres, em virtude da sua colheita antecipada. Procedeu-se também a uma determinação do conteúdo em clorofila.

Ensaio 6 (Fuji – 2010), decorreu em 2009 na localidade de S. Romão (Armamar), em macieiras da variedade Fuji Nagafu, com 6 anos de idade enxertadas em M9. As árvores selecionadas eram homogéneas, relativamente ao vigor, à intensidade de floração, foram selecionadas três linhas, com 5 árvores para cada tratamento. O compasso de plantação, volume de calda é igual ao ensaio 1. Neste ensaio comparamos a aplicação

precoce de etefão em prefloração, seguida de metamitrão ou benziladenina (quadro 6), com a utilização em pós-floração de metamitrão seguida da benziladenina. Para além dos parâmetros anteriormente referidos para os outros ensaios, foram também avaliados aspetos qualitativos como o grau Brix, a rigidez da polpa, o nº de sementes e o peso médio dos frutos.

Os resultados dos ensaios foram analisados estatisticamente com recurso ao software ARM, utilizando uma análise de variância e o teste Student-Newman-Keuls ao nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

Ensaio 1 (Lysgolden, 2008), o melhor resultado na monda de frutos foi obtido na modalidade 3, em que se procedeu à mistura de ANA com carbaril, sendo o único tratamento a apresentar diferenças estatísticas significativas comparativamente à testemunha não tratada (quadro 7) e simultaneamente às modalidades 5 (etefão pós vingamento) e 6 (monda manual). Relativamente ao calibre dos frutos, os maiores diâmetros médios, foram registados com a aplicação da mistura de ANA com carbaril (Mod. 3), apresentado resultados com diferenças estatísticas significativas, comparativamente às restantes modalidades tratadas e não tratadas, à exceção da modalidade 4 (benziladenina). A modalidade 5 (etefão a 14 mm do fruto central), apesar dos fracos resultados no que respeita a monda de frutos, foi a que mais incrementou a diferenciação floral do ano seguinte, sem contudo se registarem diferenças estatísticas significativas.

Ensaio 2 (Lysgolden, 2009), relativamente ao calibre (quadro 8), o melhor resultado foi verificado na modalidade 5 (ANA e carbaril). No entanto, não se verificaram diferenças estatísticas significativas comparativamente à testemunha não tratada e restantes modalidades tratadas, à exceção da modalidade 2 (TSAx2; 6-BA) que registou o pior diâmetro de frutos do ensaio. A modalidade 6 (ANA+6-BA+óleo), permitiu obter resultados próximos aos verificados na modalidade 5 ao nível do calibre, sendo contudo os melhores resultados ao nível da taxa de vingamento. Hong Zhu (2010) considera a benziladenina como um agente de monda ligeiro e refere que as suas misturas com ANA e carbaril, são muitas vezes utilizadas para a obtenção do máximo efeito. A modalidade 2 (TSA; 6-BA) apresentou a menor eficácia ao nível da redução da taxa de vingamento e resultados inferiores à aplicação consecutiva de TSA em 3 tratamentos, registando-se inclusivamente um calibre médio dos frutos pior que a testemunha não tratada, embora sem diferenças estatísticas significativas. Os piores resultados obtidos na modalidade 2, comparativamente à modalidade 3 (TSAx3) em todos os parâmetros analisados, permitem pressupor que a oportunidade de tratamento com a benziladenina não foi a melhor, pois esta modalidade que envolveu 3 aplicações de TSA, apresentou maior fitotoxicidade e ainda assim melhores resultados. A modalidade 2 (TSA; 6-BA) e 4 (NAD; ANA+6-BA), não se diferenciaram da testemunha não tratada nem das restantes modalidades tratadas. Todas as modalidades com monda química e monda manual de frutos apresentaram maior diferenciação floral comparativamente à testemunha, sem contudo se verificarem diferenças estatísticas significativas.

Ensaio 3 (Lysgolden, 2010), o melhor calibre dos frutos foi verificada à colheita (16/09/2010) com a aplicação sequencial e precoce de etefão (fenologia E₃), seguida de ANA (fenologia J-10mm) e terminada com metamitrão (fenologia J-12mm). Todas as modalidades com monda apresentaram diferenças estatísticas significativas comparativamente à testemunha não tratada (quadro 9). A 22 de Julho, nenhuma das modalidades mondadas quimicamente, apresentava diferenças estatísticas significativas

ao nível do calibre, sendo o maior diâmetro médio dos frutos, aquele que se verificava com a modalidade 5 (Etefão;ANA;MM). A taxa de vingamento, atendendo à área da secção do ramo ASR, apresentou diferenças estatísticas significativas comparativamente à testemunha não tratada, nos dois momentos de avaliação (22 de Julho e 16 de Setembro). A menor carga de produção foi verificada na modalidade 5, sem que contudo se verificassem diferenças estatísticas significativas, entre modalidades tratadas com agentes químicos de monda. Esta modalidade apresentou inclusivamente o peso médio dos frutos mais elevado, tendo revelado diferenças estatísticas significativas, comparativamente à testemunha e às modalidades 2 e 3, ambas mondadas com TSA, ANA e benziladenina. A menor taxa de vingamento expressa em frutos por corimbo, foi verificada na modalidade 4 (Etefão E₃; ANA 10mm; 6-BA 12mm), que registou 1,9 frutos por corimbo, logo seguida da modalidade 5, com 1,98 frutos por corimbo. Todas as modalidades tratadas quimicamente, apresentaram diferenças estatísticas significativas, comparativamente à testemunha não tratada ao nível da taxa de vingamento, sem apresentarem diferenças estatísticas significativas entre si, em qualquer dos dois momentos avaliados (22 Jul e 16 Set). Os resultados observados, permitiram diferenciar como mais vantajosos os programas iniciados com etefão em prefloração, complementados com ANA e 6-BA ou ANA e metamitrão. A modalidade 6 (NAD;ANA+6-BA+óleo) com 2 passagens de monda química, também revelou ser uma alternativa interessante, atendendo ao menor número de passagens com o trator, à facilidade em obter as s.a. utilizadas no mercado nacional e os resultados muito próximos dos obtidos com a modalidade 5 e 4 em particular. As modalidades 4 e 5 que iniciaram o ciclo de mondadores químicos com o etefão, proporcionaram maior diferenciação floral, sem contudo se verificarem diferenças estatísticas significativas comparativamente à testemunha.

Ensaio 4 (Golden Smothee, 2009), com a realização deste ensaio, foi possível observar um incremento de eficácia com a mistura da benziladenina com o ANA, em caso de adição do metamitrão, ao nível da monda de frutos que se repercutiu no calibre dos frutos, em todas as avaliações realizadas após a aplicação do agente de monda. Contudo, apenas foram observadas diferenças estatísticas significativas na avaliação efetuada 4 semanas antes da colheita (3/9), não se registando diferenças entre modalidades tratadas (quadro 10). O incremento de eficácia está provavelmente associado a uma maior interferência na atividade fotossintética, tendo-se verificado que as modalidades 3 (6-BA+ANA+MM) e 4 (6-BA+ANA+MM) apresentam menores conteúdos de clorofila nas folhas, 3 semanas após a sua aplicação. Na avaliação realizada à colheita, o calibre médio dos frutos da testemunha recuperaram um pouco, comparativamente à utilização da monda química, consequência da realização da monda manual tardia severa, deixando 1 ou 2 frutos por corimbo.

Ensaio 5 (Gala, 2009), com a realização deste ensaio, verificamos que as diferentes formulações de benziladenina à exceção da modalidade 5, em mistura com o ANA, apresentam eficácias na monda superiores às registadas com a aplicação simples de ANA (mod. 6), sem que se verificassem diferenças estatísticas significativas, entre a aplicação simples de ANA e a sua mistura com benziladenina (quadro 11). A aplicação de metamitrão numa única passagem (350 mg L⁻¹), ou em duas passagens (250; 200 mg L⁻¹), apresentam diferenças estatísticas significativas comparativamente à testemunha não tratada, à modalidade de monda manual, à aplicação de ANA simples e algumas das misturas de ANA+benziladenina. Contudo, proporcionaram uma monda muito severa associada a elevados sintomas de fitotoxicidade. Deckers et al., (2010), referem que na variedade Elstar a dose de 175 mg L⁻¹ não causa praticamente danos, mas a dose mais alta de 350 mg L⁻¹ causa alguma queima nos rebordos laterais da folha. A avaliação de

clorofila apenas foi inferior na modalidade tratada com metamitrão, apresentando diferenças estatísticas significativas comparativamente aos outros tratamentos. A análise de calibre revelou que apenas a modalidade tratada uma vez com metamitrão a 350 mg L⁻¹ (mod. 7), apresentou diferenças estatísticas significativas comparativamente à testemunha, à monda manual e alguns tratamentos químicos. Será conveniente frisar, que qualquer das modalidades tratadas com metamitrão proporcionou uma monda extremamente violenta e antieconômica, tendo já sido referenciado que com boas condições atmosféricas duas aplicações de metamitrão (350 mg L⁻¹) proporcionaram uma boa ação de monda em cultivar Gala Must, enquanto num ano diferente na mesma variedade, mas com piores condições atmosféricas na floração, uma única aplicação proporcionou boa monda e duas aplicações causaram excesso de monda (Basak, A 2011).

Ensaio 6 (Fuji, 2010), relativamente à eficácia da monda verificada com este ensaio na variedade Fuji nagafu, verificamos que as modalidades 2 (Etefão;MM;6-BA) e 4 (Etefão;6-BA+óleo), apresentaram diferenças estatísticas significativas em todos os parâmetros analisados, à exceção dos que se relacionam com a qualidade, nomeadamente a rigidez e o nº de sementes (quadro 12). Estas modalidades, apresentaram um calibre médio muito acima da testemunha não tratada, mas com a ocorrência de uma monda exagerada. Apesar de se tratar de um programa de diferentes mondadores, o principal responsável pela excessiva monda nesta variedade, terá sido a dose de 480 mg L⁻¹, associado às baixas temperaturas nos dias seguintes à aplicação, condicionaram obtenção de bons resultados, devido à ocorrência do fenómeno de abscisão das inflorescências pela sua base. Já foi referenciado que temperaturas médias reduzidas nos 4 dias seguintes à aplicação, proporcionam uma maior eficácia do etefão, quando aplicado em prefloração (Anónimo, 2009). Paralelamente as modalidades 3 (MM;6-BA+óleo) e 5 (MM;6-BA+óleo), que envolviam a utilização de metamitrão à concentração de 200 e 350 mg L⁻¹ respetivamente, seguidas de benziladenina e Óleo de verão, pautaram-se por uma monda manifestamente insuficiente, tal como já havia sido verificado com uma única aplicação de metamitrão a 350 mg L⁻¹ (Dorigoni & Lezzer, 2007) nesta variedade, no entanto apesar disso, a monda da modalidade 5, conduziu a um calibre dos frutos ligeiramente superior comparativamente à testemunha não tratada, ainda que sem diferenças estatísticas significativas. Todas as modalidades mondadas quimicamente incrementaram a diferenciação floral no ano seguinte, mas só as modalidades 2 e 4, apresentaram diferenças estatísticas significativas.

Conclusões

Em anos de forte floração na variedade Fuji, uma única aplicação de metamitrão à dose de 350 mg L⁻¹, não é suficiente para a obtenção de bons resultados nesta cultivar, mesmo que se usem outros agentes de monda posteriormente. No entanto, um trabalho realizado neste mesmo ano em Portugal na região do Oeste, proporcionou segundo a autora um excesso de monda quando utilizada esta concentração em árvores com menor carga de floração (Fernandes, 2010). O etefão será a nosso ver um produto de eleição, para uma cultivar rebelde como a Fuji, mas a dose deverá ser inferior à atualmente utilizada na experimentação (480 mg L⁻¹), sendo a fase de botão branco a mais oportuna para a sua utilização.

A utilização de metamitrão no grupo Gala deverá envolver particular cautela, pois uma única aplicação proporcionou-nos monda excessiva. A utilização de etefão no grupo golden, não sendo absolutamente necessária, poderá ser uma opção interessante, em anos de forte floração e que se prevejam condições atmosféricas favoráveis a fortes vintamentos, dada a ausência de possibilidade de utilização atual do carbaril.

O monodador tiosulfato de amônio apresenta resultados inconstantes, de difícil posicionamento em florações escalonadas, justifica normalmente a necessidade de várias passagens, ficando onerosa a sua aplicação devido ao custo do produto e mão-de-obra requerida para a sua aplicação.

A utilização da mistura de benziladenina com ácido naftaleno acético, está amplamente referenciada como possuindo efeito sinérgico, no nosso caso a adição de óleo de Verão (0,25 a 0,3%) à mistura anteriormente referida, proporcionou maior consistência à sua ação nas variedades do grupo Golden.

Agradecimentos

Agradecemos particulares aos agricultores que nos permitiram a disponibilização das parcelas, concretamente o Sr. Orlando Lemos (Granja dos Oleiros), Engº António Tojal (Beira-Valente), Sr. Fernando Paiva (Antas), Sr. Maurício (S. Romão). Agradecemos ainda ao Eng.º José Cardoso (SOMA) e Eng.º José Silva (Agrosafety Lda) que connosco colaboraram nas avaliações realizadas.

Referências

- Anónimo, 2009. Éclaircissage du pommier – Utilisation et facteur de variation du PRM 12[®] RP (120g L⁻¹ d'éthéphon). Infos-Ctifl n° 250 : 40-43.
- Basak, A. 2011. Efficiency of fruitlet thinning in apple “gala must” by use of metamitron and artificial shading. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research. Vol. 19(1): 51-62.
- Deckers, T., Schoofs, H. & Verjans, W., 2010. Looking for Solutions for Chemical Fruit Thinning on Apple. Proc. XIth IS on Plant Bioregulators in Fruit Production. Acta Hort. 884, p. 237-243.
- Dorigoni, A. & Lezzer, P. 2007. Chemical thinning of apple with new compounds. Erwerbs-Obstbau 49 (3): 93-96.
- Fernandes, C. 2010. Monda em Macieira “Fuji” comparação entre novas substâncias químicas e a monda manual. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Agronómica, ISA – UTL: 67pp.
- Zhu, H. 2010. Investigation of regulatory mechanisms of chemical mediated Fruit Thinning in Apple (*Malus x domestica* Borkh.). Doctoral Dissertation, Winchester Virginia (2010): 94pp.

Quadros e Figuras

Quadro 1 – Produtos utilizados no ensaio 1 e circunstâncias de utilização

Ensaio 1 Lysgolden/2008	Data	Diâmetro Frutos	Nome comercial	% substância ativa	Concentração (ppm)
1 - Testemunha					
2 - ANA	12/5	8-10 mm	Rodhifix	1%	15
3 - ANA+Carbaril	16/5	10-12 mm	Rodhifix+Visene	1%; 50%	15; 100
4 - Benziladenina	16/5	10-12 mm	Exilis	1,9%	100
5 - Etefão	21/5	14 mm	Etefão Sapec	48%	400
6 - Monda manual	17/6; 30/7	33; 50 mm			

Quadro 2 – Produtos utilizados no ensaio 2 e circunstâncias de utilização

Ensaio 2 Lysgolden/2009	Data	Diâm.Frut Fenolog.	Nome comercial	substância ativa (%)	Conc. mg L ⁻¹
1 - Testemunha					
2- TSAx2;6-BA	1/4; 8/4; 9/5	F; F2+5d;13mm	TSA-Sigma; Exilis	99%; 1,9%	10000; 100
3 - TSAx3	1/4, 8/4, 19/4	F; F2+5d; H	TSA-Sigma	99%	10000
4 - NAD; ANA+6-BA	8/4; 27/4	F2+5d; 6,5mm	Amid-Thin; Rhodofix+Exilis	8,4%; 1%+1,9%	50; 10+100
5 - ANA	1/5; 9/5	8mm; 13- 14mm	Rhodofix;Visene	1%; 50%	10; 750
6 - ANA + 6-BA + Óleo de verão	9/5	13-14 mm	Rhodofix+Exilis Soleol	1%; 1,9% 80%	10; 100 1700

Quadro 3 – Produtos utilizados no ensaio 3 e circunstâncias de utilização

Ensaio 3 Lysgolden/2010	Data	Diâm.Frut Fenolog.	Nome comercial	substância ativa (%)	Conc. mg L ⁻¹
1 - Testemunha					
2 - TSA; ANA; 6-BA ref.1	25/4; 7/5;26/5	G (85%F2); 5; 15mm	TSA-Sigma; Rhodofix; n.a.	99%;1%; 5%	10000; 15; 100
3 - TSA; ANA; 6-BA ref.2	25/4; 7/5;26/5	G (85%F2); 5; 15mm	Ger-ATS LG; Rhodofix; n.a.	-; 1%; 5%	10000; 15; 100
4 - Etefão; ANA;6-BA	19/4; 7/5;26/5	E3; 5 mm; 15 mm	Etefão Sapec; Rhodofix; Exilis	48%; 1%; 1,9%	400; 15; 100
5 - Etefão; ANA; MM	19/4;7/5;26/5	E2-E3; 5; 15 mm	Etefão Sapec; Rhodofix; Goltix	48%; 1%; 70%	300; 15; 350
6 - NAD; ANA; 6-BA+Óleo	26/4;7/5; 26/5	F2+4d; 5; 15 mm	Amid-Thin; Rhodofix; Exilis+Soleol	8,4%;1%; 1,9%+80%	50; 11; 50+2500

Quadro 4 – Produtos utilizados no ensaio 4 e circunstâncias de utilização

Ensaio 4 Golden Smothee/2009	Data	Diâmetro Frutos (mm)	Nome comercial	% substância ativa	Conc. mg L ⁻¹
1 - Test. + monda manual					
2 - Benziladenina+ANA	1/5	12	Exilis	1,9%	100;10
3 - Benziladenina+ANA + Metamitrão	1/5	12	n.a. Goltix	5% 70%	100;10 150
4 - Benziladenina+ANA + Metamitrão	1/5	12	n.a. Goltix	5% 70%	100;10 150

Quadro 5 – Produtos utilizados no ensaio 5 e circunstâncias de utilização

Ensaio 5 “Gala”/2009	Data	Diâm.Frut Fenolog.	Nome comercial	substância ativa (%)	Conc. mg L ⁻¹
1 – Monda manual	11/07	42 mm	-	-	-
2 – ANA+6-BA	27/05	11 mm	Rhodofix; Exilis	1%;1,9%	10; 100
3, 4, 5 – ANA+6-BA	27/05	11 mm	Rhodofix; n.a.	1%; 5%	10; 100
6 - ANA	27/05	11 mm	Rhodofix	1%	10
7 - Metamitrão	26/05	11 mm	Goltix	70%	350
8 - Metamitrão	18/5;26/5	8;11 mm	Goltix	70%	250; 200

n.a. – não se aplica, 6-BA ref. 1, 6-BA ref. 2 e 6-BA ref. 3, respetivamente

Quadro 6 – Produtos utilizados no ensaio 6 e circunstâncias de utilização

Ensaio 6 Fuji/2010	Data	Diâm.Frut Fenolog.	Nome comercial	substância ativa (%)	Conc. mg L ⁻¹
1 - Testemunha					
2 – Etefão;MM;6-BA+óleo de Verão	11/4;15/5;20/5	E ₃ ;10mm;12 mm	Etefão Sapec; Goltix; Exilis	48%; 70%; 1.9%+ 80%	480; 200; 150+1700
3 - MM;6-BA+óleo de Verão	15/5; 20/5	10 mm; 12 mm	Goltix;Exilis+ Soleol	70%; 1.9%+80%	200; 150+1700
4 – Etefão; MM+ óleo de Verão	11/4; 20/5	E ₃ ;12 mm	Etefão Sapec; Goltix+Soleol	48%; 70%+80%	480; 200+1700
5 - MM;6-BA+óleo de Verão	15/5; 20/5	10 mm; 12 mm	Goltix;Exilis+ Soleol	70%; 1.9%+80%	350; 150+1700

Quadro 7 – Efeito dos tratamentos em 2008 na variedade Lysgolden, no nº de frutos, tamanho médio dos frutos e diferenciação floral no ano seguinte

Tratamento Ensaio 1	Índice Floração 20/4	Frutos/ASR cm ² 27/6	Diâmetro mm 27/7	Frutos/ Árvore nº 27/7	Diâmetro mm 20/9	Corimbos/ ASR cm ² 26/3/09
1 - Testemunha	2,62 a	8,96 ab	48,70 a	336,5 a	64,98 bc	5,51 a
2 - ANA	2,66 a	6,40 bc	48,49 a	258,5 a	65,95 bc	5,78 a
3 - ANA+Carbaril	3,04 a	5,22 c	50,61 a	261,5 a	69,07 a	5,14 a
4 - Benziladenina	3,03 a	7,88 abc	49,21 a	313,5 a	67,13 ab	4,89 a
5 - Etefão	2,81 a	9,87 a	45,82 b	291,5 a	63,93 c	6,10 a
6 - Monda manual	2,56 a	8,52 ab	48,58 a	282,3 a	65,52 bc	5,63 a

Letras diferentes correspondem a médias significativamente diferentes (teste de Student-Newman-Keuls para $\alpha=0,05$)

Quadro 8 – Efeito dos tratamentos em 2009 na variedade Lysgolden, no nº de frutos, tamanho, peso médio dos frutos e diferenciação floral no ano seguinte

Tratamento Ensaio 2	Queda Frutos 24/6	Frutos/ corimbo 28/7	Frutos/ ASR cm ² 28/7	Produção Índice 0-5 26/3	Diâmetro mm 26/9	Peso médio (g)	Corimbos/ ASR cm ² 25/3/10
1 - Testemunha	109,5 a	1,11 a	5,23 a	3,07 a	73,60 ab	207,5 ab	7,58 a
2 – TSAx2; 6-BA	65,8 a	0,64 b	3,43 ab	2,89 a	72,60 b	201,1 a	7,66 a
3- TSA x 3	40,3 a	0,57 b	3,00 b	2,33 a	75,21 ab	220,2 ab	8,51 a
4- NAD;ANA+6BA	156,3 a	0,67 b	3,34 ab	2,62 a	75,68 ab	223,8 b	7,90 a
5 – ANA; Carbaril	187,8 a	0,57 b	2,85 b	2,22 a	77,26 a	235,2 b	8,96 a
6 – ANA+6BA+Óleo	159,3 a	0,47 b	2,28 b	2,19 a	76,13 ab	227,0 b	10,14 a

Letras diferentes correspondem a médias significativamente diferentes (teste de Student-Newman-Keuls para $\alpha=0,05$)

Quadro 9 – Efeito dos tratamentos em 2010 na variedade Lysgolden, no nº de frutos, tamanho, peso médio dos frutos e diferenciação floral no ano seguinte

Tratamento Ensaio 3	Diâmet ro mm 22/7	Frutos/ corimb 22/7	Frutos/ ASR cm ² 22/7	frutos/ pernada 22/7	Diâmet ro mm 16/9	Frutos/ ASR cm ² 16/9	Frutos/ corimb o 16/9
1 - Testemunha	50,01 a	4,34 a	0,55 a	228,0 a	66,97 b	0,60 a	4,19 a
2-TSA;ANA;6-BA	52,22 a	2,63 b	0,38 b	174,1 ab	70,21 a	0,36 b	2,37 b
3- TSA;ANA;6-BA	52,00 a	2,90 b	0,33 b	169,0 ab	70,47 a	0,34 b	2,69 b
4- Etefão;ANA;6-BA	52,55 a	2,03 b	0,27 b	158,0 ab	71,64 a	0,25 b	1,90 b
5 - Etefão;ANA;MM	53,17 a	2,04 b	0,22 b	92,3 b	73,92 a	0,22 b	1,98 b
6- NAD;ANA+6BA+Oleo	51,99 a	2,21 b	0,24 b	138,3 ab	71,41 a	0,24 b	2,25 b

Tratamento Ensaio 3	frutos/ pernada 16/9	Produção Frutos 16/9	Peso médio (g)	Corimbos/ ASR cm ² 22/3/11
1 - Testemunha	248,0 a	1079,3 a	165,3 a	5,06 a
2 - TSA;ANA;6-BA	177,2 b	644,8 b	189,0 a	5,85 a
3 - TSA;ANA;6-BA	169,0 b	793,3 b	191,3 a	4,97 a
4 - Etefão;ANA;6-BA	150,8 b	632,3 b	199,7 ab	6,50 a
5 - Etefão;ANA;MM	90,8 b	601,5 b	216,2 b	7,37 a
6 - NAD;ANA+6BA+Oil	141,1 b	772,8 b	195,0 ab	5,06 a

Letras diferentes correspondem a médias significativamente diferentes (teste de Student-Newman-Keuls para $\alpha=0,05$)

Quadro 10 – Efeito dos tratamentos em 2009 na variedade Golden Smothee, no teor de clorofila, diâmetro médio dos frutos e produção

Tratamento Ensaio 4	Clorofila SPAD	Diâmetro 3/7	Diâmetro 8/8	Diâmetro 3/9	Diâmetro 30/9	Produção (0-5)
1 - Testemunha	48,38 a	39,11 a	56,06 b	64,81 b	69,07 a	3,50 a
2- 6-BA+ANA	48,43 a	41,99 a	59,91 a	66,42 ab	71,23 a	2,50 a
3- 6-BA+ANA+MM	47,23 a	43,06 a	61,91 a	69,07 a	72,57 a	2,63 a
4- 6-BA+ANA+MM	46,93 a	43,02 a	61,17 a	68,30 a	71,62 a	2,25 a

Letras diferentes correspondem a médias significativamente diferentes (teste de Student-Newman-Keuls para $\alpha=0,05$)

Quadro 11 – Efeito dos tratamentos em 2009 na cultivar “Gala”, no nº de frutos, diâmetro e no teor de clorofila

Tratamento Ensaio 5	Frutos/ corimbo	Clorofila SPAD	Diâmetro 16/6
1 - Testemunha	0,59 a	48,97 a	49,81 b
2 - 6-BA	0,26 ab	49,46 a	51,47 ab
3 - 6-BA ref 3+ANA	0,38 a	49,00 a	51,76 ab
4 - 6-BA ref 1+ANA	0,25 ab	48,69 a	49,78 b
5 - 6-BA ref 4+ANA	0,49 a	49,35 a	51,60 ab
6 - ANA	0,40 a	49,40 a	50,43 b
7 - Metamitrão	0,01 b	n.d.	53,00 a
8 - Metamitrão	0,02 b	45,81 b	50,60 b
9 - Monda manual	0,48 a	50,5 a	50,90 b

n.d. Não determinado Letras diferentes correspondem a médias significativamente diferentes (teste de Student-Newman-Keuls para $\alpha=0,05$)

Quadro 12 – Efeito dos tratamentos em 2010 na variedade Fuji nagafu, no nº de frutos, tamanho, peso médio, qualidade dos frutos e diferenciação floral no ano seguinte

Tratamento Ensaio 6	Frutos/ Pernada 10/7	Diâmetro mm 10/7	Frutos/ corimb 10/7	Frutos/ ASR cm² 10/7	Frutos/ corimb 13/10	Frutos/ ASR cm² 13/10	Diâmetro mm 13/10
1 - Testemunha	19,43 a	38,45 a	0,72 a	4,85 a	0,67 a	5,08 a	65,95 b
2 - Etefão;MM;6-BA	2,50 b	41,43 a	0,11 b	1,02 b	0,08 b	0,62 b	74,68 a
3 - MM;6-BA+Óleo	18,93 a	38,90 a	0,80 a	7,63 a	0,61 a	5,14 a	66,53 b
4-Etefão;6-BA+Óleo	5,08 b	39,83 a	0,23 b	2,06 b	0,21 b	1,58 b	74,83 a
5 - MM;6-BA+Óleo	21,08 a	39,93 a	0,68 a	7,36 a	0,64 a	6,49 a	67,68 b

Tratamento Ensaio 6	Frutos/ Pernada 13/10	Peso Fruto (g)g	Rigidez Kg/cm²	° Brix	Sementes n°	Corimbos/ ASR cm² 05/04/11
1 - Testemunha	17,78 a	150,0 b	7,99 a	15,35 c	8,03 a	6,60 a
2 – Etefão;MM;6-BA	1,80 b	209,9 a	9,03 a	17,93 a	6,20 b	11,02 b
3 – MM;6-BA+Óleo	14,08 a	158,3 b	8,58 a	17,09 ab	6,93 ab	7,52 a
4–Etefão;6-BA+Óleo	4,60 b	198,4 a	8,93 a	17,93 a	7,70 a	10,44 b
5 – MM;6-BA+Óleo	20,28 a	160,9 b	8,55 a	16,32 b	6,85 ab	8,11 a

Letras diferentes correspondem a médias significativamente diferentes (teste de Student-Newman-Keuls para $\alpha=0,05$)

Utilização de redes de ensombramento para monda de flores em uva de mesa ‘Thompson Seedless’ e ‘Crimson Seedless’

Sara Domingos¹, Hugo Nóbrega¹, Vânia Cardoso², Luis F. Goulao² & Cristina M. Oliveira¹

¹DCEB, CEER, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa, saradomingos@isa.ulisboa.pt, nobregahugo@hotmail.com, vaniaalexandracardoso@gmail.com, crismoniz@isa.ulisboa.pt

²Agri4Safe / BioTrop, Instituto de Investigação Científica Tropical, Lisboa, goulao@iict.pt

Resumo

Uma das maiores dificuldades na produção de uva de mesa apirénica é o excessivo vingamento que conduz a cachos compactos com bagos de tamanho reduzido, cor pouco intensa, brilhante e uniforme, e mais suscetíveis a podridões. Para superar este problema os produtores recorrem geralmente a monda manual com elevados custos em mão de obra (50 a 80 diárias/ha). Estudos prévios indicam que o ensombramento durante a floração pode ser um método alternativo de monda. Neste trabalho foram avaliados diferentes tipos de monda química (doses e alvo da aplicação) com ácido giberélico (GA₃) e com redes de ensombramento, nas variedades ‘Thompson Seedless’ e ‘Crimson Seedless’ em 2013, na Herdade Vale da Rosa, Ferreira do Alentejo, com o objetivo de desenvolver métodos de monda mais sustentáveis. Na ‘Thompson’, todos os tratamentos com sombra e GA₃ a 1 ppm aumentaram a percentagem de queda de flores. A redução em 95% da PAR, a 100% e 50% de floração, reduziu o número de bagos final em 62% e 70%, respetivamente, levando à obtenção de cachos menos compactos, enquanto uma redução de 100% levou a uma queda praticamente total dos bagos. O número de bagos à colheita foi reduzido em todas as modalidades de monda química exceto quando a aplicação foi apenas dirigida aos cachos. A forma do bago foi afetada pelos tratamentos de monda tornando-os mais alongados, pesados e firmes. Na ‘Crimson’, o número de bagos foi reduzido em 48% e 29% nos tratamentos em que foi imposta a redução total da PAR a 50% de floração e em que foi aplicado GA₃ [4 ppm], respetivamente. A monda química conduziu a um atraso da maturação, demonstrado de forma particularmente notável em relação à cor, firmeza, teor de sólidos solúveis (TSS) e acidez dos bagos. Por outro lado, a sombra imposta a 50% floração não afetou a firmeza nem o TSS, mas reduziu a acidez dos bagos. A variedade ‘Thompson’ revelou-se mais sensível à sombra e à aplicação de GA₃ do que a ‘Crimson’, possivelmente devido à sua maior necessidade em fotoassimilados para garantir as elevadas taxas de crescimento dos sarmentos e da área foliar.

Palavras-chave: ácido giberélico, monda de flores e bagos, qualidade, redução da PAR, vingamento

Abstract

Thinning via shading in ‘Thompson Seedless’ and ‘Crimson Seedless’ table grapes cultivars.

The excess of fruit set leads to compact bunches, small berries, with less colour, low uniformity of maturation and higher incidence of diseases, being one of the main concerns on table grape production. To overcome this problem farmers usually do manual

thinning which is very expensive (50 to 80 labour days/ha). Previous studies indicate that reduction of intercepted light during bloom can be used as thinning method. In this study different thinning methods were tested, with gibberellic acid (GA₃) and with shading nets in 'Thompson Seedless' and 'Crimson Seedless' in 2013, in a commercial vineyard Herdade Vale da Rosa, at Ferreira do Alentejo, aiming to develop alternative and sustainable thinning methods. On 'Thompson', all shade treatments and GA₃ at 1 ppm increased the flower drop percentage. 95% PAR reduction, imposed at 100% and 50% bloom, reduced 62% and 70% of number of berries, obtaining less compact bunches, while total shade (100% PAR) leads to an almost total flower and berry drop obtaining too loose bunches. The number of berries at harvest was also reduced in all chemical treatments (with GA₃) except when GA₃ sprays directed to bunches. The thinning treatments also affected the berry shape, resulted in more elongated, heavy and firm berries. On 'Crimson', total PAR reduction at 50% bloom and GA₃ [4 ppm] treatments reduced 48% and 29% number of berries at harvest, respectively. Chemical treatments induced a delay on maturation, observed in the colour, firmness, total soluble solid content (TSS) and titratable acidity. On the other hand, shade treatment at 50% bloom didn't affect berry firmness and TSS and reduced acidity. Thompson cultivar revealed to be more sensitive to shade and to GA₃ treatment comparing to 'Crimson', probably because the first one needs more source capability (photoassimilates) to the vegetative growth due to the higher shoot and leaf area growth rates.

Key-words: flower and berry thinning, fruit set, gibberellic acid, PAR reduction, quality.

Introdução

O consumo mundial de uva de mesa tem crescido nas últimas décadas (OIV, 2013). Este crescimento tem levado a um aumento de exigência qualitativa por parte do consumidor. A procura por uva de mesa apirénica também tem seguido esta tendência. Todavia o excessivo vingamento é um dos principais problemas que estas cultivares apresentam, provocando cachos muito compactos e com bagos pequenos. Este fenómeno conduz a um desenvolvimento inadequado da cor dos bagos e a uma maior suscetibilidade a podridões do cacho. Através de técnicas culturais adequadas é possível ultrapassar este problema, não ocorrendo uma diminuição de qualidade (Weaver, 1976; Dokoozlian, 2001). Quando o vingamento é excessivo, técnicas como a incisão anelar para aumentar o tamanho dos bagos, são pouco efetivas e aumentam a compacidade dos cachos (Dokoozlian, 2001). A monda manual é a técnica mais utilizada para aumentar o tamanho dos bagos e diminuir a compacidade dos cachos, no entanto apresenta alguns problemas, principalmente o elevado custo (Morris et al., 2009) e a cada vez mais escassa disponibilidade de mão-de-obra. A monda química com a aplicação de ácido giberélico (GA₃) em diferentes doses e diferentes fases da floração, é também uma técnica amplamente utilizada, no entanto a sua eficácia depende de vários factores tais como a cultivar, a disponibilidade de água e nutrientes, temperatura e irradiação (Dokoozlian, 1998; Reynolds et al. 2006), e a sua utilização não está homologada em Portugal no sistema de produção integrada da videira.

Surge assim como hipótese para técnica alternativa de monda o sombreamento artificial. Na macieira, o sombreamento durante a floração revelou-se uma técnica de monda eficaz, provavelmente devido à redução dos fotoassimilados que posteriormente vai provocar uma redução de hidratos de carbono disponíveis para o crescimento vegetativos e para o vingamento dos frutos (Schneider, 1975; Zibordi et al., 2009). Para uva de vinho também já foi estudado o efeito da sombra durante a floração e após algumas

semanas, observaram-se resultados eficazes para as cultivares 'Carignan' (Roubelakis & Kliewer, 1976), 'Seyval' e 'Chambourcin' (Ferree et al., 2001). Foram também realizados ensaios em uva de mesa em estufa (Domingos et al., 2013), na cultivar 'Black Magic', nos quais os tratamentos com sombra durante a floração diminuíram o vingamento dos bagos e reduziram a compacidade dos cachos à colheita. O presente trabalho pretende estudar os efeitos fisiológicos e a eficácia de diferentes métodos de monda por ensombramento e monda química em uva de mesa sem grainha, de maneira a obter os melhores resultados produtivos e de qualidade.

Material e Métodos

O ensaio foi desenvolvido em duas parcelas de vinha da Herdade do Vale da Rosa, que fica situada na vila de Ferreira do Alentejo (38° 05' 23,80" N; 8° 04' 52,7 1" O), distrito de Beja e região do Alentejo. O trabalho experimental foi realizado no ano de 2013, nas cultivares 'Thompson Seedless' e 'Crimson Seedless', plantadas em 2006 e enxertadas no local definitivo sobre porta-enxerto RU-140. O compasso de plantação usado foi de 3 por 3 metros, com a orientação das linhas norte-sul, as videiras são conduzidas em pérgula, com distribuição radial das varas em torno do eixo central, sendo que na 'Thompson Seedless' foram deixadas 12 a 13 varas de 15 gomos cada (cerca de 180 a 195 gomos por videira) e na 'Crimson' foram deixadas 15 varas com 7 a 8 gomos por vara (aproximadamente entre 105 e 120 gomos por videira). As plantas foram cobertas com plásticos desde a primeira semana de Fevereiro até ao início do pintor, no caso da 'Crimson' e até à colheita na 'Thompson'. Para cada cultivar foram selecionadas videiras homogêneas, tendo em conta o seu vigor e estado fenológico, e foram divididas em grupos de 5 videiras por tratamento. Na 'Thompson' foram testadas 9 modalidades de monda: sombra total imposta a 50 e 100% da floração (50F_100%Sombra e 100F_100%Sombra) durante 14 e 11 dias, sombra parcial imposta a 50 e 100% da floração (50F_95%Sombra e 100F_95%Sombra) durante 14 e 11 dias, aplicação de GA₃ à planta inteira em doses simples (10 ppm+12,5 ppm+12,5 ppm) e dose dupla (20 ppm + 25 ppm + 25 ppm) a 20%, 50% e 100% de floração, aplicação de GA₃ (10 ppm +12,5 ppm + 12,5 ppm) direcionada só para as folhas e só para os cachos, e o controlo sem tratamento. Na 'Crimson' foram testadas 7 modalidades de monda: sombra total imposta a 50 e 100% da floração (50F_100%Sombra e 100F_100%Sombra) durante 18 e 15 dias, aplicação de GA₃ à planta inteira em doses simples (1 ppm) e doses quatro vezes superior (4 ppm) a 100% de floração, aplicação de GA₃ (1 ppm) direcionada só para as folhas e só para os cachos, e o controlo sem tratamento.

Foi determinada a taxa de crescimento dos sarmentos e da área foliar (método não destrutivo, de acordo com Lopes & Pinto (2005)) durante o período de sombra. A queda de flores por cacho foi monitorizada em 10 cachos por tratamento, com a colocação de sacos de tecido não-tecido em volta de cada cacho. As condições microclimáticas foram registadas nas videiras com e sem sombra (WatchDog MicroStation, Spectrum Tech., EUA). À colheita foram analisadas a qualidade e produtividade finais, relativamente ao peso do cacho, número de bagos, comprimento do ráquis, compacidade do cacho (número de bagos/ cm de ráquis), diâmetros transversal e longitudinal e forma do bago (diâmetro longitudinal/ diâmetro transversal; valores perto de 1 demonstram que os bagos têm uma forma perto de esférica, enquanto valores superiores a 1 indicam formas mais alongadas), peso e firmeza (método de compressão) do bago, teor de sólidos solúveis (TSS) e acidez titulável (AT, (expressa em g de ácido tartárico por litro de sumo). Para a medição da cor (ângulo Hue) foi utilizado um colorímetro (Minolta CR-300, Osaka, Japão) Todos os

dados foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA) a um fator (tratamento) entre cada tratamento e o controle, com o programa Statistix9 (Florida, EUA).

Resultados e Discussão

Para a 'Thompson' 50 e 100% de floração ocorreram a 2 e 6 de Maio, e para a 'Crimson' a 10 e 13 de Maio, em 2013. As temperaturas médias durante o dia/noite foram de 26,5/13,5°C. Na 'Thompson', os tratamentos 50F_95%Sombra, 100F_95%Sombra, 50F_100%Sombra, 100F_100%Sombra e GA₃ [35 ppm] induziram a queda de flores por cacho, quando comparado com o controle, enquanto a GA₃ [70 ppm], GA₃Cachos e GA₃Folhas não foram diferentes do controle (quadro 1). Na 'Crimson' nenhum tratamento aumentou a percentagem de queda de flores por cacho (quadro 2). Na 'Thompson Seedless', a aplicação de GA₃ à dose mais baixa aumentou significativamente a percentagem de queda de flores, o que não se verificou com a aplicação com dose superior, tal como foi verificado por Dokoozlian & Peacock (2001) para a cultivar 'Crimson Seedless'. No entanto, nas nossas condições, em 2013, para a 'Crimson Seedless', a GA₃ não afectou a taxa de vingamento o que mostra que o sucesso das técnicas de monda depende da interação genótipo/ambiente e que nem sempre a uma maior concentração de giberelinas corresponde um maior efeito.

Na modalidade controle, as videiras da 'Thompson' e da 'Crimson' apresentaram uma área foliar de 23,1±3,0 e 31,6±4,0 m² por videira, um crescimento dos sarmentos do ano de 2,9±0,3 e 0,7±0,1 cm por dia, respetivamente (fig.1). Na 'Thompson' a taxa de crescimento da área foliar foi reduzida 97% e 81% e na 'Crimson' 63% e 59%, nos tratamentos 50F_100%Sombra e 100F_100%Sombra, respetivamente (fig.1). As modalidades de monda química não afetaram a área foliar. Os tratamentos de monda com sombra afetaram significativamente o crescimento vegetativo e mostraram maior eficácia a reduzir o número de bagos por cachos. Estes resultados estão em acordo com a hipótese de que o déficit de carbono durante a floração é um dos principais fatores para o aumento da queda de flores e bagos apenas formados. A 'Thompson Seedless' apresentou uma área foliar mais pequena (capacidade de produção de fotoassimilados) e uma maior taxa de crescimento vegetativo (sumidouro de fotoassimilados) durante o período de floração, comparando com a 'Crimson Seedless', o que pode indicar uma maior competição entre os sarmentos e as flores pelos fotoassimilados, tornando esta cultivar mais sensível aos tratamentos de monda de flores.

À colheita, (quadro 1) na 'Thompson', o peso dos cachos foi reduzido nos tratamentos com sombra e no GA₃ [35 ppm], o número de bagos foi reduzido em todos os tratamentos à excepção do GA₃ Cachos, o comprimento do ráquis não apresentou diferenças e o índice de compacidade foi menor nos tratamentos com sombra, GA₃ [35 ppm] e GA₃ [70 ppm]. Em relação ao órgão alvo da aplicação de GA₃, na 'Thompson' verificou-se uma diminuição do número de bagos por cacho quando a aplicação é feita apenas nas folhas, mas no entanto não se traduziu numa diminuição da compacidade do cacho. Quanto à composição do bago, na 'Thompson', o TSS foi maior no tratamento 50F_95%Sombra enquanto a acidez diminuiu no tratamento GA₃Folhas e aumentou nos restantes tratamentos com GA₃, comparando com o controle (quadro 3). Todos os tratamentos de monda em teste aumentaram a firmeza e peso do bago. Os bagos apresentaram uma forma mais alongada para todos os tratamentos à excepção da sombra imposta a 50% de floração e a tonalidade foi menos esverdeada no tratamento GA₃ [70 ppm], GA₃Cachos, GA₃Folhas e 50F_95%Sombra. Na 'Crimson' (quadro 4) o número de bagos por cacho foi inferior ao controle nos tratamentos 50F_100%Sombra e GA₃ [4 ppm]. No entanto, observou-se um decréscimo no índice de compacidade do cacho nos

tratamentos 50F_100Sombra e GA₃ Cachos, devido ao aumento do comprimento do ráquis neste último. Quanto à composição do bago, na 'Crimson', o TSS foi inferior ao controle nos tratamentos 100F_95%Sombra, GA₃ [35 ppm] e GA₃Cachos e não foi alterado nos restantes tratamentos enquanto a acidez aumentou nos tratamentos com GA₃ aplicado na dose de 1 ppm na planta inteira e apenas nas folhas e diminuiu no tratamento com sombra imposta a 50% de floração. Os bagos apresentaram a forma mais esférica no tratamento 100F_95%Sombra e mais alongada no tratamento GA₃Folhas, e maior peso nos tratamentos GA₃ [70 ppm] e GA₃Cachos, em relação ao controle. A firmeza do bago foi superior em todos os tratamentos com GA₃ a 1 ppm e a tonalidade foi menos avermelhada nos mesmos tratamentos e no tratamento com sombra imposta a 100% da floração. Enquanto na Thompson os tratamentos de munda química e com sombra afetaram de forma semelhante a maturação exceto à AT, em relação ao controle não mondado, na Crimson a munda química conduziu a um atraso da maturação, demonstrado de forma particularmente notável em relação à cor, firmeza, TSS e acidez dos bagos (quadro 4). Por outro lado, a sombra imposta a 50% floração não afetou a firmeza nem o TSS, mas reduziu a acidez dos bagos.

Conclusões

Através do presente estudo, com a comparação entre diferentes tratamentos de munda, pode-se concluir que o sucesso dos tratamentos de munda de flores em estudo depende da cultivar, da intensidade e momento de imposição da sombra e da concentração de GA₃ utilizada.

O ensombramento apresentou efeitos em ambas as cultivares, e revelou maior eficácia como método de munda quando aplicado a 50% da floração e na cultivar 'Thompson Seedless'. A intensidade de sombra deve ser inferior 100% na 'Thompson', de forma a evitar uma munda de flores demasiado severa. Para estabelecer este método como técnica comercial são necessários ensaios em diferentes anos e estudos sobre a sua viabilidade económica, mas apresenta-se como uma solução possível perante os elevados custos que estão associados à munda manual.

Agradecimentos

Este trabalho está a ser realizado no âmbito dos projetos financiados pela FCT (VITISHADE - PTDC/AGR-GPL/116923/2010) e pelo ProDeR (PRODUVA 23921/2/3/4 - Medida 4.1.Cooperação para a Inovação). A bolsa de doutoramento da Sara Domingos é financiada pela FCT (SFRH/ BD/69076/2010).

Referências

- Dokoozlian, N.K., 1998. Use of plant growth regulators in table grape production in California. Proc. Univ. of California Table Grape Production Short Course. California, USA. 30 Nov–2 Dec. p. 200-210.
- Dokoozlian, N. 2001. Gibberellic acid applied at bloom reduces fruit set and improves size of Crimson Seedless table grapes. Hortscience 36 (4):706-709.
- Dokoozlian, N.K. & Peacock, W.L. 2001. Gibberellic acid applied at bloom reduces fruit set and improves size of 'Crimson Seedless' table grapes. HortScience 36(4):706–709.
- Domingos, S., Scafidi, P., Oliveira, M.C., Di Lorenzo, R. & Goulao, L.F. 2013. Effects of light reduction at bloom on fruit set in Black Magic table grape cultivar in early and late production cycles. 18th International GiESCO Symposium. Porto,

- Portugal. 8-12 July Ciência e Técnica Vitivinícola/ Journal of Viticulture and Enology 28 (2): 1001-1005.
- Ferree, D.C., McCartney, S.J. & Scurlock, D.M. 2001. Influence of irradiance and period of exposure on fruit set of srench-american hybrid grapes. Journal of American Society of Horticultural Science 126: 283-290.
- Lopes, C. & Pinto, P.A. 2005. Easy and accurate estimation of grapevine leaf area with simple mathematical models. Vitis 44 (2): 55-61.
- Morris, J., Main, G., Threlfall, R. & Striegler, K. 2009. Initial Response of ‘Concord’ and ‘Sunbelt’ Grapes to Pruning and Fruit Thinning. Hortechonology (19) 2: 369–378.
- OIV – Organisation Internationale de la vigne et du vin. 2013. Vine and Wine Outlook 2008-2009. Paris.
- Roubelakis, K.A. & Kliewer, W.M. 1976. Influence of light intensity and growth regulators on fruit-set and ovule fertilization in grape cultivars under low temperature conditions. American Journal of Enology and Viticulture 27: 163-167.
- Schneider, G. 1975. C-sucrose translocation in apple. Journal of the American Society for Horticultural Science 100 (1): 22-24.
- Weaver, R. 1976. Grape Growing. John Wiley and Sons, New York.
- Zibordi, M., Domingos, S. & Corelli Grappadelli, L. 2009. Thinning apples via shading: an appraisal under field conditions. Journal of Horticultural Science and Biotechnology ISAFRUIT Special Issue. 138-144.

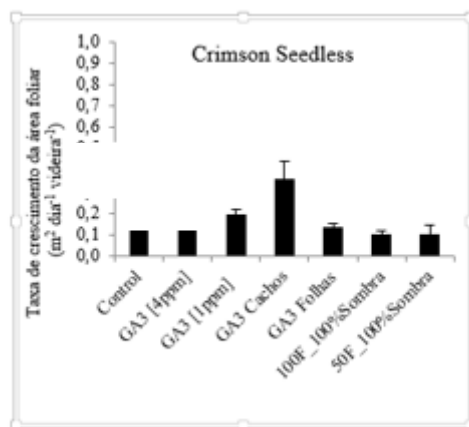


Figura 1 – Efeito dos tratamentos de monda de flores na taxa de crescimento da área foliar nas cultivares Thompson e Crimson (média±erro-padrão, n=5). As letras b** e b* indicam que o tratamento foi significativamente inferior ao controlo a p-value≤0,01 e p-value≤0,05, respetivamente.

Quadro 1 – Efeito dos tratamentos de monda na % de queda de flores, índice de compacidade, peso dos cachos e comprimento do ráquis, na 'Thompson Seedless' (n=10). Não são apresentados alguns dos dados dos tratamentos com 100% sombra pois estes levaram à obtenção de 6 a 8 cachos com 0 bagos.

Tratamento	Queda de flores (%)	Nº de bagos à colheita	Índice de compacidade	Peso dos cachos (g)	Comp. do ráquis (cm)
Controlo	66,8	344	6,83	1761,3	50,7
GA3 [70ppm]	73,7 _{ns}	228 _{b**}	4,57 _{b*}	1604,0 _{ns}	51,3 _{ns}
GA3 [35ppm]	83,0 _{a**}	160 _{b**}	3,63 _{b**}	986,7 _{b**}	46,7 _{ns}
GA3Cachos	72,0 _{ns}	263 _{ns}	5,21 _{ns}	1819,5 _{ns}	53,4 _{ns}
GA3Folhas	75,4 _{ns}	245 _{b*}	5,08 _{ns}	1797,0 _{ns}	53,9 _{ns}
100F_100%Sombra	98,3 _{a**}	-	-	-	-
50F_100%Sombra	99,0 _{a**}	-	-	-	-
100F_95%Sombra	89,5 _{a**}	128 _{b**}	2,47 _{b**}	791,1 _{b**}	46,3 _{ns}
50F_95%Sombra	87,3 _{a**}	105 _{b**}	2,47 _{b**}	718,5 _{b**}	51,6 _{ns}

As letras a e b indicam que o tratamento foi significativamente superior ou inferior ao controlo (ANOVA). ns, *, ** indicam diferenças não significativas, significativas a p-value≤0,05 e significativas a p-value≤0,01

Quadro 2 - Efeito dos tratamentos de monda % de queda de flores, índice de compacidade, peso dos cachos e comprimento do ráquis, na 'Crimson Seedless' (n=10).

Tratamento	Queda de flores (%)	Nº de bagos à colheita	Índice de compacidade	Peso cachos (g)	Comp. ráquis (cm)
Controlo	58,5	275	6,62	758,6	39,6
GA ₃ [4ppm]	63,5 _{ns}	195 _{b**}	5,09 _{ns}	627,1 _{b*}	38,4 _{ns}
GA ₃ [1ppm]	55,4 _{ns}	299 _{ns}	7,20 _{ns}	841,7 _{ns}	41,2 _{ns}
GA ₃ Cachos	76,2 _{ns}	213 _{ns}	4,73 _{b*}	904,4 _{ns}	45,0 _{a*}
GA ₃ Folhas	73,6 _{ns}	237 _{ns}	5,71 _{ns}	634,3 _{ns}	41,9 _{ns}
100F_100%Sombra	58,0 _{ns}	285 _{ns}	6,25 _{ns}	821,2 _{ns}	45,1 _{ns}
50F_100%Sombra	77,1 _{ns}	144 _{b**}	3,56 _{b**}	555,9 _{ns}	46,8 _{a*}

As letras a e b indicam que o tratamento foi significativamente superior ou inferior ao controlo (ANOVA). ns, *, ** indicam diferenças não significativas, significativas a p-value≤0,05 e significativas a p-value≤0,01.

Quadro 3 - Efeito dos tratamentos de monda de flores no TSS e AT (n=6) e na forma (diâmetro longitudinal/ diâmetro transversal), peso, tonalidade e firmeza do bago (n=48) na 'Thompson Seedless'.

Tratamentos	TSS (°Brix)	AT (g L ⁻¹)	Forma do bago	Peso do bago (g)	Tonalidade (h°)	Firmeza (N)
Controlo	16,1	5,48	1,40	5,72	123,4	11,4
GA ₃ [70ppm]	16,2ns	6,30a*	1,60a**	7,56a**	121,7b*	16,8a**
GA ₃ [35ppm]	17,4ns	6,40a**	1,63a**	6,86a**	122,9ns	17,5a**
GA ₃ Cachos	15,1ns	6,83a*	1,60a**	7,52a**	121,6b**	15,6a**
GA ₃ Folhas	17,4ns	4,88b**	1,47a**	6,42a**	121,5b**	14,5a**
100F_95%Sombra	17,7ns	5,29ns	1,44a**	6,24a**	122,6ns	13,6a**
50F_95%Sombra	17,5a**	5,70ns	1,42ns	6,19a*	122,2b**	14,1a**

As letras a e b indicam que o tratamento foi significativamente superior ou inferior ao controlo (ANOVA). ns, *, ** indicam diferenças não significativas, significativas a p-value≤0,05 e significativas a p-value≤0,01.

Quadro 4 - Efeito dos tratamentos de monda de flores no TSS e AT (n=6) e na forma, peso, tonalidade e firmeza do bago (n=48) na 'Crimson Seedless'.

Tratamentos	TSS (°Brix)	AT (g L ⁻¹)	Forma do bago	Peso do bago (g)	Tonalidade (h°)	Firmeza (N)
Controlo	20,5	4,43	1,37	4,85	14,8	14,2
GA ₃ [4ppm]	19,9ns	4,30ns	1,38ns	5,27a*	18,8ns	13,6ns
GA ₃ [1ppm]	17,6b**	5,43a**	1,38ns	4,22b**	54,4a**	17,8a**
GA ₃ Cachos	17,9b**	4,85ns	1,38ns	6,18a**	76,1a**	17,4a**
GA ₃ Folhas	18,9Ns	5,00a*	1,43a**	4,10b**	45,6a**	18,3a**
100F_95%Sombra	18,3b**	4,60ns	1,26b**	4,16b**	31,6a**	14,7ns
50F_95%Sombra	20,1Ns	3,93b*	1,39ns	4,83ns	13,9ns	15,3ns

As letras a e b indicam que o tratamento foi significativamente superior ou inferior ao controlo (ANOVA). ns, *, ** indicam diferenças não significativas, significativas a p-value≤0,05 e significativas a p-value≤0,01.

Monda química de frutos com 6-benziladenina e ácido 1-naftilacético em pereira ‘Rocha’²

Anabela Maurício¹, Carla Fernandes¹, Mariana Mota² e Cristina M. Oliveira²

¹Sociedade Agrícola Casal dos Pavorais – Painho – Cadaval, abcnm@sapo.pt, carlamcf@sapo.pt

²DCEB, CEER, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa, mariana@isa.ulisboa.pt, crismoniz@isa.ulisboa.pt

Resumo

Durante 3 anos (2011-2013) o efeito de aplicações de 6-benziladenina (BA) (100 e 150 ppm) e das combinações BA 80 ppm + ácido 1-naftilacético (ANA) 8 ppm e BA 100 ppm + ANA 10 ppm foi avaliado num pomar de pereiras ‘Rocha’ enxertadas em BA29 em plena produção. Os tratamentos foram realizados quando os frutos tinham 10-12 mm de diâmetro e a monda manual após a queda de Junho. Em 2013, a produção por hectare foi 1,7 e 2,1 vezes superior à de 2011 e de 2012, respetivamente. Em 2013, a aplicação de BA a 150 ppm resultou num número inferior de frutos ($P \leq 0,05$) e peso por fruto superior ($P \leq 0,05$) e a monda manual numa percentagem de produção com frutos <60 mm superior ($P \leq 0,05$), o que mostra a importância da monda química em anos de grande produção e a influência da carga no calibre. Em 2011 e 2012, as aplicações de agentes químicos foram tão eficazes como a monda manual e não conduziram a produções inferiores e em 2012 a combinação BA 100 ppm + ANA 10 ppm até resultou numa produção mais elevada e num maior número de frutos do que a de BA 100 ppm. Em 3 anos de ensaios não se verificou constância na melhor solução de monda química, BA + ANA poderá ser a melhor solução comparando com BA, devido ao menor custo e por o seu efeito ser menos dependente da temperatura. Comparando o custo destes agentes de monda química com a monda manual é possível uma redução de 40%, com a vantagem de num ano de grande produção se produzir menos fruta de baixo calibre.

Palavras-chave: ANA, BA, calibre, floração, monda manual, *Pyrus communis*.

Abstract

Three Years Thinning Trials on Pear ‘Rocha’ with Benzyladenine and Naphthalene Acetic Acid.

During three consecutive years (2011-2013) the thinning agents 6-benzyladenine (BA) (100 and 150 ppm) and the combination BA 80 ppm + 1-naphthalene acetic acid (NAA) 8 ppm and BA 100 ppm + NAA 10 ppm were evaluated on 6 to 9 years old ‘Rocha’ grafted onto BA29 pear trees in a commercial orchard. Trees were sprayed at 10-12 mm fruit size and hand thinning was done after June drop. In 2013, yield was 1.7 and 2.1 times higher than in 2011 and 2012, respectively. In 2013, BA at 150 ppm resulted in

² Este artigo é uma adaptação de uma comunicação oral apresentada no XII International Pear Symposium, Leuven, 14-19 julho de 2014, que foi submetida como artigo numa forma mais extensa à Acta Horticulturae.

a significantly lower fruit number ($P \leq 0.05$) and a higher average fruit mass ($P \leq 0.05$) when compared with the other treatments and the percentage of the production with <60 mm fruits was significantly ($P \leq 0.05$) higher in hand thinned trees, stressing the importance of chemical thinning in this situation and the crop load interaction. In 2011 and 2012 the sprays were as effective as hand thinning and did not result in a lower crop level, except in 2012 where the combination BA 100 ppm + NAA 10 ppm resulted in a higher yield and a higher fruit number compared with BA at 100 ppm. Hand thinning done after June drop is too late to increase fruit size as effectively as BA or BA+NAA. In the 3 years of testing there was no consistency of a chemical thinning best solution, BA 80 ppm + NAA 8 ppm may be a better choice comparing with BA due to its lower cost and less dependence of temperature. Comparing hand thinning cost with these chemical alternatives a cost reduction of about 40% is possible with the advantage of less smaller fruits in an on year.

Keywords: benzyladenine (BA), crop load, fruit chemical thinning, fruit size, 1-naphthalene acetic acid (NAA), hand thinning, *Pyrus communis*

Introdução

A pera 'Rocha' é uma pera pequena (cerca de 130 g) e nos anos de safra a percentagem de frutos com diâmetro <60 mm pode ser elevada. Estes frutos têm baixo valor comercial e não podem ser exportados, diminuindo o rendimento do produtor. Nos últimos anos os produtores têm recorrido à monda química, com a benziladenina (BA), uma das substâncias ativas homologada para monda química de pomóideas, com eficácia em várias cultivares de pereira (Bound and Mitchell, 2002; Stern and Flaishman, 2003; Maas et al., 2010; Curetti et al., 2011; Dussi and Sugar, 2011; Gonkiewicz et al., 2011; Theron et al., 2011). Estes estudos demonstraram que a dose e a época de aplicação são dependentes da cultivar e a sua eficácia na monda de frutos depende também das condições climáticas antes, durante e após a aplicação. Temperaturas máximas diárias abaixo de 15-18 °C (Bound et al., 1997), vento e precipitação 4 horas após a pulverização podem reduzir a atividade do produto.

Independentemente do efeito da monda (redução do número de frutos e consequente aumento do calibre), a BA aumenta o tamanho do fruto, em pera (Shargal et al., 2006) e a firmeza da polpa de maçã (Greene & Autio, 1989; Greene et al., 1990). Acresce que as citocininas estão geralmente associadas com a promoção da floração do ano seguinte (McLaughlin & Greene, 1984; Ramirez & Hoad, 1981).

A mistura de BA e ácido 1-naftilacético (ANA) tem sido também usada como agente de monda. O ANA apresenta alguns problemas, como a redução do crescimento de frutos, efeito conhecido como frutos 'pigmeus' (Jones et al., 1991, Greene & Autio, 1994), mas a mistura com BA revelou-se mais eficaz em maçãs 'Galaxy' do que os produtos químicos sozinhos (Bregoli et al., 2007). As aplicações da mistura de BA + ANA parecem ser eficazes em peras 'Conference' (Maas et al., 2010), mas para uma cultivar específica é necessário otimizar as concentrações e a época de aplicação para um determinado nível de monda.

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia da BA e da mistura BA + ANA em pereiras 'Rocha', comparando com a monda manual (controlo), durante três anos, o que permite analisar a interação com o nível de produção e as diferenças climáticas.

Materiais e métodos

O ensaio de campo foi realizado de 2011 a 2013, num pomar comercial perto do Cadaval, em 'Rocha' enxertada em BA29 com 6-9 anos. As árvores espaçadas de 4,0 × 1,8 m foram conduzidas em eixo central. Os tratamentos estão descritos no quadro 1, a monda manual foi feita de acordo com a prática desta região e os produtos químicos foram aplicados de acordo com as recomendações do fabricante.

O número de esporões e a floração do ano seguinte medida como percentagem (%) = (número de gomos florais do ano (N + 1) - número dos gomos florais ano (N) / número de gomos florais ano N) x 100) foram registados em dois ramos representativos por árvore no dia 10 de março, 07 de abril e 14 de abril e 16 de Março, de 2011, 2012, 2013 e 2014, respetivamente. A plena floração foi no dia 30 de março, 7 e 15 de abril em 2011, 2012 e 2013, respetivamente. Registou-se o número de frutos vingados por esporão antes dos tratamentos a 15, 21 e 27 de abril em 2011, 2012 e 2013, respetivamente. As condições climáticas desde o dia anterior até 4 dias após os tratamentos foram registadas. À colheita o número de frutos por árvore, a distribuição do tamanho dos frutos e a massa dos frutos foram determinados. O valor pago aos produtores de acordo com o calibre dos frutos foi fornecido pela organização de produtores, Central de Frutas do Painho. Uma amostra aleatória de 54 frutos por tratamento (18 de cada bloco) foi analisada para firmeza dos frutos, teor de sólidos solúveis (TSS) e acidez titulável (AT). A firmeza foi medida com um penetrómetro (modelo EFFEGI 327) com uma sonda de 8 mm. O TSS (%) foi medido utilizando um refratómetro manual Atago e a AT foi determinada em 10 ml de sumo titulado com NaOH 0,1 N, após a adição de 2-3 gotas de fenolftaleína.

Os dados foram analisados por análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$) utilizando Statistix 9 (software analítico, Tallahassee, Florida).

Resultados e discussão

A produção calculada foi de 44,1, 35,1 e 74,6 t ha⁻¹ em 2011, 2012 e 2013, respetivamente. O número médio de esporões por ramo marcado foi uniforme em todos os tratamentos no início dos ensaios e o número médio de flores por ramo foi de 22,3, 11,8 e 24,1 em 2011, 2012 e 2013, respetivamente. O vingamento em 2012 diminuiu devido à geada e a uma primavera fria, resultando em média de 20,7 frutos vingados por ramo, comparando com 75,8 e 84,3 frutos, em 2011 e 2013, respetivamente.

Em 2011 e 2013, não se verificaram diferenças significativas entre tratamentos de monda na produção (kg / planta) (quadro 2), mas em 2012, com o tratamento com BA 100 ppm obteve-se uma produção de 18,4 kg por árvore, menor comparativamente a 34,5 kg por árvore com BA 100 ppm + ANA 10 ppm. Nos 3 anos em estudo, o número de frutos por árvore foi estatisticamente diferente entre os tratamentos ($P < 0,05$).

Em 2011, no dia da aplicação dos produtos verificou-se uma temperatura máxima de 26,9 °C, humidade relativa de 78% e pouco vento (1,6 km/h) e durante os 4 dias seguintes a temperatura máxima foi em média de 27,5 °C. Estas condições climáticas são favoráveis à atividade da BA. Em 2011, as árvores tratadas com BA 100 ppm tinham um maior número de frutos do que as tratadas com BA 80 ppm + ANA 8 ppm, esta diferença pode estar relacionada com as diferenças do vingamento inicial antes de aplicações, já que embora não estatisticamente diferente, nas árvores tratadas com BA 100 ppm o vingamento era maior (78,6 frutos por ramo) do que o vingamento inicial das árvores tratadas com BA 80 ppm + ANA 8 ppm (52,1 frutos por ramo).

Em 2012, verificaram-se diferenças no número de frutos entre as árvores tratadas com BA 100 ppm e BA 100 ppm + ANA 10 ppm, mas as árvores do primeiro tratamento apresentam menos frutos vingados antes da monda química. Em 2012, as condições

climáticas foram menos favoráveis, a temperatura máxima, no dia da aplicação foi de 17,1 °C e durante os 4 dias seguintes foi em média 17,7 °C, a humidade relativa de 79% e a velocidade do vento de 6,1 km/h, e embora não ter chovido no dia de aplicação de produtos químicos, choveu em média 5,4 mm nos três dias seguintes. Em 2013, as condições climáticas foram muito favoráveis durante, e após a aplicação (temperatura máxima após o tratamento excedeu os 18 °C, 80% a 90% de humidade relativa e sem chuva ou vento) e o número de frutos seguiu a mesma tendência do que em 2012.

Apenas em 2013, a massa média de frutos foi influenciada pelos tratamentos (P <0,001), em condições climáticas favoráveis, a BA é mais eficaz do que BA + ANA e monda manual, e a aplicação de BA a 150 ppm resultou em frutos 30% mais pesados que os frutos mondados manualmente.

Para pera 'Williams Bon Chretien' na Argentina, Curetti et al., (2011) constataram grande eficácia de BA a 150 mg / L aplicada na fase de crescimento dos frutos 10-12 mm de diâmetro. Theron et al., (2011) na África do Sul, e Dussi & Sugar (2011) na Argentina e Oregon, para a mesma cultivar obtiveram os mesmos resultados.

Maas et al., (2010) comparou aplicações de BA com BA + ANA durante três anos, concluindo que a mistura BA + ANA parece ser mais eficaz em peras 'Conference' do que BA, no entanto, de acordo com o autor a adição de ANA a BA tem a desvantagem de um efeito de diminuição do aumento de tamanho do fruto, ou seja, o tamanho do fruto aumentou menos do que o esperado com base na redução da carga de colheita. No nosso ensaio, este resultado não foi confirmado, a resposta da BA foi função da dose, isto é, quanto maior a concentração de BA utilizado, maior a massa da fruta (com diferenças significativas em 2013); e quando se compara com a mistura, somente em 2011, BA + ANA na dose mais baixa foi mais eficaz na redução do número de frutos do que BA a 100 ppm, mas sem diferenças significativas na massa dos frutos. Comparando-se as doses da mistura BA+ANA, os resultados foram estatisticamente semelhantes.

Segundo Zhang et al., (2006) a fase de divisão celular é mais importante do que a fase de alargamento das células na determinação o tamanho final do fruto. Estudos em *P. pyrifolia* indicam que o número de células no mesocarpo na altura da cessação do período de divisão celular, após a polinização, é essencial para a determinação do tamanho final do fruto. Na pereira, a divisão celular ocorre até 7-9 semanas após a plena floração (Westwood, 1978) as aplicações dos reguladores foram feitas durante a divisão celular, enquanto a monda manual foi feita já durante o período de crescimento celular. Adicionalmente as citocininas sintéticas aumentam o tamanho dos frutos, porque estimulam e estendem o período de divisão celular (Shargal et al., 2006). Em resumo, a BA aumenta o tamanho dos frutos, reduzindo a concorrência entre os frutos (efeito de monda), aumenta a divisão celular e prolonga o período de divisão celular.

Do ponto de vista comercial, em 2013, a percentagem de frutos com diâmetro <60 mm no caso da monda manual foi de 39,7%, enquanto as árvores tratadas com BA 100 e 150 ppm apresentaram 16,4 e 6,6% de frutos com diâmetro <60 mm, respetivamente (quadro 3). Apesar de ser menos eficaz, o tratamento BA 80 ppm + ANA 8 ppm, também foi estatisticamente diferente da monda manual, com 18,8% de frutos com diâmetro <60 mm.

Considerando os 3 anos, as aplicações com BA ou BA+ANA não tiveram um efeito claro no TSS ou AT mas a aplicação de BA teve um efeito na firmeza dos frutos, BA em ambas as concentrações aumentou a firmeza dos frutos, quando comparado com os frutos de árvores mondadas manualmente (P <0,001). Frutos maiores tendem a ter a firmeza da polpa menor, provavelmente devido ao maior tamanho de célula (Greene et al., 1990), no entanto em 2013, os frutos das árvores tratadas com BA eram maiores,

mas também mais firmes (5,2 kg 0,5cm⁻²), enquanto os frutos das árvores tratadas com BA + ANA eram menos firmes (3,4 kg 0,5 cm⁻²).

Em 2012, o número de flores foi 58% do número de flores de 2011, em 2013 foi 4 vezes maior do que em 2012 e em 2014 foi 29% maior do que em 2013. Apenas em 2013 os tratamentos influenciaram o número de flores do ano seguintes (P <0,001). Em 2013, a aplicação de BA 80 + ANA 8 ppm resultou no maior número de flores no ano seguinte, seguido por BA a 100 ppm, enquanto os outros tratamentos foram estatisticamente semelhantes. Em pera um efeito positivo da BA na floração do ano seguinte também foi relatada por Stern e Flaishman (2003) e Theron et al., (2011), sugerindo que, além de seu efeito de monda, a BA pode ser uma boa ferramenta, entre outras práticas, para diminuir o comportamento bianual das pomóideas.

Para a monda manual é necessário contratar de 12 a 15 trabalhadores por hectare, comparando este custo com as alternativas químicas estudadas, uma redução média de 40% é possível, com a vantagem de se obter menos frutos com diâmetro <60 mm de diâmetro. Ao considerar a média (2011-2013) do valor da produção pago aos produtores, de acordo com o calibre, e comparando os tratamentos químicos com a monda manual, há um aumento do valor da produção entre 10% (BA 100 ppm + ANA 10 ppm) para 24% (BA 150 ppm).

Conclusões

A carga teve um efeito sobre a eficiência dos agentes químicos, mas estes foram tão eficazes como a monda manual, e num ano de safra, sob condições climáticas favoráveis a BA numa concentração de 150 ppm aumentou o tamanho dos frutos em comparação com a monda manual. Doses mais baixas de BA ou de BA+ANA parecem ser eficazes em pera 'Rocha'. A adição de um agente tensioativo deve ser testada a fim de melhorar a percentagem de cobertura e a eficiência dos reguladores de crescimento. A menor dose de BA + ANA pode ser uma escolha melhor comparando com BA, devido ao seu custo mais baixo, mas o efeito da mistura (BA + ANA) sobre a qualidade dos frutos, em especial, na firmeza, deve ser avaliado. A diferenciação floral do ano seguinte não foi afetada pela BA ou BA + ANA, e num ano de safra a floração do ano seguinte foi maior para BA 100-150 ppm e BA 80 ppm + ANA 8 ppm. A monda manual após queda de junho é feita demasiado tarde para aumentar o tamanho dos frutos de forma tão eficaz como BA ou BA + ANA. Comparando o custo da monda manual com estas alternativas químicas, uma redução de custos em média de 40% é possível com a vantagem de se obter menos frutos com calibres menores num ano de safra.

Referências

- Bound, S.A. & Mitchell, L. 2002. A new post-bloom thinning agent for 'Packham's Triumph' pear. *Acta Horticulturae* 596:793-795.
- Bound, S.A., Jones, K.M. & Oakford, M.J. 1997. Post-bloom thinning with 6-benzyladenine. *Acta Horticulturae* 463: 493-499
- Bregoli, A.M., Fabbroni, C., Raimondi, V. Brunner, P. & Costa, G. 2007. 6BA and NAA effect on 'Galaxy' fruit growth, abscission and quality: a comparison between the Po Valley and the South Tyrol producing areas. *Erwerbs - Obstbau* 49: 97 – 100.
- Curetti, M., Rodríguez, R., Magdalena, C. & Rodríguez, A. 2011. Effect of concentration, application volume and the addition of a surfactant to the response of benzyladenine as thinning agent of 'William's' Pears. *Acta Horticulturae* 909:395-40.

- Dussi, M.C. & Sugar, D. 2011. Fruit thinning and fruit size enhancement with 6-benzyladenine application to 'Williams' pear. *Acta Horticulturae* 909: 403- 408.
- Gonkiewicz, A., Błaszczyk, J. & Basak, A. 2011. Chemical pear fruit thinning. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* 19:73-78.
- Greene D.W. & Autio W.R. 1994. Combination sprays with benzyladenine to chemically thin spur-type 'Delicious' apples. *HortScience* 29(8):887-890.
- Greene, D.W. & Autio, W.R. 1989. Evaluation of benzyladenine as a chemical thinner on 'McIntosh' apples. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 114:68-73.
- Greene, D.W., Autio, W.R. & Miller, P. 1990. Thinning activity of benzyladenine on several apple cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 115: 394-400.
- Jones K.M., Koen T.B., Bound S.A. & Oakford M.J. 1991. Some reservation on thinning of Fuji apples with naphthaleneacetic-acid (NAA) and ethephon, New Zealand *Journal of Crop and Horticultural Science* 19 (3): 225-228.
- Maas, F.M., Kanne, H.J. & van der Steeg, P.A.H. 2010. Chemical thinning of 'Conference' pears *Acta Horticulturae* 884: 293-304.
- McLaughlin, J.M. & Greene, D.W. 1984. Effects of BA [6-benzylamino purine], GA4+7 [gibberellins A4+7], and daminozide on fruit set, fruit quality, vegetative growth, flower initiation, and flower quality of 'Golden Delicious' apple. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 109(1): 34-39.
- Ramirez, H. & Hoad, G.V. 1981. Effects of growth substances on fruit-bud initiation in apple. *Acta Horticulturae* 120: 131-136.
- Shargal, A., Golobovich, S., Yablovich, Z., Shlizerman, L.A., Stern, R.A., Grafi, G., Lev-Yadun, S. & Flaishman, M.A. 2006. Synthetic cytokinins extend the phase of division of parenchyma cells in developing pear (*Pyrus communis* L.) fruits. *J. Hort. Sci. Biotech.* 81(5): 915-920.
- Stern, R. & Flaishman, M. 2003. Benzyladenine effects on fruit size, fruit thinning and return yield of 'Spadona' and 'Coscia' pear. *Scientia Horticulturae* 98:499-504.
- Theron, K.I., Chabikwa, T.G. & Lötze, G.F.A. 2011. Evaluation of 6-benzyladenine (BA) and Naphthylacetamide (NAD) as post-bloom thinning compounds for 'Early Bon Chrétien' Pear. *Acta Horticulturae* 909:387-393.
- Westwood, M.N. 1978. *Temperate-zone Pomology*. San Francisco, Freeman.
- Zhang, C., Tanabe, K., Wang, S., Tamura, F., Yoshida, A. & Matsumoto, K. 2006. The impact of cell division and cell enlargement on the evolution of fruit size in *Pyrus pyrifolia*. *Ann. Bot.* 98: 537-543.

Quadros e figuras

Quadro 1. Tratamentos, substâncias ativas e concentrações, produtos comerciais e quantidade, época e data de aplicação

Tratamentos s.a. e concentração	Produto comercial	mL/hl	Estado de crescimento do fruto	Data de aplicação		
				2011	2012	2013

BA 100 ppm	MaxCel®	500	10-12 mm	15/04	1/5	4/05
BA 150 ppm	MaxCel®	750	10-12 mm	15/04	1/5	4/05
BA 80 ppm ANA 8 ppm	Dira-max	200	10-12 mm	15/04	1/5	4/05
BA 100 ppm ANA 10 ppm	Dira-max	250	10-12 mm	15/04	1/5	4/05
Monda manual	-	-		04/6	14/7	30/6

A aplicação dos produtos químicos foi efetuada 16, 24 e 19 dias após a plena floração em 2011, 2012 e 2013, respetivamente. A monda manual foi feita 9, 14 e 10 semanas após a plena floração em 2011, 2012 e 2013, respetivamente

Quadro 2. Efeito de BA, BA+ANA e monda manual na produção média por árvore, número médio de frutos por árvore e massa média dos frutos.

Tratamentos	Kg/árvore			Número de Frutos/árvore			Massa dos frutos (g)		
	2011	2012	2013	2011	2012	2013	2011	2012	2013
BA 100 ppm	35,5	18,4 B	61,2	323,2 A	138,6 B	409,2 ^A _B	110,2	133,8	149,7 AB
BA 150 ppm	32,5	27,6 AB	46,1	278,1 AB	205,9 AB	272,9 B	112,5	135,5	168,8 A
BA 80 ppm	24,2	23,5 AB	53,2	211,4 B	184,0 AB	374,7 ^{AB}	115,8	128,6	142,4 BC
ANA 8 ppm									
BA 100 ppm	33,5	34,5 A	56,5	305,7 AB	266,9 A	417,0 ^A	109,2	129,5	135,6 BC
ANA 10 ppm									
Monda manual	34,1	22,4 AB	51,8	305,4 AB	170,0 AB	412,6 ^A	112,0	132,3	127,0 C
Média	31,8	25,3	53,7	284,8	192,9	377,3	111,9	132,0	144,7
EPM	2,9	2,7	3,2	20,9	23,3	28,3	6,8	4,5	4,0
Prob. F	N.S.	0,03	N.S.	0,035	0,032	0,040	NS	N.S.	0,001

EPM - erro padrão da média. Nível de significância P ou N.S. não significativo, de acordo com a análise de variância (ANOVA). Médias seguidas pela mesma letra não são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($\alpha \leq 0,05$). N= 9 árvores por tratamento.

Quadro 3. Efeito de BA, BA+ANA e monda manual na percentagem (kg) de frutos com diâmetro <60 mm e >60 mm.

Produção por ha calculada	44,1 t ha ⁻¹		35,1 t ha ⁻¹		74,6 t ha ⁻¹	
Treatments	2011		2012		2013	
	% <60 mm	% > 60 mm	% < 60 mm	% > 60 mm	% < 60 mm	% > 60 mm

BA 100 ppm	57,0	42,9	22,3	77,7	16,4 BC	83,6 AB
BA 150 ppm	49,7	50,3	23,7	76,3	6,6 C	93,4 A
BA 80 ppm ANA 8 ppm	52,7	47,3	31,1	68,9	18,8 BC	81,2 AB
BA 100 ppm ANA 10 ppm	48,9	51,1	28,7	71,3	26,1 AB	73,9 BC
Monda manual	51,5	48,7	23,2	76,8	39,7 A	60,2 C
Média	51,9	48,1	25,8	74,2	21,5	78,5
EPM	8,8	8,8	4,2	4,2	3,9	3,9
Prob. F	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	0,003	0,003

EPM – erro padrão da média. Nível de significância P ou N.S. não significativo, de acordo com a análise de variância (ANOVA). Médias seguidas pela mesma letra não são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($\alpha \leq 0,05$).

Avaliação do efeito da altura do ponto de enxertia no vigor, na produção e na qualidade dos frutos em macieiras, cv. ‘Galaxy’/M9 EMLA

Rui Maia de Sousa¹ & Fátima Calouro²

¹ INIAV, I.P. – Pólo de Atividades, em Alcobaça. 2460-059 Alcobaça, rui.sousa@iniav.pt

² INIAV, I.P. – Unidade Sistemas Agrários e Florestais e Sanidade Vegetal -Pólo da Tapada da Ajuda; Apartado 3228; 1301-903 Lisboa, fatima.calouro@iniav.pt

Resumo

A altura do ponto de enxertia influencia o vigor e a produção das árvores, bem como a qualidade dos frutos, conforme referem vários autores (Masseron, 1989). Para avaliar essa influência nas condições edafoclimáticas de Alcobaça, instalou-se, em 2004, um ensaio em macieiras com a cv. ‘Galaxy’, enxertada em M9 EMLA. Este ensaio é composto por quatro tratamentos experimentais correspondentes a diferentes alturas do ponto de enxertia (0,10 m abaixo da superfície do solo (A); ao nível do solo (B); 0,10 m (C) e 0,20 m (D) acima da superfície do solo) com três repetições de quatro árvores úteis cada. Para avaliar anualmente o vigor das plantas, procedeu-se à determinação do diâmetro do tronco, 0,20 m acima do ponto de enxertia e à quantificação do peso da lenha da poda. A avaliação quantitativa e qualitativa da produção, à colheita, também foi efetuada anualmente, tendo sido consideradas a produção total e a sua distribuição por classes de calibre, a forma dos frutos, o peso, a cor, a dureza, o teor de sólidos solúveis e a acidez.

Os resultados obtidos revelam que as árvores sujeitas a enxertia 0,10 m abaixo da superfície do solo (tratamento experimental A) são mais vigorosas e mais produtivas que as dos restantes tratamentos experimentais, embora apresentem frutos de qualidade tendencialmente inferior à dos restantes tratamentos experimentais.

Em oito anos de resultados efetivos verifica-se que o vigor, a produção e a qualidade dos frutos foi influenciado pela altura a que se encontra a zona de enxertia.

Palavras-chave: macieira, ponto de enxertia, vigor, produção, qualidade

Abstract

The height of grafting influences tree vigor, production and fruit quality, as referred by several authors (Masseron 1989). In order to evaluate the above referred effect at Alcobaça edaphoclimatic conditions, an experiment was settled in 2004 with apple trees, cv. Galaxy grafted onto M9 EMLA. The experiment was composed of four experimental treatments (0.10 m below the ground surface (A); at ground level (B); 0.10 m (C) and 0.20 m (D) above the soil surface) with three replications of four useful trees each. To evaluate the effect of experimental treatments on tree vigor, the trunk diameter was annually measured at 0.20 m above the grafting point and the firewood from pruning was quantified. Quantitative and qualitative evaluation of production at harvest was also performed, namely total production per tree and its distribution by size, and fruit shape, weight, color, hardness, soluble solids and titratable acidity. The results show that the trees that were grafted 0.10 m below the ground surface were more vigorous and productive although with fruits of lower quality.

In general, the results of eight experimental years show that tree vigor and production, as well as fruit quality, are influenced by the budding height.

Keywords: apple tree, grafting point, vigor, yield, fruit quality, budding height

Introdução

As cultivares de macieira do grupo ‘Gala’ são cada vez mais plantadas a nível da Europa e em Portugal. A produção de maçãs deste grupo nos 28 países da Comunidade Europeia foi, em 2013, de 1.189.000 t, o que representou um aumento de 10% em relação à produção média do triénio anterior (Prognosfruit, 2013) sendo também o segundo grupo de cultivares mais plantadas. O primeiro grupo é o da ‘Golden Delicious’. Em Portugal, a produção de maçãs do grupo ‘Gala’ é de 56.000 t (Prognosfruit, 2013), verificando-se um aumento constante da produção nos últimos anos, sendo já o segundo grupo de macieiras mais cultivado. Tal como nos restantes países da Europa, em Portugal, o grupo ‘Golden Delicious’ é o principal, com uma produção de 112.000 t (Prognosfruit, 2013).

A produção de maçãs de qualidade, a preços competitivos, com recurso a fatores de produção que respeitem o meio ambiente é já um fator determinante no escoamento da produção.

A altura a que fica o ponto de enxertia, aquando da implantação das macieiras num pomar, influencia o vigor das árvores, a produção e a qualidade das maçãs, conforme referem vários autores (Masseron, 1989).

No sentido de demonstrar essa influência, instalou-se em 2004, nas condições edafoclimáticas de Alcobaça, um ensaio com uma cultivar do grupo ‘Gala’ (cv. ‘Galaxy’), enxertada em M9 EMLA, situando-se o ponto de enxertia a quatro níveis diferentes.

O objetivo deste ensaio foi o de avaliar o efeito que provoca a altura a que fica o ponto de enxertia, à implantação do pomar, no vigor das árvores, na produção e na qualidade dos frutos. Pretendeu-se, ainda, demonstrar que a plantação das árvores é uma operação cultural crucial, de difícil correção no futuro e que pode determinar a maior ou menor competitividade da produção obtida.

Material e Métodos

Caracterização do ensaio

O ensaio foi instalado a 22 de dezembro de 2004 no Campo Experimental da Quinta Nova, pertencente ao Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P. (INIAV, I.P.) - Pólo de Atividades, em Alcobaça, na parcela 7, com área de 9.000 m².

O solo é de textura franca, pouco alcalino (pH(H₂O)=8,1), com baixo teor de matéria orgânica (MO=0,75%), alto teor de fósforo (139 mg/kg⁻¹ P₂O₅) e muito alto de potássio (139 mg/kg⁻¹ K₂O).

As macieiras da cultivar ‘Galaxy’ foram plantadas de vareta inteira, ao compasso 4,5 x 1,2 m. As cultivares polinizadoras, ‘G. Smith’ e ‘Golden Reinder’s’, foram plantadas ao longo das linhas do pomar experimental, distanciadas de 18 m entre si e de forma alternada. A forma de condução utilizada foi o eixo central revestido. O sistema de rega instalado foi o de gota-a-gota, com gotejadores de 2 L/h, distanciados entre si de 1 m, ao longo da linha.

O controlo do coberto vegetal natural realizou-se através da aplicação de herbicida na linha. Na entrelinha, esse controlo foi mecânico e efetuou-se o corte sempre que a altura do coberto vegetal ultrapassasse os 0,20 m. A manutenção do pomar efetuou-se segundo as normas de Produção Integrada em vigor.

Cultivar

A cultivar ‘Galaxy’, segundo Iglesias et al. (2000), é uma mutação da cultivar ‘Royal Gala®’, obtida na Nova Zelândia por Mr.M. Kiddle. A macieira tem um porte semiereto, de vigor médio a alto, frutos de forma troncocônica ligeiramente achatados, de coloração vermelha em 50 a 100 % da superfície, segundo o ano e a posição do fruto na árvore. A maturação dos frutos ocorre cerca de um mês antes da ‘Golden Delicious’, e a colheita é geralmente, efetuada em duas passagens. A tendência para a queda dos frutos é baixa. Nas condições edafoclimáticas de Alcobaça, a plena floração nos anos de 2006 a 2014 ocorreu, em média, a 14 de abril, e a maturação dos frutos a 22 de agosto (129 dias após a plena floração).

Dispositivo experimental

O ensaio foi instalado com quatro tratamentos experimentais (diferentes alturas do ponto de enxertia à plantação), três repetições de quatro árvores úteis por cada tratamento e uma árvore de bordadura, entre cada repetição. Os tratamentos experimentais considerados foram os seguintes:

- A - Ponto de enxertia a 0,10 m abaixo da superfície do solo;
- B - Ponto de enxertia ao nível do solo;
- C - Ponto de enxertia a 0,10 m acima da superfície do solo;
- D - Ponto de enxertia a 0,20 m acima da superfície do solo.

Instalação e condução do ensaio

Em agosto de 2004 foi efetuada a colheita de amostras de terra para caracterização do estado de fertilidade do solo da parcela, e a lavoura da mesma com um trator de pneus. A 22 de dezembro do mesmo ano procedeu-se à plantação das árvores segundo os tratamentos experimentais definidos. As árvores de cada tratamento experimental foram marcadas de forma idêntica e permanente, com fita plástica.

O ensaio foi sempre mantido segundo as normas de produção integrada em vigor.

Observações efetuadas

Determinação da área seccional do tronco (AST)

No estado fenológico A procedeu-se, a partir de 2006, à determinação do diâmetro do tronco a 0,20 m acima do ponto de enxertia, em cada uma das árvores dos tratamentos experimentais. Este ponto foi marcado com um pionés para que esta determinação fosse sempre realizada no mesmo ponto ao longo dos anos de ensaio. Na determinação do diâmetro utilizou-se um parquímetro digital, tendo os resultados sido expressos em cm. No ano de 2013 não se procedeu a esta determinação.

Determinação do peso da lenha da poda

Nos primeiros anos do ensaio as intervenções de poda de inverno foram mínimas, tendo sido efetuadas algumas pequenas correções em verde, unicamente como objetivo favorecer a definição do eixo central. Estas pequenas operações não foram quantificadas. A partir de 2009 procedeu-se à quantificação e registo do peso da madeira retirada durante a poda de inverno/poda de verão, por tratamento experimental, tendo sido utilizada para o efeito uma balança dinamométrica. Os resultados foram expressos em kg.

Determinação da produção e sua distribuição por classes de calibre

A produção foi avaliada por tratamento experimental, tendo-se procedido à colheita dos frutos, árvore por árvore, numa única passagem em 2006, 2011 e 2012, e em duas nos restantes anos de ensaio. Os frutos de cada árvore foram colhidos na sua totalidade, a fim de determinar o número de frutos por classe de calibre e o peso dos mesmos. Foram consideradas as seguintes classes de calibre:]< 60 mm], [60-65 mm], [65-

70 mm], [75-80 mm] e [>80 mm]. A pesagem foi efetuada com uma balança dinamométrica, tendo os resultados sido expressos em kg.

Determinação da produção/ área seccional do tronco

Para a determinação da produção/ área seccional do tronco efetuou-se a divisão da produção pela área seccional do tronco, tendo os resultados sido expressos em kg.cm^{-2}

Em 2013 esta determinação não foi efetuada.

Análise qualitativa da produção

Em cada colheita, e após a distribuição dos frutos por classe de calibre, foram retirados aleatoriamente, por tratamento experimental, 10 frutos da classe predominante, para avaliar os parâmetros associados à sua qualidade: calibre, altura, peso, cor da epiderme, dureza, teor em amido, teor em sólidos solúveis totais e acidez total.

Na determinação do calibre e da altura dos frutos foi utilizado um parquímetro digital, sendo os resultados expressos em mm. O peso individual de cada fruto foi determinado com uma balança de precisão ao decigrama, sendo os resultados expressos em gramas.

A avaliação da cor da epiderme foi efetuada em três posições do fruto, utilizando-se um colorímetro. A cor foi avaliada num sistema de coordenadas tridimensional, usando o modelo L, a, b, no qual a cor é medida em três dimensões: luminosidade (L) e duas componentes cromáticas (**a** que varia de verde a vermelho e **b** que varia de azul a amarelo).

Para a avaliação da dureza da polpa, procedeu-se, na zona equatorial do fruto, ao corte superficial de dois discos de epiderme com cerca de 1 cm de diâmetro, em lados opostos. A avaliação foi realizada através de um penetrómetro de bolso, com uma sonda de 1cm^2 e os resultados expressos em kg.cm^{-2} .

Para determinação do índice de regressão do amido, cada fruto foi cortado em duas partes pela zona equatorial. Uma metade foi transformada em sumo por meio de centrifugação e a outra foi utilizada para o teste do amido. As metades foram colocadas durante um minuto com a face cortada voltada para baixo, num tabuleiro com o fundo coberto por uma solução de iodo; após aquele tempo foram colocadas a secar, com a face cortada voltada para cima. O índice de regressão é determinado por comparação com a Quadro europeia de regressão do amido criada pelo CTIFL (Vaysse, 2004).

O teor de sólidos solúveis totais (TSS), expresso em °Brix, obteve-se através de um refratómetro digital, com regulação automática para a temperatura, onde se colocou uma gota de sumo obtida por centrifugação de uma subamostra constituída pelas metades de cada fruto.

A acidez total dos frutos foi determinada no sumo resultante da centrifugação da supracitada subamostra (sobre uma solução de 10 ml de sumo a que se juntou 50 ml de água destilada), por titulação com hidróxido de sódio de concentração conhecida. Os resultados são expressos em gramas por litro de ácido málico.

Análise estatística dos dados experimentais

A análise estatística dos dados experimentais foi realizada através da análise de variância (ANOVA), tendo sido considerados três fatores de variação (repetição, tratamento experimental e ano de ensaio) bem como a interação ano de ensaio x tratamento experimental (a x t). A comparação de médias *a posteriori* foi efetuada através do teste de Duncan ($p=0,05$).

Resultados e Discussão

Área seccional do tronco

A área seccional do tronco permite avaliar o vigor das árvores e relacioná-lo com a produção. No quadro 1 estão expressas as médias das áreas seccionais do tronco por tratamento experimental. O tratamento experimental A (ponto de enxertia 0,10 m abaixo da superfície do solo) conduziu ao valor médio mais elevado, significativamente superior ($p=0,05$) aos restantes, que não se revelaram diferentes entre si. Verifica-se, assim, que quanto mais alto se situa o ponto de enxertia menor é a área seccional do tronco, o que está de acordo com os resultados obtidos por Vaio et al. (2009) no caso da macieira cv. Annurca', enxertada em M.9.

Lenha da poda

A madeira retirada durante a poda também é um indicador do vigor da árvore. No quadro 2 pode observar-se a quantidade média de madeira, em kg, retirada por árvore e tratamento experimental nos anos de 2009 a 2014. As árvores sujeitas ao tratamento experimental A revelaram-se as mais vigorosas, exigindo a retirada de maior quantidade de lenha de poda, significativamente superior ($p=0,05$) à dos restantes tratamentos experimentais que, de um modo geral, não se mostraram diferentes entre si. De referir que a interação a x t se mostrou significativa ($p\leq 0,05$), sendo o ano de 2013 aquele em que se retirou maior quantidade de lenha de poda nas árvores de todos os tratamentos experimentais. A menor quantidade de lenha foi retirada no tratamento D (ponto de enxertia a 0,20 m acima da superfície do solo), embora sem diferenças significativas para C (ponto de enxertia a 0,10 m acima da superfície do solo) ($p=0,05$).

Estes resultados são concordantes com os obtidos no caso da área seccional do tronco, confirmando que quanto mais alto for o ponto de enxertia menor é o vigor das árvores.

Produção e sua distribuição por classes de calibre

A análise estatística dos dados experimentais relativos à produção total por árvore (quadro 3) mostra um efeito altamente significativo da interação a x t ($p\leq 0,001$), revelando um comportamento diferente dos tratamentos experimentais consoante o ano de estudo. Por outro lado, na média dos anos, observaram-se diferenças altamente significativas entre os tratamentos ($p\leq 0,001$), verificando-se que as árvores com altura do ponto de enxertia situado a 0,10 m abaixo da superfície do solo (A) foram as que produziram mais com produções significativamente superiores às dos restantes tratamentos ($p=0,05$). As menores produções foram obtidas, em média, pelas árvores sujeitas ao tratamento D (ponto de enxertia a 0,20 m acima da superfície do solo), às quais corresponderam as maiores produtividades ($1,48 \text{ kg.cm}^2$). Anualmente, não se verificaram diferenças significativas entre os quatro tratamentos ($p=0,05$), mas de 2010 a 2014, a produção total passou a ser sempre mais elevada nas árvores sujeitas ao tratamento A, e mais baixa nas do tratamento D. As produções mais elevadas foram obtidas em 2014, tendo atingido os seguintes valores médios (kg/árvore): A – 23,6 kg; B – 21,3 kg; C – 14,9 kg; D – 13,6 kg, não existindo, no entanto, diferenças significativas entre tratamentos.

Em relação à distribuição da produção total por classe de calibre dos frutos, verifica-se que, nos primeiros anos de ensaio (2006 a 2009), não houve diferenças significativas ($p=0,05$) entre tratamentos, no que diz respeito à produção média por árvore de frutos de calibre acima de 65 mm. A partir de 2010, verifica-se que as árvores do tratamento A começaram a apresentar maior percentagem de frutos com calibre abaixo

dos 65 mm, enquanto as dos tratamentos C e D mostraram uma percentagem mais elevada de frutos de calibre superior a 65 mm. Considerando a média dos nove anos de produção (quadro 3), verifica-se que as árvores do tratamento A apresentaram a percentagem mais elevada de frutos com diâmetro inferior a 65 mm, enquanto as do tratamento C mostram uma percentagem mais elevada de frutos com diâmetro acima de 65 mm.

Produção/ área seccional do tronco

Os resultados obtidos, no que diz respeito à produção e à área seccional do tronco, permitiram determinar a produção total por unidade daquela área, apresentando-se os resultados no quadro 1. Verifica-se que as macieiras do tratamento experimental D apresentam a produção total mais elevada por unidade de área seccional do tronco ($1,48 \text{ kg.cm}^{-2}$), enquanto a menor ocorreu no tratamento A ($0,99 \text{ kg.cm}^{-2}$), como seria de esperar. Resultados idênticos foram obtidos por Vaio et al. (2009), em macieiras da cultivar 'Annurca', enxertada em M.9.

Análise qualitativa da produção

Conforme referido anteriormente, a análise qualitativa da produção foi efetuada por tratamento experimental em amostras de frutos obtidos de forma aleatória na classe de calibre predominante que, de um modo geral, se situou nos [65 - 70] mm.

A análise estatística realizada aos diversos parâmetros considerados mostrou que, em todos os casos, a interação a x t foi não significativa ($p > 0,05$) pelo que o efeito dos tratamentos experimentais foi avaliado na média dos anos. Assim:

A altura do ponto de enxertia das árvores não influenciou de modo significativo ($p > 0,05$) a forma dos frutos, avaliada pela relação entre o calibre e a altura, tendo este parâmetro, em média, apresentado um valor de 1,11, característico da cultivar.

Em relação à cor da epiderme dos frutos (quadro 4), não se verificaram efeitos significativos dos tratamentos sobre os parâmetros considerados ($p > 0,05$), embora os frutos da modalidade D fossem ligeiramente mais brilhantes ($L = 43,15$).

No caso da dureza dos frutos (quadro 4), observaram-se diferenças significativas entre os tratamentos ($p \leq 0,05$), tendo os frutos das árvores correspondentes a A apresentado dureza superior aos dos restantes tratamentos ($8,96 \text{ kg.cm}^{-2}$), embora sem diferenças significativas para B. O tratamento C foi o que apresentou frutos com menor dureza ($8,44 \text{ kg.cm}^{-2}$).

Relativamente ao índice de amido dos frutos (quadro 4), o efeito dos tratamentos foi muito significativo ($p \leq 0,01$), tendo as árvores com ponto de enxertia situado a 0,10 m acima da superfície do solo conduzido ao teor médio mais elevado (6,23), sem diferença significativa ($p = 0,05$) para o tratamento D. O valor mais baixo foi obtido nos frutos das árvores com ponto de enxertia situado 0,10 m abaixo da superfície do solo (5,32) idêntico ao dos frutos provenientes das árvores com ponto de enxertia localizado ao nível do solo (5,48).

O teor de sólidos solúveis totais dos frutos (quadro 4) não foi significativamente influenciado pela altura do ponto de enxertia das árvores ($p > 0,05$), tendo o valor mais elevado sido observado nos frutos das árvores com ponto de enxertia a 0,10 m ($14,35^\circ\text{Brix}$) e 0,20 m acima da superfície do solo ($14,34^\circ\text{Brix}$). O valor médio mais baixo ocorreu nos frutos das árvores com ponto de enxertia 0,10 m abaixo da superfície do solo.

Quanto à acidez dos frutos (quadro 4), também sem diferenças significativas entre os tratamentos experimentais ($p > 0,05$), o valor médio obtido foi de $4,03 \text{ g/L}$ de ácido málico, mais elevado foi o tratamento B ($4,14 \text{ g/L}$ de ácido málico) e mais baixo em D ($3,92 \text{ g/L}$ de ácido málico).

Os resultados obtidos, relativos à qualidade dos frutos, são idênticos aos citados por outros autores, nomeadamente por Masseron (1989) que refere que *o afrancamento pode comprometer a performance de um pomar (vigor dificilmente controlável, compasso mal adaptado)*.

Conclusões

Os resultados obtidos revelam que a altura do ponto de enxertia tem influência não só no vigor, como também na produtividade das árvores e em alguns parâmetros de qualidade dos frutos.

Deste modo, árvores com ponto de enxertia localizado abaixo da superfície do solo são mais vigorosas e menos produtivas, com maior percentagem de frutos de calibre inferior e de menor qualidade (maior dureza e menor teor em amido e em sólidos solúveis).

Pelo contrário, árvores cujo ponto de enxertia se localiza acima da superfície do solo são menos vigorosas. Estas originam menor quantidade de lenha de poda, maior produtividade, maior percentagem de frutos de calibre acima dos 65 mm, frutos mais brilhantes e menos ácidos.

Assim, nas condições edafoclimáticas onde se realizou o estudo, a altura a que fica o ponto de enxertia deverá ser tida em consideração na definição do compasso a adotar, uma vez que influencia a produtividade do pomar e a qualidade dos frutos.

Agradecimentos

Os autores agradecem a todos os que contribuíram para a realização do presente estudo, em particular a Irene Boa-Fé e Manuela Cordeiro do INIAV, I.P. /Pólo de Alcobaça, Adozinda Curto, Natália Correia e Cristina Sempiterno do INIAV, I.P. /UEIS-SAFSV, por toda a dedicação e empenho manifestados.

Referências

- European Report Apple and Pear Florecastr 2013. Wapa - Prognosfruit 2013. www.wapa-association.org
- Iglesias, I.; Carbó, J.; Bonany, J.; Dalmau, R.; Guanter, G.; Montserrat, R.; Moreno, A. & Pagès, J., 2000. Manzano - Las variedades de más interés. IRTA. Barcelona.
- Masseron, A., 1989. Les porte-greffe pommier, poirier et nashi. CTIFL, Paris.
- Vaio, C.; Cirillo, C.; Buccheri, M. & Limongelli, F., 2009. Effect of interstock (M.9 and M.27) on vegetative growth and yield of apple trees (cv. "Annurca"). Scientia Horticulturae 119. p. 270-274.
- Vaysse, P.; Landry, P., 2004. Pomme - Poire de la récolte au conditionnement. Outils pratiques. CTIFL.

Quadros e figuras

Quadro 1 - Valores médios (2006 a 2014) da área seccional do tronco e da produção/AST observados por tratamento experimental.

Tratamento Experimental	Área Seccional do tronco 0,20 m acima do ponto de enxertia (cm ²)	Produção / AST (kg.cm ⁻²)
A	15,25 a	0,99 b
B	9,94 b	1,40 ab
C	8,26 b	1,36 ab
D	6,38 b	1,48 a
sm (±)	2,434	0,5142

sm - Desvio padrão da média. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si de forma significativa (p=005)

Quadro 2 - Valores médios do peso da lenha de poda retirados por ano e tratamento experimental (kg/árvore).

Tratamento Experimental	Ano					
	2009	2010	2011	2012	2013	2014
A	0,53a	0,59a	0,74a	0,95a	2,67a	2,24a
B	0,40b	0,42b	0,52b	0,39b	1,58b	1,20b
C	0,18c	0,34bc	0,28c	0,23c	1,16c	0,96c
D	0,19c	0,23c	0,25c	0,16d	0,92c	0,76c
sm (±)	0,1328					

sm - Desvio padrão da média. Médias seguidas da mesma letra, dentro do mesmo ano, não diferem entre si de forma significativa (p=005)

Quadro 3 - Produção média total e por árvore e sua distribuição por classes de calibre, observadas por tratamento experimental (kg). Médias de 2006 a 2014.

Trat. Exp.	Produção total (kg)	Produção (kg.árv. ⁻¹)	Produção total (kg) / Classe de calibre (mm)					
			<60	60 – 65	65 – 70	70 – 75	75 – 80	>80
A	53,64 a	13,67 a	3,13 a	15,84 a	15,15 a	15,33 ab	3,90	0,53
B	49,63 b	12,41 b	1,82 ab	11,54 b	13,45 ab	17,44 a	4,61	0,78
C	39,15 c	9,96 c	0,49 cd	7,24 c	12,26 bc	15,10 ab	3,10	0,97
D	33,66 d	8,41 d	0,32 d	6,20 c	9,16 c	13,87 b	3,48	0,63
sm (±)	1,406	0,3511	0,4478	0,851	0,902	1,058	0,557	0,2247

sm - Desvio padrão da média. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si de forma significativa (p=005)

Quadro 4 - Características dos frutos por tratamento experimental. Médias de 2006 a 2013/ tratamento.

Trat. Exp.	L*	a*	b*	Dureza (kg.cm ⁻²)	Índice Reg. amido	TSS (°Brix)	Acidez (g.L ⁻¹ ác. málico)
A	42,71	46,96	16,20	8,96 a	5,32 b	14,26	4,12
B	42,52	45,31	16,52	8,70 ab	5,48 b	14,31	4,14
C	40,25	46,86	15,43	8,44 c	6,23 a	14,35	3,98
D	43,15	45,07	16,67	8,58 bc	6,17 a	14,34	3,92
sm (±)	0,884	0,926	0,522	0,0747	0,212	0,966	0,0714

sm - Desvio padrão da média. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si de forma significativa (p=005)

Comportamento da cultura da figueira (*Ficus carica* L.) no Alentejo

Mariana Augusta Regato¹, Idália Manuela Guerreiro², José Eduardo Regato³

¹Professora Adjunta da Escola Superior Agrária de Beja – Instituto Politécnico de Beja (Projeto SRTT) – Rua Pedro Soares, Campus do Instituto Politécnico de Beja – Apartado 6155 – 7800-295 Beja. e-mail: mare@ipbeja.pt;

²Eng. Agr. – Centro Hortofrutícola - Escola Superior Agrária de Beja – Instituto Politécnico de Beja - Rua Pedro Soares, Campus do Instituto Politécnico de Beja – Apartado 6155 – 7800-295 Beja. e-mail: idalia.costa@ipbeja.pt;

³Professor Adjunto da Escola Superior Agrária de Beja – Instituto Politécnico de Beja – Rua Pedro Soares, Campus do Instituto Politécnico de Beja – Apartado 6155 – 7800-295 Beja. e-mail: joseregato@gmail.com.

Resumo

O trabalho realizou-se no Centro Hortofrutícola da Escola Superior Agrária de Beja, no Alentejo em Portugal. Teve como objetivos o acompanhamento de um ensaio de sistemas de condução em diferentes cultivares, na cultura da figueira, num pomar instalado em Outubro de 2003. Os sistemas de condução utilizados foram o vaso e o eixo central revestido e as cultivares (cvs.) ensaiadas foram a ‘Lampa Preta’, a ‘Dauphine’, a ‘CN 250’ e a ‘Pingo de Mel’. As árvores estão instaladas com um compasso de 5 x 2,5 m.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com três repetições de cinco árvores.

Os resultados apresentados são referentes aos anos de 2010 e 2011.

Realizaram-se as observações de alguns estados fenológicos.

Determinou-se a produtividade, foi efetuada a pesagem unitária dos frutos e analisou-se a percentagem de sólidos solúveis totais.

Os resultados obtidos permitiram-nos chegar à conclusão de que as cultivares ‘Lampa Preta’, ‘CN 250’ e ‘Dauphine’ produziram figos lampos, apresentando a cultivar (cv.) ‘Lampa Preta’ a produtividade mais elevada (13820 kg ha⁻¹). As cvs. ‘Pingo de Mel’, ‘Dauphine’ e ‘CN 250’ produziram figos vindimos, sendo neste caso a produtividade mais alta, a da cv. ‘Pingo de Mel’ (24020 kg ha⁻¹).

Os figos lampos apresentaram um peso superior ao dos figos vindimos para a mesma cultivar. As cvs. ‘Dauphine’ e ‘CN 250’ obtiveram os pesos mais altos no que diz respeito aos figos lampos, apresentando a cv. ‘Lampa Preta’, o fruto com o menor peso.

Também no que diz respeito aos figos vindimos, foram os frutos das cvs. ‘Dauphine’ e ‘CN 250’, os mais pesados e os da cv. ‘Pingo de Mel’ os que apresentaram o peso mais baixo.

O teor de sólidos solúveis totais foi mais alto no caso dos figos lampos para a cv. ‘Dauphine’ e não apresentou diferenças significativas entre as cvs. no referente aos figos vindimos.

O sistema de condução em eixo foi o que permitiu as produções médias mais altas, dos figos vindimos.

Palavras-chave: Figos lampos, figos vindimos, produtividade, peso do fruto, sólidos solúveis totais.

Abstract

The trial was carried out at the Horticultural Center of Beja Agricultural College, in the Alentejo, in Portugal. The aim was monitoring an experimental trial of pruning system x cultivars in the culture of fig tree, in an orchard established in october 2003. The pruning systems used were vessel and central axis and the cultivars (cvs) tested were 'Lampa Preta', 'Dauphine', 'CN 250' and 'Pingo de Mel'. The trees are installed in a tree spacing of 5 m x 2,5 m.

The experiment was established in three randomized blocks with three repetitions. Each repetition consisted of five trees.

The results were obtained in the years 2010 and 2011.

Growth stages were observed.

Productivity and fruit weight were determined, and the soluble solids percentage were analysed.

The results obtained led to the conclusion that the cultivars 'Lampa Preta', 'CN 250' and 'Dauphine' produced early figs presenting the cultivar (cv.) 'Lampa Preta' highest productivity (13820 kg ha⁻¹). The cvs. 'Pingo de Mel', 'Dauphine' and 'CN 250' produced latest figs, in this case the cv. 'Pingo de Mel' had the highest yield (24020 kg ha⁻¹). The early figs showed a higher weight than latest figs for the same cultivar. The cvs. 'Dauphine' and 'CN 250' had the highest weight in respect to early figs, presenting the cv. 'Lampa Preta', the fruit with the lowest weight.

About the latest figs, the fruits of the cvs. 'Dauphine' and 'CN 250', were the heaviest and the cv. 'Pingo de Mel' the one that had the lowest weight.

The content of soluble solids was higher in the case of early figs for cv. 'Dauphine' and did not present significant differences between the cvs. in respect of latest figs.

The axis system was the one with the highest average yield of early figs.

Keywords: early figs, latest figs, productivity, fruit weight, soluble solids.

Introdução

Em 2011, a área da cultura da figueira em Portugal era de 86 800 hectares e a produção nacional era de 17 800 toneladas (FAO, 2013 citado em Anuário Agrícola 2013).

As Importações são de figo fresco e seco da Espanha e de figo seco da Turquia. As exportações, com pouco significado, no caso do figo fresco, têm como principais destinos a França e a Bélgica e relativamente ao figo seco Angola, França, Estados Unidos da América e Cabo Verde (INE, dados provisórios, citados em Anuário Agrícola, 2013).

As zonas de produção mais representativas situam-se no Algarve, Trás-os-Montes (Terra Quente) e Torres Novas.

A execução do *Empreendimento de Fins Múltiplos de Alqueva* veio permitir a irrigação de uma vasta área de solos com aptidão agrícola para o regadio, o que poderá conduzir a um relançamento da cultura da figueira com base em sistemas culturais adaptados às condições existentes, tornando-a numa cultura alternativa para o Alentejo.

Para dar resposta às solicitações dos agricultores da região instalou-se um ensaio de figueira em 2003.

Material e métodos

No Centro Hortofrutícola da Escola Superior Agrária, do Instituto Politécnico de Beja, estudaram-se quatro cultivares de figueira: Lampa Preta, Dauphine, CN 250 e Pingo de Mel conduzidas em dois sistemas de condução, o vaso e o eixo central revestido. O

ensaio foi instalado num compasso de 5 x 2,5 m, em blocos casualizados com três repetições de 5 árvores. O ensaio é um desenho bifatorial. É um split-plot em que as cultivares estão em blocos casualizados em cada um dos sistemas de condução.

Foram marcados quatro ramos por árvore em duas árvores por repetição, nos quais foi feita a observação de alguns dos estados fenológicos, nomeadamente: a data do intumescimento dos gomos, aparecimento dos primeiros frutos (lamos), frutos bem definidos em desenvolvimento, início da maturação e aparecimento dos primeiros frutos vindimos.

Foram feitas medições do diâmetro do tronco a 20 cm de altura no início e no fim do período de observações (desde o repouso vegetativo até à colheita) para a avaliação do vigor da árvore.

Apresenta-se o estudo relativamente aos figos lamos e aos figos vindimos nos anos de 2010 e 2011. Determinou-se a produção comercializável, a percentagem de sólidos solúveis totais e o peso médio do fruto.

Para a determinação da produção comercializável, excluíram-se os frutos de pequeno calibre, com deformações, estado avançado de maturação e danos na epiderme causados durante a colheita.

Resultados e Discussão

Estados fenológicos

O início da atividade vegetativa ocorreu entre a segunda quinzena de fevereiro e a primeira quinzena de março para todas as cultivares. Pica et al. (2006), verificaram que o abrolhamento da Lampa Preta no Algarve ocorreu de 17 de fevereiro a 8 de março.

Em meados de junho iniciou-se a maturação e a colheita dos figos lamos, que se prolongou até à primeira semana de julho. O início da colheita da cv. 'Lampa Preta' ocorreu quatro a cinco dias mais cedo, mas o final da colheita foi simultâneo para todas as cultivares.

A cultivar (cv.) Pingo de Mel foi a mais precoce, relativamente ao surgimento dos figos vindimos, que ocorreu nos princípios de maio, o que está de acordo com Sousa (2010), assim como em relação à sua colheita, que teve início nos princípios de agosto. As outras cultivares foram mais serôdias, verificando-se o aparecimento dos figos vindimos em meados de maio e ocorrendo a sua colheita desde meados de agosto até meados de setembro. A colheita foi interrompida no ano de 2011, devido à ocorrência de precipitação abundante, que danificou os figos, especialmente os da cv. CN 250, que ainda apresentava uma grande quantidade de frutos em meados de setembro.

Vigor da árvore

O diâmetro do tronco foi medido no início da atividade vegetativa e após a colheita dos figos lamos, tendo-se verificado não haver diferenças significativas entre os dois sistemas de condução, apresentando as árvores um bom vigor vegetativo em ambos.

Produção

De acordo com a análise de variância, a cultivar teve um efeito altamente significativo ($p \leq 0,001$) sobre a produção comercializável de figos lamos e vindimos e o sistema de condução um efeito significativo ($p \leq 0,05$) sobre a produção comercializável de figos lamos e um efeito altamente significativo ($p \leq 0,001$) sobre a produção comercializável de figos vindimos. O ano teve um efeito altamente significativo ($p \leq 0,001$) apenas sobre a produção comercializável de figos vindimos.

Verifica-se no quadro 1, que as cultivares ‘Lampa Preta’, ‘CN 250’ e a ‘Dauphine’ produziram figos lampos. A cv. ‘Lampa Preta’ apresentou uma produção mais alta (13820 kg ha^{-1}) do que as cultivares ‘CN 250’ e ‘Dauphine’, que não manifestaram diferenças significativas entre si.

No entanto, analisando a interação cultivar x sistema de condução (quadro 6), verifica-se que no sistema de condução em vaso, existiram diferenças significativas, relativamente à produção comercializável, entre as cvs ‘CN 250’ e ‘Dauphine’, que apresentou uma produção mais baixa.

No que diz respeito à interação ano x cultivar, no ano de 2010, a cv. ‘Lampa Preta’ não apresentou diferenças significativas relativamente à cv. ‘Dauphine’. No ano de 2010 a ‘Dauphine’ obteve uma produção mais alta do que a ‘CN 250’ e no ano de 2011, verificou-se o contrário (quadro 7).

As cultivares que produziram figos vindimos foram a ‘Pingo de Mel’, a ‘Dauphine’ e a ‘CN 250 (Petrelli)’. A cv. ‘Pingo de Mel’ apresentou a maior produção comercializável, com um valor bastante elevado de 24020 kg ha^{-1} , seguida da ‘Dauphine’ e da ‘CN 250’, com produções muito mais baixas (quadro 4), o que está de acordo com Sousa (2010), que refere que a ‘CN 250’ é uma cultivar serôdia, e que ambas não são boas produtoras de figos vindimos.

Com o sistema de condução em eixo central revestido obteve-se uma produção comercializável média mais elevada de figos lampos e de figos vindimos (quadros 2 e 5).

Relativamente aos figos lampos, de acordo com o quadro 6, apenas a cv. ‘Dauphine’ apresentou diferenças significativas entre os dois sistemas de condução, com um valor mais alto da produção comercializável, no sistema de condução em eixo.

No que diz respeito aos figos vindimos, todas as cultivares obtiveram uma produção comercializável mais elevada no sistema de condução em eixo (quadro 8).

A produção comercializável média de figos vindimos foi bastante mais baixa no ano de 2011 (quadro 5), em todas as cvs. (quadro 9), o se deveu à precipitação que ocorreu na altura da colheita (setembro), tendo danificado os frutos.

Considerando a interação ano x cultivar x sistema de condução, a produção foi mais alta no ano 2011, no caso das cvs. ‘Pingo de Mel’ e ‘Dauphine’ no sistema de condução em vaso (quadro 10), o que significa que estas duas cvs. não foram tão afetadas pelas condições climáticas, que se fizeram sentir na altura.

A análise de variância demonstrou que a cultivar e o ano tiveram um efeito altamente significativo ($p \leq 0,001$) sobre o conteúdo em sólidos solúveis totais dos figos lampos. O ano teve um efeito significativo ($p \leq 0,05$) no que diz respeito ao teor de sólidos solúveis totais dos figos vindimos.

O sistema de condução teve um efeito não significativo sobre este parâmetro nos figos lampos e vindimos.

A cultivar ‘Dauphine’ apresentou o teor mais elevado de sólidos solúveis totais (21,8 %) e diferiu estatisticamente das cultivares ‘CN 250’ (20,7 %) e ‘Lampa Preta’ (20,2 %), que não manifestaram diferenças significativas entre si (quadro 1).

Os valores apresentados são superiores aos verificados por Sousa et al. (2002) em Alcobaça, nomeadamente para a cv. ‘Dauphine’, cujo conteúdo em sólidos solúveis totais foi de 18,98 % nessa região.

No ano de 2011, os valores médios do teor de sólidos solúveis totais foram mais elevados, relativamente ao ano de 2010, nos figos lampos (quadro 3). Esta situação pode estar relacionada com a temperatura, uma vez que a temperatura média dos meses de abril, maio, junho e julho no ano de 2011 foi mais elevada do que no ano de 2010.

A cultivar teve um efeito altamente significativo ($p \leq 0,001$) sobre o peso médio do fruto nos figos lampos e vindimos.

O ano teve um efeito altamente significativo ($p \leq 0,001$) e o sistema de condução um efeito significativo ($p \leq 0,05$) sobre o peso médio do fruto nos figos lampos

As cultivares ‘Dauphine’ e ‘CN 250’ (Petrelli) apresentaram os frutos mais pesados, diferindo da cultivar Lampa Preta, no que se refere aos figos lampos (quadro 1).

O peso médio do fruto da cv. ‘Dauphine’ está de acordo com o citado por Vidaud (1997), que refere valores de 100 a 120 g para os figos lampos desta cultivar.

Verifica-se que os figos vindimos têm pesos inferiores aos dos figos lampos, apresentando a cultivar ‘Dauphine’ o peso mais elevado, seguida da ‘CN 250’ (Petrelli) e da ‘Pingo de Mel’ (quadro 4).

O peso do fruto da cv. ‘Dauphine’ está de acordo com Vidaud (1997), que refere um valor entre 60 e 70 g para os figos vindimos.

De acordo com o quadro 3, verifica-se que o peso médio dos frutos (figos lampos) foi mais elevado no ano de 2011. Esta situação pode estar relacionada com o facto de a temperatura média ter sido mais elevada no ano de 2011, nos meses em que ocorreu o engrossamento do fruto.

Observa-se no quadro 2, que os frutos lampos provenientes do sistema de condução em vaso apresentaram um peso médio mais elevado, o que pode estar relacionado com um menor número de frutos por árvore.

Conclusões

Após a realização deste trabalho, podemos concluir que nas condições climáticas de Beja, a cultura da figueira se adapta bem e pode ser uma cultura alternativa para o Alentejo.

Verificou-se que as árvores apresentaram um bom vigor vegetativo.

A cv. ‘Lampa Preta’ só produziu figos lampos e a cv. ‘Pingo de Mel’ só produziu figos vindimos. As cvs. ‘CN 250’ e ‘Dauphine’ produziram os dois tipos de frutos.

No que diz respeito aos figos lampos, a cv. ‘Lampa Preta’ apresentou as maiores produções nos dois sistemas de condução (eixo central revestido e vaso). Apenas a cv. ‘Dauphine’ apresentou uma produção mais baixa no sistema de condução em vaso. Este sistema não se mostrou o mais adequado, para esta cultivar, no que diz respeito à produção de figos lampos.

O ano teve influência, no sentido em que no ano de 2011, a cv. ‘Lampa Preta’ teve uma produção mais alta e a cv. ‘Dauphine’ uma produção mais baixa de figos lampos.

As cvs. ‘CN 250’ e ‘Dauphine’ obtiveram produções mais elevadas de lampos do que de figos vindimos.

A cv. ‘Lampa Preta’ teve o valor mais elevado de sólidos solúveis totais (21,8 %). Os frutos que apresentaram, os pesos mais altos foram os da cvs. ‘Lampa Preta’ e ‘CN 250’.

A época de colheita dos figos lampos ocorreu de meados de junho até à primeira semana de julho, iniciando-se a colheita da cv. ‘Lampa Preta’ quatro a cinco dias antes das restantes cultivares.

Relativamente aos figos vindimos, a cv. ‘Pingo de Mel’ apresentou a produção mais elevada, relativamente às outras cultivares, tanto no sistema de condução em vaso como no sistema de condução em eixo. Todas as cultivares obtiveram maiores produções no sistema de condução em eixo. Este sistema mostrou ser o mais adequado, no que diz respeito à produção de figos vindimos.

No que diz respeito à influência do ano, verificou-se que as produções médias foram mais baixas no ano de 2011, exceto para as cvs. ‘Pingo de Mel’ e ‘Dauphine’ no sistema de condução em vaso.

A cv. 'Dauphine' obteve o figo vindimo mais pesado.

A colheita dos figos vindimos decorreu de 5 de a 10 de agosto até finais de setembro para a cv. 'Pingo de Mel' e de meados de agosto até meados de setembro para as cvs. 'CN 250' e 'Dauphine'.

Referências

Gabinete de Planeamento e Políticas (GPP/MAM). 2013. Anuário Agrícola. Lisboa.

Pica, C.; Neves, A.; Gonçalves, A.; Guerrero, C.; Brito, C.; Antunes, D.; Candeias, M.; Branco, V.; Beltrão, J.; Almeida, M.; Martins, M.; Basílio, M. 2006. Tecnologia Cultural para a Produção de Figo Fresco. Resultados do projeto AGRO nº 293 'otimização da tecnologia de produção e pós-colheita do figo fresco'. Direção Regional de Agricultura do Algarve. Faro

Sousa, R. M.; Rodrigues, A. C.; Dias Pablo, F. 2002. Avaliação de Variedades de Figueira para a Produção de Figos Lamos. *Revista Vida Rural*. Agosto. Lisboa.

Sousa, R. M. 2010. Cultivares de figo, técnicas de condução e potenciais para o Brasil. 2º Simpósio Brasileiro sobre a Cultura da Figueira. Desenvolvimento Tecnológico e qualidade. Campinas.

Vidaud, J. 1997. Le Figuier. Édition Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes. Paris.

Quadros e figuras

Quadro 1 - Efeito da cultivar sobre a produção comercializável, conteúdo de sólidos solúveis totais e peso médio do fruto dos figos lamos.

Cultivar	Produção comercializável (kg ha ⁻¹)	Sólidos solúveis totais (%)	Peso médio do fruto (g)
Dauphine	10 300 b	21,8 a	116,9 a
CN 250 (Petrelli)	11 120 b	20,7 b	115,9 a
Lampa Preta	13 820 a	20,2 b	95,2 b

Nota: valores seguidos da mesma letra não variam entre si de forma significativa.

Quadro 2 - Efeito do sistema de condução sobre a produção comercializável e peso médio do fruto dos figos lamos.

Sistema de condução	Produção comercializável (kg ha ⁻¹)	Peso médio do fruto (g)
Eixo	12 162 a	108 b
Vaso	11 328 b	110 a

Nota: valores seguidos da mesma letra não variam entre si de forma significativa.

Quadro 3 - Efeito do ano sobre o conteúdo de sólidos solúveis totais e peso médio do fruto dos figos lampos.

Ano	Sólidos solúveis totais (%)	Peso médio do fruto (g)
2011	22,3 a	114 a
2010	19,5 b	104 b

Nota: valores seguidos da mesma letra não variam entre si de forma significativa.

Quadro 4 - Efeito da cultivar sobre a produção comercializável e peso médio do fruto dos figos vindimos.

Cultivar	Produção comercializável (kg ha ⁻¹)	Peso médio do fruto (g)
Pingo de Mel	24020 a	54,9 c
Dauphine	6420 b	66,1 a
CN 250 (Petrelli)	4390 c	60,7 b

Nota: valores seguidos da mesma letra não variam entre si de forma significativa.

Quadro 5 - Efeito do sistema de condução e do ano sobre a produção comercializável de figos vindimos.

Produção comercializável de figos vindimos (kg ha ⁻¹)			
Sistema de condução	Ano		
Eixo	14 267 a	2010	13242 a
Vaso	8 950 b	2011	9975 b

Nota: valores seguidos da mesma letra não variam entre si de forma significativa.

Quadro 6 - Efeito médio da interação cultivar x sistema de condução sobre a produção comercializável dos figos lampos (kg ha⁻¹).

	Eixo	Vaso
Lampa Preta	13840 a	13800 a
CN 250	10760 b	11480 b
Dauphine	11890 b	8712 c

Nota: valores seguidos da mesma letra não variam entre si de forma significativa.

Quadro 7 - Efeito médio da interação ano x cultivar sobre a produção comercializável dos figos lampos (kg ha⁻¹).

	Lampa Preta	CN 250	Dauphine
2010	12230 b	10570 c	12720 b
2011	15410 a	11670 bc	7883 d

Nota: valores seguidos da mesma letra não variam entre si de forma significativa.

Quadro 8 - Efeito médio da interação cultivar x sistema de condução sobre a produção comercializável dos figos vindimos (kg ha⁻¹)

	Eixo	Vaso
Pingo de Mel	28360 a	19670 b
CN 250	5098 d	3683 e
Dauphine	9342 c	3498 e

Nota: valores seguidos da mesma letra não variam entre si de forma significativa.

Quadro 9 - Efeito médio da interação ano x cultivar sobre a produção comercializável de figos vindimos (kg ha⁻¹)

	Pingo de Mel	CN 250	Dauphine
2010	25 618	5305	8804
2011	22413	3476	4036

Nota: valores seguidos da mesma letra não variam entre si de forma significativa.

Quadro 10 - Efeito médio da interação ano x cultivar x sistema de condução sobre a produção comercializável de figos vindimos (kg ha⁻¹)

	Pingo de Mel		CN 250		Dauphine	
	Eixo	vaso	Eixo	vaso	Eixo	vaso
2010	34040 a	17200 c	6498 e	4112 f	14590 d	3020 h
2011	22680 b	22140 b	3698 fgh	3253 gh	4098 f	3975 fg

Nota: valores seguidos da mesma letra não variam entre si de forma significativa

Utilização de reguladores de crescimento na citricultura. O caso da citricultura portuguesa, em comparação com outros países

Amílcar Duarte

Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade do Algarve, *Campus* de Gambelas, Edif. 8. 8005-139 Faro. E-mail: aduarte@ualg.pt

ICAAM, Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas, Universidade de Évora.

Resumo

A aplicação de reguladores de crescimento tem sido amplamente estudada em citrinos, em diferentes países. Em alguns casos, esses trabalhos levaram a uma ampla utilização de reguladores de crescimento na produção e na cadeia de comercialização dos frutos.

O estímulo do vingamento do fruto permite aumentar a produtividade dos pomares, sobretudo em tangerineiras e seus híbridos. Nestas espécies, o aumento do calibre do fruto assume também uma grande importância. A aplicação de auxinas é usada com esse objectivo em alguns países. Os reguladores de crescimento são também usados para diminuir a incidência de defeitos na casca do fruto em cultivares susceptíveis a estes problemas, tanto em campo como em pós-colheita.

Algumas cultivares de citrinos caracterizam-se por uma forte queda de frutos na fase de maturação. A aplicação de algumas auxinas é amplamente usada para diminuir a intensidade da queda.

Dado o desfasamento nos processos de maturação interna e externa do fruto, a desverdização é praticada frequentemente em algumas cultivares temporãs de laranja e tangerina e ainda noutros casos.

A aplicação de reguladores de crescimento é complexa, devido, por exemplo, aos efeitos diferentes e até opostos que algumas substâncias têm, em função do estado fenológico em que são aplicadas. A toxicidade das auxinas e de outros produtos aplicados torna ainda mais difícil a utilização dos reguladores de crescimento de plantas.

Em Portugal foram realizados vários trabalhos de investigação que provaram a eficácia destas substâncias para aumentar a produtividade e o calibre do fruto. Algumas substâncias são usadas na citricultura portuguesa mas a legislação do nosso país é mais restritiva que a de outros países, quanto ao uso de reguladores de crescimento. A generalização da produção integrada e o modo de produção biológico colocam novas questões quanto aos métodos de controlo da frutificação, abrindo portas à sua substituição por outras técnicas, como é o caso da incisão anelar.

Interessa analisar ainda a intensidade de utilização de reguladores de crescimento em países que competem com Portugal no mercado europeu e ainda naqueles que exportam fruta para Portugal.

Palavras-chave: *Citrus*, citrinos, laranjeira, tangerineira, vingamento, calibre do fruto.

Abstract

Use of growth regulators in citrus. The case of the Portuguese citrus industry, compared with other countries

The application of plant growth regulators has been widely studied in citrus in different countries. In some cases, these works have led to a broad use of growth regulators in the production and commercialization chain.

The stimulation of the fruit set of the fruit can increase the productivity of the orchards, especially in mandarin and their hybrids. In these species, the increase in the diameter of the fruit is also of great importance. Application of auxins is used for this purpose in some countries. Growth regulators are also used to decrease the incidence of defects in the rind of the fruit cultivars susceptible to these problems, both in the field and post-harvest.

Some cultivars of citrus fruits are characterized by intense fruit drop during ripening of the fruit. The application of some auxin is widely used to decrease the intensity of fruit drop.

Given the lag in the process of internal and external maturation, the degreening is often practiced in some early ripening mandarin and orange cultivars, as well as in other cases.

The application of growth regulators is complex, due to, for example, the different and even opposite effects that certain substances have, depending on the growth stage in which they are applied. The toxicity of auxin and other products applied makes it even more difficult the use of plant growth regulators.

In Portugal various research work demonstrated the effectiveness of these substances, to increase productivity and fruit size. Some substances are used in Portuguese citrus industry but the laws of our country are more restrictive than that of other countries, regarding the use of plant growth regulators. Generalization of integrated production and the extension of organic farming raises new questions about the methods to control of fruiting, opening doors to their replacement by other techniques, such as girdling.

It is also important to analyze the intensity of use of plant growth regulators in countries that compete with Portugal in the European market and even those who export fruits to Portugal.

Keywords: Citrus, orange, mandarin, fruit set, fruit size

Introdução

Os mercados das frutas são cada vez mais competitivos, exigindo fruta de qualidade elevada a preços muitas vezes baixos. Estas exigências colocam uma enorme pressão sobre o sector da produção, no sentido de produzir mais e melhor, e a baixo custo. É neste quadro que os agricultores vêem a aplicação de reguladores de crescimento como mais um recurso tecnológico para otimizar a produção.

Os conhecimentos científicos em biologia e fisiologia vegetal permitiram que nas últimas décadas se tenha desenvolvido um conjunto amplo de técnicas de controlo da frutificação dos citrinos e melhoria da qualidade do fruto, baseadas na aplicação de reguladores de crescimento. Estas técnicas vão desde o controlo da floração e da frutificação até à desverdização dos frutos, que simplesmente melhora o seu aspecto.

Espanha, Israel e Estados Unidos têm sido países líderes no desenvolvimento e na aplicação destas tecnologias (Kretdorn & Cohen, 1962; Rivero et al., 1969; Agustí & Almela, 1991; Goren et al., 1996) mas, a aplicação de reguladores de crescimento pratica-se hoje em diversos países, sobretudo naqueles que produzem fruta para o mercado em fresco.

A produção de frutos sem sementes, uma exigência de alguns mercados, baseada em cultivares partenocárpicas levantou problemas quanto às taxas de vingamento, por vezes demasiado baixas para conseguir uma produtividade satisfatória. A aplicação de reguladores de crescimento, a par da incisão anelar, têm conseguido minimizar o problema. A aplicação de técnicas para o aumento do calibre do fruto é usada sobretudo em tangerineiras mas também se aplica em laranjeira e outros citrinos (Guardiola & García-Luis, 2000).

As laranjeiras com frutos de umbigo apresentam uma tendência natural para a queda dos frutos durante o período de maturação. Nestes casos, a aplicação de auxinas reduz a queda de frutos, diminuindo os prejuízos do agricultor. Quando às auxinas se acrescentam giberelinas, a casca do fruto fica mais protegida contra o aparecimento de manchas e a mudança de cor da casca é retardada (Duarte & Guardiola, 1995). Mas também há cultivares que apresentam uma maturação interna adiantada relativamente à mudança da cor da casca. Os frutos destas cultivares ficam suficientemente doces para ser consumidos mas, como têm a casca verde, os consumidores têm uma percepção de que eles ainda estão ácidos. Após a colheita, estes frutos são submetidos ao processo de desverdização, durante a qual uma atmosfera enriquecida em etileno provoca a degradação das clorofilas e o fruto fica com uma cor mais alaranjada, mais atractiva para os consumidores.

A aplicação desta tecnologia apresenta dificuldades e riscos diversos. Os reguladores de crescimento eficazes em algumas cultivares podem ser completamente ineficazes noutras. O efeito conseguido numa determinada fase do desenvolvimento do fruto pode ser nulo se o tratamento for realizado com uma ou duas semanas de atraso. A mesma auxina, aplicada em momentos diferentes, pode ter efeitos opostos (Guardiola et al., 1988).

A determinação da eficácia dos reguladores de crescimento tem que ser feita para cada cultivar. O momento óptimo de aplicação só pode ser conhecido com base em estudos realizados nas mesmas condições edafoclimáticas. Qualquer erro no uso dos reguladores de crescimento pode conduzir a sérios prejuízos.

Em Portugal, a aplicação de reguladores de crescimento não tem sido frequente. Porém, a citricultura portuguesa está inserida num mercado internacional em que os reguladores de crescimento são amplamente usados. Por isso, devemos conhecer bem os benefícios e os riscos do seu uso, para que os técnicos, os agricultores e as entidades oficiais possam tomar decisões acertadas sobre o uso destas técnicas.

O objectivo deste trabalho é fazer uma síntese dos conhecimentos sobre a eficácia dos reguladores de crescimento, com base em numerosos ensaios realizados no Algarve, ao longo de vários anos.

Material e métodos

Este trabalho baseia-se nos resultados obtidos em algumas dezenas de ensaios levados a cabo no Algarve desde 1995 até aos dias de hoje. Todos os ensaios foram realizados em pomares seleccionados em explorações agrícolas da região. Os critérios gerais de selecção dos pomares foram a uniformidade das árvores, o bom vigor e a não existência de carências nutritivas evidentes. Todo o cultivo era feito pelo agricultor, seguindo os seus próprios critérios ou as recomendações técnicas habituais. Nas parcelas experimentais os agricultores não aplicavam nenhuma técnica de controlo da frutificação. Os agricultores e/ou os técnicos que davam assistência aos pomares acompanhavam os ensaios, tomando conhecimento dos tratamentos aplicados e dos resultados obtidos.

Consultou-se legislação portuguesa e espanhola, relativa ao uso de reguladores de crescimento.

Resultados e Discussão

Aumento do vingamento do fruto

Os tratamentos testados para estimular o vingamento foram a aplicação de ácido giberélico (GA₃) e a incisão anelar, como alternativa à aplicação de reguladores de crescimento. Estas técnicas foram ensaiadas em diversas cultivares de clementina e em alguns híbridos com problemas de vingamento.

A aplicação de GA₃ em clementina ‘Fina’ (*C. clementina* Hort. ex Tan.) é prática corrente noutros países. No caso do Algarve, alguns agricultores referem a necessidade de aumentar o vingamento mas estamos mais perante um caso de irregularidade de produções que perante um caso de improdutividade permanente. Nesta cultivar de clementina, num ensaio realizado na zona de Tavira, a aplicação de GA₃ aumentou significativamente o número de frutos vingados (quadro 1) (Trindade et al., 1997). Noutro ensaio, na mesma cultivar e na mesma zona, a aplicação de GA₃ não aumentou a produção, provavelmente devido ao facto de a produtividade da testemunha já ter sido muito elevada nesse ano (82,4 t ha⁻¹) (Duarte & Trindade, 2014b).

O híbrido ‘Fortune’ (*C. clementina* Hort. ex Tan. x *C. tangerina* Hort. ex Tan.) é outra das cultivares com problemas de vingamento. Também aqui se observa irregularidade na produção (Duarte e Trindade, 2014a). A aplicação de ácido giberélico não aumentou o número de frutos vingados enquanto a incisão anelar provocou um ligeiro aumento do vingamento, sem elevar a produtividade a níveis aceitáveis, nos casos de baixa produtividade do pomar (Duarte & Guardiola, 1996; Duarte e Trindade, 2014a).

A tângera ‘Ortanique’ (*C. reticulata* Blanco x *C. sinensis* Osbeck) tem como principal problema a baixa produtividade, sobretudo em pomares jovens. Em diversos ensaios realizados no Algarve ao longo de vários anos, nunca se obteve nenhum incremento no número de frutos vingados, com a utilização dos reguladores de crescimento. Por outro lado, a incisão anelar foi eficaz no aumento do número de frutos vingados, sem significativa perda de qualidade.

Aumento do calibre do fruto

Em cultivares com tendência para a produção de frutos de pequeno calibre, a aplicação de auxinas é frequentemente usada para diminuir o número de frutos vingados e para estimular directamente o crescimento do fruto, aumentando o seu calibre. No Algarve, foi ensaiada a aplicação de ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) em cultivares relativamente às quais os agricultores e as organizações de produtores consideravam apresentar problemas de calibre. Em clementina ‘Fina’, a aplicação de 2,4-D provoca um aumento do calibre do fruto (quadro 2), embora em alguns ensaios não se consiga um efeito estatisticamente significativo (Trindade et al., 1997; Duarte & Trindade, 2014b). Na tangerineira ‘Clausellina’, o aumento do calibre do fruto também pode ser obtido com a aplicação de 2,4-D, ou ainda com aplicações de 2,4-DP ou NAA (Duarte et al., 2006).

A vantagem da aplicação de 2,4-D, comparativamente a outras auxinas está no facto de o efeito do tratamento não ser tão dependente do momento da aplicação como noutras auxinas. Em clementina ‘Esbal’ demonstrou-se que o período durante o qual se pode fazer o tratamento é de pelo menos 50 dias, com início na plena floração (Duarte et al., 1996).

Na laranjeira ‘Valencia Late’ (*C. sinensis* Osbeck), a aplicação de 2,4-D durante a floração conduz a um significativo aumento do calibre do fruto (quadro 2).

Controlo da queda pré-colheita

As laranjeiras de umbigo têm tendência para apresentar uma significativa queda de frutos no período de maturação do fruto, pouco antes da colheita. A aplicação de 2,4-D para evitar essa queda é um método relativamente bem conhecido e eficaz. A aplicação deve ser feita com uma concentração de 10 mg l⁻¹, na fase em que a casca do fruto está a mudar de cor, do verde para o alaranjado.

Controlo de acidentes fisiológicos do fruto

Alguns acidentes fisiológicos, como o rachamento dos frutos, podem ser agravados pela aplicação de GA₃ (García-Luis et al., 1994; 1998). Na tangerineira ‘Nova’ observa-se esse efeito negativo do ácido giberélico mas a aplicação de 2,4-D aplicado na altura da floração faz diminuir a percentagem de frutos rachados (García-Luis et al., 1998).

Em tangerina ‘Nova’, uma aplicação de GA₃ no momento da mudança de cor do fruto atrasa o processo de maturação externa e aumenta a resistência da casca. A aplicação de GA₃ + cálcio diminui a incidência de danos por frio durante o armazenamento do fruto (Duarte & Guardiola, 1995).

Aplicações em citrinos ornamentais

Em citrinos ornamentais os constrangimentos à aplicação de reguladores de crescimento são menores, dado que as plantas não se destinam à alimentação. A aplicação de paclobutrazol é uma técnica eficaz para a redução do porte de cunquatos (*Fortunella margarita* [Lour.] Swing. e *F. obovata* Tan.) ornamentais, reduzindo também o tamanho das folhas e fazendo com que estas fiquem mais arredondadas (Pinto et al. 1997).

Aspectos legais da aplicação de reguladores de crescimento

A aplicação de reguladores de crescimento, em qualquer país, só pode ser feita com produtos homologados. Com a generalização da produção integrada a todo o sector frutícola, importa comparar as normas de produção integrada de diferentes países, quanto ao uso de reguladores de crescimento.

Em Portugal, os reguladores de crescimento homologados para citrinos e não excluídos pelas normas da produção integrada (Cavaco & Calouro, 2005) são três: 1) ácido giberélico; 2) o ácido giberélico + MCPA-tioetilo e 3) ácido giberélico + ácido indol-3-ilacético + cis-zeatina.

Em Espanha, as normas de produção integrada proíbem o “uso generalizado de fitorreguladores, salvo em cultivares nas quais resulte imprescindível o seu uso e sempre sob controlo técnico ” (MAAMA, 2004). Nas exceções autorizadas, aparece o ácido giberélico (numa concentração até 10 mg l⁻¹) para estimular o vingamento de cultivares improdutivas, assim como para controlar a floração e as alterações da casca do fruto (MAAMA, 2004). É autorizada a aplicação de 2,4-D (numa concentração até 15 mg l⁻¹), para controlar a queda de frutos maduros. Também são autorizadas “outras auxinas sintéticas para aumentar o tamanho do fruto”, até 15 de junho, 15 de agosto e 15 de julho, respectivamente, para cultivares extra-temporãs, para ‘Fortune’ e para outras cultivares, desde que não haja frutos maduros na árvore (MAAMA, 2004).

Assim, apesar das limitações que existem em Portugal, é provável que grande parte da fruta importada tenha sido produzida com recurso à aplicação de reguladores de crescimento.

Conclusões

A aplicação de reguladores de crescimento constitui um método eficaz para aumentar a produtividade dos pomares de algumas cultivares de citrinos, assim como para aumentar o calibre do fruto. Porém, é necessário ter um bom domínio desta tecnologia, conhecendo bem a eficácia de cada substância em cada cultivar, assim como as concentrações e épocas mais eficazes para a aplicação.

As restrições à aplicação de reguladores de crescimento em Portugal são superiores às que existem em países com os quais temos importantes volumes de importação e exportação de fruta, como é o caso de Espanha.

Agradecimentos

O autor agradece a todos os agricultores, técnicos e dirigentes de organizações de produtores que asseguraram os recursos para a realização dos ensaios e participaram na sua realização. Agradece também todas as facilidades conseguidas nas centrais, para calibragem da fruta proveniente dos ensaios.

Grande parte dos ensaios foi realizada no âmbito do projeto PAMAF 2024 – “Modernização tecnológica da citricultura algarvia com vista à melhoria da qualidade da produção”.

Referências

- Agustí, M. & Almela, V. 1991. Aplicación de Fitorreguladores en Citricultura. Editorial AEDOS. Barcelona.
- Cavaco, M. & Calouro, F. 2005. Produção integrada da cultura de citrinos. Oeiras: DGPC, Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas.
- Duarte, A. & Trindade, D. 2014a. Produtividade irregular em tangerineira ‘Fortune’. Efeitos do ácido giberélico e da incisão anelar. Actas do 3º Simpósio Nacional de Fruticultura, 206-218.
- Duarte, A. & Trindade, D. 2014b. Melhoria da produtividade da clementina ‘Fina’, no Algarve. Actas do 2º Congresso Nacional de Citricultura, (no prelo).
- Duarte, A.M.; García-Luis, A.; Molina, R.V.; Monerri, C.; Navarro, V.; Nebauer, S.G.; Sánchez-Perales, M. & Guardiola, J.L., 2006. Long-term effect of winter gibberellic acid sprays and auxin applications on crop value of ‘Clausellina’ Satsuma. Journal of the American Society for Horticultural Science, 131 (5): 586-592
- Duarte, A.M.M. & Guardiola, J.L. 1995. Factors affecting rind pitting in the mandarin hybrids ‘Fortune’ and ‘Nova’. The influence of exogenous growth regulators. Acta Horticulturae, 379:59-66.
- Duarte, A.M.M. & Guardiola, J.L. 1996. Flowering and fruit set of ‘Fortune’ hybrid mandarin. Effect of girdling and growth regulators. Proc. Int. Soc. Citriculture, 2:1069-1071.
- Duarte, A.M.M., Trindade, D.T.G. & Guardiola, J.L. 1996. Thinning of ‘Esbal’ clementine with 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. Influence on yield, fruit size and fruit quality. Proc. Int. Soc. Citriculture, 2:929-933.
- García-Luis, A., Duarte, A.M., Porras, I., García-Lidón, A. & Guardiola, J.L., 1994. Fruit splitting in “Nova” hybrid mandarin in relation to the anatomy of the fruit and fruit set treatments. Scientia Horticulturae, 57:215-231.

- García-Luis, A., Kanduser, M., Duarte, A.M.M., & Guardiola, J.L., 1998. El rajado estilar del fruto en los cítricos. Aspectos anatomicos y morfologicos. Levante Agrícola, 37:29-33
- Goren, R., Goldschmidt, E.E. & El-Otmani, M. 1996. Plant growth regulators in citriculture . Proc. Int. Soc. Citriculture, 2:1304-1308.
- Guardiola J. L. & García-Luis, A. 2000. Increasing fruit size in Citrus. Thinning and stimulation of fruit growth. Plant Growth Regulation 31:121-132.
- Guardiola, J. L., Almela, V. & Barres, M.T. 1988. Dual effects of auxins on fruit growth in Satsuma mandarin. Sci. Hortic. 34:228-237.
- Kretdorn, A.N. & Cohen, M. 1962. The influence of chemical fruit-set sprays on yield and quality of citrus. Proc. Fla. State Hort. Soc. 75:53-60
- Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. 2004. ORDEN APA/1657/2004, de 31 de mayo, por la que se establece la norma técnica específica de la identificación de garantía nacional de producción integrada de cítricos.
- Pinto, M.J., Faustino, J.J. & Duarte, A.M.M. 1997. Aplicação de retardadores de crescimento em citrinos ornamentais. Actas de Horticultura, 17: 89-95.
- Rivero, J.M., Veyrat, P. & Gómez de Barreda, D. 1969. Improving fruit set in Clementine mandarin with chemical treatments in Spain. Proc. 1st. Int. Citrus Symp., 3:1121-1124.
- Trindade, D.T.G, Duarte, A.M.M. & Guardiola, J.L. 1997. Melhoria da produtividade da clementina 'Fina', no Algarve. Actas de Horticultura, 18: 16-21.

Quadros e figuras

Quadro 1 - Efeito da aplicação de GA₃ e da incisão anelar sobre o vingamento do fruto (número de frutos vingados por árvore) em diversas cultivares de citrinos.

Cultivar e zona	Modalidades					Significância
	Testemunha	GA ₃	2 × GA ₃	GA ₃ +I.A.	I.A.	
Clementina 'Fina' em Tavira (1)	1203	1673				P ≤ 0,05
Clementina 'Fina' em Tavira (2)	2098	2147				N.S.
Tangerina 'Fortune' em Silves	861	1029	910	957	1046	N.S.

Quadro 2 - Efeito da aplicação de 2,4-D e GA₃ sobre o peso médio do fruto (gramas) em diversas cultivares de citrinos.

Cultivar e zona	Modalidades				
	Testemunha	GA ₃	2,4-D	2,4-D + GA ₃	
Clementina 'Fina' em Tavira (1)	86	82		90	P ≤ 0,05
Clementina 'Fina' em Tavira (2)	60	54	68	63	N.S.
'Valencia Late' em Silves	163		182		P ≤ 0,05

Efeito da densidade de plantação e da cultivar na fisiologia e produção da cerejeira em Trás-os-Montes

Filipa Queirós¹, José Moutinho-Pereira¹, Carlos Correia¹, Eunice Bacelar¹, Helena Ferreira¹, Ana Paula Silva², Alberto Santos³, Ana Barros¹ & Berta Gonçalves¹

¹Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Departamento de Biologia e Ambiente, Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. E-mail: filipa_queiros@portugalmail.pt; moutinho@utad.pt; ccorreia@utad.pt; areale@utad.pt; helenaf@utad.pt; abarros@utad.pt; bertag@utad.pt

²Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Departamento de Agronomia, Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. E-mail: asilva@utad.pt

³Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD). E-mail: asantos@utad.pt

Resumo

A produção de cereja é uma atividade com tradição e importância económico-social em Trás-os-Montes. A combinação cultivar/porta-enxerto e a densidade de plantação são fatores determinantes para a exploração rentável da cultura. Contudo, são escassos os estudos conduzidos para avaliar a influência desses fatores no comportamento das árvores em termos de eficiência fotossintética e de produção. Nesta perspetiva, foram analisados alguns parâmetros fisiológicos e bioquímicos em cultivares de cerejeira ‘Skeena’ e ‘Sweetheart’ enxertadas em ‘Edabriz’ sob o efeito de três densidades de plantação (0,7, 1,4 e 2,8 x 4,5 m), na região de Carrazedo de Montenegro. Paralelamente foram registadas as produções e avaliado o crescimento vegetativo.

Observou-se que as cerejeiras espaçadas de 0,7 m na linha apresentaram os menores valores de massa por unidade de área de superfície foliar (*LMA*), taxa fotossintética (*A*), condutância estomática (*g_s*) e eficiência intrínseca do uso da água (*A/g_s*). Em termos bioquímicos, os teores de carotenóides totais (*Car_{totais}*) e de açúcares solúveis foram superiores entre as plantas menos espaçadas, as quais tiveram menor quantidade de amido. As diferenças entre cultivares foram notadas ao nível da taxa fotossintética e do peso foliar específico, surgindo *A* aumentada na ‘Sweetheart’ e o *LMA* diminuído comparativamente à ‘Skeena’. Apesar da ‘Sweetheart’ ter apresentado maior quantidade de carotenóides, a razão *Cl_{total}/Car_{totais}* foi inferior à da ‘Skeena’. As plantas ‘Sweetheart’ produziram mais 12% do que as ‘Skeena’, e foi na densidade intermédia que se registou a maior produção. As árvores deixadas a maior densidade, além de produzirem menos também cresceram menos, mas a diferença de crescimento foi de apenas 5% em relação às mais produtivas, que ficaram a 1,40 m.

Os resultados demonstram a influência da densidade de plantação no comportamento fisiológico e na produtividade da cerejeira, e sugerem a importância de ajustar os espaçamentos a cada combinação cultivar/porta-enxerto.

Palavras-chave: *Prunus avium* L.; porta-enxerto; intensificação cultural; produtividade.

Abstract

Effect of tree plant density and cultivar on sweet cherry physiology and production in Trás-os-Montes

The sweet cherry production is an activity with tradition and economic/social importance in Trás-os-Montes. The combination of cultivar/rootstock and plant density are crucial factors for the profitable exploitation of the culture. However, few studies were conducted to evaluate the influence of these factors on the tree behaviour in terms of photosynthetic efficiency and production. In this perspective, the physiological and biochemical parameters were analyzed in sweet cherry cultivars 'Skeena' and 'Sweetheart' grafted on 'Edabriz' and under the effect of three plant densities (0.7, 1.4 and 2.8 x 4.5 m) in Carrazedo Montenegro region. In parallel, the productions and the vegetative growth were recorded.

It was observed that cherry trees installed in the row at 0.7 m had the lowest values of specific leaf weight (LMA), photosynthetic rate (A), stomatal conductance (g_s) and intrinsic water use efficiency (A/g_s). At biochemical level, total carotenoids (Car_{total}) and soluble sugars concentrations were higher among less spaced plants, that had the least amount of starch. The differences among cultivars were detected in A and LMA , appearing A increased in 'Sweetheart' and LMA diminished in comparison with 'Skeena'. Despite having the highest concentration of total carotenoids, 'Sweetheart' presented the lowest Cl_{total}/Car_{total} ratio. The 'Sweetheart' trees produced 12% more than 'Skeena', the highest production being recorded in the intermediate density. The trees planted at higher density produced and grew less, however the difference in growth rate was only 5% compared to the most productive, placed at 1.40 m.

These results demonstrate the influence of plant density on the physiological behaviour and productivity of sweet cherry tree, and suggest the importance of adjusting the spacing to each cultivar/rootstock combination.

Keywords: *Prunus avium* L.; rootstock; orchard system; productivity.

Introdução

No contexto da fruticultura moderna, a cerejeira é uma cultura com muito interesse em Trás-os-Montes, em face da sua excelente adaptabilidade às condições edafoclimáticas da região, aliado ao facto de as características organolépticas do fruto serem bastante atrativas e apreciadas pelos consumidores, além da sua precocidade em relação à maioria dos frutos frescos.

Nos últimos tempos tem-se assistido a grandes mudanças na tecnologia de produção da cereja, em resultado do trabalho de investigação desenvolvido em várias estações de melhoramento, que culminou na obtenção de novas cultivares de cerejeira e dos porta-enxertos ananizantes que permitem o cultivo de árvores de pequeno porte em pomares intensivos, sob compassos mais apertados (Santos et al., 2005). Na gama dos porta-enxertos ananizantes, o 'Edabriz' é um dos mais promissores e adequados para a intensificação da cultura da cerejeira, conferindo reduções de vigor de 40 a 70% em relação às cerejeiras enxertadas em *P. avium* (Webster, 2002; Santos et al., 2006). Além da capacidade ananizante, este porta-enxerto confere forte potencial produtivo às cultivares, que começam a produzir logo à 3ª folha, o que ajuda à rápida amortização dos custos de instalação e manutenção dos pomares (Santos et al., 2006). Cordeiro et al. (2008) referem que a forte capacidade de ananização do 'Edabriz' permite aumentar as

densidades de plantação para valores na ordem das 1800 a 3600 árvores por hectare, isto é, muito superiores aos usados nos pomares tradicionais com *P. avium* (cerca de 200 plantas/ha), o que pode proporcionar produções superiores a 30 t/ha na fase adulta. Contudo, para a obtenção de colheitas regulares, abundantes e de qualidade haverá que ter em conta não só as condições edafoclimáticas e nutritivas em que as plantas se desenvolvem, mas também o vigor e o comportamento das cultivares enxertadas em ‘Edabriz’ ou em qualquer outro porta-enxerto ananicante. Santos et al. (2009) detetaram diferenças quando compararam o crescimento de três cultivares de cerejeira sobre ‘Edabriz’ instaladas em diferentes locais no norte e centro de Portugal e sob o efeito de quatro densidades de plantação. Num desses locais, Gonçalves et al. (2005, 2007) recorreram a diferentes combinações cultivar/porta-enxerto para estudar a ecofisiologia de cerejeiras ananicantes *versus* vigorosas ao nível das características morfo-anatómicas, bioquímicas e fisiológicas, porém não relacionaram esses parâmetros com as densidades de plantação.

Nesta perspetiva, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de três densidades de plantação (0,7, 1,4 e 2,8 x 4,5 m) nas variações fisiológicas e bioquímicas ocorridas nas cultivares ‘Skeena’ e ‘Sweetheart’ enxertadas em ‘Edabriz’, na região de Trás-os-Montes, concretamente em Carrazedo de Montenegro. Paralelamente as respetivas produções e o crescimento vegetativo foram comparados nas três situações em estudo.

Material e Métodos

Material vegetal e condições de crescimento

O estudo foi realizado em Carrazedo de Montenegro (41°33’N e 7°17’W; 770 m de altitude), distrito de Vila Real, em cerejeiras (*Prunus avium*) à sexta folha, das cultivares ‘Sweetheart’ e ‘Skeena’ enxertadas em ‘Edabriz’ e conduzidas em eixo vertical. A largura de entrelinhas é cerca de 4,5 metros, e a distância entre plantas na linha é 0,70, 1,40 e 2,80 m, a que correspondem densidades aproximadas de 2600, 1300 e 650 plantas por hectare, respetivamente. A rega no local foi assegurada por um sistema com dois gotejadores por planta e débito de 4 L/hora, acionado a partir de maio sempre que necessário. Não foram feitas mobilizações ao solo, tendo-se optado por instalar uma cobertura permanente à base de trevo morango (*Trifolium fragiferum* L.) na entre-linha, para revestimento e proteção do solo e fornecimento de azoto às árvores. As infestantes na linha foram controladas com aplicação anual de glufosinato de amónio, complementada por ligeiras deservagens manuais na proximidade das árvores. Periodicamente foram feitas adubações foliares e tratamentos sanitários, dirigidos sobretudo ao cancro bacteriano, com aplicações de cobre à queda da folhagem e antes da rebentação, e à moniliose, com fungicidas apropriados. A poda, realizada no verão logo após a colheita, serviu para limitar a altura das plantas, fomentar a renovação da madeira velha e a distribuição de luz pela copa.

No momento da colheita foram pesadas as produções de todas as árvores de cada combinação cultivar × densidade de plantação e no final do verão mediram-se os diâmetros do tronco 5 cm acima do nível do solo, uma forma expedita de avaliar o crescimento anual das árvores (Santos et al., 2009).

Determinações fisiológicas e bioquímicas

Em meados de julho (dia 19), poucos dias antes da colheita, e mais tarde em setembro (dia 5), aquando dos trabalhos de poda, em seis folhas de três árvores de cada combinação cultivar × densidade de plantação mediram-se os parâmetros de trocas gasosas [taxa fotossintética (*A*), condutância estomática (*g_s*), concentração interna de CO₂

(C_i) e taxa de transpiração (E)] recorrendo a um sistema portátil (LCpro+, Analytical Development, Hoddesdon, U.K.). Os valores de A , g_s , C_i , e E foram estimados a partir das medições de trocas gasosas utilizando as equações de von Caemmerer & Farquhar (1981). Os valores da eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s) foram calculados de acordo com Düring (1994). A área foliar foi estimada através do *software* 'WinDIAS Leaf Area Meter System' e calculada a massa por unidade de área de superfície foliar (LMA).

Para as análises bioquímicas foram preparados discos de folhas (8 mm de diâmetro), posteriormente congelados em azoto líquido e armazenados a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. As clorofilas (Cl_a e Cl_b) e carotenoides foram extraídos em acetona 80% (v/v) e quantificados por espectrofotometria (Sesták et al., 1971; Lichtenthaler, 1987). A extração dos açúcares solúveis totais foi feita através do aquecimento dos discos foliares em etanol a 80%, e a quantificação por espectrofotometria de acordo com Irigoyen et al. (1992). O amido foi extraído com ácido perclórico a 30% e quantificado segundo Osaki et al. (1991). A concentração dos fenóis totais foi determinada pelo método de Folin-Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965).

Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA), e quando as diferenças de médias se mostraram significativas ($P < 0,05$) foram separadas pelo teste de Duncan usando o *software* 'SPSS'.

Resultados e Discussão

Neste trabalho constatou-se que o padrão de variação dos parâmetros fisiológicos medidos nas folhas não foi alterado pelas datas de registo (nos períodos de colheita e pós-colheita), de tal modo que são apresentados os dados recolhidos da medição feita próximo da colheita (19 de julho). Assim, com base no Quadro 1 verifica-se que a densidade de plantação influenciou os parâmetros relacionados com as trocas gasosas, nomeadamente a taxa fotossintética (A), condutância estomática (g_s), eficiência intrínseca no uso da água (A/g_s) e a taxa de transpiração (E), não tendo a concentração de CO_2 intercelular (C_i) sido afetada pelo compasso de plantação. Com efeito, esses parâmetros surgiram diminuídos nas cerejeiras instaladas a 0,7 m na linha, observando-se que os valores de A , g_s e E foram mais elevados nas plantas deixadas a 1,4 m, enquanto que A/g_s não variou em relação às colocadas a 2,8 m. O efeito da densidade de plantação foi também significativo para a massa por unidade de área de superfície foliar (LMA) que diminuiu nas árvores plantadas a maior densidade ($P < 0,001$), sobretudo das 'Sweetheart' cujo LMA foi inferior ao das 'Skeena' (Quadro 1). As diferenças entre cultivares estenderam-se também aos parâmetros A , g_s e E cujos valores foram superiores nas folhas da 'Sweetheart'. No entanto, quando se analisa a interação da cultivar com a densidade de plantação ($C \times D$, Quadro 1) verifica-se que as folhas da 'Skeena' apresentaram os maiores valores de A , g_s , E e LMA na densidade intermédia, ao passo que na 'Sweetheart' esses parâmetros foram mais elevados nas plantas que ficaram a 2,8 m na linha. Gonçalves et al. (2008) também detetaram diferenças nas características fisiológicas e morfo-anatómicas de outras cultivares de cerejeira enxertadas em 'Edabriz' que podem ser explicadas com base nos diferentes hábitos de crescimento das mesmas. Por exemplo, a 'Van' que se apresenta com porte semi-ereto e copa pouco densa apresentou próximo à colheita maiores valores de A , g_s e LMA do que a 'Burlat' e a 'Summit', que exibem porte ereto e copas muito densas (Gonçalves et al., 2008).

À partida, as cerejeiras com hábito de crescimento aberto têm melhor distribuição da radiação, o que é favorável a uma maior eficiência fotossintética e à obtenção de

maiores produtividades (Akçay et al., 2005; Long et al., 2008). De facto, Gonçalves et al. (2008) confirmaram que a copa da ‘Van’ favoreceu uma maior transmitância de luz na altura da colheita, que se refletiu positivamente na taxa fotossintética. Das duas cultivares em estudo, a ‘Skeena’ é caracterizada por tender a formar porte prostrado, ao contrário da ‘Sweetheart’ cujo porte ereto proporciona melhor entrada de luz na copa (Lang, 2002), podendo-se assim justificar os maiores valores de A , g_s e E observados nesta cultivar. No mesmo ensaio em que decorreu o nosso estudo, Gonçalves (2013) verificou que a radiação fotossinteticamente ativa (PAR) registada na ‘Sweetheart’ foi superior à da ‘Skeena’, apesar do maior volume de copa que a primeira desenvolveu. Este resultado poderá explicar o facto dos parâmetros fisiológicos nas folhas da ‘Sweetheart’ surgirem mais elevados no compasso menos apertado.

Apesar da ‘Sweetheart’ ser considerada pouco vigorosa (Edin et al., 1997), o seu crescimento não foi significativamente diferente do registado na ‘Skeena’ (Quadro 2); contudo, o efeito da densidade de plantação foi significativo ao registarem-se os menores diâmetros do tronco nas plantas instaladas a 0,7 m e, por sua vez, os maiores nas deixadas a 2,8 m ($P < 0,001$). Estas plantas, embora tenham crescido mais, não atingiram as maiores produções, que couberam às deixadas a 1,4 m que produziram aproximadamente o dobro das árvores que ficaram mais apertadas (Quadro 2). A ‘Sweetheart’ tida como mais produtiva do que a ‘Skeena’ (Long et al., 2008), nas condições de Carrazedo de Montenegro foi a variedade que proporcionou melhores produções, sobretudo na densidade intermédia (Quadro 2). Já a ‘Skeena’ teve a maior produção por árvore na situação em que as plantas estavam distanciadas 2,8 m (Quadro 2). Aparentemente não foi pela insuficiente distribuição de luz na copa que a ‘Skeena’ foi menos produtiva na densidade intermédia pois, como referido atrás, os parâmetros fotossintéticos (A e g_s) foram mais elevados nessa condição experimental. Eventualmente, fatores ligados à condução do pomar (dificuldades no controlo pontual de infeções fúngicas e/ou ataque de afídeos), ou à própria cultivar podem explicar o diferente comportamento das duas cultivares nas nossas condições de ensaio. De qualquer modo, a ‘Sweetheart’ mostrou ser mais eficiente do ponto de vista fotossintético do que a ‘Skeena’, uma vez que os parâmetros de trocas gasosas (A , g_s , A/g_s e E) medidos nas plantas distanciadas a 1,4 m estiveram associados à maior produção.

As cultivares em estudo também diferiram entre si nos pigmentos fotossintéticos, em que a ‘Skeena’ tinha a maior concentração de clorofila total (Cl_{total}) por unidade de peso seco e a menor razão Cl_a/Cl_b (Quadro 2). Por seu lado, a ‘Sweetheart’ apresentou a maior quantidade de carotenoides totais (Car_{totais}), mas a razão Cl_{total}/Car_{totais} foi inferior à da ‘Skeena’. Em termos dos metabolitos analisados destaca-se a maior concentração de fenóis totais na ‘Sweetheart’ (Quadro 2), verificando-se que não foi significativo o efeito da cultivar nos restantes metabolitos. Em contrapartida, a influência da densidade de plantação fez-se sentir significativamente na concentração dos Car_{totais} , bem como nas concentrações dos açúcares solúveis totais e do amido. Como se pode ver no Quadro 2, a concentração de amido diminuiu nas plantas menos espaçadas, ao passo que os níveis de Car_{totais} e de açúcares aumentaram. Este resultado, reforçado pelo efeito significativo da interação da cultivar com a densidade de plantação nas concentrações dos carotenoides totais e dos metabolitos (Quadro 2), reflete o efeito da distância entre plantas na composição química das folhas. Num estudo anterior, Gonçalves et al. (2005) observaram que a composição química das folhas foi também influenciada pelo vigor das cerejeiras, sendo as concentrações de clorofila e carotenoides totais, bem como dos açúcares solúveis totais superiores nas árvores enxertadas em porta-enxertos ananizantes, enquanto que a concentração de amido era menor comparativamente às enxertadas nos mais vigorosos. Estes resultados sugerem que as características bioquímicas das folhas dependem mais

do compasso de plantação do que da cultivar em si, na medida em que o menor vigor das árvores esteve associado ao espaçamento mais curto.

Conclusões

Os resultados apresentados demonstram a influência da densidade de plantação no comportamento fisiológico das cultivares ‘Skeena’ e ‘Sweetheart’, afetando de modo diferenciado os parâmetros relacionados com as trocas gasosas e a composição química das folhas. O efeito da densidade de plantação fez-se também sentir no vigor e na produção das duas cultivares sobre ‘Edabriz’, verificando-se que a distância entre plantas na linha de 1,4 m é a que, à sexta folha, confere maiores produtividades por planta em ‘Sweetheart’ conduzida em eixo. Em ‘Skeena’, nas condições deste ensaio, a densidade que proporcionou maior produtividade por árvore, à sexta folha foi a de 650 plantas ha⁻¹ (2,80 m na linha). Este trabalho reforça a importância de ajustar os espaçamentos a cada combinação cultivar/porta-enxerto, de modo a otimizar-se a interceção da luz pelas plantas e assegurar o bom equilíbrio entre crescimento vegetativo e produção, tendo em vista a consecução de aumentos de produtividade que justifiquem melhorias na rentabilidade da cultura da cerejeira em Portugal.

Agradecimentos

Este trabalho foi suportado pelo Projecto INNOFOOD - *INNOvation in the FOOD sector through the valorization of food and agro-food by-products* - NORTE-07-0124-FEDER-0000029, financiado pelo Programa Operacional Regional do Norte de Portugal (ON.2 - O Novo Norte) no âmbito do Quadro de Referência Estratégico Nacional (QREN), através do Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER), bem como através de fundos nacionais (PIDDAC), através da Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT/MEC).

Referências

- Akçay, M.E., Fidanci, A. & Burak, M. 2005. Growth and yield of some sweet cherry cultivars grafted on ‘Gisela®5’ rootstock. *Acta Horticulturae* 795:277-281.
- Cordeiro, V., Santos, A., Santos-Ribeiro, R. & Moreira, J. 2008. Porta-enxertos. P. 115-157. In: A. Santos (eds.), *Cerejais – A árvore e o fruto*. Minerva Transmontana, Vila Real.
- Düring, H. 1994. Photosynthesis of ungrafted and grafted grapevines: effects of rootstock genotype and plant age. *American Journal of Enology and Viticulture* 45: 297-299.
- Edin, M., Lichou, J. & Saunier, R. 1997. *Cerise, les variétés et leur conduite*. Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes, Paris, 238 p.
- Gonçalves, B., Correia, C.M., Silva, A.P., Bacelar, E.A., Santos, A., Ferreira, H. & Moutinho-Pereira, J.M. 2007. Variation in xylem structure and function in roots and stems of scion–rootstock combinations of sweet cherry tree (*Prunus avium* L.). *Trees* 21:121-130.
- Gonçalves, B., Correia, C.M., Silva, A.P., Bacelar, E.A., Santos, A. & Moutinho-Pereira, J.M. 2008. Leaf structure and function of sweet cherry tree (*Prunus avium* L.) cultivars with open and dense canopies. *Scientia Horticulturae* 116:381-387.

- Gonçalves, B., Moutinho-Pereira, J., Santos, A., Silva, A.P., Bacelar, E., Correia, C. & Rosa, E. 2005. Scion–rootstock interaction affects the physiology and fruit quality of sweet cherry. *Tree Physiology* 26:93-104.
- Gonçalves, M.A.F. 2013. Relações de produção, produtividade e rendimento na cultura intensiva de cerejeira. Tese de mestrado. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, 105 p.
- Irigoyen, J.J., Emerich, D.W. & Sánchez-Díaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum* 84:55-60.
- Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148:350-382.
- Long, L.E., Nuñez-Elisea, R. & Cahn, H. 2008. Evaluation of sweetcherry cultivars and advanced selections adapted to the Pacific Northwest USA. *Acta Horticulturae* 410: 205-211.
- Osaki, M., Shinano, T. & Tadano, T. 1991. Redistribution of carbon and nitrogen compounds from the shoot to the harvesting organs during maturation in field crops. *Soil Science and Plant Nutrition* 37:117-128.
- Santos, A., Cordeiro, V., Parente, P., Carvalho, L., Santos-Ribeiro, R. & Lousada, J.L. 2009. Efeito da densidade de plantação e da cultivar no crescimento da cerejeira sobre o porta-enxerto Edabriz em quatro locais do norte e centro de Portugal. *Revista de Ciências Agrárias* 32:23-29.
- Santos, A., Santos-Ribeiro, R., Cavalheiro, J., Cordeiro, V. & Lousada, J.L. 2006. Initial growth and fruiting of ‘Summit’ sweet cherry (*Prunus avium*) on five rootstocks. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 34: 269-277.
- Santos, A., Santos-Ribeiro, R., Parente, P., Cordeiro, V., Lousada, J.L. & Carvalho, L. 2005. Rootstock and plant spacing influence sweet cherry growth in four locations of Portugal. *Acta Horticulturae* 795: 267-271.
- Sesták, Z., Catsky, J. & Jarvis, P.G. 1971. Plant photosynthetic production. Manual of methods. Dr. W. Junk Publishers, Holanda.
- Singleton, V.L. & Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16:144-158.
- von Caemmerer, S. & Farquhar, G.D. 1981. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and gas exchange of leaves. *Planta* 153: 376-387.
- Webster, T. 2002. Dwarfing rootstocks: Past, present and future. *The Compact Fruit Tree* 35: 67-72.

Quadros e figuras

Quadro 1 - Características fisiológicas das folhas (média \pm erro padrão, $n=6$) das cultivares de cerejeira 'Skeena' e 'Sweetheart' sob o efeito de três distâncias de plantação na linha (0,70, 1,4 e 2,8 m). Abreviaturas: A, taxa fotossintética; g_s , condutância estomática; A/g_s , eficiência intrínseca do uso da água; C_i , concentração interna de CO_2 ; E, taxa de transpiração; LMA, massa foliar por unidade de área. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as modalidades ($P<0,05$) e * indica o valor de P (***, $P<0,001$; **, $P<0,01$; *, $P<0,05$; n.s, não significativo).

Cultivar	Distância na linha	A ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	g_s ($\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	A/g_s ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)	C_i ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)	E ($\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	LMA (g m^{-2})
Skeena		8,07	146	65,0	265	2,83	72,7
Sweetheart		13,2	228	59,6	262	3,99	68,8
	0,70 m	7,52 a	120 a	52,2 a	253	2,57 a	64,9 a
	1,40 m	12,9 c	246 c	71,1 b	277	3,98 c	73,2 b
	2,80 m	10,1 b	172 b	63,5 b	261	3,30 b	74,4 b
Skeena	0,70 m	$5,84 \pm 0,78$	$91,3 \pm 11$	$49,6 \pm 3,5$	251 ± 10	$2,18 \pm 0,23$	$67,5 \pm 1,5$
	1,40 m	$12,4 \pm 0,83$	266 ± 23	$74,0 \pm 10,7$	281 ± 5	$4,22 \pm 0,26$	$76,0 \pm 1,9$
	2,80 m	$7,33 \pm 0,69$	114 ± 13	$66,0 \pm 4,6$	262 ± 8	$2,47 \pm 0,15$	$74,3 \pm 1,8$
Sweetheart	0,70 m	$12,6 \pm 1,21$	206 ± 26	$57,0 \pm 3,2$	258 ± 4	$3,74 \pm 0,33$	$62,3 \pm 1,8$
	1,40 m	$11,8 \pm 0,93$	209 ± 18	$62,6 \pm 3,1$	270 ± 6	$3,54 \pm 0,18$	$70,2 \pm 1,3$
	2,80 m	$15,3 \pm 1,13$	269 ± 24	$59,4 \pm 4,2$	259 ± 6	$4,70 \pm 0,24$	$74,4 \pm 2,3$
P (Cultivar C)		***	***	n.s.	n.s.	***	*
P (Distância D)		*	***	*	n.s.	**	***
P (C \times D)		***	***	n.s.	n.s.	***	n.s.

Quadro 2 – Composição química das folhas (média \pm erro padrão, $n=6$), produção e diâmetro do tronco (média \pm erro padrão, $n=18$) das cultivares de cerejeira ‘Skeena’ e ‘Sweetheart’ sob o efeito de três distâncias de plantação na linha (0,70, 1,4 e 2,8 m). Abreviaturas: Cl_{total} , clorofila total; Cl_a/Cl_b , razão entre as clorofilas a e b ; Car_{totais} , carotenoides totais; Cl_{total}/Car_{totais} , razão entre a clorofila total e os carotenoides totais. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as modalidades ($P<0,05$) e * indica o valor de P (***, $P<0,001$; **, $P<0,01$; *, $P<0,05$; n.s, não significativo).

Cultivar	Distância na linha	Diâmetro do tronco (cm)	Produção (kg árvore ⁻¹)	Cl_{total} (mg g ⁻¹)	Cl_a/Cl_b	Car_{totais} (mg g ⁻¹)	Cl_{total}/Car_{totais}	Fenóis totais (mg g ⁻¹)	Açúcares totais (mg g ⁻¹)	Amido (mg g ⁻¹)
Skeena		90,2	11,1	8,14	2,64	1,02	7,73	26,4	152	185
Sweetheart		91,1	12,6	7,41	2,99	1,25	6,23	32,6	142	174
	0,70 m	85,7 a	7,28 a	8,08	2,97	1,29 b	6,68	30,2	172 b	168 a
	1,40 m	89,5 b	14,5 c	7,54	2,70	1,06 a	7,15	27,5	154 b	186 b
	2,80 m	97,1 c	13,9 b	7,83	2,82	1,07 a	6,20	31,1	112 a	186 b
	0,70 m	79,3 \pm 0,6	5,46 \pm 0,05	8,07 \pm 0,51	2,90 \pm 0,18	1,25 \pm 0,07	7,32 \pm 1,17	31,51 \pm 1,8	208 \pm 35	155 \pm 11
Skeena	1,40 m	88,0 \pm 1,0	10,09 \pm 0,1	7,91 \pm 0,56	2,67 \pm 0,25	0,98 \pm 0,06	7,31 \pm 0,93	22,23 \pm 0,6	124 \pm 4	186 \pm 9
	2,80 m	105 \pm 1	18,37 \pm 0,1	8,44 \pm 0,79	2,42 \pm 0,24	0,83 \pm 0,08	7,00 \pm 0,13	25,01 \pm 1,6	119 \pm 17	217 \pm 10
	0,70 m	92,0 \pm 1,0	9,10 \pm 0,13	8,09 \pm 0,63	3,05 \pm 0,06	1,34 \pm 0,04	6,04 \pm 0,09	28,96 \pm 1,5	136 \pm 15	180 \pm 10
Sweetheart	1,40 m	91,0 \pm 1,4	18,7 \pm 0,2	7,19 \pm 0,42	2,74 \pm 0,18	1,14 \pm 0,05	6,99 \pm 0,98	32,39 \pm 2,4	182 \pm 19	185 \pm 10
	2,80 m	90,3 \pm 2,4	9,87 \pm 0,09	7,26 \pm 0,38	3,18 \pm 0,05	1,28 \pm 0,03	5,66 \pm 0,11	36,43 \pm 2,6	107 \pm 8	158 \pm 8
P (Cultivar C)		n.s	***	*	*	***	*	***	n.s	n.s
P (Distância D)		***	***	n.s.	n.s.	***	n.s	n.s	*	*
P (C \times D)		***	***	n.s.	n.s.	**	n.s.	***	**	***

Pêra 'Rocha' do Oeste em pomares com sistema integrado de rega de precisão: variação sazonal de parâmetros fisiológicos e bioquímicos

Susana Silvestre¹, Miguel Leão de Sousa², Jorge Soares², Délio Raimundo², Daniel Ribeiro³, Bárbara Rodrigues³, Sandra Pires³, Ana Rita Matos¹, João Daniel Arrabaça¹, Jorge Marques da Silva¹ & Anabela Bernardes da Silva¹

¹ Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências, Center for Biodiversity, Functional and Integrative Genomics (BioFIG), and Departamento de Biologia Vegetal, Campo Grande, 1749-016 Lisboa, Portugal. arsilva@fc.ul.pt

² Campotec, S.A., EN 9, Zona Industrial de Casalinhos de Alfaiata, 2560-393 Silveira, Torres Vedras, Portugal.

³ Hidrosoph, Lda., Rua Alcárcova de Baixo, 54 Sala C, 7000-841 Évora, Portugal.

Resumo

O fornecimento adequado de água para a agricultura é um imperativo cada vez mais premente, dadas as implicações económicas, sociais e ecológicas que acarreta e deverá ser ajustado a cada cultura. Tal implica uma gestão de rega criteriosa, em última análise ditada pelo desenvolvimento da cultura e a sustentabilidade do sistema. Neste projeto, foram determinados parâmetros fisiológicos e bioquímicos em árvores de quatro pomares de pêra 'Rocha', zona do Oeste, com modelos de produção diferentes, e com um sistema de rega de elevada precisão instalado (Smart Irrigation Management-Hidrovolution™ e Irristrat™, Hidrosoph, Portugal). A taxa fotossintética máxima foi tendencialmente muito idêntica (média 22 $\mu\text{mol CO}_2$ fixado $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) mas a eficiência intrínseca do uso de água diferiu entre os pomares e decresceu ao longo do ciclo de produção. Também o conteúdo em sacarose decresceu de maio para agosto, não sendo compensado pelo aumento da concentração de frutose que ocorreu em três pomares. No outro, Quinta da Junqueira, a frutose nas folhas diminuiu de maio para agosto e o conteúdo em glucose foi sempre mais elevado do que nos restantes pomares. A composição em ácidos gordos membranares mostrou que o ácido linolénico (C18:3) aumentou de maio para agosto, ao contrário do seu precursor, o ácido linoleico (C18:2). Além desta tendência geral dependente da época do ano, observaram-se diferenças específicas entre pomares, nomeadamente nos ácidos trans-hexadecenoico (C16:1t) e hexadecadienoico (C16:2), específicos dos cloroplastos. Os resultados mostram diferenças interessantes dependentes da época do ano e dos pomares, que contribuirão para uma posterior avaliação do sistema de rega de precisão e optimização da produção de pêra Rocha na zona do Oeste.

Palavras-chave: açúcares, ácidos gordos, eficiência do uso de água, fotossíntese, gestão de rega

Abstract

Seasonal variation of biochemical and physiological parameters in 'Rocha' pear orchards with precision irrigation

Water consumption is an important determinant of the environmental sustainability and economic viability of irrigated fruit orchards. Therefore a careful water management is required, where precision irrigation tuned to each culture and phenological stage plays a pivotal role. In this project, biochemical and physiological parameters were measured in trees from four 'Rocha' pear orchards with different cultural systems. In all orchards a precision irrigation system was set (Smart Irrigation Management-Hidrovolution™ e Irristrat™, Hidrosoph, Portugal). No significant differences were found between orchards and along time in the maximum photosynthetic capacity (mean value circa 22 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Nevertheless,

intrinsic water use efficiency differed between orchards and decreased along the season. Also the leaf sucrose content decreased from May to August and the fructose content increase in all except Junqueira, where a decrease was observed and the glucose content was, in turn, always high. However, the observed increase in fructose was not enough to compensate the decrease in sucrose and thereby a decrease on total soluble sugars was found. Linolenic acid (C18:3) increased from May to August, in contrast with its precursor, linoleic acid (C18:2). Differences between orchards were also found in specific chloroplast fatty acids (C16:1t and C16:2). The biochemical and physiological differences found along the season and between orchards will be incorporated in a production model of “Rocha” pear, expectedly supporting a more efficient irrigation.

Keywords: sugars, fatty acids, water use efficiency, photosynthesis, irrigation management

Introdução

A disponibilidade de água para agricultura é uma das maiores preocupações dos produtores, decisores políticos e do público em geral, pela importância que tem a nível económico, ecológico e social. Como tal, é relevante desenvolver uma estratégia de compromisso entre o gasto de água e uma maior e melhor produção. A nível nacional pretende-se um consumo médio de água para a agricultura de 800 m³/ha (INE, 2011), que deverá ser ajustado a cada cultura de modo a não comprometer uma maior e melhor produção. Tal implica uma gestão de rega criteriosa, adequada à topografia, área da parcela, tipo de solo, clima da região e ao estado de desenvolvimento da planta. A complexidade dos modelos de crescimento, desenvolvimento e produtividade das culturas agrícolas, incluindo das frutícolas, resulta da diversidade de processos envolvidos e das interações estabelecidas com as condições edafo-climáticas (para revisão ver Sousa, 2013). A fotossíntese, base da produção de matéria orgânica nas plantas, depende muito do meio edafo-climático. No entanto, em condições não limitantes de nutrientes, a fotossíntese depende essencialmente da eficiência da captação da radiação e da disponibilidade de água. (Sinclair & Hori, 1989). Assim, a maioria dos modelos de previsão da produção recorre à correlação entre a assimilação fotossintética de CO₂ e a perda de água por transpiração, isto é, à eficiência do uso de água (Penning de Vries et al., 1989).

O projecto PRODER, 4.1 Cooperação para a Inovação, nº 44894 explora o desenvolvimento experimental de um sistema de rega inteligente de elevada precisão (Smart Irrigation Management - Hidrovolution™, Hidrosoph, Évora, Portugal), ligado a um sistema de integração de dados (Irristrat™, Hidrosoph, Évora, Portugal) em pomares de pêra Rocha da zona do Oeste. Foram escolhidos quatro pomares localizados em quatro zonas de produção da região Oeste (Acipreste, Cela, Alfeizerão e Lourinhã), com densidades de plantação, susceptibilidade à alternância e técnicas de produção distintas, bem como diferentes necessidades hídricas. No âmbito deste projecto, tem sido estudada a capacidade fotossintética de pereiras representativas de cada pomar.

Espera-se que as determinações *in vivo* das trocas gasosas de CO₂ e H₂O foliares de pereiras ‘Rocha’, conjuntamente com a quantificação de açúcares solúveis (sacarose, glucose e frutose) e de ácidos gordos, permitam avaliar alterações ao longo do ciclo de produção e em diferentes condições de cultura, contribuindo para o desenvolvimento experimental do sistema de rega de elevada precisão.

Material e Métodos

Selecionaram-se quatro pomares de pêra ‘Rocha’ em quatro zonas da região Oeste de Portugal (fig. 1), localizados nas quintas do Brejo (Alfeizerão, Alcobaça), Rol (Lourinhã), Ruiva (Acipreste, Alcobaça) e Junqueira (Cela, Alcobaça). A Quinta do Brejo possui um histórico de elevada produtividade e baixa alternância, é constituída por pomares de baixa densidade (compasso de 4,5x2 m), plantadas em solos frequentemente sujeitos a alagamento no

período invernal. A Quinta do Rol é constituída por pomares intensivos (3,7x1 m) e apresenta um historial de produção mais irregular (elevada alternância). A Quinta da Junqueira apresenta densidade intermédia, alternância baixa a moderada e algumas dificuldades de crescimento na fase final de ciclo. A Quinta da Ruiva apresenta os pomares de maior densidade (3,7x1,0x0,40 com árvores em fila dupla) e uma regularidade de produção baixa, caracterizada por anos de elevada alternância. Em todos estes pomares foram instaladas sondas no solo, de forma a controlar e monitorizar a rega dos mesmos pelo *Smart Irrigation Management - Hidrovolution™* (Hidrosoph, Portugal). Foram escolhidas 3 árvores representativas de cada pomar e as medições realizadas mensalmente em folhas jovens de verdascas totalmente expandidas, (maio a agosto).

A taxa fotossintética foi medida em duas folhas não-destacadas de cada árvore com um analisador de gás por infravermelhos (LCpro+ Adc BioScientific Ltd, Great Amwell, Hertfordshire, UK) em condições controladas (50 ± 5 % relative humidity, 390 ppm CO₂, 25 ± 2 °C) e irradiâncias crescentes, curvas A/I, tal como descrito em Nunes et al. (2009). As curvas A/I foram posteriormente analisadas e os respectivos parâmetros calculados segundo Lambers et al. (1998). A eficiência intrínseca do uso de água (WUEi) foi calculada como a razão fotossíntese/conduância estomática a 1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Após as medições das curvas A/I, as folhas foram congeladas, em azoto líquido para posterior extração e quantificação de fotoassimilados e de ácidos gordos. A quantificação de fotoassimilados foi realizada em seis amostras foliares por árvore, por método enzimático utilizando o kit *Sucrose/D-Glucose/D-Fructose, UV method* (Boehringer Mannheim / R-Biopharm, Enzymatic BioAnalysis / Food Analysis. Cat. Nr. 10 716 260 035; R-Biopharm AG, Darmstadt, Deutschland) e espectrofotómetro HeLIOS β , Thermo, Electron Corporation, England).

Os ésteres metílicos de ácidos gordos (FAME) foram preparados por trans-esterificação directa de discos foliares (0,785 cm²) numa solução de metanol sulfúrico como previamente descrito em Matos et al. (2007). A separação e quantificação dos FAME foi realizada por cromatografia gasosa (3900 Gas Chromatograph, Varian) e ionização de chama numa coluna capilar de sílica (0.25 mm i.d. \times 50 m, WCOT Fused Silica, CP-Sil 88 for FAME, Varian). Analisaram-se três amostras combinadas, correspondentes a duas árvores de cada pomar, para cada tempo de amostragem. O índice de duplas ligações (DBI) foi calculado de acordo com a formula $\text{DBI} = \Sigma (\% \text{ de ácidos gordos} \times \text{no. de duplas ligações}) / 100$. A análise estatística foi realizada com SigmaPlot® Versão 11, utilizando a análise de variâncias (ANOVA) bidireccional ($P < 0,05$) para verificar a existência de diferenças entre quintas e o efeito dos meses. Os valores representados nas figuras correspondem a média \pm SD e letras diferentes por cima das barras indicam diferenças significativas entre quintas (maiúsculas) e meses (minúsculas) ($P < 0,05$).

Resultados e Discussão

A taxa fotossintética foi determinada a temperatura, humidade relativa e concentração de CO₂ constantes, e a intensidades crescentes de radiação fotossinteticamente activa (PAR, do acrónimo inglês, *Photosynthetic Active Radiation*), tendo sido calculada a taxa fotossintética máxima (A_{max}) em pereiras ‘Rocha’ de quatro pomares da zona do Oeste (fig. 1). De maio a agosto a A_{max} foi muito idêntica nos quatro pomares (fig. 2A), em média próxima dos 22 $\mu\text{mol CO}_2$ fixado $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, excepto em maio onde foi significativamente menor que nos restantes meses nas pereiras das quintas do Brejo e Junqueira. Noutros trabalhos, as taxas fotossintéticas máximas em pereiras ‘Rocha’ (Sousa, 2013) e em pereiras asiáticas (Xi et al, 2003), determinadas também em folhas do exterior da copa do terço médio dos ramos do ano, variaram um pouco mais, provavelmente porque o período em análise foi mais vasto.

A eficiência intrínseca do uso de água (WUEi, do acrónimo inglês *Water Use Efficiency*) calculada a elevada irradiância (fig. 2B), foi maior em maio e decresceu ao longo do ciclo de produção, excepto nas pereiras da parcela em estudo na quinta do Rol, evidenciando diferenças

significativas na capacidade das folhas no uso de água para fixação de CO₂ atmosférico. Sendo mais elevados os valores de WUEi obtidos em maio nas pereiras Rocha em que a A_{max} foi significativamente menor (fig. 2A), é provável que as limitações da capacidade fotossintética tenham ocorrido a nível estomático. De facto, em maio, a condutância estomática determinada nas pereiras das quintas do Brejo e Junqueira foi de 0,23 e 0,16 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente, enquanto nas restantes parcelas e meses o valor médio se situou entre 0,35-0,65 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A hipótese das folhas não terem ainda atingido a plena expansão em maio, nas parcelas referidas, não se aplica aqui dados os cuidados na escolha das folhas utilizadas nas determinações. Também nesse caso se esperaria uma maior capacidade fotossintética, como determinado em folhas de pereiras “Nijisseiki” a 70% da sua expansão máxima (Teng et al, 2002).

O conteúdo em sacarose das folhas bem expandidas variou em média entre 0,4 $\mu\text{mol cm}^{-2}$ e 0,85 $\mu\text{mol cm}^{-2}$ e foi sempre significativamente maior em maio do que em agosto (fig. 3A). Estes resultados estão de acordo com os obtidos em outras cultivares de pera em que se determinou um menor conteúdo em açúcares no início da estação de crescimento (quando as folhas não estavam completamente desenvolvidas) aumentando a partir daí até meio do período de desenvolvimento do fruto e decrescendo depois na folha por aumento da translocação para o fruto (Hudina et al., 2007). Apesar da variação idêntica do conteúdo em sacarose nos dois meses em análise, cada pomar apresentou teores de sacarose diferentes, tendo as pereiras das quintas do Brejo e Junqueira valores mais elevados e as da quinta do Rol o menor valor. É de notar que a maior concentração de sacarose foi encontrada nas folhas que apresentaram significativamente menor capacidade fotossintética, o que sugere que possa existir um diferente balanço de açúcares em maio nas pereiras dessas parcelas. Em folhas bem expandidas de pereiras Conference, Concorde e Williams a sacarose foi o açúcar solúvel encontrado em maior quantidade, seguido da frutose, sorbitol e glucose, mas esse padrão variou ao longo do desenvolvimento dos frutos e foi geneticamente dependente das cultivares (Hudina et al., 2007). Também têm sido referidas diferenças no padrão de variação dos açúcares de pereiras dependentes das práticas culturais, como a irrigação (Hudina & Stampar, 2000), nutrição (Hudina et al., 2003) ou mesmo a condução dos ramos (Ito et al., 2004), que poderão justificar as diferenças observadas entre as parcelas dos pomares de pereiras ‘Rocha’ na mesma época do ano. A concentração de glucose (fig. 3B) foi sempre menor que a de sacarose, atingindo valores médios mais elevados de cerca de 0,3 $\mu\text{mol cm}^{-2}$ e, em cada pomar, não variou entre maio e agosto. A diferença entre os pomares foi muito significativa e semelhante à que ocorreu com a sacarose. A concentração de frutose (fig. 3C) aumentou em todos os pomares de maio para agosto, com valores médios tendencialmente semelhantes em todos os pomares excepto na Junqueira. Nas pereiras deste pomar, o teor de frutose foi maior em maio e decresceu em agosto.

Sendo a sacarose um dímero de glucose e frutose, as diferenças observadas poderiam resultar dessa interconversão. Nesse caso a razão entre a sacarose e a glucose mais frutose (sac/gl+fr) deveria tender a ser constante, o que não acontece (fig. 3D). A razão sac/gl+fr foi muito diferente nos vários pomares, sendo essa diferença mais acentuada em maio em que houve cerca de 10 vezes mais sacarose do que glucose e frutose na quinta do Rol enquanto que na quinta da Junqueira essa proporção é cerca de 2,5. A concentração total nestes açúcares solúveis foi sempre maior nas folhas das pereiras da quinta da Junqueira, principalmente devido ao maior conteúdo em glucose (fig 3). Não se pode excluir que o carbono fixado pela fotossíntese possa ter sido armazenado em amido, polímero insolúvel de glucose, ou em sorbitol, alterando a disponibilidade em açúcares solúveis facilmente metabolizados e transportados. Estes carboidratos são também importantes fotoassimilados de reserva das plantas da família das Rosaceae (Noiraud et al., 2001).

A análise dos lípidos totais de folhas de pereira permitiu a identificação de oito ácidos gordos diferentes. Dois saturados (C16:0 e C18:0) e seis insaturados (C16:1, C16:2, C16:3, C18:1, C18:2 e C18:3). Do ponto de vista da biossíntese lipídica, as plantas superiores são classificadas em “18:3” ou “16:3”, sendo estas últimas caracterizadas pela presença de “16:3”

que é sintetizado no cloroplasto pela chamada “via procariótica”, ao passo que as plantas “18:3” não contêm C16:3. Visto a percentagem de C16:3 na pereira ser muito baixa relativamente à encontrada nas plantas “16:3” considera-se que se trata de uma das raras plantas com metabolismo intermédio. Os nossos resultados mostram que nas folhas de pereira o ácido linolénico (C18:3) correspondeu a cerca de 70 % dos ácidos gordos totais, quantidade essa que aumentou de Maio para Agosto (fig.4A). Por outro lado observou-se uma diminuição no conteúdo no seu precursor, ácido linoleico (C18:2) o que resultou na ausência de alterações no DBI e TPUFA (Fig 4C e D). No que diz respeito à via procariótica, observou-se um aumento em Agosto do C16:2 nas quintas do Rol e Brejo e tendência para diminuição do seu produto de dessaturação C16:3. Das diferenças observadas entre os pomares estudados destacou-se a grande variabilidade do teor em C16:1t, que apresentou valores bastante elevados na quinta do Junqueiro em Maio (Fig. 4B) (fig. 4B), o que se refletiu no elevado valor de TMUFA (fig. 4C). A quantidade deste ácido gordo diminuiu em Agosto nas amostras da Junqueira e Rol. O C16:1t está presente exclusivamente no fosfatidilglicerol do cloroplasto em estreita associação com o complexo de captação de luz da clorofila *a* e *b*. Os dois ácidos gordos saturados quando avaliados em conjunto (TSA) sofreram um aumento em Agosto, significativo apenas no pomar do Brejo (Fig 4C). Os processo de insaturação dos ácidos gordos são dependente da temperatura, da intensidade luminosa e podem sofrer alterações ao longo do desenvolvimento. Variações no teor em 18:3 foram observadas em resposta ao stress (Matos et al., 2009). O facto do teor em 18:3 aumentar nos meses estudados em paralelo com a capacidade fotossintética e o teor em clorofilas (resultados não apresentados) sugere que se trata de um processo relacionado com o desenvolvimento das folhas. A futura avaliação dos parâmetros climáticos nos períodos de amostragem permitirá também relacionar as alterações nos ácidos gordos com possíveis diferenças nos factores ambientais dos diferentes pomares no período em análise.

Conclusões

Em pereiras Rocha, parâmetros fisiológicos e bioquímicos relacionados com as trocas gasosas de CO₂ e H₂O mostraram diferenças ao longo do ciclo de produção e entre pomares, que contribuirão para uma posterior avaliação do sistema de rega de precisão em desenvolvimento experimental na zona do Oeste.

Agradecimentos

Agradecemos o apoio financeiro ao projecto PRODER, 4.1 Cooperação para a Inovação, nº 44894.

Referências

- Hudina, M. & Štampar, F. 2000. Influence of water regimes and mineral contents in soil upon the contents of minerals, sugars and organic acids in pear fruits (*Pyrus communis* L.) cv. ‘Williams’. *Phyton* 40: 91–96.
- Hudina, M., Colaric, M. & Stampar, F. 2007. Primary metabolites in the leaves and fruits of three pear cultivars during the growing season. *Canadian Journal of Plant Science* 87: 327–332.
- Hudina, M., Solar, A. & Stampar, F. 2003. Does foliar nutrition influence the pear fruit quality? *International Journal of Horticultural Science* 9: 25–28.
- Hudina, M., Solar, A. & Stampar, F. 2003. Influence of location on internal fruit quality of pear (*Pyrus communis* L.) cv. ‘Williams’. *Research reports Biotechnical Faculty University of Ljubljana* 81: 15–24.
- INE- Instituto Nacional de Estatística, I. P., 2011. O uso da água na agricultura, Lisboa, Portugal.

- Ito, A., Yoshioka, H., Hayama, H. & Kashimura, Y. 2004. Reorientation of shoots to the horizontal position influences the sugar metabolism of lateral buds and shoot internodes in Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* (Burm.) Nak.). Journal of Horticultural Science Biotechnology 79: 416–422.
- Lambers, H., Chapin III, F.S., Pons, T.L. 1998. Photosynthesis. pp. 11-91. In: Plant Physiological Ecology. Springer, The Netherlands.
- Matos, A.R., Hourton-Cabassa, C., Çiçek, D., Rezé, N., Arrabaça, J.D., Zachowski, A. & Moreau, F. 2007. Alternative oxidase involvement in cold stress response of *Arabidopsis thaliana fad2* and *FAD3+* cell suspensions altered in membrane lipid composition. Plant Cell Physiology 48: 856-865
- Matos, A.R., Laffray, D., Zuily-Fodil, Y. & Pham Thi. A.T. (2004) Effect of drought stress on lipid metabolism in the leaves of *Arabidopsis thaliana* (ecotype Columbia) Annals of Botany 94: 345-51
- Noiraud, N., Maurousset, L. & Lemoine, R. 2001. Transport of polyols in higher plants. Plant Physiology and Biochemistry 39: 717–728.
- Nunes, C.M., Araújo, S.S., Silva J.M., Fevereiro, P.S. & Silva, A.B. 2009. Photosynthesis light curves: a method for screening water deficit resistance in the model legume *Medicago truncatula*. Annals of Applied Biology, 155: 321–332
- Sinclair, T. R. & Horie, T., 1989. Leaf Nitrogen, Photosynthesis, and Crop Radiation Use Efficiency: A Review. Crop Science 29:90-98.
- Sousa, M.A.L. 2013. Avaliação de novos sistemas de produção de Pera Rocha em alta densidade com recurso à modelação e à integração de processos fisiológicos. ISA, Lisboa.
- Teng, Y., Tamura, F., Tanabe, K. & Nakai, T. 2002. Partitioning patterns of photosynthates from different shoot types in “Nijisseiki” pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). Journal of Horticultural Science & Biotechnology 77: 758-765.
- Teo, G., Suzuki, Y., Uratsu, S.L., Lampinen, B., Ormonde, N., Hu, W.K., DeJong, T.M. & Dandekar, A.M. 2006. Silencing leaf sorbitol synthesis alters long-distance partitioning and apple fruit quality. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of American 103: 18842–18847.

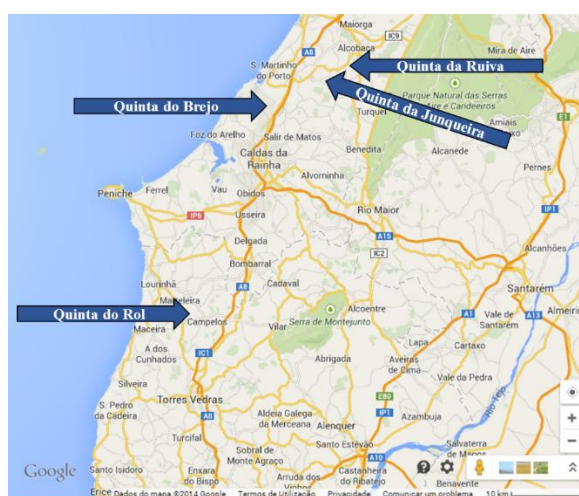


Figura 1- Mapa da zona Oeste com indicação da localização das Quintas do Rol (Lourinhã), do Brejo (Alfeizerão), da Junqueira (Cela) e Ruiva (Acipreste).

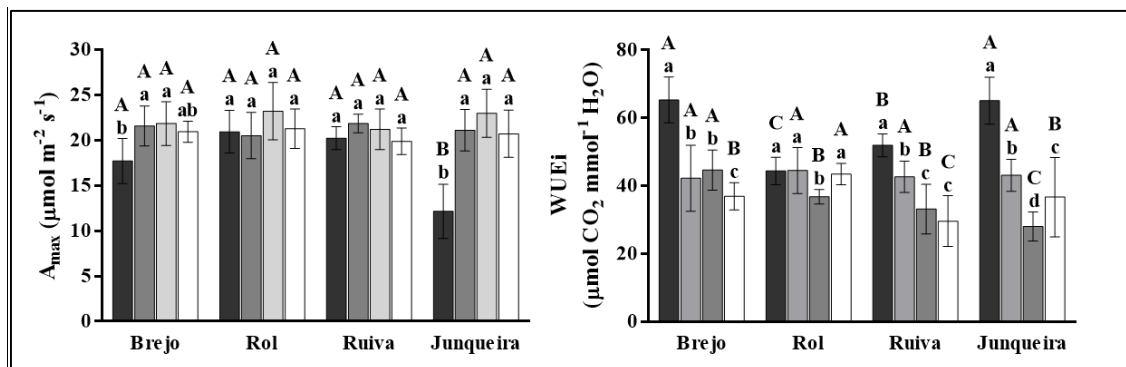


Figura 2 - A) Capacidade fotossintética máxima (A_{max}) e B) eficiência intrínseca do uso de água (WUE_i) para as Quintas do Brejo, Rol, Ruiva e Junqueira nos meses de maio, junho, julho e agosto. Letras diferentes em cima das barras indicam diferenças significativas entre quintas (maiúsculas) e meses (minúsculas) ($P < 0,05$).

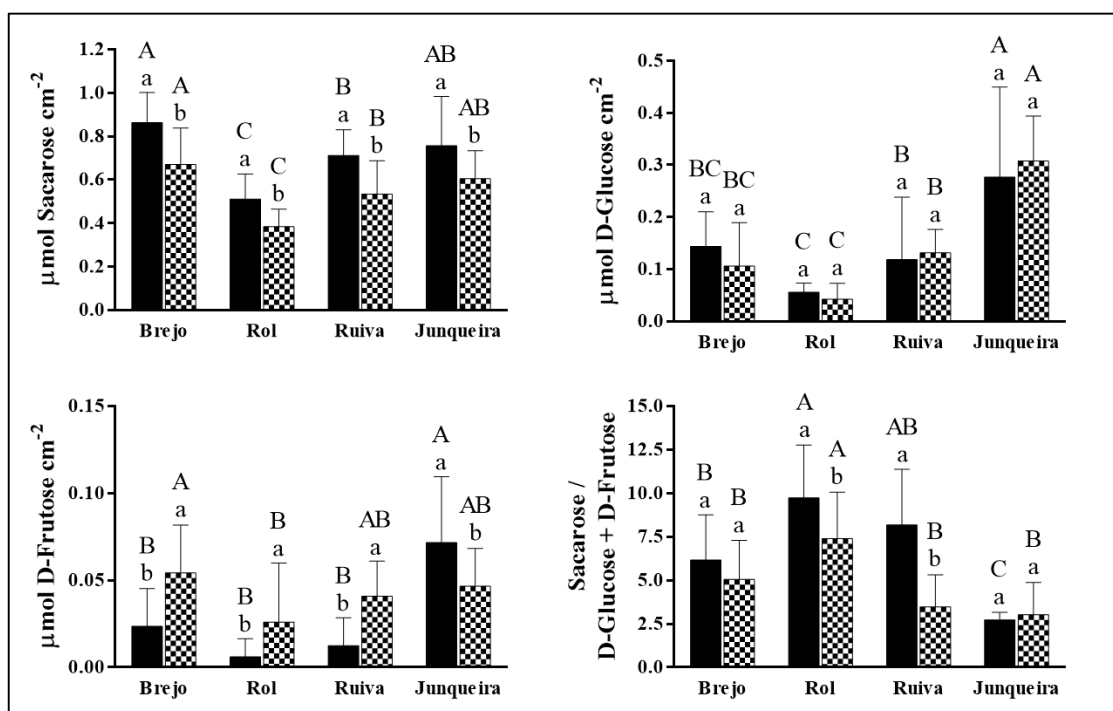


Figura 3 - Concentração de A) Sacarose, B) D-Glucose e C) D-Fructose por área de folha, e D) razão entre Sacarose e D-Glucose + D-Fructose para as Quintas do Brejo, Rol, Ruiva e Junqueira nos meses de maio (sem padrão) e agosto (com padrão). Letras diferentes em cima das barras indicam diferenças significativas entre quintas (maiúsculas) e meses (minúsculas) ($P < 0,05$).

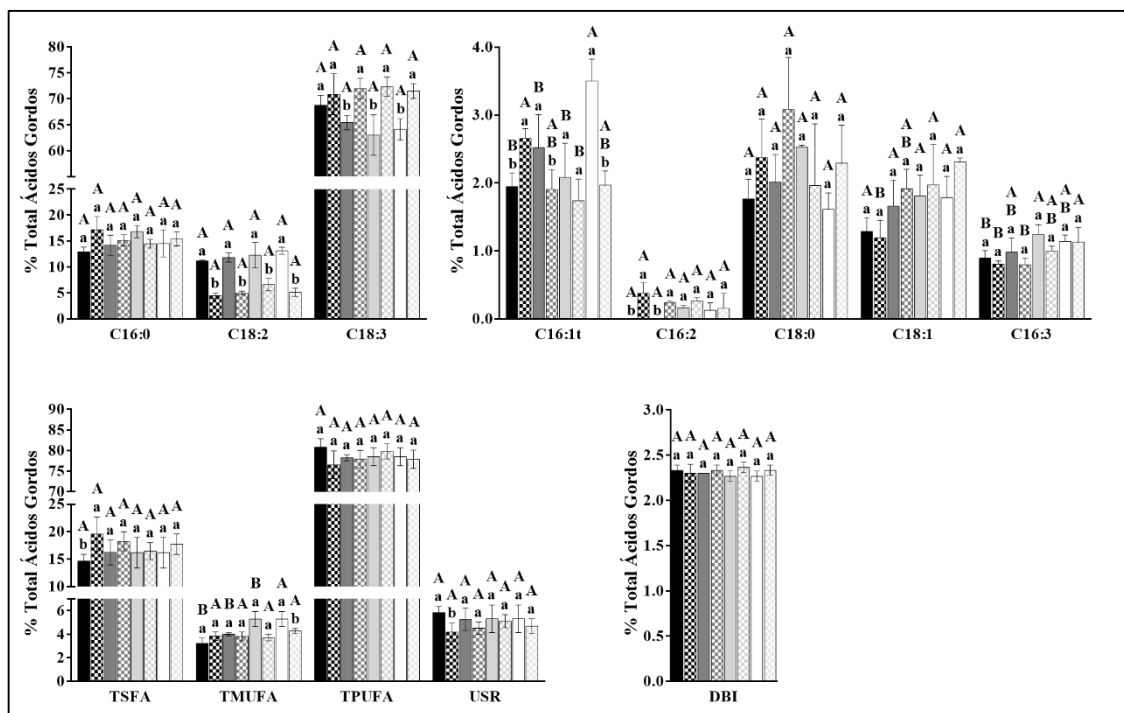


Figura 4 – Composição dos lípidos totais foliares em ácidos gordos A) C16:0, C18:2 e C18:3; B) C16:1t, C16:2, C18:0, C18:1 e C16:3; C) ácidos gordos saturados (TSFA), monoinsaturados (TMUFA), polinsaturados (TPUFA), e razão insaturados/saturados (USB); D) índice de duplas ligações (DBI) para as Quintas do ■ Brejo, ■ Rol, ■ Ruiva e □ Junqueira nos meses de maio (sem padrão) e agosto (com padrão). Letras diferentes em cima das barras indicam diferenças significativas entre quintas (maiúsculas) e meses (minúsculas) (P < 0,05).

A mecanização da poda em pereira 'Rocha' – utilização de máquina de podar de discos

A.B.Dias¹, S. Patrocínio², S. Pereira², T. Brites², V. Pita², J.M. Mota Barroso³, Tomás, C.⁴

¹ Departamento de Engenharia Rural, Escola de Ciências e Tecnologia, Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas, Instituto de Investigação e Formação Avançada, Universidade de Évora Núcleo da Mitra, Apartado 94, 7002-554 Évora, Portugal, adias@uevora.pt;

² Cooperfrutas CRL, Quinta das Freiras, Ponte do Jardim, 2460-617 Alcobaca, Portugal

³ Departamento de Fitotecnia, Escola de Ciências e Tecnologia, Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas, Instituto de Investigação e Formação Avançada, Universidade de Évora Núcleo da Mitra, Apartado 94, 7002-554 Évora, Portugal, jmmb@uevora.pt;

⁴ Fruticultor.

Resumo

A poda da pereira é uma tarefa que requer grande utilização de mão-de-obra, apesar da utilização de equipamentos de poda manual assistida.

No âmbito do projeto Proder intitulado "Avaliação da poda mecânica em pomares de pera 'Rocha', pretendem-se encontrar soluções de poda que permitam reduzir os custos e a dependência da mão-de-obra.

O ensaio foi estabelecido num pomar adulto de pereira 'Rocha' com 25 anos, instalado a 4×2 m, segundo a direção Norte-Sul, adaptado há cerca de 10 anos para eixo central revestido.

O ensaio, que decorreu de 2008 a 2011, foi delineado em blocos casualizados com três repetições. As modalidades de poda foram: T1 – poda manual assistida, com tesouras pneumáticas em cada um dos anos; T2 – poda com máquina de podar de discos; corte horizontal na parte superior da copa, em cada um dos anos e corte vertical em cada face lateral da copa, em 2008 e em 2010. Em 2011 efetuou-se, excepcionalmente, uma intervenção de poda manual para eliminação de ramos ladrões da parte interior da copa; T3 – poda com máquina de podar de discos seguida de poda manual de complemento; corte horizontal na parte superior da copa, em cada um dos anos e corte vertical nas faces laterais da copa em 2008. Poda manual de complemento em cada um dos anos.

Avaliou-se o tempo de poda e a massa de lenha de poda, mediu-se a altura e a largura das árvores antes e depois da poda e registou-se a produção obtida. A máquina de podar de discos permite efetuar o controlo da dimensão das árvores com bastante rapidez, facilitando a movimentação do trator no pomar. Na poda manual de complemento, a capacidade de trabalho dos podadores foi maior do que na estritamente manual.

A produção de pera no tratamento 2 foi sempre inferior à do tratamento 1, tendo o tratamento 3 superado o tratamento 1 apenas em um dos anos do ensaio.

Será necessário validar os resultados com um maior número de anos de ensaio.

Palavras chave: poda mecânica; fruteiras; produção

Abstract

Manual pruning with pneumatic shears is a current practice used by pear farmers in Portugal which requires intensive labour. As an alternative, mechanical pruning performed by a tractor mounted cutting bar provided with circular disc-saws can be used.

A trial to evaluate the use of the tractor mounted cutting bar in the pear tree pruning, were conducted between 2008 and 2011, in a commercial orchard of 'Rocha' pear. The orchard was planted in an array of 4×2 m, trained as a central leader system.

In this trial, in a randomised complete block design with three replications, three treatments (T1, T2, T3), with a total of 9 plots with three lines of ten trees per plot, were compared. In each plot the central line is used for parameters evaluation.

The treatments were: T1 – annual manual pruning performed by workers using pneumatic shears; T2 – mechanical pruning; annual topping the canopy parallel to the ground and hedging the two sides of the canopy in 2008 and 2010 with a manual pruning complement in 2011, in order to remove suckers from the canopy; T3 – mechanical pruning + manual pruning complement; annual topping the canopy parallel to the ground and hedging the two sides of the canopy, in 2008, followed by an annual manual pruning complement.

Tree height and width were measured, before and after pruning interventions. Also, time of pruning and weight of branches removed as well as pear yield were evaluated.

Mechanical pruning seems to be effective in controlling tree size leading to a more uniform orchard when compared to manual pruning, enabling a more efficient displacement of the tractor in the orchard. When manual pruning treatments (T1 and T3) were compared, an increase in the labour capacity was observed when the tractor mounted cutting bar was followed by manual pruning (T3).

At the third year of the trial, a decrease in pear production was registered in the trees exclusively submitted to mechanical pruning (T2), suggesting that a manual pruning complement was necessary. Though, more years of trial are essential to validate these results.

Keywords: mechanical pruning; fruit growing; yield.

Introdução

A poda de pereiras é uma tarefa que necessita de grande utilização de mão-de-obra, representando cerca de 50 a 60% dos custos de produção (Sousa, 2004), apesar da utilização de equipamentos de poda manual assistida.

No entanto, a mão-de-obra disponível é cada vez mais escassa e menos especializada, pelo que é necessário encontrar soluções que reduzam essa dependência, como pode ser o caso das máquinas de podar de discos. Em Portugal, as máquinas de podar de discos têm sido fundamentalmente utilizadas na poda do olival (Dias, 2006), embora também exista alguma experiência na utilização deste tipo de máquinas na poda de nogueiras e de citrinos.

Perante este cenário e aproveitando o conhecimento existente na Universidade de Évora sobre a mecanização da poda do olival, iniciou-se em Janeiro de 2008 a colaboração entre a Cooperfrutas e aquela Universidade na execução de um ensaio, para avaliar a utilização de uma máquina de podar de discos na pereira ‘Rocha’, cuja continuidade foi assegurada através de um projecto aprovado pelo Programa PRODER.

Material e métodos

O pomar onde se estabeleceu o ensaio está localizado na zona da Denominação de Origem Protegida “Pêra Rocha do Oeste”, em Landal - Caldas da Rainha – Portugal (39°18’28.50’’N; 9°01’15.49’’W). O pomar encontra-se instalado numa zona de várzea, junto a uma linha de água. Trata-se de um pomar de pereira ‘Rocha’ adulto, em porta-enxerto franco, instalado a 4x2 m, segundo o quadrante Norte-Sul. O pomar tem mais de 25 anos e, inicialmente, foi conduzido em vaso. Há cerca de 10 anos a condução foi adaptada para eixo central.

A organização de produtores disponibiliza aos associados acompanhamento técnico ao longo de todo o ciclo da cultura, nomeadamente nos aspectos relacionados com o controlo sanitário do pomar. Em termos de controlo de infestantes, o produtor faz aplicação de herbicida na linha de árvores e utiliza destroçador para controlar as infestantes na entrelinha. O pomar está equipado com sistema de rega gota-a-gota, permitindo a utilização da fertirrigação.

Em 2008, 2009 e 2010, utilizou-se uma máquina de podar de discos R&O, montada no carregador frontal de um trator Massey Ferguson de 50 kW de potência máxima (Fig. 1). A máquina de podar de discos é constituída por um braço de corte, no qual estão montados seis serras circulares de discos accionadas por um motor hidráulico (Dias *et al.*, 2001; Peça *et al.*, 2002; Dias, 2006). Em 2011, utilizou-se uma máquina de podar de discos David montada na parte dianteira de um trator pomareiro Same de 70kW de potência máxima (Fig. 2). Trata-se de uma máquina que dispõe de uma estrutura de fixação aos contrapesos frontais do trator. Dispõe de um sistema hidráulico autónomo accionado pela TDF do trator.

Nas intervenções de poda manual foram utilizadas tesouras pneumáticas ligadas a um compressor, cuja bomba era accionada pela tomada de força de um trator com cerca de 30 kW de potência máxima. Em 2008, 2009 e 2010, sempre que necessário, utilizaram-se escadotes para os podadores alcançarem a parte superior da copa. Em 2011, utilizou-se uma plataforma elevatória semirebocada pelo trator que acionava o compressor. Deste modo, a poda foi realizada em duas etapas: 1ª etapa – poda da parte inferior e intermédia da copa, com os podadores no solo; 2ª etapa – poda da parte superior da copa com os podadores na plataforma semi-rebocada.

Neste trabalho definiram-se os seguintes tratamentos (Quadro 1):

- Tratamento 1 (T1) – poda manual, efectuada anualmente por 3 ou 4 podadores, consoante a disponibilidade do proprietário;
- Tratamento 2 (T2) – poda com máquina de podar de discos; corte horizontal na parte superior da copa, em cada um dos anos (2008 a 2011) e corte vertical em cada face lateral da copa, em 2008 e em 2010. Em 2011, efectuou-se, excepcionalmente, uma intervenção de poda manual para eliminação de ramos ladrões da parte interior da copa;
- Tratamento 3 (T3) – poda com máquina de podar de discos seguida de poda manual de complemento; corte horizontal na parte superior da copa, em cada um dos anos (2008 a 2011) e corte vertical nas faces laterais da copa em 2008. Poda manual de complemento em cada um dos anos (2008 a 2011).

O ensaio foi delineado em blocos casualizados com 3 repetições num total de 9 talhões. Cada talhão era constituído por 3 linhas de 10 árvores, em que as duas linhas laterais funcionaram como linhas bordadura e na linha central consideraram-se as 8 árvores centrais para registo de dados.

Avaliaram-se os seguintes parâmetros:

- tempo de poda – registaram-se os tempos gastos na execução das intervenções de poda manual em cada talhão, bem como o tempo gasto pela máquina para efectuar os diferentes tipos de corte em cada uma das linhas;
- lenha de poda – avaliou-se a massa de lenha podada das árvores da linha central de cada um dos talhões;
- dimensão das árvores – procedeu-se à medição da altura e da largura máxima das árvores da linha central de cada talhão, antes de após a poda;
- produção – a produção das árvores da linha central de cada talhão foi colocada em palotes devidamente identificados que posteriormente foram enviados para a central fruteira da Cooperfrutas, onde se avaliou a massa existente em cada palote.

Foi feita a análise de variância (ANOVA), utilizando o programa MSAT-C. Sempre que a análise de variância revelou diferenças significativas, foi feito o Teste de Separação Múltipla de Médias de Duncan para um nível de significância de 5%.

Resultados e discussão

A capacidade de trabalho da máquina de podar de discos depende do número de cortes realizado em cada linha de árvores. Quando se efectua apenas o corte horizontal na parte superior da copa, a capacidade de trabalho da máquina de podar de discos é de cerca de um

hectare por hora. A execução do corte horizontal na parte superior da copa e de cortes laterais em cada uma das faces da copa reduz a capacidade de trabalho para cerca de 0,3 ha. Tal deve-se ao aumento do número de passagens de máquina por linha de árvores e ao número de manobras de cabeceira. De referir ainda que estes resultados serão penalizados nos pomares onde seja necessário efetuar muitas manobras de cabeceira.

Na Figura 3 mostra-se a capacidade de trabalho dos podadores nas intervenções de poda manual em cada um dos tratamentos. Conforme seria de esperar, a capacidade de trabalho da poda exclusivamente mecânica é muito superior à capacidade de trabalho das intervenções com podadores manuais.

A capacidade de trabalho dos podadores no Tratamento 3 (poda com máquina de podar de discos seguida de poda manual de complemento) foi sempre superior à do Tratamento 1 (poda exclusivamente manual) em todos os anos com excepção de 2009 (Fig. 3). Houve sempre a preocupação em incutir aos podadores que a intervenção manual no T3 deveria ser uma intervenção complementar à da máquina de podar de discos. Quando a intervenção da máquina de podar de discos se limita a efetuar um corte horizontal na parte superior da copa, é natural que a posterior intervenção dos podadores seja igual à realizada numa poda estritamente manual, como se verificou em 2009. Nos restantes anos, manteve-se a preocupação em alertar os podadores para se limitarem a remover ramos ladrões e ramos mal inseridos no Tratamento 3. Tal veio a contribuir para que a capacidade de trabalho do T3, em 2010 e em 2011, tenha sido superior à da poda exclusivamente manual (T1).

A capacidade de trabalho obtida na intervenção poda manual realizada em 2011 no T2 foi menor do que no T1 e no T3, refletindo o maior número de ramos retirados das árvores.

Em relação à altura das árvores após a poda, verificaram-se diferenças significativas ($P < 0,05$) na interação ano*tratamento (Fig. 4). As árvores podadas manualmente (T1) apresentavam uma altura significativamente superior ($P \leq 0,05$) às das árvores podadas mecanicamente (T2 e T3) em todos os anos, com excepção de 2010. A condução do pomar em eixo central é mantida com a poda manual (T1) deixando um ramo terminal saliente na parte superior da copa, enquanto tal não se verifica nas intervenções com a máquina de podar de discos (T2 e T3). A preocupação é a de reduzir a altura das árvores, eliminando os ramos ladrões da parte superior da copa. Para tal, faz-se uma definição prévia da altura de corte e a máquina corta indiscriminadamente qualquer tipo de ramo, mas obtém-se uma maior uniformidade na altura das árvores.

O efeito do tratamento na largura da copa após a poda também foi significativo ($P < 0,05$), não se tendo verificado diferenças significativas na interação ano*tratamento ($P > 0,1$). Na Figura 5, mostra-se a largura da copa após a poda para cada tratamento, em cada um dos anos. As árvores podadas manualmente (T1) tinham uma largura significativamente ($P \leq 0,05$) superior às podadas mecanicamente (T2 e T3), evidenciando a vantagem da utilização da máquina de podar de discos no controlo da largura da copa.

A Figura 6 mostra a massa de lenha retirada das árvores com a poda para cada tratamento, em cada um dos anos. Em termos de lenha de poda, a interação ano*tratamento foi significativa ($P < 0,05$).

Em 2008 e 2009, a quantidade de lenha de poda do T2 (poda exclusivamente mecânica) foi significativamente inferior ($P \leq 0,05$) à dos outros tratamentos, os quais não diferiram significativamente entre si. Tal era expectável visto que a poda efetuada com a máquina de podar de discos se limita a controlar a dimensão da copa mantendo todos os ramos desenvolvidos na parte interior da copa.

De referir que se verificaram diferenças significativas ($P \leq 0,05$) na lenha de poda do T2 entre 2008 e 2009. Para tal terá contribuído o facto de apenas ter sido efetuado um corte horizontal na parte superior da copa, em 2009, enquanto em 2008 também tinham sido podadas as faces laterais.

O facto do T1 e do T3, em 2008 e 2009, não terem diferido significativamente entre si na lenha de poda, mostra que as intervenções de poda foram semelhantes. Este aspecto é bem

patente em 2009, visto que além da lenha de poda também não se verificaram diferenças no ritmo de poda (Fig. 3).

Nos restantes anos (2010 e 2011) alertaram-se os podadores para, no Tratamento 3, se limitarem a remover das árvores ramos ladrões e ramos mal inseridos, o que se traduziu na diminuição da massa de lenha de poda no T3 relativamente ao T1. Em 2010, no T1, foram eliminados ramos grossos colocados na parte inferior da copa tendo em vista aumentar a exposição à luz solar. A massa resultante da eliminação destes ramos grossos corresponde a cerca de 50% da totalidade de lenha de poda removida das árvores neste tratamento e nesse ano.

Em 2011, a lenha de poda foi significativamente ($P \leq 0,05$) superior no T2 comparativamente com os outros tratamentos. Para tal contribuiu a realização da poda manual de complemento para eliminar ramos ladrões excessivamente desenvolvidos da parte interior da copa.

Na Figura 7, mostra-se a massa de pera produzida em média por árvore para cada tratamento, em cada um dos anos. Verificaram-se diferenças significativas ($P < 0,05$) entre os tratamentos bem como na interação ano*tratamento ($P < 0,1$). Em 2008, a produção no T1 foi significativamente superior à do T2 e do T3, os quais não diferiram significativamente entre si.

No ano seguinte (2009), o T3 obteve uma produção significativamente ($P \leq 0,1$) inferior à dos outros tratamentos (T1 e T2).

Em 2010, a produção do T2 foi significativamente ($P \leq 0,1$) inferior às obtidas nos outros tratamentos.

Finalmente, em 2011 não se verificaram diferenças significativas entre os tratamentos na produção de pera, embora o T1 tenha obtido a maior produção.

Estes resultados mostram que a poda estritamente manual (T1) obteve sempre melhores produções que os tratamentos com intervenção da máquina de podar de discos (T2 e T3).

As maiores quebras de produção dos tratamentos mecanizados (T2 e T3) ocorreram com a realização de cortes verticais nas faces laterais da copa. Esta situação verificou-se com maior intensidade em 2010. Ao limitarmos as intervenções de poda ao controlo do volume da copa deixando ficar os ramos ladrões durante 3 anos estaremos a contribuir para que os botões florais se desenvolvam apenas na face exterior da copa. Este aspecto associado à realização de um corte indiscriminado nas faces laterais da copa terá contribuído para a quebra de produção que ocorreu no T2 em 2010. No ano seguinte (2011), ao proceder-se à eliminação dos ramos ladrões da parte interior da copa sem terem sido realizados cortes verticais nas faces laterais das árvores, não houve diferenças significativas na produção de pera.

A execução de uma poda manual de complemento à intervenção da máquina de podar de discos (T3) não contribuiu para que a produção de pera, nos dois primeiros anos de ensaio, fosse superior à obtida com a poda estritamente mecânica (T2). A menor produção obtida pelo T3, em 2009, poderá estar associada à maior massa de lenha de poda retirada das árvores (Figura 10) neste tratamento com a consequentemente redução do potencial de produção. Nos restantes anos (2010 e 2011), a produção obtida no T3 esteve ao nível da obtida no T1, para o qual poderá ter contribuído a preocupação em limitar a poda manual de complemento à eliminação dos ramos ladrões, com menos lenha de poda e com maior capacidade de trabalho do que no Tratamento 1.

Em face do exposto torna-se imperioso definir o conceito de poda manual de complemento e a oportunidade da sua execução.

Conclusões

Os resultados obtidos mostram que a máquina de podar de discos permite efectuar o controlo da dimensão das árvores com bastante rapidez, possibilitando ainda o aumento da capacidade de trabalho dos podadores na execução da poda manual de complemento em relação à poda estritamente manual.

A utilização da máquina de podar permite também uniformizar a dimensão das árvores, facilitando a movimentação dos equipamentos no interior do pomar.

Verifica-se uma quebra de produção nas árvores podadas mecanicamente em relação às podadas de forma estritamente manual.

Torna-se imperioso definir o conceito de poda manual de complemento e a periodicidade da sua execução.

Agradecimentos

À D. Cidália Tomás por disponibilizar meios e materiais para a realização do ensaio. Ao Sr. Sérgio Pereira pela disponibilidade da Cooperfrutas em participar neste ensaio.

Ao Ministério da Agricultura e do Mar pelo financiamento concedido através do programa Proder.

Referências

- Dias, A.B., Santos, L., Peça, J.O., Pinheiro, A., Reynolds de Souza, D., Morais, N., Pereira, A.G., (2001), A poda mecânica na olivicultura alentejana-dois anos de ensaio, Edição Especial da Revista de Ciências Agrárias - II Simpósio Nacional de Olivicultura, vol. XXIV - números 1-2, p. 74-80, Jan – Jun;
- Dias, A.B. (2006), A mecanização da poda do olival. Contribuição da máquina de podar de discos. Tese de Doutoramento. Universidade de Évora;
- Peça, J.O., Dias, A.B.; Pinheiro, A., Santos, L., Morais, N., Pereira, A.G., Reynolds de Souza, D. (2002), Mechanical pruning of olive trees as an alternative to manual pruning, Acta Horticulturae Number 586, p.295-299;
- Sousa, R. (2004) Poda, O equilíbrio da frutificação/frutificação em pomoideas (Macieira e Pereira). Cadernos Rurais, ACAPI, Janeiro, Nº 1.

Quadros e Figuras

Quadro 1 – Sequência das intervenções de poda efetuadas no ensaio em Landal – Caldas da Rainha

Tratamento	2008	2009	2010	2011
T1	Poda manual	Poda manual	Poda manual	Poda manual
T2	Corte horizontal e corte vertical em ambas as faces da copa	Corte horizontal	Corte horizontal e corte vertical em ambas as faces da copa	Corte horizontal + poda manual de complemento
T3	Corte horizontal e corte vertical em ambas as faces da copa + complemento manual	Corte horizontal + complemento manual	Corte horizontal + complemento manual	Corte horizontal + complemento manual



Figura 1 – Máquina de podar de discos montada no carregador frontal do trator.



Figura 2 – Máquina de podar de discos montada em trator pomareiro.

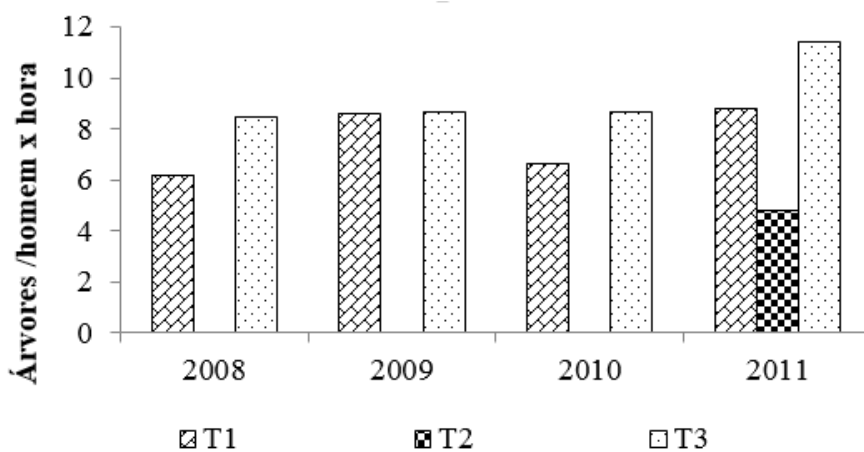


Figura 3 – Capacidade de trabalho na execução das intervenções de poda manual.

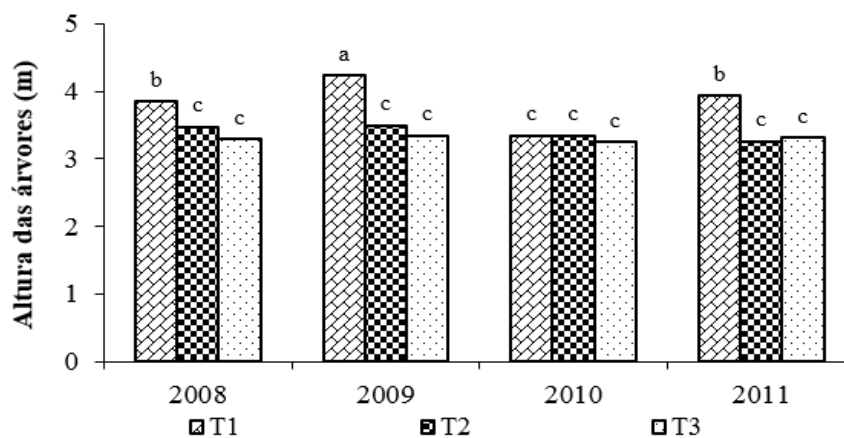


Figura 4 – Altura média das árvores após a poda para cada tratamento, em cada um dos anos, de 2008 a 2011. Colunas acompanhadas de letras diferentes diferem significativamente entre si, segundo o teste de separação de médias de Duncan ($P \leq 0,05$).

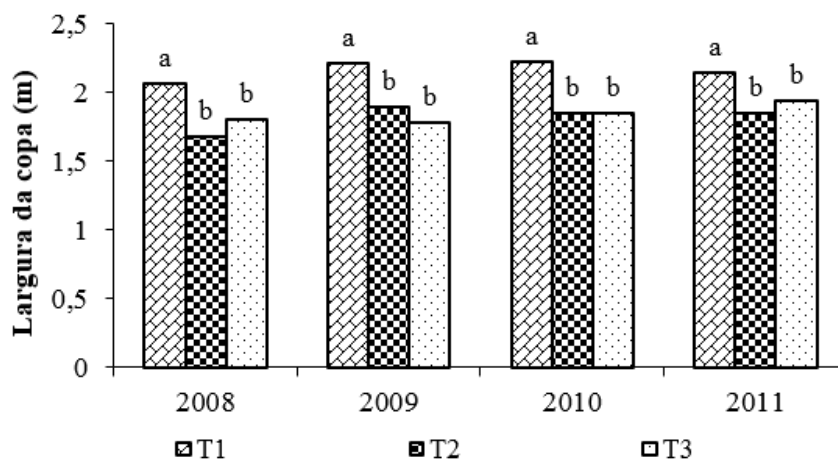


Figura 5 – Largura média das árvores após a poda para cada tratamento, em cada um dos anos, de 2008 a 2011. Colunas acompanhadas de letras diferentes diferem significativamente entre si, segundo o teste de separação de médias de Duncan ($P \leq 0,05$)

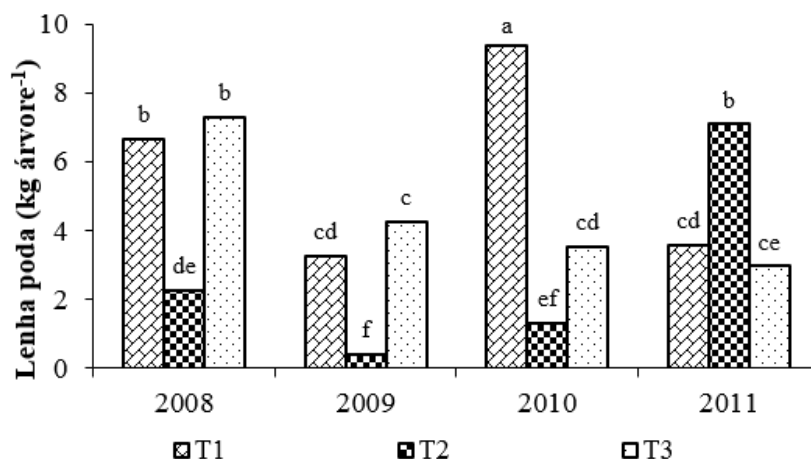


Figura 6 – Massa de lenha de poda retirada em média por árvore para cada tratamento, em cada um dos anos, de 2008 a 2011. Colunas acompanhadas de letras diferentes diferem significativamente entre si, segundo o teste de separação de médias de Duncan ($P \leq 0,05$).

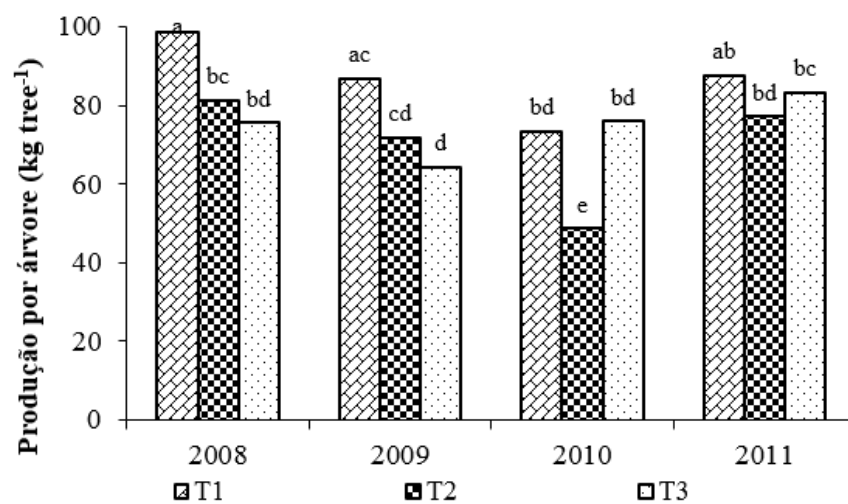


Figura 7 – Produção média de pera por árvore para cada tratamento, em cada um dos anos, de 2008 a 2011. Colunas acompanhadas de letras diferentes diferem significativamente entre si, segundo o teste de separação de médias de Duncan ($P \leq 0,1$).

Aspectos de produção e qualidade em quatro sistemas de condução em pereira ‘Rocha’³

Mariana Mota¹, João Lopes¹, Sofia Comporta², Joana Ribeiro¹ e Cristina M. Oliveira¹

¹Departamento de Ciências e Engenharia de Biosistemas, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017, Lisboa; mariana@isa.utl.pt, jpslopes@gmail.com, joaninha.ribeiro85@gmail.com, crismoniz@isa.utl.pt

²Associação Nacional de Produtores de Pera Rocha, Estrada Municipal nº612, km 4 Sobrena, 2550-458 Peral CDV, anp@perarocha.pt

Resumo

De 2010 a 2013 acompanhou-se um pomar de pereira ‘Rocha’ enxertada em Sydo, plantado em 2006, com 4 sistemas de condução, palmeta (1,2 x 4 m), solaxe (1,0 x 4,0 m), tatura (0,8 x 4m) e eixo (1,0 x 4,0m), na freguesia do Peral, Cadaval, para avaliar alternativas ao eixo tradicional. Entre outros parâmetros, analisou-se o Brix (%), a produção, o número de frutos e o calibre, contabilizando-se a produtividade, a massa média do fruto e a percentagem de frutos com calibre inferior a 60 mm. As produtividades oscilaram entre 38 e 55 t/ha em 2010, atingindo valores próximos de 80 t/ha em 2011 e 2013, tendo decrescido substancialmente em 2012 nos quatro sistemas de condução, talvez devido a geada aquando do vingamento. O Brix variou entre 12,5 % e 13,1 %, em 2010, diminuindo em 2011. Em 2012 atingiu valores acima de 15 %, aspecto provavelmente relacionado com a grande quebra de produção, regressando aos 12-13 % em 2013. A massa média do fruto aproximou-se de 150 g em 2010, diminuindo para cerca de 100 g nos dois anos subsequentes e ainda mais no último ano (valores entre 60 e 85 g). O calibre reflectiu esta evolução, sendo as percentagens de frutos inferiores a 60 mm mais baixas em 2010, aumentando nos dois anos subsequentes e mais ainda em 2013.

O comportamento relativo dos diferentes sistemas de condução variou ao longo dos anos. Uma apreciação global sugere que o tatura confere produtividades superiores (sempre o primeiro ou segundo melhor sistema), mas com algum prejuízo no Brix e na massa média dos frutos. Adicionalmente, mostra-se bastante trabalhoso. O solaxe é mais fácil de conduzir e apresenta resultados bastante interessantes, nomeadamente em termos de produção. A palmeta apresentou sempre a menor produtividade, que dificilmente será compensada pelo benefício que evidenciou no Brix e, pontualmente, no calibre. O eixo não se destacou em nenhuma vertente, apresentando um comportamento intermédio.

Palavras-chave: eixo, palmeta, *Pyrus communis* L., solaxe, tatura

³ Este artigo resume parte dos resultados obtidos nas dissertações de mestrado em Engenharia Agrónoma de Ana Sofia Comporta “Sistemas de condução em pereira ‘Rocha’. Análise produtiva, qualitativa e económica.” (2010) e Joana Ribeiro “Influência dos sistemas de condução e de Prohexadiona-cálcio na produtividade da pêra ‘Rocha’.” (2011).

Abstract

Title: Evaluation of yield and quality in 'Rocha' pear subjected to four different training systems.

In 2006 a 'Rocha' pear orchard was established in Peral, Cadaval. Trees were grafted in Sydo and subjected to four different training systems, palmette (1.2 x 4m), solaxe (1.0 x 4.0m), tatura (0.8 x 4m) e vertical axis (1.0 x 4.0m), in order to evaluate the most suitable training system to 'Rocha'. Among other parameters, the Brix, the production, the total number of fruits and their dimension were measured, in order to calculate the productivity, average mass of the fruit and % of fruits with diameter below 60 mm. Productivity was comprised between 38 and 55 t/ha in 2010, coming to 80 t/ha in 2011 and 2013, but decreasing in 2012, maybe because of climatic factors (frost at fruit set). Brix varied between 12.5 % and 13.1 %, in 2010, and decreased in 2011. In 2012, Brix came to 15 %, maybe because the strong reduction in production, coming back to 12-13 % em 2012. Average fruit mass reached 150 g in 2010, but decreased to about 100 g in the coming years. There was no clear trend towards the training systems but a global overview suggests that tatura may lead to higher productivities, in spite of some reduction in Brix and total mass of the fruits. Solaxe training system is easier to deal with and shows very interesting results, namely in production. Palmette conducted always to lower productivity and slightly beneficial Brix and fruit size. Vertical axis showed an intermediate behavior regarding the different parameters.

Keywords: Palmette, *Pyrus communis* L., solaxe, tatura trellis open, vertical axis

Introdução

A pera Rocha é uma cultivar portuguesa produzida essencialmente na região Oeste de Portugal, com áreas de produção relativamente estáveis e produções tendencialmente crescentes. Mais de 30 % da sua produção destina-se à exportação, assumindo grande importância na agricultura portuguesa. Para satisfazer a procura, nomeadamente da exportação, é necessário aumentar a produtividade garantindo parâmetros de qualidade (por exemplo teor de açúcares, calibre, isenção de resíduos de pesticidas). É neste contexto que se insere a necessidade da intensificação cultural e a opção por sistemas de condução que permitam a instalação de pomares de elevada densidade, com o objectivo de maximizar a utilização do potencial luminoso e edáfico do pomar, sem aumentar desproporcionadamente os custos associados a essa mesma intensificação. Segundo Costes et al., (2006) os pomares intensivos visam: “uma maturação do pomar e a produção máxima de fruta dentro de poucos anos, uma boa captura da luz de modo a otimizar os ganhos de carbono e a produção de fruta por hectare, uma distribuição equilibrada da luz interceptada dentro da copa da árvore minimizando a heterogeneidade do crescimento vegetativo e qualidade da fruta, e a gestão da forma da árvore e da carga da fruta com o mínimo de poda”. O objectivo actual é, assim, maximizar a eficiência produtiva através de um equilíbrio entre intercepção da luz e eficiência das operações culturais (Hoying e Robinson, 2006), sendo o melhor sistema de condução aquele em que se consiga uma produção rápida, elevada e de qualidade, uma boa penetração da luz em todas as partes da planta, um bom controlo da altura e distribuição dos ramos das árvores e uma facilidade de acesso aos frutos na colheita.

É sabido que a intercepção da luz varia com os diferentes sistemas de condução (Hampson et al., 2004), sendo comumente aceite que o sistema em Y ou tatura intercepta mais luz do que o sistema em eixo. Em pereira „Conférence“ enxertada em marmeleiro A, Kappel e Brownlee (2001) compararam a performance de 4 sistemas de condução em relação ao crescimento e produção nos quatro primeiros anos, verificando que o sistema em Y era o que conduzia a maior intercepção da luz, maiores produções mas menores calibres. Jung e Choi

(2010) mostraram também que as árvores conduzidas em solaxe ou eixo modificado, com menos ramos laterais e um comprimento total dos ramos menor, recebem mais luz do que as árvores conduzidas em eixo central, registando-se uma correlação negativa entre o comprimento dos ramos e a penetração da luz.

Noutros países, foram já realizados vários estudos envolvendo diversos sistemas de condução em pereira (Vercammen, 2005 e Asin et al., 2005). Com o mesmo objectivo, no âmbito de um projecto de experimentação, foi instalada uma Unidade de Demonstração em 2006, na Sociedade Agrícola Terra da Eira, Peral, Cadaval, em que se estabeleceu um ensaio com diferentes formas de condução para pereira Rocha enxertada em Sydo, o eixo (forma muito comum de produção no Oeste, a par do vaso) e o solaxe, a palmeta de 3 eixos e a tatura, enquanto formas de condução alternativas. No solaxe, os ramos são inclinados com o peso da própria frutificação, sendo apenas alvo de podas ligeiras (Lauri et al., 2006). A palmeta de 3 eixos compreende um eixo central e pernadas no plano da linha. No sistema tatura, as árvores têm um tronco na vertical e dois braços opostos da árvore conduzidos para ambos os lados e são em linhas simples. Pretendia-se determinar qual dos sistemas de condução melhor se adapta à pereira Rocha, para obter o pomar ideal pretendido pelo mercado, ou seja com boas produções e de qualidade, sem negligenciar os aspectos económicos da sua instalação e manutenção. Ao longo dos anos, foi-se acompanhando o pomar, monitorizando diferentes aspectos relacionados com a avaliação da produção e qualidade. Neste trabalho, apresenta-se a parte dos resultados obtidos de 2010 a 2013 mais relacionada com o teor de sólidos solúveis (Brix), a produção, o número de frutos e o calibre.

Material e métodos

O ensaio decorreu no pomar de demonstração da Sociedade Agrícola Terra da Eira, localizado na freguesia do Peral, concelho do Cadaval, nas campanhas de 2010 a 2013. É um pomar de pereira 'Rocha' enxertada em Sydo, plantado em 2006, com 4 sistemas de condução, palmeta (1,2 x 4 m), solaxe (1,0 x 4,0 m), tatura (0,8 x 4 m) e eixo (1,0 x 4,0 m). Neste pomar existe rega subterrânea, encontrando-se o sistema de rega a 0,45 metros de profundidade, com duas linhas distanciadas 0,45 metros das linhas das árvores, com gotejadores auto-compensantes, com distanciamento de 1 metro e com débito de 2L/hora. Nas entrelinhas é adoptado o sistema de não mobilização com recurso ao enrelvamento semeado de uma mistura de gramíneas e leguminosas, sendo na linha as infestantes combatidas através da aplicação de herbicida não residual. A protecção contra pragas e doenças segue as regras da protecção integrada. A parcela do pomar destinado ao estudo é constituída por dois blocos, cada um com os 4 sistemas de condução (cada bloco apresenta duas linhas de árvores).

À colheita, analisou-se em cada ano o Brix (%), a produção, o nº de frutos e o calibre. Em 2010, à colheita (31 de Agosto) colheram-se separadamente os frutos dos ramos marcados e por cada ramo foi registado o número de frutos, a sua massa (com recurso a uma balança digital), o calibre (usando um calibrador manual) e a massa total dos mesmos. Para cada sistema de condução, o Brix foi avaliado com recurso a um refractómetro (escala 0-30%) em 10 sumos. Cada sumo foi preparado com 5 peras usando uma centrifugadora de sumo e posteriormente filtrado. Em 2011, a colheita foi efectuada a 17 de Agosto, sendo a massa dos frutos e o Brix determinados como acima e a medição do diâmetro realizada com o auxílio de uma craveira manual. Em 2012 e 2013, a colheita foi realizada a 13 de Agosto e 2 de Setembro, respectivamente, medindo-se a massa por pesagem dos frutos, também com recurso a uma balança digital. A determinação do calibre foi feita na central fruteira, por passagem no calibrador comercial. O Brix foi determinado em 15 frutos por sistema de condução, por pressão directa do sumo. Com os dados recolhidos contabilizou-se a produtividade, a massa média do fruto e a percentagem de frutos com calibre inferior a 60mm.

A análise estatística foi feita com recurso ao programa Statistix versão 9.0 através da análise de variância (ANOVA) a um factor (sistema de condução), com dois blocos e 10 árvores

por bloco (em 2010 e 2011) e 2 blocos e 8 árvores por bloco (2012 e 2013) (em 2012 e 2013). Para testar a existência de diferenças significativas entre as médias das variáveis, foi aplicado o teste de Tukey ($\alpha < 0,05$).

Resultados

Em 2010, o 2º ano de produção comercial, a produtividade oscilou entre 38 e 55 t/ha (quadro 1), sendo a da palmeta de três eixos (P3E nos quadros) significativamente inferior às obtidas nos outros sistemas de condução. A massa média dos frutos foi próxima de 153 g, sem variações significativas entre os diferentes sistemas de condução, mas observaram-se variações significativas entre os calibres médios referentes aos quatro sistemas de condução, apresentando os frutos do eixo maior calibre (62,6 mm), seguidos dos frutos do solaxe (60,9 mm) e depois dos frutos dos sistemas tatura e palmeta (59,6 mm e 59,4 mm), que não têm diferenças entre si. A percentagem de frutos com calibre inferior a 60 %, com menor interesse comercial, foi bastante elevada, oscilando entre 18,8 % no eixo e 38,7 % no tatura. O Brix no tatura foi significativamente superior ao verificado nos outros três sistemas de condução.

Em 2011, a produtividade atingiu valores próximos de 80 t/ha, sem diferenças significativas entre os sistemas (quadro 2). A massa média do fruto decresceu bastante, sendo os frutos mais pequenos colhidos no tatura e os maiores no solaxe e na palmeta. Em concordância com estes valores, a percentagem de frutos com calibre abaixo de 60 mm aumentou enormemente, oscilando entre 48 % e 67 %. O Brix foi muito baixo em todos os sistemas de condução, não ultrapassando 12,1 %.

Em 2012, a produtividade decresceu substancialmente (quadro 3), vindo para valores próximos de 20 t/ha, sendo a exceção o solaxe, com 48 t/ha. A massa média dos frutos aumentou ligeiramente, sendo globalmente 123 g. O eixo teve frutos significativamente mais pesados que o solaxe, tendo o tatura e a palmeta um comportamento intermédio. A percentagem de frutos menores que 60 mm foi aproximadamente igual no eixo, solaxe e tatura, sendo muito elevada para a palmeta. O Brix medido nos diferentes sistemas de condução foi bastante elevado, acima de 15 %.

Em 2013, a produtividade foi novamente bastante elevada, atingindo globalmente as 65 t/ha, apresentando o solaxe valores significativamente superiores ao eixo e à palmeta (quadro 4). A massa média do fruto foi extremamente baixa, muito inferior a 100 g. De acordo com estes dados, a percentagem de frutos inferiores a 60 mm foi superior a 80 % em todos os sistemas de condução. O Brix oscilou entre 12,6 % e 13,8 %, apresentando o tatura e o solaxe valores significativamente inferiores ao da palmeta.

Discussão

Durante estes 4 anos de monitorização, as produtividades oscilaram bastante, desde 18 t/ha a cerca de 90 t/ha. O Brix aproximou-se de 13 % em 2010, diminuindo em 2011. Neste ano, a produtividade foi muito elevada, tendo ocorrido a consequente redução do Brix e da massa média do fruto (verificou-se também uma redução da acidez, dados não apresentados, com consequências em termos organolépticos). Estes resultados decorrem do facto de não ter sido efectuado qualquer tipo de monda, sentindo-se fortemente o efeito da carga na redução dos calibres. No ano de 2012 ocorreu uma grande quebra no vingamento, provavelmente devido à ocorrência de geadas e ao facto de ter sido uma primavera muito fria e chuvosa. Foi um ano de carepa muito exagerada. A produtividade diminuiu muito em relação a 2011, não só pelo efeito da alternância como pelo efeito das más condições verificadas. O Brix em 2012 atingiu valores acima de 15 %, aspecto com valor comercial e que provavelmente esteve relacionado com a grande quebra de produção, regressando aos 12-13 % em 2013. Neste último ano, houve problemas no sistema de rega do pomar, o que se traduziu por uma grande quebra nas massas médias dos frutos e nos calibres, sofrendo os frutos uma enorme desvalorização comercial.

O comportamento relativo dos diferentes sistemas de condução variou ao longo dos anos. Uma apreciação global sugere que o tatura confere produtividades superiores (sempre o primeiro ou segundo melhor sistema), corroborando os resultados obtidos por Iglesias et al., em 2004. Esta vantagem na produtividade, que decorre também da maior densidade de plantação, aparece associada a algum prejuízo no Brix e na massa média dos frutos. Adicionalmente, é um sistema bastante trabalhoso e tecnicamente exigente. O solaxe é mais fácil de conduzir e apresenta resultados bastante interessantes, nomeadamente em termos de produção. A palmeta apresentou sempre a menor produtividade, que dificilmente será compensada pelo benefício que evidenciou no Brix e, pontualmente, no calibre. Esta vantagem no Brix pode estar relacionada com a menor produtividade mas também com a estrutura da sua copa. Ao contrário dos outros três sistemas ensaiados, de copa cônica, a palmeta apresenta uma copa em sebe, que conduz a menos ensombramento quando há menor densidade de folhagem. É também o sistema que ocupa menor área, colocando a questão da oportunidade de um aumento de densidade de plantação (por redução na distância na entrelinha). O eixo não se destacou em nenhuma vertente, apresentando um comportamento intermédio.

É de notar ainda que, em termos de calibre, apenas o ano de 2010 apresentou resultados de algum interesse. Em 2011 e 2012, cerca de 50 % dos frutos teve calibre inferior a 60 mm e em 2013 esta percentagem aumentou para próximo de 90 %, reduzindo enormemente a valorização comercial destes frutos. Provavelmente, o recurso a melhores dotações a nível nutricional, sobretudo na fase de multiplicação celular, permitirá manter produtividades elevadas e reduzir tais percentagens de frutos de refugo.

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pelos projectos AGRO nº 938 “A manutenção de especificidade e o aumento da rentabilidade da pêra rocha do Oeste (DOP) e da maçã de Alcobaça (IPG)” e PRODER GESROCHA. Agradece-se à Frutus e à Sociedade Agrícola Terra da Eira toda a colaboração prestada.

Referências

- Asin, L., Montserrat, R., Carbó, J., Vilardell, P. & Carrera, M. 2005. Comparison of the yield, labour requirement and fruit quality of ‘Conference’ pears under five intensive training systems in Spain. *Acta Hort.* 671: 455-461.
- Costes, E., Lauri, P. É. & Regnard, J. L. 2006. Analyzing fruit tree architecture: implications for tree management and fruit production. *Hort. Rev.* 32:1-61
- Hampson, C.R., Quamme, H. A., Kappel, F. & R.T. Brownlee. 2004. Varying density with constant rectangularity: II. Effects on apple tree yield, fruit size and fruit color development in three training systems over ten years. *HortScience* 39:507–511.
- Hoying, S. A. & Robinson, T. L. 2000. The apple orchard planting system puzzle. *Acta Hort.* 513:257–260.
- Iglesias, I., Montserrat, R., Vilardell, P. and Bonany, J., 2004. Performance of ‘Conference’ pear in five intensive planting systems in the north east of Spain. *Acta Hort.* 636: 675 – 679.
- Jung, S-K. & Choi, H-S. 2010. Light penetration, growth, and fruit productivity in ‘Fuji’ apple trees trained to four growing systems. *Scientia Hort.* 125: 672-678.
- Kappel, F. & Brownlee, R. 2001. Early performance of ‘Conference’ pear on four training systems. *HortScience* 36: 69-71.
- Lauri, P. É., Costes, E. & Regnard, J. L. 2006. Analyzing Fruit Tree Architecture: Implications for Tree Management and Fruit Production. *Horticultural Reviews*, volume 32.
- Vercammen, J., van Daele, G. & Gomand, A. 2005. Root Pruning: a Valuable Alternative to Reduce the Growth of ‘Conference’. *Acta Hort.* 671: 533-537.

Quadros e figuras

Quadro 1 – Resumo dos resultados obtidos em 2010 (N = 50 frutos). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

2010	Produtividade (t/ha)	Massa média (g/fruto)	Calibre (% < 60mm)	BRIX (%)
EIXO	53.7 A	159	18.8	12.2 B
SOLAXE	54.9 A	157	28.9	12.5 B
TATURA	54 A	147	38.7	13.1 A
P3E	38.2 B	150	33.6	12.4 B

Quadro 2 – Resumo dos resultados obtidos em 2011 (N = 50 frutos). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

2011	Produtividade (t/ha)	Massa média (g/fruto)	Calibre (% < 60mm)	BRIX (%)
EIXO	88	100.2 AB	67	11.6 BC
SOLAXE	76	108.3 A	55	11.2 C
TATURA	84	94.1 B	69	11.7 AB
P3E	66	111.2 A	48	12.1 A

Quadro 3 – Resumo dos resultados obtidos em 2012 (N = 15 frutos). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

2012	Produtividade (t/ha)	Massa média (g/fruto)	Calibre (% < 60mm)	BRIX (%)
EIXO	18.05 A	136 A	48	15.7
SOLAXE	47.81 B	110 B	58.3	s.d.*
TATURA	21.63 B	126 AB	55.6	15.7
P3E	15.13 B	121 AB	80.8	15.3

*Determinação não efectuada porque a amostra se perdeu.

Quadro 4 – Resumo dos resultados obtidos em 2013 (N = 15 frutos). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$).

2013	Produtividade (t/ha)	Massa média (g/fruto)	Calibre (% < 60mm)	BRIX (%)
EIXO	60.27 BC	69 BC	94.6	13.0 AB
SOLAXE	75.67 A	87 A	87.6	12.6 B
TATURA	70.29 AB	79 AB	93.1	12.6 B
P3E	55.17 C	61 C	80.4	13.8 A

Avaliação da influência das manchas de vegetação semeadas no incremento das populações de insectos polinizadores e na qualidade dos frutos, na cultura da macieira

Arminda Lopes¹, Hugo Morais², Paula Martins³ & Vanda Batista¹

¹Direção Regional de Agricultura e Pescas do Centro, Estação Agrária de Viseu, Quinta do Fontelo, 3504-504 Viseu; arminda.lopes@drapc.min-agricultura.pt; vanda.batista@drapc.min-agricultura.pt

²Escola Superior Agrária de Viseu, Quinta da Alagoa – Estrada de Nelas – Ranhados, 3500-606 Viseu

³Syngenta Crop Protection, Av. D. João II Torre Fernão Magalhães, 1.1702 – 11º Piso
1990-084 Lisboa paula.martins@syngenta.com

Resumo

A qualidade da maçã está intrinsecamente associada à polinização. São vários os fatores que contribuem para o seu êxito, assumindo os insetos polinizadores um papel determinante neste processo.

No sentido de incrementar a presença destes insetos nos pomares da Estação Agrária de Viseu, a Direção Regional de Agricultura e Pescas do Centro (DRAPC) integrou, a partir de 2010, o projeto “Operation Pollinator”, dinamizado pela empresa Syngenta Crop Protection. Um dos objetivos do referido projeto é a instalação de margens que sirvam de fonte de pólen e néctar para os insetos polinizadores.

Neste contexto foram semeadas, até à presente data, quatro margens com diferentes composições florísticas.

Neste trabalho serão apresentados os resultados obtidos no que se refere à evolução das margens, à dinâmica dos insetos polinizadores e sua influência na qualidade da produção.

Palavras-chave: *Malus domestica* B., Operation Pollinator, biodiversidade.

Abstract

Apple quality is intrinsically related to pollination. There are several factors that contribute to its success, pollinating insects assumes a decisive role in this process.

In order to increase the presence of pollinator insects in Viseu Agrarian Station orchards, the Direction of Agriculture and Fisheries of Center Region integrated, since 2010, Operation Pollinator project, promoted by Syngenta Crop Protection.

Operation Pollinator is an international biodiversity program to boost the number of pollinating insects on commercial farms. It works by creating specific habitats, tailored to local conditions and native insects.

So far, in this context, four field margins with different floristic compositions were sown.

In this work the results obtained with regard to the margins evolution, the pollinating insects dynamics and their influence on quality of production will be presented.

Keywords: *Malus domestica* B., Operation Pollinator, biodiversity.

Introdução

O trabalho ecológico de polinização levado a cabo por uma vasta gama de organismos, quer sejam insetos, aves ou mamíferos, possibilita benefícios económicos e ambientais de valor incalculável para a humanidade e natureza que a rodeia (Batista *et al.*, s/d).

A maioria dos frutos, legumes e outros produtos agrícolas, consumidos por seres humanos, dependem da polinização. No caso concreto da macieira a qualidade das maçãs está intimamente relacionada com este processo. Segundo Thomson & Goodell (2001) citados por Batista *et al.* (s/d), não existem dúvidas de que a quantidade de frutos produzidos e a sua qualidade são afetados quando se verificam condições inadequadas de polinização.

Os principais vetores de pólen na macieira são as abelhas domésticas que constituem 60% a 95% da fauna polinizadora (Trillot *et al.*, 2002). Contudo, as abelhas domésticas não são os únicos agentes polinizadores da macieira. Também as abelhas selvagens são agentes polinizadores conhecidos pela sua eficiência na polinização de maçãs (Dantforth, s/d).

Porém, a sobrevivência destes polinizadores encontra-se ameaçada. Desde 2006 que o Síndrome do Despovoamento de Colónias de Abelhas, mais conhecido por Colony Collapse Disorder (CCD), tem dizimado um número inquantificável de insetos polinizadores por todo o mundo. Até ao momento, ainda não foram definidas as causas que estão na origem desta mortalidade. No entanto, fatores biológicos, ambientais, químicos e procedimentos inerentes ao manuseamento de colmeias estão a ser os principais responsáveis, apontados pelos especialistas, que sustentam não se tratar de um fator isolado, mas sim um conjunto de causas a atuar negativamente sobre as abelhas.

Considerando que um dos fatores referidos assenta na falta de variedade na oferta de alimento, que conduz à diminuição quantitativa e qualitativa de pólen, a empresa Syngenta Crop Protection desenvolve, desde 2001, o projeto “The Buzz Project” alicerçado nos benefícios que a agricultura pode trazer à biodiversidade, promovendo a instalação de manchas de vegetação semeada, criando locais de refúgio e fontes de néctar e pólen para os polinizadores. Em 2009 o projeto adotou o nome “Operation Pollinator” e, a partir de 2010, a DRAPC passou a ser um dos parceiros, desenvolvendo linhas de trabalho na macieira, cultura com grande importância na região Dão-Lafões. Este trabalho tem como objetivo contribuir para o desenvolvimento de metodologias facilmente aplicáveis pelo agricultor, visto ser ele o elemento chave e de maior importância, em todo o processo.

Material e Métodos

No sentido de implementar o projeto foi instalada, em 2010, a primeira margem no topo Este de uma parcela de 1 ha da variedade Bravo enxertada em M9, designada por F9. A mistura utilizada era constituída pelas seguintes espécies: *Foeniculum vulgare*, *Melissa officinalis*, *Eryngium campestre*, *Matricaria recutita*, *Origanum vulgare*, *Festuca ovina*, *Echium plantagineum*, *Prunella vulgaris*, *Festuca rubra*, *Echium vulgare*, *Salvia verbenaca*, *Marrubium vulgare* e *Satureja vulgaris*.

No ano 2011 foi semeada outra margem, que designaremos de F12/15, no topo Oeste de uma parcela com 0,5 ha da mesma variedade mas no porta-enxerto M7. A mistura incluía as seguintes Fabaceas: *Trifolium fragiferum* Palestine, *Trifolium incarnatum* Contea, *Trifolium michelianum* Balança, *Hedysarum coronarium*, *Lotus corniculatus*, *Medicago sativa* Hunter River, *Melilotus officinalis*, *Onobrychis viciifolia* e *Ornithopus sativus*.

Em 2012 ressemeou-se a margem F9 com a mistura: *Crysanthemum coronarium*, *Matricaria recutita*, *Centaurea cyanus*, *Coriandrum sativum*, *Brassica napus*, *Salvia officinalis*, *Echium plantagineum* e *Reseda lutea*. Esta mesma mistura foi utilizada, em 2013, na sementeira da terceira margem localizada no topo Nascente da parcela F4, constituída pelas variedades Golden, Reineta, Fuji e Granny Smith enxertadas em MM106.

Baseado nos resultados obtidos nos trabalhos realizados foram selecionadas as espécies que apresentaram melhor comportamento e feita uma nova mistura que foi instalada, em 2014, nos topos nascente e poente da parcela F3 constituída por variedades pertencentes aos grupos Gala, Golden, Red Delicious e Fuji, enxertadas EMLA9. As espécies em questão são: Trevo-encarnado (*Trifolium incarnatum*), Luzerna (*Medicago sativa*), Trevo-morango (*Trifolium fragiferum*), Serradela (*Ornithopus sativus*), Fidalguinhos (*Centaurea cyanus*), Coentros

(*Coriandrum sativum*), Colza (*Brassica napus*), Soagem (*Echium platagineum*) e Pampilho-das-searas (*Chrysanthemum segetum*). Estas margens foram instaladas perpendicularmente às linhas de plantação, uma vez que também já está comprovado que é uma localização mais eficaz, por permitir que os insetos polinizadores se desloquem, a maiores distâncias, ao longo da linha.

Antes da implementação das margens foi aplicado um herbicida sistémico para destruir a vegetação existente. Findo o efeito do herbicida, o terreno foi mobilizado de modo a proporcionar as melhores condições para a germinação das sementes. A sementeira foi feita a lança, manualmente, e as sementes incorporadas no solo com a passagem de um ancinho.

À semelhança do realizado nos anos transatos, entre março e agosto de 2014 foi monitorizado o desenvolvimento florístico das margens e avaliados os polinizadores presentes, registando as espécies visitadas. Durante o período de floração das macieiras foi também avaliado o número e tipo de polinizadores presentes. As observações seguiram o protocolo disponibilizado pela empresa, resultado da aferição de metodologias desenvolvidas pelos parceiros internacionais do projeto.

Com base nos registos das temperaturas horárias, ocorridas durante o período de floração das macieiras, entre as 9 e as 19 horas, altura em que os insetos polinizadores estão ativos, foi calculada a sua atividade potencial. Esta atividade é expressa em percentagem do número de horas e classificada em: nula, reduzida, média, alta e máxima. Este parâmetro, que resultou da junção de informação obtida em várias fontes bibliográficas, permite ter uma ideia concreta do comportamento destes insetos, face à condicionante temperatura, num período crucial do processo produtivo.

Sabendo que a qualidade das maçãs está intimamente relacionada com a polinização e esta, por sua vez, dependente da atividade dos agentes polinizadores, pretendeu-se avaliar em que dimensão este fator interferia na qualidade dos mesmos. Para isso, foram avaliados os parâmetros peso, diâmetro, dureza da polpa, °Brix, acidez, amido e número de sementes, na variedade Bravo da parcela F9 em 2013 e na Golden Delicious e Granny Smith da parcela F4 nos anos 2013 e 2014. Estes parâmetros foram obtidos em amostras de 32 frutos colhidos em 4 árvores (dois frutos por quadrante em cada árvore), situadas em pontos estratégicos das parcelas, a diferentes distâncias da margem semeada (fig. 1).

Resultados e Discussão

Os dados referentes à avaliação da apetência dos diferentes polinizadores pelas espécies, semeadas ou espontâneas, encontram-se resumidos nos quadros 1 e 2. As espécies estão agrupadas pelas respetivas famílias e reportadas à margem em que se encontravam presentes. As observações foram efetuadas entre 6 de março e 5 de junho nas margens F4 e F9 e entre 19 de junho e 14 de agosto na F3.

Nas margens F4 e F9, as espécies que mais se destacaram, em termos de floração e de visitas pelos polinizadores, foram o *Raphanus raphanistrum* (Brassicaceas), o *Chrysanthemum coronarium* e a *Centaurea cyanus* (Asteráceas), *Malva* sp. (Malváceas) e *Echium platagineum* (Boragináceas).

Nas margens F3 (nascente e poente), destacaram-se as Boragináceas, com a predominância do *Echium platagineum*, em quase toda a extensão das margens, e posteriormente surgiram as Asteráceas, com a *Centaurea cyanus* e o *Chrysanthemum segetum* e as Fabáceas com o *Trifolium incarnatum*.

Na figura 2 está representada a atividade polinizadora potencial, no período da floração nos últimos 4 anos. Verifica-se que, 2014, foi particularmente favorável ao seu desempenho, pois a atividade potencial foi máxima durante a maior parte do tempo.

No gráfico da figura 3 apresenta-se a distribuição dos vários insetos polinizadores, ao longo do período de observação, na parcela junto à margem F4. O número máximo de polinizadores registou-se aquando da floração entre os dias 10 e 18 de abril, o que era expectável

uma vez que se contabilizaram os presentes na margem e no pomar. Estas observações foram feitas nas horas potencialmente mais favoráveis à atividade e durante os 10 minutos definidos no protocolo.

À semelhança dos anos anteriores predominaram as abelhas domésticas mas, embora as condições tenham sido mais favoráveis, o seu número foi significativamente inferior, por razões que não nos foi possível apurar.

Os resultados obtidos relativamente aos parâmetros determinados nos frutos, encontram-se nos quadros 3 a 7. No quadro 3 encontram-se os dados à colheita da variedade Bravo, determinados em 2013, onde é notório um maior número de sementes nos frutos localizados junto à margem (modalidade Nascente/Margem) e junto à parcela constituída por variedades de floração mais precoce (modalidade Meio-Norte). Os parâmetros peso, diâmetro, dureza e acidez foram mais elevados na modalidade Meio-Sul e os parâmetros °Brix e amido na modalidade Meio-Meio. Atendendo a que esta parcela é constituída por vários clones de Bravo poderá haver situações de diferentes estados de maturação, efeito que se pode sobrepor ao objetivo pretendido.

Relativamente à variedade Golden verificou-se que os frutos amostrados na modalidade Meio eram mais pesados e tinham maior diâmetro (quadro 4). Este facto pode refletir uma polinização menos eficaz nesta posição que está no limiar da capacidade de deslocação dos polinizadores. No que diz respeito aos parâmetros dureza, °Brix e acidez estes são, significativamente, mais elevados nas modalidades junto aos topos do pomar o que poderá indiciar o efeito positivo tanto da margem semeada (modalidade Nascente/Margem) como da presença de cerejeiras e pereiras, de floração mais precoce (modalidade Poente).

Quanto à variedade Granny Smith os valores do peso e do diâmetro, contrariamente ao verificado na Golden, foram mais elevados junto à margem semeada. Este resultado pode indiciar o facto de os polinizadores se deslocarem com maior facilidade devido à existência de falhas no pomar e à proximidade de macieiras da variedade Gala a Sul. Estes fatores podem também ser responsáveis pela não existência de uma tendência diferenciadora nos outros parâmetros.

Embora não sendo significativo, verifica-se uma tendência de subida do número de sementes nos frutos colhidos junto às margens, em ambas as variedades. É de realçar um maior número de sementes na variedade Granny Smith provavelmente devido à conjugação de todos os fatores atrás referidos.

Conclusões

A instalação das margens nas proximidades das parcelas de pomar contribuiu para aumentar, significativamente, o número de espécies vegetais presentes diversificando a oferta de néctar e pólen. Este trabalho permitiu conhecer a apetência dos diferentes insetos polinizadores pela flora existente e compreender a sua dinâmica.

Independentemente das espécies presentes, a atuação dos polinizadores manteve-se, sendo esta a garantia de que a fonte de alimento constituiu um fator essencial para a sua fixação no local.

No que respeita à produção, os parâmetros qualitativos avaliados, embora estejam dependentes de múltiplos fatores, indiciam efetivamente o efeito benéfico da criação de condições favoráveis à atividade dos polinizadores, obtida através do incremento da biodiversidade, com a instalação das margens semeadas. Este é um dos aspetos que deverá ser alvo de avaliações futuras, no sentido de aferir metodologias que confirmem uma maior consistência aos resultados.

Referências

Batista, F., Bessa Batista, E., Almeida, P. & Pacheco de Medeiros, C. (s/d). Efeito da polinização por abelhas e da proporção de variedades polinizadoras na produção de

maçã, em pomares na freguesia dos Biscoitos, ilha Terceira. Actas dos I Congresso de Fruticultura e Viticultura. 25-33.

Danforth, B. (s/d). *Diversity and pollination biology of native and managed bees in apple orchards in New York*. Cornell University, Ithaca, New York.

Trillot, M., Masseron, A., Mathieux, V., Bergougnoux, F., Hutin, C. & Lespinasse, Y. (2002). *Le pommier*. CTIFL, Paris

Quadros e figuras

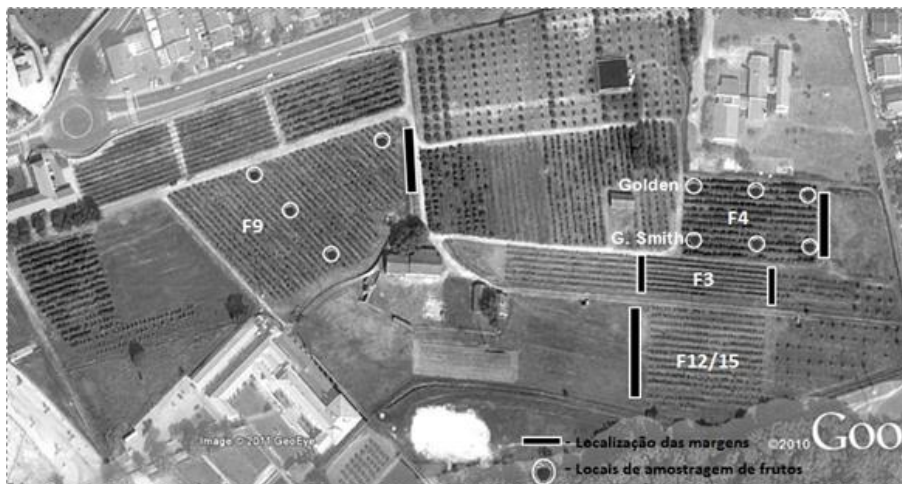


Figura 1 - Planta da Estação Agrária de Viseu com localização das margens semeadas e dos locais de amostragem dos frutos

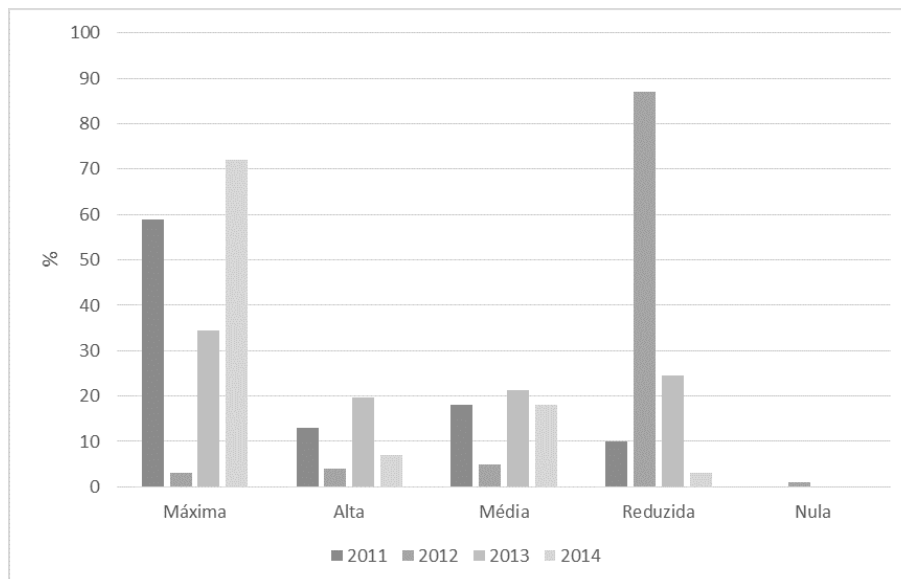


Figura 2 – Atividade potencial dos polinizadores, na altura da floração, nos últimos 4 anos

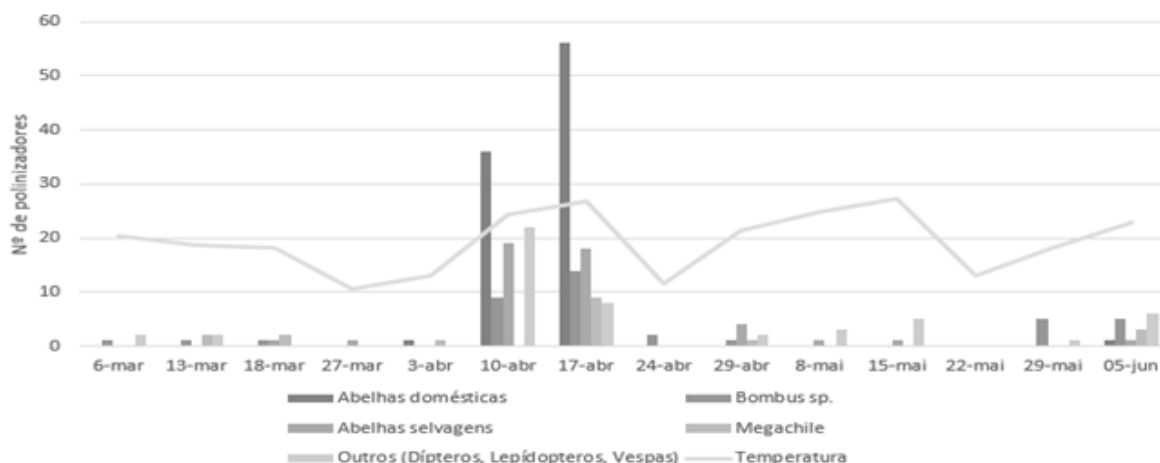


Figura 3 – Distribuição dos diferentes polinizadores ao longo do período de observação

Quadro 1 – Margem F4 e F9 (período de observação 6 de março a 5 de junho)

	Espécie	Família	Muito visitada	Moderada/visitada	Pouco visitada
F4,F9	Camomila (<i>Matricaria recutita</i>)	Asteráceas		AS,O	A,AD
F4	Cardo-comum (<i>Carduus pycnocephalus</i>)	Asteráceas			
F4,F9	Erva-vaqueira (<i>Calendula arvenses</i>)	Asteráceas	AS	O	AD,A
F4,F9	Fidalguinhos (<i>Centaurea cyanus</i>)	Asteráceas	AS	A, AD, O	
F4	Malmequer (<i>Chrysanthemum coronarium</i>)	Asteráceas	AS,O		A,AD
F4	Serralha-preta (<i>Sonchus asper</i>)	Asteráceas		AS, O	AD,A
F4,F9	Soagem (<i>Echium platagineum</i>)	Boragináceas	AD, AS, A	O	
F9	Viperina (<i>Echium vulgare</i>)	Boragináceas	AS,A	AD,AS	O
F4	Bolsa-de-pastor (<i>Capsella bursa</i>)	Brassicáceas		O	AD,AS,A
F4,F9	Saramago (<i>Raphanus raphanistrum</i>)	Brassicáceas	AD, AS, O		A
F4,F9	Erva-moleira (<i>Stellaria media</i>)	Cariofiláceas		O	AD,AS,A
F4,F9	Ervilhaca-vilosa (<i>Vicia dasycarpa</i>)	Fabáceas		A, AS	AD, O
F4,F9	Serradela-amarela (<i>Ornithopus compressus</i>)	Fabáceas		AD,AS	O,A
F4	Serradela-cultivada (<i>Ornithopus sativus</i>)	Fabáceas		AS, O	AD, A
F4,F9	Trevo branco (<i>Trifolium repens</i>)	Fabáceas	AD	AS, A	O
F4	Trevo-da-pérsia (<i>Trifolium resupinatum</i>)	Fabáceas	AD	AS	A,O
F4	Trevo-encarnado (<i>Trifolium incarnatum</i>)	Fabáceas	A	AS, O	AD
F4	Bico-de-pomba-menor (<i>Geranium molle</i>)	Geraneáceas		O	AS,A,AD
F4,F9	Erva-de-São-Roque (<i>Geranium robertianum</i>)	Geraneáceas		AS	O,AD,A
F4,F9	Erva-relógio (<i>Erodium moschatum</i>)	Geraneáceas		AS	AD,O,A
F4	Chuchas (<i>Lamium maculatum</i>)	Lamiáceas	A	O	AS, AD
F4	Chupapitos (<i>Lamium amplexicaule</i>)	Lamiáceas	A	O	AS, AD
F9	Erva-crista (<i>Salvia verbenaca</i>)	Lamiáceas		AS	AD,A,O
F9	Prunela (<i>Prunella vulgaris</i>)	Lamiáceas		AS	AD,O,A
F9	Salva (<i>Salvia officinalis</i>)	Lamiáceas		AS	O,AD,A
F4,F9	Malva (<i>Malva nicaeensis</i>)	Malváceas	AD, A	AS	O
F4	Malva-silvestre (<i>Malva sylvestris</i>)	Malváceas	AD,A,AS		O
F4,F9	Fumária (<i>Fumaria officinalis</i>)	Papaveráceas		AS, O	AD,A
F4	Papoila-brava (<i>Papaver dubium</i>)	Papaveráceas	AS	O	AD,A
F4,F9	Tanchagem (<i>Plantago lanceolata</i>)	Plantagináceas			O
F4,F9	Verónica-da-pérsica (<i>Veronica persica</i>)	Plantagináceas		O	AD,AS,A

AD – Abelhas domésticas; AS – Abelhas selvagens; A – Abelhões; O – Outros polinizadores; Espécies semeadas

Quadro 2 – Margem F3 (período de observação 19 de junho a 14 de agosto)

	Espécie	Família	Muito visitada	Moderada/visitada	Pouco visitada
F3p	Coentros (<i>Coriandrum sativum</i>)	Apiáceas		O	AD,A,AS
F3n	Coentros (<i>Coriandrum sativum</i>)	Apiáceas		AS,O	AD,A
F3pn	Fidalguinhos (<i>Centaurea cyanus</i>)	Asteráceas	AS,O,A		AD
F3pn	Pampilho-das-searas (<i>Chrysanthemum segetum</i>)	Asteráceas	O,AS	AD	AD
F3n	Tasneirinha (<i>Senecio vulgaris</i>)	Asteráceas		AS	A,AD,O
F3pn	Soagem (<i>Echium platagineum</i>)	Boragináceas	AS, A	AD	O
F3pn	Saramago (<i>Raphanus raphanistrum</i>)	Brassicáceas	O	AS	AD,A
F3n	Corriola (<i>Convolvulus arvensis</i>)	Convolvuláceas		AS	A,AD,O
F3n	Luzerna (<i>Medicago sativa</i>)	Fabáceas		A	AB,AS,O
F3pn	Serradela-amarela (<i>Ornithopus compressus</i>)	Fabáceas		AS	AD,A,O
F3n	Serradela-cultivada (<i>Ornithopus sativus</i>)	Fabáceas		AS	AD,O,A
F3pn	Trevo branco (<i>Trifolium repens</i>)	Fabáceas	AD	A	AS,O
F3pn	Trevo-encarnado (<i>Trifolium incarnatum</i>)	Fabáceas	AS,A		AD,O
F3p	Tanchagem (<i>Plantago lanceolata</i>)	Plantagináceas		O	
F3n	Tanchagem (<i>Plantago lanceolata</i>)	Plantagináceas		O	
F3n	Sempre-noiva (<i>Polygonum aviculare</i>)	Poligonáceas		O	

AD – Abelhas domésticas; AS – Abelhas selvagens; A – Abelhões; O – Outros polinizadores; Espécies semeadas

Quadro 3 – Parâmetros à colheita da variedade Bravo da parcela 9S, no ano 2013

Modalidade	Peso	Diâmetro	Dureza	° Brix	Acidez	Amido	Sementes
Nascente/Margem	148 b	70	7.8 a	12.8 b	1.5 b	3.2	4.2 a
Meio-Sul	169 a	72	7.9 a	11.5 c	2.2 a	3.7	2.6 b
Meio-Meio	155 b	71	7.4 b	13.3 a	1.6 b	4.3	2.9 b
Meio-Norte	155 b	71	7.6 ab	12.8 b	1.7 b	3.8	4.4 a
Sig.	*	ns	*	***	***	ns	***

Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente. Sig. = Nível de significância; ns = não significativo ao nível de 0,05; * significativo ao nível de 0,05; ** significativo ao nível de 0,01; *** significativo ao nível de 0,001

Quadro 4 – Peso, diâmetro e número de sementes da variedade Golden da parcela 4S, nos anos 2013 e 2014

Modalidade	Peso		Diâmetro		Sementes	
	2013	2014	2013	2014	2013	2014
Nascente/Margem	152 b	183 a	69 b	75 a	6,4 b	6,8
Meio	179 a	185 a	73 a	75 a	6,5 b	6,6
Poente	160 b	138 b	70 b	68 b	7,7 a	6,8
Sig.	***	***	***	***	**	ns

Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente. Sig. = Nível de significância; ns = não significativo ao nível de 0,05; * significativo ao nível de 0,05; ** significativo ao nível de 0,01; *** significativo ao nível de 0,001

Quadro 5 – Dureza, °Brix, acidez e amido da variedade Golden da parcela 4S, nos anos 2013 e 2014

Modalidade	Dureza		°Brix		Acidez		Amido	
	2013	2014	2013	2014	2013	2014	2013	2014
Nascente/Margem	8,8 a	8,3 a	14,2 b	13,6 a	2,9 b	2,0	7,7	4,7
Meio	7,8 b	7,8 b	12,3 c	12,4 b	2,7 b	2,4	7,9	4,9
Poente	8,8 a	8,2 a	14,9 a	13,5 a	3,7 a	2,2	8,1	5,9
Sig.	***	**	***	***	***	ns	ns	ns

Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente. Sig. = Nível de significância; ns = não significativo ao nível de 0,05; * significativo ao nível de 0,05; ** significativo ao nível de 0,01; *** significativo ao nível de 0,001

Quadro 6 – Peso, diâmetro e número de sementes da variedade Granny Smith da parcela 4S, nos anos 2013 e 2014

Modalidade	Peso		Diâmetro		Sementes	
	2013	2014	2013	2014	2013	2014
Nascente/Margem	211 a	203 a	77	77 a	7,3	7,9
Meio	184 b	182 b	75	73 b	7,3	7,1
Poente	185 b	188 b	75	75 b	7,0	7,1
Sig.	**	***	ns	***	ns	ns

Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente. Sig. = Nível de significância; ns = não significativo ao nível de 0,05; * significativo ao nível de 0,05; ** significativo ao nível de 0,01; *** significativo ao nível de 0,001

Quadro 7 – Dureza, °Brix, acidez e amido da variedade Granny Smith da parcela 4S, nos anos 2013 e 2014

Modalidade	Dureza		°Brix		Acidez		Amido	
	2013	2014	2013	2014	2013	2014	2013	2014
Nascente/Margem	8,5 b	8,0 ab	11,2 b	11,7 a	8,6 a	7,5 a	6,0	6,1
Meio	9,3 a	8,1 a	12,2 a	11,6 ab	8,1 a	5,7 b	6,1	5,6
Poente	8,8 b	7,7 b	11,3 b	11,1 b	7,2 b	6,6 ab	6,0	5,9
Sig.	**	*	***	*	***	**	ns	ns

Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente. Sig. = Nível de significância; ns = não significativo ao nível de 0,05; * significativo ao nível de 0,05; ** significativo ao nível de 0,01; *** significativo ao nível de 0,001

Avaliação do comportamento de quatro porta-enxertos de pereira com a cv. 'Rocha'

Rui Maia de Sousa¹ & Fátima Calouro²

¹ INIAV, I.P. – Pólo de Atividades, em Alcobaça, 2460-059 Alcobaça, rui.sousa@iniav.pt

² INIAV, I.P. – Unidade Sistemas Agrários e Florestais e Sanidade Vegetal -Pólo da Tapada da Ajuda; Apartado 3228; 1301-903 Lisboa, fatima.calouro@iniav.pt

Resumo

A pereira cultivar 'Rocha' tem uma afinidade de enxertia variável consoante o porta-enxerto utilizado. Em geral, essa afinidade é regular com os porta-enxertos designados por francos (*Pyrus communis*) e variável com os porta-enxertos selecionados dos marmeleiros (*Cydonia oblonga*).

Os porta-enxertos mais utilizados em Portugal são os provenientes dos marmeleiros (d'Angers EM.A, d'Angers Sydo® e de Provence BA 29). Não sendo a afinidade de enxertia perfeita, é constante a procura de porta-enxertos com melhor afinidade, que induzam boas produções e em que os frutos sejam de qualidade superior. Neste sentido, instalou-se, em Alcobaça, no ano de 2002, um ensaio com três porta-enxertos de pereira (Fox 11®, Pyro dwarf® e Cydomalus®), cujo comportamento com a cv. 'Rocha' se desconhecia nas condições edafoclimáticas portuguesas, e com o porta-enxerto Sydo®, cujo comportamento já era conhecido.

Para avaliar o vigor induzido por estes porta-enxertos, determinou-se em cada árvore do ensaio o diâmetro do tronco a 0,20 m acima do ponto de enxertia. A avaliação quantitativa e qualitativa da produção à colheita, foi efetuada anualmente, nomeadamente a produção e as classes de calibre e a forma, o peso, a cor, a dureza, o teor de sólidos solúveis e a acidez dos frutos.

Os resultados obtidos revelaram que o porta-enxerto Cydomalus® não é compatível com a cultivar 'Rocha' e o porta-enxerto Pyro dwarf® induz maior vigor que os restantes. Os porta-enxertos Sydo® e Pyrodwarf® induzem maior produção na cultivar 'Rocha' que o porta-enxerto Fox 11®. Os frutos resultantes do simbiote 'Rocha'/Sydo® revelaram-se, em média, mais alongados, mais pesados, com maior teor de sólidos solúveis e menor acidez, quando comparados com os frutos dos outros tratamentos experimentais em estudo.

Palavras-chave: Avaliação, porta-enxerto, vigor, produção, qualidade da produção

Abstract

The affinity of pear cultivar 'Rocha' grafting depends on the used rootstock. In general, this affinity is regular with franc rootstocks (*Pyrus communis*) and varies with the selection of quince (*Cydonia oblonga*) rootstocks.

In Portugal, the usual rootstocks for pear tree cultivar 'Rocha' are selections of quince (d'Angers Eminence, d'Angers and Provence Sydo® BA 29), which have not a perfect affinity with the species, leading to a constant demand for rootstocks with improved affinity, inducing good productions and fruits of superior quality. With this goal, an experiment was installed in 2002, in Alcobaça, with three pear rootstocks (Fox 11®, Pyrodwarf® Cydomalus®), whose behavior with cv. 'Rocha' was unknown in Portuguese soil and climatic conditions, and the rootstock Sydo®, whose behavior was already known.

To evaluate the effect induced by these rootstocks, it was registered the tree trunk diameter at 0.20 m above the grafting point.

Quantitative and qualitative evaluation of production at harvest was also annually performed, namely total production per tree and fruit distribution by size, fruits shape, weight, color, hardness, soluble solids and titratable acidity.

The results showed that the rootstock Cydonalus® is not compatible with the cultivar 'Rocha'. The rootstock Pyrodwarf® induced stronger tree vigor than the others. Rootstocks Sydo® and Pyrodwarf® induced higher productions than Fox 11®. On average, the resulting fruits of the symbiont 'Rocha' / Sydo® proved to be more elongated, heavier, with higher soluble solids and lower titratable acidity as compared to the raised over the other studied rootstocks.

Keywords: Evaluation, rootstock, vigor, production, fruit quality

Introdução

A produção de peras a nível dos 28 países da Comunidade Europeia está a diminuir desde o ano de 2006 em que a produção foi de 2.697.000 t, sendo a de 2013 de 2.236.000 t (Prognosfruit, 2013). Em Portugal, a tendência tem sido inversa, tendo a produção aumentado no mesmo período: em 2006 foi de 173.000 t, atingiu o seu valor máximo em 2011, com 210.000 t, e em 2013 foi de 196.000 t, obtida em 11.000 ha, com uma produção média de 17,82 t por ha (Prognosfruit, 2013). A produção nacional de peras é quase exclusivamente da cultivar 'Rocha'. Os incentivos financeiros disponibilizados pelo PRODER, entre 2007 e 2013, permitiram beneficiar / plantar 2.232 ha de pereiras, pelo que é previsível que a produção nos próximos anos continue a aumentar (PRODER, 2014).

A produção de peras de qualidade, a preços competitivos, com recurso a fatores de produção que respeitem o meio ambiente é já um fator determinante no escoamento da produção, prevendo-se que venha a ter, ainda maior importância no futuro.

A pereira cultivar 'Rocha' tem uma afinidade de enxertia variável consoante o porta-enxerto utilizado. Em geral, essa afinidade é regular com os porta-enxertos designados por francos (*Pyrus communis*) e variável com os selecionados dos marmeleiro (*Cydonia oblonga*).

Atualmente, os porta-enxertos mais utilizados em Portugal são os provenientes de seleções de marmeleiro (d'Angers EM.A, d'Angers Sydo® e de Provence BA 29). Não sendo a afinidade de enxertia perfeita, é constante a procura de novos porta-enxertos com melhor afinidade, que induzam boas produções e em que os frutos sejam de qualidade superior.

Neste sentido instalou-se em Alcobaça, no ano de 2002, um ensaio com três porta-enxertos de pereira (Fox 11®, Pyrodwarf® e Cydonalus®), cujo comportamento com a cv. 'Rocha' se desconhecia nas nossas condições edafoclimáticas, e com o porta-enxerto Sydo®, cujo comportamento já era conhecido.

O objetivo foi o de avaliar o comportamento agronómico dos porta-enxertos em estudo com a cultivar de pereira 'Rocha' clone 2, nas condições edafoclimáticas de Alcobaça.

Material e Métodos

Caracterização do ensaio

O ensaio foi instalado a 05 de junho de 2002 no Campo Experimental da Quinta Nova, pertencente ao Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P. (INIAV, I.P.) - Pólo de Atividades, em Alcobaça, na parcela 9, com área de 12.100 m².

O solo é de textura franca, pouco alcalino (pH (H₂O) = 7,8), com baixo teor de matéria orgânica (MO=1,20%), médio teor de fósforo (120 mg.kg⁻¹ P₂O₅) e muito alto de potássio (> 200 mg.kg⁻¹ K₂O).

As pereiras, que estavam envasadas, foram plantadas de vareta inteira, ao compasso 4,5 x 2,0 m. As cultivares polinizadoras, 'Carapinheira' e 'Passe Crassane' foram plantadas ao longo das linhas do pomar experimental, distanciadas de 14 m entre si e de forma alternada. A

forma de condução utilizada foi o eixo central revestido. O sistema de rega instalado foi o de gota-a-gota, com gotejadores de 2 L/h, distanciados entre si de 1 m, ao longo da linha.

O controlo do coberto vegetal natural realizou-se através da aplicação de herbicida na linha. Na entrelinha, esse controlo foi mecânico e efetuou-se o corte sempre que a altura do coberto vegetal ultrapassasse os 0,20 m. A manutenção do pomar efetuou-se segundo as normas de produção integrada em vigor.

Os porta-enxertos

O porta-enxerto Fox 11® é uma seleção de *Pyrus communis*, semente da cultivar ‘Volpina’, selecionada pelo Prof. Marangoni, em Bolonha, Itália. Induz um vigor ligeiramente superior ao BA29, tem bom enraizamento e está adaptado aos solos calcários (8 – 10% de carbonatos). Tem boa afinidade de enxertia com as variedades mais divulgadas, induz rápida entrada em produção e média qualidade aos frutos. É tolerante à *Agrobacterium tumefaciens* e sensível à *Erwinia amylovora* (Marangoni et al, 2002).

O porta-enxerto Pyrodwarf® é um franco clonal (Old Home x Bonne Louise d’Avranches) selecionado em 1980 pelo Dr. Helmut Jacob, em Geisenheim, Alemanha. Induz um vigor inferior ao BA29 e é pouco sensível ao calcário ativo. Tem boa afinidade de enxertia, induz lenta entrada em produção e produtividade semelhante à induzida pelos marmeleiros, embora os frutos sejam de calibre inferior. É medianamente sensível à *Erwinia amylovora* (Monney, 2013).

O porta-enxerto Cydonalus® é resultante do cruzamento *Malus communis* x *Cydonia oblonga*, obtido pelo Prof. Roversi, tem um vigor médio a fraco (Marangoni et al, 2002), boa afinidade e razoável resistência ao calcário ativo. Exerce um efeito positivo na qualidade dos frutos, designadamente no peso e °Brix).

O porta-enxerto Sydo® é uma seleção do marmeleiro d’Angers, obtido pelo INRA d’Angers, França. Induz um vigor inferior ao BA 29 e apresenta sistema radical superficial, de baixa tolerância ao calcário ativo (4 – 5%). Tem afinidade de enxertia variável em função da cultivar, induz rápida entrada em produção e favorece a qualidade dos frutos. É medianamente sensível à *Erwinia amylovora* (Marangoni, 2002).

Observações efetuadas

Determinação da área seccional do tronco (AST)

Em 2014 procedeu-se à determinação do diâmetro do tronco a 0,20 m acima do ponto de enxertia em cada uma das árvores, por porta-enxerto. Na determinação do diâmetro utilizou-se um parquímetro digital, tendo os resultados sido expressos em cm.

Determinação da produção e sua distribuição por classes de calibre

A produção foi avaliada por tratamento experimental, tendo-se procedido à colheita dos frutos, árvore por árvore, numa única passagem. Assim, os frutos de cada árvore foram colhidos na sua totalidade, a fim de determinar o número de frutos por cada classe de calibre e o peso dos mesmos. Foram consideradas as seguintes classes: < 55 mm], [55-60 mm], [60-65 mm], [65-70 mm], [70-75 mm], [75-80 mm] e [>80 mm]. A pesagem foi efetuada com uma balança dinamométrica, tendo os resultados sido expressos em kg.

Determinação da produção/ área seccional do tronco

Para a determinação da produção/ área seccional do tronco, efetuou-se o quociente entre a produção e a área seccional do tronco, tendo os resultados sido expressos em kg.cm⁻².

Análise qualitativa da produção

À colheita e após a distribuição dos frutos por classe de calibre, foram retirados aleatoriamente, por tratamento experimental, 10 frutos da classe predominante, para avaliar os parâmetros associados à sua qualidade: calibre, altura, peso, dureza, teor em amido, teor em sólidos solúveis totais e acidez total.

Na determinação do calibre e da altura dos frutos foi utilizado um parquímetro digital, sendo os resultados expressos em mm. O peso individual de cada fruto foi determinado com recurso a uma balança de precisão ao decígrama, sendo os resultados expressos em grama.

Para a avaliação da dureza da polpa procedeu-se ao corte superficial de dois discos de epiderme com cerca de 1 cm de diâmetro, em lados opostos na zona equatorial do fruto. A avaliação foi realizada através de um penetrómetro de bolso, com sonda de 0,5 cm² e os resultados expressos em kg.0,5 cm⁻².

Para determinação do índice de regressão do amido, cada fruto foi cortado em duas partes pela zona equatorial. Uma metade foi transformada em sumo por meio de centrifugação e a outra foi utilizada para o teste do amido. As metades foram colocadas com a face cortada voltada para baixo, num tabuleiro com o fundo coberto por uma solução de iodo, sendo colocadas a secar após um minuto com a face cortada voltada para cima. O índice de regressão é determinado por comparação com a Quadro de regressão do amido em pera 'Rocha' criada pela ENFVN (Avelar, 1999).

O teor de sólidos solúveis totais (TSS), expresso em °Brix, obteve-se com refratómetro digital de regulação automática para a temperatura, numa amostra constituída por uma gota de sumo obtida por centrifugação de uma subamostra constituída pelas metades de cada fruto.

A acidez total dos frutos foi determinada no sumo resultante da centrifugação da supracitada subamostra (sobre uma solução de 10 ml de sumo a que se juntou 50 ml de água destilada), por titulação com hidróxido de sódio de concentração conhecida. Os resultados são expressos em gramas por litro de ácido málico.

Análise estatística dos dados experimentais

Os dados obtidos foram sujeitos a análise de variância (ANOVA), tendo sido considerados dois fatores de variação (tratamento experimental e ano de ensaio, uma vez que não estavam disponíveis os dados/árvore). A comparação de médias *a posteriori* foi efetuada através do teste de Duncan ($p=0,05$).

Resultados e Discussão

As pereiras enxertadas em Cydonalus® morreram ao 10º ano após a plantação, por falta de afinidade de enxertia. As produções obtidas nestas pereiras foram muito reduzidas, não ultrapassando as 0,360 kg/árvore no melhor ano (2010). Por esta razão e por se verificar não ter interesse para a cultura da pereira, não se apresentam os resultados referentes a este porta-enxerto.

Área seccional do tronco

A área seccional do tronco permite avaliar o vigor das árvores e relacioná-lo com a produção. No quadro 1 estão expressas as médias das áreas seccionais do tronco obtidas por porta-enxerto. Embora sem diferenças significativas entre si ($p=0,05$), verifica-se que o porta-enxerto Pyrodwarf® conduziu ao valor médio mais elevado (85,31 cm²) e o valor médio mais baixo registou-se nas árvores enxertadas em Sydo® (58,83 cm²). Resultados idênticos foram obtidos por Marangoni et al. (2002) com a cultivar 'William' e por Massai et al. (2007), com a cultivar 'Conference'.

Produção total (kg/árvore)

Os resultados experimentais relativos à produção apresentam-se no quadro 2. Verifica-se que o porta-enxerto Sydo® induziu uma entrada em produção mais precoce, quando comparado com os restantes porta-enxertos em estudo, e que em 2011 (nove anos após a plantação) se obtiveram as produções mais elevadas do período experimental: 29,82 kg/árvore em Pyrodwarf® e 24,91 kg/árvore em Sydo®, e que as árvores enxertadas em Fox 11® só alcançaram a sua produção máxima (21,25 kg) em 2014.

Observa-se também que ao longo do período de ensaio se verificou uma nítida alternância de produção em todos os porta-enxertos, embora as árvores enxertadas em Sydo® se tenham revelado menos alternantes.

As produções médias mais elevadas foram obtidas com os porta-enxertos Sydo® e Pyrodwarf® (10,63 e 10,60 kg/árvore, respetivamente), embora sem diferenças significativas para o porta-enxerto Fox 11® (8,32 kg/árvore). A produção média acumulada ao longo do período de ensaio foi mais elevada no porta-enxerto Sydo® (85,04 kg/árvore), seguindo-se a do Pyrodwarf® (84,81 kg/árvore) e do Fox 11 (66,59 kg/árvore). Estes resultados concordam com os obtidos por Marangoni et al. (2002) para os porta-enxerto Fox 11® e Sydo®.

Distribuição da produção por classe de calibre (%)

Frutos de calibre ≤ 60 mm. Na média dos anos, observou-se um efeito muito significativo ($p \leq 0,01$) do porta-enxerto sobre a produção de frutos de calibre ≤ 60 mm, tendo o Pyrodwarf® conduzido à produção média mais elevada destes frutos (33,53% do total da sua produção estava incluída nesta classe de calibre), significativamente superior às dos outros porta-enxertos, que não se diferenciaram ao nível de $p=0,05$. Estes resultados, expressos em %, apresentam-se no quadro 2, bem como os valores relativos à produção anual, durante o período experimental.

Frutos de calibre > 60 mm. A percentagem média de frutos de calibre superior a 60 mm foi superior no porta-enxerto Fox 11 (80,69%), embora idêntica à obtida sobre Sydo® (78,46%), ambas significativamente mais elevadas ($p=0,05$) do que a produção média obtida sobre Pyrodwarf (quadro 2).

Produção/ área seccional do tronco

Os resultados obtidos, no que diz respeito à produção e área seccional do tronco, permitiram determinar a produção total por unidade de área (produtividade), apresentando-se no quadro 1 os resultados referentes ao ano de 2014. Verifica-se que o porta-enxerto Sydo® proporcionou a produção mais elevada por unidade de área seccional do tronco (0,40 kg.cm⁻²), enquanto a menor ocorreu em Pyrodwarf® (0,27 kg.cm⁻²).

Análise qualitativa da produção

Conforme referido anteriormente, a análise qualitativa da produção foi efetuada, por tratamento experimental, em amostras de frutos obtidos de forma aleatória na classe de calibre predominante que, de um modo geral, se situou nos [60 - 65] mm.

Não se observaram efeitos significativos do porta-enxerto ($p > 0,05$) sobre os parâmetros de qualidade apresentados no quadro 3. Relacionando o calibre com a altura dos frutos, verifica-se que os frutos produzidos sobre o porta-enxerto Fox 11® eram mais arredondados (0,87) que os criados sobre o porta-enxertos Sydo® (0,82) e Pyrodwarf® (0,83), embora estes valores não difiram entre si de forma significativa ($p=0,05$).

Os frutos criados sobre o porta-enxerto Sydo® são mais pesados que os dos restantes porta-enxertos, como se pode verificar no quadro 3. Os resultados deste trabalho são concordantes com os obtidos por Marangoni et al. (2002) na cultivar ‘William’ para os porta-enxertos Fox 11® e Sydo®.

O porta-enxerto Pyrodwarf® produziu frutos com menor dureza média (6,00 kg.0,5 cm⁻²). No Fox 11 e no Sydo® os resultados são, à semelhança dos casos anteriormente referidos, idênticos aos obtidos por Massai et al. (2007) para a cultivar ‘Conference’.

Relativamente ao índice de amido verifica-se que foi mais elevado (7,72) no porta-enxerto Fox 11® e mais baixo no Pyrodwarf® (7,23).

Quanto ao teor de sólidos solúveis totais, o valor médio mais baixo ocorreu nos frutos criados sobre Fox 11 (13,15 °Brix) e o mais elevado no Sydo® (14,28 °Brix).

O valor médio mais elevado da acidez ocorreu nos frutos das árvores sobre Pyrodwarf® (2,07 g/L de ácido málico) e o mais baixo foi induzido pelo porta-enxerto Sydo® (1,85 g/L de ácido málico).

Conclusões

Os resultados experimentais obtidos permitem concluir que:

O porta-enxerto Cydomalus® não tem afinidade de enxertia com a cultivar ‘Rocha’ clone 2, já que todas as árvores do ensaio morreram até aos 10 anos após a plantação.

O porta-enxerto franco Pyrodwarf® é o mais vigoroso e tem boa afinidade com a cultivar ‘Rocha’, embora apresente uma entrada em produção mais lenta que o Sydo®. No entanto, induz a cultivar a produzir mais frutos de menor calibre, embora a produção total média por árvore seja idêntica à obtida com o Sydo®.

Relativamente aos parâmetros de qualidade dos frutos, os resultados sugerem que não houve interferência do porta-enxerto, o que leva a concluir pela necessidade de continuar os estudos, a fim de confirmar os resultados até agora obtidos. No entanto, nas condições edafoclimáticas onde se realizou o estudo, o porta-enxerto Sydo® parece ser o mais equilibrado em termos de vigor e produção, bem como no que toca à qualidade dos frutos.

Agradecimentos

Os autores agradecem a todos os que contribuíram para a realização do presente estudo, em particular a Irene Boa-Fé e Manuela Cordeiro do INIAV, I.P. /Pólo de Alcobaça, Adozinda Curto, Natália Correia e Cristina Sempiterno do INIAV, I.P. /UEIS-SAFSV, por toda a dedicação e empenho manifestados.

Referências

- Avelar, L. & Rodrigues, C., 1999. Teste de regressão do amido em pera ‘Rocha’. Estação Nacional de Fruticultura Vieira Natividade.
- European Report Apple and Pear Floreacast 2013. Wapa - Prognosfruit 2013. www.wapa-association.org
- Marangoni, B.; Malaguti, D.; Mezzetti, B.; Sansavi, S.; Musacchi, M.; Grandi, M.; Pala, M.; Lovicu, G.; Grassi, G.; Rega, P.; Pellegino, S.; Youssef, J.; Stefano, De.; Bivona, B.; Loreti, F.; Massai, R.; Bergamini, A.; Videsot, G.; Testolin, R. & Bassi, G., 2002. I portinnesti del pero. Supplemento a L’ Informatore Agrario, n.º 51.
- Massai, R. ; Loreti, F. & Fei, C., 2007. Growth and yield of ‘Conference’ pears grafted on quince and pear rootstocks. Acta Horticulturae N.º 800, p. 617-624.
- Monney, E. , 2013. Les porte-greffe du poirier. Agroscope.
- PRODER – Programa de Desenvolvimento Rural. 2014. www.proder.pt. A fruticultura no PRODER - Alguns indicadores.

Quadros e figuras

Quadro 1 - Valores médios da área seccional do tronco e da produção/AST observados por porta-enxerto (2014).

Porta-enxerto	Área Seccional do tronco 0,20 m acima do ponto de enxertia (cm ²)	Produção / AST (kg.cm ⁻²)
Fox 11®	71,16	0,30
Pyrodwarf®	85,31	0,27
Sydo®	58,83	0,40
sm (±)	1,635	-

sm - Desvio padrão da média.

Caraterização morfo-fisiológica de populações de *Sambucus nigra* L. da região do Vale do Varosa

Ermelinda Silva¹, Eunice Bacelar¹, Berta Gonçalves¹, Helena Ferreira¹, José Moutinho-Pereira¹, Carlos Correia¹ & Fernando Nunes²

¹ Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, UTAD, Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas, CITAB, Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. Email: ermelinda07@gmail.com, bertag@utad.pt, helenaf@utad.pt, moutinho@utad.pt, ccorreia@utad.pt, areale@utad.pt

² Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, UTAD, Centro de Química - Vila Real, CQ-VR, Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. Email: fnunes@utad.pt

Resumo

O sabugueiro (*Sambucus nigra* L.) é uma espécie nativa da Europa e norte de África, com ampla distribuição geográfica e grande importância para a indústria farmacêutica, agroalimentar, têxtil e cosmética. Esta espécie tem particular interesse económico na região do Vale do Varosa (concelhos de Tarouca, Armamar, Lamego, Tabuaço e Moimenta da Beira), onde existem numerosas populações silvestres e cultivadas. Contudo, é muito importante compreender o comportamento fisiológico das populações da região para aumentar a produtividade e a qualidade da baga produzida. Deste modo, estão a ser desenvolvidos estudos em folhas, inflorescências flores e frutos de três populações de sabugueiro vulgarmente conhecidas por ‘Sabugueiro’, ‘Sabugueira’ e ‘Bastardeira’. Nas folhas foi avaliado o estado hídrico (conteúdo hídrico relativo), área foliar específica, suculência, espessura dos tecidos, concentração de ceras cuticulares, perda de eletrólitos e quantificação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Nos frutos foi quantificada a concentração de ceras cuticulares. Foram ainda realizadas análises biométricas em inflorescências e flores. Foram observadas diferenças significativas ao nível das folhas para a concentração de ceras cuticulares e TBARS. A população “Bastardeira” foi a que apresentou maior teor de ceras cuticulares. Relativamente à concentração de TBARS a população “Sabugueira” foi a que apresentou um valor mais elevado. As árvores da “Bastardeira” apresentaram folhas mais protegidas contra a desidratação e inflorescências e flores de maiores dimensões. Estes resultados sugerem que as plantas desta população se encontram melhor adaptadas às condições da região do Vale do Varosa.

Palavras-chave: Sabugueiro, anatomia e estrutura foliar, biometria, variabilidade intraespecífica.

Abstract

Morpho-physiological characterization of *Sambucus nigra* L. populations from Varosa Valley region

The elderberry (*Sambucus nigra* L.) is native to Europe and northern Africa, with a wide geographic distribution and great importance for the pharmaceutical, food processing, textile and cosmetic industries. This species has particular economic importance in the Varosa Valley region (Tarouca, Armamar, Lamego, Tabuaço and Moimenta da Beira), where there are numerous wild and cultivated populations. This region has excellent soil and climatic conditions for the development of this culture, which allows to obtain products of high quality. However, it is very important to understand the physiological behaviour of the populations in the region to increase productivity and berry quality. Therefore, studies are being made on leaves, inflorescences, flowers and fruits of three elderberry populations commonly known as ‘Sabugueiro’ ‘Sabugueira’ and ‘Bastardeira’. The leaf water status (relative water content),

specific leaf area, succulence, tissue thickness, concentration of cuticular waxes, electrolyte leakage and concentration of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in leaves were evaluated. The concentration of cuticular waxes was also evaluated in fruits. Biometric analyses were also carried out in inflorescences and flowers. Significant differences were observed in TBARS and cuticular waxes concentrations. The ‘Bastardeira’ was the population with more concentration of cuticular waxes. Relatively of TBARS concentration, ‘Sabugueira’ was the population with highest value. Trees of ‘Bastardeira’ had leaves more protected against dehydration and larger inflorescences and flowers. These data suggest that plants of this population are best adapted to the conditions of the Varosa Valley.

Keywords: Elderberry, leaf anatomy and structure, biometrics, intraspecific variability.

Introdução

O sabugueiro (*Sambucus nigra* L.) é uma espécie nativa da Europa e norte de África com ampla distribuição geográfica, nomeadamente no norte e parte ocidental da Península Ibérica, Sicília, Grécia e esporadicamente na faixa costeira norte da Turquia (Atkinson & Atkinson, 2012). Foi disseminado para o Novo Mundo pelos portugueses e espanhóis, durante a época dos descobrimentos, onde se aclimatou e existe especialmente na região dos Andes, cujo clima é favorável a numerosas espécies europeias (Font Quer, 1990). Em Portugal, é uma planta espontânea em quase todo o país com maior incidência no norte, onde abunda ao longo de caminhos, nas proximidades de linhas de água e em bordadura de terrenos com outras culturas arvenses de regadio (Neto, 2007). O sabugueiro é um arbusto ou pequena árvore que atinge 5-6 m, com tronco irregular onde se inserem ramos opostos cobertos com uma casca rugosa de cor cinzento-esbranquiçada. As folhas apresentam cor verde escura na página superior e mais clara na página inferior. As flores são de cor creme-esbranquiçada e estão agrupadas em amplas cimeiras corimbiformes e exalam um aroma agradável. Os frutos são drupas embora sejam conhecidos como “bagas” que contêm 3 a 5 sementes no interior da polpa suculenta (Neto et al., 1998). Quando maduros, apresentam cor púrpura, escura, estando agrupados em infrutescências pendentes (Neto, 2007).

O sabugueiro é hoje em dia uma espécie de grande importância para a indústria, nomeadamente para a farmacêutica, agroalimentar, têxtil e cosmética utilizando-se as flores, as folhas, os frutos maduros e a segunda casca seca (Régiefrutas, 2013). A baga de sabugueiro é utilizada ao nível alimentar para a produção de geleias, sumos, marmeladas, licores, coloração de alguns vinhos (Mindell, 1992; Braga et al., 2002). Em Portugal, a tinta da baga era usada para carimbar carne em centros de abate como garantia de realização da inspeção (Neto et al., 1998). Ao nível medicinal, as bagas trazem grandes benefícios para a saúde, tais como combate de doenças cardiovasculares, estimulador do sistema imunitário, redução do colesterol, diabetes, gripes, constipações, bronquites, gota, reumatismo, edemas, dores de cabeça, insónias, etc. (Cerdeira, 2010). Ao nível da flor, esta é utilizada para a preparação de refrescos e chás, aromatizante de licores, confeção de geleias, e utilizadas medicinalmente para o tratamento de estomatites, faringites, feridas e queimaduras. As folhas são geralmente utilizadas para aclarar manchas na pele e tratar queimaduras solares e funcionam como repelente de insetos. A sua madeira é geralmente usada como combustível, utilizada em trabalhos de tornearia e para a produção de instrumentos musicais (Fazio et al., 2013).

Em Portugal a cultura do sabugueiro tem particular importância económica na região do Vale do Varosa (concelhos de Tarouca, Armamar, Lamego, Tabuaço e Moimenta da Beira). O facto desta região se encontrar rodeada por várias serras faz com que apresente excelentes condições edafoclimáticas para o desenvolvimento desta cultura, permitindo a obtenção de um produto de elevada qualidade (Braga et al., 2002; Neto, 2007). A “Baga do Varosa” apresenta um conteúdo em sólidos solúveis superior quando comparada à produzida noutros países europeus, razão da sua grande procura pelo mercado externo (Direção Regional de Agricultura

e Pescas do Norte, 2007). Estudos anteriores (Areal, 2000; Cerdeira, 2010) comprovam a existência de comportamentos distintos entre exemplares da região, estando identificadas pelo menos três populações que os produtores designam vulgarmente por ‘Sabugueiro’, ‘Sabugueira’ e ‘Bastardeira’. O ‘Sabugueiro’ tem maturação tardia, as folhas são ovadas e de cor verde-escura; a medula ocupa aproximadamente 70% do diâmetro dos ramos, os cachos têm pedúnculo (pé, canganho ou engaço) avermelhado e a baga destaca-se facilmente. A ‘Sabugueira’ é caracterizada por ser temporã, com folhas ovado-lanceoladas de cor verde-claro; a medula ocupa quase todo o diâmetro dos ramos, os cachos têm o pedúnculo branco e a baga destaca-se mal. A ‘Bastardeira’ é intermédia quanto à maturação, de folhas verde-claras, lanceoladas; a medula ocupa quase todo o diâmetro dos ramos, os cachos têm o pedúnculo arredondado e estriado e a baga destaca-se facilmente e apresenta maiores dimensões quando comparada com as outras populações (Neto, 2007). Apesar dos conhecimentos empíricos sobre as plantas das populações locais de *S. nigra*, existe ainda um grande desconhecimento sobre as suas características morfo-fisiológicas. Este trabalho teve como objetivo contribuir para a caracterização das plantas das três populações mais importantes na região do Vale do Varosa (‘Sabugueiro’, ‘Sabugueira’ e ‘Bastardeira’) ao nível dos seus diferentes órgãos (folhas, flores e frutos). Nas folhas destas populações foram avaliados o estado hídrico (RWC), área foliar específica (SLA), suculência, espessura dos tecidos, concentração de ceras cuticulares, perda de eletrólitos e quantificação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Nos frutos foi quantificada a concentração de ceras cuticulares. Foram ainda realizadas análises biométricas em inflorescências e flores.

Material e Métodos

Campo experimental

Após uma prospeção inicial, realizada no sentido de selecionar um local representativo das condições edafo-climáticas da região do Vale do Varosa foi escolhido um pomar localizado no concelho de Moimenta da Beira que apresentava as 3 populações de *S. nigra* existentes na região. No pomar, composto por 3 parcelas, foram selecionadas aleatoriamente 18 plantas adultas (5 de ‘Sabugueiro’, 5 de ‘Sabugueira’ e 8 de ‘Bastardeira’), com características similares de volume da copa e de diâmetro do tronco, com o objetivo de reduzir a variabilidade experimental.

Estado hídrico e esclerofilia

Após a recolha durante a manhã (11.00h), as amostras foram colocadas em copos hermeticamente fechados e transportadas numa mala térmica até ao laboratório. Seguiu-se a pesagem numa balança de precisão de modo a obter o peso fresco (Pf). De seguida, adicionou-se água desmineralizada de modo a que os peciólulos ficassem completamente imersos. Ao fim de 24h na obscuridade e a 4°C, determinou-se o peso túrgido (Pt). Seguidamente, as amostras foram desidratadas numa estufa ventilada a 70°C e após 48h determinou-se o peso seco (Ps). O estado hídrico das folhas foi avaliado através do conteúdo hídrico relativo (RWC), através da expressão $RWC (\%) = (Pf - Ps) / (Pt - Ps) \times 100$ (Čatský, 1960). A área foliar específica (SLA) foi calculada pela razão da área foliar por peso seco foliar (Reich *et al.*, 1992). A área foliar (LA, cm²) foi calculada através de um medidor de área foliar de bancada ligado a um computador com o sistema WinDIAS 1 (Delta-T Devices Ltd., Reino Unido). A suculência das folhas (S, mg H₂O cm⁻²) foi determinada pela fórmula $S = (Pf - Ps) / LA$ (Bacelar, *et al.*, 2006).

Anatomia foliar

Para os estudos anatómicos foram realizadas preparações definitivas de seis folíolos terminais de cada uma das plantas em estudo (pelo menos 5 de cada população). Estas preparações foram elaboradas com técnicas usuais de inclusão em parafina após desidratação em série alcoólica etífica (Johansen, 1940; Berlyn e Miksche, 1976) e coradas com azul de

toluidina 0,1% (O'Brien *et al.*, 1964). Os cortes foram posteriormente observados e fotografados num microscópio ótico (Olympus IX51, Olympus Biosystem, Munich, Alemanha) equipado com uma câmara digital (ColorViewIII, Soft Imaging System GmbH, Münster, Alemanha) e analisados utilizando os programas de tratamento de imagem Olympus Cell^A e Digimizer Image Analysis Software (MedCalc Software bvba, Ostend, Bélgica).

Ceras cuticulares solúveis em folhas e frutos

A quantificação de ceras cuticulares (epi- e intracuticulares) solúveis foi realizada segundo o método descrito por Hamilton (1995). Para a quantificação do teor de ceras nas folhas foram usados 4 folíolos da mesma folha (folíolo terminal e sub-terminais). Para a quantificação nos frutos, foram utilizados 12 frutos para cada repetição.

Peroxidação lipídica e perda de eletrólitos

A quantificação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi determinada espectrofotometricamente segundo os métodos de Heath & Packer (1968) e adaptações de Costa *et al.* (2002). A quantificação da perda de eletrólitos foi realizada através do método descrito por Lutts *et al.* (1996).

Análise biométrica de inflorescências e flores

O comprimento, a largura e o comprimento do pedúnculo das inflorescências foram medidos através de um paquímetro digital (Mitutoyo Illinois, EUA). A área da inflorescência foi medida através do medidor de bancada já referido anteriormente. Foram ainda determinadas a área floral, o comprimento, a largura e o comprimento do pedicelo das flores das 3 populações.

Análise estatística

O tratamento de dados foi realizado através de análise da variância com o programa GraphPadPrism versão 6 (GraphPad Software Inc., San Diego, EUA). Para a comparação de médias utilizou-se o teste múltiplo de Tukey (Tukey Multiple Comparison Test) para um intervalo de confiança de 95%.

Resultados e Discussão

Analisando os resultados obtidos durante os anos de 2012 e 2013 verificamos que todas as plantas se encontravam em bom estado hídrico não se verificando diferenças significativas no RWC (quadro 1). Segundo Vogt (2001), o sabugueiro é uma espécie isohídrica que pode sofrer pequenas variações diárias e sazonais de estado hídrico. Também não se verificaram diferenças significativas relativamente ao nível da estrutura foliar analisando os valores de SLA e suculência (quadro 1). Todas as árvores apresentavam mesófilo heterogêneo com parênquima clorofilino em paliçada associado à página adaxial e parênquima clorofilino lacunoso associado à página abaxial, tal como verificado anteriormente por Areal (2000) em folhas de outras populações de *S. nigra*. De uma maneira geral, não se verificaram diferenças significativas relativamente às espessuras dos tecidos foliares das três populações estudadas (quadro 2). No entanto, em 2012, as folhas de 'Sabugueira' apresentaram uma cutícula adaxial mais espessa. A cutícula foliar restringe a difusão de água de forma que a maior parte do vapor de água e de outros gases passe exclusivamente pelos ostíolos dos estomas (Torres-Pereira, 2000). Esta população apresentou ainda uma epiderme abaxial mais espessa, mas apenas quando comparada com a população 'Bastardeira'.

Verificou-se que a 'Bastardeira' apresentava maior concentração de ceras cuticulares nas folhas (fig. 1a) o que sugere que esta população se encontra mais protegida contra as perdas excessivas de água. No que diz respeito aos frutos, não se verificaram diferenças significativas quanto à concentração de ceras cuticulares (fig. 1b).

Ao nível da integridade membranal verificaram-se diferenças significativas com a 'Sabugueira' a apresentar maior concentração de TBARS que a população 'Sabugueiro' em

2012 (fig. 2). Considerando a concentração de TBARS como um marcador bioquímico para os danos oxidativos provocados por espécies reativas de oxigénio na membrana lipídica (Bacelar et al., 2006), é provável que as árvores da população ‘Sabugueira’ sejam mais suscetíveis a fatores de stresse. No entanto, as folhas desta população não apresentaram maior perda de eletrólitos (dados não apresentados).

Relativamente à análise biométrica, verificou-se que a ‘Bastardeira’ foi a população que apresentou inflorescências com maiores dimensões (fig. 3a e 4) e que as suas flores também apresentaram maior área e maior pedicelo (fig. 3b e 5).

Conclusões

Apesar das poucas diferenças observadas ao nível morfo-fisiológico entre as três populações estudadas, alguns dos resultados obtidos poderão contribuir para uma melhor compreensão da adaptabilidade das populações às condições da região. A maior concentração de ceras cuticulares solúveis nas folhas, a maior área das inflorescências, aliada à maior área floral poderá contribuir para uma maior produção da população ‘Bastardeira’. De referir que esta população é a que apresenta maior teor de sólidos solúveis (°Brix) e maior atividade antioxidante (Bacelar et al., 2014), sendo estas características muito valorizadas pela indústria.

Agradecimentos

Este trabalho foi realizado no âmbito do Projeto *SambucusFresh*, QREN 23109 I&D cofinanciado pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER) através do ON2 - Programa Operacional Regional do Norte (PO Norte), gerenciado pela Agência de Inovação (ADI).

Referências

- Areal, E.L.V. 2000. Estudo da cultura do Sabugueiro (*Sambucus nigra* L.): Contributo para a caracterização e distinção de exemplares. Dissertação de Mestrado em instrumentos e técnicas de apoio ao desenvolvimento rural. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real. p.89.
- Atkinson, M.D. & Atkinson, E. 2002. *Sambucus nigra* L. Journal of Ecology 90:895-923.
- Bacelar, E., Gonçalves, B., Silva, E., Ferreira, H., Moutinho-Pereira, J., Correia, C. & Nunes, F. 2014. Variation of Morpho-Physiological Characters in *Sambucus nigra* L. Populations Growing in Portugal. Plant Biology Europe FESPB/EPSO Congress. Dublin, Ireland 22-26 June. p. 204.
- Bacelar, E.A., Santos, D.L., Moutinho-Pereira, J.M., Gonçalves, B.C., Ferreira, H.F. & Correia, C.M. 2006. Immediate responses and adaptative strategies of three olive cultivars under contrasting water availability regimes: Changes on structure and chemical composition of foliage and oxidative damage. Plant Science 170:596-605.
- Berlyn, G.P. Miksche. 1976. Botanical Microtechnique and Cytochemistry. The Iowa State University Press. Ames, Iowa. p. 326 .
- Braga, F.G., Carvalho, L.M., Guedes-Pinto, H., Torres-Pereira, J.M., Neto, M.F. & Monteiro, A. 2002. Variation of the anthocyanin contents in *Sambucus nigra* L. populations growing in Portugal. Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants 9(4):289-295.
- Čatský, J. 1960. Determination of water deficit in disks cut out from leaf blades. Biologia Plantarum 2 (1):76-78.
- Cerdeira, A.M.C. 2010. Efeito de factores microclimáticos e de fertilidade do solo nos teores fenólicos e de pigmentos do sabugueiro (*Sambucus nigra* L.). Dissertação de mestrado em Engenharia Florestal. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. Vila Real, Portugal.

- Costa, H., Gallego, S.M., Tomaro, M.L. 2002. Effect of UV-B radiation on antioxidant defense system in sunflower cotyledons. *Plant Science* 162:939-945.
- Deysson, G. 1965. Éléments d'anatomie des plantes vasculaires. Société d'Édition d'Enseignement Supérieur, Paris.
- Direção Regional de Agricultura e Pescas do Norte. 2007. Programa de desenvolvimento rural da região Norte - Fileiras estratégicas. Portugal. Outubro. p 201.
- Fazio, A., Plastina, P., Meijerink, J., Witkamp, R.F. & Gabriele, B. 2013. Comparative analyses of seeds of wild fruits of *Rubus* and *Sambucus* species from Southern Italy: Fatty acid composition of the oil, total phenolic content, antioxidant and anti-inflammatory properties of the methanolic extracts. *Food Chemistry* 140 (4):817-824.
- Font-Quer, P. 1990. Plantas Medicinales, el Dioscórides Renovado. Editorial labor, S.A., Barcelona.
- Hamilton, R.J. 1995. Waxes: chemistry, molecular biology and functions. Orly Press, Edinburgh.
- Heath, R.L. & Packer, L. 1968. Peroxidation in Isolated Chloroplasts I. Kinetics and Stoichiometry of Fatty Acid Peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125:189-198.
- Johansen, D.A. 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill, New York.
- Lutts, S., Kinet, J.M. & Bouharmont, J. 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany* 78:389-398.
- Mindell, E. 1992. The Herb Bible. Simon and Schuster, New York, USA.
- Neto, M.F.B.C. 2007. Sabugueiro - Potencialidades. Direção Regional de Agricultura e Pescas do Norte. Projeto financiado pelo programa AGRO-Medida 8.1. Desenvolvimento Experimental e Demonstração-AGRO 309. Mirandela, Portugal abril. p. 15.
- Neto, M.F.B.C., Carvalho, J.L.R.S. & Monteiro, A.M. 1998. Sabugueiro o filão agrícola. Direção Regional da Agricultura e Pescas do Norte. Divisão de Produção Agrícola, Centro experimental da Terra Quente. p.6.
- O'Brien, T.P. Feder, N.; McCully, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59(2): 368-373.
- Regiefrutas. 2013. www.regiefrutas.pt.
- Reich, P.B., Walters, M.B. & Ellsworth, D.S. 1992. Leaf Life-Span in Relation to Leaf, Plant, and Stand Characteristics among Diverse Ecosystems. *Ecological Monographs* 62(3): 365-392.
- Torres-Pereira, J.M.G. 2000. Apontamentos teóricos da disciplina de Fisiologia Vegetal. UTAD, Vila Real.
- Vogt, U.K. 2001. Hydraulic vulnerability, vessel refilling, and seasonal courses of stem water potential of *Sorbus aucuparia* L. and *Sambucus nigra* L. *Journal of Experimental Botany* 360 (52):1527-1536.

Quadros e figuras

Quadro 2. Conteúdo hídrico relativo (RWC, %), área foliar específica (SLA, $\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$) e suculência ($\text{mg H}_2\text{O cm}^{-2}$) das folhas três populações de Sabugueiro em estudo ($n=15$).

	RWC		SLA		Suculência	
	2012	2013	2012	2013	2012	2013
População						
Sabugueiro	92,3	92,0	13,4	14,6	19,2	19,4
Sabugueira	93,2	93,3	14,0	14,1	17,6	19,5
Bastardeira	88,9	91,7	14,2	14,3	18,5	20,0
Valores de P	0,178	0,234	0,529	0,804	0,524	0,706

Quadro 3. Espessura dos tecidos foliares (μm) ($n=30$) das três populações de Sabugueiro em estudo. Médias seguidas pela mesma letra não são significativamente diferentes para $P < 0,05$ (teste de Tukey).

	Lâmina total		Cutícula adaxial		Epiderme adaxial		Parênquima em paliçada		Parênquima lacunoso		Epiderme abaxial		Cutícula abaxial	
	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013	2012	2013
População														
Sabugueiro	181,6	173,8	2,50 a	4,40	18,3	16,3	59,2	61,5	84,9	75,7 b	12,6 ab	11,1	2,50 b	3,46
Sabugueira	181,5	153,3	3,33 b	4,37	19,3	15,3	55,3	54,2	87,3	61,4 a	13,4 b	11,4	2,34 ab	3,22
Bastardeira	182,6	162,2	2,50 a	4,01	18,3	15,6	55,3	60,5	92,4	65,9 ab	11,5 a	11,4	2,19 a	3,32
Valor de P	0,974	0,108	<0,001	0,356	0,318	0,729	0,370	0,313	0,128	0,029	0,017	0,940	0,007	0,725

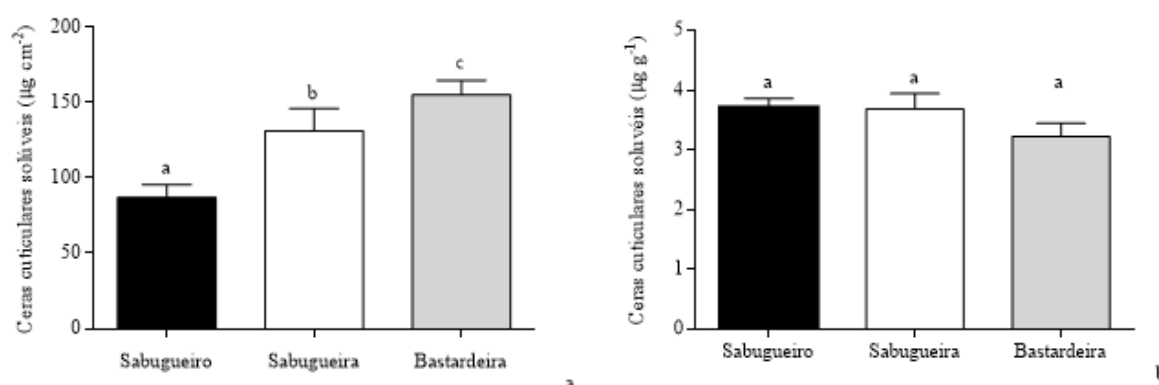


Figura 1. Concentração de ceras cuticulares solúveis nas folhas (a) e nos frutos (b) das três populações em 2013. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as populações estudadas de acordo com o teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores apresentados são a média \pm erro padrão de 15 repetições.

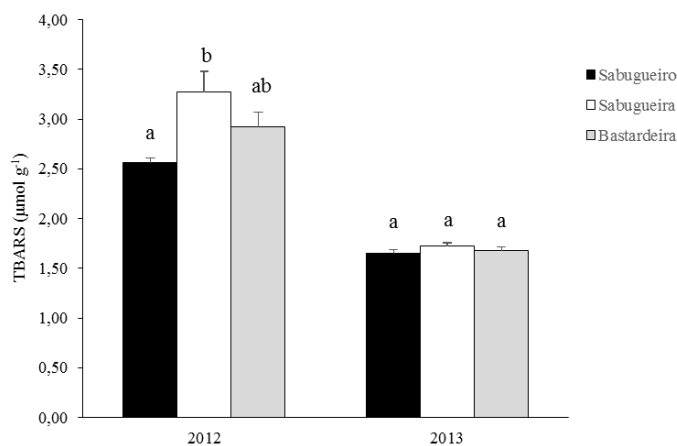


Figura 2. Concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) nas três populações. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre populações de acordo com o teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores apresentados são a média \pm erro-padrão de 30 repetições.

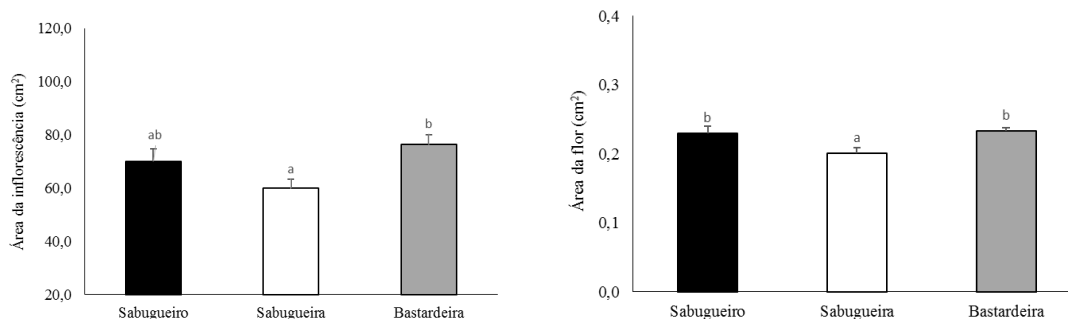


Figura 3. Área das inflorescências (a) e das flores (b) das três populações em estudo. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as populações estudadas de acordo com o teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores apresentados são a média \pm erro padrão de 15 repetições.

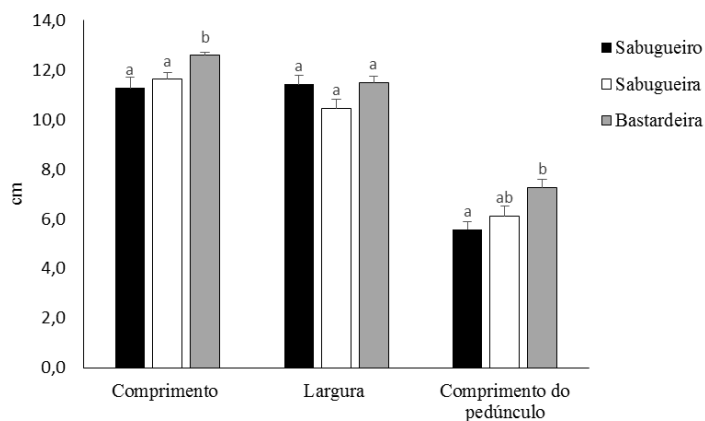


Figura 4. Comprimento, largura e comprimento do pedúnculo (cm) das inflorescências das três populações. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as populações estudadas de acordo com o teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores apresentados são a média \pm erro padrão de 15 repetições.

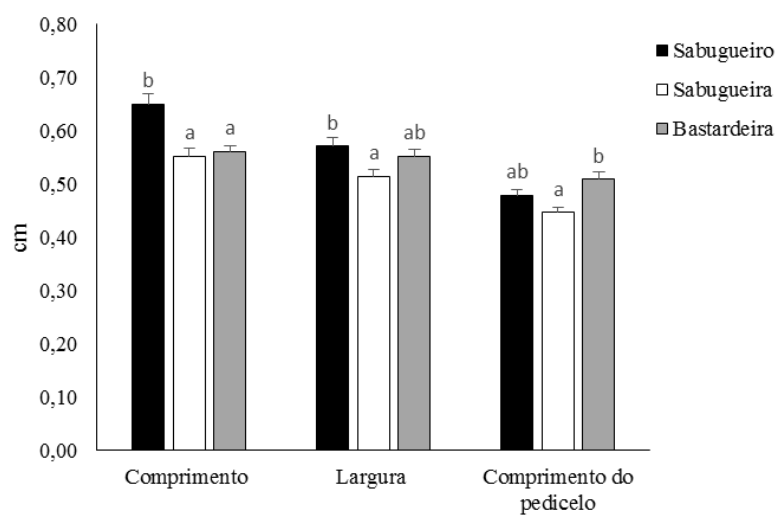


Figura 5. Comprimento, largura, e comprimento do pedicelo (cm) das flores das três populações em estudo. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as populações estudadas de acordo com o teste de Tukey ($P < 0,05$). Os valores apresentados são a média \pm erro padrão de 15 repetições.

Comportamento biológico de folhas expostas *versus* folhas de sombra em cerejeira

Filipa Queirós¹, José Moutinho-Pereira¹, Carlos Correia¹, Eunice Bacelar¹, Helena Ferreira¹, Ana Paula Silva², Alberto Santos³, Ana Barros¹ & Berta Gonçalves¹

¹Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Departamento de Biologia e Ambiente, Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. E-mail: filipa_queiros@portugalmail.pt; moutinho@utad.pt; ccorreia@utad.pt; areale@utad.pt; helenaf@utad.pt; abarros@utad.pt; bertag@utad.pt

²Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Departamento de Agronomia, Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. E-mail: asilva@utad.pt

³Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD). E-mail: asantos@utad.pt

Resumo

A cerejeira é uma espécie com hábitos de vegetação acrótonos, com tendência para desenvolver copas pouco cónicas, muito densas e pouco permeáveis à luz, originando produções baixas e de fraca qualidade. Estudos feitos demonstram a relação entre a interceção de luz e a eficiência produtiva da cerejeira, porém, do ponto de vista fisiológico, morfo-anatómico e bioquímico é escassa a informação existente sobre a influência da luminosidade no comportamento das árvores. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a resposta a diferentes condições de luminosidade das cultivares *Skeena* e *Sweetheart* enxertadas em Edabriz e plantadas à densidade de 1,4 x 4,5 m, na região de Carracedo de Montenegro. Os resultados mostram que as folhas mais expostas à luz, de forma mais relevante na variedade *Skeena*, apresentaram maior massa por unidade de área de superfície foliar. Em contrapartida, as folhas desenvolvidas em condições de radiação limitante apresentaram maior razão entre a clorofila total e os carotenóides totais (Cl_{total}/Car_{totais}) do que as mais expostas que, por sua vez, tiveram uma razão superior entre as clorofilas *a* e *b* (Cl_a/Cl_b). Em condições de boa luminosidade, as concentrações de açúcares solúveis e de amido, bem como dos fenóis totais aumentaram nas folhas. Em termos anatómicos observou-se um aumento na espessura dos diferentes tecidos foliares, nomeadamente da epiderme superior e do mesófilo, contribuindo para uma maior espessura da lâmina total.

Os resultados apresentados dão a conhecer as características ao nível da folha que são influenciadas pela interceção de luz nos pomares e que, de certo modo, determinam a eficiência da produtividade líquida da cerejeira. Numa altura em que a fruticultura é cada vez mais valorizada no nosso país, é importante que as práticas culturais, como a escolha dos compassos e porta-enxertos, a condução e as intervenções de poda, sejam devidamente executadas no sentido de proporcionar ótimas condições de luminosidade nos pomares e consequentemente de qualidade dos frutos.

Palavras-chave: *Prunus avium* L.; porta-enxerto; intensificação cultural; anatomia foliar; composição química.

Abstract

Biological behavior of exposed leaves *versus* shade leaves in sweet cherry cultivars

The cherry tree is a species that has a tendency to show an erect growth habit, low spreading, a very dense canopy and poorly permeable to light, causing low yields with poor quality. Previous studies have shown a relationship between light interception and yield efficiency of the tree; however, physiological, morpho-anatomical and biochemical information available about the influence of light on the behaviour of trees is scarce. Thus, the objective of this work was to evaluate the response to different light conditions of two *Prunus avium* L.

cultivars - *Skeena* and *Sweetheart* - grafted on Edabriz and planted at the density of 1.4 x 4.5 m, in the region of Carrazedo Montenegro. The results show that the leaves exposed to full light showed higher leaf mass per unit area, although it was in sun exposed leaves of *Skeena* that this parameter was more elevated. In contrast, the shade leaves presented higher ratio of total chlorophyll and carotenoid (Cl_{total}/Car_{totals}) than sun-exposed leaves which, in turn, had a higher chlorophyll *a/b* (Cl_a/Cl_b) ratio. Leaves exposed to full light presented higher concentrations of soluble carbohydrates and starch, and also of total phenols. Anatomically, there was an increase in the thickness of the different leaf tissues under light environment, particularly of the upper epidermis and mesophyll, contributing to a greater total lamina thickness.

The results of this study show the characteristics at leaf level that are influenced by light interception in orchards and, somehow, influence the yield efficiency of sweet cherry tree. At a time that cultural intensification is increasingly encouraged in fruit growing, it is important to manipulate factors such as orchard exposure, row orientation, plant spacing, training system and pruning in order to provide optimal light conditions in cherry orchards.

Keywords: *Prunus avium* L.; rootstock; cultural intensification; leaf anatomy; chemical composition.

Introdução

A cerejeira é uma espécie com tendência natural para hábitos de vegetação acrótonos, caracterizados por copas pouco cónicas, muito densas e pouco permeáveis à luz, originando baixas produções e de fraca qualidade (Király, 2008). Este comportamento pode ser de certo modo atenuado pela opção por porta-enxertos ananizantes, permitindo a intensificação da produção de cereja (Santos et al., 2006). Contudo, para alcançar a plena rentabilização desta cultura é importante não só adequar a combinação cultivar/porta-enxerto às condições do meio, bem como definir a disposição e o espaçamento das árvores no pomar, de modo a assegurar uma boa distribuição da radiação pela copa, com os consequentes benefícios para o vingamento e qualidade dos frutos. No entanto, verifica-se por vezes que mesmo no porta-enxerto certo e em adequadas densidades de plantação, com a idade as árvores começam a ganhar excessiva densidade de vegetação nos topos, cujo sombreamento leva a copa a perder a forma cónica e evoluir para formas irregulares (Robinson, 2007). Inclusivamente, ao longo da estação de crescimento, a copa da cerejeira tende a fechar-se, em consequência da maior densidade foliar e da intensificação do crescimento vegetativo (Robinson, 2007; Gonçalves et al., 2008). Wertheim (2005) realça que a densidade excessiva afeta negativamente a interceção e a distribuição da radiação pela copa das árvores, conduzindo a quebras de produtividade e de qualidade da fruta. Esta resposta pode ser particularmente importante nas cultivares de cerejeira com hábitos de crescimento ereto, cujos lançamentos formam ângulos de inserção muito fechados que tardam a entrar em produção (Santos et al., 2006). De facto, nestas cultivares a penetração da radiação solar na copa é menor do que naquelas de porte semi-ereto a prostrado, afetando negativamente a taxa fotossintética (Gonçalves et al., 2008).

É bem conhecida a relação da luz com a produtividade não só da cerejeira, mas de todas as fruteiras em geral, exercendo um efeito positivo na diferenciação dos gomos florais, no vingamento e desenvolvimento dos frutos, bem como na qualidade dos mesmos (Wertheim, 2005). Robinson (2007) atribui à luminosidade o papel de induzir nos frutos teores mais elevados de sólidos solúveis e melhor equilíbrio açúcares/ácidos e, consequentemente, maior firmeza e sabor. A cereja é particularmente valorizada pelo seu calibre, dureza, sabor e cor, pelo que é fundamental que na condução das árvores se defina uma arquitetura de copa que proporcione uma distribuição de luz eficaz em termos fotossintéticos (Robinson, 2007). Em cerejeiras com diferentes hábitos vegetativos, Gonçalves et al. (2008) observaram que a arquitetura da copa influencia as características morfo-anatómicas e fisiológicas ao nível das folhas por afetar o ambiente luminoso que as rodeia. Nesta perspetiva, e na continuidade do

trabalho anterior (Gonçalves et al., 2008), foi nosso objetivo avaliar a resposta a diferentes condições de luminosidade das cultivares *Skeena* e *Sweetheart* enxertadas em Edabriz, na região de Carrazedo de Montenegro.

Material e Métodos

Material vegetal e condições de crescimento

O estudo foi realizado em Carrazedo de Montenegro (41°33'N e 7°17'W; 770 m de altitude), distrito de Vila Real, em cerejeiras (*Prunus avium*) à sétima e oitava folhas, das cultivares *Sweetheart* e *Skeena* enxertadas em Edabriz e conduzidas em eixo vertical. A largura de entrelinha é cerca de 4,5 metros, e a distância entre plantas na linha é 1,40 m, a que corresponde uma densidade aproximada de 1300 plantas por hectare. A rega no local foi assegurada por um sistema com dois gotejadores por planta e débito de 4 L/hora, que foi acionado a partir de maio. Não foram feitas mobilizações ao solo, tendo-se optado por instalar uma cobertura permanente à base de trevo morango (*Trifolium fragiferum* L.) na entre-linha, para revestimento e proteção do solo e fornecimento de azoto às árvores. As infestantes na linha foram controladas através da aplicação anual de glufosinato de amónio, complementada com ligeiras deservagens manuais na proximidade das árvores. Periodicamente foram feitas adubações foliares e tratamentos fitossanitários, dirigidos sobretudo ao cancro bacteriano, com aplicações de cobre à queda da folhagem e antes da rebentação, e à moniliose com fungicidas apropriados. A poda realizada no verão, a seguir à colheita, serviu para limitar a altura das plantas, e fomentar a renovação da madeira velha e a distribuição de luz pela copa.

Determinações morfo-anatómicas e bioquímicas

Em meados de julho, poucos dias antes da colheita, de cada árvore de um conjunto de seis por cultivar recolheram-se seis folhas em condições de sombra (interior da copa) e outras seis expostas ao sol. A área foliar foi estimada através do *software* 'WinDIAS Leaf Area Meter System' e calculada a massa por unidade de área de superfície foliar (LMA) segundo Dijkstra (1989). Para o estudo anatómico, as secções transversais das folhas (8 mm) entre a margem e a nervura central foram cortadas e, em seguida, desidratadas e coradas de acordo com Deysson (1965). As medições efetuadas incidiram na espessura total da folha, e das epidermes superior e inferior, incluindo as cutículas, bem como na espessura dos parênquimas em paliçada e lacunoso, recorrendo-se para o efeito ao microscópio ótico 'Olympus IX 51' (Olympus Optical Co., GmbH, Hamburgo, Alemanha) equipado com uma grelha micrométrica e ao programa *Cell (Soft Imaging System GmbH, Hamburgo, Alemanha).

Para as análises bioquímicas foram preparados discos de folhas (8 mm de diâmetro), posteriormente congelados em azoto líquido e armazenados a -80 °C. As clorofilas (*Cl_a* e *Cl_b*) e carotenóides foram extraídos em acetona 80% (v/v) e quantificados por espectrofotometria (Lichtenthaler, 1987). A extração dos açúcares solúveis totais foi feita através do aquecimento dos discos foliares em etanol a 80% e a quantificação por espectrofotometria de acordo com Irigoyen et al. (1992). O amido foi extraído com ácido perclórico a 30% e quantificado segundo Osaki et al. (1991). A concentração dos fenóis totais foi determinada pelo método de Folin-Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965).

Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA) e, quando esta se mostrou significativa ($P < 0,05$), as médias foram separadas pelo teste de Duncan usando o *software* 'SPSS'.

Resultados e Discussão

A análise dos resultados obtidos mostra que existem diferenças entre as folhas expostas à luz e à sombra, sendo que nas primeiras registou-se o maior valor de massa foliar por unidade

de área (LMA) ($P < 0,05$), apesar da área foliar não ter sido afetada (dados não apresentados). Como se pode ver no Quadro 1, o fator cultivar não teve influência significativa ($P > 0,05$) no LMA , no entanto, quando se analisa a interação da cultivar com a exposição das folhas ($C \times E$, Quadro 1) verifica-se que foi nas folhas iluminadas das *Skeena* que o LMA foi superior. Em contrapartida, as folhas sombreadas apresentaram o maior conteúdo relativo de água (RWC), que não variou entre as cultivares estudadas (Quadro 2). Estas alterações surgiram associadas a um aumento na espessura dos tecidos foliares, nomeadamente da epiderme superior e dos parênquimas (em paliçada e lacunoso), contribuindo para uma maior espessura da lâmina total em condições de plena luminosidade (Quadro 1). De salientar que a cultivar também teve influência nas características anatómicas observadas, na medida em que a espessura da epiderme superior e do parênquima clorofilino em paliçada foi superior nas folhas iluminadas das *Skeena*, o que se traduziu numa estrutura laminar mais espessa do que nas *Sweetheart* (Quadro 1). Assim, conclui-se que apesar das diferenças anatómicas existentes entre as duas cultivares em estudo, nomeadamente a maior espessura das folhas da *Skeena* devido à maior espessura da epiderme superior e do parênquima clorofilino em paliçada, verifica-se que sob condições de boa luminosidade são induzidas alterações a nível morfológico e anatómico. Com efeito, estudos anteriores mostraram que as folhas expostas à radiação solar são mais espessas do que as sombreadas, e apresentam maior LMA , o que se reflete numa maior capacidade fotossintética por unidade de área (Mendes et al., 2001; Frak et al., 2002; Mielke & Schaffer, 2010). De acrescentar que a maior razão entre os parênquimas clorofilinos em paliçada e lacunoso (PE/PL) foi encontrada nas folhas expostas ao sol (Quadro 1), o que corrobora esta noção, uma vez que as células do parênquima em paliçada têm maior densidade de cloroplastos que as células do parênquima lacunoso (Lichtenthaler et al., 1981). Segundo Gonçalves et al. (2008), as folhas de cerejeira com um parênquima em paliçada mais espesso apresentam uma estrutura fotossintética mais eficiente.

Além das variações morfo-anatómicas descritas, detetaram-se alterações na composição química das folhas sujeitas a diferentes condições de luz. De facto, as concentrações de açúcares solúveis totais, amido e fenóis totais foram mais elevadas nas folhas iluminadas do que nas colocadas à sombra, não se notando diferenças entre as duas cultivares em estudo (Quadro 2). Resultado diferente foi observado nas cerejeiras estudadas por Gonçalves et al. (2008), em que as folhas das árvores de copa menos densa e, portanto, mais permeável à luz, tiveram teores mais baixos de açúcares solúveis, amido e fenóis totais do que as cultivares de copas mais fechadas. Do mesmo modo, as folhas sombreadas de *Myrtus communis* tiveram maior concentração de açúcares solúveis do que as expostas à luz plena, não tendo a quantidade de amido variado entre os dois tipos de folhas (Mendes et al., 2001). Apesar dos resultados contraditórios, confirmou-se neste estudo que a concentração de hidratos de carbono nas folhas tende a relacionar-se positivamente com a condição de luminosidade (Niinemets, 2007), o que é revelador de um aumento da taxa fotossintética.

Relativamente aos pigmentos fotossintéticos, o tipo de exposição em que as folhas se encontravam não influenciou as concentrações de clorofila total (Cl_{total}), nem dos carotenóides totais (Car_{totais}), contrariamente ao observado para os metabolitos, no entanto, o efeito da cultivar foi significativo ($P < 0,01$), ao verificar-se que a *Skeena* apresentava maiores teores nestes parâmetros do que a *Sweetheart* (Quadro 2). Em contraste, a razão entre a clorofila total e os carotenóides totais (Cl_{total}/Car_{totais}) não diferiu entre as duas cultivares, surgindo afetada pelas condições de luminosidade, bem como a razão entre as clorofilas a e b (Cl_a/Cl_b). A Cl_{total}/Car_{totais} aumentou nas folhas sombreadas, ao passo que a Cl_a/Cl_b diminuiu comparativamente às folhas expostas ao sol (Quadro 2), à semelhança do que foi observado nas folhas de *Fagus sylvatica* e *Ficus benjamina* sujeitas a diferentes níveis de luminosidade (Lichtenthaler et al., 1981; Johnson et al., 1982). Também na cerejeira foi relatada a influência da luz na razão Cl_a/Cl_b ao verificar-se que esta era superior nas plantas de copa menos densa do que nas de copa muito densa (Gonçalves et al., 2008). Na verdade, nos ambientes de baixa luminosidade assiste-se a um aumento do complexo captador de luz associado ao fotossistema

II que contém maioritariamente clorofila *b*, pelo que nas folhas de sombra a Cl_a/Cl_b diminui (Lichtenthaler, 2003). Para Smith et al. (1990), as folhas têm a capacidade de regular a concentração de proteínas e pigmentos dos centros de reação e o tamanho dos complexos captadores de luz, a fim de maximizar a captação de luz em diferentes condições de luminosidade e, conseqüentemente, a taxa fotossintética. Por último, o facto da maior razão Cl_{total}/Car_{total} aumentar nas folhas à sombra sugere uma possível resposta destas plantas para compensar a fraca disponibilidade luminosa em que as folhas se encontravam.

Conclusões

No ambiente natural, as características estruturais e fisiológicas das folhas não são iguais em todo o volume de copa, e são tão mais variáveis se estivermos perante árvores de hábito de crescimento ereto enxertadas em porta-enxertos de baixo poder ananicante, que formam copas frondosas pouco propícias a uma adequada distribuição da radiação (Frak et al., 2002; Wertheim, 2005). Neste sentido, os resultados apresentados comprovam que as condições de luminosidade influenciam o comportamento fisiológico das folhas de cerejeira, a ponto das folhas em situação de sombra se apresentarem química e anatomicamente diferentes das expostas à radiação solar. Apesar do genótipo poder influenciar algumas das respostas descritas, os resultados obtidos sugerem que o ambiente luminoso que envolve as folhas pode ser mais determinante do seu comportamento do que o próprio genótipo. Esta resposta é particularmente relevante na fruticultura intensiva, na medida em que a opção por porta-enxertos ananizantes permite formar árvores de pequena estatura e elevada superfície de folhagem em equilíbrio com o volume de copa, permitindo uma maior uniformidade na interceção e distribuição de luz (Wertheim, 2005). No entanto, outros aspetos não podem ser descurados, particularmente a orientação e a disposição das plantas no pomar, a condução e as intervenções de poda que devem ser devidamente dirigidas no sentido de proporcionar ótimas condições de luminosidade nos pomares.

Agradecimentos

Este trabalho foi suportado pelo Projecto INNOFOOD - *INNOvation in the FOOD sector through the valorization of food and agro-food by-products* - NORTE-07-0124-FEDER-0000029, financiado pelo Programa Operacional Regional do Norte de Portugal (ON.2 - O Novo Norte) no âmbito do Quadro de Referência Estratégico Nacional (QREN), através do Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER), bem como através de fundos nacionais (PIDDAC), através da Fundação para a Ciência e Português Tecnologia (FCT/MEC).

Referências

- Deysson, G. 1965. *Éléments d'anatomie des plants vasculaires*. P. 261. Société d'édition d'enseignement supérieur, Paris.
- Dijkstra, P. 1989. Cause and effect of differences in specific leaf area. P. 125-140. In: H. Lambers, M.L. Cambridge, H. Konings & T.L. Pons (eds.), *Causes and consequences of variation in growth rate and productivity of higher plants*. SPB Academic, The Hague.
- Frak, E., Le Roux, X., Millard, P., Adam, B., Dreyer, E., Escuit, C., Sinoquet, H., Vandame, M. & Varlet-Grancher, C. 2002. Spatial distribution of leaf nitrogen and photosynthetic capacity within the foliage of individual trees: disentangling the effects of local light quality, leaf irradiance, and transpiration. *Journal of Experimental Botany* 378:2207-2216.
- Gonçalves, B., Correia, C.M., Silva, A.P., Bacelar, E.A., Santos, A. & Moutinho-Pereira, J.M. 2008. Leaf structure and function of sweet cherry tree (*Prunus avium* L.) cultivars with open and dense canopies. *Scientia Horticulturae* 116:381-387.

- Irigoyen, J.J., Emerich, D.W. & Sánchez-Díaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum* 84:55-60.
- Johnson, C.R., Nell, T.A., Rosenbaum, S.E. & Lauritis, J.A. 1982. Influence of light intensity and drought stress on *Ficus benjamina* L.. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 107:252-255.
- Király, K. 2008. Improvement of intensive sweet cherry production using phytotechnical methods. *Acta Horticulturae* 795: 497-501.
- Lichtenthaler, H.K., Buschmann, C., Döll, M., Fietz, H.-J., Bach, T., Kozel, U., Meier, D. & Rahmsdorf, U. 1981. Photosynthetic activity, chloroplast ultrastructure, and leaf characteristics of high-light and low-light plants and of sun and shade leaves. *Photosynthesis Research* 2:115-141.
- Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148:350-382.
- Lichtenthaler, H.K. 2003. El estrés y la medida del estrés en plantas. P. 59-112. In: M.J. Reigosa, N. Pedrol & A. Sánchez-Moreiras (eds.), *La Ecofisiología Vegetal: una ciencia de síntesis*. Thomson Editores, Spain.
- Mendes M.M., Gazarini L.C. & Rodrigues, M.L. 2001. Acclimation of *Myrtus communis* to contrasting Mediterranean light environments - effects on structure and chemical composition of foliage and plant water relations. *Environmental and Experimental Botany* 45:165-178.
- Mielke, M.S. & Schaffer, B. 2010. Leaf gas exchange, chlorophyll fluorescence and pigment indexes of *Eugenia uniflora* L. in response to changes in light intensity and soil flooding. *Tree Physiology* 30:45-55.
- Niinemets, U. 2007. Photosynthesis and resource distribution through plant canopies. *Plant, Cell & Environment* 30:1052-1071.
- Osaki, M., Shinano, T. & Tadano, T. 1991. Redistribution of carbon and nitrogen compounds from the shoot to the harvesting organs during maturation in field crops. *Soil Science and Plant Nutrition* 37:117-128.
- Santos, A., Santos-Ribeiro, R., Cavalheiro, J., Cordeiro, V. & Lousada, J.L. 2006. Initial growth and fruiting of 'Summit' sweet cherry (*Prunus avium*) on five rootstocks. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 34: 269-277.
- Smith, B.M., Morrissey, P.J., Guenther, J.E., Nemson, J.A., Harrison, M.A., Allen, J.F. & Melis, A. 1990. Response of the photosynthetic apparatus in *Dunaliella salina* (Green algae) to irradiance stress. *Plant Physiology* 93: 1433-1440.
- Robinson, T.L. 2007. Recent advances and future directions in orchard planting systems. *Acta Horticulturae* 732: 367-380.
- Singleton, V.L. & Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16:144-158.
- von Caemmerer, S. & Farquhar, G.D. 1981. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and gas exchange of leaves. *Planta* 153: 376-387.
- Wertheim, S.J. 2005. Planting system and tree shape. P. 190-200. In: J. Tromp, A.D. Webster & S.J. Wertheim (eds.), *Fundamentals of temperate zone tree fruit production*. Backhuys Publishers, Leiden.

Quadro 1 – Características morfo-anatómicas das folhas de sombra e das folhas expostas à luz solar (média \pm erro padrão, n=6) das cultivares de cerejeira *Skeena* e *Sweetheart*. Abreviaturas: LMA, massa por unidade de área de superfície foliar; PE, parênquima clorofilino em paliçada; PL, parênquima clorofilino lacunoso; PE/PL, razão entre os parênquimas em paliçada e lacunoso. ^(a) No valor está incluída a espessura da cutícula. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($P<0,05$) e * indica o valor de P (***, $P<0,001$; **, $P<0,01$; *, $P<0,05$; n.s, não significativo).

Cultivar	Tipo de exposição	LMA (g m ⁻²)	Lâmina total (μm)	Epiderme superiora (μm)	PE (μm)	PL (μm)	PE/PL	Epiderme inferiora (μm)
Skeena		83,68 \pm 1,72	177,64 \pm 1,18b	23,15 \pm 1,07b	71,82 \pm 2,57b	70,50 \pm 1,67	1,02 \pm 0,03b	12,18 \pm 0,28
Sweetheart		84,96 \pm 1,12	171,42 \pm 0,58a	20,84 \pm 0,56a	66,44 \pm 2,93a	71,71 \pm 2,10	0,93 \pm 0,03a	12,41 \pm 0,28
	Sol	91,41 \pm 1,29b	198,20 \pm 3,11b	24,18 \pm 0,94b	84,65 \pm 1,81b	77,05 \pm 1,92b	1,12 \pm 0,03b	12,32 \pm 0,30
	Sombra	77,24 \pm 1,31a	150,86 \pm 2,33a	19,79 \pm 0,66a	53,61 \pm 1,43a	65,17 \pm 1,43a	0,84 \pm 0,02a	12,28 \pm 0,26
Skeena	Sol	93,13 \pm 2,29	199,54 \pm 2,22	26,65 \pm 1,47	85,49 \pm 2,56	75,36 \pm 2,73	1,16 \pm 0,04	12,02 \pm 0,36
	Sombra	74,24 \pm 1,93	155,73 \pm 3,47	19,62 \pm 1,21	58,14 \pm 2,09	65,63 \pm 1,40	0,89 \pm 0,03	12,34 \pm 0,44
Sweetheart	Sol	89,69 \pm 1,21	196,85 \pm 3,64	21,71 \pm 0,95	83,79 \pm 2,61	78,73 \pm 2,72	1,09 \pm 0,04	12,61 \pm 0,48
	Sombra	80,24 \pm 1,68	145,98 \pm 2,84	19,97 \pm 0,59	49,08 \pm 1,49	64,70 \pm 2,52	0,78 \pm 0,04	12,22 \pm 0,30
P (Cultivar C)		n.s.	*	*	*	n.s.	*	n.s.
P (Exposição E)		***	***	***	***	***	***	n.s.
P (C \times E)		**	n.s.	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Quadro 2 – Composição química das folhas de sombra e das folhas expostas à luz solar (média \pm erro padrão, n=6) das cultivares de cerejeira *Skeena* e *Sweetheart*. Abreviaturas: RWC, conteúdo relativo de água; Cl_{total} , clorofila total; Cl_a , clorofila *a*; Cl_b , clorofila *b*; Car_{totais} , carotenoides totais; Cl_{total}/Car_{totais} , razão entre a clorofila total e os carotenoides totais. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($P<0,05$) e * indica o valor de P (***, $P<0,001$; **, $P<0,01$; *, $P<0,05$; n.s, não significativo)

Cultivar	Tipo de exposição	RWC (%)	Cl_{total} (mg g ⁻¹)	$Cl_{a/b}$	Car_{totais} (mg g ⁻¹)	Cl_{tot}/Car_{tot}	Açúcares (mg g ⁻¹)	Amido (mg g ⁻¹)	Fenóis totais (mg g ⁻¹)
Skeena		92,25 \pm 0,38	7,59 \pm 0,45b	2,84 \pm 0,06	1,37 \pm 0,06b	5,38 \pm 0,17	61,69 \pm 5,45	145,31 \pm 6,06	61,79 \pm 9,62
Sweetheart		92,62 \pm 0,55	5,54 \pm 0,40a	2,78 \pm 0,12	1,09 \pm 0,05a	5,11 \pm 0,16	61,15 \pm 3,17	155,37 \pm 8,57	56,47 \pm 9,87
	Sol	91,31 \pm 0,29a	6,34 \pm 0,28	2,91 \pm 0,07b	1,24 \pm 0,05	4,95 \pm 0,06a	69,22 \pm 4,80b	160,88 \pm 8,22b	77,02 \pm 11,31b
	Sombra	93,56 \pm 0,48b	6,79 \pm 0,18	2,71 \pm 0,06a	1,22 \pm 0,09	5,54 \pm 0,05b	53,62 \pm 2,38a	139,80 \pm 5,18a	41,24 \pm 2,20a
Skeena	Sol	91,33 \pm 0,40	7,54 \pm 0,69	2,89 \pm 0,10	1,37 \pm 0,09	5,28 \pm 0,26	70,27 \pm 9,16	159,27 \pm 5,59	82,14 \pm 15,31
	Sombra	93,17 \pm 0,51	7,64 \pm 0,57	2,79 \pm 0,08	1,38 \pm 0,07	5,48 \pm 0,23	53,11 \pm 4,19	131,35 \pm 7,25	41,44 \pm 2,55
Sweetheart	Sol	91,30 \pm 0,45	5,14 \pm 0,57	2,92 \pm 0,08	1,11 \pm 0,08	4,62 \pm 0,13	68,17 \pm 4,15	162,50 \pm 16,29	71,89 \pm 12,55
	Sombra	93,95 \pm 0,83	5,94 \pm 0,47	2,63 \pm 0,09	1,06 \pm 0,07	5,61 \pm 0,22	54,13 \pm 2,71	148,25 \pm 6,10	41,04 \pm 3,84
P (Cultivar C)		n.s.	**	n.s	**	n.s	n.s	n.s	n.s
P (Exposição E)		***	n.s.	*	n.s.	*	***	***	***
P (C \times E)		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Composição química de folhas de quatro cultivares de mirtilo em modo de produção biológico

Sónia Ferreira¹, Berta Gonçalves¹, Helena Ferreira¹, Carlos Correia¹, Ivo Oliveira¹, Rute Ferreira¹, Ana Paula Silva² & Eunice Bacelar¹

¹CITAB, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Apartado 1013, 5000-801 Vila Real, sonjaf@gmail.com; bertag@utad.pt; helenaf@utad.pt; ccorreia@utad.pt; areale@utad.pt; ivobio@hotmail.com; hopfferia@hotmail.com.

³CITAB / Departamento de Agronomia, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Apartado 1013, 5000-801 Vila Real, asilva@utad.pt

Resumo

O interesse crescente pelos mirtilos, centrado no seu elevado valor nutricional e efeitos potenciais na saúde humana, torna a seleção das cultivares melhor adaptadas às condições edafo-climáticas da região em que são produzidas cada vez mais importante. O comportamento fisiológico e a química foliar traduzem a adaptação das cultivares às condições de crescimento pelo que foi objetivo deste estudo a investigação das características químicas das folhas de quatro cultivares (cv.) de *Vaccinium* sp., ‘Camellia’, ‘Duke’, ‘Legacy’ e ‘Palmetto’, instaladas num pomar com cinco anos de idade conduzido em modo de produção biológico, pertencente à empresa Biobaga, localizado em Avanca (distrito de Aveiro).

As análises foliares foram realizadas em 2013 e 2014 e incluíram a quantificação de pigmentos fotossintéticos (clorofilas *a* e *b* e carotenoides), açúcares solúveis, amido, compostos fenólicos totais, proteínas solúveis e ceras cuticulares. As cvs. ‘Camellia’ e ‘Duke’ apresentaram maior concentração de clorofila do que as cvs. ‘Legacy’ e ‘Palmetto’, tendo a cv. ‘Camellia’ apresentado também maior concentração de carotenoides. De referir ainda que em 2014 se registaram maiores concentrações de pigmentos. Nos açúcares solúveis constatou-se que as cvs. ‘Palmetto’ e ‘Duke’ apresentaram os valores mais elevados e a cv. ‘Legacy’ os menores. No amido salientou-se a cv. ‘Duke’, pelos valores mais elevados, e no que concerte ao ano verificaram-se as concentrações mais elevadas em 2013. A cultivar ‘Camellia’ apresentou a maior concentração de compostos fenólicos e a cv. ‘Duke’ a menor. Nas proteínas solúveis os valores dependeram essencialmente do ano, com 2014 a apresentar as concentrações mais elevadas. Relativamente às ceras cuticulares registaram-se diferenças altamente significativas quer relativamente ao ano de colheita quer às cultivares, com a cv. ‘Camellia’ a apresentar os valores mais altos e a cv. ‘Duke’ os mais baixos. Em conclusão, constatarem-se diferenças na composição química foliar das plantas estudadas com uma marcada influência da cultivar e ano de colheita, o que certamente irá condicionar a produção e a qualidade dos mirtilos.

Palavras-chave – *Vaccinium corymbosum*, pigmentos fotossintéticos, metabolitos, ceras cuticulares

Abstract

Chemical composition of leaves of four blueberry cultivars in organic production

The growing interest in blueberries, centred on its high nutritional value and potential effects on human health, makes the selection of cultivars better adapted to soil and climate of the region in which they are produced increasingly important. The physiological behaviour and foliar chemistry describe the adaptation of cultivars to growth conditions and the purpose of this study was to investigate the chemical characteristics of the leaves of four cultivars (cv.)

of *Vaccinium* sp., ‘Camellia’, ‘Duke’, ‘Legacy’ and ‘Palmetto’, installed in an five-year-old organic orchard, belonging to the company Biobaga, located in Avanca (Aveiro, Portugal).

Leaf analysis were conducted in 2013 and 2014 and included the quantification of photosynthetic pigments (chlorophylls *a* and *b* and carotenoids), soluble sugars, starch, total phenolic compounds, soluble proteins and cuticular waxes. ‘Camellia’ and ‘Duke’ cvs. had higher chlorophyll content than ‘Legacy’ and ‘Palmetto’ cvs., and Camellia cv. also presented the highest concentration of carotenoids. It was also observed that leaves had higher concentrations of pigments in 2014. Palmetto and Duke cvs. had the highest concentration of soluble sugars and Legacy cv. the lowest. The Duke cv. had highest concentration of starch and, regarding the year, the higher concentrations were registered in 2013. The Camellia cv. showed higher concentration of phenolic compounds and the Duke cv. the lowest. The concentration of soluble proteins depended essentially of the year, and 2014 had the highest concentrations. Regarding the cuticular waxes, there were highly significant differences both in relation to the year and cultivars, with Camellia cv. presenting the highest values and Duke cv. the lowest. In conclusion, differences were noted in the chemical composition of leaves of the studied cultivars with a marked influence of cultivar and year of harvest, which will surely influence the production and quality of blueberries.

Keywords – *Vaccinium corymbosum*, photosynthetic pigments, metabolites, cuticular waxes

Introdução

O mirtilo pertence à família Ericaceae, género *Vaccinium*. Este género contém entre 120 e 400 espécies espalhadas pelo mundo, produzindo, na sua maioria, bagas comestíveis (Lyrene, 2006).

O cultivo de mirtilos em Portugal iniciou-se na década de 90 no concelho de Sever de Vouga (Serrado et al., 2008). Desde então a área de cultivo tem vindo a aumentar até se estender a todo o país, procurando-se as cultivares que melhor se adaptam às condições edafo-climáticas das várias regiões (Fonseca et al., 2012).

Os grupos que apresentam maior interesse para as condições climáticas de Portugal são os *Northern Highbush Blueberry* (NHB), *Southern Highbush Blueberry* (SHB) e algumas cultivares do grupo *Rabbiteye*. Na zona centro/norte, surgem tendencialmente as do grupo NHB, por necessitarem de maiores horas de frio e a sul do Tejo, tem-se dado preferência aos híbridos do grupo SHB e *Rabbiteye* (Sousa et al., 2007). O grupo *Highbush Blueberry* é constituído maioritariamente por *V. corymbosum*, com SHB a cobrir híbridos desta espécie com até outras quatro espécies de *Vaccinium*.

Apesar de já se terem realizados alguns estudos sobre mirtilos em Portugal, nomeadamente relativamente às propriedades dos frutos, muito pouco foi estudado sobre a composição química das folhas e suas aplicações (Silva et al., 2013; Pereira et al., 2014; Silva et al., 2014). Este estudo centrou-se em quatro cultivares de *Vaccinium* sp., ‘Camellia’, ‘Duke’, ‘Legacy’ e ‘Palmetto’, frequentemente encontradas em pomares portugueses. A cv. ‘Camellia’ é uma cultivar SHB, um híbrido constituído principalmente por *Vaccinium corymbosum* e uma pequena quantidade de *V. darrowi*. As plantas são muito vigorosas, com um hábito vertical e uma coroa estreita (NeSmith & Draper, 2006a; 2007). A cv. ‘Legacy’ contém uma larga porção de *V. corymbosum* e por isso necessidades de frio superiores às restantes SHB (Ehlenfeldt, 1994; Strik & Finn, 2008). O arbusto tem hábito vertical e é muito vigoroso, com modesta capacidade de resistência ao frio (Retamales & Hancock, 2012). A cv. ‘Palmetto’ é uma variedade SHB, outro híbrido constituído principalmente por *Vaccinium corymbosum* e uma pequena quantidade de *V. darrowi*, com baixas necessidade de frio, apresentando uma floração mais tardia associada a uma maturação precoce, sendo o arbusto aberto e espalhado, com coroa estreita, com vigor e frutos médios (NeSmith et al., 2004; NeSmith & Draper, 2006b; Retamales & Hancock, 2012). A ‘Duke’ é uma cultivar NHB, resultado do cruzamento de *V. corymbosum*

silvestres (Ehlenfeldt, 1994), apresentando maiores necessidades de frio do que as restantes cultivares, sendo por isso vastamente plantada em regiões com invernos frios. O arbusto é vertical e aberto (Retamales & Hancock, 2012). É uma das plantas mais usadas pelos produtores de mirtilo em Portugal, altamente produtiva e que apresenta uma floração tardia associada a uma maturação precoce (Mirtibérica, 2014).

O conhecimento da composição química das folhas poderá ser importante para melhor compreender a adaptabilidade das cultivares à região em estudo. Nesse sentido, foi investigada a composição química das folhas das cvs. ‘Camellia’, ‘Duke’, ‘Legacy’ e ‘Palmetto’, instaladas num pomar conduzido em modo de produção biológico, localizado em Avanca. Em concreto, foram determinadas as concentrações de pigmentos fotossintéticos, açúcares solúveis, amido, compostos fenólicos totais, proteínas solúveis e ceras cuticulares nos anos 2013 e 2014, ao longo do ciclo vegetativo.

Material e Métodos

Material vegetal: O estudo decorreu em 2013 e 2014 num pomar de mirtilos (cvs. ‘Camellia’, ‘Duke’, ‘Legacy’ e ‘Palmetto’) com cinco anos de idade, em modo de produção biológico, pertencente à empresa Biobaga, localizado em Avanca (latitude 40°49'N e longitude 8°34'W), distrito de Aveiro. Todas as plantas foram cultivadas sobre as mesmas condições, consistindo num camalhão (casca de pinheiro coberto com tela) com sistema de rega gota a gota e coberto vegetal (espontâneo) na entrelinha.

Foram efetuadas análises em folhas adultas, completamente expandidas e no mesmo estado fisiológico, retiradas de arbustos saudáveis em três datas: início da colheita (30 de maio de 2013 e 2014); maturação comercial (20 de junho 2013 e 19 de junho de 2014) e fim da colheita (18 de julho de 2013 e 16 de julho de 2014).

Pigmentos fotossintéticos e metabolitos: Os ensaios foram realizados a partir de discos foliares retirados de 2 folhas em 4 arbustos de cada cultivar. Depois do corte, os discos foram imediatamente congelados em azoto líquido e armazenados a -80°C até à data de análise. A quantificação das clorofila *a* e *b* foi feita por espectrofotometria, de acordo com Arnon (1949) e Sesták et al. (1971). Com o mesmo extrato quantificaram-se os carotenoides totais, conforme metodologia de Lichtenthaler (1987). A concentração de compostos fenólicos totais foi determinada usando o método de Folin-Ciocalteu, adaptado de Singleton & Rossi (1965) e utilizando como padrão o ácido gálico. Os açúcares solúveis foram determinados pelo método colorimétrico de antrona, segundo o procedimento adaptado de Irigoyen et al. (1992). A fase sólida foi posteriormente utilizada para a determinação do amido, segundo o procedimento de Osaki et al. (1991). Utilizou-se como padrão a glucose para a quantificação dos açúcares solúveis e amido. As proteínas solúveis foram quantificadas espectrofotometricamente usando o método de Bradford (1976) e utilizando como padrão albumina de soro bovino (BSA). Todos os valores obtidos nos ensaios foram expressos por peso seco.

Ceras cuticulares: Para a quantificação das ceras cuticulares solúveis (epicuticulares e intracuticulares) foram colhidas folhas adultas, 2 folhas em 4 arbustos, no fim de colheita (julho), para as quais foi medida a área foliar (WinDIAS Leaf Area System, Delta-T devices Ltd, Cambrige, Reino Unido). Posteriormente foram agitadas durante 2 minutos numa mistura de clorofórmio e metanol de 3:1 (50 ml). Filtrou-se a solução e deixou-se evaporar até remanescer apenas o resíduo seco segundo o procedimento adaptado de Hamilton (1995).

Análise estatística: Os dados foram submetidos a uma análise de variância a um fator (one-way ANOVA; efeito da cultivar/efeito do ano) no caso das ceras cuticulares e a uma análise de variância a dois fatores (two-way ANOVA; efeitos da cultivar e ano) para os restantes dados utilizando o programa SPSS 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA). Quando a análise de variância se mostrou significativa ($p < 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey HDS.

Resultados e Discussão

Pigmentos fotossintéticos e metabolitos: Verificou-se que as cvs. ‘Camellia’ e ‘Duke’ apresentaram maiores concentrações de clorofila que as cvs. ‘Legacy’ e ‘Palmetto’ (quadro 1). A cv. ‘Camellia’ apresentou simultaneamente maior quantidade de carotenoides. Por outro lado, registou-se uma maior razão Cl_a/Cl_b na cv. ‘Duke’, o que pode sugerir uma melhor aclimação aos elevados níveis luminosos a que as plantas estão sujeitas (dados não apresentados). De facto, as clorofilas são essenciais à eficiência fotossintética das plantas e adaptabilidade a diversos ambientes. Importa salientar que estes resultados estarão certamente associados ao hábito vegetativo das cultivares estudadas, e a forma como a folha se distribui pela copa. O hábito aberto da cv. ‘Duke’, anteriormente referido, pode ser uma das possíveis explicações para os resultados obtidos. Estudos anteriores também registaram uma variação significativa das concentrações de clorofilas entre as cultivares de mirtilo estudadas (NeSmith & Draper 2006b; 2007; Janiuk et al., 2013), tendo NeSmith & Draper (2006b, 2007) indicado tons diferentes para as folhas das cultivares ‘Camellia’ e ‘Palmetto’. Por outro lado, a cv. ‘Duke’ apresentou maior razão Cl_{a+b}/Car , indicando uma menor proporção de carotenoides relativamente às clorofilas. Os carotenoides são pigmentos acessórios que têm um papel importante em condições de intensidade luminosa elevada, visto que podem prevenir a foto-oxidação das clorofilas (Hendry & Price, 1993). De referir ainda que em 2014 se registaram maiores concentrações de pigmentos, o que poderá estar associado às condições climáticas.

Verificou-se um efeito altamente significativo da cultivar na concentração de açúcares solúveis (quadro 2). Assim, as cvs. ‘Palmetto’ e ‘Duke’ apresentaram a concentração mais elevada e a cv. ‘Legacy’ a menor, tal como verificado em Janiuk e colaboradores (2013). O efeito do ano não foi significativo e também não se verificou uma interação significativa Cv x A. Por seu lado, as concentrações de amido foram mais elevadas na cv. Duke, tendo-se ainda verificado as concentrações mais elevadas em 2013, apesar de não existir uma interação Cv x A significativa.

A cv. ‘Camellia’ apresentou a maior concentração de fenóis totais, enquanto a cv. ‘Duke’ apresentou o valor mais baixo (quadro 2). Alguns autores indicam o stresse por limitação de nutrientes (Estiarte et al., 1994), luz (Gonçalves et al., 2008) ou água como responsável pela produção e acumulação de compostos fenólicos nas folhas (Bacelar et al., 2006). Apesar de não se ter verificado um efeito significativo do ano nos compostos fenólicos, ao contrário do observado em Ehlenfeldt & Prior (2001), verificou-se uma interação Cv x A significativa. Efetivamente a cv. Camellia apresentou sempre os valores mais elevados, mas a cv. Legacy sofreu um decréscimo em 2014.

Nas proteínas solúveis os resultados variaram de forma altamente significativa entre anos, apresentando 2014 as concentrações mais elevadas. Por outro lado, a concentração de proteínas solúveis não foi significativamente influenciada pela cultivar. Alterações na quantidade de proteínas solúveis podem ser importantes para entender o impacto do stresse na síntese de proteínas, podendo uma baixa concentração de proteínas estar relacionada com situações de stresse, ou ocorrer um aumento da concentração de proteínas, devido a uma maior atividade de determinadas enzimas (Santos & Caldeira, 1999; Bacelar et al., 2006). Assim sendo, as menores concentrações de proteínas solúveis em 2013 podem estar associadas a níveis de stresse mais intensos nesse ano.

Ceras cuticulares: Nas ceras cuticulares solúveis verificaram-se diferenças significativas nas cultivares, com a cv. ‘Camellia’ a apresentar a concentração mais elevada e a cv. ‘Duke’ a menor concentração (figura 1). Também se registaram diferenças significativas entre anos, verificando-se valores mais elevados em 2014, sugerindo que fatores climáticos, para além dos genéticos, contribuem para a diferente concentração de ceras presentes nas diferentes cultivares (Eglinton & Hamilton, 1967).

Conclusões

A análise dos resultados sugere uma marcada influência da cultivar na composição química das folhas, bem como do ano. A cv. ‘Camellia’, com elevadas concentrações de clorofilas e carotenoides, fenóis totais e ceras cuticulares, parece ser a mais bem adaptada à região. Contudo, os resultados devem ser interpretados como preliminares, devendo ser analisados em conjunto com outros dados fisiológicos e com os de produção e qualidade do fruto.

Agradecimentos:

Este trabalho foi suportado pelo Projecto INNOFOOD - *INNovation in the FOOD sector through the valorization of food and agro-food by-products* - NORTE-07-0124-FEDER-0000029, financiado pelo Programa Operacional Regional do Norte de Portugal (ON.2 - O Novo Norte) no âmbito do Quadro de Referência Estratégico Nacional (QREN).

Referências

- Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology* 24(1):1 - 15.
- Bacelar, E. A., Santos, D. L., Moutinho-Pereira, J. M., Gonçalves, B. C., Ferreira, H. F. & Correia, C. M. 2006. Immediate responses and adaptative strategies of three olive cultivars under contrasting water availability regimes: Changes on structure and chemical composition of foliage and oxidative damage. *Plant Science* 170(3):596-605.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72(1-2):248-254.
- Eglinton, G. & Hamilton, R. J. 1967. Leaf Epicuticular Waxes. *Science* 156(3780):1322-1335.
- Ehlenfeldt, M. K. 1994. The Genetic Composition and Tetrasomic Inbreeding Coefficients of Highbush Blueberry Cultivars. *HortScience* 29(11):1342-1345.
- Ehlenfeldt, M. K. & Prior, R. L. 2001. Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) and Phenolic and Anthocyanin Concentrations in Fruit and Leaf Tissues of Highbush Blueberry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49(5):2222-2227.
- Estiarte, M., Filella, I., Serra, J. & Peñuelas, J. 1994. Effects of nutrient and water stress on leaf phenolic content of peppers and susceptibility to generalist herbivore *Helicoverpa armigera* (Hubner). *Oecologia* 99(3-4):387-391.
- Fonseca, A. T., Gonçalves, B., Aires, A., Carvalho, R. P., Silva, A., Vilela, A. & Silva, A. P. 2012. Efeito da data de colheita nos teores de açúcares e ácidos orgânicos em quatro cultivares de mirtilo (*Vaccinium corymbosum* L.). IV Colóquio Nacional da Produção de Pequenos Frutos. Faro, Portugal 20-21 Abril. p. 111-120.
- Gonçalves, B., Correia, C. M., Silva, A. P., Bacelar, E. A., Santos, A. & Moutinho-Pereira, J. M. 2008. Leaf structure and function of sweet cherry tree (*Prunus avium* L.) cultivars with open and dense canopies. *Scientia Horticulturae* 116(4):381-387.
- Hamilton, R. J. 1995. Waxes: chemistry, molecular biology and functions. Oily Press, Dundee.
- Hendry, G. A. F. & Price, A. H. 1993. Stress indicators: chlorophylls and carotenoids. p.148-152 In G. A. F. Hendry & J. P. Grime (eds.), *Methods in comparative plant ecology: A laboratory manual*, Chapman & Hall. London.
- Irigoyen, J. J., Einerich, D. W. & Sánchez-Díaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum* 84(1):55 - 60.

- Janiuk, M., Najda, A., Gantner, M. & Błażewicz-Woźniak, M. 2013. Chemical variability and antioxidant activity of the leaves of Chosen highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) Cultivars. *Modern Phytomorphology*, 3:111 – 114.
- Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol* 148:350-382.
- Lyrene, P. 2006. Breeding Low-chill Blueberry Varieties. In III Simpósio nacional do morango II Encontro sobre pequenas frutas e Frutas nativas do Mercosul. Pelotas, Brasil 7-10 Outubro. p. 35-44.
- Mirtibéria. 2014. <http://mirtiberica.com.pt/index.php/2012-02-12-11-41-56/2012-02-12-11-42-34/variedades>
- NeSmith, D. S. & Draper, A. D. 2006a. 'Camellia': A new midseason Southern Highbush blueberry cultivar. *HortScience* 41(3):512-513.
- NeSmith, D. S. & Draper, A. D. 2006b. Southern highbush blueberry plant named 'Palmetto', Patents.
- NeSmith, D. S. & Draper, A. D. 2007. Southern highbush blueberry plant named 'Camellia', Patents.
- NeSmith, D. S., Draper, A. D. & Spiers, J. M. 2004. 'Palmetto' Southern Highbush Blueberry. *HortScience* 39(7):1774-1775.
- Osaki, M., Shinano, T. & Tadano, T. 1991. Redistribution of carbon and nitrogen compounds from the shoot to the harvesting organs during maturation in field crops. *Soil Science and Plant Nutrition* 37(1):117-128.
- Pereira, M. F., Moreira, D. M., Costa, E. M., Silva, S., Pintado, M. M. & Couto, J. A. 2014. Evaluation of the antimicrobial activity of natural extracts upon wine spoilage microorganisms. In *Industrial, Medical and Environmental Applications of Microorganisms: Current Status and Trends: Proceedings of the V International Conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology (BioMicroWorld2013)*, Madrid, Espanha, 2-4 Outubro. p. 299.
- Retamales, J. B. & Hancock, J. F. 2012. *Blueberries*. CAB Internacional, Oxfordshire.
- Santos, C. L. V. & Caldeira, G. 1999. Comparative Responses of *Helianthus annuus* Plants and Calli Exposed to NaCl: I. Growth Rate and Osmotic Regulation in Intact Plants and Calli. *Journal of Plant Physiology* 155(6):769-777.
- Serrado, F., Pereira, M., Freitas, S., Martins, S. & Dias, T. 2008. *Mirtos Guia de boas práticas para produção, promoção e comercialização*. Graça Artes Gráficas.
- Sesták, Z., Castky, J. & Jarvis, P. G. 1971. *Plant photosynthetic production. Manual of methods*. Dr. W. Junk NV, Haia.
- Silva, S., Coelho, M., Costa, E. M., Pereira, M. F., Costa, M. R. & Pintado, M. 2014. Optimização e caracterização da fracção fenólica de extractos aquosos de mirtilo (folha e fruto seco). In *Congresso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos - Cibia 9*, Vol. 4, Valência, Espanha 13-16 Janeiro. p. 66-71.
- Silva, S., Costa, E. M., Pereira, M. F., Costa, M. R. & Pintado, M. E. 2013. Evaluation of the antimicrobial activity of aqueous extracts from dry *Vaccinium corymbosum* extracts upon food microorganism. *Food Control* 34(2):645-650.
- Singleton, V. L. & Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16(3): 144-158.
- Sousa, M. B., Curado, T., Negrão e Vasconcellos, F. & Trigo, M. J. 2007. *Mirtilo: Qualidade Pós-Colheita*. Edição no âmbito do Projeto PO AGRO DE&D Nº 556. Folhas de divulgação AGRO 556 nº 8. MADRP, Lisboa, Novembro.

Strik, B. & Finn, C. 2008. Blueberry cultivars, Oregon State University. <http://ir.library.oregonstate.edu/xmlui/bitstream/handle/1957/18937/ec1308-e.pdf>.

Quadros e figuras

Quadro 1 - Concentração de pigmentos fotossintéticos (mg.g^{-1} peso seco) nas quatro cultivares de mirtilo em 2013-14. Médias ($n=8$) seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes com $P < 0,05$.

		Cl _a	Cl _b	Cl _{a+b}	Cl _a /Cl _b	Car	Cl _{a+b} /Car
Cultivar (Cv)	Camellia (C)	3,02 ^b	1,12	4,14 ^b	2,76 ^{bc}	1,18 ^b	3,54 ^a
	Duke (D)	3,07 ^b	1,12	4,19 ^b	2,83 ^c	0,96 ^a	4,32 ^b
	Legacy (L)	2,33 ^a	0,95	3,28 ^a	2,51 ^a	0,87 ^a	3,72 ^a
	Palmetto (P)	2,45 ^a	1,00	3,46 ^a	2,57 ^{ab}	0,89 ^a	3,80 ^a
Ano (A)	2013	2,34	0,85	3,20	2,77	0,91	3,55
	2014	3,09	1,25	4,34	2,57	1,05	4,14
Interações	C x 2013	3,02	1,07	4,09	2,83	1,16	3,60
	D x 2013	2,43	0,85	3,28	2,93	0,86	3,86
	L x 2013	2,07	0,81	2,88	2,60	0,82	3,49
	P x 2013	1,85	0,68	2,54	2,73	0,78	3,24
	C x 2014	3,01	1,17	4,18	2,70	1,21	3,47
	D x 2014	3,72	1,39	5,11	2,74	1,06	4,78
	L x 2014	2,60	1,09	3,69	2,42	0,92	3,96
	P x 2014	3,05	1,32	4,38	2,42	1,00	4,36
Valor de P	Cv	< 0,001	0,075	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
	A	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
	Cv x A	< 0,001	0,004	< 0,001	0,692	0,112	0,003

Quadro 2 - Concentração de açúcares solúveis, amido, compostos fenólicos totais e proteínas (mg.g^{-1} peso seco) nas quatro cvs. de mirtilo em 2013-14. Médias ($n=8$) seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes com $P < 0,05$.

		Açúcares solúveis	Amido	Fenóis totais	Proteínas
Cultivar (Cv)	Camellia (C)	95,4 ^b	56,5 ^a	131,8 ^c	57,3
	Duke (D)	106,7 ^c	77,3 ^b	87,6 ^a	72,2
	Legacy (L)	78,6 ^a	55,7 ^a	119,2 ^{bc}	59,3
	Palmetto (P)	115,6 ^c	64,8 ^{ab}	115,9 ^b	77,1
Ano (A)	2013	101,7	67,9	117,2	16,4
	2014	96,5	59,3	110,1	116,5
Interações	C x 2013	100,1	60,8	130,8	17,5
	D x 2013	110,3	86,6	97,7	16,3
	L x 2013	83,9	57,8	127,5	9,6
	P x 2013	112,3	66,3	112,6	22,1
	C x 2014	90,7	52,1	132,8	97,1
	D x 2014	103,1	68,1	77,6	128,1
	L x 2014	73,3	53,6	111,0	108,8
	P x 2014	119,0	63,3	119,2	132,1
Valor de P	Cv	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,603
	A	0,061	0,023	0,05	< 0,001
	Cv x A	0,090	0,452	0,018	0,779

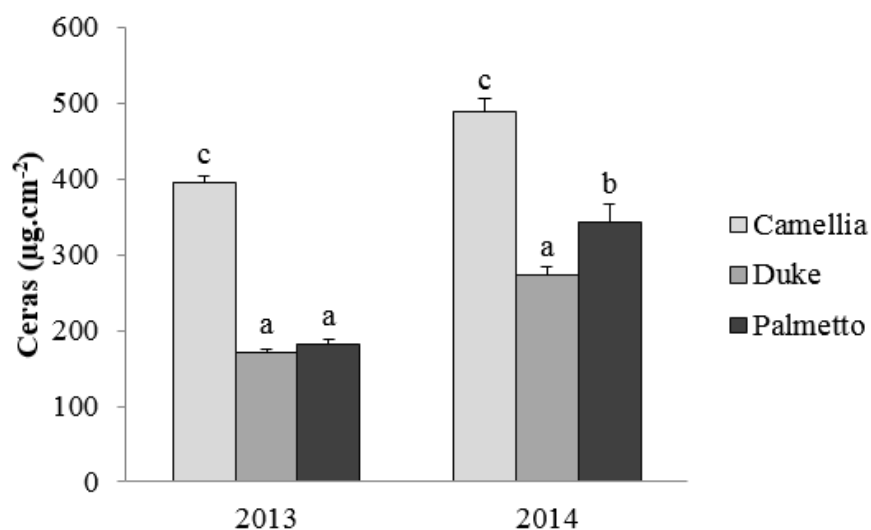


Figura 1 - Concentração de ceras cuticulares nas quatro cultivares de mirtilo em 2013-14. Médias (n=8) \pm erro padrão. Em cada ano, médias seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes com $P < 0,05$.

Custo de utilização de máquina de podar de discos na poda de pereiras 'Rocha'

A.B.Dias¹, S. Patrocínio², S. Pereira², T. Brites², V. Pita², J.M. Mota Barroso³, Tomás, C.⁴

¹ Departamento de Engenharia Rural, Escola de Ciências e Tecnologia, Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas, Instituto de Investigação e Formação Avançada, Universidade de Évora Núcleo da Mitra, Apartado 94, 7002-554 Évora, Portugal, adias@uevora.pt;

² Cooperfrutas CRL, Quinta das Freiras, Ponte do Jardim, 2460-617 Alcobaça, Portugal

³ Departamento de Fitotecnia, Escola de Ciências e Tecnologia, Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas, Instituto de Investigação e Formação Avançada, Universidade de Évora Núcleo da Mitra, Apartado 94, 7002-554 Évora, Portugal, jmmb@uevora.pt;

⁴ Fruticultor.

Resumo

A necessidade de reduzir a utilização da mão-de-obra e, consequentemente, os custos de poda de fruteiras tem contribuído para o crescente interesse na utilização de máquinas de podar de discos, que permitem obter capacidades de trabalho elevadas.

Estas máquinas são, na maior parte dos casos, montadas na parte frontal de um trator agrícola. A colocação de uma barra com serras circulares de discos na posição adequada conjugada com o deslocamento do trator pelas entrelinhas do pomar garante a realização de cortes indiscriminados na copa das árvores, controlando a sua volumetria.

No entanto, aspetos como a intensidade dos cortes e a sua periodicidade, bem como a necessidade de intervenções de poda manual de complemento carecem de uma adequada avaliação. É neste contexto que se enquadra o projeto Proder intitulado “Avaliação da poda mecânica em pomares de pera Rocha” que está a ser realizado na região do Oeste.

Tendo por base as capacidades de trabalho da máquina de podar de discos obtidas nos testes de campo do projeto acima referido, pretendem-se mostrar os custos de poda que se obtêm consoante a modalidade de poda utilizada, contribuindo para a definição de cenários que possam vir a ser implementados na poda das pereiras em Portugal.

Palavras chave: poda mecânica; fruteiras; encargos, produção

Abstract

Among fruit growers, there is an increased interest in mechanised pruning based on disc-saws cutting bar, since it reduces labour and consequently production costs due to the high working capacity of the machines currently on the market.

Important issues are still to be addressed namely how intense and frequent should be the cuts and the relevance of a manual pruning complement to the mechanized system.

In order to contribute to define a mechanised pruning strategy for 'Rocha' pear, the project Proder 23950 - *Evaluation of mechanized pruning in 'Rocha' pear orchards* is currently in progress in the main production region of 'Rocha' pear of Portugal.

'Rocha' pear is produced by a large number of farmers, which means small properties, and therefore cost issues are of the utmost relevance. This paper presents pruning costs incurred on different pruning strategies, based on measuring work rates.

Keywords: mechanical pruning; fruit growing; production costs; yield.

Introdução

A poda manual assistida com equipamentos pneumáticos é a prática mais generalizada para a poda de pereiras na zona da Denominação de Origem Protegida “Pêra Rocha do Oeste”. A adoção desta tecnologia permite melhorar as condições e a capacidade de trabalho dos podadores.

A necessidade de reduzir a utilização da mão-de-obra e consequentemente os custos de poda tem contribuído para o crescente interesse na utilização de máquinas de podar de discos, que são máquinas, na maior parte dos casos, montadas na parte frontal de um trator agrícola. A colocação de uma barra com serras circulares de discos na posição adequada conjugada com o deslocamento do trator pelas entrelinhas do pomar garante a realização de cortes indiscriminados na copa das árvores, controlando a sua volumetria.

No entanto, aspectos como a intensidade dos cortes e a sua periodicidade, bem como a necessidade de intervenções de poda manual de complemento carecem de uma adequada avaliação.

É neste contexto que se enquadra o projeto Proder 23950 intitulado “*Avaliação da poda mecânica em pomares de pera ‘Rocha’*” que está a ser realizado na zona Oeste, principal região de produção de pera. Trata-se de uma região caracterizada pela pequena dimensão da propriedade, pelo relevo acidentado e pelo grande número de produtores. Atendendo a estas condicionantes, no âmbito do projecto Proder 23950, desenvolveu-se uma máquina de podar de discos com o objectivo principal de garantir a sua utilização com qualquer trator fruteiro.

A partir das capacidades de trabalho obtidas nos testes de campo do projeto acima referido, pretendem-se avaliar os custos de poda para cada a modalidade utilizada, contribuindo para a definição de cenários que possam vir a ser implementados na poda das pereiras.

Material e métodos

O pomar onde se efetuaram os trabalhos de poda com a máquinas de podar de discos está localizado na zona da Denominação de Origem Protegida “Pêra Rocha do Oeste”, em Landal – Caldas da Rainha – Portugal (Latitude:39°18’28.50’’N e Longitude:9°01’15.49’’W). O pomar encontra-se instalado numa várzea, junto a uma linha de água. Trata-se de um pomar de pera ‘Rocha’ adulto, enxertado em porta-enxerto franco e instalado com compasso de 4×2 m com orientação Norte-Sul. O pomar tem mais de 25 anos e, inicialmente, foi conduzido em vaso. Há cerca de 10 anos a condução foi adaptada para eixo central.

Em 2008, 2009 e 2010, uma máquina de podar de discos R&O, montada no carregador frontal de um trator Massey Ferguson de 50 kW de potência máxima. Em 2011, foi utilizada uma máquina de podar de discos David montada na parte dianteira de um trator pomareiro Same de 70 kW de potência máxima.

A partir de 2012, utilizou-se uma máquina de podar de discos R&O adquirida no âmbito do projecto anteriormente referido (Fig. 1). Trata-se de uma máquina que se liga ao trator no sistema de engate de três pontos, requerendo ainda tomada de força e tomada de corrente elétrica. É uma máquina que trabalha semi-montada, apenas necessitando do sistema de engate de três pontos para as manobras de cabeceira e para transporte em estrada. Este equipamento é constituído (Fig. 2) por estrutura de suporte, barras de elevação, barra de corte e sistema hidráulico autónomo.

Nas intervenções de poda manual foram utilizadas tesouras pneumáticas ligadas a um compressor. No período de 2008 a 2011, o compressor foi acionado por um trator com cerca de 30 kW de potência máxima. A partir de 2012, os podadores utilizaram uma plataforma elevatória automotriz de cerca de 20 kW equipada com compressor. Em 2008, 2009 e 2010, sempre que necessário, os podadores utilizaram escadotes para alcançar a parte superior da copa. Em 2011, a poda foi realizada em duas etapas: 1ª etapa – poda da parte inferior e intermédia da copa, com os podadores no solo; 2ª etapa – poda da parte superior da copa com os podadores numa plataforma semi-rebocada pelo trator que acionava o compressor.

Para avaliar a utilização da máquina de podar de discos definiram-se os seguintes tratamentos (Quadro 1): Tratamento 1 (T1) – poda manual, efectuada anualmente por 3 ou 4 podadores, consoante a disponibilidade do proprietário; Tratamento 2 (T2) – poda com máquina de podar de discos; corte horizontal na parte superior da copa, em cada um dos anos (2008 a 2011) e corte vertical em cada face lateral da copa, em 2008 e em 2010. Em 2011, efectuou-se, excepcionalmente, uma intervenção de poda manual para eliminação de ramos ladrões da parte interior da copa; Tratamento 3 (T3) – poda com máquina de podar de discos seguida de poda manual de complemento; corte horizontal na parte superior da copa, em cada um dos anos (2008 a 2011) e corte vertical nas faces laterais da copa em 2008. Poda manual de complemento em cada um dos anos (2008 a 2011).

O ensaio foi delineado em blocos casualizados com 3 repetições num total de 9 talhões. Cada talhão era constituído por 3 linhas de 10 árvores, em que as duas linhas laterais funcionaram como linhas bordadura e na linha central consideraram-se as 8 árvores centrais para registo de dados.

Avaliou-se o tempo gasto na execução das intervenções de poda manual em cada talhão, bem como o tempo gasto pela máquina para efectuar os diferentes tipos de corte em cada uma das linhas.

Na zona Oeste existe uma grande diversidade de fruticultores, desde a pequena exploração de complemento do rendimento familiar a empresas de média e grande dimensão. Os fruticultores de média e grande dimensão recorrem a podadores contratados ao “dia”, cuja remuneração é estabelecida em função do trabalho efectuado, ou utilizam a mão-de-obra efetiva da exploração que tem um salário mensal ao qual acrescem os respectivos encargos associados.

Duração anual do período de poda - a época de poda de pereiras pode ir de meados de Dezembro até final de Março, perfazendo cerca de 70 dias úteis. Atendendo a que a probabilidade de precipitação na zona Oeste durante o inverno é elevada, afectando a utilização das máquinas agrícolas, entendeu-se reduzir o período de poda para 40 dias úteis. Estimando em 7 horas o número de horas efetivas de trabalho por dia, resultou um total de 250 a 300 horas para a execução da poda da pereira.

A quantificação dos custos de utilização dos equipamentos para a poda de pereiras foi efectuada segundo a forma habitual de determinação de custos de equipamentos agrícolas, considerando encargos fixos e encargos variáveis e baseada nos dados técnicos obtidos nos ensaios.

Utilização anual dos equipamentos – o cálculo dos custos de utilização dos equipamentos será efectuado em função da dimensão do pomar a podar, considerando-se uma densidade de 1250 árvores por hectare.

Meios necessários para realizar a poda manual – trator agrícola de 4RM de 22 kW (30 cv) de potência máxima, compressor e tesouras pneumáticas.

Meios necessários para realizar a poda com máquina de discos – trator agrícola de 4RM de 70 kW (100 cv) de potência máxima, respetivo tractorista e máquina de podar de discos montada no sistema de engate de três pontos (solução desenvolvida no âmbito do projeto).

Os custos da poda manual foram determinados através da seguinte fórmula (adaptado de Dias, 2006):

$$CP_{man} = \frac{CHT}{CTP_{man}} + \frac{CACp}{NAP} + \frac{Cmo}{CTP_{man}}$$

onde:

CP_{man} – custo poda por árvore da poda manual (euros/árvore);

CHT – custo horário do tractor sem tractorista (euros/hora);

CTP_{man} – capacidade de trabalho dos podadores (árvores/hora);

CACp – custo anual conjunto compressor e tesouras pneumáticas (euros);

Cmo – custo horário da mão-de-obra (euros);

NAP – número de árvores podadas anualmente.

Os custos da poda com máquina de discos foram determinados através da seguinte fórmula (adaptado de Dias, 2006):

$$CP_{maq} = \frac{CHT}{CTP} + \frac{CAP}{NAP}$$

onde:

CP_{maq} – custo poda por árvore com máquina de discos (euros/árvore);

CHT – custo horário do tractor com tractorista (euros/hora);

CTP – capacidade de trabalho da máquina de discos (árvores/hora);

CAP – custo anual da máquina de discos (euros);

NAP – número de árvores podadas anualmente.

O custo da máquina de discos foi contabilizado atendendo a encargos fixos e encargos variáveis. No caso do compressor e das tesouras pneumáticas, apenas se consideraram os encargos fixos, em virtude de não se dispor de informação sobre os encargos variáveis, os quais pareceram marginais. Nos encargos fixos, consideraram-se a depreciação do equipamento, os juros do capital investido e a necessidade de recolher o equipamento devido ao longo período de inactividade. Nos encargos variáveis, consideraram-se os gastos em manutenção e em reparações. O cálculo do custo anual dos equipamentos anteriormente referidos foi efectuado utilizando os seguintes dados:

- valor inicial (Vi) – preço venda ao público;
- valor final (Vf) – 0 €;
- vida útil (Vu) – 8 anos.

A depreciação ou amortização, parte dos encargos fixos para compensar o proprietário pela depreciação dos equipamentos devido à sua utilização bem como a sua obsolescência, foi calculada pelo método das cotas anuais constantes ou da depreciação linear, através da seguinte fórmula:

$$\text{Amortização} = \frac{Vi - Vf}{Vu}$$

Os juros do capital fixo, parte dos encargos destinada a remunerar o capital investido na aquisição do equipamento, foram calculados com base na taxa de 5% sobre o investimento médio efectuado (Albino, 2009):

$$\text{Juros do capital fixo} = \frac{Vi + Vf}{2} \times 0,05$$

De acordo com Albino (2009), o encargo adicional com um espaço coberto para recolha do equipamento durante o período de inatividade, foi calculado com base na taxa de 3% sobre o investimento médio:

$$\text{Recolha do equipamento} = \frac{Vi + Vf}{2} \times 0,03$$

Em termos de encargos variáveis, consideraram-se custos com a manutenção e com reparações. Para a máquina de podar de discos, os encargos variáveis basearam-se, quer na informação fornecida pelo fabricante, quer no conhecimento da equipa do projeto na utilização deste tipo de máquinas.

Em termos de equipamentos não específicos de poda apenas se utilizaram tratores agrícolas, cujos custos de utilização se basearam nos valores publicados por Albino (2009). Para o trator da máquina de discos, consideraram-se 400 horas de utilização anual para explorações de menor dimensão e 800 horas para explorações médias a grandes. Para o trator do compressor consideraram-se 400 horas de utilização anual.

Resultados e discussão

Na Figura 3 mostra-se a capacidade de trabalho da máquina de podar de discos, a qual dependeu do número de cortes realizado em cada linha de árvores. Quando se efetuou apenas o corte horizontal na parte superior da copa, a capacidade de trabalho da máquina de podar de discos é de cerca de um hectare por hora. A execução do corte horizontal na parte superior e de cortes laterais em cada uma das faces da copa reduziu a capacidade de trabalho para cerca de 0,3 hectares por hora. Tal deveu-se ao aumento do número de passagens de máquina por linha de árvores e ao número de manobras de cabeceira. A geometria das parcelas influencia a capacidade de trabalho da máquina de podar de discos devido às manobras de cabeceira.

Na Figura 4, mostra-se a capacidade de trabalho dos podadores nas intervenções de poda manual em cada um dos tratamentos.

Conforme seria de esperar, a capacidade de trabalho da poda exclusivamente mecânica (Fig. 3) foi muito superior à capacidade de trabalho das intervenções com podadores manuais (Fig. 4).

A capacidade de trabalho dos podadores no Tratamento 3 (poda com máquina de podar de discos seguida de poda manual de complemento) foi sempre superior à do Tratamento 1 (poda exclusivamente manual) em todos os anos com exceção de 2009 (Fig. 4).

A capacidade de trabalho obtida na intervenção de poda manual realizada em 2011, no T2 foi menor do que no T1 e no T3, refletindo o maior número de ramos retirados das árvores.

No Quadro 2, mostram-se os custos de poda em euros por árvore com a máquina de discos em função da dimensão do pomar. Conforme seria expectável verificou-se uma diminuição do custo por árvore à medida que aumenta o número de árvores podadas. Naquele Quadro é ainda possível verificar que a capacidade de trabalho da máquina de podar de discos influenciou de forma marginal o custo de poda, visto que as diferenças entre as duas capacidades de trabalho consideradas são insignificantes. Tal deve-se ao facto dos custos fixos representarem sempre mais de 90% do custo anual da máquina de discos.

Na Figura 5, mostram-se os custos de poda em função da área de pomar, com máquina de podar de discos, com poda manual e com poda manual de complemento. Verificou-se uma redução do custo de poda com o aumento da dimensão do pomar, a qual foi mais acentuada na poda com máquina de discos. Nas intervenções de poda manual, os equipamentos utilizados têm um peso reduzido no custo da operação, pelo que a redução de custo com o aumento da dimensão da exploração não é tão intensa.

O custo de execução da poda manual de complemento (Fig. 5) foi inferior ao da poda exclusivamente manual refletindo a maior capacidade de trabalho dos podadores (Fig. 4). No entanto, o custo do Tratamento 3 (poda com máquina de discos seguida de poda manual de complemento) resultará do somatório dos custos parcelares.

Na Figura 6, mostram-se os custos de poda obtidos em média por tratamento tendo em consideração a dimensão do pomar, para o período de 4 anos em que decorreram os ensaios. Refletindo o indicado nas Figuras 4 e 5, verificou-se que a poda com máquina de discos (T2p e T2g) tem custos inferiores aos da poda exclusivamente manual (T1p e T1g). Esta diferença é evidente apenas em explorações de maior dimensão. Os custos do Tratamento 2 (T2p e T2g) foram superiores aos indicados na Figura 5, devido à intervenção de poda manual efetuada em 2011 (Fig. 4). A execução de poda manual de complemento à poda com máquina de discos (T3p e T3g) permitiu reduzir os custos de poda em explorações de maior dimensão (T3g). Estes resultados mostram que a máquina de podar de discos permite obter custos de poda reduzidos quando a utilização anual da máquina é grande, pelo que os pequenos fruticultores apenas poderão optar pela prestação de serviços ou por uma utilização conjunta da máquina de discos.

Conclusões

Os resultados obtidos mostram que o custo de utilização da máquina de podar de discos é inferior ao da poda manual. A redução de custos é tanto maior quanto maior for a dimensão

da exploração, pelo que é aconselhável a sua aquisição para explorações de grande dimensão ou para utilização em conjunto por diversos fruticultores.

A opção pela poda com máquina de podar de discos associada à execução de poda manual de complemento efetuada anualmente permite reduzir os custos de poda desde que se consigam obter baixos custos de utilização com a máquina de discos. Paralelamente, deve procurar aumentar-se a capacidade de trabalho na poda manual de complemento para reduzir o peso desta intervenção no custo final.

Agradecimentos

À D. Cidália Tomás por disponibilizar meios e materiais para a realização do ensaio. Ao Sr. Sérgio Pereira pela disponibilidade da Cooperfrutas em participar neste ensaio.

Ao Ministério da Agricultura e do Mar pelo financiamento concedido através do programa Proder.

Referências

Albino, J.D. (2009), Análise com os encargos com a utilização das máquinas agrícolas, Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, Direcção Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural, Lisboa.

Dias, A.B. (2006), A mecanização da poda do olival. Contribuição da máquina de podar de discos. Tese de Doutoramento. Universidade de Évora.

Quadros e Figuras

Quadro 1 – Sequência das intervenções de poda efetuadas no ensaio em Landal – Caldas da Rainha

Tratamento	2008	2009	2010	2011
T1	Poda manual	Poda manual	Poda manual	Poda manual
T2	Corte horizontal e corte vertical em ambas as faces da copa	Corte horizontal	Corte horizontal E corte vertical em ambas as faces da copa	Corte horizontal + poda manual de complemento
T3	Corte horizontal e corte vertical em ambas as faces da copa + complemento manual	Corte horizontal+ complemento manual	Corte horizontal+ complemento manual	Corte horizontal + complemento manual



Figura 1 - Máquina desenvolvida no âmbito do projecto Proder.



Figura 2 – Constituição da máquina de podar de discos. Legenda: 1 – Reservatório de óleo, 2- Barra de corte, 3 – Rodas de apoio

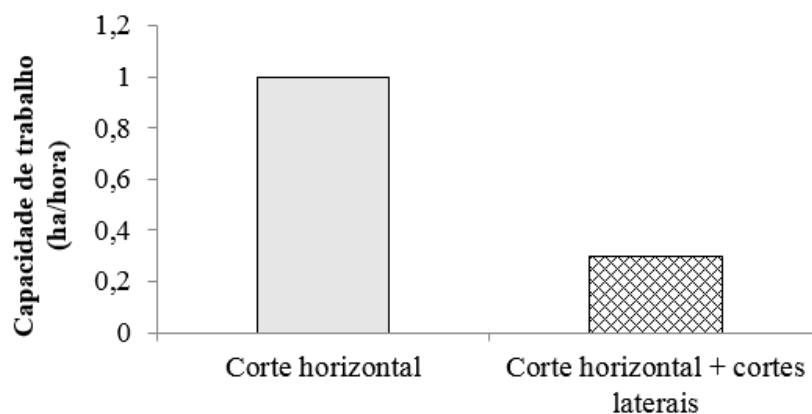


Figura 3 – Capacidade de trabalho da máquina de podar de discos.

Quadro 2 – Custo de poda com máquina de discos em função da área podada (euros/árvore)

Capacidade de trabalho (Hectares/hora)	Área para podar (ha)						
	2	5	10	15	20	25	50
0,3	1.16	0.49	0.27	0.19	0.15	0.13	0.10
1	1.15	0.48	0.26	0.18	0.15	0.12	0.08

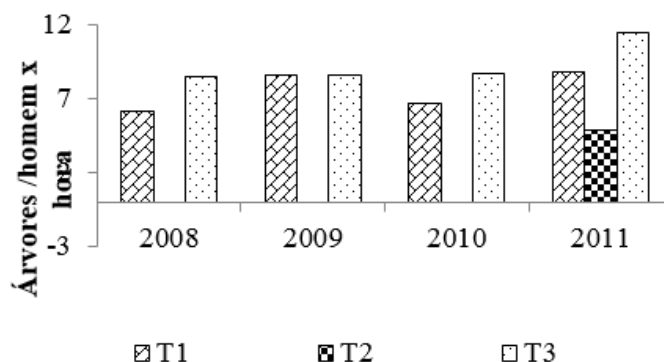


Figura 4 – Capacidade de trabalho na execução das intervenções de poda manual.

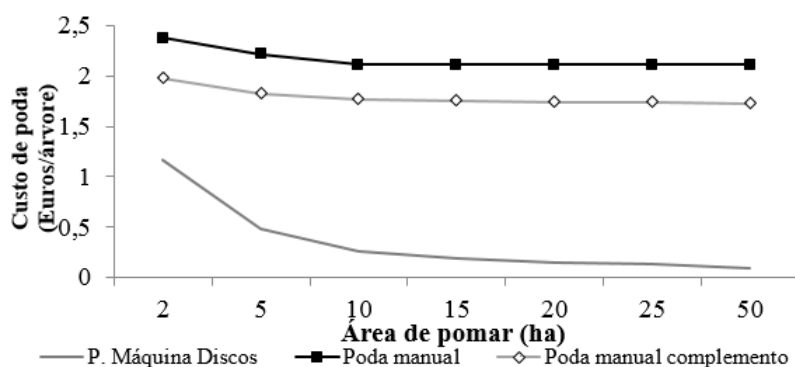


Figura 5 – Custos de poda consoante o tipo de intervenção.

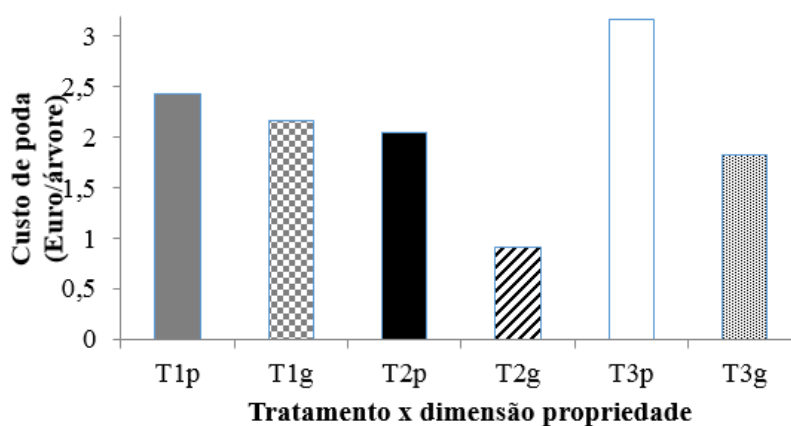


Figura 6 – Custo de poda por tratamento e dimensão do pomar. Legenda: T1p- tratamento1, pequena exploração; T1g – tratamento 1, grande exploração; T2p – tratamento 2, pequena exploração; T2g – tratamento 2, grande exploração; T3p – tratamento 3, pequena exploração; T3g – tratamento 3, grande exploração

Efeito da aplicação de um bioestimulante em duas cultivares de cerejeira (*Sweetheart* e *Skeena*): I) no perfil sensorial dos frutos

Sofia Correia¹, Alice Vilela², Filipa Queirós³, Ivo Oliveira⁴, Ana Paula Silva⁵ & Berta Gonçalves⁶

¹ Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. E-mail: sofiacorreia@utad.pt

² Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Departamento de Biologia e Ambiente, Centro de Genómica e Biotecnologia / Instituto de Biotecnologia e Bioengenharia (CGB-IBB), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. E-mail: avimoura@utad.pt

³ Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. E-mail: filipa_queiros@portugalmail.pt

⁴ Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. E-mail: ivobio@hotmail.com

⁵ Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Departamento de Agronomia, Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. E-mail: asilva@utad.pt

⁶ Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Departamento de Biologia e Ambiente, Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. E-mail: bertag@utad.pt

Resumo

Na cerejeira, o calibre e a firmeza do fruto são parâmetros fundamentais de qualidade e muito valorizados pelo consumidor. Desta forma, o produtor procura estratégias que visam a melhoria do tamanho do fruto, bem como conseguir maiores rendimentos de colheita. A utilização de bioestimulantes é cada vez mais recorrente na fruticultura para proporcionar incrementos no desenvolvimento vegetal e na produtividade. Este trabalho teve como objectivo estudar o efeito da aplicação de um bioestimulante comercial no perfil sensorial de frutos de duas cultivares (cvs.) de cerejeira, *Sweetheart* e *Skeena*, enxertadas em Gisela 6. O ensaio foi conduzido num pomar instalado em Carrazedo de Montenegro, concelho de Valpaços (latitude 41°33' N, longitude 7°17' W, altitude 770 m), norte de Portugal. O tratamento consistiu na aplicação do bioestimulante constituído maioritariamente por extrato de algas marinhas (*Ascophyllum nodosum*). Para o estudo da análise sensorial foi usado um painel de provadores segundo as normas ISO 6658:2005. Foi efetuada uma análise descritiva quantitativa, permitindo desenvolver o perfil sensorial de cada um dos frutos para todos os parâmetros organolépticos. No perfil sensorial, apenas no atributo *Aparência Geral* foram encontradas diferenças significativas entre as duas cvs. e tratamento, sendo os frutos da *Skeena* tratados os que apresentaram melhor aparência. Pela análise de clusters e análise em componentes principais verifica-se que os frutos não tratados da cv. *Skeena* se afastaram em termos sensoriais por terem *Flavor a Cereja*. Na cv. *Skeena* frutos com tratamento apresentaram boa *Aparência Geral* e boa *Cor do Pedúnculo*, no entanto, era ligeiramente ácida. Na cv. *Sweetheart*, os frutos sem e com tratamento foram os que mais se aproximaram, pelas características de *Aparência Geral*, *Cor do Pedúnculo*, *Gosto Ácido*, *Flavor a Cereja* e *Flavor Estranho*. Pela proximidade destas amostras pode-se concluir que o tratamento com o bioestimulante, em termos sensoriais, afetou mais os frutos da cv. *Skeena*, uma vez que as suas características organolépticas, com e sem tratamento, foram distintas, tendo o tratamento melhorado a *Aparência Geral* das cerejas.

Palavras-chave: *Prunus avium* L.; Qualidade Sensorial; Características Organolépticas; Extracto de Algas Marinhas (*Ascophyllum nodosum*).

Abstract

Effect of the biostimulant application in two cultivars of sweet cherry tree (*Sweetheart* and *Skeena*): I) the sensory profile of the fruits

In sweet cherry tree, size and firmness of the fruit are fundamental quality parameters and much appreciated by the consumer. The search for strategies to improve fruit size, and higher crop yields is one of the purposes of the producer so that the use of biostimulants is increasingly recurrent in fruit production. This work aimed to study the effect of a commercial biostimulant application in sensory profile of the fruits of two cultivars (cvs.) of cherry tree *Sweetheart* and *Skeena*, grafted on Gisela 6. The study was carried out in an orchard installed in Carrazedo de Montenegro, Valpaços, north of Portugal. The treatment consisted in the application of the biostimulant composed mainly of seaweed extract (*Ascophyllum nodosum*). To study the sensory analysis it was used a panel of tasters constituted in accordance with the ISO 6658:2005 standard. A quantitative descriptive analysis was performed, and established the sensory profile of each cv. for all organoleptic parameters. In the sensory profile, significant differences between cvs. and treatment were found just in *General Appearance* attribute and the treated fruits of *Skeena* cv. showed the best appearance. By cluster analysis and principal component analysis it appears that non-treated fruits of *Skeena* cv. turn away in sensory terms for having the *Cherry Flavor*. Treated fruits of *Skeena* cv. showed good *General Appearance* and good *Peduncle Color*, however there were slightly acidic. In *Sweetheart* cv., the fruits with and without biostimulant were the most closely, the characteristics of *General Appearance*, *Peduncle Color*, *Acid Taste*, *Cherry Flavor* and *Strange Flavor*. By the proximity of these samples it can be concluded that treatment with the biostimulant in sensory terms, affected over the fruit of *Skeena* cv., since its organoleptic characteristics, with and without treatment were different, and the treatment improved *General Appearance* of the cherry fruits.

Keywords: *Prunus avium* L.; Sensory Quality; Organoleptic Characteristics; Seaweed Extract (*Ascophyllum nodosum*).

Introdução

A cerejeira, *Prunus avium* L., pertence à família Rosaceae, é indígena da Ásia, sendo atualmente produzida em quase toda a Europa, oeste da Ásia e noroeste de África (Crespi *et al.*, 2005a,b). Em Portugal, a cereja apresenta um baixo impacto na produção total de frutos frescos mas, é uma espécie que normalmente gera um bom rendimento aos produtores, pois é bastante valorizada no mercado. Na cereja, o calibre e a firmeza são parâmetros fundamentais de qualidade e muito valorizados pelo consumidor. Desta forma, o produtor procura estratégias que visam a melhoria do tamanho do fruto, bem como conseguir maiores rendimentos de colheita. A obtenção de frutos grandes e firmes é também um dos objetivos da seleção varietal levada a cabo pelos programas de melhoramento, existindo já ao dispor do ceresicultor diversas cvs. que se destacam pelo tamanho dos frutos. Embora as condições de cultivo possam interferir na expressão do potencial de cada cv., encontram-se no mercado diversos produtos que podem ser utilizados para incrementar o peso médio do fruto (Whiting & Lang, 2004; Whiting & Ophardt, 2005). Produtos à base de reguladores de crescimento apresentaram em diferentes estudos um efeito na melhoria da qualidade da cereja, nomeadamente no aumento do calibre (Lenahan *et al.*, 2006; Kappel & MacDonald, 2007; Zhang & Whiting, 2011). Contudo, a sua aplicação provoca um atraso na maturação, perda de cor e, nalgumas situações, um aumento da suscetibilidade ao fendilhamento (Clayton *et al.*, 2006; Özkaya *et al.*, 2006; Cline & Trought, 2007; Stern *et al.*, 2007; Zhang & Whiting, 2011). A utilização de bioestimulantes pode ser uma solução a explorar para melhorar a qualidade da cereja. Estes produtos de origem orgânica, contendo extratos de algas marinhas promovem o crescimento vegetal (Zodape, 2001). A utilização de bioestimulantes é cada vez mais recorrente na fruticultura por proporcionar incrementos no desenvolvimento vegetal e na produtividade, embora sejam inexistentes os

estudos que avaliem a eficácia da aplicação destes produtos. Neste estudo foi aplicado um bioestimulante comercial com extrato de algas marinhas (*Ascophyllum nodosum*) em duas cvs. de cerejeira tardias, *Skeena* e *Sweetheart*. Condições edafo-climáticas diversas, diferentes cvs. e operações culturais no pomar podem resultar numa grande variedade de sabores e textura dos frutos. A avaliação sensorial tem desempenhado um papel crucial na análise de produtos alimentares, estando envolvida em muitas etapas, tais como no desenvolvimento e pesquisa, na manutenção, melhoria e avaliação do potencial de mercado (Sidel & Stone, 1993). Estas avaliações são úteis para informar o consumidor e melhorar a qualidade dos produtos. Vários estudos foram já realizados com o intuito de desenvolver e estabelecer uma avaliação do perfil sensorial para diferentes cvs. de cereja (Cliff *et al.*, 1996; Dever *et al.*, 1996). Os descritores utilizados na avaliação do perfil sensorial são simples e de fácil compreensão, de forma a que todo o painel os entenda completamente. As características sensoriais importantes na determinação da qualidade da cereja incluem o *Gosto Doce* e o *Flavor a Cereja* (Cliff *et al.*, 1996). Com este trabalho pretende-se assim estudar o efeito da aplicação de um bioestimulante comercial no perfil sensorial de frutos de duas cvs. de cerejeira, *Sweetheart* e *Skeena*, enxertadas em Gisela 6.

Material e Métodos

Aplicação do bioestimulante nas cerejeiras

O ensaio foi conduzido num pomar instalado em Carracedo de Montenegro, concelho de Valpaços (latitude 41°33' N, longitude 7°17' W, altitude 770 m), norte de Portugal. No local, a precipitação anual ronda os 1000 mm, grande parte concentrada nos meses mais frios, entre novembro e abril. O pomar compreende as cultivares *Sweetheart* e *Skeena* enxertadas em Gisela 6, e as árvores são conduzidas em eixo vertical ao compasso de 4,5x2 m; à data deste estudo encontravam-se na sexta folha. O tratamento consistiu na aplicação reiterada do bioestimulante na dose de 0,05% em três momentos, tendo a primeira aplicação coincidido com o estado de fruto vingado, especificamente 4 semanas após a plena floração (frutos com 8-10 mm de diâmetro), e as restantes ao engrossamento do fruto.

Avaliação do perfil sensorial das cerejas

Para o estudo do perfil sensorial recorreu-se a um painel treinado de 8 provadores, pertencente à ECVA-DeBA-UTAD. As provas decorreram num laboratório equipado para análise sensorial segundo as normas ISO 6658:2005. Foi efetuada uma análise descritiva quantitativa (ADQ), utilizando-se fichas de prova com descritores adaptados de Dever *et al.* (1996). Esta análise permitiu desenvolver o perfil sensorial de cada um dos frutos com descritores apropriados para todos os parâmetros organoléticos avaliados (aparência geral, suavidade da epiderme, cor, intensidade da cor, uniformidade da cor, cor do pedúnculo, intensidade de odor, gosto doce, intensidade do odor, gosto doce, gosto ácido, gosto amargo, adstringência, gosto estranho, flavor a cereja, flavor estranho, firmeza e suculência) utilizando uma escala estruturada de 10 pontos (1 – menos intenso; 10 – mais intenso, ISO 4121:2003). As amostras (quatro frutos de cada tratamento) foram servidas à temperatura ambiente, em pratos de pirex por cada um dos provadores. As amostras foram codificadas com códigos de 3 dígitos, sendo a ordem de apresentação aleatória.

Análise estatística

Os resultados da avaliação sensorial foram submetidos a análise de variância (ANOVA), com teste de Duncan a 5% de significância para comparação entre as médias, a análise dos componentes principais (ACP) e a análise de cluster (pela distância euclidiana média, método UPGMA – unweighted pair-group average). A análise do perfil sensorial das amostras foi realizada através do gráfico Aranha, para verificar que características mais prevaleciam nas

amostras de cereja. Todas as análises foram realizadas utilizando-se o *software* STATISTICA 2010 (StatSoft Inc., 2010).

Resultados e Discussão

O perfil sensorial de cada amostra é apresentado graficamente na Figura 1, em que a média dos valores atribuídos pelos provadores a cada atributo é marcada no eixo correspondente. O centro da figura representa o ponto zero da escala utilizada na avaliação, enquanto a intensidade aumenta do centro para a periferia. O perfil sensorial revela-se quando se faz a conexão dos pontos. Pela Figura 1 e Quadro 1 verifica-se que as cerejas mostraram um perfil sensorial muito semelhante. Apenas se encontram diferenças significativas no atributo *Aparência Geral*, em que a cv. *Skeena*, com tratamento (SKT) apresentou o valor mais elevado quando comparado com a mesma cv. sem tratamento (SKC) e com a cv. *Sweetheart*, sem tratamento (SWC). A análise de cluster (distância euclidiana média, método UPGMA – unweighted pair-group average) obtida pela análise sensorial dos diferentes frutos, permite verificar que os frutos da cv. *Skeena* sem tratamento se afastaram mais, e os mais próximos foram os da cv. *Sweetheart* com e sem tratamento. Os resultados obtidos por Análise de Componentes Principais (ACP) permitiram distinguir a representação de cada descritor para as semelhanças entre as amostras de cereja (Quadro 2 e Figura 3). Na ACP o primeiro componente contribuiu com 53,26% da variância total e o segundo com 30,79%, representando os dois primeiros eixos fatoriais 84,05% na variância total. Numa ACP os dois ou três primeiros componentes (fatores) têm de acumular uma percentagem relativamente elevada da variação total, em geral acima de 70%, para ser possível explicar satisfatoriamente a variabilidade entre as amostras testadas (Mardia *et al.*, 1979). Com esta análise é possível verificar que os frutos que mais se afastaram em termos sensoriais foram os da cv. *Skeena* não tratadas, que se caracterizaram por terem *Flavor a Cereja*. A cv. *Skeena* com tratamento apresentou uma boa *Aparência Geral* e boa *Cor do Pedúnculo*, no entanto, era ligeiramente ácida. A cv. *Sweetheart* com e sem tratamento foram as que mais se aproximaram, pelas características *Aparência Geral*, *Cor do Pedúnculo*, *Gosto Ácido* e *Flavor a Cereja* (Quadro 1).

Vários estudos foram já realizados com o intuito de desenvolver e estabelecer uma avaliação do perfil sensorial para várias cvs. de cereja (Cliff *et al.*, 1996; Dever *et al.*, 1996). No entanto, estudos com intuito de avaliar o perfil sensorial dos frutos com diferentes tratamentos são quase inexistentes. Clayton *et al.* (2006) reportaram que cerejas da cv. *Bing* tratadas com ácido gálico apresentavam maior firmeza, sabor a cereja, doçura e acidez, melhorando assim a sua qualidade sensorial. Dependendo da cv. de cerejeira, a data de colheita é diferente, e quanto mais tarde for (julho-agosto), maior é a acidez e a firmeza da polpa do fruto (Cliff *et al.*, 1996). Dever *et al.* (1996) reportaram valores de atributos sensoriais para a cv. *Sweetheart*, como *Firmeza* de 6,4 e *Intensidade da Cor* de 6,8. Os resultados obtidos no nosso estudo são superiores, variando entre 7,3-7,4 e 9,0-9,4, respetivamente (Quadro 1). Um estudo mais recente definiu vários atributos sensoriais para a cv. *Sweetheart*, como: *Aparência Geral* (6,18), *Intensidade da Cor* (6,56), *Flavor a Cereja* (6,03), *Gosto Ácido* (5,13) e *Gosto Doce* (4,63) (Serradilla *et al.*, 2012). Os valores obtidos no nosso estudo são também superiores, excepto no atributo de *Gosto Ácido*. A implementação de estudos comparativos do perfil sensorial de frutos com diferentes tratamentos é cada vez mais importante de forma a incrementar a sua valorização no mercado.

Conclusões

A análise do perfil sensorial, de cluster e componentes principais, permitiu concluir que a aplicação do bioestimulante, a nível sensorial afetou mais favoravelmente a cv. *Skeena*, pelo que os seus frutos com e sem tratamento apresentaram características organolépticas distintas. O bioestimulante não diferenciou de forma tão acentuada os frutos da cv. *Sweetheart* cujos lotes (tratados e não tratados) ficaram mais próximos na análise de componentes principais. Com

este estudo foi ainda possível verificar que o tratamento melhorou a qualidade das cerejas pela sua *Aparência Geral*.

Agradecimentos

Este trabalho foi suportado pelo Projeto “GoldCherry – Incremento da produção de cereja de qualidade”, PA 53626 – financiado pelo Fundo Europeu Agrícola de Desenvolvimento Rural (FEADER) e pelo Estado Português através da Medida 4.1. Cooperação para a Inovação do programa PRODER – Programa de Desenvolvimento Rural. A Fundação para a Ciência e Tecnologia financia a bolsa de doutoramento de Sofia Correia (SFRH/BD/52541/2014).

Referências

- Clayton, M., Biasi, W.V., Agar, I.T., Southwick, S.M. & Mitcham, E.J., 2006. Sensory quality of ‘Bing’ sweet cherries following preharvest treatment with hydrogen cyanamide, calcium ammonium nitrate, or gibberellic acid. *HortScience*, 41: 745–748.
- Cliff, M.A., Dever, P.J., Hallb, W. & Girard, B., 1996. Development and evaluation of multiple regression models for prediction of sweet cherry liking. *Food Res Int*, 28 (6) 583–589.
- Cline, J.A. & Trought, M., 2007. Effect of gibberellic acid on fruit cracking and quality of ‘Bing’ and ‘Sam’ sweet cherries. *Can J Plant Sci*, 87: 545–550.
- Crespi, A.L., Castro, A.S. & Bernardos, S. 2005a. Sistemática e Taxonomia. *In* A Flora da Região Demarcada do Douro. Azevedo, J. (ed.), Vol. II, Mirandela, 556.
- Crespi, A.L., Castro, A.S. & Bernardos, S. 2005b. Organografia e Conservação das Plantas Vasculares. *In* A Flora da Região Demarcada do Douro. Azevedo, J. (ed.), Vol. I, Mirandela, 189.
- Dever, M.C., MacDonald, R.A., Cliff, M.A. & Lane W.D., 1996. Sensory evaluation of sweet cherry. *HortScience*, 31 (1) 150–153.
- Kappel, F. & MacDonald, R.A., 2007. Early gibberellic acid sprays increase firmness and fruit size of ‘sweetheart’ sweet cherry. *J Amer Pomol Soc*, 61: 38–43.
- Lenahan, O.M., Whiting, M.D. & Elfving, D.C., 2006. Gibberellic acid inhibits floral bud induction and improve ‘Bing’ sweet cherry fruit quality. *HortScience*, 41: 654–659.
- Mardia, L.V, Keni, J.T. & Bibby, J.M., 1979. Multivariate analysis. London. Academic Press, 521.
- Özkaya, O., Dündar, Ö. & Küden, A., 2006. Effect of preharvest gibberellic acid treatments on postharvest quality of sweet cherry. *J Food Agric Environ*, 4: 189–191.
- Serradilla, M.J., Martín, A., Ruiz-Moyano, S., Hernández, A., López-Corrales, M. & Córdoba, M.G., 2012. Physicochemical and sensorial characterization of four sweet cherry cultivars grown in Jerte Valley (Spain). *Food Chem*, 131: 1551–1559.
- Sidel, J.L. & Stone, H., 1993. The role of sensory evaluation in the food industry. *Food Qual Pref*, 4: 65–73.
- Stern, R.A., Flaishman, M., Applebaum, S. & Ben-Arie, R., 2007. Effect of synthetic auxins on fruit development of ‘Bing’ cherry (*Prunus avium* L.). *Sci Hortic*, 114: 275–280.
- Whiting, M.D. & Lang, G.A., 2004. Bing sweet cherry on the dwarfing rootstock *Gisela 5*: crop load affects fruit quality and vegetative growth but not net CO₂ exchange. *J Amer Soc Hort Sci*, 129: 407–415.
- Whiting, M.D. & Ophardt, D., 2005. Comparing novel sweet cherry crop load management strategies. *HortScience*, 40: 1271–1275.
- Zhang, C. & Whiting, M.D., 2011. Improving ‘Bing’ sweet cherry fruit quality with plant growth regulators. *Sci Hortic*, 127: 341–346.

Zodape, S.T. 2001. Seaweeds as a biofertilizer. *J Sci & Ind Res*, 60: 378–382.

Quadros de figuras

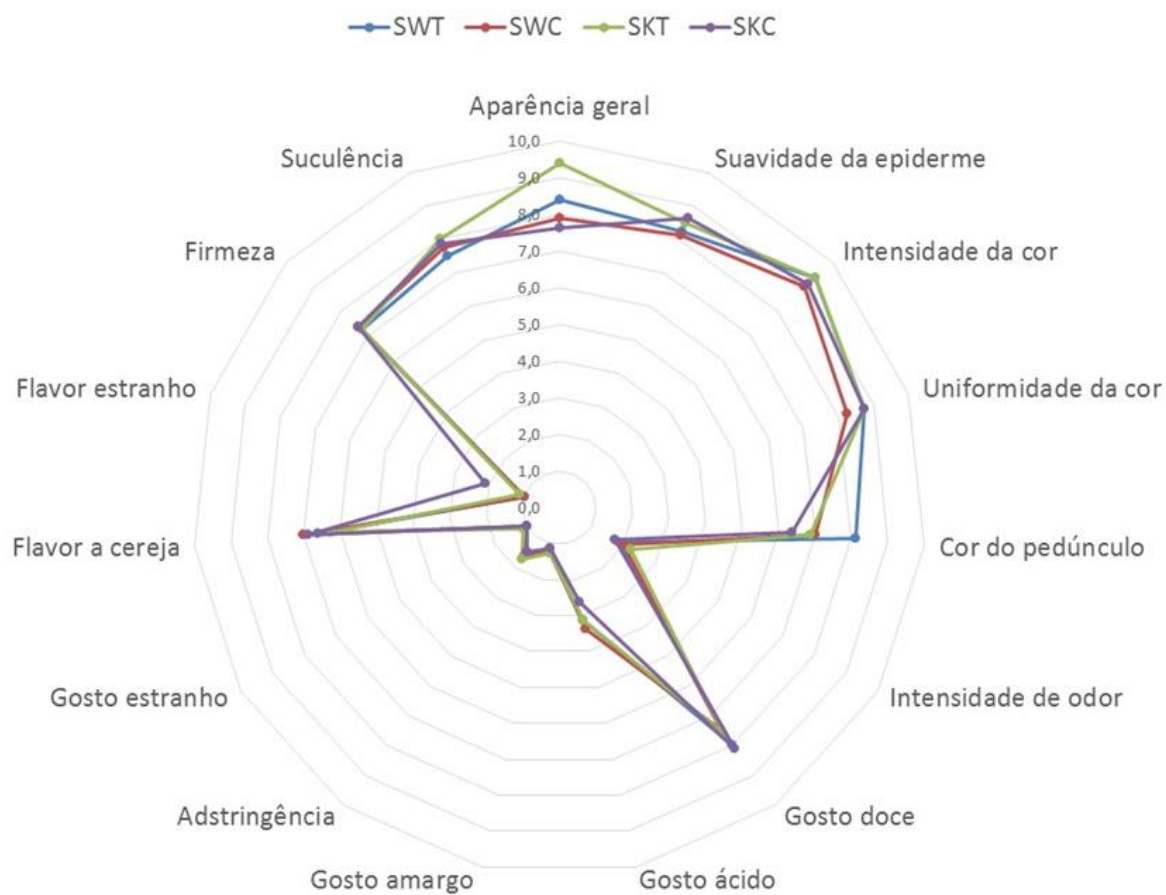


Figura 1. – Perfil sensorial das amostras de cereja (*Sweetheart* (SW) e *Skeena* (SK) com (T) e sem (C) tratamento bioestimulante).

Quadro 1. – Média dos valores dos atributos sensoriais nas amostras de cereja avaliadas sensorialmente. (*Sweetheart* (SW) e *Skeena* (SK) com (T) e sem (C) tratamento bioestimulante) (Teste de Duncan, $p < 0,05$).

Atributos	Amostras			
	SWT	SWC	SKT	SKC
Aparência geral	8,4 ^{a, b}	7,9 ^a	9,4 ^b	7,6 ^a
Suavidade da epiderme	8,3 ^a	8,1 ^a	8,5 ^a	8,6 ^a
Intensidade da cor	9,4 ^a	9,0 ^a	9,4 ^a	9,1 ^a
Uniformidade da cor	8,8 ^a	8,3 ^a	8,8 ^a	8,8 ^a
Cor do pedúnculo	8,1 ^a	7,0 ^a	6,9 ^a	6,4 ^a
Intensidade de odor	1,9 ^a	2,0 ^a	2,3 ^a	1,8 ^a
Gosto doce	8,0 ^a	7,5 ^a	7,6 ^a	8,1 ^a
Gosto ácido	3,1 ^a	3,4 ^a	3,1 ^a	2,6 ^a
Gosto amargo	1,3 ^a	1,3 ^a	1,3 ^a	1,1 ^a
Adstringência	1,5 ^a	1,6 ^a	1,8 ^a	1,5 ^a
Gosto estranho	1,0 ^a	1,0 ^a	1,1 ^a	1,0 ^a
Flavor a cereja	6,6 ^a	7,0 ^a	6,3 ^a	6,9 ^a
Flavor estranho	1,0 ^a	1,0 ^a	1,1 ^a	2,1 ^a
Firmeza	7,3 ^a	7,4 ^a	7,3 ^a	7,4 ^a
Suculência	7,5 ^a	7,8 ^a	8,0 ^a	7,9 ^a

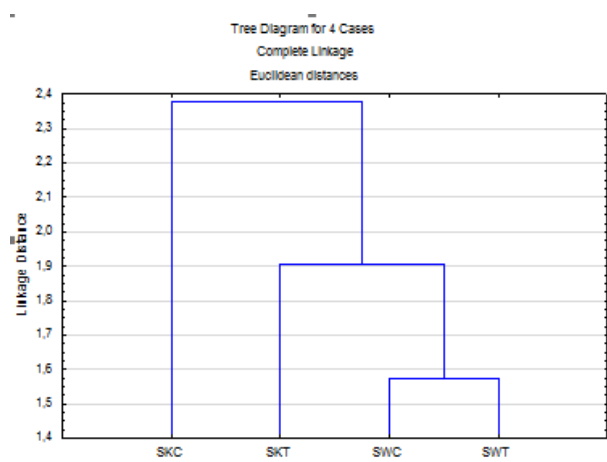


Figura 2. – Dendrograma obtido a partir da análise de clusters após análise sensorial das amostras de cerejas das cultivares *Sweetheart* (SW) e *Skeena* (SK) com (T) e sem (C) tratamento bioestimulante.

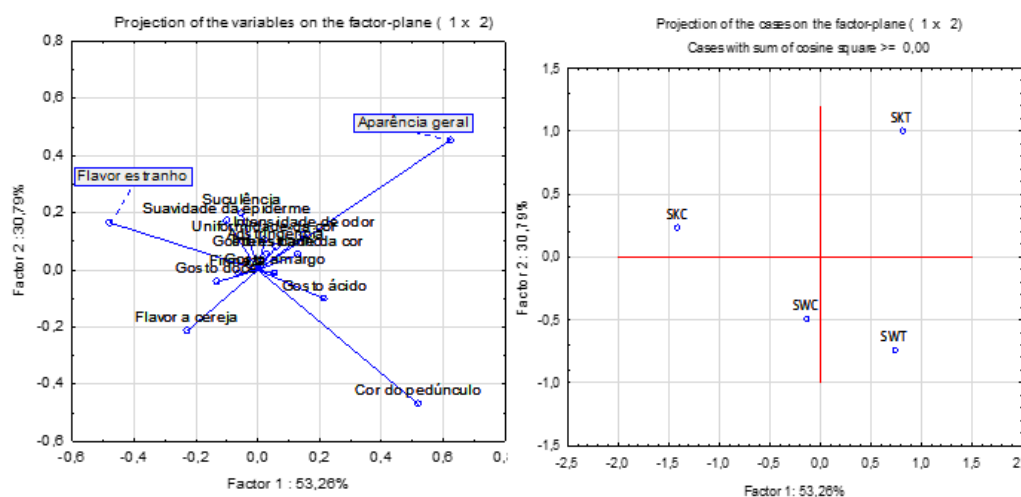


Figura 3. – Projeção dos parâmetros sensoriais (A) das cerejas das duas cultivares, com e sem tratamento (B) nas duas componentes principais Fator 1 e Fator 2, após cov-ACP dos dados sensoriais.

Quadro 2. – Contribuição de cada atributo sensorial para os fatores analisados (1 e 2) na cov-ACP.

Atributos	Amostras	
	Fator 1	Fator 2
Aparência geral	0,624226	0,454597
Suavidade da epiderme	-0,099716	0,169694
Intensidade da cor	0,130179	0,053570
Uniformidade da cor	0,022003	0,104638
Cor do pedúnculo	0,518755	-0,469781
Intensidade de odor	0,149285	0,120643
Gosto doce	-0,132782	-0,042164
Gosto ácido	0,216352	-0,102137
Gosto amargo	0,056838	-0,012454
Adstringência	0,059797	0,080012
Gosto estranho	0,032649	0,053086
Flavor a cereja	-0,228126	-0,212827
Flavor estranho	-0,478897	0,165175
Firmeza	-0,062339	-0,013705
Suculência	-0,050921	0,197386

Efeito da forma de condução nas cultivares de avelã “Butler” e “Segorbe” (I): características morfo-anatómicas e químicas de folhas

Ivo Oliveira¹, José Manuel Moutinho-Pereira¹, Carlos Correia¹, Eunice Bacelar¹, Helena Ferreira¹, Alberto Santos², Ana Paula Silva³, Berta Gonçalves¹

¹ Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Departamento de Biologia e Ambiente, Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. E-mail: ivobio@hotmail.com; moutinho@utad.pt; ccorreia@utad.pt; areale@utad.pt; helenaf@utad.pt; bertag@utad.pt

² Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD). E-mail: asantos@utad.pt

³ Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Departamento de Agronomia, Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. E-mail: asilva@utad.pt

Resumo

A avelã, uma cultura interessante para algumas regiões de Portugal, é normalmente conduzida em tufo ou em tronco único, tendo estas formas de condução implicações na intensidade e qualidade da radiação solar no interior da copa, alterando características morfo-anatómicas, químicas e fisiológicas das folhas. Assim, este trabalho teve como objetivo estudar o efeito destas formas de condução da avelã nas características morfo-anatómicas (área, suculência, massa por unidade de área de superfície foliar - LMA, lâmina total, espessura de epiderme superior e inferior, incluindo cutículas, de parênquima clorofilino em paliçada e lacunoso, frequência de vasos xilémicos (VF), índice de vulnerabilidade (VI), condutividade hidráulica relativa (RC), razão xilema/floema) e químicas (concentração em açúcares, amido, fenóis totais, clorofila *a* e *b* (Cla e Clb) e carotenoides) das folhas de duas cultivares de *Corylus avellana* L., “Butler” e “Segorbe”. Foi observada uma forte influência da cultivar em diversos dos parâmetros estudados, com valores mais elevados na “Butler”, para RC, sendo mais elevados na “Segorbe” os parâmetros área, razão xilema/floema, amido, Cla e carotenoides. Verificou-se também um efeito significativo da forma de condução em VF ($P = 0,001$) e VI ($P < 0,001$), com os valores mais elevados nas árvores conduzidas em tufo, para ambas as cultivares. A concentração em açúcares solúveis foi também influenciada pela forma de condução, sendo mais elevado na “Butler” em tufo, e na “Segorbe” em tronco único. A interação entre cultivar e forma de condução exerceu uma influência significativa da interação entre em alguns dos parâmetros estudados (área, VF, VI, RC, razão xilema/floema, amido, fenóis totais, Cla, Clb e carotenoides). Os resultados deste trabalho mostram que a forma de condução das avelãs tem influência direta em vários parâmetros morfo-anatómicos e químicos das folhas, o que poderá, em última análise, influenciar a produção e qualidade dos frutos.

Palavras-chave: *Corylus avellana* L., Características foliares, Morfologia, Química, Condução em Tufo e Tronco único

Abstract

Effect of the training system on hazelnut cultivars “Butler” and “Segorbe” (I): morpho-anatomical and chemical characteristics of leaves

Hazelnut, an attractive crop in some regions of Portugal, is usually grown freely as a multi-stemmed shrub or as a single trunk, having these training systems some effects on the light intensity and quality within the canopy, inducing changes in morpho-anatomical, chemical and physiological features of the leaves. Hence, the objective of this work is to study the effect

of those training systems on morphological (total lamina, area, succulence, specific leaf weight (LMA), upper and lower epidermis, including cuticle, palisade and spongy parenchyma, vessel frequency (VF), vulnerability index (VI) relative hydraulic conductivity (RC), xylem/phloem ratio) and chemical (soluble sugars, starch, total phenolics, chlorophyll *a* and *b*, (Cla and Clb) and carotenoids) characteristics of the leaves of two *Corylus avellana* L. cultivars, “Butler” and “Segorbe”.

A strong influence of the cultivar was detected for several of the studied parameters, with higher values of RC for “Butler”, and higher area, xylem/phloem ratio, starch, Cla and carotenoids. Significant effects of the training system were detected, either for VF ($P = 0.001$), as well as for VI ($P = 0.001$). In fact, for both cultivars, higher values for those parameters were found for multi-stemmed shrubs. The content in soluble sugars was also influenced by the training system, although the effect is specific for each cultivar and each one of the parameters (high in “Butler” as multi-stemmed shrubs and for “Segorbe” as single trunk). The interaction between cultivar and training system also resulted in significant variation of some of the studied parameters (area, VF, VI, RC, xylem/phloem ratio, starch, total phenolics, Cla, Clb and carotenoids).

The results of this work clearly illustrate that the training system has a direct influence on several morpho-anatomical and chemical characteristics of hazelnut leaves, which can, ultimately, influence both the production and quality of the fruits.

Keywords: *Corylus avellana* L., Leaf characteristics, Morphology, Chemistry, Multi-stem and single trunk training

Introdução

Como noutras culturas arbóreas, na aveleira, a forma de condução tem influência na geometria da copa das árvores, determinando, entre outro fatores, a quantidade e qualidade da radiação solar que atinge todas as partes da vegetação e consequente diferenciação floral e todo o comportamento fisiológico das folhas (Hampson et al., 2002). O domínio destes conceitos em função das características varietais pode ser muito importante para potenciar a produção de frutos e a sua qualidade (Gonçalves et al., 2008). O efeito da radiação solar pode resultar em variações associadas a características morfológicas, fisiológicas, anatómicas ou químicas nas folhas, para além de outras, ao nível da árvore (Muraoka et al., 1997; Niinemets, 1997; Mendes et al., 2001).

A aveleira, por apresentar naturalmente um porte arbustivo multicaule, é muitas vezes conduzida em tufo, apesar de resultar em dificuldades no controlo de pragas e doenças, o aumento do número de ramos-ladrões, a dificuldade de colheita devido à queda de frutos no interior do tufo, e a baixa densidade da plantação (Silva et al., 2005) que, juntamente com uma fase não produtiva longa (5-7 anos improdutivo, quando sem irrigação - Me et al., 2000), lhe reduz a produtividade (Ricci-Bitti, 1961). Para contornar estas dificuldades, foram surgindo outras formas de condução, nomeadamente tronco único em vaso, em V, em Y, e em eixo vertical ou inclinado (Silva et al., 2005), de modo a aumentar a produtividade e para facilitar a execução das práticas culturais (Beyhan, 2007). Assim, a condução em tronco único é uma das formas mais frequentemente usadas, uma vez que permite a realização de forma mais eficaz do controlo de ramos-ladrões e outras práticas culturais, bem como o aumento da densidade da plantação, facilitando também a colheita (Olsen, 2002). Este trabalho faz parte de uma pesquisa alargada sobre o efeito causado por estas duas formas de condução – em tufo e em tronco único na aveleira. O objetivo deste estudo focou-se nas características morfo-anatómicas e fisiológicas das folhas de duas cultivares de aveleira, Butler e Segorbe, conduzidas em tufo ou e tronco único.

Material e Métodos

Campo experimental

O estudo foi realizado em plantas adultas de *Corylus avellana* L., das cultivares Butler e Segorbe, conduzidas em tufo e em tronco único, numa parcela experimental localizada no campus da UTAD, em Vila Real, (latitude 41°19'N e longitude 7°44'W; altitude de 470 m acima do nível do mar).

Determinações morfo-anatómicas

Recolheram-se 6 folhas da parte exterior da copa, em 3 árvores, por combinação cultivar × forma de condução, avaliando-se os seguintes parâmetros: área foliar (cm²) (software WinDIAS Leaf Area Meter System, Delta-T devices Ltd., Cambridge, Reino Unido) e massa por unidade de área de superfície foliar (LMA) (g/m²), suculência (mg água/área cm²). Para as medições anatómicas das folhas, efetuaram-se secções transversais de folhas entre a margem da folha e a nervura central, sendo medida a espessura total da folha, espessura de epiderme superior e inferior, incluindo as cutículas, e dos parênquimas clorofilino em paliçada e lacunoso, usando um microscópio ótico Olympus IX 51 (Olympus Optical Co., GmbH, Hamburgo, Alemanha), e recorrendo ao programa *Cell (Soft Imaging System GmbH, Hamburgo, Alemanha). As medidas de frequência dos vasos xilémicos e dos diâmetros dos vasos foram feitas na nervura central em cada secção transversal. A condutividade hidráulica relativa (RC) foi estimada através da equação de *Hagen-Poiseuille* modificada (Fahn et al., 1986): $RC = r^4 VF$, onde RC é a condutividade hidráulica relativa, r o raio do vaso individual e VF a frequência de vasos. O índice de vulnerabilidade (VI) foi calculado tal como proposto por Carlquist (1977): $VI = VD/VF$, onde VD e VF são, respetivamente, o diâmetro e a frequência dos vasos. A razão xilema/floema foi calculada dividindo a espessura dos respectivos tecidos.

Determinações químicas

Prepararam-se discos de folhas (8 mm de diâmetro), que foram imediatamente congelados em azoto líquido e armazenados a -80 °C até ao momento da análise. A quantificação das clorofilas (Cla e Clb) e carotenoides foi efetuada nas folhas por espectrofotometria em extratos de acetona 80% (v/v), utilizando os métodos de Sesták et al. (1971) e Lichtenthaler (1987), respetivamente. Os açúcares solúveis foram extraídos por aquecimento (80 °C) dos discos de folha em etanol a 80% e quantificados de acordo com Irigoyen et al. (1992). A quantificação do amido foi efetuada após extração com ácido perclórico a 30%, e quantificados de acordo com Osaki et al. (1991). A concentração de fenóis totais foi determinada com o mesmo extracto usado na análise de pigmentos fotossintéticos, de acordo com o procedimento do método de *Folin-Ciocalteu* (Singleton & Rossi, 1965).

Análise estatística

Os dados foram analisados via análise de variância (ANOVA), usando o software SPSS versão 19 (IBM Corporation, New York, EUA).

Resultados e Discussão

A análise dos resultados obtidos mostrou existir um efeito significativo da forma de condução da aveleira em apenas alguns dos parâmetros estudados (quadro 1, 2, 3 e 4), quer quando sendo avaliada isoladamente (efeito significativo nos parâmetros VF, VI, açúcares solúveis), quer quando em interação com a cultivar (efeito significativo nos parâmetros área foliar, VF, VI, RC, razão xilema/floema, amido, fenóis totais, Cla e Clb e carotenoides). No caso da frequência de vasos xilémicos (VF) (quadro 3), parâmetro relacionado com a eficiência da condução da seiva, sendo esta maior com o aumento de VF (Mauseth & Stevenson, 2004), foi detetada uma influência significativa da forma de condução em função da cultivar ($P = 0,004$): em “Segorbe”, a condução em tufo resultou no valor significativamente mais elevado

(900 vasos/mm² vs 649 vasos/mm²). Na “Butler” os valores foram também significativamente diferentes comparando a condução em tufo (671 vasos/mm²) e a condução em tronco (796 vasos/mm²). Diferenças significativas foram também observadas no índice de vulnerabilidade (VI), parâmetro que indica a suscetibilidade à cavitação na coluna de água (Carlquist, 1988). Registou-se uma influência significativa ($P = 0,000$) da forma de condução neste parâmetro, com valores mais elevados na condução em tufo. Neste caso, a condução em tufo resultou em valores mais elevados na “Butler” (35,0), significativamente maiores do que os observados na condução em tronco único (26,6), sendo que na “Segorbe”, a condução em tufo apresentou menor valor (19,4) do que o obtido para a condução em tronco único (32,2), mas não significativamente diferentes. Ainda nos parâmetros morfo-anatômicos, verificou-se uma influência da cultivar na área foliar e na condutividade hidráulica relativa (RC), bem como na razão xilema/floema. Existem poucos dados na bibliografia que nos permitam uma comparação mais fundamentada. Ainda assim, e relativamente a parâmetros morfo-anatômicos das folhas, a influência da forma de condução já tinha sido observada por Me et al. (2004), quanto à densidade estomática e à área foliar, na cultivar “Tonda Gentile delle Langhe”, e nas cultivares aqui estudadas (Butler e Segorbe). Resultados anteriores obtidos por Gonçalves et al. (2008) também mostraram um efeito significativo da forma de condução na massa por unidade de área foliar (LMA), na espessura do parênquima clorofilino em paliçada, bem como na lâmina total da folha. Por um lado, os resultados obtidos no presente trabalho são semelhantes aos registados por Gonçalves et al. (2008) para o LMA (valores mais elevados para “Butler” em tufo e “Segorbe” em tronco único). Por outro lado, para a espessura do parênquima clorofilino em paliçada, bem como na lâmina total da folha, os valores mantiveram o mesmo comportamento para “Butler” (valores mais elevados de parênquima clorofilino em paliçada e lâmina total, na condução em tufo), não acontecendo o mesmo para “Segorbe”. De igual modo, foram visíveis efeitos semelhantes da forma de condução em alguns dos outros parâmetros analisados, quando comparados com o trabalho de Gonçalves et al. (2008). Assim, na “Butler”, o mesmo comportamento dos parâmetros estudados, comparando a condução em tufo e tronco único, foi observado para suculência, epiderme superior e inferior, bem como para o parênquima clorofilino lacunoso. Na “Segorbe” foram detetadas as mesmas variações na área foliar, suculência e espessura da epiderme superior. Nos parâmetros morfo-anatômicos, é também de salientar a importância da interação entre cultivar e forma de condução. De facto, esta interação mostrou ser um fator de influência significativa em vários dos parâmetros estudados, nomeadamente na área foliar, VF, VI, RC e razão xilema/floema. Na avaliação de características químicas das folhas da avelleira, o efeito da forma de condução foi encontrado apenas para os açúcares solúveis (quadro 4), com valores mais elevados na condução em tronco único. Neste caso, os valores obtidos na “Segorbe” conduzidas em tronco são significativamente maiores do que na condução em tufo, não tendo havido diferenças significativas na “Butler”. Relativamente ao teor em Cla e Clb, apesar de não existirem diferenças significativas para no caso da “Segorbe” verificou-se que a condução em tufo resultou em valores mais baixos (6,59 mg/g) do que os obtidos em folhas de árvores conduzidas em tronco (8,22 mg/g). Resultados semelhantes foram obtidos em trabalhos anteriores. De facto, Gonçalves et al. (2008) detetaram, para o teor em clorofila total, variações significativas causadas pela forma de condução em folhas de “Segorbe”, não se verificando as mesmas diferenças na “Butler”. Para os parâmetros amido, Cla e carotenoides foi também detetado efeito da cultivar. Nos parâmetros químicos, a importância da interação entre cultivar e forma de condução foi detetada para o amido, fenóis totais, Cla e Clb e carotenoides. Apesar de a bibliografia ser escassa, outros estudos anteriores mostraram também o efeito que a forma de condução da avelleira pode ter em alguns outros parâmetros. De facto, a forma de condução mostrou afetar o rendimento de produção de avelleiras (Me et al., 2000), o peso do fruto e o seu rendimento (Germain & Sarraquigne, 1996), bem como o número de inflorescências e percentagem de vingamento (Me et al., 2004). O confronto das características morfo-anatômicas sugere que a condução em tronco único, na “Butler”, será a mais adequada (maior

VF e menor VI). Por outro lado, quando esta cultivar é conduzida em tufo surge com produtividades mais elevadas (dados não apresentados). No caso da “Segorbe”, os resultados morfo-anatômicos indicam um melhor desempenho na condução em tufo (maior VF e menor VI). No entanto, quando conduzida em tronco único evidencia maior produtividade (dados não apresentados), apesar de esta não ser significativamente diferente da obtida na condução em tufo.

Conclusões

Os resultados apresentados apontam para uma forte influência da forma de condução em diversos parâmetros morfo-anatômicos e químicos das folhas da avelleira. No entanto, estes efeitos da forma de condução são distintos para alguns parâmetros, quando comparando cultivares. Tais resultados devem contudo ser analisados tendo também em conta a influência da forma de condução na capacidade produtiva das árvores.

Referências

- Beyhan, N. 2007. Effects of planting density on yield and quality characteristics of hazelnut (cv. *Palaz*) in a hedgerow training system. *Canadian Journal of Plant Science* 87: 595-597.
- Carlquist, S. 1977. Ecological factors in wood evolution: a floristic approach. *American Journal of Botany* 64:887-896.
- Carlquist, S. 1988. *Comparative Wood Anatomy*. Springer, Berlin, New York.
- Fahn, A., Werker, E. & Baas, P. 1986. *Wood anatomy and identification of trees and shrubs from Israel and adjacent regions*. Israel Academy of Sciences and Humanities, Jerusalem, Israel.
- Germain, E. & Sarraquigne, J. 1996. Hazelnut training systems: comparison between three systems used on three varieties. *Acta Horticulturae* 445: 237-245.
- Gonçalves, B., Silva, A., Bacelar, E., Correia, C., Santos, A., Ferreira, H. & Moutinho-Pereira, J. 2008. Effect of training system on Hazelnut (*Corylus avellana*) physiology. *Acta Horticulturae* 845:239-244.
- Hampson, C., Quamme, H. & Brownlee, R. 2002. Canopy growth, yield, and fruit quality of Royal Gala apple trees grown for eight years in five tree training systems. *HortScience* 37:627-631.
- Irigoyen, J., Emerich, D. & Sánchez-Díaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum* 84:55-60.
- Lichtenthaler, H. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148:350-382.
- Mauseth, J. & Stevenson, J. 2004. Theoretical considerations of vessel diameter and conductive safety in populations of vessels. *International Journal of Plant Science* 165:359-368.
- Me, G., Valentini, N. & Miaja, M. 2000. Comparison of two training systems in hazelnut. *Acta Horticulturae* 556:321-326.
- Me, G., Valentini, N., Caviglione, M. & Lovisolo, C. 2004. Effect of shade on flowering and yield for two different hazelnut training systems. *Acta Horticulturae* 686:187-192.
- Mendes, M., Gazarini, L. & Rodrigues, M. 2001. Acclimation of *Myrtus communis* to contrasting Mediterranean light environments-effects on structure and chemical composition of foliage and plant water relations. *Environmental and Experimental Botany* 45:165-178.

- Muraoka, H., Tang, Y., Kolzumi, H. & Washitani, I. 1997. Combined effects of light and water availability on photosynthesis and growth of *Arisaema heterophyllum* in the forest understory and an open site. *Oecologia* 112:26-34.
- Niinemets, Ü. 1997. Acclimation to low irradiance in *Picea abies*: influences of past and present light climate on foliage structure and function. *Tree Physiology* 17:723-732.
- Olsen, J. 2002. Growing hazelnuts in the Pacific Northwest. Oregon State University, Corvallis, OR Extension Service, EC1219.
- Osaki, M., Shinano, T. & Tadano, T. 1991. Redistribution of carbon and nitrogen compounds from the shoot to the harvesting organs during maturation in field crops. *Soil Science and Plant Nutrition* 37:117-128.
- Ricci-Bitti G. 1961. Il nocciolo. Universale Edagricole, Bologna.
- Sesták, Z., Castky, J. & Jarvis, P. 1971. Plant photosynthetic production. Manual of methods. Dr. W. Junk Publishers, Holanda.
- Silva, A., Santos, F., Santos, A., Sousa, V., Lopes, A., Assunção, A., Carvalho, J., Borges, O., Ribeiro, R., Leme, P., Fernandes, S., Dias, R., Aguiar, F., 2005. A Aveleira. Tipografia Guerra. Viseu.
- Singleton, V. & Rossi, J. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16:144-158.

Agradecimentos

Este trabalho foi suportado pelo Projecto INNOFOOD - *INNOvation in the FOOD sector through the valorization of food and agro-food by-products* - NORTE-07-0124-FEDER-0000029, financiado pelo Programa Operacional Regional do Norte de Portugal (ON.2 - O Novo Norte) no âmbito do Quadro de Referência Estratégico Nacional (QREN), através do Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER), bem como através de fundos nacionais (PIDDAC), através da Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT/MEC).

Quadros e figuras

Quadro 1 - Características morfo-anatômicas foliares (Média \pm erro padrão) (LMA - massa por unidade de área de superfície foliar de duas cultivares de avelã, conduzidas em tufo ou tronco único).

	Área (cm ²)	LMA (g/m ²)	Suculência (mg/cm ²)
Cultivar (C)			
Butler	84,86 \pm 4,01	74,17 \pm 4,75	9,97 \pm 0,44
Segorbe	103,35 \pm 4,74	67,02 \pm 4,12	9,13 \pm 0,40
Forma de condução (F)			
Tufo	94,39 \pm 5,23	71,50 \pm 4,58	9,23 \pm 0,43
Tronco único	93,81 \pm 4,09	69,69 \pm 4,39	9,87 \pm 0,42
CxF			
Butler Tufo	78,65 \pm 4,27	77,34 \pm 7,18	9,54 \pm 0,59
Butler Tronco único	91,07 \pm 6,58	71,01 \pm 6,35	10,39 \pm 0,64
Segorbe Tufo	110,13 \pm 7,86	65,67 \pm 5,54	8,92 \pm 0,61
Segorbe Tronco único	96,56 \pm 5,01	68,37 \pm 6,27	9,34 \pm 0,64
Valores de P			
P (C)	0,004	0,260	0,165
P (F)	0,932	0,777	0,290
P (C*F)	0,006	0,607	0,368

Quadro 2 - Características morfo-anatômicas foliares (Média \pm erro padrão) (PP- Parênquima clorofilino em paliçada; PL- Parênquima clorofilino lacunoso) de duas cultivares de avelã conduzidas em tufo ou tronco único.

	Lâmina total (μ m)	Epiderme superior (μ m)	Epiderme inferior (μ m)	PP (μ m)	PL (μ m)
Butler	152,49 \pm 6,55	15,16 \pm 0,48	11,27 \pm 0,39	74,01 \pm 3,69	52,05 \pm 2,61
Segorbe	141,27 \pm 5,91	15,02 \pm 0,45	11,46 \pm 0,39	68,23 \pm 3,19	46,55 \pm 2,54
Forma de condução (F)					
Tufo	148,32 \pm 6,02	15,10 \pm 0,49	11,47 \pm 0,39	72,62 \pm 3,23	49,12 \pm 2,59
Tronco único	145,52 \pm 6,53	15,07 \pm 0,44	11,27 \pm 0,39	49,48 \pm 2,63	49,47 \pm 2,63
CxF					
Butler Tufo	158,13 \pm 8,89	15,55 \pm 0,77	11,69 \pm 0,62	78,31 \pm 4,77	52,58 \pm 3,71
Butler Tronco único	146,86 \pm 9,68	14,77 \pm 0,59	10,86 \pm 0,48	69,71 \pm 5,57	51,52 \pm 3,77
Segorbe Tufo	140,23 \pm 7,61	14,55 \pm 0,59	11,20 \pm 0,48	68,07 \pm 4,10	46,41 \pm 3,49
Segorbe Tronco único	142,31 \pm 9,24	15,49 \pm 0,69	11,79 \pm 0,64	68,39 \pm 4,99	46,69 \pm 3,80
Valores de P					
P (C)	0,207	0,835	0,732	0,239	0,136
P (F)	0,754	0,967	0,713	0,552	0,923
P (C*F)	0,577	0,627	0,743	0,465	0,992

Quadro 3 - Características morfo-anatômicas foliares (Média \pm erro padrão) (VF- Frequência de vasos xilêmicos; VI- Índice de vulnerabilidade; RC- Condutividade hidráulica relativa) das duas cultivares de avelã conduzidas em tufo ou tronco único.

	VF (vasos/mm ²)	VI	RC (μ m ⁴ 106)	Razão xilema/floema
Cultivar (C)				
Butler	720,98 \pm 38,81	31,63 \pm 2,48	7,58 \pm 0,53	3,80 \pm 0,14
Segorbe	774,84 \pm 43,59	25,82 \pm 1,92	5,69 \pm 0,55	4,34 \pm 0,14
Forma de condução (F)				
Tufo	660,21 \pm 32,13	33,63 \pm 2,19	6,71 \pm 0,47	3,98 \pm 0,14
Tronco único	858,54 \pm 45,57	22,26 \pm 1,65	6,36 \pm 0,68	4,19 \pm 0,15
CxF				
Butler Tufo	671,26 \pm 55,91	35,02 \pm 3,77	6,99 \pm 0,74	3,12 \pm 0,09
Butler Tronco único	795,56 \pm 42,84	26,55 \pm 1,91	8,84 \pm 0,70	4,61 \pm 0,26
Segorbe Tufo	649,16 \pm 32,32	19,41 \pm 2,25	4,96 \pm 0,91	3,83 \pm 0,16
Segorbe Tronco único	900,53 \pm 69,67	32,24 \pm 2,31	6,43 \pm 0,59	4,83 \pm 0,22
Valores de P				
P (C)	0,368	0,065	0,018	0,010
P (F)	0,001	0,000	0,668	0,293
P (C*F)	0,004	0,001	0,028	0,000

Quadro 4 - Características químicas foliares (Média ± erro padrão) das duas cultivares de avelã conduzidas em tufo ou tronco único.

	<i>Açúcares solúveis (mg/g)</i>	<i>Amido (mg/g)</i>	<i>Fenóis totais (mg/g)</i>	<i>Clorofila a (Cl_a) (mg/g)</i>	<i>Clorofila b (Cl_b) (mg/g)</i>	<i>Carotenoides (mg/g)</i>
Cultivar (C)						
Butler	163,04±6,47	96,73±3,49	155,56±9,06	5,87±0,31	3,09±0,31	1,39±0,09
Segorbe	172,89±13,41	123,61±6,51	152,42±9,47	7,41±0,39	3,01±0,26	1,90±0,11
Forma de condução (F)						
Tufo	148,37±8,21	104,59±4,30	153,38±9,06	6,31±0,34	3,05±0,29	1,59±0,09
Tronco	187,56±11,56	115,74±6,68	154,59±9,47	6,67±0,40	3,05±0,29	1,70±0,13
Cx_F						
Butler Tufo	167,09±7,68	97,66±4,49	183,07±8,97	6,02±0,51	3,84±0,49	1,28±0,07
Butler Tronco único	158,99±10,55	95,81±5,46	128,04±12,98	5,72±0,38	2,34±0,33	1,49±0,18
Segorbe Tufo	129,76±62,82	111,54±7,09	123,69±12,41	6,59±0,46	2,25±0,16	1,89±0,12
Segorbe Tronco único	216,14±18,51	135,68±10,36	181,15±10,87	8,22±0,58	3,78±0,43	1,91±0,19
Valores de P						
<i>P (C)</i>	0,511	0,001	0,811	0,003	0,831	0,001
<i>P (F)</i>	0,007	0,165	0,927	0,213	0,987	0,468
<i>P (C*F)</i>	0,076	0,001	0,000	0,003	0,002	0,007

Efeito da forma de condução nas cultivares de avelã “Butler” e “Segorbe” (II): características fisiológicas de folhas

Ivo Oliveira¹, José Manuel Moutinho-Pereira¹, Carlos Correia¹, Eunice Bacelar¹, Helena Ferreira¹, Alberto Santos², Ana Paula Silva³, Berta Gonçalves¹

¹ Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Departamento de Biologia e Ambiente, Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. E-mail: ivobio@hotmail.com; moutinho@utad.pt; ccorreia@utad.pt; areale@utad.pt; helenaf@utad.pt; bertag@utad.pt

² Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD). E-mail: asantos@utad.pt

³ Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Departamento de Agronomia, Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. E-mail: asilva@utad.pt

Resumo

A avelã, encontrando-se distribuída principalmente pela região mediterrânica, é uma cultura com alguma importância em regiões do Norte e Centro de Portugal. As avelãs podem ser conduzidas em diferentes formas, sendo as mais frequentes a condução em tufo ou em tronco único, levando a alterações nos níveis de luminosidade no interior da copa, modificando características morfo-anatómicas, químicas e fisiológicas das folhas. Este trabalho teve como objetivo estudar o efeito das formas de condução em tufo ou tronco único na taxa fotossintética (A), condutância estomática (g_s), concentração intercelular de CO_2 (Ci), taxa de transpiração (E), eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s), potencial hídrico foliar (Ψ_{MD}), conteúdo relativo de água (RWC) e parâmetros de reflectância e fluorescência foliar, nas cultivares “Butler” e “Segorbe” de *Corylus avellana* L. Verificou-se um marcado efeito da forma de condução da árvore, com valores mais elevados ($P = 0,007$) nas taxa de transpiração das árvores plantas conduzidas em tronco único comparativamente às conduzidas em tufo, assim como nos valores de reflectância foliar, nomeadamente na RARSb (Ratio Analysis of Reflectance Spectra para a clorofila b) ($P = 0,015$). Nos parâmetros de fluorescência de clorofila a *in vivo*, verificou-se que a forma de condução das avelãs influenciou significativamente ($P = 0,040$) o coeficiente de extinção não-fotoquímico (NPQ), sendo mais elevado nas árvores conduzidas em tronco único. Por outro lado, nos valores de reflectância foliar, e para o SIPI (Structural Independent Pigment Index), foi também detetada uma influência significativa da forma de condução ($P = 0,001$), com valores mais altos nas árvores conduzidas em tufo. A forma de condução das avelãs, tendo influência direta, se bem que apenas em alguns parâmetros fisiológicos das folhas, poderá influenciar a produção e a qualidade dos frutos, devendo ser considerada aquando da instalação de novos avelanais.

Palavras-chave: *Corylus avellana* L., Tufo ou Tronco único, Trocas gasosas, Reflectância, Fluorescência da clorofila a *in vivo*

Abstract

Effect of the training system on hazelnut cultivars “Butler” and “Segorbe” (I): physiological characteristics of leaves

Hazelnut, which is distributed throughout the Mediterranean region, is an attractive crop in some areas of northern and central Portugal. Hazelnut trees can be grown freely as multi-stemmed shrubs or as a free single trunk, leading to changes in the light conditions within the canopy, modifying morpho-anatomical, chemical and physiological characteristics of the leaves. Therefore, the objective of this work is to study the effect of those training systems in

different physiological characteristics of leaves (photosynthetic rate (A), stomatal conductance (g_s), intercellular CO_2 concentration (C_i), transpiration rate (E), intrinsic water use efficiency (A/g_s), leaf water potential (Ψ_{md}), relative water content (RWC), as well as leaf reflectance and fluorescence parameters from two *Corylus avellana* L. cultivars, “Butler” and “Segorbe”. Significant differences were detected between training systems, with higher values recorded for trees grown as single trunk, comparing to those grown as multi-stemmed shrubs, for transpiration rate ($P = 0.007$), as well as in reflectance parameters, namely Ratio Analysis of Reflectance Spectra for chlorophyll *b* ($P = 0.015$). For the *in vivo* chlorophyll *a* fluorescence parameters a significant effect ($P = 0.040$) of the training system was detected for the non-photochemical quenching (NPQ), being the value higher in the trees grown as free single trunk. By other hand, it was also detected significant influence of the training system ($P = 0.001$) for foliar reflectance parameters, namely the structural independent pigment index (SIPI), with higher values on trees grown as multi-stemmed shrubs. The training systems of hazelnut trees, having a direct influence, in some physiological parameters of leaves, can influence production and fruit quality, and thus should be considered when installing new orchards.

Introdução

O estudo de parâmetros fisiológicos das plantas, incluindo a aveleira, pode ser uma das formas de optimização da qualidade e produção de frutos (Gonçalves et al., 2008), principalmente no que refere às alterações sofridas por esses parâmetros devido às maiores limitações de irradiância fotónica no interior da copa. A intensidade luminosa pode ser melhorada selecionando a forma de condução e manipulando a geometria da copa das árvores (Hampson et al., 2002). Diversos tipos de modificação ao nível foliar e da árvore podem ocorrer, nomeadamente morfológicos, fisiológicos, anatómicos ou químicos causados por diferenças na intensidade e qualidade de luz (Givnish, 1988; Niinemets, 1997; Mendes et al., 2001).

A forma de condução mais primitiva da aveleira, em tufo, respeita o porte arbustivo multicaule desta espécie, apesar de resultar em dificuldades no controlo de pragas e doenças, bem como o aumento de ramos-ladrões, dificultando a colheita devido à queda de frutos no interior do tufo. Para além disso, permite apenas uma baixa densidade da plantação (Silva et al., 2005) que, juntamente com uma fase juvenil longa (5 a 7 anos improdutivo, quando sem irrigação - Me et al., 2000), reduz a produtividade (Ricci-Bitti, 1961). Têm sido implementadas novas formas alternativas de condução da aveleira, de modo a atenuar essas limitações. Algumas dessas formas incluem a condução em tronco único em vaso, em V, em Y, em eixo vertical ou em eixo inclinado (Silva et al., 2005), permitindo aumentos de produtividade, e maior facilidade na aplicação de técnicas culturais (Beyhan, 2007). Devido a estes fatores, uma das formas de condução alternativas mais usadas é a condução em tronco único, uma vez que permite realizar as práticas culturais de forma mais eficaz, aumentando a densidade de plantação e a facilidade da colheita (Lagerstedt & Painter 1973; Olsen, 2002).

Este trabalho faz parte de uma pesquisa alargada sobre o efeito causado por estas duas formas de condução – em tufo e em tronco único – na aveleira. O objetivo deste estudo focou-se nas características fisiológicas das folhas de duas cultivares de aveleira, Butler e Segorbe, conduzidas em tufo ou em tronco único.

Material e Métodos

Campo experimental

O estudo foi realizado em plantas adultas de *Corylus avellana* L., das cultivares Butler e Segorbe, conduzidas em tufo e em tronco único, numa parcela experimental localizada no *campus* da UTAD, em Vila Real (latitude 41°19'N e longitude 7°44'W; altitude de 470 m acima do nível do mar).

Determinações fisiológicas

Recolheram-se 6 folhas em 3 árvores, para cada combinação cultivar × forma de condução. O conteúdo relativo de água (RWC, %) foi calculado através da equação $RWC (\%) = (\text{peso fresco} - \text{peso seco}) / (\text{peso turgido} - \text{peso seco}) \times 100$. Os parâmetros de trocas gasosas foram medidos com um sistema portátil (LCpro+, Analytical Development, Hoddesdon, Reino Unido). Os valores da taxa fotossintética (A), condutância estomática (g_s), concentração intercelular de CO_2 (C_i), taxa de transpiração (E), foram estimados a partir de medições de trocas gasosas utilizando as equações de von Caemmerer e Farquhar (1981). Os valores de eficiência intrínseca do uso da água (A/g_s) foram calculados de acordo com Düring (1994). As medições de potencial hídrico (Ψ_{md}) foram feitas ao meio dia-solar usando uma câmara de pressão (PMS, Oregon, EUA). Os parâmetros de fluorescência de clorofila *a in vivo* (F_v - Fluorescência variável; F_o - Fluorescência mínima; F_m - Fluorescência máxima; F_v/F_m - Eficiência fotoquímica máxima do PSII) foram medidos usando um fluorímetro PAM (Pulse Amplitude Modulated) (FMS2, Hansatech Instruments, Norfolk, Reino Unido) e usados para calcular diversos parâmetros, segundo Bilger & Schreiber (1986) e Genty et al. (1989), qP - coeficiente de extinção fotoquímico; Φ_{PSII} - eficiência fotoquímica real do PSII; ETR - taxa de transporte de elétrons; NPQ - coeficiente de extinção não-fotoquímico). A metodologia descrita por Peñuelas et al. (1993) foi usada para a obtenção dos parâmetros de refletância foliar (RARSa, b, e c - *Ratio Analysis of Reflectance Spectra* para clorofila a, b e carotenoides; W_i - water index, $W_i/NDVI$, SIPI - structural independent pigment index); NPQI - *Normalized Phaeophytinization Index*, PRI - *Photochemical Reflectance Index* e NDVI - *Normalized Difference Vegetation Index*. Todas as medições foram realizadas ao meio-dia solar.

Análise estatística

Os dados foram analisados via análise de variância (ANOVA), usando o software SPSS versão 19 (IBM Corporation, New York, EUA).

Resultados e Discussão

A análise dos resultados obtidos mostrou existir um efeito significativo da forma de condução da aveleira em apenas alguns dos parâmetros estudados (NPQ, E , RARSb e SIPI) (quadros 1, 2, 3 e 4), quer quando sendo avaliada isoladamente, quer quando em interação com a cultivar, não existindo diferenças significativas nos restantes parâmetros avaliados. Nos parâmetros de fluorescência de clorofila *a in vivo*, verificou-se que a forma de condução das aveleiras influenciou significativamente o coeficiente de extinção não-fotoquímico (NPQ) (quadro 2) ($P = 0,040$), com valores mais elevados na condução em tronco único. No entanto, se para as folhas de “Segorbe” não se observaram diferenças significativas entre a condução em tufo e a condução em tronco único, para “Butler” verificou-se o contrário. De facto, para esta cultivar, este valor foi consideravelmente mais elevado nas folhas de árvores conduzidas em tronco (0,57) do que o observado nas provenientes de árvores conduzidas em tufo (0,06). Ainda nos parâmetros de fluorescência de clorofila *a in vivo*, para a eficiência fotoquímica máxima do PSII (F_v/F_m) (Quadro 1), foi encontrado um efeito da cultivar. Assim, verificou-se que os valores obtidos para “Butler” (0,87 e 0,86, respetivamente para a condução em tufo e em tronco) são significativamente mais elevados do que os obtidos para “Segorbe” (0,84 e 0,83, respetivamente para a condução em tufo e em tronco). Foi detetada uma influência significativa da forma de condução na taxa de transpiração (E) (quadro 3) ($P = 0,007$), sendo os valores significativamente mais elevados nas árvores “Butler” conduzidas em tronco único ($2,66 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), em comparação com a condução em tufo ($2,01 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Valores mais elevados de taxa de transpiração na condução em tronco único foram observados nesta cultivar por Gonçalves et al. (2008), mas sem diferenças significativas entre formas de condução. Na “Segorbe”, os valores observados não foram significativamente diferentes, comparando a condução em tufo ($2,30 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e a condução em tronco ($2,48 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). O trabalho de Hampson et al. (1996) também mostrou a influência que a intensidade luminosa pode ter

sobre este parâmetro. No seu estudo, estes autores obtiveram resultados que mostram que folhas em que a radiação solar incidente foi reduzida em 92%, apresentaram um valor de taxa de transpiração 23% mais baixo de que as folhas totalmente expostas ao sol, mas as folhas do interior da copa podiam registrar valores de 50% inferiores aos obtidos em folhas totalmente expostas ao sol. Resultados semelhantes aos obtidos no presente trabalho, foram já obtidos em trabalhos anteriores. O trabalho de Gonçalves et al. (2008), e para a taxa fotossintética (A) e concentração intercelular de CO₂ (C_i), em “Segorbe”, mostrou um comportamento semelhante destes parâmetros, com valores mais elevados obtidos nas folhas de árvores conduzidas em tufo (quadro 3). De igual modo, na “Butler”, os valores de potencial hídrico (Ψ_{md}) foram mais elevados nas folhas de árvores conduzidas em tronco único.

Nos valores de reflectância foliar, houve influência da forma de condução no SIPI ($P = 0,001$), indicador da razão carotenóides/clorofila *a*, sendo que a condução em tufo resultou em valores mais elevados (1,33 e 1,38) do que os obtidos na condução em tronco (1,20 e 1,24), em “Butler” e “Segorbe”, respetivamente (quadro 4). Também foram encontradas diferenças significativas no RARSb (quadro 4, $P = 0,015$), parâmetro que estima a concentração de clorofila *b*, com valores mais elevados na condução em tronco único. No entanto, as diferenças significativas não ocorreram em ambas as cultivares, mas sim apenas em “Butler”, com valores em tufo significativamente mais baixos (0,24) do que em tronco único (0,28).

As características fisiológicas que foram significativamente influenciadas pela forma de condução mostram que a condução em tufo é a mais adequada para ambas as cultivares (menor E e NPQ, maior SIPI), apesar das variações registadas nos restantes parâmetros serem escassas.

Conclusões

Este trabalho mostrou existirem efeitos significativos da forma de condução num reduzido número de parâmetros fisiológicos das folhas de aveleira. As variações causadas pela forma de condução nos parâmetros fisiológicos deverão sempre ser analisadas em conjunto com dados de produção, de modo a otimizar o rendimento e as características foliares que possam influenciar a capacidade produtiva da árvore. Futuramente, serão analisados em conjunto os dados de produção de vários anos, de modo a serem correlacionados com estes e outros parâmetros fisiológicos.

Referências

- Beyhan, N. 2007. Effects of planting density on yield and quality characteristics of hazelnut (cv. *Palaz*) in a hedgerow training system. *Canadian Journal of Plant Science* 87: 595-597.
- Bilger W. & Schreiber U. 1986. Energy-dependent quenching of dark-level chlorophyll fluorescence in intact leaves. *Photosynthesis Research* 10:303-308.
- Düring, H. 1994. Photosynthesis of ungrafted and grafted grapevines: effects of rootstock genotype and plant age. *American Journal of Enology and Viticulture* 45:297-299.
- Genty B., Briantais J.-M. & Baker N.R. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta* 990:87-92.
- Givnish, T. 1988. Adaptation to sun and shade: a whole-plant perspective. *Australian Journal of Plant Physiology* 15, 63-92.
- Gonçalves, B., Silva, A., Bacelar, E., Correia, C., Santos, A., Ferreira, H. & Moutinho-Pereira, J. 2008. Effect of training system on Hazelnut (*Corylus avellana*) physiology. *Acta Horticulturae* 845:239-244.
- Hampson, C., Azarenko, A. & Potter, J. 1996. Photosynthetic rate, flowering, and yield component alteration in hazelnut in response to different light environments. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 121:1103-1111.

- Hampson, C., Quamme, H. & Brownlee, R. 2002. Canopy growth, yield, and fruit quality of Royal Gala apple trees grown for eight years in five tree training systems. *HortScience* 37:627-631.
- Lagerstedt, H. & Painter, J. 1973. A comparison of filbert training to tree and bush forms. *HortScience* 8:390-391.
- Me, G., Valentini, N. & Miaja, M. 2000. Comparison of two training systems in hazelnut. *Acta Horticulturae* 556:321-326.
- Mendes, M., Gazarini, L. & Rodrigues, M. 2001. Acclimation of *Myrtus communis* to contrasting Mediterranean light environments-effects on structure and chemical composition of foliage and plant water relations. *Environmental and Experimental Botany* 45:165-178.
- Niinemets, Ü. 1997. Acclimation to low irradiance in *Picea abies*: influences of past and present light climate on foliage structure and function. *Tree Physiology* 17:723-732.
- Olsen, J. 2002. Growing hazelnuts in the Pacific Northwest. Oregon State University, Corvallis, OR Extension Service, EC1219.
- Peñuelas, J., Filella, I., Biel, C., Serrano, L. & Save, R. 1993. The reflectance at the 950–970 nm region as an indicator of plant water status. *International Journal of Remote Sensing* 14:1887-1905.
- Ricci-Bitti G. 1961. Il nocciolo. Universale Edagricole, Bologna.
- Silva, A., Santos, F., Santos, A., Sousa, V., Lopes, A., Assunção, A., Carvalho, J., Borges, O., Ribeiro, R., Leme, P., Fernandes, S., Dias, R., Aguiar, F., 2005. A Aveleira. Tipografia Guerra. Viseu.
- von Caemmerer, S. & Farquhar, G. 1981. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and gas exchange of leaves. *Planta* 153:376-387.

Agradecimentos:

Este trabalho foi suportado pelo Projecto INNOFOOD - *INNovation in the FOOD sector through the valorization of food and agro-food by-products* - NORTE-07-0124-FEDER-0000029, financiado pelo Programa Operacional Regional do Norte de Portugal (ON.2 - O Novo Norte) no âmbito do Quadro de Referência Estratégico Nacional (QREN), através do Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER), bem como através de fundos nacionais (PIDDAC), através da Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT/MEC).

Quadros e figuras

Quadro 1 - Parâmetros de fluorescência de clorofila *a in vivo* (Média \pm erro padrão) das duas cultivares de avelã, conduzidas em tufo ou tronco único. (F_v - Fluorescência variável; F_o - Fluorescência mínima; F_m - Fluorescência máxima; F_v/F_m - Eficiência fotoquímica máxima do PSII).

	F_o	F_m	F_v	F_v/F_m
Cultivar (C)				
Butler	187,92 \pm 9,50	1447,92 \pm 77,24	1260,00 \pm 68,89	0,87 \pm 0,00
Segorbe	213,42 \pm 9,26	1342,33 \pm 90,63	1128,92 \pm 82,69	0,84 \pm 0,01
Forma de condução (F)				
Tufo	191,08 \pm 8,78	1361,00 \pm 78,42	1169,92 \pm 72,15	0,86 \pm 0,01
Tronco único	210,25 \pm 10,57	1429,25 \pm 91,24	1219,00 \pm 83,96	0,85 \pm 0,01
CxF				
Butler Tufo	171,50 \pm 7,16	1332,83 \pm 84,27	1161,33 \pm 79,08	0,87 \pm 0,01
Butler Tronco único	204,33 \pm 15,44	1563,00 \pm 117,69	1358,67 \pm 103,62	0,87 \pm 0,00
Segorbe Tufo	210,67 \pm 11,61	1389,17 \pm 140,15	1178,50 \pm 128,92	0,84 \pm 0,01
Segorbe Tronco único	216,17 \pm 15,47	1295,50 \pm 124,99	1079,33 \pm 111,71	0,83 \pm 0,01
Valores de P				
P (C)	0,069	0,385	0,236	0,000
P (F)	0,177	0,576	0,662	0,432
P (C*F)	0,096	0,415	0,334	0,001

Quadro 2 - Parâmetros calculados de fluorescência da clorofila foliares (Média \pm erro padrão) das duas cultivares de avelã, conduzidas em tufo ou tronco único (qP - coeficiente de extinção fotoquímica; Φ_{PSII} - eficiência fotoquímica real do PSII; ETR - taxa de transporte de electrões; NPQ - coeficiente de extinção não-fotoquímica).

	qP	Φ_{PSII}	ETR	NPQ
Cultivar (C)				
Butler	0,68 \pm 0,04	0,28 \pm 0,03	106,79 \pm 15,89	0,31 \pm 0,11
Segorbe	0,66 \pm 0,03	0,24 \pm 0,02	106,99 \pm 9,49	0,48 \pm 0,09
Forma de condução (F)				
Tufo	0,65 \pm 0,03	0,27 \pm 0,03	93,55 \pm 11,99	0,25 \pm 0,10
Tronco único	0,69 \pm 0,02	0,26 \pm 0,02	120,24 \pm 12,91	0,54 \pm 0,09
CxF				
Butler Tufo	0,64 \pm 0,06	0,27 \pm 0,06	79,92 \pm 16,13	0,06 \pm 0,08
Butler Tronco único	0,73 \pm 0,04	0,28 \pm 0,04	133,66 \pm 23,73	0,57 \pm 0,14
Segorbe Tufo	0,66 \pm 0,05	0,26 \pm 0,04	107,17 \pm 17,26	0,45 \pm 0,15
Segorbe Tronco único	0,66 \pm 0,02	0,22 \pm 0,02	106,83 \pm 9,91	0,51 \pm 0,12
Valores de P				
P (C)	0,587	0,377	0,991	0,258
P (F)	0,293	0,821	0,144	0,040
P (C*F)	0,461	0,767	0,226	0,033

Quadro 3 – parâmetros das trocas gasosas e estado hídrico foliar (Média \pm erro padrão) das duas cultivares de avelã, conduzidas em tufo ou tronco único. (A - taxa fotossintética, g_s - condutância estomática, C_i - concentração intercelular de CO_2 , E - taxa de transpiração; A/ g_s - eficiência intrínseca do uso da água; Ψ_{md} - potencial hídrico; RWC - conteúdo relativo de água).

	A ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	g_s ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	A/ g_s (mmol.mol^{-1})	C_i (ppm)	E ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Ψ_{md} (MPa)	RWC (%)
Cultivar (C)							
Butler	8,87 \pm 0,44	158,89 \pm 12,27	66,99 \pm 6,12	243,20 \pm 5,27	2,33 \pm 0,11	-1,47 \pm 0,05	87,79 \pm 1,54
Segorbe	8,79 \pm 0,49	150,00 \pm 12,59	65,00 \pm 2,97	238,06 \pm 4,36	2,39 \pm 0,11	-1,53 \pm 0,05	85,28 \pm 1,94
Forma de condução (F)							
Tufo	8,69 \pm 0,57	158,06 \pm 15,55	69,31 \pm 6,39	240,66 \pm 6,01	2,15 \pm 0,13	-1,45 \pm 0,05	86,04 \pm 2,07
Tronco único	8,97 \pm 0,33	150,83 \pm 8,23	62,69 \pm 2,22	240,53 \pm 3,39	2,57 \pm 0,07	-1,54 \pm 0,05	87,03 \pm 1,39
CxF							
Butler Tufo	8,37 \pm 0,79	161,67 \pm 23,18	72,31 \pm 12,06	242,71 \pm 10,23	2,01 \pm 0,18	-1,36 \pm 0,06	88,39 \pm 2,92
Butler Tronco único	9,37 \pm 0,39	156,11 \pm 9,01	61,68 \pm 2,34	243,67 \pm 3,85	2,66 \pm 0,07	-1,28 \pm 0,06	87,19 \pm 1,15
Segorbe Tufo	9,00 \pm 0,84	154,44 \pm 21,36	66,31 \pm 4,63	238,72 \pm 6,85	2,30 \pm 0,19	-1,34 \pm 0,04	83,69 \pm 2,57
Segorbe Tronco único	8,58 \pm 0,53	145,56 \pm 13,94	63,69 \pm 3,84	237,39 \pm 5,61	2,48 \pm 0,13	-1,45 \pm 0,06	86,86 \pm 2,93
Valores de P							
P (C)	0,903	0,615	0,711	0,453	0,719	0,178	0,314
P (F)	0,667	0,683	0,331	0,985	0,007	0,811	0,695
P (C*F)	0,718	0,935	0,714	0,900	0,012	0,206	0,589

Quadro 4 - Parâmetros de reflectância foliar (Média \pm erro padrão) das duas cultivares de avelã, conduzidas em tufo ou tronco único. (RARSa, b, e c - *Ratio Analysis of Reflectance Spectra* para clorofila a, b e carotenoides; NPQI - *Normalized Phaeophytinization Index*; PRI - *Photochemical Reflectance Index*; NDVI - *Normalized Difference Vegetation Index*; WI - *water index*, Wi/NDVI, SIPI - *Structural Independent Pigment Index*).

	RARSa	RARSb	RARSa	NPQI	PRI	NDVI	WI	WI/NDVI	SIPI
Cultivar (C)									
Butler	0,78 \pm 0,01	0,26 \pm 0,01	3,77 \pm 0,29	0,00 \pm 0,11	0,03 \pm 0,00	0,47 \pm 0,01	1,23 \pm 0,01	2,66 \pm 0,05	1,26 \pm 0,02
Segorbe	0,76 \pm 0,01	0,29 \pm 0,01	3,23 \pm 1,19	0,09 \pm 0,11	0,04 \pm 0,00	0,49 \pm 0,02	1,25 \pm 0,01	2,61 \pm 0,07	1,31 \pm 0,03
Forma de condução (F)									
Tufo	0,79 \pm 0,01	0,26 \pm 0,01	4,29 \pm 0,38	0,14 \pm 0,14	0,04 \pm 0,00	0,46 \pm 0,01	1,22 \pm 0,01	2,69 \pm 0,06	1,35 \pm 0,03
Tronco único	0,76 \pm 0,01	0,29 \pm 0,01	2,71 \pm 1,15	-0,04 \pm 0,03	0,03 \pm 0,00	0,49 \pm 0,02	1,24 \pm 0,01	2,59 \pm 0,06	1,22 \pm 0,02
CxF									
Butler Tufo	0,78 \pm 0,01	0,24 \pm 0,01	4,06 \pm 0,55	0,07 \pm 0,21	0,03 \pm 0,01	0,46 \pm 0,01	1,22 \pm 0,01	2,71 \pm 0,06	1,33 \pm 0,03
Butler Tronco único	0,77 \pm 0,01	0,28 \pm 0,01	3,49 \pm 0,18	-0,07 \pm 0,04	0,03 \pm 0,01	0,48 \pm 0,01	1,23 \pm 0,01	2,62 \pm 0,07	1,20 \pm 0,02
Segorbe Tufo	0,77 \pm 0,02	0,28 \pm 0,02	4,52 \pm 2,31	0,21 \pm 0,21	0,04 \pm 0,00	0,47 \pm 0,03	1,23 \pm 0,02	2,67 \pm 0,01	1,38 \pm 0,06
Segorbe Tronco único	0,74 \pm 0,03	0,32 \pm 0,02	1,93 \pm 0,55	-0,01 \pm 0,06	0,04 \pm 0,00	0,51 \pm 0,02	1,25 \pm 0,02	2,56 \pm 0,10	1,24 \pm 0,04
Valores de P									
P (C)	0,322	0,018	0,658	0,518	0,297	0,269	0,239	0,549	0,268
P (F)	0,191	0,015	0,199	0,239	0,721	0,200	0,265	0,257	0,001
P (C*F)	0,418	0,011	0,476	0,607	0,755	0,397	0,436	0,497	0,134

Efeito da rega na produtividade fotossintética do castanheiro

Mota, M.^{1,3}, Marques, T.², Pinto, T.^{1,2}, Borges, A.⁴, Raimundo, F.^{1,2}, Veiga, V.⁴, Caço, J.³ e Gomes-Laranjo, J.^{1,2}

¹CITAB, Universidade de Trás os Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal. ²ECVA, Universidade de Trás os Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal. ³Hubel Verde, SA.- Engenharia Agrónómica; Pechão, 8700-179 Olhão. ⁴Sortegel, Sortes, Bragança, Portugal.

Resumo

Os longos períodos de elevadas temperaturas e pouca precipitação durante o Verão, podem ser problemáticos na produção da castanha pois é neste período que o castanheiro tem maiores necessidades hídricas. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da rega na produtividade fotossintética do castanheiro e aprofundar as relações solo-planta. O ensaio situa-se em Bragança num souto com 20 anos espaçado 10*5m. Foram aplicados três tratamentos, um por linha com 12 castanheiros: não regado (NI), rega deficitária (DI) e rega completa (FI). Foram utilizados microaspersores elevados a 0,9 m altura. Os dados foram recolhidos semanalmente entre Junho a Outubro de 2013 em cinco árvores por tratamento, duas folhas por árvore. Foram registados os valores do potencial hídrico foliar de base (Ψ_{pd}) e do meio-dia (Ψ_{md}). Foi também medida a taxa fotossintética (“A”) e taxa de transpiração (“E”). A humidade do solo foi medida a cada 10cm até 80cm de profundidade. Os dados foram objeto de análise de variância efetuado no programa Statview 4.0., tendo-se usado o teste Fisher ($p < 0.05$). A infiltração da água de rega fez-se sentir até aos 40 cm de profundidade. O Ψ_{pd} médio variou significativamente entre $-0,3 \pm 0,06$ MPa, para FI e DI, e $-0,4 \pm 0,12$ MPa em NI. O Ψ_{md} foi sempre significativamente maior em FI ($-1,2 \pm 0,15$ a $-1,7 \pm 0,12$ MPa) do que em NI ($-1,7 \pm 0,21$ a $-2 \pm 0,17$ MPa). Todas as árvores estão dentro de conforto hídrico pelo que se induz que as raízes profundantes foram cruciais para as árvores recuperarem durante a noite as perdas de água. A média dos valores de “A” ao meio dia foi significativamente maior em FI ($11,2 \pm 1,9 \mu\text{molCO}_2.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) em comparação com NI ($7,5 \pm 1,2 \mu\text{molCO}_2.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$). O “E” ao meio-dia foi significativamente maior em FI ($2,7 \pm 0,5 \text{ mmol H}_2\text{O}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) em comparação com DI ($2,4 \pm 0,6 \text{ mmol H}_2\text{O}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) e NI ($1,9 \pm 0,5 \text{ mmol H}_2\text{O}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$). O melhor desempenho fotossintético durante o dia pode dever-se ao benefício da rega nas raízes superficiais. Já a produção da castanha foi de 43,3 kg/árv em NI e para FI de 80,4 kg/árv, mas este último com menor tamanho do fruto sem prejuízo em termos de valorização no mercado.

Palavras-chave: *Castanea sativa*, irrigação, humidade do solo, potencial hídrico foliar, taxa fotossintética.

Abstract

Effect of irrigation on photosynthetic productivity on chestnut tree

Water needs of chestnut trees are higher during the summer period and the production can be affected by high temperature and low precipitation. This study aims to understand the effect of irrigation on photosynthetic productivity of chestnut trees. The trial is located in Bragança on a Chestnut orchard of 20 years old, spaced 10*5m. Three treatments were applied per line of twelve trees: non irrigated (NI), deficit irrigated (DI) and full irrigated (FI). On irrigated treatments were used elevated micro sprinkler. Measurements were weekly made from June to October 2013. Five trees per treatment and two leaves from each were sampled. Predawn water potential (Ψ_{pd}) and midday water potential (Ψ_{md}) were measured as well as photosynthetic rate (“A”) and transpiration rate (“E”). Soil moisture was measured every 10cm until 80cm depth. Analysis of variance (ANOVA) was carried out with StatView 4.0 software, and comparisons were made with Fisher test ($p < 0.05$). Irrigation affected soil moisture until the

40cm deep. The Ψ_{pd} varied from -0.3 ± 0.06 MPa, for FI e DI, to -0.4 ± 0.12 MPa at NI. The Ψ_{md} was always significantly higher at FI (-1.2 ± 0.15 to -1.7 ± 0.12 MPa) than NI (-1.7 ± 0.21 to -2 ± 0.17 MPa). By morning, all trees were within a comfortable water status which may be related with water absorption during the night by deep roots. The mean of “A” at midday was significantly higher at FI ($11.2 \pm 1.9 \mu\text{molCO}_2.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) than at NI ($7.5 \pm 1.2 \mu\text{molCO}_2.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$). The mean of “E” at midday was significantly higher at FI ($2.7 \pm 0.5 \text{ mmolH}_2\text{O}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) than at DI ($2.4 \pm 0.6 \text{ mmolH}_2\text{O}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) or at NI ($1.9 \pm 0.5 \text{ mmol H}_2\text{O}.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$). This higher photosynthetic performance during the day may be related with water absorption from superficial roots. The Chestnut production was 43.3 kg/tree at NI and 80.4 kg/tree for FI, the first with large fruit size.

Keywords: *Castanea sativa*, irrigation, soil moisture, water potential, photosynthetic rate.

Introdução

O setor de castanha portuguesa tem grande importância económica e social, mas precisa produzir mais e com maior qualidade para atender às necessidades do mercado (Ferreira Cardoso J. in Gomes-Laranjo *et al*, 2007). É importante haver uma maior eficiência no uso de fatores de produção assim como fazer uso sustentável dos recursos, nomeadamente da água (Miranda *et al*, 2002). A introdução de rega em soutos permite uma produção mais regular e maior ao longo dos anos (Breisch, 1996) e satisfazer as necessidades de água do castanheiro nos anos mais secos, que se preveem ser mais frequentes (Miranda *et al*, 2002). A produtividade do castanheiro depende do fornecimento adequado de água uma vez que o stress hídrico reduz o crescimento vegetativo e diminui a produção de frutos (Breisch, 1996). Alguns produtores portugueses têm vindo a introduzir a rega nos seus soutos, ainda que de forma empírica e sem qualquer avaliação do efeito sobre as relações solo-planta e produtividade (Martins *et al.*, 2010). É importante conhecerem-se melhor as relações hídricas entre o solo e o castanheiro através do recurso a diferentes tecnologias e métodos já existentes, como por exemplo através da leitura do potencial hídrico foliar, pelas variações do fluxo de seiva ou pelo recurso a diferentes tipos de sondas de leitura da humidade do solo (Miranda, 2010). É importante conhecer a influência que determinadas condições hídricas têm ao nível fisiológico e consequentemente no crescimento e produtividade do castanheiro.

Em Portugal, o projeto Regcast iniciou estudos experimentais que visam dar orientações aos produtores para a gestão da água de rega no castanheiro. No âmbito deste projeto, o presente estudo tem como objetivo compreender o efeito da rega na produtividade fotossintética do castanheiro e aprofundar as relações solo planta.

Material e Métodos

O ensaio foi instalado em Santa Comba de Rossas, Bragança, a 862 m de altitude, num souto com 20 anos de idade da variedade Longal, espaçadas 5m linha e 10m na entrelinha. A precipitação média anual ronda os 822 mm, sendo os valores médios entre Junho e Setembro de 115.9 mm. A temperatura média anual é de 12,3 °C sendo o seu somatório entre Maio a Outubro (1981-2010) (IPMA, 2014) de 2194.4 °D. O solo é de textura média, com pH (H₂O) próximo de 5 e teor de matéria orgânica de 1,5%. O sob coberto é mantido com pastagem semeada de sequeiro, realizando-se um corte por ano em Junho e não se fazendo mobilizações no solo.

Três tratamentos foram aplicados por linha de doze árvores: não irrigado (NI), onde as árvores não foram regadas durante todo o ciclo vegetativo; rega deficitária (DI), rega iniciada quando o potencial hídrico do meio-dia (Ψ_{md}) foi inferior -1,5 MPa; e irrigação plena (FI), rega iniciada quando Ψ_{md} inferior a -1,2MPa. Foram instalados microaspersores com débito de 40 l / h espaçados 1,5 metros do tronco (dois microaspersores por árvore) e elevados a 0,9 m do solo. O tempo de rega foi de quatro horas, equivalendo a dotações de 30mm. As medições foram feitas em cinco árvores por tratamento e os valores foram registrados semanalmente de Junho

a Setembro de 2013. A amostragem proveio de duas folhas retiradas dos ramos de frutificação do ano, do lado norte exterior da copa.

O estado hídrico na planta foi avaliado através do potencial hídrico foliar com recurso a uma câmara de pressão tipo Schoelander (PMS 1000, PMS Instrument® Corvallis, Oregon, EUA). Foi medido o potencial hídrico foliar de base (Ψ_{pd}), o potencial hídrico foliar às 9h da manhã (Ψ_{wm}) e do meio-dia (Ψ_{md}). A taxa fotossintética (“A”), taxa de transpiração (“E”), condutância estomática (gs) e a eficiência de assimilação do carbono (A/ci) foram obtidas através do IRGA (mod. LCpro +, Desenvolvimento Analítico Co®, Hoddesdon, UK) às 9h da manhã e, a partir de 30 de Agosto também ao meio-dia. A temperatura da folha (T_{folha}) foi registrada com um termómetro de infravermelhos às 9h e ao meio-dia. Dados meteorológicos foram obtidos através da estação meteorológica da Direção Regional de Agricultura e Pescas do Norte, situada em Bragança (15 km do ensaio).

A humidade do solo foi medida através de uma sonda Diviner 2000 (Sentek Technologies) até aos 80 cm de profundidade. Colocaram-se três tubos de acesso a meio da copa da árvore em três árvores por tratamento.

Os dados foram objeto de análise de variância recorrendo-se ao programa StatView 4,0 (Abacus Concepts, Inc.). As comparações foram feitas com recurso ao teste de Fisher, com nível de significância de 0,05.

Resultados e Discussão

Segundo os dados meteorológicos obtidos, entre Janeiro e Março, os valores da precipitação foram de 362 mm, e entre Abril e Setembro a precipitação foi de 140 mm, com ausência ou quase ausência no trimestre Junho a Agosto. Julho e Agosto foram os meses mais quentes com temperatura média das máximas de 31°C e Setembro com 27,4 °C.

O potencial hídrico foliar foi monitorizado a fim de se decidir sobre o início da primeira rega. A partir de meados de Agosto, o potencial hídrico foliar de base (Ψ_{pd}) variou entre 0,3±0,1 MPa, em FI e DI, e -0,4±0,1 MPa em NI (Figura 1), sendo na maioria das datas de leitura significativamente diferentes entre tratamentos regados e não regado. Os valores de Ψ_{pd} são semelhantes aos encontrados por Martins *et al.* (2010), num estudo efetuado entre 2003 e 2006 na mesma região (Macedo de Cavaleiros) com *C. sativa* var. Longal, idade do souto 40 anos, espaçados 12x12m, cujos Ψ_{pd} variaram entre -0,4 e -0,6 Mpa no início de Julho e entre os -0,5 e -1,0 MPa no final do Verão, sendo o valor mínimo correspondente ao ano de 2005, caracterizado por ser extremamente seco (Martins *et al.*, 2010). No mesmo estudo não existiram diferenças significativas a nível do Ψ_{pd} entre o tratamento com pastagem semeada regada e o tratamento com pastagem semeada não regada, nos anos menos secos (2003 e 2004). Neste estudo, os valores do Ψ_{md} , a partir de meados de Agosto, foram muito mais baixos, variando entre -1,2±0,2 a -1,7±0,1 MPa (FI), -1,3±0,2 a -1,9±0,1 MPa (DI) e -1,7±0,2 a -2±0,2 MPa (NI). Assim, a rega iniciou-se em FI a 28 de Agosto, ao final da tarde. Quarenta e oito horas após a irrigação novas medições foram feitas e os resultados mostraram que o Ψ_{md} em FI aumentou de -1,7 para -1,3±0,1 MPa, sendo que os valores de Ψ_{md} para DI (-1,5±0,2 MPa) e NI (-1,7±0,3 MPa) se mantiveram semelhantes aos obtidos anteriormente a 28 de Agosto. No entanto, seis dias após a primeira rega em FI, a 03 de Setembro, os valores diminuíram drasticamente para -1,9±0,1 MPa, -1,7±0,1 MPa e -2,0±0,2 MPa para DI, FI e NI, respectivamente. Foram então reintroduzidas regas em FI (6, 16 e 23 de Setembro) para que Ψ_{md} rondasse os -1,2 MPa e uma rega a 4 de Setembro em DI, para atingir o objetivo de manter os valores de Ψ_{md} perto -1,5 MPa. Nas medições realizadas a 9 e 17 de Setembro, três e um dia após a irrigação em FI, o valor de Ψ_{md} foi próximo de -1,2 MPa enquanto a 23 de Setembro, seis dias após a última irrigação, Ψ_{md} era de -1,6±0,2 Mpa. Quanto ao tratamento DI, os valores de Ψ_{md} foram de -1,3±0,1 MPa a 9 de Setembro (cinco dias após a irrigação), diminuindo para -1,6 ±0,1 MPa a 17 de Setembro (13 dias após a irrigação) e -1,8±0,1 MPa a 23 de Setembro (19 dias após a irrigação). Não se regou novamente em DI, numa lógica de poupança de água, devido a previsão de chuva para início de Outubro. Relativamente a NI, os valores de Ψ_{md}

oscilaram entre $-1,7 \pm 0,1$ MPa e $-2,0 \pm 0,2$ MPa a partir do final de Agosto. No estudo efetuado por Martins *et al.* (2010), o Ψ_{md} oscilou entre $-1,5$ e $-2,0$ MPa, nos anos menos secos (2003 e 2004), e entre $-1,6$ e $-2,7$ MPa no ano mais seco de 2005, apresentando o tratamento com pastagem semeada regada valores significativamente superiores que o tratamento com pastagem semeada não regada. No presente estudo, não se atingiram valores de Ψ_{md} abaixo de -2 MPa em NI, mas no entanto foram sempre significativamente mais baixos em NI do que FI, relevando algum efeito da rega no estado hídrico da planta ao meio dia. Os valores de DI ao meio dia mostram um meio-termo equilibrado entre FI e DI.

Comparou-se os teores de humidade de solo com os valores obtidos em laboratório segundo o método da placa de pressão de amostras não perturbadas do solo tiradas a 20 e 80 cm de profundidade no ano de 2007 (dados não publicados) e submetidas à pressão de $-1,5$ MPa, geralmente aceite como o coeficiente de emurchecimento para a maioria das plantas (Kramer 1969; FAO, 1979; Marshall and Holmes 1988; White 2006 in Martins *et al.*, 2010) (Figura 2). O conteúdo de água no solo (θ_{solo}) nestas condições é de 8,0 % ($\text{cm}^3 \text{H}_2\text{O} \cdot 100 \text{ cm}^{-3} \text{ solo}$) aos 20 cm e de 14,9% aos 80 cm. A infiltração da água de rega foi evidente até aos 40 cm de profundidade, a partir da qual não se verificaram oscilações na humidade do solo devido a rega. Para todos os tratamentos, o θ_{solo} entre os 60 cm e 80 cm de profundidade foi diminuindo a partir de 23 de Julho ($18,0 \pm 3,0$ e $19,9 \pm 2,9\%$, aos 60 e 80 cm, respetivamente) até atingir o valor mínimo a 23 de Setembro ($15,0 \pm 3,1$ e $15,5 \pm 3,6\%$, aos 60 e 80 cm, respetivamente), antes das chuvas (valores próximos do coeficiente de emurchecimento aos 80 cm). Esta diminuição da humidade do solo vem indicar a capacidade que o castanheiro tem de extrair água de camadas mais profundas corroborando com a literatura (Martins *et al.*, 2010, David *et al.*, 2007, Garnier *et al.*, 1986). Antes da rega, o θ_{solo} a 20 cm foi de $9,1 \pm 0,7$ e de $9,0 \pm 0,4\%$ para FI e DI, respetivamente. Estes valores representam já um deficit hídrico elevado, estando muito próximos do coeficiente de emurchecimento dessa camada (8 %). Após a rega, θ_{solo} a 20 cm aumentou para $11,7 \pm 2,8$ e $12,2 \pm 2,3\%$ para FI e DI, respetivamente. Após a rega o θ_{solo} entre os 10 e 20 cm foi significativamente maior em FI e DI do que NI, cujo θ_{solo} variou entre $4,7 \pm 0,2$ e os $9,4 \pm 2,1\%$ a 10 e 20 cm, respetivamente.

Relativamente a taxa respiração às 9h, “ E_{9h} ”, aumentou até fins de Julho, ($1,9 \pm 0,4 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) correspondente ao período mais quente ($T_{media} 24^\circ\text{C}$), a partir do qual diminuiu até Setembro ($1,6 \pm 0,5 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$; $19,9^\circ\text{C}$), sendo a variação essencialmente justificada pelos dados (18,3%) e sua interação com o tratamento (30,4%) (Quadro 2). Relativamente a “ E_{12h} ”, 45% da variação observada entre 30 de Agosto ($T_{max} = 31,1^\circ\text{C}$) e 23 de Setembro ($T_{max} = 27,4^\circ\text{C}$) foi devida aos tratamentos. Assim, a “ E_{12h} ” em FI foi de $2,7 \pm 0,7 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, DI com $2,3 \pm 0,6 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ e NI de $1,9 \pm 0,6 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, que representa uma diminuição de cerca de 30% relativamente a FI. Além disso, entre as 9h da manhã e o meio-dia a variação de “ E ” foi de $0,54 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ (NI), $1,22 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ (DI) e $1,45 \text{ mmol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ (FI) (Quadro 2), correspondendo este valor a uma aumento de três vezes em relação NI, sugerindo o benefício da irrigação. Este aspeto é positivo, pois a transpiração tem um papel importante na termorregulação (Gomes-Laranjo *et al.*, 2007). Em relação à taxa fotossintética, “ A ”, às 9h da manhã os valores mais elevados foram observados a 23 de Julho $7,7 \pm 1,7 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ($T_{folha} 19^\circ\text{C}$, $T_{media} = 24^\circ\text{C}$), não apresentando qualquer variação padrão consistente entre os tratamentos durante todo o estudo, embora se verifique um aumento global de 20% de NI para FI. Por outro lado, no período de rega (30 Agosto-23 Setembro) a média de “ A_{12} ” foi significativamente maior em FI ($11,2 \pm 2,4 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), comparando com o NI ($7,5 \pm 1,3 \mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) e DI ($8,0 \pm 1,7 \text{ CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). Estes índices foram medidos com uma T_{media} de cerca de 27°C . Em relação à variação de “ A ” das 9h ao 12h houve um aumento, 30%, 44% e 63%, de NI, DI e FI, respetivamente, enfatizando a importância de um nível hídrico foliar adequado. A partir de 30 de Agosto, a condutância estomática (gs) de FI ($132,3 \pm 46,0 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), foi significativamente maior do que NI ($90,4 \pm 31,5 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), ao meio-dia (Quadro 2). No entanto, às 9h para o mesmo período, gs foi significativamente mais elevado em NI ($81,9 \pm 79,6 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) do que em FI ($63,5 \pm 23,9 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$). Isto pode

reforçar a influência das camadas superficiais regadas nos processos fisiológicos, ao meio-dia. Quanto à razão entre a fotossíntese e taxa interna de CO₂ (A/ci) às 9h da manhã, isto é, sem restrições a nível da condutância estomática, não se verificaram diferenças significativas entre os tratamentos, apesar dos valores de FI e NI serem 0,04±0,02 e 0,03±0,01 mmolCO₂.µbar⁻¹, respectivamente, indicando que alguma influência, mas não significativa, pode ser atribuída à condição hídrica foliar.

No que diz respeito à produção de castanha por árvore, esta foi 86% maior em FI (80,4 kg) que em NI (43,3 kg) (Quadro 1). Os frutos maiores foram encontrados em NI (79,7 frutos/kg), comparando com os tratamentos irrigados (87,5 frutos/kg em DI e 92,5 frutos/kg em FI). Estes calibres estão dentro dos valores encontrados em literatura (Pereira-Pimentel *et al.* in Gomes-Laranjo *et al.*, 2007), que variam entre os 86 e os 161 frutos/kg dependendo da região e condições edafoclimáticas. Tendo em conta a semelhança do estado fisiológico das árvores nos três tratamentos na altura da polinização, espera-se que o número de flores femininas polinizadas seja semelhante (Portela E. *et al.*, 2014). Acresce ainda que o número de castanhas viáveis em cada ouriço era semelhante em cada um dos tratamentos. Deste modo, os resultados sugerem que possa ter havido uma queda precoce de ouriços em função das piores condições hídricas a que as plantas do tratamento NI estavam sujeitas. Os frutos de maiores tamanhos encontrados em NI podem ser justificados pelo menor número de frutos (Portela E *et al.*, 2014). Não obstante o tamanho da castanha ser mais pequeno em FI do que em NI, com consequente menor valorização no mercado, a diferença de produção poderá compensar em termos absolutos.

Conclusões

Os resultados apresentados mostram que uma dotação de cerca de 30mm de água de rega foi capaz de aumentar a humidade do solo até cerca de 40 cm, a partir da qual o valor de humidade medido era semelhante ao tratamento não regado. Esta diferença permitiu que houvesse um aumento do desempenho fotossintético e do potencial hídrico foliar dos castanheiros regados, nas horas de maior calor, relevando a importância da absorção de água pelas raízes nas camadas mais superficiais do solo. Por outro lado, verificou-se também que durante a noite todas as árvores (regadas e não regadas) conseguiam recuperação hídrica semelhante, sugerindo que esta tenha sido suportada pela absorção radicular da água existente nas camadas mais profundantes, permitindo um desempenho fotossintético semelhante durante as primeiras horas do dia. Em consequência, verifica-se um impacto positivo de 86% na produção.

Agradecimentos

Este trabalho foi apoiado por Hubel Verde SA, Geosil, CITAB-Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro no âmbito do PRODER Medida 4.1 “Cooperação para a Inovação” e pelo Fundo para a Ciência e Tecnologia, no âmbito do programa de doutoramento SFRH / BDE / 52061/2012.

Referências

- Breisch, H. 1996. Chatâignes et marrons. CTIFL, Edition. Bergerac.
- David T.S., Henriques M.O., Kurz-Besson C., Nunes J., Valente F., Vaz M., Pereira J.S., Siegwolf R., Chaves M.M., Gazarini L.C., David J.S. 2007. Water-use strategies in two co-occurring Mediterranean evergreen oaks: surviving the summer drought. *Tree Physiology* 27:793–803.
- Ferreira Cardoso J. 2007. p. 282-283 In: Gomes-Laranjo J., Ferreira-Cardoso J., Portela E., Abreu C. Castanheiros. Vila Real

- Gomes-Laranjo, J., Ferreira-cardoso, J., Portela, E., e Abreu, C. G. (Eds.). 2007. Castanheiros. Vila Real.
- Martins A., Raimundo F., Borges O., Linhares I., Sousa V., Coutinho J.P., Gomes-Laranjo J., Madeira M., 2010. Effects of soil management practices and irrigation on plant water relations and productivity of chestnut stands under Mediterranean conditions. *Plant and Soil* 327:57-70.
- Miranda, P., Coelho F., Tomé A, Valente M., Carvalho A., Pires C., Pires H., Pires V. e Ramalho C. 2002. 20th century Portuguese Climate and Climate Scenarios. http://www.dfisica.ubi.pt/~artome/Siam1_Clima_Completo.pdf
- Miranda, R. 2010. Desenvolvimento de um sistema inteligente de determinação das necessidades hídricas para culturas lenhosas anisotrópicas. ISA- UTL, Lisboa.
- Pereira-Pimentel *et al.* 2007. p.95-102 In: Gomes-Laranjo J., Ferreira-Cardoso J., Portela E., Abreu C. Castanheiros. Vila Real
- Portela E., Ferreira-Cardoso J., Louzada J. e Gomes-Laranjo J., 2014. Assessment of Boron Application in Chestnuts: Nut Yield and Quality. *Journal of Plant Nutrition*. <http://dx.doi.org/10.1080/01904167.2014.963116>

Quadros e figuras

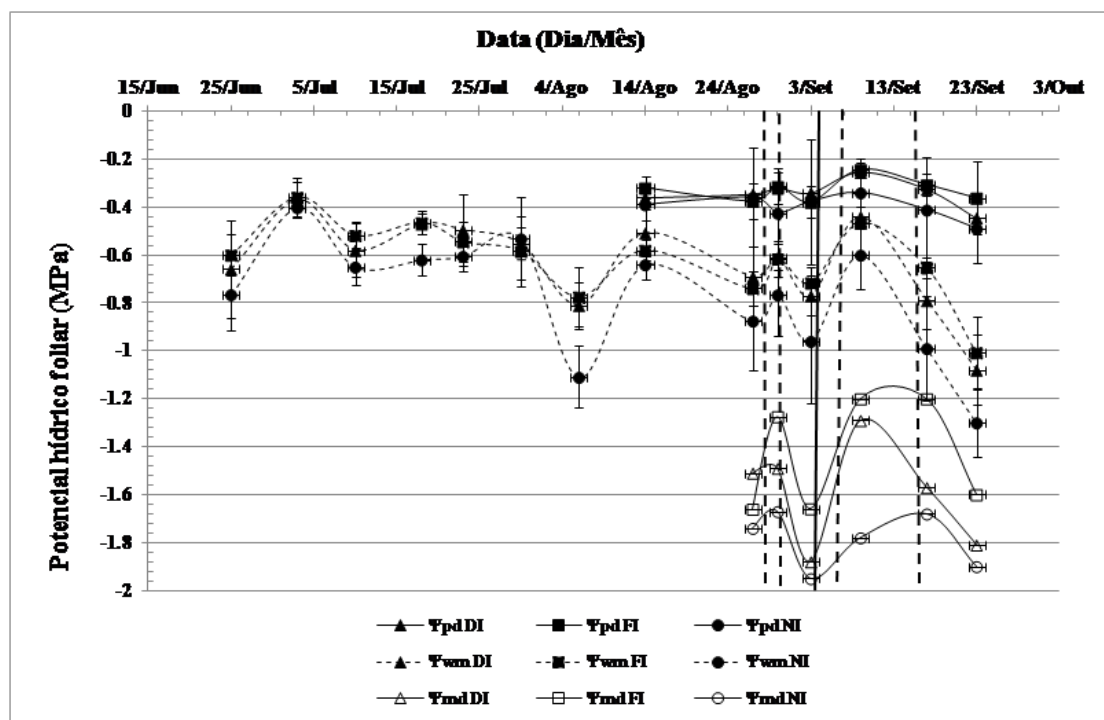


Figura 1 - Potencial hídrico (MPa). Potencial hídrico foliar de base (Ψ_{pd}), Potencial hídrico foliar às 9h (Ψ_{wm}) potencial hídrico foliar ao meio-dia (Ψ_{md}) no tratamento não irrigado (NI), Rega deficitária (DI) e Rega plena (FI). A linha tracejada indica a data de irrigação para a FI e a linha contínua indica a data de rega para DI. Barras correspondem ao desvio-padrão.

Quadro 1 - Produção (kg), calibre (n.º castanha/kg), n.º frutos viáveis por ouriço e n.º ouriços por árvore

Tratamento	Produção (kg/árv)	Produção (%)	Calibre (n.º frutos/kg)	Frutos viáveis (n.º/ ouriço)	Ouriços (n.º/árvore)
NI	43,3	100	79,7	b	1464
DI	76,6	176,9	87,5	a	2840
FI	80,4	185,7	92,5	a	3010

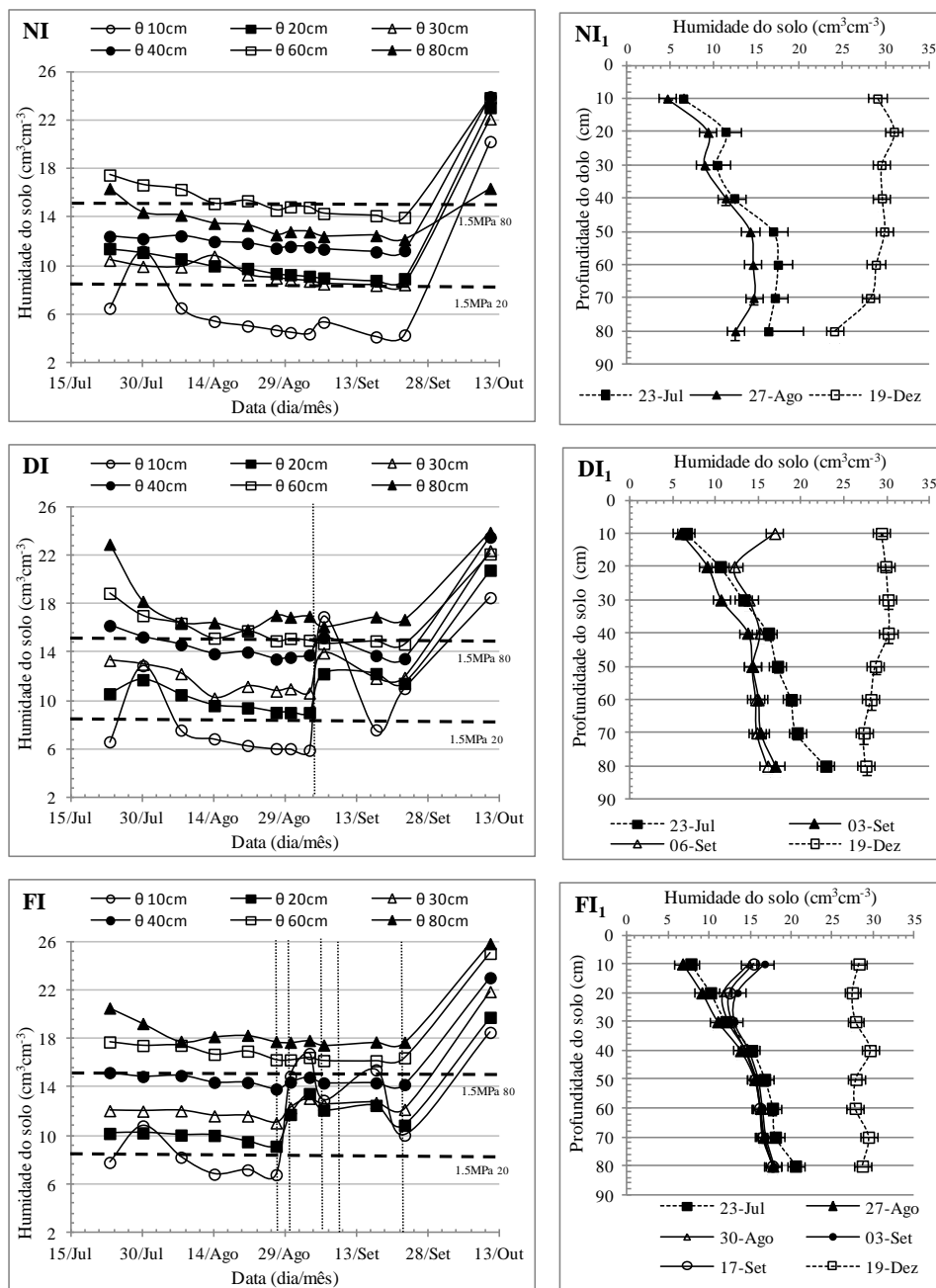


Figura 2- Conteúdo de água no solo ($\text{cm}^3 \text{H}_2\text{O} \cdot \text{cm}^{-3} \text{ solo}$) no tratamento não irrigado (NI), na rega deficitária (DI) e em rega plena (FI) para 10, 20, 30, 40, 60 e 80 centímetros de profundidade. As linhas tracejadas verticais indicam as datas de rega para os tratamentos: 28 e 30 de Agosto (FI); 4 de Setembro (DI), 6, 16 e 23 de Setembro (FI). As linhas tracejadas horizontais indicam o conteúdo água no solo no coeficiente de emurchecimento a 80cm ($-1,5 \text{MPa}$ 80) e 20 cm ($-1,5 \text{MPa}$ 20).

Quadro 2- Transpiração, E (mmolH₂O.m⁻².s⁻¹), Fotossíntese, A (µmolCO₂.m⁻².s⁻¹), condutância estomática, gs (mmol.m⁻².s⁻¹), eficiência carboxílica, A/ci (µmol CO₂.µbar⁻¹) e Temperatura da folha, T_{folha}. As letras minúsculas representam a diferença estatística (teste de Fisher para um nível de significância de 0,05) entre os tratamentos dentro da mesma data. Letras maiúsculas representam a diferença estatística (teste de Fisher para um nível de significância de 0,05) para cada tratamento através de datas diferentes

Data	E		A		gs		A/ci	T _{folha}	
	9h	12h	9h	12h	9h	12h	9h	9AM	12AM
25/Jun	1.3 ± 0.3		5.9 ± 1.3		56.0 ± 17.1		0.04 ± 0.01		
NI	1.0 ± 0.2 c		5.2 ± 0.9 b		42.5 ± 11.2 c		0.04 ± 0.01 b		
DI	1.3 ± 0.4 b		5.3 ± 1.4 b		56.0 ± 20.6 b		0.03 ± 0.01 c		
FI	1.6 ± 0.4 a		7.4 ± 1.7 a		69.5 ± 19.6 a		0.05 ± 0.01 a		
30/Jul	1.0 ± 0.5		4.4 ± 1.7		56.9 ± 37.2		0.02 ± 0.01	17.2 ± 0.6	
NI	1.4 ± 0.5 a		5.6 ± 1.9 a		79.5 ± 33.6 a		0.03 ± 0.01 a	17.1 ± 0.5 a	
DI	1.0 ± 0.7 b		4.2 ± 1.6 b		57.0 ± 51.8 ab		0.02 ± 0.01 a	17.1 ± 0.5 a	
FI	0.7 ± 0.4 b		3.4 ± 1.5 b		34.3 ± 26.2 b		0.02 ± 0.01 a	17.3 ± 0.7 a	
10/Ago	1.4 ± 0.4		5.4 ± 1.6		73.5 ± 24.4		0.03 ± 0.02	21.3 ± 1.0	
NI	1.9 ± 0.5 a		7.0 ± 2.2 a		110.5 ± 34.4 a		0.03 ± 0.01 a	21.0 ± 0.8 a	
DI	1.1 ± 0.3 b		5.0 ± 1.6 b		54.5 ± 19.1 b		0.03 ± 0.04 a	21.9 ± 0.9 a	
FI	1.1 ± 0.3 b		4.4 ± 1.1 b		55.5 ± 19.9 b		0.02 ± 0.01 a	21.0 ± 1.3 a	
18/Ago	1.5 ± 0.4		7.1 ± 1.7		83.2 ± 28.1		0.04 ± 0.01	17.5 ± 0.9	
NI	1.5 ± 0.5 ab		6.8 ± 1.8 a		87.0 ± 32.0 a		0.03 ± 0.01 b	18.1 ± 1.1 a	
DI	1.3 ± 0.2 b		6.6 ± 1.2 a		72.0 ± 16.4 a		0.04 ± 0.01 ab	17.7 ± 0.5 ab	
FI	1.6 ± 0.5 a		7.7 ± 2.2 a		90.5 ± 35.9 a		0.04 ± 0.02 a	16.7 ± 1.0 b	
23/Ago	1.5 ± 0.4		7.7 ± 1.7		93.0 ± 27.3		0.04 ± 0.01	19.2 ± 0.5	
NI	1.6 ± 0.4 a		7.9 ± 1.5 a		100.8 ± 28.9 a		0.04 ± 0.01 a	19.3 ± 0.5 a	
DI	1.4 ± 0.4 b		7.5 ± 2.4 a		83.8 ± 27.0 a		0.04 ± 0.02 a	18.9 ± 0.6 a	
FI	1.6 ± 0.3 ab		7.9 ± 1.3 a		94.5 ± 26.0 a		0.04 ± 0.01 a	19.3 ± 0.5 a	
30/Ago	1.9 ± 0.4		7.5 ± 1.4		111.6 ± 34.5		0.03 ± 0.01	17.3 ± 0.8	
NI	1.6 ± 0.4 b		7.5 ± 1.5 a		91.5 ± 28.7 b		0.04 ± 0.01 a	17.9 ± 0.5 a	
DI	2.0 ± 0.6 a		7.6 ± 1.3 a		120.0 ± 45.5 a		0.03 ± 0.01 ab	17.2 ± 0.9 a	
FI	2.1 ± 0.3 a		7.2 ± 1.4 a		123.3 ± 29.4 a		0.03 ± 0.01 b	16.9 ± 1.1 a	
21/Set	1.8 ± 0.4		4.6 ± 1.5		82.4 ± 27.3		0.02 ± 0.01	17.0 ± 0.6	
NI	1.2 ± 0.4 b		4.9 ± 1.7 a		61.4 ± 25.0 b		0.02 ± 0.01 a	18.5 ± 0.8 a	
DI	1.3 ± 0.5 b		4.3 ± 1.3 a		56.2 ± 26.7 b		0.02 ± 0.01 ab	16.0 ± 0.3 b	
FI	2.7 ± 0.4 a		4.7 ± 1.4 a		129.5 ± 30.3 a		0.02 ± 0.01 b	16.5 ± 0.6 ab	
27/Set	1.1 ± 0.7		5.4 ± 1.1		49.2 ± 21.2		0.05 ± 0.03	13.7 ± 1.0	
NI	0.5 ± 0.2 b		5.1 ± 0.7 b		28.5 ± 7.5 b		0.08 ± 0.07 a	14.0 ± 1.1 a	
DI	0.8 ± 0.4 b		4.6 ± 1.5 b		42.4 ± 24.3 b		0.03 ± 0.02 b	13.3 ± 1.2 a	
FI	1.8 ± 1.6 a		6.3 ± 1.1 a		76.7 ± 31.8 a		0.03 ± 0.00 b	13.9 ± 0.6 a	
30/Ago	1.2 ± 0.4	2.3 ± 0.6	5.2 ± 1.1	8.3 ± 1.4	61.3 ± 27.9	121.9 ± 43.5	0.03 ± 0.03	19.0 ± 1.9	
NI	0.9 ± 0.4 b	2.0 ± 0.5 bAB	4.3 ± 0.6 b	7.6 ± 1.1 bB	50.0 ± 26.7 a	106.4 ± 43.4 bA	0.02 ± 0.01 a	20.2 ± 0.8 a	
DI	1.2 ± 0.5 ab	2.2 ± 0.7 bB	5.3 ± 1.6 a	7.2 ± 1.2 bCD	66.0 ± 37.2 a	110.7 ± 48.9 bB	0.05 ± 0.07 a	19.1 ± 0.4 a	
FI	1.3 ± 0.3 a	2.8 ± 0.5 aAB	5.9 ± 1.1 a	10.2 ± 1.7 aB	68.0 ± 19.7 a	148.6 ± 38.2 aA	0.03 ± 0.01 a	17.7 ± 0.7 a	
3/Set	1.0 ± 0.2	2.6 ± 0.7	5.6 ± 2.2	8.4 ± 1.3	46.5 ± 13.3	112.4 ± 35.0	0.04 ± 0.02	19.4 ± 0.8	23.2 ± 1.51
NI	0.9 ± 0.1 b	2.1 ± 0.5 bA	6.0 ± 4.7 a	7.5 ± 1.0 bB	42.7 ± 10.3 b	94.0 ± 20.6 bA	0.03 ± 0.01 b	19.9 ± 0.6 a	24.5 ± 1.58 a
DI 4Set	0.8 ± 0.3 b	2.3 ± 0.7 bB	4.4 ± 0.6 a	6.5 ± 1.4 cD	37.5 ± 12.2 b	95.3 ± 38.3 bB	0.04 ± 0.03 ab	19.0 ± 1.2 a	22.6 ± 1.15 a
FI	1.3 ± 0.3 a	3.3 ± 0.8 aA	6.5 ± 1.5 a	11.1 ± 1.4 aB	59.4 ± 17.3 a	148.0 ± 46.0 aA	0.05 ± 0.02 a	19.3 ± 0.7 a	22.5 ± 1.80 a
6/Set	1.7 ± 0.7	2.5 ± 0.5	6.5 ± 1.0	10.5 ± 1.4	115.6 ± 72.8	130.5 ± 35.7	0.03 ± 0.05	14.1 ± 0.6	19.8 ± 1.37
NI	2.6 ± 1.0 a	2.2 ± 0.5 bA	6.7 ± 1.3 a	8.7 ± 1.2 bA	188.0 ± 112.8 a	105.3 ± 29.5 bA	0.03 ± 0.01 b	14.4 ± 0.9 a	21.8 ± 2.41 a
DI	1.5 ± 0.9 b	2.8 ± 0.4 aA	6.4 ± 0.8 a	8.6 ± 1.4 bA	98.0 ± 91.1 b	148.6 ± 33.2 aA	0.04 ± 0.02 a	14.0 ± 0.8 c	20.0 ± 1.13 ab
FI	1.1 ± 0.2 b	2.6 ± 0.6 abBC	6.5 ± 0.9 a	14.1 ± 1.7 aA	60.7 ± 14.4 b	137.6 ± 44.4 aA	0.04 ± 0.12 a	13.9 ± 0.2 b	17.5 ± 0.58 b
17/Set	0.8 ± 0.3	2.0 ± 0.5	6.1 ± 3.1	8.3 ± 1.3	42.2 ± 19.3	100.4 ± 29.3	0.04 ± 0.02	14.3 ± 1.0	17.9 ± 1.00
NI	0.7 ± 0.2 a	1.3 ± 0.5 cC	4.8 ± 0.9 b	6.5 ± 0.8 cC	36.7 ± 12.9 a	66.0 ± 22.6 cB	0.04 ± 0.02 a	15.2 ± 1.6 a	19.7 ± 1.15 a
DI	0.7 ± 0.4 a	2.0 ± 0.4 bBC	5.6 ± 1.6 ab	8.0 ± 0.9 bBC	40.0 ± 20.0 a	94.7 ± 27.7 bB	0.05 ± 0.02 a	14.2 ± 0.5 a	17.4 ± 0.97 ab
FI	0.9 ± 0.4 a	2.7 ± 0.5 aB	8.0 ± 7.0 a	10.4 ± 2.2 aB	50.0 ± 25.1 a	140.6 ± 37.7 aA	0.04 ± 0.02 a	13.5 ± 1.0 a	16.5 ± 0.89 b
23/Set	1.6 ± 0.5	2.2 ± 0.5	6.8 ± 1.7	9.0 ± 1.8	76.7 ± 32.7	90.7 ± 25.7	0.04 ± 0.02	19.0 ± 0.7	23.4 ± 0.83
NI	1.7 ± 0.6 ab	1.8 ± 0.4 bcB	7.1 ± 2.1 ab	6.9 ± 1.2 bBC	92.0 ± 51.3 a	80.0 ± 17.5 bB	0.04 ± 0.02 ab	19.2 ± 0.9 a	25.0 ± 0.98 a
DI	1.4 ± 0.3 b	2.5 ± 0.4 aAB	6.0 ± 0.9 b	9.5 ± 1.7 aA	58.8 ± 15.4 b	105.3 ± 23.6 aB	0.03 ± 0.01 b	18.7 ± 0.9 a	23.4 ± 0.94 b
FI	1.8 ± 0.5 a	2.2 ± 0.7 abC	7.4 ± 2.1 a	10.4 ± 2.6 aB	79.3 ± 31.3 ab	86.9 ± 35.9 abB	0.05 ± 0.02 a	18.0 ± 0.2 a	21.8 ± 0.58 c
30/Ago-23/Set	1.2 ± 0.6	2.3 ± 0.6	6.1 ± 2.5	8.9 ± 1.8	68.5 ± 51.3	111.2 ± 38.0	0.04 ± 0.14	17.1 ± 0.7	21.1 ± 2.70
NI	1.4 ± 0.9 a	1.9 ± 0.6 c	5.8 ± 2.6 b	7.5 ± 1.3 b	81.9 ± 79.6 a	90.4 ± 31.5 c	0.03 ± 0.01 a	17.8 ± 0.8 a	22.8 ± 2.66 a
DI	1.1 ± 0.6 a	2.3 ± 0.6 b	5.5 ± 1.4 b	8.0 ± 1.7 b	60.1 ± 50.3 b	110.9 ± 36.7 b	0.04 ± 0.39 a	17.0 ± 0.5 b	20.9 ± 2.57 b
FI	1.3 ± 0.4 a	2.7 ± 0.7 a	6.9 ± 3.4 a	11.2 ± 2.4 a	63.5 ± 23.9 b	132.3 ± 46.0 a	0.04 ± 0.02 a	16.5 ± 0.7 b	19.6 ± 2.87 b
Análise variância									
Tratamento	3.7	40.2	9.4	65.8	5.24	30.07	1.43	31.95	12.03
Data	18.3	4.0	2.4	4.7	13.85	5.81	0.59	51.99	75.12
Data*Trat.	30.4	12.1	3.4	9.0	25.18	11.35	2.12	0.17	1.35
Residual	47.6	43.7	84.7	20.5	55.73	52.77	95.85	15.89	11.50
Total	100.0	100.0	100.0	100.0	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

Eficiência do pomar de pera ‘Rocha’ no Oeste (Portugal). I – modelo para avaliação da eficiência produtiva e económica

A. Ramos^{1,2}, E. Ribeiro¹, B. Fernandes¹, L. Marques¹, J.P. Dias¹, T. Duarte¹, J.P. Lopes³, D. Fialho^{4,5}, P. Santa-Bárbara⁴, J.M.S. Martins⁶ e J.P. De Melo-Abreu³

¹Instituto Politécnico de Castelo Branco, ESA. Apartado 119, 6001-909 Castelo Branco (Portugal), aramos@ipcb.pt.

²CERNAS – Centro de Estudos de Recursos Naturais, Ambiente e Sociedade. Apartado 119, 6001-909 Castelo Branco (Portugal).

³DCEB, CEER, ISA, ULisboa. Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa (Portugal).

⁴Frutus – Estação Fruteira de Montejunto CRL. EN 366, km 4, 2550-458 Peral (Portugal). ⁵TriPortugal, ACE. Urb. Qt.ª Santo António – Lote 50, 2540-004 Bombarral (Portugal).

⁶Passeio Vitorino Nemésio, 2, 13ºA, 2780-170 Oeiras (Portugal).

Resumo

A carga da árvore influencia positivamente a produção e negativamente o crescimento do fruto. Com base neste facto amplamente demonstrado em inúmeros estudos científicos, foi desenvolvida uma metodologia de avaliação da eficiência produtiva e económica do pomar de pera ‘Rocha’ com duas componentes: i) regressão não linear do peso médio do fruto em função da carga da árvore; ii) distribuição por classes de calibre em função do peso médio do fruto. A curva obtida pela regressão não linear representa o “desempenho da árvore”, ou seja, a reação da árvore (crescimento do fruto) à variação da carga (monda), traduzindo o resultado de todos os fatores naturais e tecnologias de produção (e suas interações) ocorridas ao longo de toda a estação (estudos de caso). A curva obtida pelo modelo económico permite identificar a carga na qual se obtém a máxima receita potencial para uma determinada escala de preços diferenciados em função do calibre, correspondendo à carga “ótima” ou “ideal”. Esta carga “ideal”, caso a caso, corresponde à máxima eficiência do pomar, ou seja, é a melhor solução de compromisso entre a produtividade do pomar (determinada pelo número de frutos) e a valorização do produto (determinada pelo tamanho do fruto).

Palavras-chave: *Pyrus communis*, carga, produção, calibre, rendimento.

Abstract

‘Rocha’ pear orchard efficiency at “Oeste” region (Portugal). I – efficiency evaluation. A positive crop load effect on yield and negative on fruit growth is widely demonstrated by scientists and common knowledge. Based in that fact, a methodology to evaluate ‘Rocha’ pear orchard efficiency was developed with two components: i) nonlinear regression of average fruit weight per tree in function of tree crop load; ii) distribution by fruit size classes (fruit grade) in function of the average fruit weight. The curve obtained by the nonlinear regression represents the tree performance, meaning, the enhancing on fruit growth resulting of decreasing crop load by thinning. Tree performance will traduce the result of all natural factors and production technologies (and their interactions) occurred along the season (case studies). The curve obtained by the economic model, overlying the tree performance model, identifies the crop load level in which the revenue is maximal for a giving price scale by fruit grade. This crop load level corresponding to the maximum revenue or optimal crop load level will represent the maximum orchard efficiency, for each case, as the better compromise between orchard production (determined by crop load) and fruit value (determined by fruit size).

Keywords: *Pyrus communis*, crop load, yield, fruit grade, revenue.

Introdução

A modelação da produtividade vegetal é baseada no efeito dos fatores ecofisiológicos sobre a fotossíntese (assimilação do CO₂) e na repartição dos fotoassimilados pelas diversas funções e órgãos das plantas (Grossman e Dejong, 1994). Estes modelos são bastante complexos e exigem um trabalho bastante exaustivo e moroso, já que são inúmeros os fatores naturais e as tecnologias de produção (e suas interações) com influência no crescimento e desenvolvimento das plantas, em particular dos frutos (Sousa, 2013). Muitas vezes, estes modelos são estabelecidos para determinar o potencial produtivo máximo, o qual, no caso da produção frutícola, não corresponde ao produto desejado e valorizado pelo mercado.

Este trabalho resume o culminar de cerca de uma década de esforço na tentativa de encontrar uma metodologia simplificada para avaliar a eficiência do sistema produtivo, no sentido de auxiliar o produtor a otimizar as suas decisões técnicas, com especial ênfase na gestão ou regulação da carga, através da operação de monda de frutos, para a obtenção de frutos com o calibre mais adequado ao mercado. Todos os inúmeros trabalhos de monda de frutos indicam um efeito positivo da carga na produção e um efeito negativo sobre o crescimento do fruto, mas poucos conseguem responder à questão: qual a melhor solução de compromisso entre a carga (produção, quantidade) e o crescimento do fruto (qualidade, valor). Isto, porque poucos estudos ou modelos técnicos (agronómicos ou ecofisiológicos) incluem uma componente ou modelação económica.

Material e Métodos

O modelo de avaliação da eficiência do pomar tem duas componentes, uma componente técnica ou produtiva e uma componente económica. A componente produtiva baseia-se no desempenho da árvore, ou seja, na relação de equilíbrio que se estabelece entre o número de frutos da árvore (X, carga) e o crescimento do fruto (Y, peso médio do fruto por árvore). O crescimento do fruto em função da carga ajusta-se a uma regressão não linear (tipo hipérbole), cuja equação [$Y = 1/(aX + 1/b)$] foi já apresentada anteriormente (Ramos et al., 2010). Para relativizar as diferenças de tamanho entre árvores, a carga deve ser “normalizada” (Reginato et al., 2007), ou seja, expressa por unidade de volume de copa, de área foliar ou de área da secção transversal do tronco.

Como a valorização económica é diferenciada em função da classe de calibre do fruto (variável descontínua), foi necessário obter uma variação contínua daquela valorização para se poder aplicar o modelo. Zhang e Robson (2002) demonstraram a natureza normal da distribuição dos frutos por classes de calibre, pelo que foi possível estabelecer uma relação entre o peso médio do fruto por árvore e a respetiva distribuição por classes de calibre.

Resultados e Discussão

A regressão não linear do peso médio do fruto em função da carga (expressa por unidade de volume de copa) está representada na Figura 1. Para além do bom ajustamento aos dados observados ($R^2 = 0,83$), o elevado número de pontos (árvores) utilizadas e a elevada amplitude das cargas demonstram que a relação entre o peso médio do fruto e a carga é curvilínea e não linear. Outro aspeto a salientar é que, no crescimento do fruto, os desvios em relação à média não são aleatórios, são antes marcadamente influenciados pela carga, pelo que qualquer avaliação de produção em fruticultura não pode descartar ou iludir o efeito da carga, como acontece quando se criam parcelas elementares, constituídas por várias árvores.

Com os resultados das árvores individuais é possível obter uma equação contínua que se pode inferir dentro e, possivelmente, fora do intervalo de variação dos resultados. Quando se usam níveis dos fatores, tal inferência não é possível, aspeto particularmente relevante nos ensaios de monda (ou carga), muito trabalhosos e, provavelmente por isso, com poucos níveis.

Como tal, podem evidenciar o efeito da carga no crescimento do fruto, mas não a melhor solução de compromisso entre carga e peso médio do fruto, mesmo que se faça a valorização económica para cada nível de monda.

A relação não linear da Figura 1 não explica nem identifica as causas que determinaram o comportamento ecofisiológico da árvore, mas reflete o resultado final da influência de todos os fatores naturais e de todas as tecnologias de produção (e as suas inúmeras interações) ao longo de todo o período de desenvolvimento dos gomos e de crescimento dos frutos. Como tal, pode dizer-se que a relação entre a carga e o peso médio do fruto representa o desempenho da árvore em determinadas condições, refletindo a eficiência de cada pomar, em cada ano, para essas condições específicas.

A Figura 2 mostra a fração da produção acima de um determinado diâmetro em função do peso médio do fruto por árvore (pontos), obtida com um número significativo de calibrações de árvores individuais, e o seu ajustamento a uma distribuição normal acumulada (curva). A Figura 3 mostra que os valores observados da relação da fração da produção acima de um determinado diâmetro e os valores estimados pela distribuição normal acumulada têm uma relação do tipo 1:1 com um coeficiente de determinação muito elevado ($R^2 = 0,99$). Com a distribuição por classes de calibre em função do peso médio do fruto (a partir das equações das curvas normais acumuladas) e a respetiva valorização diferenciada, foi possível obter uma valorização contínua do preço médio a pagar.

A Figura 4 mostra a sobreposição do modelo produtivo com o modelo económico. O rendimento económico máximo do pomar representa efetivamente a melhor solução de compromisso entre a produção da árvore e a valorização dos frutos, ou seja, a sua máxima eficiência. Para cada caso, a carga na qual se verificou aquele máximo rendimento económico seria a carga “ótima” ou “ideal” e deveria ter sido tomada em conta para a realização da monda. Com cargas abaixo do ideal (para cada caso específico), o rendimento é baixo por falta de produção (apesar dos frutos grandes e bem valorizados). Com cargas acima do ideal, o rendimento também é baixo por falta de calibre e valor dos frutos (apesar da maior produção). No exemplo (caso) da Figura 4, a carga “ideal” teria sido cerca de 28,5 frutos/m³ de copa, com 127,7 g de peso médio (correspondentes a 356 frutos/árvore, 63 t/ha e 15,6 mil €/ha).

Adicionalmente, a Figura 5 mostra que o nível de máxima eficiência do pomar e de rendimento do produtor não é incompatível com a sustentabilidade da atividade produtiva, uma vez que o máximo rendimento económico se pode obter com uma pegada de carbono (CO₂ equivalente/kg de fruta produzida) já relativamente baixa. Se o mercado valorizasse os frutos de menor calibre, o máximo rendimento do produtor poderia ser obtido com valores da pegada de carbono ainda mais reduzidos.

Agradecimentos

Aos muitos produtores, técnicos e alunos anónimos que, direta ou indiretamente, colaboraram ou contactaram com a realização deste trabalho ao longo de quase uma década. Este trabalho foi parcialmente financiado pelo PRODER (projeto GesRocha) e pelo projeto PEst-OE/AGR/UI0681/2014.

Referências bibliográficas

- Grossman YL e Dejong TM. 1994. PEACH: A simulation model of reproductive and vegetative growth in peach trees. *Tree Physiology*, 14: 329-345.
- Sousa ML. 2013. Avaliação de novos sistemas de produção de pera ‘Rocha’ em alta densidade com recurso à modelação e à integração de processos fisiológicos. Tese de Doutoramento. ISA. UTL. Lisboa.
- Ramos A, Ribeiro E, Marques L, Lopes R e Martins JMS. 2010. A “metodologia do potencial produtivo” na gestão integrada do pomar. I – Carga ótima. *Actas Portuguesas de Horticultura*, 16: 7-15.

Reginato GH, Cortázar, VG e Robinson TL. 2007. Predicted crop value for nectarines and cling peaches of different harvest season as a function of crop load. Hortscience, 42(2): 239-245.

Zhang J e Robson A. 2002. Fitting normal distributions to apple fruit and its application. Acta Horticulturae, 584: 169-175.

Quadros e figuras

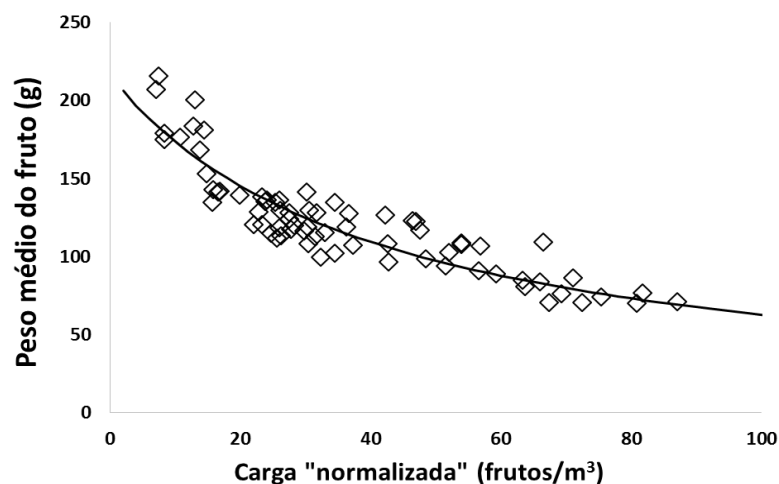


Figura 1 – Regressão não linear ($R^2 = 0,83$) entre a carga (expressa por unidade de volume de copa da árvore) e o peso médio do fruto por árvore ($n = 64$).

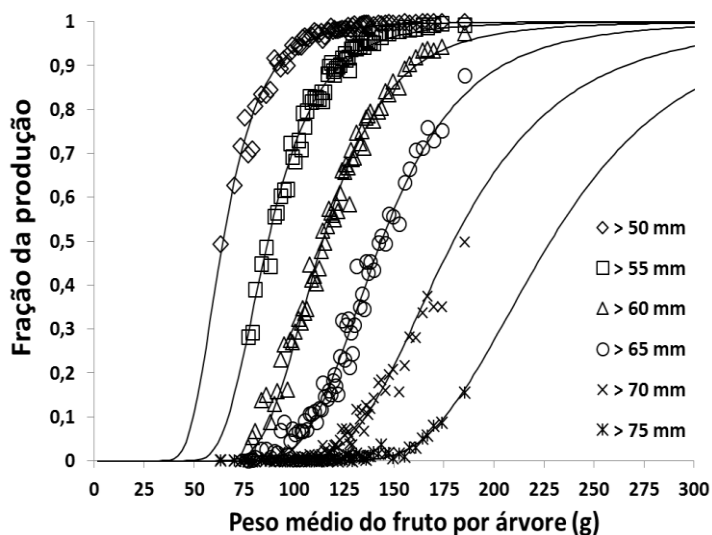


Figura 2 – Fração da produção acima de determinado diâmetro em função do peso médio do fruto por árvore (pontos) e respetivo ajustamento à distribuição normal acumulada (curvas) em 692 árvores calibradas individualmente (cada ponto representa a média de 10 árvores, ordenadas pelo peso médio do fruto).

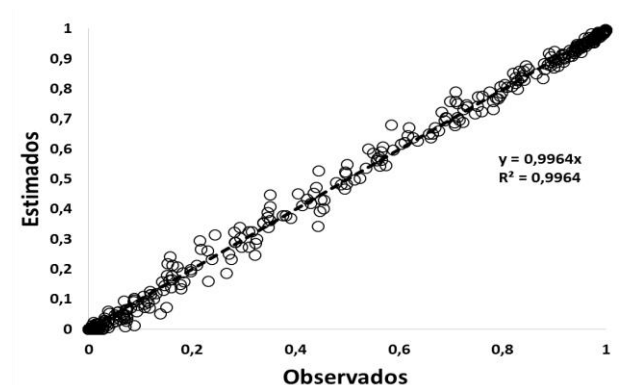


Figura 3 – Relação entre os valores observados da fração da produção acima de determinado diâmetro em função do peso médio do fruto por árvore e os valores estimados pela distribuição normal acumulada.

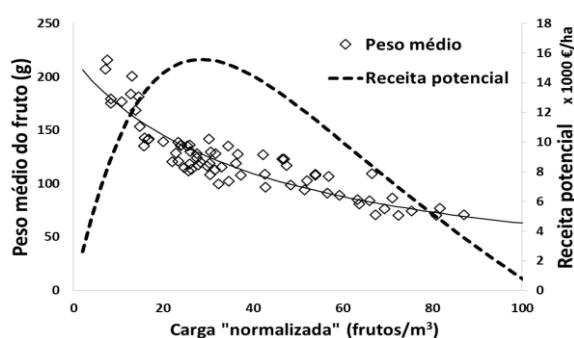


Figura 4 – Representação conjunta do modelo produtivo da Figura 1 com o modelo económico obtido a partir da relação representada na Figura 2.

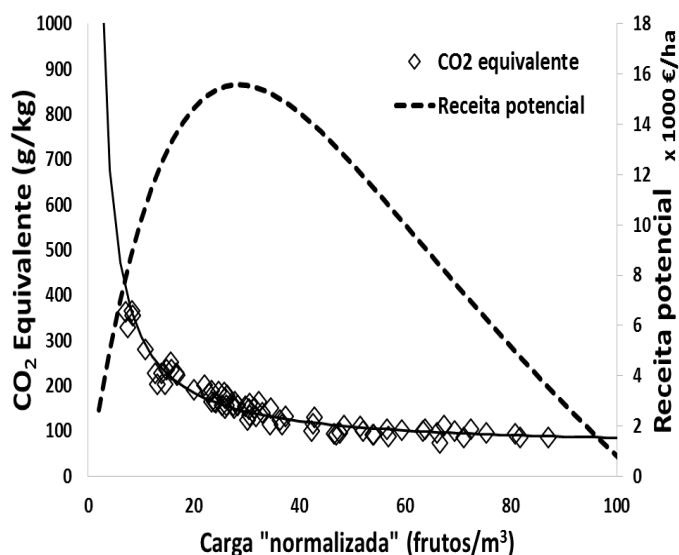


Figura 4 – Representação da “pegada de carbono” para o caso específico correspondente ao modelo produtivo e económico da Figura 3 (as entradas de massa e energia foram contabilizadas, pela metodologia de Análise de Ciclo de Vida, em cerca de 9265 CO₂ equivalentes/ha por Pedro Pereira, mestrando da ESA de Coimbra, sendo gentilmente cedidas pelo próprio e pelo seu orientador, Prof. António Dinis Ferreira, no âmbito do projecto EcoDeep, do InovCluster).

Eficiência do pomar de pera ‘Rocha’ no Oeste (Portugal). II – modelo para previsão e gestão da carga

A. Ramos^{1,2}, E. Ribeiro¹, B. Fernandes¹, L. Marques¹, J.P. Dias¹, T. Duarte¹, J.P. Lopes³, D. Fialho^{4,5}, P. Santa-Bárbara⁴, J.M.S. Martins⁶ e J.P. De Melo-Abreu³

¹Instituto Politécnico de Castelo Branco, ESA. Apartado 119, 6001-909 Castelo Branco (Portugal), aramos@ipcb.pt.

²CERNAS – Centro de Estudos de Recursos Naturais, Ambiente e Sociedade. Apartado 119, 6001-909 Castelo Branco (Portugal).

³DCEB, CEER, ISA, ULisboa. Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa (Portugal).

⁴Frutus – Estação Fruteira de Montejunto CRL. EN 366, km 4, 2550-458 Peral (Portugal). ⁵TriPortugal, ACE. Urb. Qt.ª Santo António – Lote 50, 2540-004 Bombarral (Portugal).

⁶Passeio Vitorino Nemésio, 2, 13ºA, 2780-170 Oeiras (Portugal).

Resumo

Um modelo não linear, em função da carga da árvore, foi utilizado para estudar a eficiência produtiva e económica do pomar em 52 casos que representam pomares de pera ‘Rocha’ com diversas localizações (de Alcobaça a Alenquer), idades (de inferiores a 5 até mais de 15 anos), densidades (de 1250 a mais de 5000 árvores/ha), tecnologias de produção (diferentes formas e tamanhos da sebe; diferentes regimes hídricos e de nutrição) e condições naturais (anos de 2008, 2009, 2012 e 2013). Apesar deste contexto de situações tão diversas, foi possível pôr em evidência uma estreita relação entre um dos parâmetros da regressão não linear e as dimensões da planta ou da sebe. Como aquele parâmetro da regressão é o que se relaciona com a carga, foi possível concluir que a capacidade de carga depende apenas das características das árvores. As condições naturais e as tecnologias de produção (variáveis ano a ano e pomar a pomar) determinam o nível de produção e de rendimento do pomar para uma determinada escala de preços diferenciados em função do calibre, mas não a carga na qual ocorrerá a receita potencial máxima. Desta forma, torna-se possível determinar a carga da árvore (necessidades de monda) apenas em função das características da plantação e de uma previsão da escala de preços por calibre. Esta determinação da carga “ótima” ou “ideal” pode ser efetuada precocemente, para avaliar a eficácia da monda química ou para avaliar as necessidades de monda manual, eventualmente como complemento à monda química.

Palavras-chave: *Pyrus communis*, monda de frutos, produção, calibre, rendimento.

Abstract

‘Rocha’ pear orchard efficiency at “Oeste” region (Portugal). II – crop load prediction. A nonlinear regression of average fruit weight per tree in function of crop load was used to evaluate orchard efficiency in 52 case studies at different years and locations of the “Oeste” region (Portugal), with different ages, plant densities and production technologies. Although such dissimilar conditions, a close relation between one of the nonlinear regression parameters and tree or hedgerow characteristics was established. As that regression parameter was the one relating with crop load, it was concluded that the tree load capacity was only depending on orchard characteristics. The yield and revenue level (for a specific scale of prices according to the fruit size) are determined by natural conditions and production technologies, but not the crop load level in which maximum revenue occurs. Therefore, it is possible to predict “optimal” crop load or fruit thinning needs or objective only by measuring trees or hedgerows for a predicting scale of prices in function of fruit size. That crop load prediction can be

precociously assessed to evaluate chemical thinning efficiency or manual thinning needs, eventually as a complement for chemical thinning.

Keywords: *Pyrus communis*, fruit thinning, yield, fruit scale, revenue.

Introdução

A modelação da produtividade vegetal é baseada no efeito dos fatores ecofisiológicos sobre a fotossíntese (assimilação do CO₂) e na repartição dos fotoassimilados pelas diversas funções e órgãos das plantas (Grossman e Dejong, 1994). Estes modelos são bastante complexos e exigem um trabalho bastante exaustivo e moroso, já que são inúmeros os fatores naturais e as tecnologias de produção (e suas interações) com influência no crescimento e desenvolvimento das plantas, em particular dos frutos (Sousa, 2013). Muitas vezes, estes modelos são estabelecidos para determinar o potencial produtivo máximo, o qual, no caso da produção frutícola, não corresponde ao produto desejado e valorizado pelo mercado.

Este trabalho resume o culminar de uma década de esforço na tentativa de encontrar uma metodologia simplificada para avaliar a eficiência do sistema produtivo, no sentido de auxiliar o produtor a otimizar as suas decisões técnicas, com especial ênfase na gestão ou regulação da carga, através da operação de monda de frutos, para a obtenção de frutos com o calibre mais adequado ao mercado.

Um modelo de avaliação da eficiência do pomar foi apresentado na primeira parte deste trabalho (Ramos et al. 2014), permitindo determinar a carga “ótima” ou “ideal” para cada caso específico. No entanto, esta avaliação é efetuada *a posteriori*, após a colheita, quando a informação para a gestão da carga, através da realização da monda de frutos, é necessária e útil se puder estar disponível na Primavera, particularmente durante o mês de Maio.

Material e Métodos

Uma regressão não linear do peso médio do fruto em função da carga (Ramos et al., 2010; 2014) foi aplicada a 52 casos com diversas localizações (de Alcobaça a Alenquer), idades (de inferiores a 5 até mais de 15 anos), densidades (de 1250 a mais de 5000 árvores/ha), tecnologias de produção (diferentes formas e tamanhos da sebe; diferentes regimes hídricos e de nutrição) e condições naturais (anos de 2008, 2009, 2012 e 2013).

A carga foi expressa por unidade de volume de copa, sendo este determinado de uma forma simples como o volume do paralelepípedo máximo que contém a árvore, ou seja, o produto das três dimensões da árvore (altura, largura transversal e largura longitudinal). No caso de sebes contínuas, a largura longitudinal coincide com a distância entre plantas na linha, sendo-lhe descontada o intervalo entre copas nas sebes descontínuas.

Procurou-se posteriormente estabelecer uma relação entre o volume de copa e os parâmetros da regressão não linear.

Resultados e Discussão

A Figura 1 mostra o ajustamento de uma equação alométrica entre uma função do volume da copa da árvore e o parâmetro a da regressão não linear obtida para cada caso. A Figura 2 mostra uma relação do tipo 1:1 entre os valores observados e estimados por aquela equação, com um coeficiente de determinação elevado ($R^2 = 0,97$).

Estes resultados põem em evidência a estreita, quiçá crítica, relação entre a capacidade de carga e a volumetria da copa, resultante naturalmente da relação entre o volume de copa e a área foliar (Sousa, 2013). O que se deve salientar destes resultados é a consistência daquela relação em casos tão díspares, em pomares e anos distintos, alguns com tecnologias de produção que se podem considerar “de ponta”, outros, no mínimo, bastante “negligenciados”.

Em conclusão, a capacidade de carga e o crescimento do fruto não são mutuamente dependentes, apenas a carga influencia o crescimento do fruto e não o contrário. Deste modo, é

possível separar os fatores que influenciam a carga, desde o ano anterior até ao momento da monda, dos fatores que influenciam o crescimento do fruto, particularmente após a monda.

A carga ótima, para cada caso e para cada escala de preços a pagar por classe de calibre, é sensivelmente constante para cada caso e dependente apenas das características da árvore ou sebe. Que o fruto cresça mais ou cresça menos, influenciando a produção e o rendimento, dependerá das condições que ocorram naturalmente e das tecnologias de produção praticadas em cada caso específico.

Esta independência da capacidade de carga relativamente às condições e tecnologias em cada caso específico torna possível utilizar a medição das copas das árvores, logo a partir de Maio, para fazer a previsão da carga atempadamente relativamente à época da monda de frutos. Bastará para tal utilizar um valor para o parâmetro *b* que represente um cenário “médio”, já que não foi possível estabelecer qualquer relação entre a volumetria da copa e aquele parâmetro.

Os modelos ecofisiológicos, bastante complexos e morosos, fazem uma previsão/simulação do crescimento do fruto para uma carga máxima, ou para um cenário de carga “média”, em resposta aos fatores ambientais e agronômicos (Sousa, 2013). O modelo apresentado neste trabalho, bastante simples e rápido, faz a previsão da carga ótima para um cenário de fatores ambientais e agronômicos “médio”, com a vantagem da capacidade de carga da árvore ser, pelo menos em parte, independente desses fatores.

A Figura 3 exemplifica uma aplicação do modelo de previsão baseado na relação alométrica da Figura 1, através da estimativa do peso médio do fruto para cada árvore em função da respetiva volumetria e carga, a um caso concreto, em 2013, para um cenário (parâmetro *b*) em que o máximo rendimento do produtor (carga ótima) ocorre com frutos de peso médio de 130 g. No exemplo, a escala de preços a pagar em função da classe de calibre foi estabelecida com uma ponderação de 0, 40, 70, 100, 150 e 170% em relação ao valor de 0,30 €/kg para as categorias: <50, 50-55, 55-60, 60-65, 65-70 e >70 mm, respetivamente.

Neste exemplo (pomar com compasso de 4,5×2,0 m), a carga média à colheita das 41 árvores foi de 878 frutos com peso médio de cerca de 93 g (cerca de 92 t/ha com receita potencial de cerca de 12,2 mil €/ha). O máximo rendimento do produtor, a partir dos resultados à colheita, teria sido obtido com uma carga de 648 frutos/árvore com peso médio de 105 g (cerca de 75 t/ha com receita potencial de 13,7 mil €/ha). Pelos valores médios e pela observação da Figura 3 é possível concluir que a gestão da carga, naquele caso concreto, foi ineficiente, já que a maioria das árvores teve uma carga acima da carga na qual o rendimento do produtor foi máximo.

Por outro lado, se a relação alométrica da Figura 1 fosse aplicada à volumetria da árvore “média” do pomar, para um cenário de máxima receita com frutos de 130 g, a carga ótima prevista seria de cerca de 425 frutos/árvore (cerca de 61,5 t/ha com receita potencial de 16,7 mil €/ha).

Agradecimentos

Aos muitos produtores, técnicos e alunos anónimos que, direta ou indiretamente, colaboraram ou contactaram com a realização deste trabalho ao longo de quase uma década. Este trabalho foi parcialmente financiado pelo PRODER (projeto GesRocha) e pelo projeto PEst-OE/AGR/UI0681/2014.

Referências bibliográficas

- Grossman YL e Dejong TM. 1994. PEACH: A simulation model of reproductive and vegetative growth in peach trees. *Tree Physiology*, 14: 329-345.
- Sousa ML. 2013. Avaliação de novos sistemas de produção de pera ‘Rocha’ em alta densidade com recurso à modelação e à integração de processos fisiológicos. Tese de Doutoramento. ISA. UTL. Lisboa.

Ramos A, Ribeiro E, Marques L, Lopes R e Martins JMS. 2010. A “metodologia do potencial produtivo” na gestão integrada do pomar. I – Carga óptima. *Actas Portuguesas de Horticultura*, 16: 7-15.

Ramos A, Ribeiro E, Fernandes B, Marques L, Dias JP, Duarte T, Lopes JP, Fialho D, Santa-Bárbara P, Martins JMS e De Melo-Abreu JP. 2014. Eficiência do pomar de pera ‘Rocha’ no Oeste (Portugal). I – modelo para avaliação da eficiência produtiva e económica. 3º Simpósio Nacional de Fruticultura. Vila Real, 4-5 de Dezembro (*submetido*).

Quadros e Figuras

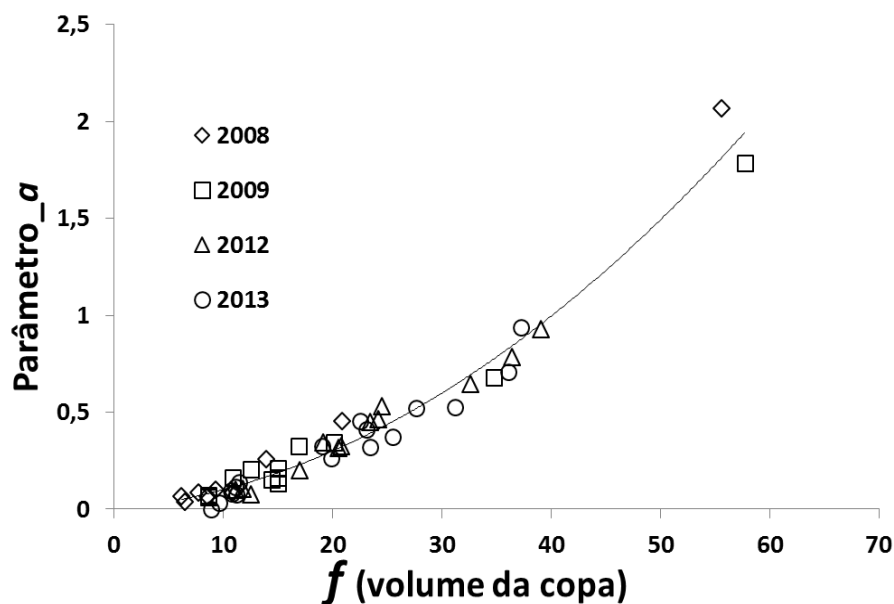


Figura 1 – Relação alométrica (do tipo $y = ax^b$) entre uma função do volume da copa da árvore e os parâmetros a da regressão não linear, obtidos caso a caso, entre o peso médio do fruto e a carga expressa por unidade de volume de copa (*os parâmetros da relação alométrica são reservados; $n = 52$ casos*).

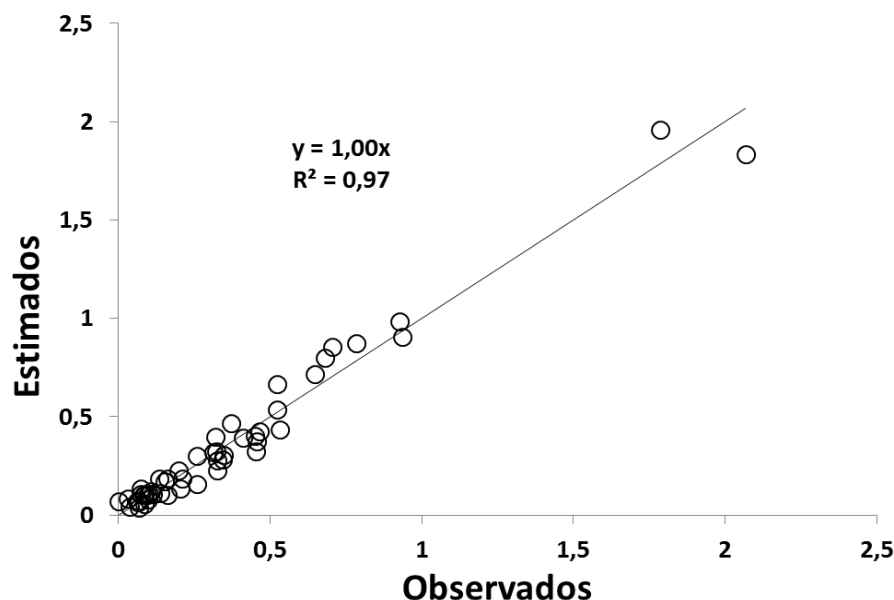


Figura 2 – Relação entre os valores observados para o parâmetro_a do modelo não linear e os estimados pela equação alométrica representada na Figura 1.

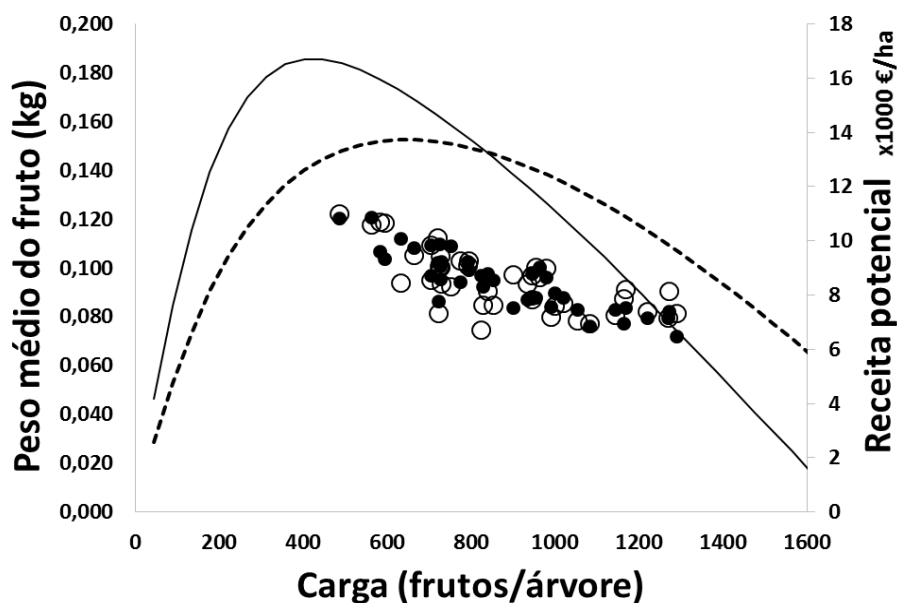


Figura 3 – Aplicação do modelo de previsão a um caso concreto, em 2013. Os círculos abertos e os pontos a negro representam, respetivamente, os pesos médios observados à colheita e os pesos médios estimados, em função da volumetria e carga de cada árvore, pela relação alométrica da Figura 1, para um cenário em que o máximo rendimento do produtor se obtém com frutos de peso médio de 130 g. As linhas, tracejada e contínua, representam, respetivamente, a receita potencial estimada em função dos valores observados à colheita e a receita potencial estimada, em função da volumetria da árvore “média” do pomar, pela relação alométrica da Figura 1, para um cenário em que o máximo rendimento do produtor se obtém com frutos de peso médio de 130 g.

Estudo comparativo do comportamento agronómico de cinco clones de pereira (*Pyrus communis* L.) cv. 'Rocha' em três porta-enxertos

Cláudia Madeira¹, João Azevedo¹ e Cristina M. Oliveira²

¹APAS, Associação dos Produtores Agrícolas da Sobrena, Cadaval, claudia@apas.com.pt, joaoazevedo@apas.com.pt

²DCEB, CEER, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa, crismoniz@isa.ulisboa.pt

Resumo

Com o objetivo de avaliar as potencialidades de cinco clones de pereira 'Rocha' foi instalado um campo de demonstração na APAS, Sobrena, Cadaval com os clones 1, 2, 4c, T e Z, enxertados em Provence BA-29, EMA e Sydo, sob idênticas condições de solo e clima. As características agronómicas e os resultados económicos foram avaliados entre 2006 e 2014 (5º ao 13º ano de pomar). Este ensaio permitiu verificar que não existe uma combinação clone/porta-enxerto ideal que conduza em simultâneo uma rápida entrada em produção, um vigor médio, um bom calibre, frutos mais arredondados e uma boa qualidade dos frutos. Nas combinações Z/Sydo, T/Sydo e 2/Sydo obtiveram-se as maiores produções unitárias acumuladas por árvore. Na modalidade mais produtiva (Z/Sydo) obteve-se uma receita de 84.111,7 € ha⁻¹ enquanto na T/Sydo a receita foi de 79.571,0 € ha⁻¹ e na 2/Sydo 78.162,7 € ha⁻¹. Entre as modalidades verificaram-se ligeiras diferenças na qualidade dos frutos: 4c/BA-29, 4c/EMA e T/Sydo produziram peras com maior calibre, 4c/EMA, 4c/Sydo e T/Sydo frutos mais arredondados, 4c/EMA, 1/Sydo e 4c/BA-29 frutos com maior firmeza de polpa enquanto os frutos das combinações T/BA-29, Z/EMA e 2/EMA apresentaram um maior teor de sólidos solúveis.

Palavras-chave: combinação clone/porta-enxerto, diâmetro equatorial médio, produção, qualidade dos frutos, vigor

Abstract

Comparative study of agronomic performance of five clones of pear (*Pyrus communis* L.) 'Rocha' on three rootstocks

With the aim of evaluating the potential of five 'Rocha' pear clones (1, 2, 4c, T and Z), a field trial was conducted at APAS orchard, located in Cadaval (Sobrena). All the clones were grafted onto Provence BA-29, EMA and Sydo rootstocks and trees grown under identical soil and climate conditions. The agronomic characteristics and economic results were evaluated from 2006 until 2014 corresponding to the 5th and 13th year of the orchard. The field trial indicated that there isn't an ideal combination of clone/rootstock leading to earlier pear production, trees with medium vigour, high fruit size, rounded shape fruits and good fruit quality. Combinations of Z/Sydo, T/Sydo and 2/Sydo reached the highest accumulated yield/tree. The most productive combination (Z/Sydo) obtained a revenue of 84,111.7 € ha⁻¹, while in T/Sydo revenue was 79.571,0 € ha⁻¹ and 2/Sydo 78.162,7 € ha⁻¹. Among the combinations there were slight differences in fruit quality: 4c/BA-29, 4c/EMA e T/Sydo produced pears with the highest fruit size, 4c/EMA, 4c/Sydo and T/Sydo roundest shape fruits, 4c/EMA, 1/Sydo and 4c/BA-29 combinations showed fruits with greater firmness while the fruits of combination T/BA-29, Z/EMA e 2/EMA had the highest total solid soluble content.

Keywords: clone/rootstock combination, equatorial diameter, fruit quality, yield, vigour

Introdução

A pereira ‘Rocha’ é uma variedade nacional que progressivamente tem assumido uma elevada importância socioeconómica na Região do Oeste, e noutras regiões do país. A produtividade da pereira ‘Rocha’ está dependente da combinação de vários fatores como as condições edafoclimáticas, a condução e poda, os recursos hídricos, entre outras operações culturais exigíveis a uma fruticultura cada vez mais competitiva. No entanto, a qualidade das plantas à plantação e a garantia varietal e clonal são parâmetros determinantes para a obtenção de um potencial produtivo com uma relação quantidade/qualidade economicamente vantajosa.

A exigência de mercado associada à qualidade dos frutos e a necessidade de melhorar a produtividade ao nível da exploração agrícola motivou a seleção de material clonal da cultivar ‘Rocha’ por técnicos do Centro de Atividades de Fruticultura (CAF) e da Direção Regional de Agricultura e Pescas de Lisboa e Vale do Tejo (DRAPLVT). Dos vários clones pré-selecionados pelas entidades supracitadas, foi instalado, em 2002, um campo de demonstração das pré-seleções de clones cv. ‘Rocha’ no campo experimental da Associação dos Produtores Agrícolas da Sobrena (APAS), ao abrigo do Projeto AGRO 1 – Produção Integrada de pera ‘Rocha’ – Aplicação Experimental de técnicas de produção e conservação.

O presente ensaio tem por objetivo avaliar as potencialidades de cinco clones de pereira da cultivar ‘Rocha’ pré-selecionados pelo CAF (Clone 1, Clone 2 e Clone 4c) e pela DRAPLVT (Clone Z e Clone T), enxertados em três porta-enxertos (Provence BA-29, EMA e Sydo) em igualdade de condições de solo e clima.

Este estudo visou selecionar a(s) combinação(ões), que apresentasse(m) as melhores características agronómicas e efetuar uma avaliação económica da produção de cada clone sobre diferentes porta-enxertos.

Material e Métodos

O ensaio que serviu de base a este trabalho realizou-se, nos anos de 2006 a 2014, no campo de demonstração de pereira ‘Rocha’ da APAS, situado na Sobrena, freguesia do Peral, concelho do Cadaval. O campo experimental tem uma área de 2500 m² e um compasso de 4,0 × 1,7m. Os porta-enxertos Sydo, Provence BA-29 e EMA foram instalados em março de 2002. Em abril foi realizada a enxertia a uma altura de 20 cm com os clones 1, 2, 4c, Z e T.

O pomar, com uma orientação Norte-Sul, é aramado, com uma densidade de 1470 plantas ha⁻¹, sendo conduzido em eixo central revestido. No campo de demonstração foram instaladas 8% de polinizadoras (‘Passe Crassane’ e ‘Carapinheira’). O dispositivo experimental foi constituído por 3 blocos de 5 árvores, para cada conjunto clone/porta-enxerto, 15 árvores/modalidade, perfazendo um total de 225 árvores testadas. Cada árvore foi tratada como uma repetição. No processo de seleção de árvores foram aplicados três critérios: a idade da árvore, a área seccional do tronco e estrutura de copa semelhante. As modalidades utilizadas para o estudo comparativo do comportamento agronómico resultam da combinação de cinco clones de pereira ‘Rocha’ (1, 2, 4c, Z e T) em três porta-enxertos (BA-29, EMA e Sydo).

No estudo foram avaliados os seguintes parâmetros (no período de 2006 a 2014, com exceção de 2008): produção unitária, expressa em kg árv⁻¹, com uma balança dinamométrica (Salter, Reino Unido); produção acumulada, determinada através da soma da produção unitária de cada árvore nos vários anos de ensaio; área seccional do tronco, tendo-se efetuado a medição do diâmetro 20 cm acima do ponto de enxertia do tronco de todas as árvores selecionadas com um paquímetro digital MITUTOYO (Japão), tendo os resultados sido expressos em cm; produção unitária/área seccional do tronco (kg cm⁻²) determinada através da divisão da produção pela área seccional do tronco. À colheita, em cada modalidade e por ano, no período de 2008 a 2014, foram selecionados aleatoriamente 20 frutos, sendo avaliados os seguintes parâmetros associados à qualidade comercial dos frutos: dureza da polpa (Kg 0,5 cm⁻²) recorrendo a um penetrómetro digital de bancada (TR, Itália) com um ponteiro de 8 mm de diâmetro, tendo-se realizado duas medições diametralmente opostas; calibre equatorial e longitudinal, medidos com um paquímetro digital (MITUTOYO, Japão) tendo sido os

resultados expressos em mm e teor em sólidos solúveis totais (TSS), medido com um refratômetro PR-32 (0-32%) (ATAGO, Japão), em °Brix.

Foi efetuada uma avaliação económica baseada na média ponderada dos preços médios por calibre relativos à liquidação do campo de demonstração da APAS.

A análise estatística dos dados recolhidos foi efetuada através da análise de variância (ANOVA) a dois fatores (porta-enxerto e clone) e a comparação de médias com o teste de tukey com $\alpha = 0,05$ usando o programa Statistix versão 9.0 (Tallahassee, Florida).

Resultados e Discussão

As modalidades Z/Sydo, T/Sydo, 2/Sydo, 1/BA-29 e 4c/BA-29 foram as combinações que obtiveram, na totalidade do período em estudo, tendencialmente as maiores produções acumuladas por árvore (157,8 kg arv⁻¹, 149,0 kg arv⁻¹, 149,0 kg arv⁻¹, 147,3 kg arv⁻¹ e 142,5 kg arv⁻¹, respetivamente). No entanto, Z/Sydo demonstrou tendência para ser mais produtiva do que as restantes combinações (quadro 1). Sousa e Calouro (2004) testaram os clones 1, 2 e 4c enxertados em BA-29 e verificaram que o clone 2 foi o mais produtivo, embora sem diferenças significativas para o clone 1. Se compararmos os valores de produção acumulada obtidos neste ensaio apenas das modalidades 1/BA-29, 2/BA-29 e 4c/BA-29, verificamos que os resultados obtidos não foram os mesmos, pois a menos produtiva foi a 2/BA-29 (111,6 kg arv⁻¹), apresentando diferenças significativas com as restantes combinações.

Para a produção média dos anos de ensaio (quadro 1) verificou-se que Z/Sydo (19,6 kg arv⁻¹) apresentou diferenças significativas em relação às restantes modalidades, para uma média geral de 15,9 kg arv⁻¹, à exceção de T/Sydo (18,3 kg arv⁻¹), 2/Sydo (17,8 kg arv⁻¹), 1/BA-29 (17,2 kg arv⁻¹), 4c/BA-29 (16,9 kg arv⁻¹) e 2/EMA (16,6 kg arv⁻¹).

Analisando o quadro 1, pode-se verificar que as modalidades 4c/BA-29, 1/BA-29, T/BA-29, Z/BA-29 e Z/Sydo apresentaram tendencialmente a maior área seccional do tronco (AST) na média global dos anos de ensaio. Enquanto, a modalidade 4c/BA-29 (41,0 cm²) apresentou diferenças significativas relativamente às modalidades 2/Sydo (37,0 cm²), 1/EMA (35,8 cm²), T/Sydo (35,8 cm²), 2/EMA (35,3 cm²), T/EMA (34,7 cm²), 4c/EMA (34,6 cm²), 1/Sydo (33,8 cm²), 4c/Sydo (33,6 cm²), Z/EMA (32,6 cm²) e 2/BA-29 (32,0 cm²), para uma média geral de 36,1 cm². A modalidade 2/BA-29 demonstrou tendencialmente a menor área seccional do tronco, apesar de não apresentar diferenças significativas com 2/EMA, T/EMA, 4c/EMA, 1/Sydo, 4c/Sydo e Z/EMA (quadro 1), apresentando uma redução de 21,9% de AST ($P=0,000$) comparativamente a 4c/BA-29. Sousa e Calouro (2004), verificaram que o clone 2 e 4c apresentaram maior vigor que o clone 1, quando enxertados em BA-29. Rasteiro e Sousa (2005) observaram que o clone 2 apresentou maior diâmetro médio do tronco, medido a 10 cm acima da zona de enxertia, relativamente aos clones 1 e 4c, enxertados no BA-29. Neste estudo verificou-se que o clone 4c e 1, quando enxertadas em BA-29, não apresentaram diferenças estatísticas entre si, mas sim com o clone 2, que se revelou o menos vigoroso (quadro 1).

Apesar das modalidades 4c/BA-29, 1/BA-29, T/BA-29, Z/BA-29 terem apresentado tendencialmente a maior área seccional do tronco na média global dos anos de ensaio em simultâneo com a Z/Sydo, ou seja, maior vigor, apresentaram produções acumuladas mais baixas do que a última combinação supracitada. A modalidade 2/BA-29 apresentou-se tendencialmente menos produtiva e menos vigorosa. Na Região Oeste, e de acordo com Silva (2001), entre os porta-enxertos de marmeleiro mais vulgarmente utilizados, o BA-29 tem-se mostrado o mais vigoroso originando árvores de maior arborescência que o EMA e EMC. Refere ainda que o EMA induz um desenvolvimento vegetativo mais equilibrado, uma menor arborescência. No ensaio realizado, os resultados obtidos são coerentes com o referido por Silva (2001), à exceção da combinação 2/BA-29 que demonstrou menos vigor que as restantes.

De acordo com Lombard et al. (1987) a eficiência da produção pode ser determinada através da relação da produção acumulada da árvore pela área seccional acumulada do tronco acumulada. Considerando a eficiência da produção acumulada podemos observar que a modalidade Z/Sydo apresentou tendencialmente uma maior produtividade por cm²,

apresentando apenas diferenças significativas com 2/BA-29 e 4c/BA-29 para uma média geral de $2,6 \text{ kg cm}^{-2}$. Considerando a relação produtividade por área seccional do tronco (kg cm^{-2}) na média dos anos de ensaio pode-se constatar que a modalidade Z/Sydo apresentou tendencialmente maior eficiência produtiva, apresentando diferenças significativas com 2/EMA, Z/BA-29, 1/EMA, T/BA-29, 4c/EMA, 4c/Sydo, 2/BA-29 e 4c/BA-29 (quadro 1).

Considerando a média dos anos de 2008 a 2014, os frutos da modalidade 4c/BA-29 apresentaram tendencialmente um diâmetro equatorial superior ao das outras combinações (63,9 mm), diferindo estatisticamente de 2/BA-29, 2/Sydo e T/BA-29 (quadro 2). Não se pode tirar conclusões diretas sobre qual a melhor modalidade em termos de diâmetro equatorial porque está dependente da produção das mesmas. Todavia, a modalidade 4c/BA-29 apresentou tendencialmente frutos de maior diâmetro equatorial e a quinta produção mais elevada; enquanto a modalidade T/BA-29, a sexta combinação mais produtiva, apresentou tendencialmente frutos de menor diâmetro equatorial, apresentando apenas diferenças com as interações 4c/BA-29, 4c/EMA e T/Sydo.

Apesar de existirem algumas diferenças significativas, todas as modalidades apresentaram frutos de calibre médio pertencente à mesma classe [60-65] mm. A modalidade 1/Sydo obteve a melhor distribuição de calibres do que as restantes combinações, pois apresentou maior percentagem de frutos de diâmetro equatorial superior a 60 mm (82,1%), tendo 76,4% na classe [60-70] mm e 5,7% na classe [+70] mm. As modalidades T/BA-29 e Z/BA-29 apresentaram uma maior percentagem de frutos com calibre inferior a [60] mm, 41,4% e 31,4%, respetivamente; enquanto a combinação 1/Sydo apresentou 17,9% de frutos na classe supracitada. A combinação 4c/BA-29 obteve a maior percentagem de frutos de diâmetro equatorial superior a [70] mm (10,7%). Segundo Silva (2001), o Sydo induz frutos de maior calibre, para produções idênticas por árvore ou por hectare. Refere ainda que árvores de 'Rocha' no EMA têm mostrado calibres médios a elevados (65-75mm).

Os resultados da forma dos frutos medida através da relação diâmetro equatorial/diâmetro longitudinal estão apresentados no quadro 2. Em média, de todas as modalidades em estudo, os frutos das combinações 4c/EMA, 4c/Sydo, T/Sydo, 4c/BA-29, 1/EMA, Z/EMA, 1/BA-29, T/EMA e 1/Sydo são tendencialmente os mais arredondados. No entanto, os frutos de 4c/EMA são tendencialmente os mais redondos, com uma relação de 0,85 e são significativamente diferentes dos frutos de 2/EMA, 2/Sydo, T/BA-29, Z/Sydo, 2/BA-29 e Z/BA-29, que, comparativamente, apresentaram uma forma mais alongada.

Neste estudo não se pode tirar ilações diretas sobre qual a melhor modalidade/clone em termos de forma de fruto, uma vez que a partir de 2009 foi induzido a partenocarpia. Nos resultados obtidos por Moryia et al. (2005) frutos sem sementes apresentaram uma tendência para serem deformados, com um elevado rácio comprimento/diâmetro.

Analizando o quadro 2 verifica-se que 4c/EMA, embora não possua diferenças significativas com 1/Sydo, 4c/BA-29, 2/BA-29, 1/EMA, T/EMA, Z/BA-29, 4c/Sydo, Z/EMA, apresentou tendencialmente maior dureza de polpa. Constatou-se uma diferença de $+0,1 \text{ kg } 0,5\text{cm}^{-2}$ para a modalidade 1/Sydo, que apresentou tendência para ser o segundo maior valor de dureza de polpa ($6,0 \text{ kg } 0,5 \text{ cm}^{-2}$) e $+0,6 \text{ kg } 0,5\text{cm}^{-2}$ para a combinação T/Sydo (modalidade tendencialmente com menor firmeza). Estas diferenças de dureza podem assumir um papel crucial quando se pretende atrasar a colheita para conseguir frutos de maior calibre, dado que estes são mais valorizados economicamente. Esta ilação vem de encontro aos resultados obtidos no ensaio de diâmetro equatorial, onde se verificou, como já foi referido, que os frutos da modalidade 4c/EMA apresentaram tendência para a produção de frutos de maior calibre.

O teor de sólidos solúveis dos frutos das combinações clone/porta-enxerto ao longo dos anos de ensaio estão apresentados no quadro 2. Entre as modalidades testadas, verificou-se que existiram diferenças significativas entre as diferentes combinações clone/porta-enxerto. À colheita, as modalidades T/BA-29, Z/EMA, 2/EMA, T/EMA, Z/BA-29, 4c/Sydo, T/Sydo, 1/EMA e Z/Sydo apresentaram tendencialmente um superior teor de sólidos solúveis. Na modalidade 4c/EMA, apesar de não apresentar diferenças significativas com 4c/BA-29, os

frutos demonstraram um teor de sólidos solúveis inferior às restantes (12,2° Brix), para a média geral de 12,8° Brix.

Quando se pensa em investir num pomar de pereira ‘Rocha’, e sob a ótica do produtor, tem que se ter em consideração a produção e a receita que se irá obter. Analisando as produtividades acumuladas por hectare (fig. 1), verifica-se que a modalidade Z/Sydo foi a mais produtiva com 224.794,9 kg ha⁻¹, enquanto a 2/BA-29 foi a menos produtiva (156.732,6 kg ha⁻¹). Relacionando as produções e a classificação de diâmetro equatorial pode-se verificar que a modalidade mais produtiva (Z/Sydo) foi a melhor remunerada, tendo obtido uma receita de 84.111,7 € ha⁻¹ (fig. 1), tendo 2/BA-29 obtido 53.136,2 € ha⁻¹ de receita. Uma diferença de 68.062,3 kg ha⁻¹ implica uma diferença de 30.975,5 € ha⁻¹.

Conclusões

Este estudo permitiu concluir que a modalidade Z/Sydo foi a combinação que obteve a maior produção unitária acumulada por árvore. As modalidades 4c/BA-29, 1/BA-29, T/BA-29, Z/BA-29 e Z/Sydo foram as que apresentaram tendencialmente maior vigor. A combinação Z/Sydo apresentou tendencialmente a maior eficiência de produção, ou seja maior produtividade por cm² de tronco.

A modalidade 4c/BA-29 apresentou tendencialmente frutos de maior diâmetro. No entanto, os diâmetros equatoriais médios dos frutos de todas as modalidades testadas pertencem à mesma classe de calibre, ou seja, apresentaram um diâmetro equatorial entre 60 e 65 mm.

Os frutos das modalidades 4c/EMA, 4c/Sydo, T/Sydo, 4c/BA-29, 1/EMA, Z/EMA, 1/BA-29, T/EMA e 1/Sydo revelaram tendencialmente uma forma mais arredondada. À colheita, os frutos provenientes da modalidade 4c/EMA, apresentaram tendencialmente uma maior dureza de polpa. As combinações T/BA-29, Z/EMA, 2/EMA, T/EMA, Z/BA-29, 4c/Sydo, T/Sydo, 1/EMA e Z/Sydo apresentaram tendencialmente a maior percentagem de TSS. A modalidade Z/Sydo foi a mais produtiva com 224.794,9 kg ha⁻¹ e a que apresentou a maior receita (84.111,7 € ha⁻¹), enquanto a 2/BA-29 (156.732,6 kg ha⁻¹) foi a menos produtiva. A combinação Z/Sydo obteve a maior receita pois apresentou uma boa relação produção/diâmetro equatorial.

Dos resultados apresentados pode concluir-se que, na atualidade, não existe uma combinação clone/porta-enxerto ideal para a pereira ‘Rocha’ que conduza a uma rápida entrada em produção, um vigor médio, um bom calibre, frutos mais arredondados e uma boa qualidade dos frutos. No entanto, e de tudo o que ficou exposto, poder-se-á concluir no plano económico que a modalidade Z/Sydo constitui a melhor combinação clone/porta-enxerto nas condições edafoclimáticas estudadas, seguida de 2/Sydo, tendo a primeira obtido a maior receita/ha (84.111,7 € ha⁻¹).

É ainda importante salientar que os resultados e as conclusões apresentadas se referem às condições experimentais e que não devem ser extrapoladas para condições edafoclimáticas diferentes.

Agradecimentos

À Associação dos Produtores Agrícolas da Sobrena (APAS), pela cedência do campo de demonstração, de mão de obra, de equipamento e por toda a compreensão e flexibilidade na cedência de tempo para a realização do ensaio.

Ao projeto AGRO 1, pois possibilitou a instalação do campo de demonstração das combinações porta-enxertos/clones na APAS.

Aos colegas do departamento técnico da Associação dos Produtores Agrícolas da Sobrena (APAS) pela sua colaboração.

Referências

- Lombard, P., Callan, N., Dennis, N., Looney, N., Martin, G., Renquist, A. & Mielke, E. 1988. Towards a standardized nomenclature, procedures, values, and units in determining fruit and nut tree yield performance. *HortScience* 23(5):813-817.
- Moryia, Y., Takai, Y., Okada, K., Ito, D., Shiozaki, Y. & Nakanishi, T. 2005. Parthenocarp and self-and cross-incompatibility in ten European pear cultivars. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 74(6): 424-430.
- Rasteiro, C. & Sousa, R. 2005. Demonstração das pré-selecções do material vegetativo de pereira Rocha in Manual Técnico de Produção Integrada de Pêra ‘Rocha’ – Produção Integrada de pera ‘Rocha’ – Aplicação experimental de técnicas de produção e conservação. Projecto Agro 1. ENFVN, LQARS, APAS, DGPC. Cadaval.
- Silva, A. 2001. Porta-enxertos. Cap. V. In O Livro da Pera ‘Rocha’, Vol 1. ANP. Cadaval. 101-112.
- Sousa, R. & Calouro, F. 2004. Pera Rocha do oeste: Caracterização e adaptação de clones e porta-enxertos e estudos de conservação. Jornadas Técnicas de Pomóideas. INRB. Alcobaca.

Quadros e figuras

Quadro 4 - Produção média por árvore (kg), área seccional média do tronco (cm²), produção unitária por área seccional do tronco (kg cm⁻²) das modalidades clone/porta-enxerto de 2006 a 2014, com exceção do ano de 2008. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as modalidades ($p < 0,05$).

Modalidades	Produção por árvore (kg)				AST (cm²)	Produção unitária/AST (kg cm ⁻²)				
	Acumulada		Média			Acumulada		Média		
Z/Sydo	157.8	a	19.6	a	37.6	abcde	3.1	a	0.8	a
T/Sydo	149.0	ab	18.3	ab	35.8	cdefg	3.0	abc	0.8	ab
2/Sydo	149.0	ab	17.8	ab	37.0	bcdef	3.1	ab	0.8	abc
1/BA-29	147.3	ab	17.2	abc	39.5	ab	2.5	abc	0.7	abcd
4c/BA-29	142.5	abc	16.9	abcd	41.0	a	2.3	c	0.6	d
T/BA-29	141.9	abcd	15.6	bcde	39.4	abc	2.4	abc	0.7	d
Z/BA-29	138.0	abcd	15.7	bcde	38.3	abcd	2.5	abc	0.7	cd
2/EMA	134.6	abcd	16.6	abcde	35.3	defgh	2.7	abc	0.7	bcd
T/EMA	134.4	abcd	15.6	bcde	34.7	efgh	2.5	abc	0.7	abcd
1/Sydo	134.2	abcd	15.7	bcde	33.8	fgh	2.8	abc	0.8	abcd
1/EMA	128.0	abcd	15.1	bcde	35.8	cdefg	2.5	abc	0.7	cd
4c/EMA	123.1	bcd	13.6	cde	34.6	efgh	2.5	abc	0.6	d
4c/Sydo	114.2	cd	14.7	bcde	33.6	fgh	2.5	abc	0.6	d
Z/EMA	113.9	cd	12.8	e	32.6	gh	2.7	abc	0.7	abcd
2/BA-29	111.6	d	13.1	de	32.0	h	2.3	bc	0.6	d

Quadro 5 - Diâmetro equatorial médio (mm), diâmetro equatorial/diâmetro longitudinal médio, dureza média da polpa ($\text{kg } 0,5\text{cm}^{-2}$) e teor médio de sólidos solúveis ($^{\circ}\text{Brix}$) dos frutos por modalidade clone/porta-enxerto no período de 2008 a 2014. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as modalidades ($p < 0,05$).

Modalidades	Diâmetro Equatorial (mm)		Forma do Fruto		Dureza da polpa ($\text{kg } 0,5\text{cm}^{-2}$)		Teor Sólidos Solúveis ($^{\circ}\text{Brix}$)	
4c/BA-29	63.9	a	0.83	abcd	6,0	ab	12.5	fg
4c/EMA	63.5	ab	0.85	a	6,1	a	12.2	g
T/Sydo	63.4	ab	0.83	abc	5,6	c	12.9	abcde
1/Sydo	63.2	abc	0.82	abcde	6,0	ab	12.6	ef
Z/BA-29	62.8	abc	0.80	e	5,9	ab	13.0	abcde
T/EMA	62.8	abc	0.82	abcde	5,9	ab	13.0	abcd
Z/EMA	62.6	abc	0.82	abcde	5,9	ab	13.1	ab
Z/Sydo	62.6	abc	0.81	cde	5,8	bc	12.8	abcdef
1/BA-29	62.4	abc	0.82	abcde	5,8	b	12.7	cdef
4c/Sydo	62.4	abc	0.84	ab	5,9	ab	12.9	abcde
1/EMA	62.2	abc	0.83	abcde	5,9	ab	12.9	abcdef
2/EMA	62.2	abc	0.82	bcde	5,8	b	13.0	abc
2/BA-29	62.2	bc	0.80	de	6,0	ab	12.6	def
2/Sydo	62.2	bc	0.82	bcde	5,9	b	12.7	bcdef
T/BA-29	61.6	c	0.81	bcde	5,8	bc	13.1	a

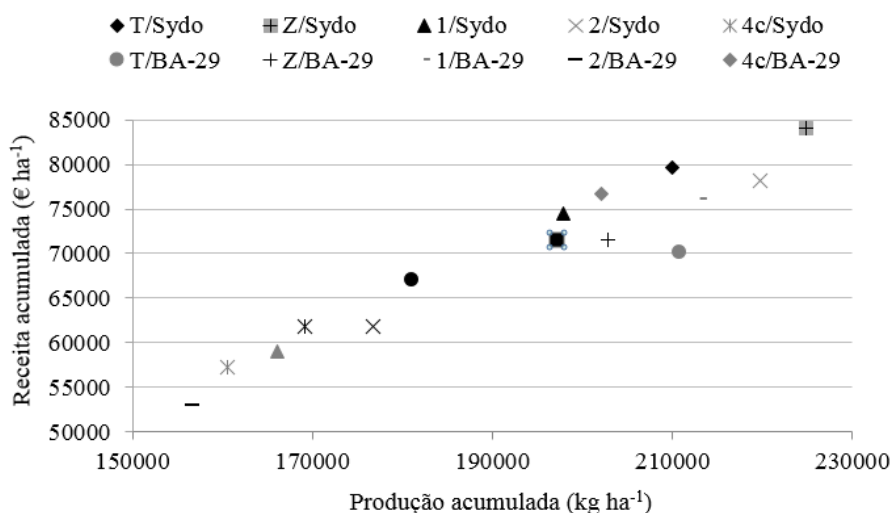


Figura 1 - Receita acumulada por hectare (€ ha⁻¹) e produtividade acumulada por hectare (kg ha⁻¹) das várias modalidades no período de 2008 a 2014.

Impacto da irrigação suplementar diurna na fisiologia de pereira ‘Rocha’ do Oeste

Susana Silvestre¹, Miguel Leão de Sousa², Jorge Marques da Silva¹ & Anabela Bernardes da Silva¹

¹ Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências, Center for Biodiversity, Functional and Integrative Genomics (BioFIG), and Departamento de Biologia Vegetal, Campo Grande, 1749-016 Lisboa, Portugal. arsilva@fc.ul.pt

² Campotec, S.A., EN 9, Zona Industrial de Casalinhos de Alfaiata, 2560-393 Silveira, Torres Vedras, Portugal.

Resumo

Em períodos de elevada irradiância, como ocasionalmente acontece na zona do Oeste durante a fase de crescimento dos frutos da pereira ‘Rocha’, ocorrem frequentemente picos de temperaturas acima dos 35°C a meio do período diurno. No limite, a estas temperaturas a taxa de transpiração foliar pode atingir valores incompatíveis com a velocidade de absorção de água pelas raízes e de transporte xilémico, podendo ocorrer o chamado “fecho dos estomas ao meio-dia”. O fecho dos estomas diminui a transpiração, levando a um aumento da temperatura foliar. A fixação efetiva de dióxido de carbono (CO₂) atmosférico é também reduzida ou anulada, limitando a produtividade da cultura. No entanto, a exposição à luz e temperatura diverge em diferentes zonas do coberto, pelo que numa mesma árvore as diferenças nas trocas gasosas de vapor de água (H₂O) e CO₂ e, consequentemente, na eficiência instantânea do uso da água poderão ser significativas. Para avaliar a importância da rega suplementar a meio do dia em pera ‘Rocha’, compararam-se as trocas gasosas de H₂O e CO₂, a performance fotoquímica e a temperatura foliar de árvores suplementadas com as de árvores não suplementadas. Em resposta ao suplemento hídrico, as árvores apresentaram maior condutância estomática e menor temperatura foliar, mas a fotossíntese não apresentou diferenças relativamente às árvores controlo.

Palavras-chave: condutância estomática, fotossíntese, transpiração, eficiência do uso de água, performance fotoquímica.

Abstract

Assessing the physiological impact of supplementary midday watering in ‘Rocha’ pear.

In some regions of Portugal, orchards of ‘Rocha’ pear are subjected, during fruit growth stages, to high irradiance and midday temperatures exceeding 35°C. These conditions may result in high transpiration rates, exceeding the hydraulic conductivity of the xylem, leading to a transient leaf water deficit and consequently to the so-called midday stomatal closure. Stomatal closure decreases transpiration (which increases leaf temperature) and photosynthesis, decreasing crop productivity. However, irradiance and temperature varies within the canopy, and therefore variations in gas exchange and instantaneous water use efficiency may also occur. In order to assess the physiological impact of midday supplementary irrigation, gas exchange (H₂O and CO₂), photochemical performance and leaf temperature were measured in supplemented and control ‘Rocha’ pear trees. Supplementary watering increased stomatal conductance and decreased leaf temperature, but no effects on photosynthesis was observed.

Keywords: stomatal conductance, photosynthesis, transpiration, water use efficiency, photochemical performance

Introdução

A pera 'Rocha' do Oeste é uma variedade portuguesa com Denominação de Origem Protegida (DOP). A sua produção desenvolve-se entre Mafra e Leiria, principalmente nos concelhos do Bombarral e Cadaval (Dentinho, 2009). Está bem estabelecido que, em climas mediterrânicos, e designadamente em Portugal, ocorre em diversas espécies esclerófitas, no período estival, o encerramento estomático a meio do dia (Tenhunen et al. 1981, 1982). Este fenómeno não é, porém, exclusivo das regiões mediterrânicas e de outras zonas áridas (Schulze et al., 1980), estando descrito para abeto da Noruega (*Picea abies*) implantado na zona Alpina. Nesta espécie, foram encontrados diferentes comportamentos estomáticos na zona superior e inferior do coberto (Zweifel et al., 2002). Essas diferenças, que resultam de diferentes exposições à luz e temperatura, podem originar diferenças nas trocas gasosas de vapor de água (H_2O) e CO_2 e, conseqüentemente, na eficiência instantânea do uso da água. Foram propostos essencialmente três modelos explicativos para o encerramento estomático a meio do dia. O primeiro modelo considera que, sob as elevadas temperaturas do meio-dia estival, a taxa de transpiração foliar atinge valores incompatíveis com a velocidade de absorção de água pelas raízes e de transporte xilémico, gerando-se um decréscimo do potencial hídrico e da pressão de turgescência das folhas diretamente responsáveis pelo encerramento estomático (Kramer, 1995). O segundo modelo explica o encerramento estomático exclusivamente com base no elevado deficit de pressão de vapor entre a folha e a atmosfera, resultante da temperatura elevada e da baixa humidade do ar frequentemente observadas a meio de um dia estival (Bunce, 2006). O terceiro modelo é não-hidráulico e defende que os estomas encerram devido a um sinal químico proveniente das raízes (Liang et al., 1996). Independentemente do modelo em causa, o encerramento estomático diminui a transpiração, o que pode beneficiar a economia de água da planta, mas origina um aumento da temperatura foliar. Quer as temperaturas excessivamente elevadas quer a diminuição da condutância do dióxido de carbono (CO_2) atmosférico decrescem a taxa fotossintética, limitando a produtividade da cultura. Na zona do Oeste, durante a fase de desenvolvimento da pera 'Rocha', ocorrem frequentemente a meio do período diurno picos de temperaturas acima dos 35°C aliados a elevada irradiância, que propiciam as condições para o potencial encerramento estomático. Esse fenómeno foi já observado em Itália em pereiras da variedade Abbé Fétel (Morandi et al., 2014).

Neste trabalho, assumiu-se como hipótese a existência de uma limitação hidráulica, a meio do dia, causadora de diminuição da condutância estomática e da fotossíntese, suscetível de ser eliminada ou atenuada por uma rega suplementar. Para testar esta hipótese, compararam-se as trocas gasosas de H_2O e CO_2 , a performance fotoquímica e a temperatura foliar de árvores suplementadas, às 12:00, com 20 L de água, com as de árvores controlo que não receberam esse suplemento.

Material e Métodos

Foram escolhidas seis árvores representativas de um pomar de pera 'Rocha' localizado em Quinta do Brejo (Alfeizerão, Alcobaça) (fig. 1), com baixa densidade de plantação (4,5x2,0 m), crescendo sobre solos franco-argilosos frequentemente alagados no período invernal e com histórico de produções elevadas e regulares (baixa alternância). As árvores selecionadas foram divididas em dois grupos homogêneos, um sujeito a rega suplementar (RS) e outro mantido em condições de rega habitual (Controlo, C). A rega suplementar foi efetuada às 12.00 h pela adição de 20 L de água em cada árvore, que foi espalhada no terreno numa área circundante do tronco coincidente com a área projetada pela copa. As medições foram feitas em folhas jovens totalmente expandidas, e não-destacadas, pertencentes a verdascas orientadas a sul (fig. 1).

A determinação das trocas gasosas foi realizada com um analisador de gás por infravermelhos (LCpro+ Adc BioScientific Ltd, UK) em condições ambiente: concentração de CO_2 atmosférico próxima de 390 ppm, temperatura do ar de 35°C e humidade relativa de 45%. A radiação fotossinteticamente ativa incidente na superfície das folhas foi elevada ($\approx 1700 \mu mol m^{-2} s^{-1}$) e não variou significativamente entre os dois tratamentos. A fotossíntese aparente (A,

$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), a condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e a taxa transpiratória (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) foram medidas. As eficiências intrínseca (WUE_i , $\mu\text{mol CO}_2 \text{mmol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$) e instantânea (WUE , $\mu\text{mol CO}_2 \text{mmol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$) do uso de água foram calculadas como A/g_s e A/E , respectivamente.

A performance fotoquímica foi analisada através de um JIP-test pela medição da fluorescência da clorofila *a* com um *Handy Plant Efficiency Analyzer – Chlorophyll Fluorimeter* (Hansatech Instruments, England). As medições foram feitas colocando clips em 8 folhas do lado sul (sol) e 8 folhas do lado norte (sombra) com pré-adaptação à escuridão durante 20 min, após os quais foi aplicado um pulso de luz saturante ($3500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) durante 1 s. A cinética rápida da indução de fluorescência foi gravada e os respectivos parâmetros calculados segundo Silvestre *et al.* (2014).

A temperatura representativa da copa foi medida através de registos termográficos obtidos com uma câmara FLIR E50bx (FLIR Systems, Wilsonville, Oregon, U.S.A.) com uma lente FOL18 e resolução de infravermelhos de 240×180 . As termografias foram obtidas aos 40, 60 e 210 min após a rega suplementar das árvores e posteriormente analisadas com o software FLIR Tools® Versão 4.1.14066.1001. Em cada termografia foram seleccionadas áreas correspondentes às folhas da copa, excluindo os frutos, troncos e áreas vazias de forma a obter resultados de temperatura representativos da copa exposta a sul.

A análise estatística foi realizada com SigmaPlot® Versão 11. Os dados das trocas gasosas foram analisados com um teste *t* ($P < 0,05$) para verificar diferenças entre os grupos Rega Extra e Controlo. Os dados da performance fotoquímica foram analisados através de análise de variâncias (ANOVA) bidirecional ($P < 0,05$) para verificar os efeitos da rega suplementar e da exposição solar. A temperatura da folha e os respectivos tempos de medição foram também analisados com uma ANOVA bidirecional ($P < 0,05$).

Resultados e Discussão

A condutância estomática (g_s) determinada a meio do dia em folhas plenamente expostas ao sol aumentou significativamente com a rega suplementar das árvores (fig. 2A). O valor médio de g_s subiu de $0,37 \mu\text{moles de CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1} \pm 0,80$ quando determinada em folhas de árvores mantidas com o regime de rega habitual, para $0,40 \mu\text{moles de CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1} \pm 0,077$, correspondendo a um aumento significativo de 10% com o suplemento de rega. Este acréscimo de g_s não se refletiu numa maior fotossíntese (fig. 2B). A taxa fotossintética aparente (A) foi idêntica em qualquer dos tratamentos, tendo sido fixadas em média $18,2 \mu\text{mole de CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A taxa transpiratória (E) aumentou ligeira mas significativamente com a rega extra, em cerca de 4% (fig. 2C). O aumento de E , embora em linha com o aumento de g_s observado, não alterou as eficiências intrínseca e instantânea do uso de água (fig. 2D). No entanto, a maior taxa transpiratória traduziu-se numa diminuição da temperatura das árvores suplementadas com irrigação (fig. 3). A inexistência de aumento da taxa fotossintética, apesar do aumento observado na condutância foliar, sugere que a fotossíntese das árvores estudadas não se encontrava sujeita a limitações estomáticas.

A eficiência fotoquímica potencial máxima (F_v/F_m) não diferiu significativamente entre árvores com regime de rega habitual (C) e árvores com rega suplementar (RS) (fig. 4A). Contudo, observou-se uma diminuição significativa de F_v/F_m nas folhas da copa exposta a sul, quando comparada com a zona exposta a norte, zona predominantemente de sombra. A razão F_v/F_m indica a eficiência máxima a que os centros de reação do fotossistema II (PSII) são capazes de operar e a sua diminuição indica a existência de stresse fisiológico, muito particularmente de fotoinibição. Em contraste, o funcionamento do centro de reação do fotossistema II é relativamente resistente ao stresse hídrico (Marques da Silva & Arrabaça 2004). Os resultados indicam que o estado hídrico das árvores, a meio do dia, não era limitante da atividade máxima potencial do PSII. Não obstante, indicam também que, apesar do conforto hídrico, a zona da copa mais exposta à incidência solar apresentava fotoinibição significativa. As folhas orientadas a sul e bem expostas ao sol, desenvolvidas sob maior irradiância, são as

que mais contribuem para a produtividade da cultura (Sousa, 2013), pelo que este decréscimo pode ter consequências importantes. O Índice de Performance (PI_{ABS}) apresenta um comportamento em tudo idêntico a F_v/F_m (fig. 4B). Este parâmetro é amplamente utilizado como indicador de stress (Mehta et al. 2010; Silvestre et al. 2014), devido à sua natureza integrativa de toda a atividade fotoquímica, pois incorpora informação referente à captura de energia pela antena fotossintética, à separação de cargas nos centros de reação e ainda ao transporte eletrónico fotossintético (Silvestre et al. 2014). A semelhança entre o seu comportamento e o de F_v/F_m sugere que a elevada irradiância se encontrava a afetar sobretudo o funcionamento do centro de reação do PSII, com menos impacto nos restantes processos.

Conclusões

A rega suplementar a meio do dia causou um aumento da condutância estomática e um decréscimo da temperatura foliar representativa das pereiras ‘Rocha’, sem um aumento significativo da taxa líquida de fixação de CO_2 . Também se observou fotoinibição nas folhas expostas a sul, comparativamente à exposição norte, fotoinibição essa que não foi revertida pela rega suplementar

Importa repetir este procedimento experimental com outras condições meteorológicas e em árvores com diferentes regimes hídricos, de forma a aclarar não só os efeitos a nível fotoquímico e fotossintético das temperaturas altas, mas também o potencial de reversibilidade destes efeitos com rega suplementar nos períodos de maior calor.

Agradecimentos

Agradecemos o apoio financeiro ao projecto PRODER, 4.1 Cooperação para a Inovação, nº 44894.

Referências

- Bunce, J.A. 2006. How do leaf hydraulics limit stomatal conductance at high water vapour pressure deficits? *Plant, Cell and Environment* 29: 1644 - 1650.
- Dentinho, J.M. 2009. Pera-Rocha. *Pessoas & Territórios* 2: 26 - 29.
- Kramer, P.J. & Boyer, J.S. 1995. *Water relations of plants and soils*. Academic Press, San Diego.
- Liang, J., Zhang, J. & Wong, M.H. 1996. Stomatal conductance in relation to xylem sap abscisic acid concentrations in two tropical trees, *Acacia confusa* and *Litsea glutinosa*. *Plant, Cell and Environment* 19: 93-100.
- Marques da Silva, J.M. & Arrabaça, M.C. 2004. Photosynthesis in the water stressed C4 grass *Setaria sphacelata* is mainly limited by stomata with both rapidly and slowly imposed water deficits. *Physiologia Plantarum* 121: 409-420.
- Mehta, P., Jajoo, A., Mathur, S. & Bharti, S. 2010. Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on photosystem II in wheat leaves. *Plant Physiology and Biochemistry* 48: 16-20.
- Morandia, B., Losciale, P., Manfrini, L., Zibordi, M., Anconelli, S., Pierpaoli, E. & Grappadelli, L.C. 2014. Leaf gas exchanges and water relations affect the daily patterns of fruit growth and vascular flows in Abbé Fétel pear (*Pyrus communis* L.) trees. *Scientia Horticulturae* 178: 106-113.
- Schulze, E.-D., Lange, O.L., Evenari, M., Kappen, L. & Buschbom, U. 1980. Long-term effects of drought on wild and cultivated plants in the Negev Desert. II. Diurnal patterns of net photosynthesis and daily carbon gain. *Oecologia* 45: 19-25.

- Sousa, M.A.L. 2013. Avaliação de novos sistemas de produção de Pera Rocha em alta densidade com recurso à modelação e à integração de processos fisiológicos. ISA, Lisboa.
- Silvestre, S., Sousa Araújo, S., Vaz Patto, M.C. & Marques da Silva, J. 2014. Performance index: An expeditious tool to screen for improved drought resistance in the *Lathyrus* genus. *Journal of Integrative Plant Biology* 56: 610-621.
- Tenhunen, J.D., Lange, O.L. & Braun, M. 1981. Midday stomatal closure in Mediterranean type Sclerophylls under simulated habitat conditions in an environmental chamber II. Effect of the complex of leaf temperature and air humidity on gas exchange of *Arbutus unedo* and *Quercus ilex*. *Oecologia* 50: 5 – 11.
- Tenhunen, J.D., Lange, O.L. & Jahner, D. 1982. The control by atmospheric factors and water stress of midday stomatal closure in *Arbutus unedo* growing in a Natural Macchia. *Oecologia* 55: 165 – 169.
- Zweifel, R., Böhm, J.P. & Häsler, R. 2002. Midday stomatal closure in Norway spruce – reactions in the upper and lower crown. *Tree Physiology* 22: 1125–1136.

Quadros e figuras



Figura 1 - Vista aérea da Quinta do Brejo (Alfeizerão, Alcobaça) com indicação da zona e orientação sul / norte do posto biológico onde se situam as árvores estudadas.

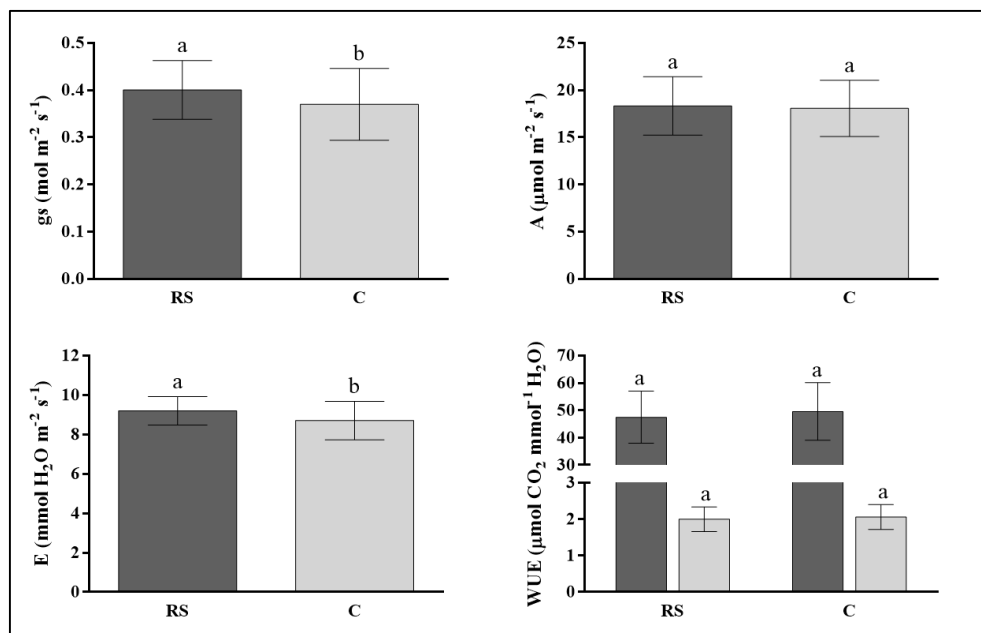


Figura 2 - A) Condutância estomática (g_s); B) fotossíntese aparente (A); C) taxa transpiratória (E), e D) eficiência do uso de água intrínseco (■ WUE_i) e instantâneo (■ WUE) para as árvores com rega suplementar (RS) e plantas com regime de rega habitual (C). Letras diferentes em cima das barras indicam diferenças estatisticamente significativas entre RS e C ($P < 0,05$). Valores representam média \pm desvio padrão.

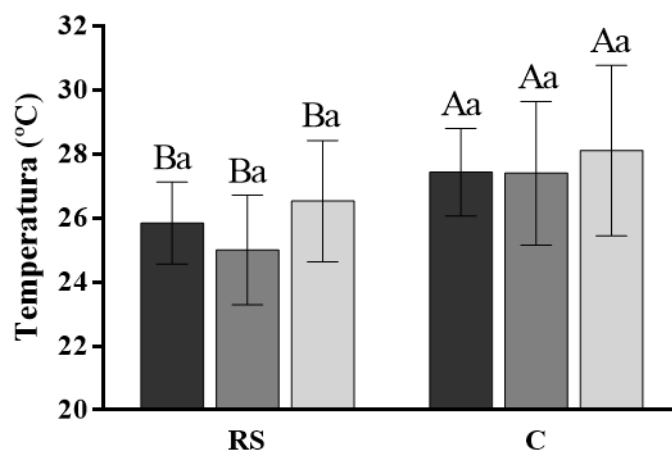


Figura 3 - Temperatura representativa da copa exposta a sul, medida por termografia para as árvores com (RS) e sem (C) rega suplementar, a ■ 40, ■ 60 e ■ 210 min após a mesma. Letras diferentes em cima das barras indicam diferenças estatisticamente significativas entre RS e C (maiúsculas) e tempo (minúsculas) ($P < 0,05$). Valores representam média \pm desvio padrão.

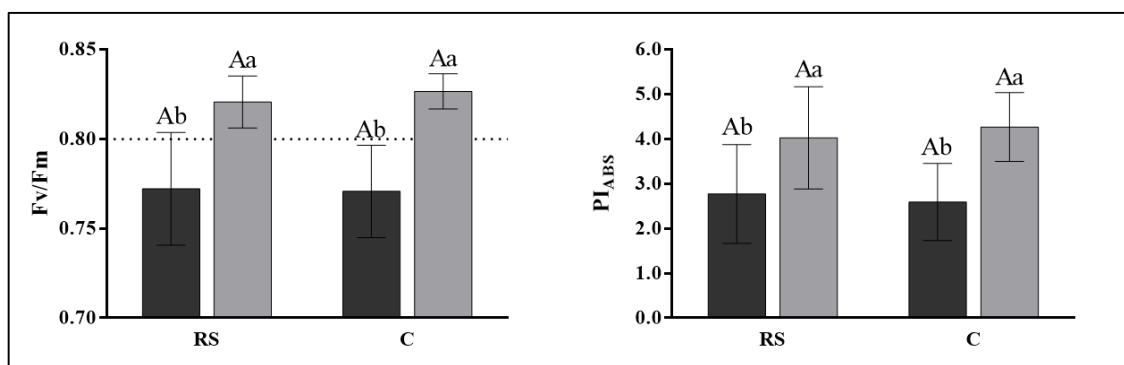


Figura 4 – A) Eficiência fotoquímica potencial máxima do fotossistema II (Fv/Fm) e B) índice de performance (PI_{ABS}) para as árvores com (RS) e sem (C) rega suplementar (■ sul, ■ norte). Letras diferentes em cima das barras indicam diferenças estatisticamente significativas entre RS e C (maiúsculas) e tempo (minúsculas) (P < 0,05). Valores representam média ± desvio padrão.

Melão Casca de Carvalho (*Cucumis melo* L.) – a cultura de um fruto promissor

Hortense Fernandes¹, Carlos Ribeiro² & Eduardo Rosa³

¹ Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real - Portugal, hortenseafernandes@gmail.com

² Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Departamento de Agronomia, Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real - Portugal, cribeiro@utad.pt

³ Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Departamento de Agronomia; Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real - Portugal, erosa@utad.pt

Resumo

O melão ‘Casca de Carvalho’, produzido no Noroeste de Portugal, apresenta características organolépticas particulares muito apreciadas. Mas a baixa capacidade produtiva de melão de qualidade (com as características diferenciadoras em relação a outras cultivares) leva à necessidade de obter informação sobre o sistema produtivo e a relação entre práticas culturais e a qualidade final do fruto obtido. A calendarização sumária da produção; a identificação das diferentes fases do ciclo produtivo e caracterização de componentes químicas do melão contribuem para o melhor conhecimento da cultura e do fruto, e potenciar a sua utilização.

Neste trabalho acompanharam-se parcelas de produção, desde a instalação da cultura à colheita, para o registo de procedimentos e calendarização da produção, e no fruto. Quantificaram-se sólidos solúveis totais (SST), atividade antioxidante e vitamina C.

Dos resultados obtidos, ressalta que o melão ‘Casca de Carvalho’ apresenta valores tendencialmente mais baixos de açúcares e valores superiores de atividade antioxidante e vitamina C. É perceptível o interesse alimentar e dietético deste fruto que possui particularidades *sui generis* na sua produção e nas suas características organolépticas.

É no entanto imperativo melhorar o rendimento produtivo e incrementar a qualidade global do melão potenciando outras utilizações para além do consumo em fresco.

Palavras-chave: produção, ecótipos, sólidos solúveis totais, atividade antioxidante, vitamina C

Abstract

‘Casca de Carvalho’ melon (*Cucumis melo* L.) – a promising fruit

‘Casca de Carvalho’ melon is produced in the Northwest of Portugal. It presents particular organoleptic characteristics, greatly appreciated. But the low productive capacity of fruits with specific quality (with the differentiating characteristics in relation to other cultivars) leads to the necessity of obtaining information about the productive system and the relationship between technical practices and the final quality of the melons. The summary schedule of production; the identification of the different phases of the production cycle and characterization of chemical components of melon contributes to a better knowledge of this production and the fruit obtained, giving other ways for melon use.

During the practical work, production fields were monitored, since the installation of the crop until harvest, with record of procedures and schedule production. In the laboratory, total soluble solids (TSS), antioxidant activity and vitamin C were quantified.

The results showed that ‘Casca de Carvalho’ melon has tended to lower values of sugars and higher values of antioxidant activity and vitamin C. It is noticeable the food and dietary interest in this fruit, with *sui generis* characteristics in its growth and organoleptic characteristics.

However, the improvement of the productive efficiency and increasing the overall quality of the melon are fundamental issues, enhancing other uses beyond in fresh consumption.

Keywords: Growth, ecotypes, total soluble solids, antioxidant activity, vitamin C.

Introdução

O meloeiro é uma cultura importante a nível mundial, sendo no Continente Asiático que está concentrada a maior produção (70%) (OMAIAA, 2011).

Em Portugal, o meloeiro é cultivado em Primavera-Verão, e o seu fruto é tipicamente consumido em fresco. O sabor fresco e doce do melão torna-o um fruto muito apreciado entre os consumidores.

O melão ‘Casca de Carvalho’, fruto com características diferenciadas relativamente ao convencional, é uma cultivar originária de Entre Douro e Minho (Noroeste de Portugal) e subdividido em três ecótipos – Fino, Robusto e Ponderado – a que correspondem 3 sub-regiões de produção. Os seus frutos são apimentados, com sabor menos doce e polpa vitrescente (OMAAIA, 2011) que o distinguem do melão normal. Estes parâmetros são essenciais a nível qualitativo neste melão, associados à intensidade do aroma.

A qualidade do fruto inicia-se no campo e é aqui que se define a qualidade em pós-colheita, que irá perdurar até ao momento da senescência do melão. O estado de maturação é factor importante na qualidade, visto que mudanças fisiológicas serão determinantes nos parâmetros físico-químicos e sensoriais do melão (Kader, 2008; Mizrach, 2008; Vallone et al., 2013). O grau de doçura dos frutos é determinante como fator qualitativo e também considerado como índice de maturação do melão (Obando et al., 2008). Melões de polpa laranja (cantaloupe) e verde (honeydew) têm na sua constituição vários nutrientes e vitaminas (A, C, E e ácido fólico), importantes pela sua capacidade antioxidante e nutricional (Li et al., 2006). O poder antioxidante encontrado nos frutos é valorizado na saúde humana, pois promove a redução de doenças cardíacas e cancerígenas (Insel et al., 2004; Solval et al., 2012).

Considerando o caráter regional da produção de melão ‘Casca de Carvalho’ (MCC) e a necessidade de o caracterizar, valorizar e promover, é objetivo deste trabalho observar os diferentes estádios de desenvolvimento da planta e do melão, o processo produtivo, as operações e amanhos culturais mais relevantes, de modo a obter-se o ciclo cultural do melão ‘Casca de Carvalho’, alicerçados na caracterização de compostos químicos - sólidos solúveis totais (SST), actividade antioxidante e vitamina C.

Material e Métodos

Produção e acompanhamento do ciclo produtivo

O melão ‘Casca de Carvalho’, resultante de uma cultura anual, foi semeado em Primavera-Verão, entre os meses de Março e Junho de 2012 (quadro 1), em três locais de Entre Douro e Minho – Soutelo, Famalicão e Lousada (quadro 2). Os solos são cambissolos húmicos de reação ácida e assentes em rocha-mãe granítica (APA, 2013). As condições climáticas de Entre Douro e Minho são caracterizadas por invernos chuvosos e verões pouco quentes (IPMA, 2013). No ano decorrente do estudo as condições climáticas caracterizaram-se por níveis de pluviosidade superior à dos dois anos anteriores e temperaturas instáveis, atrasando o início da campanha.

Foi acompanhada a evolução da cultura/fruto e do sistema produtivo do melão ‘Casca de Carvalho’, nas parcelas de produção com levantamento ilustrativo dos diferentes estádios de desenvolvimento.

Na fase final da produção foram analisados melões de cada um dos ecótipos das diferentes parcelas de produção.

Caraterização química do melão 'Casca de Carvalho'

A colheita, efectuada entre as 6 e as 8h, foi feita em três datas distintas em cada um dos locais de produção (quadro 2). Os frutos foram transportados para laboratório para a determinação dos parâmetros químicos.

O teor de sólidos solúveis totais (SST) foi avaliado em sumo de melão através da quantificação do índice refratométrico (IR) em refratómetro Atago PR-101.

A atividade antioxidante foi determinada com base nos estudos de Marinova et al. (2005), Heimler et al. (2007) e Lamien-Meda et al. (2008), quantificando-se a inibição dos radicais livres 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) de acordo com o procedimento experimental de Siddhraj & Becker (2003), por absorvância em espectrofotómetro UV-Vis (U-2000, serial 121-0120, Hitachi Ltd., Japan) a 517nm, e o resultado expresso em % de inibição de radicais de DPPH.

A vitamina C foi quantificada tendo por base a metodologia de Mau et al. (2002), Chun et al. (2004), Sousa (2005) e Barros et al. (2007), em espectrofotómetro UV (U-2000, serial 121-0120, Hitachi Ltd., Japan) a 515nm, e o resultado expresso em mg.g⁻¹ de peso seco.

Análise estatística

Foi feita análise de variância e separação de médias através do teste de Tuckey-HSD com o pacote informático JMP-8. São apresentados os valores médios e desvio padrão.

Resultados e Discussão

O processo produtivo (fig. 1) e os diferentes estádios de desenvolvimento e crescimento do meloeiro (fig. 2, 3, 4) e do melão 'Casca de Carvalho' (fig. 5, 6) foram observados e ilustrados em figuras. Foi possível registar as operações culturais, como mobilização do solo, fertilizações e correções, sementeira/transplantação, sistema de rega e tratamentos fitossanitários e de que forma elas diferem entre produtores. Verificou-se que os agricultores mobilizam o solo com charrua e posteriormente com fresa para incorporação de matéria orgânica (4 - 6kg/m²) (fig.1A) e armação de camalhões (fig. 1B). É feita cobertura de solo na linha com tela ou polietileno (PE) negro (fig. 1C, 1D, 1E). A sementeira é feita directamente no solo com sistema de semi-forçagem (fig. 1F, 1G) ou em tabuleiros para posterior transplantação (fig. 2B, 2C, 2D) para local definitivo (fig. 2E). O crescimento do meloeiro (fig. 3A, 3B, 3C, 3D) é relativamente rápido, com grande expressão vegetativa, sendo necessária a existência de podas (fig. 3E, 3F) para o controlo do crescimento vegetativo e da produção. A cultivar 'Casca de Carvalho' é monóica (fig. 4A, 4B, 4C) e a polinização é entomófila. Alguns produtores colocam polinizadores (fig. 4D, 4E) nos meloais, enquanto outros fazem polinização manual (fig. 4F, 4G), não existindo, em alguns casos, qualquer controlo da polinização. Após a fertilização dá-se o vingamento do fruto (fig. 5) que só está concluído 10 dias após a floração. O crescimento (fig. 6A) do melão inicia-se após o vingamento e demora sensivelmente 25 dias até formar reticulado (fig. 6B). Posteriormente dá-se o enchimento (fig. 6C) do melão e maturação. A colheita é feita segundo a sensibilidade do produtor (fig. 7), visto este melão não auferir nenhum sinal que defina o momento da colheita. Foi possível verificar que o ciclo produtivo do melão 'Casca de Carvalho' é de aproximadamente 100 dias (quadro 3).

Das observações feitas no campo e da informação disponibilizada pelos produtores, ressaltam aspectos importantes da cultura do melão 'Casca de Carvalho': nem todos os produtores procedem à análise prévia dos solos, com a consequente indefinição no cálculo das exigências de corretivos e fertilizantes; a maioria dos produtores faz uso de armação em camalhão, ainda que a plantação ocorra no sulco ou no camalhão (em função do produtor); o sistema de poda está generalizado como sendo 2-3-3; dotações e momentos de rega, aplicação de fertilizantes em cobertura/fertirrigação e aplicação de fitofármacos para controlo de pragas e doenças são fatores algo aleatórios e cuja tomada de decisão carece de rigor e carácter técnico-científico.

O desconhecimento em algumas operações culturais e processo produtivo e a falta de informação precisa e técnica pode explicar as baixas quantidades de frutos de qualidade desta cultivar (20 a 25% da produção anual). É necessário perceber a melhor forma de preparação do terreno; o efeito da utilização da tela ou de PE negro, da utilização de plantas enxertadas, da irrigação, fertilizações e fitofármacos; o momento e forma de poda; como controlar e minimizar perdas na fecundação; qual o momento ótimo e índices de colheita e o comportamento do fruto em pós-colheita.

As características singulares (fig. 8) do melão ‘Casca de Carvalho’ são auferidas na avaliação da componente qualitativa efetuada (quadro 4). Os valores de IR para o melão ‘Casca de Carvalho’ variaram entre 7,80°Brix para o ecótipo Robusto e 8,70°Brix para o ecótipo Ponderado, valores consideravelmente mais baixos em comparação com cultivares como Pele de Sapo e Rochet que, no estado ótimo de maturação, apresentam valores de 15,5 e 14,6°Brix de IR, respectivamente (Villanueva et al., 2004).

Embora a atividade antioxidante não apresente diferenças significativas entre datas de amostragem, sabe-se que o ecótipo influencia a % de inibição média de radicais metálicos de DPPH (dados não mostrados), contudo o ecótipo Ponderado é o que apresentou valores tendencialmente superiores de atividade antioxidante, muito devido à coloração da polpa alaranjada (fig. 8C) que pressupõe presença elevada de carotenóides e consequentemente maior atividade antioxidante (Lester & Hodges, 2008).

Relativamente aos valores de vitamina C, o ecótipo Ponderado apresentou valores tendencialmente superiores, influenciando também os valores obtidos de atividade antioxidante.

Os valores de IR do melão ‘Casca de Carvalho’ foram inferiores e os de atividade antioxidante e vitamina C foram superiores aos verificados noutras cultivares de melão, o que pode potenciar a sua utilização dietética.

Conclusões

O acompanhamento às parcelas de produção do melão ‘Casca de Carvalho’ permitiu obter informação sobre o processo produtivo e entender os diferentes momentos do desenvolvimento da cultura. Contudo, a necessidade de obter frutos de melhor qualidade e em maior quantidade, leva a que seja fundamental um novo acompanhamento do processo produtivo, com o intuito de dar resposta às dificuldades e desconhecimentos dos produtores. Assim, é necessário perceber o efeito de cada fase de desenvolvimento da cultura e do fruto, de modo a minimizar perdas e aumentar o número de frutos que expressam as características qualitativas do melão ‘Casca de Carvalho’.

Os valores de índice refractométrico (sólidos solúveis totais) reduzidos, acompanhados de atividade antioxidante e vitamina C superiores, em comparação com outras cultivares, fazem deste melão um fruto com potencial qualitativo elevado a explorar em fresco e em aplicações para a agroindústria.

Agradecimentos

À D. Rosa Paula Carvalho e ao Doutor Alfredo Aires, do Laboratório de Fitofármacos da UTAD, pela colaboração na quantificação de parâmetros químicos, e aos produtores do melão ‘Casca de Carvalho’ pela disponibilização dos campos de produção e de exemplares de melão.

Referências

- APA, s.d. Atlas Digital do Ambiente. 2013. sniamb.apambiente.pt/webatlas
- Barros, L. et al., 2007. Total phenols, ascorbic acid, B-caroteno and lycopene in Portuguese wild mushrooms and their antioxidant activities. *Food Chemistry* 103: 413-419.

- Chun, K., Smith, N., Sakagawa, A. & Lee, C., 2004. Antioxidant properties of raw and processed cabbages. *InterJ Food Sci Nutr* 55: 191-199.
- Heimler, D. et al., 2007. Polyphenol content and antioxidant activity in some species of freshly consumed salads. *Journal Agricultural Food Chemistry* 55: 1724-1729.
- Insel, P., Turner, R. E. & Ross, D., 2004. Nutrition. 2ª edição ed. Chicago: American dietetic association.
- IPMA, s.d. Instituto Português do mar e da atmosfera. 2013. www.ipma.pt/
- Kader, A., 2008. Perspective flavor quality of fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88: 1863-1868.
- Lamien-Meda, A. et al., 2008. Content and Antioxidant activity of fourteen wild edible fruits from Burkina Faso. *Molecules* 13: 581-594.
- Lester, G., Hodges, D., 2008. Antioxidants associated with fruit senescence and human health: Novel orange-fleshed non-netted honey dew melon genotype comparisons following different seasonal productions and cold storage durations. *Postharvest Biology and Technology* 48: 347-354.
- Li, Z., Yao, L., Yang, Y. & Li, A., 2006. Transgenic approach to improve quality traits of melon fruit. *Scientia Horticulturae* 108: 268-277.
- Marinova, D., Ribarova, F. & Atanassova, M., 2005. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy* 40: 255-260.
- Mau, J.-L., Lin, H.-C. & Chen, C.-C., 2002. Antioxidant properties of several medicinal mushrooms. *Journal Agricultural Food Chemistry* 50: 6072-6077.
- Mizrach, A., 2008. Ultrasonic technology for quality evaluation of fresh fruit and vegetables in pre- and postharvest processes. *Postharvest Biology and Technology* 48 (2008) 315-330.
- Obando, J. et al., 2008. Identification of Melon Fruit Quality Quantitative Trait Loci Using Near-isogenic Lines. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 133: 139-151.
- OMAAIA, 2011. A Comercialização do Melão em Portugal. 2012. www.observatorioagricola.pt/item.asp?id_item=107
- Siddhraj, P. & Becker, K., 2003. Antioxidant properties of various solvents extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam) leaves. *Journal Agricultural Food Chemistry* 51: 2144-2155.
- Solval, K., Sundararajan, S., Alfaro, L. & Sathivel, S., 2012. Development of cantaloupe (*Cucumis melo*) juice powders using spray drying technology. *LWT - Food Science and Technology* 46: 287-293.
- Sousa, J., 2005. Aulas práticas de Química e Bioquímica dos Alimentos (1º módulo). Licenciatura em Tecnologia e Segurança Alimentar, Lisboa: Universidade Nova de Lisboa, Faculdade de Ciências e Tecnologia- Departamento de Química- Secção de Química Orgânica Aplicada.
- Vallone, S. et al., 2013. An integrated approach for flavour quality evaluation in muskmelon (*Cucumis melo* L. *reticulatus* group) during ripening. *Food Chemistry* 139: 171-183.
- Villanueva, M., Tenorio, M., Esteban, M., Mendoza, M., 2004. Compositional changes during ripening of two cultivars of muskmelon fruits. *Food Chemistry* 87: 179-185.

Quadro 1 - Ciclo cultural do melão ‘Casca de Carvalho’

[illegible]

Quadro 2 - Descrição da cultivar ‘Casca de Carvalho’

Ecótipo	Denominação conhecida	Local de produção	Localização (latitude/longitude)	Datas de colheita		
Fino	tipo Soutelo	Soutelo	41.607712°/-8.443897°			
Robusto	tipo Barcelos	Famalicão	41.394564°/-8.493117°	27-08	31-08	6-09
Ponderado	tipo Vale Sousa	Lousada	41.282249°/-8.261836°			

Quadro 3 – Ciclo produtivo do melão ‘Casca de Carvalho’

Fases	Duração das fases de produção (dias)			
Sementeira	20-25			
Transplantação		10-15		
Podas			10-15	
Floração				3-4;
Vingamento				20-30
Reticulado				15-20
Enchimento				8-15
Colheita				

Quadro 4 – Sólidos solúveis totais, atividade antioxidante e vitamina C dos ecótipos estudados em diferentes datas de amostragem. Letras diferentes significam valores estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

	IR	Atividade Antioxidante	Vitamina C
	27-ago		
Fino	10,00±0,80 ^a	59,66±12,44	5,91±0,13 ^c
Robusto	8,10±2,00 ^b	65,07±7,30	5,94±0,11 ^c
Ponderado	9,10±1,70 ^{ab}	82,38±1,97	6,22±0,11 ^{abc}
	31-ago		
Fino	9,20±2,70 ^{ab}	52,00±13,79	6,26±0,30 ^{abc}
Robusto	7,50±1,50 ^{bc}	57,84±19,35	6,36±0,09 ^{abc}
Ponderado	8,30±0,20 ^{ab}	67,33±5,28	6,63±0,41 ^a
	06-set		
Fino	6,10±0,70 ^c	58,85±7,83	6,53±0,27 ^{ab}
Robusto	7,80±0,40 ^{bc}	50,02±17,82	6,43±0,07 ^{abc}
Ponderado	8,70±1,80 ^{ab}	69,31±3,66	5,98±0,02 ^{bc}

As letras apresentadas são referentes aos valores na mesma coluna.



Figura 1 - Preparação do terreno para o cultivo de melão 'Casca de Carvalho'. A-mobilização do solo; B-armação do camalhão; C-colocação de tela; D-furação da tela; E-colocação de PE negro no camalhão; F-sistema de semi-forçagem (estufins); G-interior do estufim com camalhões de apoio.



Figura 2 - Sementeira e transplantação do melão 'Casca de Carvalho': A-semente do melão 'Casca de Carvalho'; B-plântulas de melão 'Casca de Carvalho' em tabuleiro; C-plântulas para transplantação; D-plantação do meloeiro; E-meloeiro transplantado.



Figura 3 - Crescimento vegetativo do meloeiro e podas: A- planta com 15dias após sementeira; B-planta com 1mês após sementeira; C-planta com 1,5mês após sementeira; D-planta com 2meses após sementeira; E-poda do meloeiro; F-planta após poda.



Figura 4 - Floração e polinização do melão 'Casca de Carvalho': A-meloeiro em floração; B-flor feminina; C-flor masculina; D-polinização com *bombus*; E-polinização com abelhas; F-polinização manual; G-flor polinizada.



Figura 5 - Vingamento do melão 'Casca de Carvalho': A-fruto vingado; B-fruto com 1dia após vingamento; C-fruto com 3dias após vingamento; D-fruto com 8dias após vingamento; E-fruto com 1mês após vingamento.



Figura 6 - Crescimento do melão 'Casca de Carvalho': A-melão em fase de crescimento; B-melão a formar reticulado; C-melão em fase de enchimento.



Figura 7 - Colheita do melão 'Casca de Carvalho': A-melão em fase de colheita; B-colheita do melão 'Casca de Carvalho'; C-melão 'Casca de Carvalho' após a colheita.



Figura 8 - Melão 'Casca de Carvalho' após colheita: A-ecótipo Fino; B-ecótipo Robusto; C-ecótipo Ponderado.

Produtividade irregular em tangerineira 'Fortune'. Efeitos do ácido giberélico e da incisão anelar

Amílcar Duarte^{1,2} e Diamantino Trindade^{1,3}

¹Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade do Algarve, Campus de Gambelas, Edif. 8. 8005-139 Faro. E-mail: aduarte@ualg.pt

²ICAAM, Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas

³Viveiro Mil Plantas, Estoi, Faro

Resumo

Os níveis de produtividade dos citrinos são extremamente importantes para manter a viabilidade económica das explorações citrícolas, tendo em consideração os baixos preços pagos ao produtor pela fruta produzida. Algumas cultivares de citrinos apresentam problemas de produtividade. É o caso da tangerineira 'Fortune', um híbrido entre clementina e tangerineira 'Dancy', que tanto pode apresentar elevadas produções como ser completamente improdutivo.

Com o objectivo de verificar a eficácia da aplicação de GA₃ e da incisão anelar no aumento da produtividade por estímulo ao vingamento do fruto, foram realizados cinco ensaios de campo em várias zonas do Algarve, em pomares jovens de 'Fortune' bem conduzidos, que se encontravam em bom estado fitossanitário e sem sintomas de carências nutritivas. Em quatro dos cinco pomares, a produção tinha sido baixa nos anos anteriores. O ácido giberélico foi aplicado por pulverização total das árvores, a uma concentração de 10 mg L⁻¹. Ambas as técnicas (incisão anelar de ramos e pulverização com GA₃) foram testadas em diferentes datas, entre a floração e o final da queda de junho. Os ensaios realizaram-se segundo um desenho em blocos casualizados, envolvendo 20 árvores por modalidade, com quatro repetições.

Em três dos pomares submetidos a ensaio, a produção foi excessiva em todas as modalidades, incluindo a testemunha, tendo levado à quebra de pernas com o peso da fruta, e até mesmo ao colapso total das árvores, acompanhada de uma forte queda pré-colheita. Nesses casos, numa análise visual da produtividade, não se observaram efeitos notórios das técnicas aplicadas, mas não foi possível quantificar a colheita. Nos restantes dois ensaios a colheita foi quantificada, por pesagem e contagem dos frutos colhidos. Em nenhum dos casos a aplicação de GA₃ ou a incisão anelar induziram um significativo aumento da produtividade ou do calibre dos frutos.

Este conjunto de ensaios demonstrou que nem a aplicação de ácido giberélico nem a incisão anelar são eficazes para aumentar ou regularizar a produtividade da tangerineira 'Fortune', nas condições do Algarve.

Palavras-chave: Citrus, citrinos, reguladores de crescimento, vingamento, calibre do fruto

Abstract

Irregular productivity in 'Fortune' mandarin. Effects of gibberellic acid and girdling

The levels of productivity of citrus are extremely important to maintain the economic viability of citrus farms, taking into consideration the low prices paid to farmers by the fruit produced. Some cultivars of citrus have problems of low productivity. This is the case of 'Fortune' mandarin, a hybrid between clementine and tangerine 'Dancy', which can both provide high yields or be completely unproductive.

In order to verify the effectiveness of the application of GA₃ and girdling on increasing productivity by stimulating the fruit set, five field trials were conducted in several areas of the Algarve, in well-conducted young orchards of 'Fortune', which were in good health and without symptoms of nutrient deficiencies. In four of the five orchards, production had been low in

previous years. The gibberellic acid was applied by spraying the whole trees at a concentration of 10 mg L⁻¹. Both techniques (girdling branches and spraying with GA₃) were tested on different dates, between flowering and the end of June drop. The tests were carried out according to a randomized block design involving 20 trees per treatment, with four replications.

In three of the orchards subjected to testing, production was excessive in all treatments, including the control and led to limbs breaking under the weight of fruit, and even the total collapse of the trees, accompanied by a sharp preharvest fruit drop. In these experiments, in a visual analysis of productivity, was not observed noticeable effects of the applied techniques, but it was not possible to quantify the harvest. In the remaining two trials the harvest was quantified by weighing and counting the harvested fruits. In either case the application of GA₃ or girdling induced a significant increase in productivity or fruit size.

This set of trials showed that neither the application of gibberellic acid nor girdling are effective to increase or regulate the productivity of 'Fortune' tangerine, under the conditions of the Algarve.

Keywords: Citrus, plant growth regulators, fruit set, fruit size

Introdução

A tangerineira 'Fortune' (*C. clementina* Hort. ex Tan. x *C. tangerina* Hort. ex Tan.) é um híbrido entre clementina e tangerineira Dancy, obtido por J.R. Furr, em Indio, Califórnia em 1964. A sua introdução em Portugal e Espanha deveu-se a ser caracterizada como altamente produtiva e também por atingir a maturação no final da campanha (Saunt, 1992), numa época em que os frutos podem atingir melhores preços. Os frutos são de boa qualidade, apesar de, por vezes, a casca apresentar algumas manchas (Duarte & Guardiola, 1995).

Esta cultivar apresenta habitualmente uma floração extremamente intensa (Duarte & Guardiola, 1996) e é considerada altamente produtiva (Saunt, 1982) mas a taxa de vingamento pode chegar a ser muito baixa em muitos pomares de Espanha e de Portugal.

Alguns autores referem que a incisão anelar pode estimular o vingamento do fruto (Duarte & Guardiola, 1996, Rivas et al., 2006) mas estes resultados devem ser verificados antes que a técnica possa ser aplicada em zonas produtoras diferentes daquela em que esses resultados foram obtidos, pois as condições edafoclimáticas podem afectar os efeitos desta técnica.

A aplicação de ácido giberélico (GA₃) por via foliar, durante o período de floração tem dado bons resultados no aumento do vingamento do fruto e da produtividade, em diversas cultivares de tangerineira e tangeleiro (Kretdorn & Cohen, 1962; Rivero et al., 1969; Fornes et al., 1992) o que faz com que este tratamento seja frequentemente usado em algumas regiões citrícolas.

Neste estudo, procurou-se determinar os efeitos da incisão anelar e da aplicação de GA₃, sobre a produtividade da tangerineira 'Fortune' nas condições do Algarve.

Material e métodos

Foram instalados cinco ensaios em pomares de 'Fortune' situados em diferentes zonas do Algarve e com diferentes níveis de produtividade nos anos anteriores. Em todos os casos foram escolhidas parcelas uniformes e as práticas culturais foram as habitualmente seguidas pelos agricultores.

As técnicas ensaiadas para estimular o vingamento foram a aplicação de ácido giberélico e a incisão anelar.

O ácido giberélico (GA₃) foi, em todos os casos, aplicado por via foliar, utilizando-se o produto comercial ÁCIDO GIBERÉLICO 1,6% - Agrar. Em todas as soluções foi adicionado um molhante aderente não iónico, contendo 250 g por litro de nonoxilol. Todos os tratamentos foram feitos por pulverização, procurando-se molhar bem as árvores.

A incisão anelar foi, em todos os ensaios, realizada com uma tesoura apropriada, procedendo-se a um corte simples da casca até ao lenho, sem destacar qualquer porção de casca.

Ensaio 1

O ensaio 1 foi instalado num pomar de 7 anos de idade, situado na zona de Silves. A cultivar está enxertada sobre o porta-enxerto citranjeira 'Troyer'. Este pomar está plantado com um compasso de 6 metros entre linhas e 4 metros entre plantas na mesma linha, o que corresponde a 417 plantas por hectare. As árvores apresentavam-se com bom vigor. No entanto, a produção no ano anterior tinha sido baixa. No princípio de janeiro foi colhida uma amostra de folhas para realização de análises foliares, não se tendo detectado carências nem desequilíbrios nutritivos. Em abril procedeu-se à instalação do referido ensaio, onde se incluíram as seguintes modalidades:

- 1 - Testemunha;
- 2 - Aplicação de GA₃ (10 mg L⁻¹) a 17 de abril;
- 3 - Aplicação de GA₃ (10 mg L⁻¹) a 17 de abril + GA₃ (10 mg L⁻¹) a 9 de maio;
- 4 - Aplicação de GA₃ (10 mg L⁻¹) a 17 de abril + incisão anelar a 9 de maio;
- 5 - Incisão anelar a 9 de maio.

A plena floração ocorreu a 8 de abril. No dia 17 de abril as plantas estavam no final da floração (90% das pétalas caídas). A 9 de maio as plantas já não tinham flores e estava a decorrer a queda de junho.

Estes tratamentos foram realizados em blocos casualizados com 4 repetições de 4 ou 5 árvores, incluindo apenas árvores uniformes em tamanho e intensidade de floração. Os tratamentos com ácido giberélico (GA₃) foram feitos por pulverização, com um pulverizador rebocável por tractor, gastando-se, em média, 3,5 litros de calda por árvore.

A 25 de novembro foram colhidas folhas para análises, nas modalidades 1, 3 e 5, seguindo os procedimentos e critérios de avaliação de resultados propostos por Legaz et al. (1995).

A fruta foi colhida de uma única vez, a 17 de fevereiro do ano seguinte à instalação do ensaio. Procedeu-se à pesagem da fruta de cada bloco e, com o auxílio de uma craveira electrónica, foram medidos individualmente cada um dos frutos existentes em 2 caixas retiradas ao acaso de cada bloco, registando-se também o peso de cada caixa, para posterior determinação do peso médio do fruto. Posteriormente, calculou-se a produção em kg.árvore⁻¹ e t.ha⁻¹, assim como o número total de frutos colhidos por árvore. Com os valores do diâmetro individual dos frutos calculou-se o número de frutos por árvore, de cada calibre comercial, em cada uma das modalidades ensaiadas.

Ensaio 2

Este ensaio de aumento do vingamento no híbrido 'Fortune' foi instalado num pomar de 4 anos de idade, situado na zona de Silves. A variedade está enxertada sobre citranjeira 'Troyer'. Este pomar está plantado com um compasso de 4,5 m entre linhas e 3 m entre plantas na mesma linha, o que corresponde a 741 plantas por hectare. As árvores apresentavam-se com bom vigor e uniformidade de tamanho. A produção no ano anterior tinha sido baixa. Neste ensaio, foram incluídas as seguintes modalidades:

- 1 - Testemunha
- 2 - Aplicação de GA₃ (10 mg L⁻¹) a 4 de Maio + GA₃ (10 mg L⁻¹) a 21 de Maio;
- 3 - Incisão anelar a 21 de maio.

Estes tratamentos foram realizados em blocos casualizados com 4 repetições de 5 árvores. Os tratamentos com GA₃ foram feitos por pulverização, com pulverizador acoplado aos três pontos do tractor, procurando-se molhar bem as árvores, gastando-se, em média, 4,5 litros de calda por árvore. O tratamento foi realizado a 4 de maio, no período de queda das pétalas e foi repetido duas semanas e meia depois, a 21 de maio, quando as plantas já não tinham flores e estava a decorrer a queda de junho.

A data de execução da incisão anelar coincidiu com a data da última aplicação de GA₃.

A fruta foi colhida de uma única vez, a meados de fevereiro do ano seguinte à instalação do ensaio. A colheita foi feita por separado em cada um dos blocos. A fruta foi pesada, também por separado. Posteriormente, calculou-se a produção em kg.árvore⁻¹ e t.ha⁻¹.

Ensaio 3, 4 e 5

Os ensaios 3, 4 e 5 realizaram-se respectivamente nas zonas de Silves, Boliqueime e Alte, tendo sido ensaiadas a aplicação de GA₃ e a incisão anelar. Em todos os pomares em que estes ensaios se realizaram as árvores eram uniformes e vigorosas, tendo apresentado baixas produções nos anos anteriores. Em todos os 3 pomares o vingamento foi excessivo no ano em que se realizaram os ensaios, o que conduziu à quebra de pernas e queda de frutos durante o período de maturação, tornando inviável o controlo da colheita e a recolha de outros dados.

Resultados e Discussão

Os níveis de produtividade nos ensaios 1 e 2, entre 34 e 48 t ha⁻¹, foram relativamente elevados para um pomar de tangerineiras (Quadros 1 e 2). Os resultados obtidos não revelaram um efeito significativo da aplicação de GA₃ ou da incisão anelar sobre o vingamento do fruto e a produção. Em trabalhos anteriores, a incisão anelar aumentou a produtividade (Rivas et al., 2006; Duarte & Guardiola, 1996), mas isso observou-se sobretudo em pomares com níveis de produtividade muito inferiores aos deste estudo (Duarte & Guardiola, 1996). No ensaio 1, apesar de a modalidade com produtividade mais alta ter sido superior em 12%, relativamente à testemunha, essa diferença não foi estatisticamente significativa. Isto deveu-se ao facto de a variância ter sido muito elevada, fruto da falta de homogeneidade de produções, dentro de cada modalidade. Tendo em consideração que a escolha das árvores para o ensaio tinha sido criteriosa, escolhendo árvores uniformes, estes resultados revelam a grande heterogeneidade de produção, mesmo em árvores aparentemente uniformes. Apesar de a cultivar 'Fortune' ser considerada produtiva por alguns autores (Saunt, 1992; Wutscher & Shull, 1978, 1987), uma leitura atenta dos estudos sobre esta cultivar permite-nos identificar esta falta de uniformidade nas produções. Num ensaio realizado nos Estados Unidos, apesar de esta cultivar ter apresentado uma produtividade média elevada ao longo de 6 anos, num desses anos a produtividade foi nula (Wutscher & Shull, 1987).

Nos ensaios 3, 4 e 5, apesar de algumas árvores terem tido produções médias ou baixas, a maioria das árvores vingou um número demasiado elevado de frutos, o que, conjugado com o facto de a madeira desta cultivar ser relativamente frágil (Agustí & Almela, 1991), levou à rotura de pernas na maioria das árvores, assim como a uma elevada queda de frutos nos meses de dezembro e janeiro, quando a fruta ainda tinha uma acidez demasiado elevada para ser colhida. A fruta destes pomares tinha um baixo calibre e pouco valor comercial.

Em todos os ensaios o calibre do fruto foi relativamente pequeno e os tratamentos ensaiados não provocaram alterações significativas na distribuição dos frutos pelos calibres comerciais (Figura 1). Os calibres mais frequentes foram o 2 e o 3, tendo havido poucos frutos dos calibres 1x e 1xx e quase nenhuns do calibre 1xxx.

Os resultados das análises de elementos minerais nas folhas não revelaram diferenças significativas entre as três modalidades analisadas. Só no caso do zinco é que se verificou um valor superior nas árvores com dupla aplicação de GA₃, relativamente às árvores testemunha (Quadro 3). Verificou-se que havia uma grande variabilidade na parcela, assim como valores excessivos de cálcio e baixos de potássio e ferro em todas as modalidades (Legaz et al., 1995). Os baixos níveis de potássio podem dever-se aos elevados níveis de vingamento e é possível que tenham condicionado o calibre do fruto.

Conclusões

Os resultados apresentados apontam para o facto de também no Algarve a tangerineira 'Fortune' ser extremamente irregular quanto aos níveis de produtividade, mesmo quando as árvores são relativamente uniformes. Permanecem por esclarecer as razões que conduzem à

baixa produtividade ou à demasiado elevada produtividade, com consequências negativas sobre o calibre do fruto. É possível que uma fertilização mais cuidada possa minorar estes problemas.

Nem a aplicação de ácido giberélico durante a floração e/ou a queda de junho, nem a incisão anelar durante a queda de junho, permitiram aumentar os níveis de produtividade ou induzir maior uniformidade nas produções.

Na introdução de novas cultivares de citrinos, mesmo quando estas são referidas como produtivas, há que ter em consideração se essa produtividade é permanente ou se é irregular, com todas as consequências negativas que daí advêm.

Agradecimentos

Os autores agradecem aos senhores António José Severino, José Manuel Anastácio, Francisco José Calado, Hélio Bexiga Neves e Ovídio Alves a cedência dos pomares para a realização dos ensaios, assim como o seu contributo logístico para a instalação dos mesmos.

Referências

- Agustí, M. & Almela, V. 1991. Aplicación de Fitorreguladores en Citricultura. Editorial AEDOS. Barcelona.
- Duarte, A.M.M. & Guardiola, J.L. 1995. Factors affecting rind pitting in the mandarin hybrids 'Fortune' and 'Nova'. The influence of exogenous growth regulators. *Acta Horticulturae*, 379:59-66.
- Duarte, A.M.M. & Guardiola, J.L. 1996. Flowering and fruit set of 'Fortune' hybrid mandarin. Effect of girdling and growth regulators. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 2:1069-1071.
- Fornes, F., Van Rensburg, P.J.J., Sánchez-Perales, M. & Guardiola, J.L. 1992. Fruit setting treatments' effect on two Clementine mandarin cultivars. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 1:489-492.
- Kretdorn, A.N. & Cohen, M. 1962. The influence of chemical fruit-set sprays on yield and quality of citrus. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 75:53-60
- Legaz, F., Serna, M.D., Ferrer, P., Cebolla, V. & Primo-Millo, E. 1995. Análisis de hojas, suelos y aguas para el diagnóstico nutricional de plantaciones de cítricos. Procedimiento de toma de muestras. Generalitat Valenciana Conselleria d'Agricultura, Pesca i Alimentació. Valencia.
- Rivas, F., Erner, Y., Alós, E., Juan, M., Almela, V. & Agustí, M. 2006. Girdling increases carbohydrate availability and fruit-set in citrus cultivars irrespective of parthenocarpic ability. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 81(2):289-295.
- Rivero, J.M., Veyrat, P. & Gómez de Barreda, D. 1969. Improving fruit set in Clementine mandarin with chemical treatments in Spain. *Proc. 1st. Int. Citrus Symp.*, 3:1121-1124.
- Saunt, J. 1992. Variedades de Citricos del Mundo. Sinclair & Edipublic. Valencia, España.
- Wutscher, H.K. & Shull, A.V. 1978. The performance of 29 mandarins and mandarin hybrids in south Texas. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 103(1):124-127.
- Wutscher, H.K. & Shull, A.V. 1987. Comportamiento de 29 mandarinos e híbridos de mandarinos en el sur de Texas. *Levante Agrícola*, 26 (275-276):127-130

Quadros e figuras

Quadro 1 - Efeito da aplicação de GA₃ e da incisão anelar sobre a produção e o tamanho do fruto da tangerineira 'Fortune', no ensaio 1. Médias com letras comuns não diferem significativamente entre si, de acordo com o teste LSD (P=0,05).

Modalidades	Produção			Peso médio do fruto (g)
	(frutos árvore ⁻¹)	(kg árvore ⁻¹)	(t ha ⁻¹)	
Testemunha	861	81,8	34,1	95,1 a
GA ₃ (17 Abril)	1029	91,9	38,3	88,9 b
GA ₃ (17 Abril) + GA ₃ (9 Maio)	910	85,4	35,6	94,8 a
GA ₃ (17 Abril) + Incisão anelar (9 Maio)	957	89,2	37,2	95,4 a
Incisão anelar (9 Maio)	1046	90,7	37,8	89,1 b
Significância	n.s.*	n.s.	n.s.	P≤0,05

*n.s - não significativo

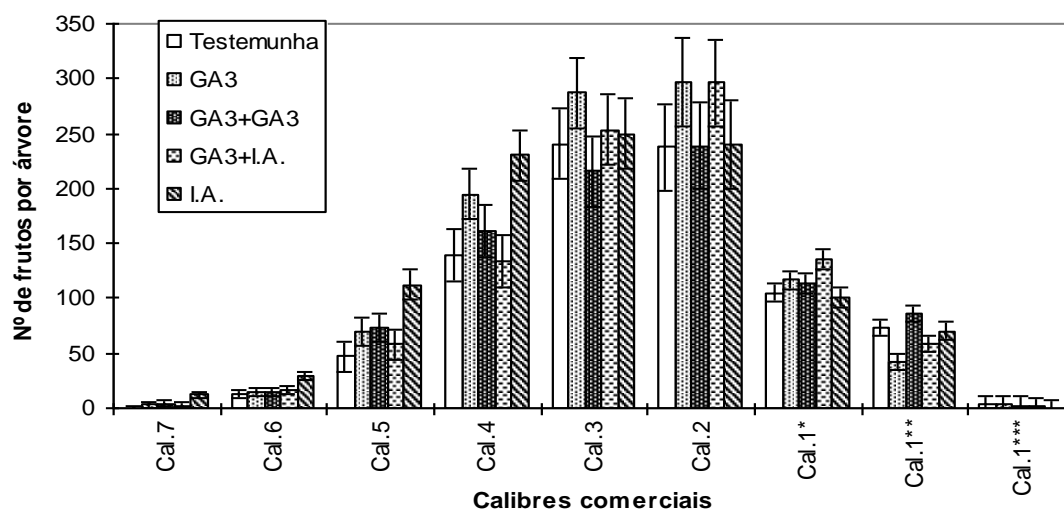


Figura 1 - Distribuição dos frutos da tangerineira 'Fortune' por calibres comerciais, no ensaio 1. As barras verticais representam o erro padrão das médias.

Quadro 2 - Efeito da aplicação de ácido giberélico e da incisão anelar sobre a produção da tangerineira 'Fortune', no ensaio 2.

Modalidades	Produção	
	(kg árvore ⁻¹)	(t ha ⁻¹)
Testemunha	61,6	45,6
GA ₃ (4 de maio) + GA ₃ (21 de maio)	60,1	44,5
Incisão Anelar (21 de maio)	64,9	48,0
Significância	n.s.	n.s.

Quadro 3 - Níveis de nutrientes nas folhas da tangerineira 'Fortune' em árvores testemunha, tratadas com GA₃ e com incisão anelar, no ensaio 1. Médias com letras comuns não diferem significativamente entre si, de acordo com o teste LSD (P=0,05).

Elementos minerais	Testemunha	GA ₃ + GA ₃	Incisão Anelar	Significância*	Classificação
Azoto (%)	2,70	2,56	2,58	n.s.	Ótimo
Fosforo (%)	0,12	0,12	0,12	n.s.	Ótimo
Potássio (%)	0,50	0,55	0,51	n.s.	Baixo
Cálcio (%)	7,01	7,41	6,99	n.s.	Excessivo
Magnésio (%)	0,74	0,75	0,76	n.s.	Alto
Ferro (mg kg ⁻¹)	49,9	49,7	57,6	n.s.	Baixo
Manganês (mg kg ⁻¹)	52,9	54,4	52,6	n.s.	Ótimo
Zinco (mg kg ⁻¹)	42,5 a	49,1 b	45,6 ab	P≤0,05	Ótimo

*n.s - não significativo

Qualidade das cerejas na região da Beira Interior

Maria Paula Simões¹, Iva Stuburic² e Kruno Kamenjak²

Escola Superior Agrária de Castelo Branco, Qta Sra Mércules – 6000-909 CASTELO BRANCO, PORTUGAL; e-mail: mpaulasimoes@ipcb.pt;

Križevci College of Agriculture, Milislava Demerca 1, 48260 KRIŽEVCI, CROATIA;

Resumo

A cultura da cerejeira ocupa uma área de 14% da área de frutos frescos de Portugal e corresponde a 2191 ha na região da Beira Interior, onde se localiza mais de 50% da produção nacional de cereja. Reconhecida no país essencialmente como cereja do Fundão, em virtude da forte campanha publicitária e apoios realizados pelo município do Fundão, esta atividade contribui fortemente para a riqueza regional e, consequentemente, para a riqueza do país. Apesar da reconhecida qualidade torna-se necessário realizar uma caracterização mais detalhada da qualidade dos frutos das cultivares existentes na região de modo a contribuir para o processo de valorização e simultaneamente proporcionar maior informação aos elementos ligados à fileira da cereja. Para tal foi realizada a análise de uma amostra de 50 cerejas das cultivares Burlat, Earlise, Brooks, Sunburst, Canada Giant, Bigalise, Prime Giant, Saco, Summit, Maring, Starblush e Sweetheart, entregues na empresa Cerfundão, durante a campanha de 2013. As cultivares temporãs, Burlat e Earlise, apresentaram os valores de peso médio por fruto mais baixos, respetivamente 6,9 e 7,1 g/fruto, bem como a dureza mais baixa, respetivamente 59,7 e 63,3 unidades Durofel. As cultivares Bigalise e Maring destacam-se por apresentarem os valores de teor de sólidos solúveis e acidez mais elevados, da qual resulta os valores baixos da relação açúcares/ácidos.

Palavras chave: cerejeira, peso médio do fruto, durofel, TSS, acidez das cerejas, coloração das cerejas.

Abstract

Cherry quality at Beira Interior region

Sweet cherry production of the Beira Interior region of Portugal occupies an area of 2191 ha it corresponds to 14% of the area of fresh fruits of Portugal, and represents more than 50% of the national production of cherry (INE, 2012). Recognized by citizen as “cherry of Fundão”, because of a strong advertising campaign and support performed by the local city hall, this activity contributes strongly to the regional income and, consequently, to the country's economy. Despite the recognized quality it is necessary to perform a more detailed characterization of fruit quality of existing cultivars in the region to contribute to provide more scientific information to those who work on this fruit. Therefore, in 2013, a study of fruit quality of the cultivars, Burlat, Earlise, Brooks, Sunburst, Canada Giant, Bigalise, Prime Giant, Saco, Summit, Maring, Starblush and Sweetheart was conducted based on fruit samples delivered by farmers at Cerfundão (the bigger local farmer organization). The cultivars Burlat and Earlise showed lower values of weight per fruit, respectively 6.9 and 7.1 g / fruit and the lower hardness, respectively 59.7 and 63.3 UD. The Bigalise and Maring cultivars stand out by presenting the higher values of sugar content and acidity, which results in lower values for sugar / acid ratio.

Keywords: sweet cherry, fruit weight, durofel, TSS, cherry acidity, cherry colour.

Introdução

A cultura da cerejeira ocupa uma área de 2334 ha na região Centro e 2191 ha na região da Beira Interior, onde se localiza mais de 50% da produção nacional de cereja (INE, 2012). Reconhecida no país essencialmente como cereja do Fundão, em virtude da forte campanha publicitária e apoios realizados pelo município do Fundão, esta atividade agrícola contribui fortemente para a riqueza regional e, conseqüentemente, para a riqueza do país. Apesar da reconhecida qualidade torna-se necessário realizar uma caracterização mais detalhada das cultivares existentes na região de modo a contribuir para o processo de valorização da cereja e, simultaneamente, proporcionar maior informação aos elementos ligados à fileira.

A renovação dos pomares com novas cultivares tem sido uma constante desde 1990 tendo sido introduzidas na região cultivares com elevado potencial comercial quer pela maior dimensão dos frutos, quer pela maior resistência, quer pelo aumento do período de oferta devido à introdução de cultivares mais tardias.

Relativamente à qualidade das cerejas, de acordo com o trabalho de Kappel et al. (1996) para o mercado norte americano, o fruto ideal para os consumidores terá um peso entre as 11 e 13 g/fruto, uma coloração escura (cor 5 na escala de Ctifl), uma dureza de 70 a 75 unidades Durofel, um teor de sólidos solúveis sempre superior a 15%, entre 17% e 19%, e uma relação açúcares-ácidos de 1,8 a 2, sendo esta razão calculada utilizando como valor de acidez a quantidade de NaOH gasta na titulação de 15 ml de sumo.

Material e métodos

O presente trabalho baseia-se na análise de uma amostra de aproximadamente 2 kg cerejas por cultivar, analisadas em laboratório no dia seguinte à colheita. As amostras foram retiradas da produção entregue pelos agricultores na empresa Cerfundão durante a campanha de 2013.

Da amostra inicial foi retirada uma amostra de 50 frutos, separados dois lotes de 25 frutos, sendo um correspondentes à coloração mais escura e o outro corresponde à coloração mais clara, sempre dentro da coloração predominante da amostra, excluindo os frutos de coloração extrema, quer muito claros, quer muito escuros. Para o conjunto dos 50 frutos determinou-se o peso de cada fruto, a coloração, através de tabela de cores do Ctifl (escala de 1 a 7), a dureza, com o auxílio do equipamento Durofel, o teor de sólidos solúveis (TSS) com utilização de refratômetro digital e a acidez por titulação de 10 ml de sumo com NaOH 0,1N, até pH 8,2. Para a determinação da acidez cada grupo de 25 cerejas foram repartidas por 3 subamostras, esmagadas manualmente de o sumo colocado num copo de tamanho adequado. Deste modo o resultado da acidez de uma cultivar resulta de uma média de 6 repetições.

Com base no TSS e na acidez, foi calculada a relação açúcar-acidez, considerando a metodologia referida por Crisosto et al. (2003), que utiliza a acidez expressa em percentagem em detrimento da metodologia referida por Kappel et al. (1996), que calcula a razão entre o TSS e a quantidade de NaOH 0,1N gasta para titular 15 ml de sumo. A análise de variância foi realizada através do programa SPSS, ANOVA a um factor, utilizando o teste de Tukey sempre que se verificassem condições de homogeneidade de variâncias, e o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis quando não se verificasse homogeneidade de variâncias, considerando estatisticamente significativas as diferenças entre médias, cujo *p-value* do teste utilizado tenha sido inferior a 0,05.

Resultados e discussão

No ano de 2013, a campanha da cereja teve início no final de Maio e terminou no final de Julho, sendo a cv. Burlat a primeira a ser entregue e analisada, em 27-maio-2013 e a cv. Sweetheart a última a ser avaliada, em 10-jul-2013, embora o período de entrega desta cultivar se tenha estendido até 20-25 de julho. O período de produção de cereja na região da Beira Interior decorreu entre 15 a 20 de maio e finais julho de 2013, iniciando-se aproximadamente

7 a 10 dias mais tarde que nos ciclos de 2010 a 2012, e do que 10 de maio como referido por Santos (2008). Relativamente ao final da campanha da cereja já existem cultivares bastante tardias mas sem grande expressão na globalidade da produção. Tratando-se de uma região de produção com carácter montanhoso, o período de maturação de uma dada cultivar na globalidade da região estende-se por um período de três a quatro semanas. A maturação ocorre primeiro nas explorações a sul da Gardunha, seguida das explorações localizadas na bacia do rio Zêzere e terminando nas explorações localizadas em cotas mais elevadas da serra da Gardunha. Esta característica coloca em desvantagem as explorações com maturação mais tardia quando se considera as cultivares temporãs, como Earlise e Burlat uma vez que já existem no mercado cultivares de características superiores, mas coloca em vantagem essas mesmas explorações quando se trata das cultivares mais tardias, como Saco, Sweetheart e Maring, uma vez que conseguem prolongar o período de campanha, beneficiando de preços mais elevados no final do período de produção.

As cerejas apresentaram um peso médio entre 6,9 e 11 g/fruto, observando-se que as cvs Summit e Bigalise apresentaram o peso médio mais elevado, próximo das 11 g/fruto, e incluídas no mesmo grupo homogéneo relativamente ao peso/fruto, logo seguidas das cvs Sunburst e Canada Giant que apresentam um peso médio/fruto próximo das 10 g/fruto (Quadro 1). Este resultado indica que apesar da renovação dos pomares com novas cultivares, com predominância pelas cultivares de frutos grandes ter aumentado (conhecimento pessoal do sector produtivo), o calibre médio dos frutos é ainda baixo. O calibre dos frutos embora dependente das técnicas culturais (Carvalho e Dias, 2010; Crisosto et al., 1997) está fortemente determinado pela cultivar, sendo a característica que mais contribui para a preferência do consumidor (Cliff et al., 1996). De um modo prático/empírico os produtores são conhecedores deste facto uma vez que são os calibres superiores os mais valorizados e com escoamento assegurado. No que respeita à renovação dos pomares, segundo um estudo realizado por Dias (2012) em 2009 e 2011, refere que 42,9% e 23,3% dos agricultores inquiridos respetivamente em 2009 e 2011, informaram ter plantado novos pomares, o que comprova a renovação referida que se inclui também no grande volume de investimento em projetos frutícolas financiados (Lopes, 2012)

A dureza dos frutos é um parâmetro muito importante para o processamento e comercialização. A cultivar para a qual foi registada a dureza mais baixa foi a cv. Burlat que apresenta também um período de colheita muito curto, sobretudo se as temperaturas no período de colheita forem elevadas. A cultivar com a dureza mais elevada foi a Brooks, com 80,6 na escala Durofel (Quadro 1).

O teor de sólidos variou entre 15,5°Brix e 24,4 °Brix (Quadro 1), o que é bastante superior aos valores referidos por Gonçalves (2006), trabalhando com as cvs Burlat, Saco, Summit e Van, em 2001 e 2002, em Trás-os-Montes, e cujos valor médios de TSS oscilaram entre 10,4 e 18,6 °Brix. A cultivar com um TSS médio mais baixo foi a Earlise, com 15,5 °Brix e as cultivares tardias Maring e Sweetheart apresentaram um TSS médio muito elevado, 24,4 e 24,5°Brix respetivamente.

A acidez variou entre 5,6 e 14,2 g ac. málico/L, sendo a cv. Maring a que apresentou o teor de acidez mais elevado (Quadro 1), diferindo significativamente de todas as restantes cultivares.

Embora a dureza seja o parâmetro mais importante para o processamento pós-colheita, a decisão de colheita, nomeadamente a data de colheita, está associada à coloração dos frutos, sendo a cor o indicador mais utilizado para avaliação da maturação. A separação dos dois lotes de coloração distinta (Quadro 2) permitiu verificar que como o aumento da coloração verifica-se um aumento de peso do fruto, do TSS e da relação TSS/acidez. Estes dados são consistentes com os apresentados por Crisosto et al. (2002), num estudo realizado com a cv. Brooks, onde paralelamente à evolução da cor de rosa claro para vermelho escuro, se verifica uma evolução do peso do fruto de 7,1 g/fruto para 8,5 g/fruto e uma evolução do TSS de 15,3°Brix para 20,4°Brix. Tal como referido ainda por Crisosto et al. (2002) a variação da acidez durante a

maturação é menor e menos consistente que a variação do TSS, como se pode verificar pelos dados apresentados no Quadro 2.

Através do cálculo da razão TSS/acidez verifica-se as cultivares Maring, Bigalise e Canada Giant são as que apresentam os valores mais baixos e as cultivares Burlat, Earlise e Brooks as que apresentam os valores mais elevados, valores esses que resultam essencialmente de teor baixo de acidez. Kappel et al. (1996) refere que a preferência dos consumidores está mais ligada à relação TSS/acidez do que ao TSS. Contudo o valor ideal dessa razão poderá variar de acordo com a população de cada país/região, uma vez que os hábitos alimentares são bastante distintos. Este aspeto deverá ser mais estudado pois poderá servir para direccionar a utilização de certas cultivares que não tenham uma relação TSS/acidez da preferência dos consumidores para outro mercado que não seja o mercado em fresco.

Conclusões

Em 2013 a campanha da cereja decorreu desde 15 de Maio a meados de Julho e as cerejas apresentaram TSS elevados. As cultivares Bigalise, Summit, Sunburst e Canada Giant foram as que apresentaram maior peso médio mas em média ainda se verificou uma predominância de frutos com um peso médio de 8 a 9 g/fruto. Uma colheita dos frutos numa coloração mais clara corresponde a frutos com maior dureza mas há perdas no peso médio/fruto.

Agradecimentos

Agradece-se à empresa Cerfundão a parceria neste estudo, cedendo as amostras de cereja que serviram de base a este trabalho.

Referências Bibliográficas

- Carvalho, M.L. e Dias, C. 2010. Efeito da redução da carga na produção e qualidade da cereja (*Prunus avium* L.) cultivar Lapins. Actas Portuguesas de Horticultura, 16: 67-74.
- Cliff, M.A., Dever, M.C., Hall, J.W. e Girad, B. 1996. Development and evaluation of multiple regression models for prediction of cherry cultivar liking. Food Research International, 28 (6): 583-589.
- Crisosto, C.H., Crisosto, G.M. e Ritenour, M.A. 2002. Testing the reliability of skin color as an indicator of quality for early season 'Brooks' (*Prunus avium* L.) cherry. Postharvest Biology and Technology, 24: 147-154.
- Crisosto, C.H., Johnson, R.S., DeJong, T. e Day, K.R. 1997. Orchard factors affecting postharvest stone fruit quality. HortScience, 32: 820-823.
- Dias, C.S.L. 2012. A Fileira da Cereja da Cova da Beira. Tese de mestrado de Fruticultura Integrada. Escola Superior Agrária de Castelo Branco,
- Gonçalves, B.M.C. 2006. Ecofisiologia da cerejeira (*Prunus avium* L.), composição fenólica e actividade antioxidante dos frutos. Tese de doutoramento em Engenharia Biológica, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, 233 pp.
- INE. 2012. Estatísticas Agrícolas 2011, disponível em <http://www.ine.pt>
- Kappel, F., Fisher-Fleming, B. e Hougue, E. 1996. Fruit characteristics and sensory attributes of an ideal sweet cherry. Hortscience, 31 (3): 443-446.
- Lopes, C.M.R. 2013. As políticas de incentivos aplicados à fruticultura em proteção integrada na Beira Interior. Tese de mestrado de Fruticultura Integrada. Escola Superior Agrária de Castelo Branco.
- Santos, A., Ribeiro, R., Silva, A.P., Gonçalves, B., Ribeiro, C.J., Cavalheiro, J.T., Rebelo, J.F., Cordeiro, V.M., Moreira, J.B., Bento, A., Antunes, A. e Brás, A.J. 2008. Cerejais. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 343 pp.

Quadros e figuras

Quadro 1: Qualidade da cereja na Beira Interior, em 2013.

Data	Nome cultivar	peso (g/fruto)		cor		durofel		TSS (°Brix)		pH	Acidez (g ác. málico/L)		TSS/Acidez
2013-05-27	Burlat	6,9±0,6	g	4,3±1,3	cd	59,7±8,9	h	18,1±2,5	de	3,6	5,6±0,4	fg	32,6
2013-06-05	Earlise	7,1±0,6	fg	3,9±1,5	de	63,3±6,3	gh	15,5±2,9	f	3,5	5,2±0,6	g	29,8
2013-06-12	Brooks	8,8±0,7	c	4,1±1,6	cde	80,6±6,3	a	17,8±3,1	de	3,8	5,4±0,3	fg	32,6
2013-06-12	Sunburst	10,1±1,7	b	3,0±0,9	f	75,0±6,1	bc	16,5±1,9	ef	3,5	6,1±0,5	ef	26,9
2013-06-18	Bigalise	10,9±1,0	a	4,6±0,7	bc	73,3±3,9	bcd	21,1±2,2	b	3,4	10,7±0,2	b	19,8
2013-06-20	Canada Giant	10,0±0,8	b	3,5±0,6	ef	65,0±04,7	fg	18,0±2,1	de	3,5	7,8±0,2	d	23,1
2013-06-20	Summit	11,0±0,7	a	4,0±1,0	cde	67,4±4,2	efg	18,1±1,7	de	3,7	5,4±0,2	fg	33,4
2013-06-25	Prime Giant	8,4±1,1	cd	5,0±0,4	b	72,5±4,2	bcde	19,3±1,2	cd	3,2	7,8±0,6	d	24,7
2013-06-25	Saco	7,5±0,5	ef	6,5±0,5	a	71,3±6,6	cde	20,3±2,8	bc	3,5	6,8±0,4	e	30,0
2013-06-25	Starblush	7,9±0,8	de	3,4±0,9	ef	69,1±4,7	def	16,7±1,7	ef	3,7	5,9±0,2	fg	28,6
2013-07-02	Maring	8,1±0,8	d	6,5±0,5	a	76,3±5,9	b	24,4±0,6	a	3,4	14,2±0,5	a	17,1
2013-07-04	Sweetheart	8,4±0,9	cd	4,4±1,5	bcd	72,2±7,0	cde	24,3±5,5	a	3,7	8,6±0,4	c	28,3

Nota: letras diferentes, em cada coluna, indicam diferenças significativas, para $\alpha < 0,05$, segundo teste de Tukey; A razão TSS/acidez é calculada pela razão dos valores médios de TSS e acidez.

Quadro 2: Qualidade da cereja correspondente a lotes de diferente cor.

data	cv name	cor (Ctifl)	peso (g/fruto)	dureza (durofel)	TSS (°Brix)	pH	Acidez (ml NaOH)	acidez (g ac. málico/L)	TSS/acidez (mlNaOH- 15ml sumo)
2013-05-27	Burlat	3,2	6,7	66	16,4	3,6	8,4	5,6	29,1
		5,4	7,1	53	20,0	3,6	8,3	5,5	36,0
2013-06-05	Earlise	2,6	7,0	66	13,0	3,4	7,7	5,2	25,2
		5,2	7,2	61	17,9	3,6	7,8	5,2	34,3
2013-06-12	Brooks	2,6	8,7	80	15,5	3,8	8,0	5,4	29,0
		5,6	8,8	82	20,0	3,8	8,2	5,5	36,1
2013-06-12	Sunburst	2,2	8,7	77	15,0	3,5	9,8	6,6	22,8
		3,7	11,5	73	17,9	3,5	8,5	5,7	31,6
2013-06-18	Bigalise	4,3	10,8	74	19,5	3,4	15,8	10,6	18,4
		5,0	11,1	73	22,8	3,4	16,1	10,8	21,2
2013-06-20	Canada Giant	3,0	9,7	67	16,4	3,5	11,4	7,7	21,4
		3,9	10,3	63	19,6	3,4	11,9	8,0	24,6
2013-06-20	Summit	3,0	10,9	67	16,8	3,6	8,2	5,5	30,7
		5,0	11,0	68	19,5	3,8	8,1	5,4	36,1
2013-06-25	Prime Giant	4,9	8,0	73	18,5	3,3	11,2	7,5	24,8
		5,2	8,9	72	20,0	3,2	12,1	8,1	24,6
2013-06-25	Saco	6,1	7,5	72	18,0	3,5	10,2	6,8	26,3
		6,8	7,5	71	22,6	3,5	10,0	6,7	33,7
2013-06-25	Starblush	2,8	7,7	68	15,6	3,7	8,9	5,9	26,4
		4,0	8,0	70	17,8	3,7	8,6	5,8	30,9
2013-07-02	Maring	6,1	8,0	78	19,5	3,4	20,7	13,9	14,0
		6,9	8,2	74	29,4	3,4	21,8	14,6	20,1
2013-07-10	Sweetheart	3,0	8,5	76	23,2	3,7	13,0	8,7	26,6
		5,9	8,3	68	25,4	3,7	12,6	8,4	30,1

Qualidade de 13 cultivares de melão (*Cucumis melo* L.) em Évora, Almeirim e Amareleja⁴

Ana Cadete, Mariana Mota, António Monteiro & Cristina M. Oliveira

DCEB, CEER, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa.

an_cadete@hotmail.com, mariana@isa.ulisboa.pt, amonteiro@isa.ulisboa.pt, crismoniz@isa.ulisboa.pt

Resumo

A qualidade de quatro cultivares de melão Branco do Ribatejo e oito cultivares Pele de Sapo, produzidas em Évora, Almeirim e Amareleja foi avaliada com o objetivo de selecionar as cultivares com melhor qualidade de cada tipo. Os melões foram colhidos mais verdes ou mais maduros de acordo com o critério visual do produtor e determinou-se o teor de sólidos solúveis (TSS), a acidez titulável, a vitamina C e o teor de fenóis totais. Adicionalmente foram efetuados testes sensoriais. Nos melões brancos não se verificaram diferenças significativas entre os dois graus de maturação e o TSS dos melões produzidos em Almeirim não alcançou 12%. Nos restantes locais as cultivares mais doces foram a ‘Lusiada’ ($12,7 \pm 0,7\%$) e a ‘Lusitano’ ($14,5 \pm 1,0\%$) em Évora e a ‘Lusiada’ ($13,4 \pm 0,9\%$) na Amareleja. Os melões Pele de Sapo produzidos na Amareleja apresentaram um TSS mais elevado ($13,7 \pm 1,7\%$) e as cultivares mais doces e maduras foram a ‘Hidalgo’ ($15,7 \pm 0,6\%$), a ‘Fitor’ ($15,6 \pm 1,3\%$), a ‘Ruidere’ ($15,5 \pm 1,4\%$) e a ‘Seda’ ($14,5 \pm 0,5\%$). Em Almeirim e em Évora a cultivar com maior TSS foi a ‘Sancho’ com $14,0 \pm 2,2\%$ e $14,5 \pm 1,8\%$, respetivamente. A acidez variou com a cultivar e o local, sendo a ‘Fitor’ e a ‘Ruidere’ as cultivares mais ácidas ($1,1$ e $1,0 \pm 0,04$ g ácido cítrico/L de sumo, respetivamente) e Évora o local onde os melões atingiram maior acidez ($1,0 \pm 0,02$ g ácido cítrico/ L de sumo). O teor de vitamina C e de fenóis totais não variou com a cultivar e local, sendo em média de $16,1 \pm 6,1$ mg de ácido ascórbico/100 g de parte edível e $33,4 \pm 8,4$ mg de ácido gálico/100 g de parte edível, respetivamente. Os melões foram apreciados sensorialmente por um grupo de consumidores não treinados, resultando que os melões do tipo Branco do Ribatejo do ensaio da Amareleja foram os menos apreciados e os melões de Évora os que obtiveram melhores resultados. Em relação às cultivares do tipo Pele de Sapo, a cultivar Hidalgo foi a mais apreciada, já a ‘Havana’ e ‘Seda’ foram consideradas as piores. Os melões Pele de Sapo ‘Hidalgo’, ‘Ruidere’ e ‘Fitor’ foram considerados de melhor qualidade, embora o local e o sistema de produção tenham influenciado as suas características. A cultivar ‘Lusitano’ do grupo dos melões Brancos do Ribatejo foi a que se mostrou mais promissora em termos de qualidade.

Palavras-chave: melão Branco do Ribatejo, melão Pele de Sapo, provas sensoriais, TSS.

Abstract

Quality of 13 cultivars of melon (*Cucumis melo* L.) in Évora, Almeirim and Amareleja.

The quality of four melon cultivars “Branco do Ribatejo” type and eight cultivars “Pele de Sapo” type, produced in Évora, Almeirim and Amareleja was evaluated with the objective

4 Este artigo resume uma parte da Dissertação de Mestrado em Engenharia Agronómica “Qualidade de 13 cultivares de melão (*Cucumis melo* L.) do tipo Branco do Ribatejo e pele de Sapo em Évora, Almeirim e Amareleja” de Ana Prata Loureiro Cadete (ISA-UTL, Lisboa, 2011).

of selecting the cultivars with better quality of each type. The melons were harvested ripe or green according to the criterion of producer and the soluble solids content (SSC), titratable acidity, vitamin C and total phenols content were determinate. Additionally sensory tests were carried out. Considering the melons “Branco do Ribatejo” there were no significant differences between the two degrees of maturation, the SSC of melons produced in Almeirim failed to reach 12 ° Brix, in other places the sweeter cultivars were the 'Lusíada' (12.7 ± 0.7) and the 'Lusitano' (14.5 ± 1.0) in Évora and the 'Lusíada' (13.4 ± 0.9) in Amareleja. The “Pele de Sapo” melons produced in Amareleja had a higher SSC (13.7 ± 1.7) and the sweetest and mature cultivars were 'Hidalgo' (15.7 ± 0.6), 'Fitor' (15.6 ± 1.3), 'Ruidere' (15.5 ± 1.4) and 'Seda' (14.5 ± 0.5). In Almeirim and in Évora the highest SSC was found in 'Sancho' (14.0 ± 1.8 and 14.5 ± 2.2 , respectively). The acidity varied with the cultivar and location, 'Fitor' and 'Ruidere' were more acidic (1.1 and 1.0 ± 0.04 g/L, respectively); the melons produced in Évora reached higher acidity (1.0 ± 0.02 g citric acid/L of juice). The content of vitamin C and total phenolics did not differ with the cultivar and location, cultivars had on average 16.1 ± 6.1 mg of ascorbic acid/100 g of edible fruit and 33.4 ± 8.4 mg of galic acid/100 g of edible fruit, respectively. Melons are assessed by sensorial tests by an untrained consumers group, resulting that “Branco do Ribatejo” type melons from Amareleja were the least appreciated and melons from Évora obtained the best results. In relation to the “Pele de Sapo” type cultivars, Hidalgo was the most appreciated, in opposition 'Havana' and 'Seda' were considered worse. The “Pele de Sapo” melons 'Hidalgo', 'Ruidere' and 'Fitor' were considered of better quality, but the site of production and the production system influenced the results. The cultivar 'Lusitano' of the “Branco do Ribatejo” group was the one that proved to be most promising in terms of quality.

Keywords: “Branco do Ribatejo” melon, “Pele de Sapo” melon, SSC, sensorial tests.

Introdução

Em Portugal a área ocupada pela cultura do melão é superior a 3700 ha. É produzido principalmente no Ribatejo e Alentejo (Almeida, 2006). Existe um número elevado de variedades que são cultivadas, mas as mais representativas são as Pele de Sapo e Branco do Ribatejo. A qualidade dos melões, sobretudo a qualidade gustativa é avaliada principalmente em termos do seu teor de açúcar. Segundo as normas da OCDE, um melão com valor gustativo satisfatório tem que ter um índice refractométrico (Brix) igual ou superior a 9; um melão com um grau Brix igual ou superior a 12 e uma firmeza entre os 0,5 e 1,5 kg/0,5 cm² é considerado de alto valor gustativo (Alavoine et al., 1988). Outros parâmetros que definem a qualidade do melão são a dureza da polpa (textura), aspecto externo (oxidações, podridões) e a perda de peso (Ramirez et al., 2002, Artés et al., 1993, cit in Valdenegro et al., 2006).

A qualidade do melão é um dos principais problemas desta cultura, pois este fruto vai perdendo qualidade uma vez colhido, obrigando a que seja comercializado num curto período de tempo (Valdenegro et al., 2006). É de notar que a capacidade de conservação pós-colheita é o factor mais importante para definir a possibilidade de comercialização de uma determinada variedade. A qualidade gustativa do melão reflete também a sua textura (polpa crocante, macia, fibrosa), o sabor e aroma e a suculência (sumo mais ou menos abundante). Pode ser avaliada através da análise sensorial, que permite relacionar os parâmetros físico-químicos medidos instrumentalmente com a sensação, percepção e satisfação que o consumidor experimenta ao provar o fruto (Valdenegro et al., 2005).

A qualidade dos melões é afectada pelo genótipo, pela data de colheita mas também por diversos factores durante a sua cultura e na fase pós-colheita (estes últimos não abordados neste trabalho). Segundo Caudal et al. (1985), a variedade do melão influencia claramente a sua qualidade, em especial o sabor, mas a obtenção de um teor suficiente em açúcar está igualmente relacionado com as condições edafoclimáticas, técnicas culturais e a data de colheita. A concentração de TSS dos melões à colheita não deve ser inferior a 10 °Brix (Vallespir, 1999,

cit in Júnior et al., 2006). A cultura do melão apresenta melhores resultados em solos franco-argilosos ou argilo-arenosos e com baixo teor de cobre. Quando se trata de cultura ao ar livre, caso deste ensaio, a cultura estabelecida por transplantação origina uma produção mais precoce e homogênea e frutos com um teor de sólidos solúveis mais elevados, embora nem sempre seja a que origina maiores produções. Um stress hídrico imposto no final do desenvolvimento do fruto, durante a fase de acumulação de açúcar após a expansão das células, tende a provocar um maior impacto na concentração de sólidos solúveis do que na biomassa dos frutos (Long et al., 2004 cit in Long et al., 2006). O teor de sólidos solúveis aumenta quando a salinidade do solo aumenta, diminuindo quando se aumenta a densidade de plantação (Medlinger, 1994 cit in Júnior, 2006).

Este trabalho reflete parte do estudo feito no primeiro ano de um projecto realizado pelo Instituto Superior de Agronomia-CEER em parceria com o Grupo Jerónimo Martins, que visa desenvolver um caderno técnico para a cultura do melão de ar livre, para a obtenção de frutos de alta qualidade respeitando o ambiente e utilizando as boas práticas agrícolas. Para conseguir seleccionar as cultivares de maior qualidade e os locais de produção mais adequados, colheram-se frutos com dois estados de maturação diferentes determinou-se características de qualidade e foram feitas análises sensoriais de amostras de melão de cada um dos grupos.

Material e métodos

Foram utilizadas 13 cultivares de melão, das quais a ‘Lusíada’, ‘Lusitano’, ‘HB06921’ e ‘HB71506’ são cultivares do tipo Branco do Ribatejo e as cultivares ‘Ibérico’, ‘5 Jotas’, ‘Fitor’, ‘Havana’, ‘Hidalgo’, ‘Kanela’, ‘Ruidere’, ‘Sancho’ e ‘Seda’ são do tipo Pele de Sapo. Os melões foram produzidos durante o ano de 2010 em Évora (90 dias de ciclo para os melões brancos, 100 dias de ciclo para os melões verdes), Almeirim (80 dias de ciclo), Amareleja (87 dias de ciclo), onde se registam diferentes condições edafoclimáticas e técnicas culturais. Colheram-se melões em dois estados de maturação diferentes, de acordo com a apreciação visual do agricultor.

As análises químicas foram efectuadas em três melões maduros e três verdes por cultivar e local. O sumo foi preparado por trituração de 100 g de polpa com uma batedeira comum e subsequente filtração. Para medir o TSS, usou-se um refractómetro ATAGO (escala 0-30%). Para a determinação da acidez titulável, do sumo de melão filtrado retirou-se 10 cm³ para um copo ao qual se adicionou 10 cm³ de água destilada. Procedeu-se à titulação com uma solução 0,1 N de NaOH até que o potenciómetro marcasse pH 8,1, registando-se de seguida a quantidade de base gasta e expressando-se o resultado em gramas de ácido cítrico/ litro de sumo. A determinação da vitamina C foi feita por titulação com o DCPIP (Pisoschi et al., 2008), calculando-se a quantidade de vitamina C presente no sumo de melão através da comparação com a quantidade de vitamina C presente na solução de concentração conhecida de ácido ascórbico. O teor de fenóis totais foi determinado através de análise espectral (Waterhouse, 2002), usando como padrão o ácido gálico.

Os ensaios de Évora e Amareleja foram feitos utilizando-se o delineamento em blocos casualizados, cada local contendo três blocos. O tratamento estatístico dos dados foi efectuado através do programa Statistix 9.0, fazendo uma análise factorial com três factores: cultivar, grau de maturação e local e realizando uma análise de variância. A comparação de médias foi efectuada através do teste de Tukey para um nível de significância de $\alpha=0,05$.

Foram realizadas provas organoléticas com um mínimo de 16 provadores, sendo misturadas fatias de 3-4 melões de cada cultivar e local. O grau de satisfação variou entre 1 (muito mau) e 5 (muito bom).

Resultados e discussão

No caso dos melões brancos, o teor de sólidos solúveis (TSS) nos dois estados de maturação das amostras não foi estatisticamente diferente e a acidez foi significativamente

maior nos melões verdes (quadro 1). Os valores de acidez foram sempre baixos, atingidos valores muito reduzidos, nomeadamente no caso dos melões maduros das cultivares Lusíada e Lusitano produzidos em Almeirim, em que os valores obtidos foram de 0,4 e 0,5 g/L de sumo, respetivamente. O teor de vitamina C variou com o grau de maturação, aumentando significativamente dos melões verdes para os maduros, de 14,9 mg por 100 g de polpa para 17,3 mg por 100g de polpa. Estes valores foram bastante inferiores ao esperado (quadro 1), já que o valor padrão de vitamina C para o melão é de 30 mg/ 100g de polpa (Porto e Oliveira, 2006). O aumento do teor de ácido ascórbico ao longo da maturação vem corroborar o já verificado por outros autores (Pateraki et al., 2004). O teor de fenóis totais não apresentou qualquer variação significativa ($p>0,05$), não corroborando o aumento previsto (Chisari et al., 2009).

No que se refere às cultivares, para a ‘HB06921’ não foi possível registar o grau Brix e a acidez pois as amostras da Amareleja encontravam-se sobremaduras e impróprias para consumo. As restantes cultivares apresentaram TSS estatisticamente iguais. Em termos de acidez, a HB71506 e a Lusitano apresentaram valores estatisticamente iguais e superiores ao da Lusíada (quadro 2). Os teores de vitamina C e de fenóis totais não apresentaram variação em função da variedade.

Em relação ao local, verificou-se que os melões produzidos em Évora e na Amareleja apresentavam TSS estatisticamente iguais e superiores ao TSS obtido para os melões produzidos em Almeirim (quadro 3). Um melão de muito boa qualidade deve possuir uma leitura refractométrica superior a 11% e um de boa qualidade, uma leitura entre os 9 e 11% (Alavoine et al., 1988), logo, os melões de Almeirim que tiveram valores de Brix de 10,1% são considerados de boa qualidade e os de Évora e Amareleja que obtiveram valores superiores a 12% são de muito boa qualidade. Particularizando para os melões maduros, os frutos produzidos em Almeirim obtiveram os valores de Brix mais baixos, sendo o mínimo atingido na Lusíada, com um valor de 8,5% (quadro 4). A variedade que conseguiu um valor mais elevado foi a HB71506, que obteve 11,5% de Brix. No ensaio de Évora, a cultivar Lusitano obteve um valor médio de 14,5% de Brix, tendo sido de todos os ensaios, a cultivar que conseguiu o valor mais elevado. Os teores de vitamina C e fenóis, à semelhança do que acontecera com as variedades, não variaram significativamente com o local de cultura.

No caso dos melões pele de sapo, os melões maduros apresentaram maior grau Brix que os melões verdes, que tinham em média um Brix inferior a 12%. Na análise da acidez obteve-se o mesmo valor de 0,9 g/L de sumo nos dois estados de maturação. Tanto o teor de vitamina C como o de fenóis apenas variaram em relação ao grau de maturação ($p<0,05$), tendo-se registado valores mais elevados de ambos os parâmetros nos melões maduros (17,5 mg de ácido ascórbico e 36,6 mg de ácido gálico por 100 g de polpa, contra 14,9 mg de ácido ascórbico e 32,2 mg de ácido gálico por 100 g de polpa nos colhidos mais precocemente), não variando com local ou cultivar (quadro 5). Este aumento da concentração de ácido ascórbico ao longo da maturação na planta fora já referenciado (Pateraki et al., 2004). No caso do teor de fenóis, este aumento deve-se a um aumento da acumulação de pigmentos que ocorre em simultâneo com a degradação da clorofila durante a maturação (Chisari et al., 2009). Quanto aos locais de produção, em relação ao teor de sólidos solúveis não houve grande diferença entre Évora e Almeirim, obtendo-se valores de 11,5% e 11,9%, respetivamente. Na Amareleja conseguiram-se melões das variedades verdes com graus Brix de média 13,7% (quadro 6). No ensaio de Évora produziram-se melões com uma acidez média de 1,0 g de g/L de sumo e nos ensaios de Almeirim e Amareleja a acidez foi em média de 0,9 g /L de sumo (quadro 6).

Numa breve comparação das variedades, e analisando os dados dos melões colhidos no estado maduro, a cultivar Hidalgo foi a que obteve um maior grau Brix com o valor de 14,5%, enquanto a “Havana” teve um Brix de apenas 11% (quadro 7). Algumas cultivares mantiveram o Brix elevado nas três regiões, enquanto para outras o valor dependeu muito da região (quadro 8). Em relação à acidez, as cultivares com menos acidez foram as ‘Havana’ e ‘5 Jotas’. A ‘Fitor’ foi a cultivar com maior acidez (1,1 g/L de sumo) (quadro 7).

Tanto na Amareleja como em Almeirim, a ‘Ruidere’ foi a que teve maior grau Brix (quadro 8). Tanto em Almeirim como em Évora, as cultivares Ibérico e Sancho foram consideradas estatisticamente iguais, apesar de alguma diferença entre os valores de Brix. Nestas regiões, estas duas cultivares obtiveram o maior TSS, assim como a ‘Ruidere’ no ensaio de Almeirim. Na Amareleja foram quatro as cultivares com o Brix mais elevado e consideradas estatisticamente iguais, sendo elas, a ‘Hidalgo’, ‘Fitor’, ‘Ruidere’ (como já tinha sido referido) e ‘Kanela’. As cultivares com menos açúcar foram as ‘5 Jotas’ nos ensaios de Évora e Almeirim, com grau Brix de 9,9% e 11,3% respetivamente, enquanto na Amareleja, observou-se o menor Brix na cultivar Havana, com 10,9%. A cultivar Havana em Almeirim foi considerada estatisticamente igual à ‘5 Jotas’ sendo por isso, outra cultivar com baixo teor de açúcar.

Na análise sensorial, os melões brancos do Ribatejo produzidos na Amareleja foram os menos apreciados pelo painel de provadores em todos os aspectos avaliados. Os melões produzidos em Évora foram os mais apreciados. Estes resultados reflectem em certa medida os valores obtidos laboratorialmente já que Évora foi o local de produção que proporcionou Brix mais elevado. Em relação aos melões Pele de Sapo, as cultivares Hidalgo e Ruidere foram as mais apreciadas, sendo a Havana e a Seda consideradas as piores.

Conclusões

Évora e Amareleja foram os dois locais em que se obtiveram melões com uma média de Brix mais elevada no que diz respeito às cultivares brancas. Admitindo o teor de sólidos solúveis como o melhor critério para avaliar a qualidade do melão, podemos concluir que em relação ao melão Branco do Ribatejo, o campo em Almeirim não produziu melões que cumprissem as exigências comerciais, pois as quatro cultivares tiveram um Brix médio inferior a 12%. Os restantes ensaios tiveram como cultivares mais doces a ‘Lusíada’ (12,7%) e a ‘Lusitano’ (14,5%) em Évora e a ‘Lusíada’ (13,4%) na Amareleja. O local que produziu as melhores variedades Pele de Sapo foi a Amareleja, cujos melões apresentaram uma média de Brix de 13,7%, sendo a cultivar Havana a única que apresentou um Brix médio inferior a 12%. Todas as restantes cultivares estavam aptas para serem comercializadas, nomeadamente a ‘Hidalgo’ (15,7%), ‘Fitor’ (15,6%) e ‘Ruidere’ (15,5%). Em Almeirim, as cultivares com maior Brix médio foram a ‘Sancho’ (que nos melões considerados maduros chegou aos 14%) e a ‘Ruidere’ (14,3%) e em Évora, a ‘Sancho’ (14,5%). Os melões Pele de Sapo ‘Hidalgo’ e ‘Ruidere’ foram considerados os mais promissores.

Referências

- Alavoine, F., Crochon, M., Fady, C., Fallot, J., Moras, P., Pech, J., 1988. La qualité gustative des fruits. Méthodes pratiques d’analyse: 47 pp.
- Almeida, D., 2006. Manual de culturas hortícolas vol.2: 113 – 135. Editorial Presença, Lisboa.
- Caudal, Y., Dumoulin, J., Fourel, A., Joubert, G., Leteinturier, J., Moreau, B., Musard, M., Odet, J., Pelletier, J., Thicoipe, J., Veschambre, D., Wacquant, Claude, Zuang, H., 1985. Melon – Marché et techniques de production: 47 – 56.
- Chisari M., Silveira A.C, Barbagallo R.N., Spagna G. & Francisco Artés (2004). Ripening stage influenced the expression of polyphenol oxidase, peroxidase, pectin methylesterase and polygalacturonase in two melon cultivars. International Journal of Food Science and Technology 44: 940–946.
- Gomes, P., 2007. Cultivo de melão. Manejo, colheita, pós-colheita e comercialização. Serviço Nacional de Aprendizagem Rural – SENAR, Brasília: 104 pp.
- Júnior, R., Dantas, F., Salviano, A., Nunes, G., 2006. Qualidade do Melão Exportado pelo Porto de Natal – RN. Ciência Rural 36: 286 – 289.

- Long, R., Walsh, K., Midmore, D., Rogers, G., 2006. Irrigation Scheduling to Increase Muskmelon Fruit Biomass and Soluble Solids Concentration. *HortScience* 41: 367 – 369.
- Pateraki P. Sanmartin M., Kalamaki M. S., Dimitrios Gerasopoulos e Kanellis A.K. 2004. Molecular characterization and expression studies during melon fruit development and ripening of L-galactono-1,4-lactone dehydrogenase. *Journal of Experimental Botany*, 55:1623 – 1633.
- Pisoschi, A., Danet, A., Kalinowski, 2008. Ascorbic Acid Determination in Commercial Fruit Juice Samples by Cyclic Voltammetry. *Journal of Automated Methods and Management in Chemistry* 2008: 8 pp.
- Porto A., Oliveira E. 2006. Tabela da composição de alimentos. Lisboa: Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Centro de Segurança Alimentar e Nutrição.
- Valdenegro, M., Ramirez M., Cabello J., Ribas, F., Romojaro, F., 2005. El cultivo del melón “piel de sapo” – Problemática de la conservación post-cosecha.
- Valdenegro, M., Ramirez M., Cabello J., Ribas, F., Romojaro, F., 2006. Conservación de cultivares de melón piel de sapo. *Horticultura* 190: 38 – 45.
- Waterhouse, A.L. 2002. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 1.1.1- 1.1.8. John Wiley & Sons, Inc.

Quadros e figuras

Quadro 1. Características dos melões Branco do Ribatejo nos 3 locais em relação ao grau de maturação.

BRANCOS	TSS (%)	Acidez (g/L)	Vitamina C (mg/100g)	Ácido gálico (mg/100g)
Maduros	11,7	0,7 B	17,3 A	32,5
Verdes	12,1	0,9 A	14,9 B	32,4

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes. N = 3 melões verdes + 3 melões maduros por variedade.

Quadro 2. Características dos melões Brancos do Ribatejo nos 3 locais em relação às variedades.

BRANCOS	TSS (%)	Acidez (g/L)
HB71506	11,5	0,8 A
Lusíada	11,9	0,7 B
Lusitano	12,3	0,9 A
HB06921	ND	ND

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes. N = 3 melões verdes + 3 melões maduros por variedade. ND – Não determinado.

Quadro 3. Características dos melões Branco do Ribatejo em relação ao local

BRANCOS	TSS (%)	Acidez (g/L)
Amareleja	12,6 A	0,9 A
Almeirim	10,1 B	0,9 A
Évora	13,0 A	0,6 B

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes. N = 3 melões verdes + 3 melões maduros por variedade.

Quadro 4. Interação cultivar x local nos melões Brancos do Ribatejo maduros.

Variedade	Local	Brix (%)	Variedade	Local	Brix (%)
Lusíada	Amareleja	13,4 A	HB71506	Évora	11,9 AB
Lusitano	Amareleja	11,5 A	HB71506	Almeirim	11,5 ABC
HB71506	Amareleja	10,8 A	HB06921	Almeirim	11,4 ABC
Lusitano	Évora	14,5 A	Lusitano	Almeirim	10,4 BC
HB06921	Évora	12,7 AB	Lusíada	Almeirim	8,5 C
Lusíada Évora	Évora	12,7 AB			

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes. N = 3 melões por cultivar e local.

Quadro 5. TSS e acidez dos melões Pele de Sapo nos 3 locais em relação ao grau de maturação.

VERDES	TSS (%)	Acidez (g/L)	Vitamina C (mg/100g)	Ácido gálico (mg/100g)
Maduros	13,1 A	0,9	17,5 A	36,6 A
Verdes	11,7 B	0,9	14,9 B	32,2 B

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes. N = 3 melões verdes + 3 melões maduros por variedade.

Quadro 6. Características dos melões Pele de Sapo em relação ao local.

VERDES	TSS (%)	Acidez (g/L)
Amareleja	13,7 A	0,9 B
Almeirim	11,9 B	0,9 B
Évora	11,5 B	1,0 A

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes. N = 3 melões verdes + 3 melões maduros por variedade.

Quadro 7. TSS e acidez nas diferentes cultivares de melão *Pele de Sapo* maduros.

Variedade	Brix (%)	Variedade	Acidez (g/L)
Hidalgo	14,5 A	Fitor	1,1 A
Ibérico	14,1 A	Ruidere	1,0 AB
Ruidere	14,0 A	Hidalgo	1,0 AB
Sancho	13,6 AB	Kanela	0,9 AB
Fitor	13,5 AB	Havana	0,9 AB
Kanela	13,0 ABC	Ibérico	0,9 AB
Seda	13,0 ABC	Sancho	0,8 AB
5 Jotas	11,1 BC	Seda	0,7 B
Havana	11,0 C	5 Jotas	0,7 B

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes. N = 3 melões por cultivar e local.

Quadro 8. Interação cultivar x região no caso dos melões *Pele de Sapo* maduros.

Variedade	Local	Brix (%)	Variedade	Local	Brix (%)
Hidalgo	Amareleja	15,7 A	Kanela	Almeirim	12,7 ABC
Fitor	Amareleja	15,6 A	Fitor	Évora	12,7 ABC
Ruidere	Amareleja	15,5 A	Sancho	Amareleja	12,4 ABC
Kanela	Amareleja	14,9 A	Fitor	Almeirim	12,3 ABC
Sancho	Évora	14,5 AB	Ruidere	Évora	12,2 ABC
Seda	Amareleja	14,5 AB	Havana	Almeirim	11,8 ABC
Ruidere	Almeirim	14,3 AB	5 Jotas	Almeirim	11,3 ABC
Sancho	Almeirim	14,0 AB	Seda	Évora	11,2 BC
Ibérico	Almeirim	13,7 AB	Kanela	Évora	11,1 BC
Ibérico	Évora	13,3 AB	Havana	Amareleja	10,9 BC
Seda	Almeirim	13,3 ABC	Havana	Évora	10,2 C
Hidalgo	Évora	13,1 ABC	5 Jotas	Évora	9,9 C

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes. N = 3 melões por cultivar e local.

SIGP – Sistema Integrado de Gestão de Propriedades

José Alves ⁽¹⁾, Telmo Nogueira ⁽¹⁾, José Oliveira ⁽¹⁾ & Ricardo Tojal ⁽²⁾

⁽¹⁾ Geodouro – Consultoria e Topografia, Lda., Av. D. Egas Moniz, BL 3 R/C Dtº - Quinta dos Prados – Rina - 5100 – 196 Lamego, ced@geodouro.pt.

⁽²⁾ SOMA – Sociedade Agro-Comercial de Maçã, Lda., Quinta do Corgo, E.N. 226, Km 40, Leomil, geral@somafrutas.com.

Resumo

Devido às pressões internas vividas atualmente, bem como ao aumento da concorrência internacional, os produtores agrícolas necessitam de informação detalhada, georreferenciada e em tempo real sobre o estado e operações realizadas nas suas explorações. Com esta informação, os agricultores podem melhorar significativamente o seu poder de decisão, bem como antecipar problemas, permitindo-lhes gerir de forma mais eficaz os seus custos e propriedades, intervir de forma preventiva e garantir a qualidade dos seus produtos e o seu rendimento.

O aparecimento de uma nova geração de agricultores, mais qualificada e muito sensível à importância da tecnologia, do marketing e *design* dos produtos, potencia a modernização do setor agrícola, fomentando a criação de processos inovadores de controlo, produção e gestão de todos os trabalhos agrícolas, otimizando custos de produção.

O SIGP – Sistema Integrado de Gestão de Propriedades é uma plataforma que responde a todos estes desafios, apresentando-se como uma solução integrada, com versões Web e Mobile, baseado em tecnologias de Informação Geográfica (SIG's), que permite em tempo real a implementação de processos inovadores de controlo, produção e gestão, potenciando o planeamento das atividades agrícolas e otimizando custos de produção, de forma a garantir produtos de qualidade.

Além de possibilitar uma recolha e introdução de dados respeitantes às práticas culturais, a plataforma contempla os seguintes módulos:

- Histórico dos dados, potenciando a tomada de decisão;
- Receção e processamento de dados de estações meteorológicas;
- Monitorização de variáveis como humidade, pluviosidade e pH do solo, através de sensores instalados no terreno;
- Monitorização de parcelas;
- Existência de algoritmos capazes de determinar condicionantes da atividade agrícola;
- Sistema de mensagens e notificações entre os utilizadores.

A plataforma encontra-se já *online* (www.geosigp.pt), tendo vindo a ser testada desde Setembro de 2013 na organização de produtores SOMA.

Palavras-chave: Gestão, Controlo, Internet, Aplicações Móveis, SIG's

Abstract

SIGP – Integrated System Management of Properties. Due to current internal pressures associated to international competition, agricultural producers need detailed and georeferenced information about its farms. Real-time data to better be able to decide, manage production costs and thereby enhance the quality of their products is needed. The emergence of a new generation of farmers more qualified and very sensitive to the importance of technology, marketing and product design, boosting the modernization of the agricultural sector, fostering

the creation of innovative control processes, production and management of all agricultural jobs, optimizing production costs.

The SIGP – Integrated System Management of Properties is a platform that provides an integrated solution with web and mobile versions based on Geographic Information Technologies (GIS), enabling the implementation of innovative processes for control, production and management, fostering the planning of agricultural activities and allowing optimize production costs.

In addition to providing a collection and input of data relating to the cultural practices of farms, SIGP includes the following modules:

- Historical data, fostering decision-making;
- Data reception from weather stations, providing reliable data to producers about climate;
- Monitoring of relevant variables on farms as humidity, rainfall and soil pH through sensors installed in the farm;
- Monitoring parcels;
- Existence of algorithms able to determine conditioning factors of farming (eg probability of occurrence of pests or diseases);
- Messages and notifications system for users.

The platform is online, through the <http://www.geosigp.pt>, has been tested since September 2013 at the producer organization SOMA, is foreseen the beginning of your commercialization in 2014 September next.

Keywords: Management, Control, Internet, Mobile Applications, GIS's

Introdução

O âmbito deste projeto é a criação de uma solução integrada de gestão de propriedades agrícolas baseado em informação cadastral georreferenciada de todos os elementos das propriedades (propriedades, parcelas, caminhos, construções, estações meteorológicas, bombas de rega, poços, tanques, minas, entre outros) e direcionado para as explorações frutícolas, vitícolas e olivícolas, mas expansível a outros sectores, graças à flexibilidade que se introduziu na arquitetura de base do sistema da aplicação.

O SIGP, cujo logotipo se apresenta na Figura 1, é uma plataforma baseada em sistemas de informação geográficos (SIG's), distribuída através da internet, com acesso via dispositivos móveis (smartphones, pda's, tablets) ou através de computadores com acesso à internet, que permitem a recolha e introdução de todos os dados respeitantes à caracterização e às atividades inerentes às explorações agrícolas.

Esta plataforma receberá dados provenientes de outros atores (como sensores e estações meteorológicas instalados no terreno), possibilitando a monitorização de variáveis relevantes como a humidade, pluviosidade, pH do solo, aparecimento de doenças ou pragas, entre outras. Possibilita também o envio de mensagens e notificações aos produtores a partir de cooperativas ou associações de produtores.

Na Figura 2, é apresentado um esquema ilustrativo do âmbito do SIGP. A conceção e desenvolvimento de uma ferramenta como o SIGP surge de uma necessidade de mercado identificada pela Geodouro, através do contacto direto com empresários agrícolas (muitos já clientes da Geodouro no âmbito de outros serviços que a empresa presta) e também do estudo de mercado realizado onde foi identificada esta lacuna.

Com a disponibilização do SIGP no mercado pretende-se contribuir para o desenvolvimento agrícola nacional, nomeadamente através de uma ferramenta de gestão inovadora e poderosa.

Material e Métodos

Neste ponto, será efetuada uma descrição sucinta da plataforma onde, para além da apresentação das principais funcionalidades, se procede à ilustração das mesmas com recurso a imagens da plataforma, bem como da referência às potencialidades da mesma.

Descrição da aplicação:

Solução concebida para acesso via internet, com vertentes Web e Mobile. A versão Web encontra-se acessível através do endereço: <http://www.geosigp.pt>, cuja página inicial se apresenta abaixo (Figura 3).

- **Página inicial do SIGP:** os visitantes da plataforma, sem se autenticarem na mesma e serem direcionados para a área reservada de cada utilizador, podem consultar informação acerca do funcionamento e características do SIGP, consultar notícias sobre este, aceder aos contactos para obtenção de mais informações e efetuar login na aplicação;
- **Página pós-login do SIGP:** depois de autenticados, os utilizadores registados são direcionados para a sua área reservada. Nesta é apresentado um mapa com as propriedades da entidade a que o utilizador pertence, informação meteorológica relativa ao local da propriedade e ainda uma agenda eletrónica com eventos e práticas culturais calendarizadas (Figura 4);
- **Página entidade do SIGP:** página onde se encontra todo o inventário alfanumérico e geográfico da entidade (Figura 5);
- **Página exploração do SIGP:** página onde são apresentadas, em modo gráfico e alfanumérico, todas as propriedades da entidade. É permitido ao utilizador consultar todos os dados de cada uma das propriedades apresentadas, atualizar os dados das mesmas e aceder à página das parcelas da propriedade (Figura 6);
- **Página das parcelas:** página onde são apresentadas, em modo gráfico (colorido segundo a variedade) e alfanumérico, todas as parcelas da propriedade previamente selecionada. A exemplo da página das propriedades, nesta página é possível visualizar os dados das parcelas, atualizar as mesmas e também aceder à página das práticas culturais (Figura 7);
- **Página das práticas culturais:** página onde são apresentadas as práticas culturais, por parcela. Para além da apresentação gráfica da parcela em causa com detalhe das linhas, à direita são apresentadas as práticas culturais que se encontram abertas. É também nesta página que se podem criar as práticas culturais com a indicação dos recursos humanos, materiais e produtos a utilizar na execução da mesma (Figura 8);
- **Página dos registos:** página onde são efetuados os lançamentos das quantidades para os diversos recursos utilizados na execução das práticas culturais (Figura 9);
- **Página das estatísticas:** página onde são apresentadas informações estatísticas relativas às práticas culturais registadas, nomeadamente quantidades de recursos humanos, materiais, produtos e custos dos mesmos. Na Figura 10, apresenta-se a página das estatísticas.

Principais funcionalidades do SIGP:

De seguida, são apresentadas as principais funcionalidades do SIGP (Figura 11):

- Gestão de propriedades e parcelas;
- Gestão de práticas culturais;
- Gestão de recursos humanos e materiais;
- Gestão de produtos;
- Gestão de custos;
- Emissão de caderno de campo;
- Emissão de outros relatórios;
- Sistema de alertas e mensagens;
- Monitorização de parcelas;
- Acesso a informação meteorológica confiável;

- Suporte à implementação de sistemas de qualidade (por exemplo: Norma GlobalGAP).

Resultados e Discussão

Entendemos que o SIGP se destaca das demais soluções existentes no mercado, baseadas em sistemas de informação puramente alfanuméricos, pela capacidade de vincular características alfanuméricas à representação gráfica dos diversos elementos das propriedades passíveis deste tipo de representação, potenciando deste modo a tomada de decisão, e também devido ao seu desenvolvimento ter sido efetuado de acordo com as necessidades dos agricultores da região.

Com um retorno efetivo de investimento, o SIGP suporta uma gestão simultaneamente centralizada e remota de explorações geograficamente distribuídas, com ganhos efetivos de produtividade.

O seu acesso via *internet* vem eliminar o problema da distância, permitindo o acesso à aplicação em qualquer local com rede disponível.

A vertente móvel possibilita também o registo em tempo real das ocorrências, funcionando em modo *offline*, potenciando a gestão, diária e a longo prazo das explorações.

Possibilita a rastreabilidade dos produtos, obtenção de certificações nacionais e internacionais (ex: GlobalGAP), ajudando as empresas a internacionalizar os seus produtos.

Quadros e figuras



Figura 1 - Sistema Integrado de Gestão de Propriedades

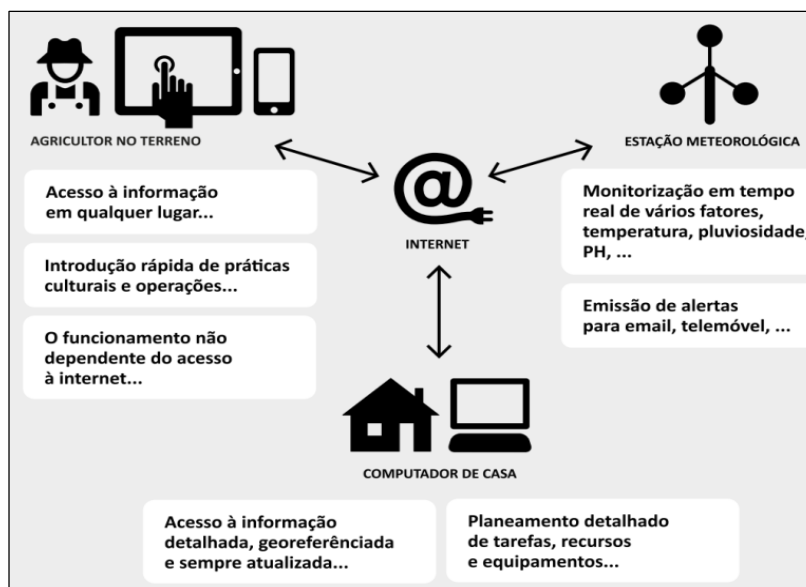


Figura 2 - Âmbito do Projeto



Figura 3 - Página inicial do SIGP

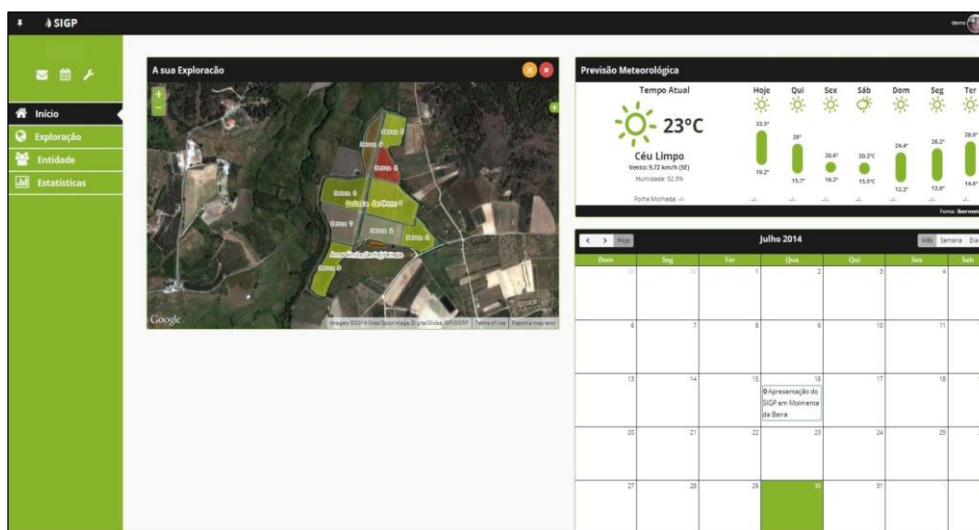


Figura 4 - Página pós-login



Figura 5 - Página administração da entidade

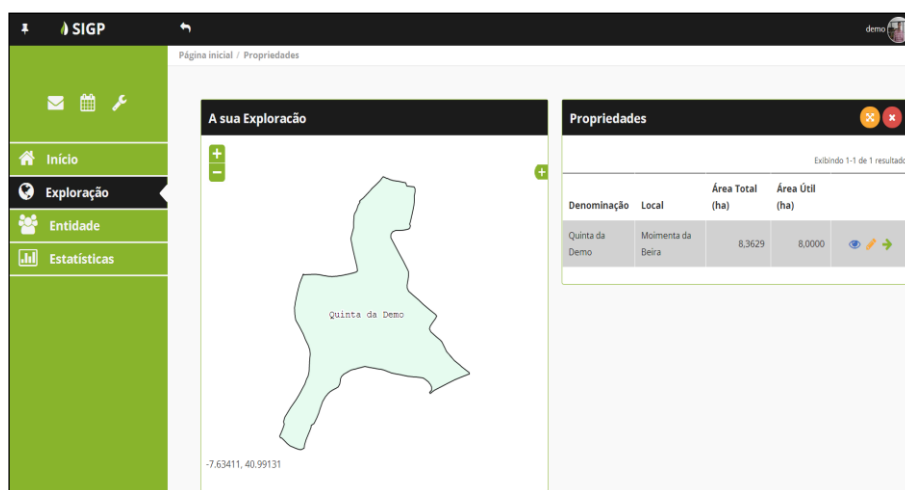


Figura 6 - Página exploração

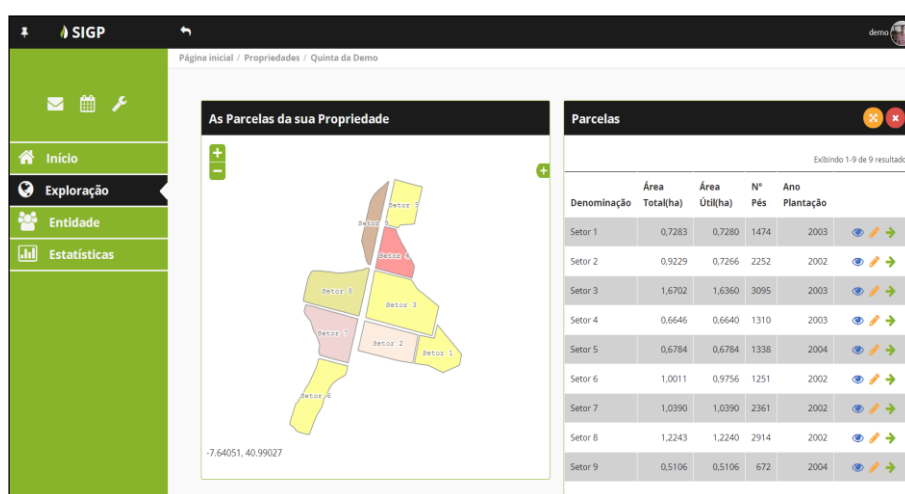


Figura 7 - Página das Parcelas

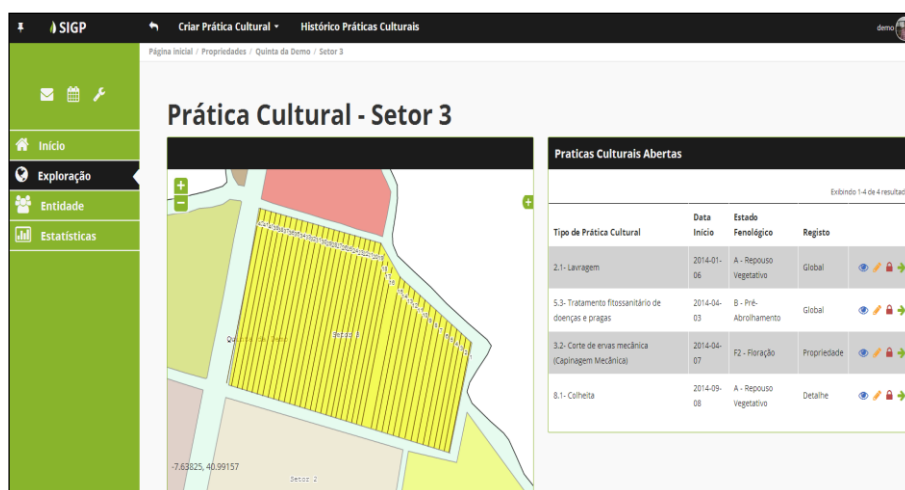


Figura 8 - Página das práticas culturais

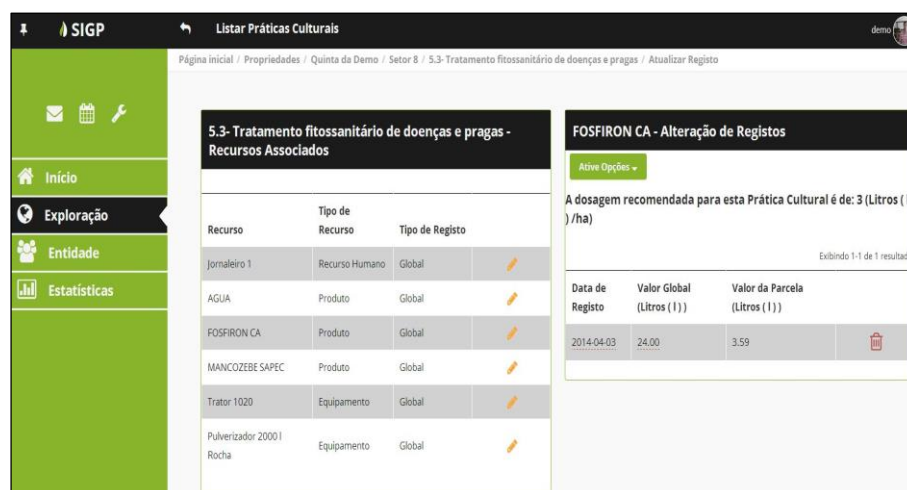


Figura 9 - Página dos registos das práticas culturais

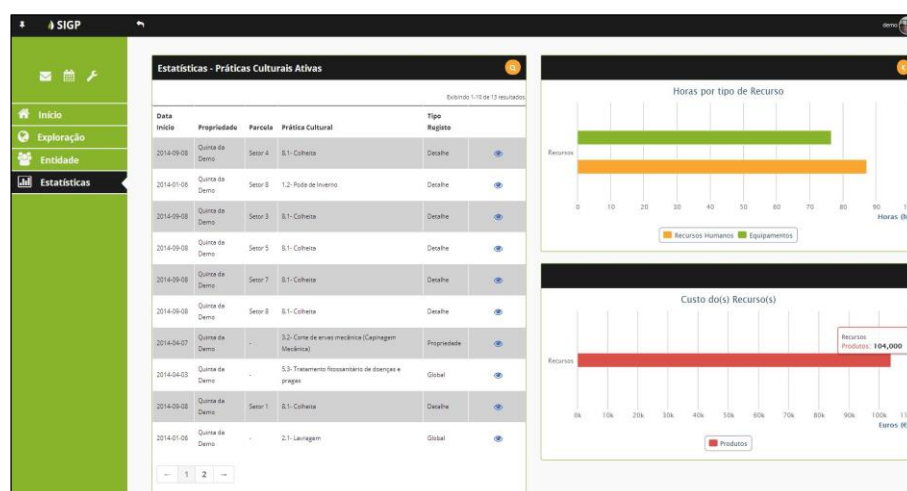


Figura 10 - Página de estatísticas



Figura 11 - Principais funcionalidades do SIGP

Valores foliares de ocorrência de nutrientes em marmeleiro na região de Alcobaça

Anabela Veloso¹, Rui de Sousa², M. Encarnação Marcelo¹ & Pedro Jordão¹

¹INIAV, I.P./UEIS-SAFSV/ Laboratório Químico Agrícola Rebelo da Silva, Tapada da ajuda, Apartado 3228, 1301-903 Lisboa. anabela.veloso@iniav.pt, encarnacao.marcelo@iniav.pt e pedro.jordao@iniav.pt

²INIAV, I.P./UEIS-SAFSV/Pólo de Atividades de Fruticultura, Estrada de Leiria, 2460-059 Alcobaça, rui.sousa@iniav.pt

Resumo

O marmeleiro (*Cydonia oblonga* Mill.) é conhecido em Portugal desde a Idade Média, onde ocupa frequentemente as bordaduras dos campos ou os solos menos férteis, sendo tradicionalmente considerado uma cultura menor. Os estudos realizados sobre a espécie são escassos e têm incidido sobretudo nas propriedades do fruto e na compatibilidade do marmeleiro como porta-enxerto da pereira. Todavia, o renascer do interesse pela produção de marmelo e o incremento da exploração da espécie em pomar vieram mostrar a necessidade de obter conhecimento ao nível das exigências nutricionais da planta e das fertilizações a praticar.

Nas culturas arbóreas e arbustivas a análise foliar constitui um dos meios de diagnóstico mais importantes para a avaliação do estado nutricional das plantas e de suporte à fertilização. A fim de estabelecer teores foliares de referência em marmeleiro, para interpretação dos resultados da análise foliar, realizou-se em Alcobaça, de 2012 a 2014, um trabalho preliminar de colheita e análise de folhas das cultivares Champion, Fabre, Gamboa, Gigantesque de Vranja e Portugal, instaladas num pomar de sequeiro em plena produção, num aluviossolo calcário.

A amostragem foi efetuada aos 100-110 dias após a plena floração em quatro árvores de cada uma daquelas cultivares. Nas amostras foliares foram determinados os teores de macro- e micronutrientes e a produção foi controlada árvore por árvore, tendo-se obtido um valor médio de 21,8 ($\pm 2,6$) kg de frutos por árvore.

Os valores foliares de ocorrência para cada nutriente apresentam-se sob a forma de intervalo centrado na média ± 2 vezes o desvio padrão de cada observação em relação à média. Os intervalos de valores obtidos para os macro- e micronutrientes, exceto para o Cu, expressos respetivamente em g 100 g⁻¹ MS e mg kg⁻¹ MS, foram os seguintes: N [1,71; 2,63], P [0,12; 0,20], K [0,62; 1,67], Ca [0,59; 2,11], Mg [0,17; 0,47], S [0,13; 0,18], Fe [21; 88], Mn [18; 72], Zn [9; 28] e B [9; 17].

Palavras-chave: análise foliar, *Cydonia oblonga* Mill., cultivares, nutrientes, produção.

Abstract

Current foliar levels of quince in the Portuguese region of Alcobaça

In Portugal quince (*Cydonia oblonga* Mill.) is known since the Middle Age, and it is often installed surrounding the fields or occupying the less productive soils, being traditionally considered as a minor crop. Studies of the species are scarce and are mainly focused on fruit properties and the compatibility of quince as rootstock for pear. However, the resurgence of interest concerning the production of quince and the increased exploitation of the species' orchards brought new challenges to technicians and fruit growers, particularly in what concerns the knowledge of the nutritional requirements of the plant and the fertilization levels.

Foliar analysis is one of the most important tools to assess the nutritional status of tree and shrub crops and to support the application of fertilizers. Therefore, a study was performed in the years of 2012-2014, in the Portuguese region of Alcobaça, as a first step to establish the foliar quince reference values, in order to support the interpretation of leaf analysis results for

the crop. The cultivars Champion, Fabre, Gamboa, Gigantesque of Vranja and Portugal, installed in a rainfed orchard, in a limestone alluvial soil, were considered.

Leaf sampling was performed at 100-110 days after full bloom, in four trees of each of the abovementioned cultivars. Macro- and micronutrients concentrations were determined in leaf samples, according to the analytical methods in use at Laboratório Químico Agrícola Rebelo da Silva. The fruit production of each tree was, on average, 21.8 (\pm 2.6) kg. Foliar macro- and micronutrient levels are presented as the [average \pm 2 times the standard deviation], except for Cu. The obtained range values for macro- and micronutrients, expressed as g 100 g⁻¹ DM and mg kg⁻¹ DM respectively, are as follows: N [1.71; 2.63], P [0.12; 0.20], K [0.62; 1.67], Ca [0.59; 2.11], Mg [0.17; 0.47], S [0.13; 0.18], Fe [21; 88], Mn [18; 72], Zn [9; 28] and B [9; 17].

Keywords: leaf analysis, *Cydonia oblonga* Mill., cultivars, nutrients, yield.

Introdução

Em Portugal, o marmeleiro (*Cydonia oblonga* Mill.) ocupa frequentemente a bordadura dos campos ou os solos menos férteis sendo tradicionalmente considerado uma cultura menor, apesar de na Idade Média já ser conhecida a presença desta espécie no coberto arbóreo da Beira Interior (Gonçalves, 2006). Entre os portugueses, o consumo de marmelo é superior à oferta e, segundo dados do INE (2014), nos anos de 2011 e 2012 Portugal importou, respetivamente, 769 t e 1054 t deste fruto. Os incentivos financeiros disponibilizados pelo quadro comunitário compreendido entre 2007 e 2013 permitiram apoiar a instalação de mais de 300 ha de marmeleiro, dos quais cerca de metade na região da Beira (PRODER, 2014).

Na exploração do marmeleiro em pomar assume particular importância o conhecimento do estado nutricional das plantas e a otimização da fertilização praticada, de modo a obter produções rentáveis salvaguardando o ambiente. A concretização deste objetivo pressupõe o recurso aos meios de diagnóstico disponíveis, entre os quais avultam as análises de terra e foliar, cujos resultados constituem suporte fundamental à elaboração de recomendações de fertilização. Nas culturas arbóreas e arbustivas, a dificuldade em conhecer com exatidão o volume ocupado pelo sistema radical e as interações que se estabelecem entre os diferentes nutrientes no solo e nas plantas constituem algumas das limitações ao uso da análise de terra com aquela finalidade. De acordo com Calouro (1998), a análise foliar é largamente utilizada no diagnóstico do estado de nutrição destas culturas, dada a incapacidade da análise de terra disponibilizar, por si só e após a plantação destas culturas, informação suficiente sobre as necessidades nutritivas das plantas. A concentração dos diversos nutrientes na planta, ou em determinado tecido desta, é o reflexo da sua capacidade de absorção e utilização dos nutrientes disponíveis no solo, bem como das relações que se estabelecem entre os diferentes nutrientes (Martin-Prével et al., 1987). Este processo baseia-se no princípio de que a concentração de nutrientes no interior da planta é o resultado de todos os fatores que interatuam e afetam o seu crescimento, incluindo a sua disponibilidade no solo (Peck & Soltanpour, 1990). Deste modo, recorrendo a valores críticos, normas ou intervalos de suficiência para os diferentes nutrientes, previamente estabelecidos, é efetuada a comparação com as concentrações foliares obtidas em laboratório e avaliado o estado nutricional das plantas. Para o marmeleiro, contrariamente ao que se verifica para um vasto conjunto de espécies reportadas na bibliografia (Martin-Prével, 1987; Mills & Benton-Jones, 1996), não são conhecidos teores de referência que permitam a interpretação dos resultados da análise foliar. Todavia, alguns autores (Roversi, 1988; Gómez et al., 2004) publicaram valores foliares de ocorrência para a espécie.

Utilizando a metodologia de amostragem de folhas recomendada para a pereira (LQARS, 2006), foi efetuado um estudo preliminar com o objetivo de conhecer os valores foliares de ocorrência de nutrientes em árvores adultas de marmeleiro em plena produção, primeiro passo para o estabelecimento de teores foliares de referência para interpretação da

análise foliar. Após a sua obtenção, estes servirão de suporte à elaboração de recomendações de fertilização, de forma a contribuir para a otimização da produção e racionalização da aplicação de fertilizantes, promovendo a redução do impacto ambiental que pode resultar desta prática.

Material e Métodos

Nos anos de 2012 a 2014, em plantas de marmeleiro em plena produção, instaladas no Pólo de Atividades de Fruticultura do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P. (INIAV, I.P.), em Alcobaça, procedeu-se à colheita de amostras de folhas nas cultivares Portugal, Champion, Gigantesque de Vranja, Gamboa e Fabre, cultivadas em sequeiro, com o compasso (5 x 3) m. O solo desta parcela é um aluviossolo calcário e apresenta as seguintes características: textura franco-argilo-arenosa, pouco alcalino, pobre em matéria orgânica, teores extraíveis muito altos de fósforo, ferro, manganês e cobre, altos de potássio e zinco e médios de magnésio e boro, sendo os teores de cálcio de troca, magnésio de troca e potássio de troca, respetivamente, alto, baixo e médio.

A amostragem, baseada nas normas de colheita estabelecidas para a pereira (LQARS, 2006), foi efetuada aos 100-110 dias após a plena floração, em quatro árvores de cada uma das supracitadas cultivares. Constituíram-se, assim, quatro amostras por cultivar, cada uma formada por dezasseis folhas colhidas no terço médio dos lançamentos do ano (quatro folhas por quadrante e uma folha por lançamento). Nas amostras foliares foram determinados os teores totais de N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu e B segundo os métodos analíticos em uso no Laboratório Químico Agrícola Rebelo da Silva: o azoto e o enxofre foram determinados por combustão seca, em analisador elementar; o fósforo, potássio, cálcio, magnésio, ferro, manganês, zinco e boro foram determinados numa solução clorídrica das cinzas do material vegetal, obtida por incineração em mufla a (480-500) °C, utilizando um espectrofotómetro de emissão de plasma (ICP-OES).

A produção foi avaliada em cada árvore, nos anos de 2012 e 2013, tendo-se obtido um valor médio de 21,8 ($\pm 2,6$) kg por árvore. A produção do ano de 2014 não foi considerada por a colheita dos frutos não ter sido realizada à data de elaboração do presente trabalho.

Os dados foram tratados no seu conjunto. A análise estatística dos dados foi efetuada recorrendo ao programa Excel 2007 da Microsoft. Os valores foliares de ocorrência estimados para cada nutriente apresentam-se sob a forma de intervalo centrado na média ± 2 vezes o desvio padrão de cada observação em relação à média.

Resultados e Discussão

No quadro 1 apresentam-se alguns valores de estatística descritiva relativos à composição mineral das folhas de marmeleiro e no quadro 2 os intervalos de valores foliares de ocorrência estimados para cada nutriente.

Na fig. 1 apresenta-se a dispersão dos teores foliares de marmeleiro obtidos e, independentemente da espécie, os mínimos e máximos do conjunto dos valores encontrados por diversos autores para diferentes pomóideas: marmeleiro (Roversi, 1988; Gómez, et al., 2004), pereira e macieira (LQARS, 2006) e nespereira (Quiñones et al., 2013). O limite inferior dos teores foliares de nutrientes destas espécies é representado pela nespereira para o N, P, S, Mn e Cu (Quiñones et al., 2013), pelo marmeleiro cv. Leskovatz para o K (Roversi, 1988), pela macieira para o Ca, Mg e Zn, pela macieira e pela pereira cv. Rocha para o Fe e pela pereira cv. Rocha para o B (LQARS, 2006). O limite superior respetivo é representado pelos teores foliares observados em macieira para o N, P, K, S, Fe e Cu (LQARS, 2006), em nespereira para o Ca (Quiñones et al., 2013), em pereira cv. Rocha para o Mg e em macieira e pereira para o Mn, Zn e B (LQARS, 2006).

Verifica-se que, para os macronutrientes, os valores encontrados no marmeleiro não diferem dos indicados para outras pomóideas, embora os níveis de P e S se encontrem,

sobretudo, situados junto ao limite inferior e os de Mg apresentem uma elevada dispersão. Relativamente aos micronutrientes, os teores foliares de Fe, Mn e Zn encontram-se, quase na totalidade, dentro dos limites observados pelos autores referidos, embora se situem, sobretudo, junto ao limite inferior; no caso do Cu, a dispersão de valores é muito acentuada e no caso do B a totalidade dos valores fica abaixo do limite inferior estabelecido. Este facto suscita a questão de as cultivares em estudo serem pouco exigentes ou pouco eficientes na absorção deste nutriente, não sendo de excluir a possibilidade de se estar em presença de uma insuficiência de B no pomar.

Mesmo considerando que as amostras foliares são provenientes de um único local e colhidas num número reduzido de árvores e de cultivares, estabeleceram-se intervalos de valores foliares de ocorrência preliminares em marmeleiro (quadro 2).

A produção média de marmelo por árvore para o conjunto das variedades, nos dois anos considerados, foi de 21,8 ($\pm 2,6$) kg, embora algumas plantas tenham apresentado uma produção nula em 2013. Aquele valor corresponde a uma produção média anual de 14,5 t ha⁻¹, que é representativa dos pomares de sequeiro da região.

Os coeficientes de correlação obtidos entre a composição mineral das folhas e a produção de marmelo, nos anos de 2012 e 2013, apresentam-se na fig. 2. Aqueles coeficientes são altamente significativos e de valor superior a 0,50 no caso do N, P, Ca, S, Mn, Zn, B e Fe, mostrando que estes nutrientes se encontram associados às produções, de forma negativa no caso do Fe e positivamente no caso dos restantes.

Conclusões

Os intervalos de valores foliares de ocorrência estabelecidos para os nutrientes em marmeleiro inserem-se, de um modo geral, no conjunto de valores observados para outras pomóideas. No que respeita ao boro, o comportamento é distinto, devendo este ser aprofundado em estudos futuros.

Os valores foliares de ocorrência para marmeleiro ora apresentados são preliminares, devendo caminhar-se para o estabelecimento de teores foliares de referência, cuja obtenção requer um número mais alargado de pomares, instalados em distintas condições pedoclimáticas.

Referências

- Calouro, F. 1998. Estudo comparativo da aplicação de alguns métodos de diagnóstico de nutrição das plantas cultivadas. Caso da pereira (*Pyrus communis* L.) cultivar Rocha. Tese de Doutoramento em Engenharia Agronómica. UTL, ISA, Lisboa.
- Gómez, P.E., Bravo, M.O., Herrera, R.E., Romero, C.A., Luna, M.C., Aybar, V.E., Kaen R. & Albarracín, V. 2004. Momento de estabilización de nitrógeno, fósforo y potássio foliar em membrilleros champion del Departamento Andalgalá, província de Catamarca. Revista del Cizas. Universidad Nacional de Catamarca. Facultad de Ciências Agrarias. Vol. 5, nº 1-2, p. 81-90.
- Gonçalves, I. 2006. Sobre o coberto arbóreo da Beira Interior nos finais da Idade Média. P. 321-350. In: Faculdade de Letras da Universidade do Porto (eds.). Estudos em Homenagem ao Professor Doutor José Amadeu Coelho Dias, Vol. 1, Porto.
- INE - Instituto Nacional de Estatística. 2014. www.ine.pt. Estatísticas agrícolas 2012 (ed. 2013). Consultado em 2 de julho 2014.
- LQARS - Laboratório Químico Agrícola Rebelo da Silva. 2006. Manual de Fertilização das Culturas. INIAP, Lisboa.
- Martin-Prével, P., Gagnard, J. & Gautier, P. 1987. Pant Analysis, as a Guide to the Nutrient Requirements of Temperate and Tropical Crops. Lavoisier Publishing Inc. New York.

- Mills, H.A. & Benton-Jones, J. Jr. 1996. Plant analysis handbook II: a practical sampling, preparation, analysis and interpretation guide. Micro-Macro Publishing, Inc. Athens, Georgia.
- Peck, T.R. & Soltanpour, P.N. 1990. The principles of soil testing. Westerman, R.L. (ed.). Soil Testing and Plant Analysis, p. 1-9. 3rd ed. Soil Science Society of America, Inc. Madison.
- PRODER - Programa de Desenvolvimento Rural. 2014. www.proder.pt. A fruticultura no PRODER - Alguns indicadores. Consultado em 2 de julho de 2014.
- Quiñones, A., Soler, E. & Legaz, F. 2013. Determination of foliar sampling conditions and standard leaf nutrient levels to assess mineral status of loquat tree. J. of Plant Nutrition 36: 284-298.
- Roversi, A. 1988. Alcuni aspetti della coltivazione del cotogno da frutto. Rivista di Frutticoltura 10: 57-62.

Quadros e figuras

Quadro 1 - Valores da concentração de nutrientes em amostras de folhas de marmeleiro em produção, colhidas aos 100-110 dias após a plena floração (n=60 exceto no caso do S em que n=40).

Nutriente	Mínimo	Máximo	Moda	Média (\bar{x})	Desvio padrão (s)
N	1,63	2,74	2,40	2,17	0,23
P	0,11	0,20	0,16	0,16	0,02
K	0,51	1,63	1,00	1,15	0,26
Ca	0,63	2,03	0,81	1,35	0,38
Mg	0,16	0,52	0,27	0,32	0,07
S	0,12	0,18	0,16	0,15	0,01
Fe	36	119	41	55	17
Mn	16	84	40	45	14
Zn	11	34	17	19	5
Cu	7	54	8	16	11
B	9	18	13	13	2

Quadro 2 - Intervalos de valores preliminares de ocorrência de nutrientes em folhas de marmeleiro em produção, colhidas aos 100-110 dias após a plena floração (média \pm 2 desvio padrão, n=60 exceto no caso do S em que n=40).

N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Mn	Zn	B
(g 100g ⁻¹ MS)						(mg kg ⁻¹ MS)			
1,71-2,63	0,12-0,20	0,62-1,67	0,59-2,11	0,17-0,47	0,13-0,18	21-88	18-72	9-28	9-17

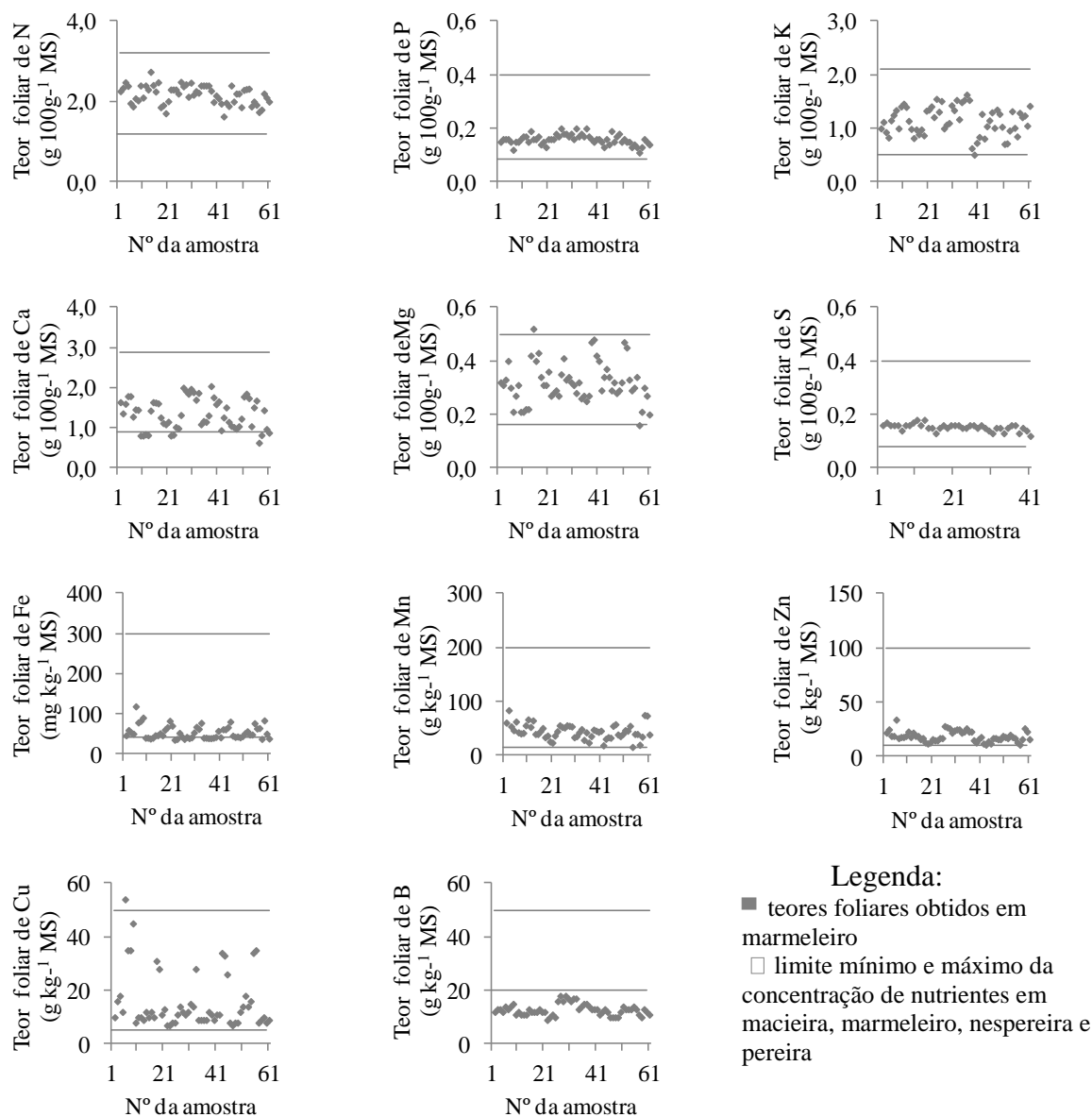


Figura 1 - Distribuição dos teores foliares de marmeleiro obtidos em amostras de folhas colhidas aos 100-110 dias após a plena floração (n=60, exceto no caso do S em que n=40) e valores mínimo e máximo para as espécies macieira, marmeleiro, nespereira e pereira no seu conjunto.

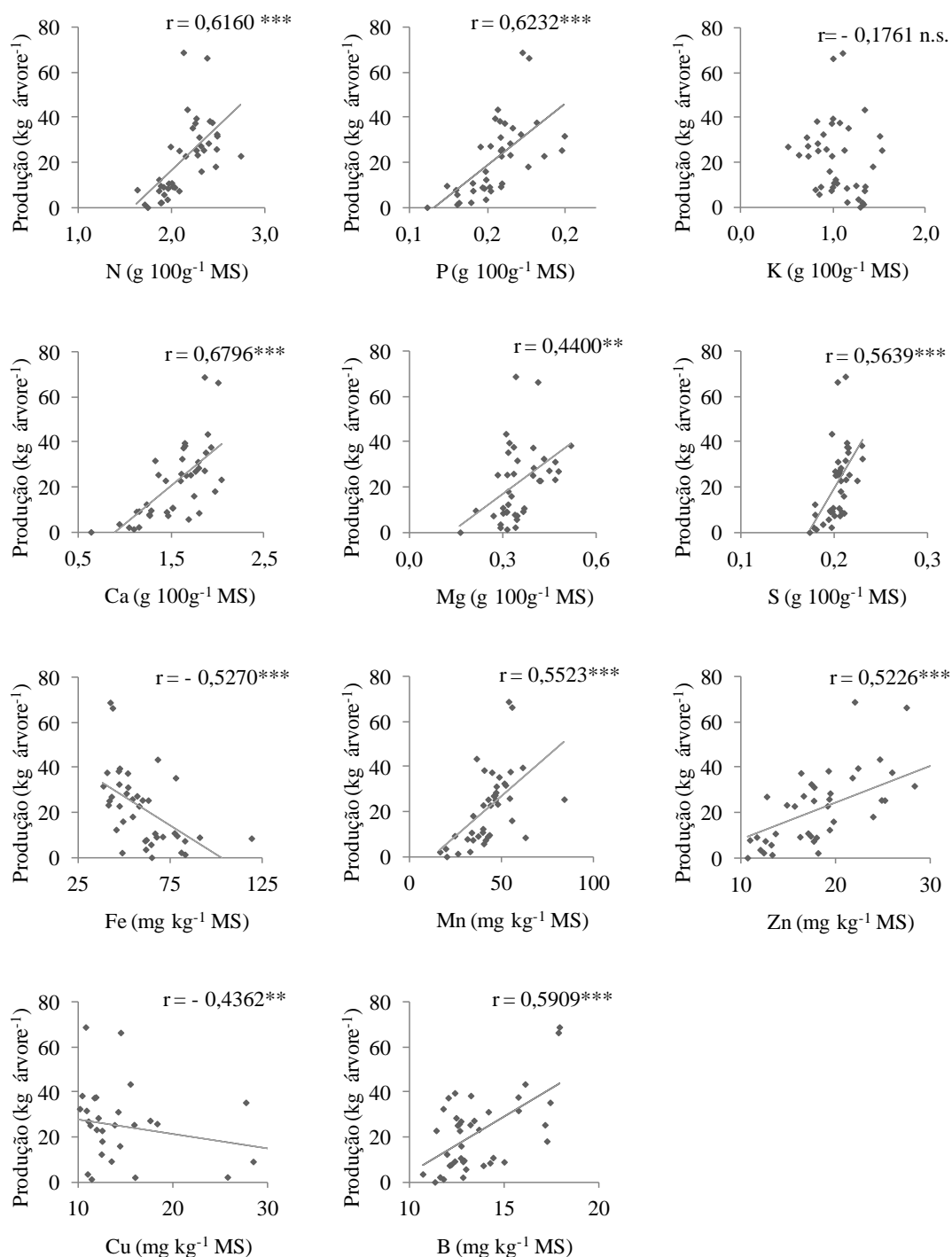


Figura 2 - Coeficientes de correlação linear simples entre a produção de marmelo e a composição mineral das folhas, colhidas aos 100-110 dias após a plena floração nos anos de 2012 e 2013 (n=40); n.s. $p > 0,05$; * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$.

Efeito do inseticida lufenurão no controlo das populações selvagens de *Ceratitis capitata* Wiedemann, Ilha Terceira, Açores

Reinaldo Macedo Soares Pimentel¹, David João Horta Lopes¹ & António Maria Marques Mexia²

¹ Azorean Biodiversity Group (GBA, CITA-A) and Platform for Enhancing Ecological Research & Sustainability (PEERS), Universidade dos Açores, Departamento de Ciências Agrárias, Rua Capitão João d'Ávila, S. Pedro, 9700-042 Angra do Heroísmo, Azores, Tel. (+351) 295402420 (ext 3218). Email: reinaldo.pimentel@uac.pt; dlopes@uac.pt

² Universidade Técnica de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia, Departamento de Proteção de Plantas e Fitoecologia, Tapada da Ajuda; e-mail: amexia@isa.utl.pt;

Resumo

O presente trabalho, que decorreu no âmbito dos projetos ADRESS e CabMedMac (MAC/3/A163), teve por objetivo avaliar o impacto de iscos atrativos de longa duração (1 ano) na proteção contra populações selvagens de *Ceratitis capitata* (Wiedemann). Os iscos eram constituídos por um chapéu protetor amarelo, um tubo perfurado com atrativos de 4 componentes e um prato com um gel usando 3% de lufenurão. Os iscos foram instalados numa área total de 44 hectares situados na zona Norte da Ilha Terceira, Açores, mais concretamente na freguesia dos Biscoitos, tendo incidido em pomares e quintais de pomóideas, prunóideas, citrinos, vinha e figueiras, anoneiras e maracujazeiros. Destes foram selecionados 10 pomares/quintais para se realizar as observações. As observações foram quinzenais e tiveram lugar ao longo de cinco anos (2009 a 2014). As 10 parcelas testemunha, também localizadas na freguesia dos Biscoitos, foram também acompanhadas durante igual período com a mesma periodicidade, abrangendo também os mesmos tipos de culturas.

As populações do inseto foram monitorizadas com armadilhas do tipo McPhail com acetato de amónio, putrescina, trimetilamina, e uma pastilha de DDVP, e com armadilhas do tipo Delta, com trimedlure. O ataque avaliou-se por amostragem de 10 frutos disponíveis e por cultura, em cada local de monitorização.

Os resultados da monitorização de *C. capitata* sugerem que, em média, houve uma redução dos níveis populacionais do inseto nos locais onde os iscos foram instalados. Apesar de esta redução não ter sido progressiva ao longo do tempo, devido à própria dinâmica populacional da praga, da situação inicial onde se verificava uma diferença máxima de 1% entre os locais com e sem isco, esta aumentou para mais de 50%. Paralelamente, ao nível de infestação de frutos, verificou-se uma quebra generalizada desta nos dois tipos de locais ao longo do tempo de estudo.

De uma forma geral os resultados indicam que o dispositivo ensaiado é promissor para a sua aplicação generalizada. No entanto, há que ter em conta que se trata de um dispositivo que usa atrativos visuais e químicos que embora referidos como estando direcionados para este tipo de praga, poderão eventualmente atrair outros insetos. Assim sendo recomenda-se, caso seja efetivamente aplicado durante períodos de tempo mais longos, que haja um plano de monitorização de toda a fauna, em especial da fauna auxiliar, incluindo as abelhas.

Palavras-chave: CabMedMac, mosca-da-fruta, mosca-do-Mediterrâneo

Abstract

This work, which was developed under the projects "ADRESS" and "CabMedMac (MAC / 3 / A163)", had as main goal to evaluate the impact of long term attractive baits (1 year) as a promising protection method against wild populations of *Ceratitis capitata* (Wiedemann). The bait stations were made of a protective yellow hat, a perforated pipe with attractive 4 components and a plate with a gel using 3% of lufenuron. The bait stations were installed in a total area of 44 hectares of area located in the North of Terceira Island (Azores), more precisely, in Biscoitos. The targeted area was mainly orchards and backyards of pome fruit, stone fruit, citrus, vines and fig trees, custard apples and passionfruits. From these, 10 orchards/gardens were selected to perform the regular observations. The observations were carried out fortnightly and took place over five years (2009-2014). The 10 control plots, also located in Biscoitos, were also monitored during the same period with the same periodicity, also covering the same types of crops.

Insect populations were monitored with McPhail traps with ammonium, putrescine, trimethylamine, and a tablet of DDVP acetate, and the Delta traps with trimedlure. The attack was evaluated by sampling 10 available fruits and culture at each monitoring site.

The results of monitoring of *C. capitata* suggest that, on average, there was a reduction in population levels of insect in the places where the bait stations were installed. Although this reduction was not progressive over time due to population dynamics of the pest, the initial situation where there was a maximum difference of 1% between sites with and without bait stations, this difference increased to over 50% at the end of the study. Simultaneously, the recorded level of infestation of fruit, there was a general decline in both sites.

In general the results indicate that the device is promising for its wide application. However it should be bear in mind that, this is a device that uses visual and chemical attractions, and although the product claims its ability to only aim for this type of pest, in fact it can possibly attract other insects. Therefore it is recommended, if effectively applied for longer periods of time, there should be a plan for monitoring all the fauna, especially the auxiliary fauna, including bees.

Keywords: CabMedMac, fruit-fly, medfly

Introdução

A mosca-do-Mediterrâneo (*Ceratitis capitata* Wied.) (Diptera: Tephritidae) é nativa do Norte de África, contudo graças à sua elevada plasticidade ecológica é uma das principais ameaças do comércio de frutos frescos a nível mundial devido principalmente à sua facilidade de adaptação (Carvalho & Aguiar, 1997; Sciarretta & Trematerra, 2011; Radonjic, Cizmovic & Pereira, 2013). Este inseto invade com facilidade novos habitats e o transporte de alguns frutos (infestados) não controlados permitiram a sua rápida proliferação pelo globo. Atualmente este inseto apresenta uma distribuição geográfica mundial em consequência dessa mesma capacidade de dispersão e de adaptação (Joint FAO/IAEA Programme, 2013).

A sua importância económica na comercialização de fruta tem levado ao surgimento de novos produtos e metodologias mais amigas do ambiente e também muito por força também da aplicação da Diretiva Comunitária 2009/128/CE.

O recurso a estações de isco contendo um gel alimentar com inseticida (3% lufenurão) é uma das novas metodologias. A possibilidade de inclusão desta metodologia no controlo de pragas agrícolas tem sido alvo de vários estudos de onde se destacam os realizados em Espanha por Navarro-Llopis et al. (2004; 2007; 2010) e Moya et al. (2010), na Tunísia por Bachrouch et al. (2008), em Itália por Franco et al. (2008) e M.R. Tabilio (2014).

O lufenurão pertence ao grupo químico da Benzoilureia e funciona como inseticida inibidor da síntese de quitina atuando por ingestão e contacto. Este composto tem demonstrado bom potencial no controlo da *C. capitata* provocando a inviabilidade dos ovos e consequente

não-eclosão das larvas o que levará a uma redução gradual, geração após geração da população da Mosca-do-Mediterrâneo uma vez que o ciclo biológico é interrompido (Syngenta, 2007).

Todos os autores, dos trabalhos citados sobre este tipo de metodologia, referem que verificaram, de facto, reduções nas densidades populacionais dos adultos e, inclusive, reduções significativas na emergência de larvas relativamente ao número de picadas observadas nos frutos.

O presente trabalho, que decorreu no âmbito dos projetos ADRESS e CabMedMac (MAC/3/A163), teve por objetivo avaliar o impacto de iscos atrativos de longa duração (1 ano) (Syngenta, 2007) com o referido gel, na diminuição das populações selvagens de *Ceratitis capitata* (Wiedemann).

Material e métodos

Os iscos testados eram constituídos por um chapéu protetor, um tubo perfurado com atrativos de 4 componentes e um prato com um gel usando 3% de lufenurão (fig. 1). Os iscos foram instalados à razão de 24 iscos por hectare (Syngenta, 2007) numa área total de 44 hectares situados na zona Norte da Ilha Terceira, Açores (fig. 2), mais concretamente na freguesia dos Biscoitos, tendo incidido em pomares e quintais de pomóideas, prunóideas, citrinos, vinha e figueiras, anoneiras e maracujazeiros.

Destes foram selecionados 10 pomares/quintais para se realizar as observações. As observações foram quinzenais e tiveram lugar ao longo de cinco anos (2009 a 2014). Os 1.056 iscos foram substituídos anualmente conforme estipulado por Syngenta (2007) e os resíduos dos iscos recolhidos foram devidamente acondicionados e depositados junto do operador de resíduos, certificado para o efeito.

As 10 parcelas testemunha, também localizadas na freguesia dos Biscoitos, foram também acompanhadas durante igual período, da mesma forma, abrangendo também os mesmos tipos de culturas.

As populações adultas de *C. capitata* foram monitorizadas com armadilhas do tipo McPhail com acetato de amónio, putrescina, trimetilamina, e uma pastilha de DDVP (fig. 3), e com armadilhas do tipo Delta, com trimedlure (fig. 4). A percentagem de ataque aos frutos avaliou-se por amostragem de 10 frutos disponíveis e por cultura, em cada local de monitorização.

Resultados e discussão

Analisando os dados obtidos (fig. 5) na monitorização pode-se constatar que anualmente os picos populacionais das fêmeas adultas, nos locais em estudo, ocorrem praticamente em períodos homólogos em cada um dos diferentes anos. Verifica-se também que há, no início dos trabalhos (Agosto 2009), uma situação muito semelhante (1% de diferença) entre os dois tipos de locais (com e sem Adress) e que no decorrer do tempo, esta diferença, apesar das variações nas capturas, vai sendo cada vez mais notória (até 50%).

No entanto, atendendo à distribuição não paramétrica dos dados MAD mensais e na impossibilidade de os converter para uma distribuição normal, a análise estatística dos dados desde de Agosto de 2009 até Outubro de 2013, foi realizada recorrendo a um teste não paramétrico análogo ao teste t por forma a determinar se existem diferenças entre os locais CI e SI. Desta análise, com base nos resultados do Teste de Wilcoxon (Pareado) evidenciam-se diferenças significativas ($P = 0,03$) entre os locais CI (com Adress) e SI (sem Adress) estudados à conclusão dos trabalhos (Outubro 2013).

De acordo com os resultados obtidos, dos frutos amostrados, os locais CI registaram um número muito inferior de larvas por Kg de fruta em relação aos locais SI (fig. 6). De todos os frutos amostrados, quer nos pomares sem tratamento (SI) quer nos com tratamento (CI), o araçá, figo e nêspera foram os frutos que registaram as maiores infestações de mosca-do-Mediterrâneo. No entanto, as maiores infestações registadas ocorreram no início do ensaio

porque ao longo do ensaio verificou-se um decréscimo anual generalizado das taxas de infestações em locais CI (fig. 6).

No decorrer da análise de frutos infestados, as pupas que foram surgindo, foram devidamente separadas de acordo com a proveniência dos frutos (de locais CI ou SI). Tal procedimento permitiu, em 2010, determinar a proveniência do único adulto fêmea que emergiu com deficiências anatómicas a partir de frutos de locais CI (fig. 7).

Como se pode verificar (fig. 7) a fêmea adulta de *C. capitata* que emergiu apresentava sinais de deformações ao nível das asas. Numa análise mais pormenorizada à lupa constatou-se que as asas estavam de tal forma deformadas que certamente não permitiriam a sua sobrevivência. Pinakin et al. (2011) testaram o impacto do lufenurão nos vertebrados, mais concretamente o impacto deste nas galinhas e concluíram que o lufenurão (100µl de 54ppm) é embriotóxico e teratogénico e como tal expondo este composto à cadeia de alimentação poderá conduzir a consequências indesejáveis nos vertebrados. Apesar da metodologia testada não implicar a aplicação direta do lufenurão, o ciclo de vida da *C. capitata* passa pelo solo. Se admitirmos que larvas contaminadas com lufenurão, conseguem enterrar-se no solo e as pupas que estas originam aí permanecerem até a emergência dos adultos de *C. capitata*, poderemos ter situações semelhantes às da fig. 7. Considerando que as galinhas são omnívoras e presentes no meio rural, poderá haver uma possibilidade de contaminação na cadeia alimentar por parte deste composto químico se estas se alimentarem de significativas quantidades de larvas ou pupas existentes no terreno ou nos frutos que esgravatam para se alimentar.

De acordo com Hendrichs et al. (2007), a heterogeneidade ecológica num campo, pomar e mesmo a escalas espaciais mais amplas, afeta profundamente a dinâmica populacional das pragas. Segundo este autor o conhecimento no tempo e no espaço das populações de pragas constitui uma informação indispensável necessária para planejar, implementar e avaliar programas de Proteção Integrada das culturas.

Pimentel et al. (2014) recorrendo a uma análise de regressão geograficamente ponderada aplicada aos dados de capturas e as características geográficas de cada local de monitorização permitiu de demonstrar isso mesmo ao identificar fenómenos de agregação desta espécie ao longo da área em estudo. O facto da amostragem de frutos, ter revelado uma diminuição generalizada (em locais CI e SI) do número de larvas por quilo de fruto pode-se ter resultado do facto de não haver barreiras físicas entre os locais CI e SI e como tal, dada a capacidade de dispersão e de agregação da praga, existe a possibilidade de contaminação entre locais. Navarro-Llopis et al. (2010) tentou isolar a área a aplicar iscos de modo a impedir que houvesse contaminação proveniente de populações exteriores e como tal, com o decorrer do tempo, verificou-se um gradual incremento na diferença entre as parcelas CI e as parcelas SI. No entanto, dadas as condições geográficas e a realidade açoriana, tal possibilidade de isolamento seria inviável ou difícil de encontrar na realidade.

Conclusões

Os resultados da monitorização de *C. capitata* sugerem que, em média, houve uma redução dos níveis populacionais de adultos desta praga nos locais onde os iscos foram instalados. Apesar desta redução não ter sido progressiva ao longo do tempo, devido à própria dinâmica populacional da praga, registou-se uma evolução significativa entre a situação inicial onde se verificava uma diferença máxima de 1% entre os locais com e sem isco, esta aumentou para mais de 50%. Paralelamente registou-se ao nível de infestação de frutos, verificou-se uma quebra generalizada nos dois tipos de locais ao longo do tempo de estudo.

Dada a ampla área de intervenção deste estudo, onde foram instalados iscos em muitos quintais e áreas abandonadas, há a salientar os relatos da população em geral relativamente às suas árvores de fruto nos seus quintais, que ao longo deste período de estudo conseguiram obter proveito dos frutos por vários anos consecutivos, quando antes isso se revelava difícil. Este tipo

de situação já não ocorria há muitos anos e que alguns consideravam mesmo abater as próprias árvores.

De uma forma geral os resultados indicam que o dispositivo ensaiado é promissor para a sua aplicação generalizada. No entanto, há que ter em conta que se trata de um dispositivo que usa atrativos visuais e químicos que embora referidos como estando direcionados para este tipo de praga, poderão eventualmente atrair outros insetos. Assim sendo, seria recomendável, caso seja efetivamente aplicado durante períodos de tempo mais longos, que haja um plano de monitorização de toda a fauna, em especial da fauna auxiliar, incluindo as abelhas.

Agradecimentos

À população da freguesia dos Biscoitos e produtores frutícolas que cederam acesso às suas propriedades para a realização deste trabalho.

Aos Serviços Desenvolvimento Agrária da Ilha Terceira pela disponibilidade de condutor e veículo para a realização deste trabalho.

Este trabalho contou com o apoio da Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT - SFRH / BD / 81079 / 2011).

Referências bibliográficas

- Bachrouch, O., Mediouni Ben Jemaa, J., Alimi, E., Skillman, S. & Kerber, E. 2008. Efficacy of lufenuron bait station technique to control mediterranean fruit fly (Medfly) *Ceratitis capitata* in Citrus Orchards in Northern Tunisia. *Tunisian journal of plant protection* 3(1): 35–45.
- Carvalho, J. P. & Aguiar, A. M. F. 1997. Pragas dos citrinos na ilha da Madeira. Madeira: Secretaria Regional de Agricultura, Florestas e Pescas.
- Franco, F. di, Liguori, R., Tabilio, M. R., Benfatto, D. & Brunelli, A. 2008. Results of control trials against *Ceratitis capitata* Wied. on orange with a new bait station system based on lufenuron. p. 145–148. In Presented at the Giornate Fitopatologiche 2008, Cervia (RA), 12-14 marzo 2008, Volume 1., Università di Bologna.
- Hendrichs, J., Kenmore, P. & Robinson, A. S. 2007. Area-wide integrated pest management (AW-IPM): Principles, practice and prospects. p. 3–33. In M. J. B. Vreysen, A. S. Robinson & J. Hendrichs (eds.), *Area-wide control of insect pests: From research to field implementation*. Dordrecht, Netherlands: Springer.
- Joint FAO/IAEA Programme. 2013. Updated Mediterranean Fruit Fly Global Distribution Map - Stories, NAFA. <http://www-naweb.iaea.org/nafa/news/2013-medfly-global-map.html>
- Moya, P., Flores, S., Ayala, I., Sanchis, J., Montoya, P. & Primo, J. 2010. Evaluation of lufenuron as a chemosterilant against fruit flies of the genus *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae). *Pest Management Science* 66(6): 657–663.
- Navarro-Llopis, V., Domínguez-Ruiz, J., Zarzo, M., Alfaro, C. & Primo, J. 2010. Mediterranean fruit fly suppression using chemosterilants for area-wide integrated pest management. *Pest Management Science* 66(5): 511–519.
- Navarro-Llopis, V., Sanchis-Cabanes, J., Ayala, I., Casaña-Giner, V. & Primo-Yúfera, E. 2004. Efficacy of lufenuron as chemosterilant against *Ceratitis capitata* in field trials. *Pest Management Science* 60(9): 914–920.
- Navarro-Llopis, V. & Sanchis, J. 2007. Chemosterilants as control agents of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) in field trials. *Bulletin of entomological research* 97(4): 359–68.

- Pimentel, R., Lopes, D., Mexia, A. & Mumford, J. 2014. Spatial regression analysis of *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) on Terceira Island, Azores. *International Journal of Pest Management* 60(3): 217–223.
- Pinakin, W., Deshpande, S. G. & Salokhe, S. G. 2011. Studies on the effect of the insect growth regulator lufenuron on embryogenesis of chick *Gallus domesticus* (White leghorn strain). *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences* 1(2): 82–88.
- Radonjic, S., Cizmovic, M. & Pereira, R. 2013. Population Dynamics of the Mediterranean Fruit Fly in Montenegro. *International Journal of Insect Science* 5: 35–40.
- Sciarretta, A. & Trematerra, P. 2011. Spatio-temporal distribution of *Ceratitis capitata* population in a heterogeneous landscape in Central Italy. *Journal of Applied Entomology* 135(4): 241–251.
- Syngenta. 2007. Boletim técnico ADRESS. Sistema inovador para o controlo da Mosca-do-Mediterrâneo.
- Tabilio, M. R., Guarino, F., Vona, S., Maurello, S. & Sciarretta, A. 2014. Identification of *Ceratitis capitata* adult hot spots and rationalization of pest measures. Vol. 1, p. 113–120. In *Atti Giornate fitopatologiche*. Bologna: CLUEB.

Quadros e Figuras



Figura 1 – Aspeto do isco a ser montado

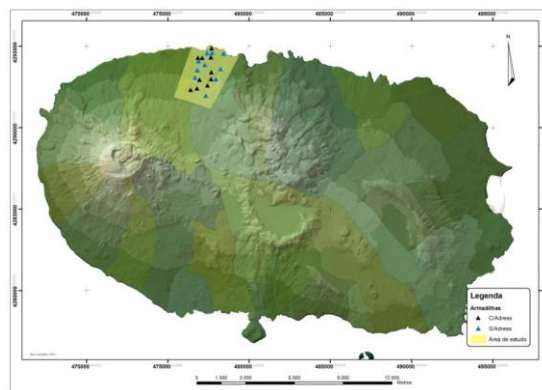


Figura 2 – Localização na ilha Terceira da área de estudo



Figura 3 – Armadilha do tipo McPhail com acetato de amónio, putrescina, trimetilamina, e uma pastilha de DDVP.



Figura 4 – Armadilha Delta com trimedlure.

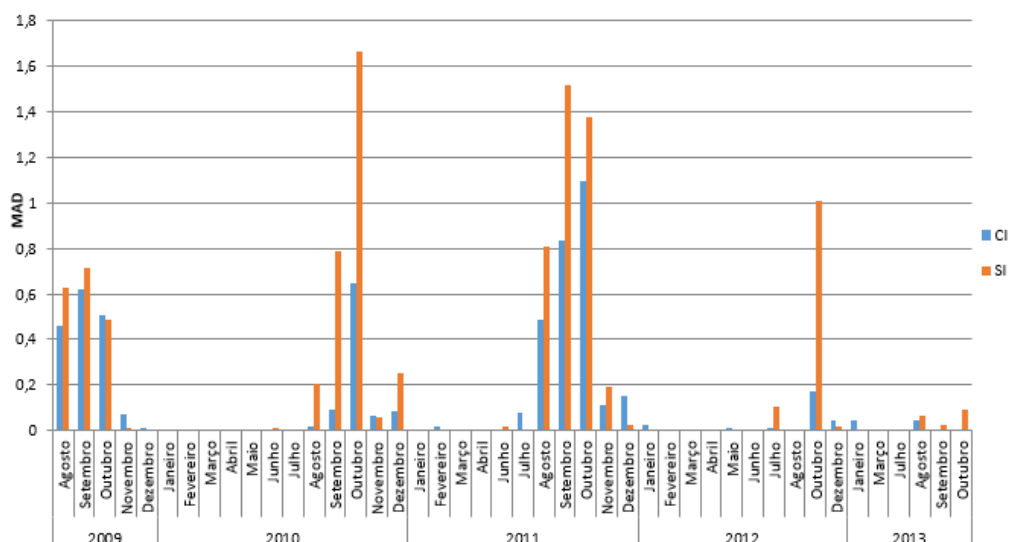


Figura 5 – MAD (Média capturas adultos/por armadilha /dia) mensais das fêmeas adultas de *C. capitata* registadas desde o início do trabalho de monitorização (Agosto 2009) até à atualidade (Outubro 2013) (Legenda: CI –com Adress; SI- sem Adress).

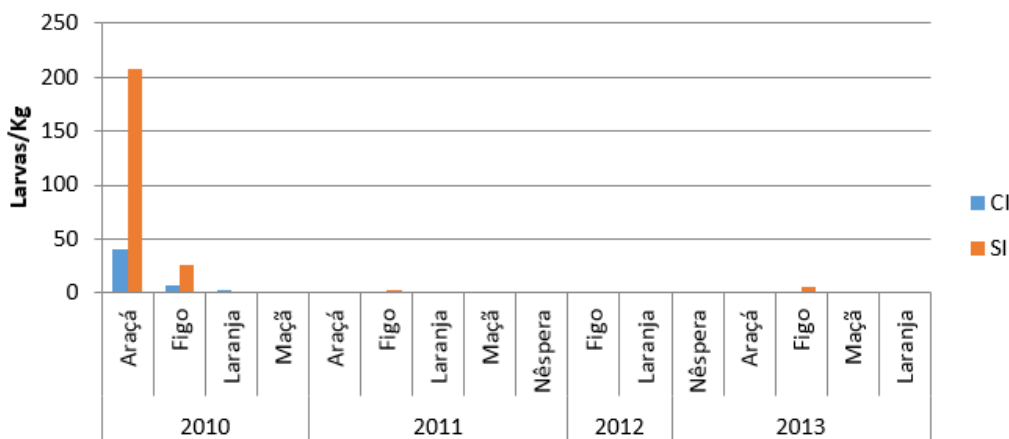


Figura 6 – Número de larvas de *C. capitata* por quilo estimado com base no número de larvas emergidas de acordo com o peso de cada amostra de fruto

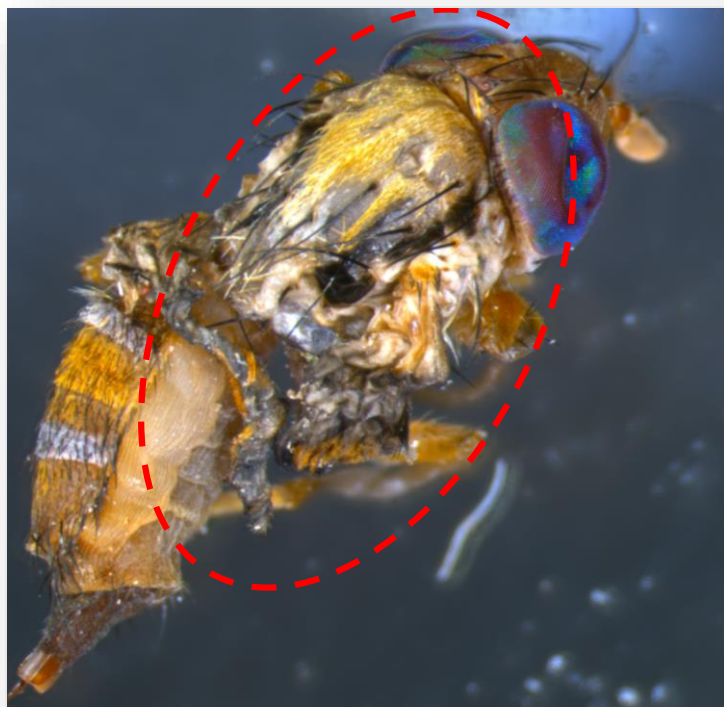


Figura 7 - Fêmea adulta proveniente de frutos amostrados em locais CI (com Adress) durante 2010.

Toxidade de campo de spirotetramat (Movento®) sobre ácaros predadores (Acari: Phytoseiidae) em macieira na região do Minho.

Raul Rodrigues¹; Luís Miguel Brito¹; Isabel Mourão¹

Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Refóios, 4990-706 Ponte de Lima. E-mail: raulrodrigues@esa.ipv.pt

Resumo

O conhecimento da ação secundária dos pesticidas sobre a acarofauna útil um passo fundamental para a implementação de estratégias de proteção biológica de conservação ao nível dos ecossistemas agrários. Neste sentido, foram realizados durante o período de verão, dois ensaios, tendo por objetivo avaliar a toxidade de campo do inseticida Movento® (spirotetramat) sobre ácaros predadores da família Phytoseiidae em duas localidades do norte de Portugal (Braga e Ponte de Lima),

Os ensaios foram implementados de acordo com as normas da OILB (Organização Internacional de Luta Biológica e Proteção Integrada) e da OEPP (Organização Europeia e Mediterrânica para a Proteção de Plantas), com um delineamento experimental completamente casualizado, consistindo em três modalidades com cinco repetições. As concentrações utilizadas foram as recomendadas pelos fabricantes. As testemunhas foram tratadas com água e como referência tóxica utilizou-se o Karate® Zeon (alfacipermetrina). A avaliação da densidade populacional dos fitoseídeos foi realizada 3 dias antes dos tratamentos e 4, 7, 14, 21 e 35 dias após. A mortalidade foi avaliada pela fórmula de Henderson-Tilton.

As espécies mais abundantes foram *Typhlodromus pyri* Scheuten (57,6%), *Neoseiulus californicus* (McGregor) (22,0%) e *Euseius stipulatus* (Athias-Henriot) (20,3%) (n = 177) em Ponte de Lima e *E. stipulatus* (87,8%), *Amblyseius andersoni* (Chant) (6,1%) e *N. californicus* (6,1%) (n = 147) em Amares.

A mortalidade causada pelo Movento® foi de 34% e 29,7% respetivamente em Amares e Ponte de Lima, sendo este inseticida classificado como ligeiramente tóxico em ambos os ensaios. Concluiu-se que de acordo com os critérios da OILB, o inseticida Movento® reúne as condições exigidas para ser utilizado em programas de proteção integrada em macieira.

Palavras-chave: proteção integrada; efeitos secundários; fitoseídeos; inseticidas

Abstract

Field toxicity of spirotetramat (Movento®) on predatory mites (Acari Phytoseiidae) in apple orchard in Minho region.

The knowledge of the side effects of pesticides on beneficial organisms is a key step in integrated pest management programs. This study, realized in agreement with the standards of the IOBC/WRPS and EPPO, was intended to evaluate the field toxicity of the insecticide spirotetramat on endemic populations of predatory mites (Acari: Phytoseiidae) associated with the apple orchards in two regions of Northwest of Portugal. The evaluation of toxicity was done by sampling, carried out after 4, 7, 14, 21 and 35 days after the treatments. The identified species consisted mainly of *Typhlodromus pyri* Scheuten (57,6%), *Neoseiulus californicus* (McGregor) (22,0%) and *Euseius stipulatus* (Athias-Henriot) (20,3%) (n = 177) in Ponte de Lima and *E. stipulatus* (87,8%), *Amblyseius andersoni* (Chant) (6,1%) and *N. californicus* (6,1%) (n = 147) in Amares.

The action of Movento® on the phytoseiids resulted in low mortality rates, respectively 29,7% in Amares and 34% in 2008. The obtained results showed that spirotetramat,

classified as harmless to the phytoseiids in both trials, can be used in Integrated Pest Management programs.

Keywords: Integrated pest management, side effects, phytoseiids insecticides

Introdução

O conhecimento dos efeitos secundários dos pesticidas sobre os ácaros predadores da família Phytoseiidae constitui uma etapa fundamental para a sua inclusão em programas de protecção integrada das culturas.

As restrições impostas pela União Europeia à homologação de pesticidas de uso agrícola, levou as empresas a desenvolver novas substâncias ativas consideradas com risco aceitável para o Homem e para o ambiente. A Bayer CropScience desenvolveu recentemente uma série de inseticidas e acaricidas do grupo dos ketoenóis que inclui o spirotetramat. Estes inseticidas atua ao nível da síntese lipídica (Katzka, 2006), bloqueando a acetil-coenzima-A-carboxilase, uma proteína vital para a produção de ácidos gordos em artrópodes (Marčić et al., 2011).

Este trabalho tem por objetivo avaliar a toxicidade de campo do inseticida spirotetramat sobre populações endémicas de fitoseídeos (Acari: Phytoseiidae) associadas à vinha no vale do Lima.

Material e Métodos

Realizaram-se dois ensaios em pomares sitos nas localidades de Refóios do Lima, concelho de Ponte de Lima e distrito de Viana do Castelo e de Carracedo, concelho de Amares e Distrito de Braga. Em cada ensaio avaliou-se a acção do inseticida Movento OD[®], sobre ácaros predadores da família Phytoseiidae, em aplicação simples.

Os ensaios foram realizados em conformidade as normas propostas pelo Grupo de Trabalho Pesticidas e Auxiliares da Organização Internacional de Luta Biológica e Protecção Integrada – Secção Oeste Paleártica (OILB/SROP) (Blümel *et al.*, 2000) e com os protocolos experimentais nº PP 1/152(2) e PP 1/181(2) da Organização Europeia e Mediterrânica para a Protecção de Plantas (OEPP, 1999a; b).

O delineamento experimental foi completamente casualizado e consistiu em três modalidades com cinco repetições, tendo-se utilizado como referência tóxica o Karate[®] Zeon e como testemunha a água (Quadro 1).

Em cada pomar definiu-se uma sub-parcela, constituída por plantas que aparentavam homogeneidade entre si em termos de sanidade, vigor, porte e produção. Cada repetição era constituída por um „bloco“ com três linhas de quatro plantas, tendo as observações incidido apenas nas duas plantas centrais da linha do meio, funcionando as restantes como bordaduras.

Para a realização pulverizações, utilizou-se um pulverizador acoplado em carrinho de mão, com lança de pulverização, munida de bico de jacto cónico, da marca Rocha[®], modelo MOO 2498/AR19, com depósito de 60 litros de capacidade, motor Honda[®] de 97 cm³ de cilindrada e pressão de pulverização 20 bar. As pulverizações foram feitas de forma a molhar bem todas as folhas, até ao ponto de escorrimento.

As concentrações utilizadas nos ensaios foram as recomendadas pelos fabricantes (Quadro 1).

Durante o período em que decorreram os ensaios, não foram efectuados quaisquer outros tratamentos fitossanitários em ambos os pomares.

A avaliação da acção sobre os fitoseídeos foi feita por amostragem aleatória de 25 folhas por repetição, ou seja 125 folhas por modalidade ensaiada. Para tal, realizaram-se seis amostragens, a primeira das quais efectuada no dia anterior à realização das pulverizações (T0) e as seguintes ao fim de 4, 7, 14, 21 e 35 dias após, respectivamente T+4, T+7, T+14, T21 e T+35.

A mortalidade ou variação da densidade de fitoseídeos em relação à Testemunha dos pesticidas ensaiados, foi avaliada através da equação de Henderson-Tilton, de acordo com a qual, a percentagem de mortalidade ou efeito é dada por $(\%) = \left(1 - \frac{K_1 \times P_2}{K_2 \times P_1} \right) \times 100$, em que K_1

e K_2 representam respetivamente o número total de fitoseídeos antes e após a pulverização na modalidade Testemunha e P_1 e P_2 representam respetivamente o número total de fitoseídeos antes e após as pulverizações em cada modalidade tratada (Sterk *et al.*, 1994). A partir da média obtida entre T+4 e T+35, calculou-se a toxidade para cada produto ensaiado, doravante designada por toxidade média (Tmed).

Com base nos resultados obtidos, os pesticidas foram classificados quanto à sua toxidade para os fitoseídeos, em função da redução do efetivo em relação à Testemunha, de acordo com os critérios da OILB: Classe 1 – inócuo < 25%, Classe 2 – ligeira ou medianamente tóxico = 25-50%, Classe 3 - moderadamente tóxico = 51-75% e Classe 4 – tóxico > 75% (Sterk *et al.*, 1994; Blümel *et al.*, 2000).

A análise estatística dos resultados consistiu na comparação do universo médio de formas móveis de fitoseídeos por folha, nas amostras das diferentes modalidades em estudo, através da análise de variância a um fator após a verificação dos pressupostos exigíveis para esta operação. Para a comparação das médias, utilizou-se o teste de Duncan ao nível de 5%

A identificação das espécies de fitoseídeos presentes nos ensaios foi feita com recurso chaves adequadas (Miedema, 1987; Ferragut & Escudero, 1997).

Resultados e discussão

Espécies identificadas

No pomar de Ponte de Lima, foram identificadas três espécies de fitoseídeos, sendo por ordem decrescente de abundância: *Typhlodromus pyri* Scheuten com 57,6%; *Neoseiulus californicus* (McGregor) com 22,0% e *Euseius stipulatus* (Athias-Henriot) com 20,3% (n = 177). Por sua vez, no pomar de Amares foram identificadas também três espécies, sendo a mais abundante *E. stipulatus* com 87,8%, seguida de *Amblyseius andersoni* (Chant) com 6,1% e *N. californicus* com 6,1% (n = 147). Entre as espécies identificadas, *N. californicus* é um predador seletivo de ácaros tetraniquídeos, efetivo a elevadas densidades da presa, enquanto *T. pyri* e *A. andersoni*, são predadores generalistas, efetivos a baixas densidades da praga, tal como *E. stipulatus* que para além de generalista é considerado polênfago especializado (McMurtry & Crofty, 1997; McMurtry *et al.*, 2013).

Ensaio 1 - Ponte de Lima

Na amostragem preliminar (T0) a densidade populacional de formas móveis de fitoseídeos por folha foi bastante homogénea nas modalidades ensaiadas, com valores que variaram entre $2,38 \pm 0,60$ na modalidade spirotetramat e $2,41 \pm 0,76$ na modalidade Karate®. Da análise de variâncias, não foi possível detectar diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5%, entre as modalidades em estudo ($F_{3,89} = 0,005$; g.l. = 14; p = 0,995) (Figura 1).

Na amostragem efetuada em T+4, verificou-se uma diminuição da densidade populacional dos fitoseídeos em todas modalidades, sendo particularmente evidente na referência tóxica, onde a população de fitoseídeos foi reduzida a zero. A análise de variâncias revelou diferenças estatisticamente significativas entre as modalidades em estudo ($F_{3,89} = 17,659$; g.l. = 14; p = <0,001). A densidade média de formas móveis de fitoseídeos por folha nas modalidades testemunha ($1,069 \pm 0,39$) e Movento® ($0,78 \pm 0,32$), não diferiu significativamente entre estas modalidades, sendo por conseguinte significativamente superior à da referência tóxica ($0,00 \pm 0,00$).

Na amostragem efetuada em T+7, verificou-se um ligeiro decréscimo da densidade populacional dos fitoseídeos na modalidade tratada com Movento® ($0,70 \pm 0,25$), mantendo-

se as restantes praticamente constantes. A análise das variâncias mostrou diferenças estatisticamente significativas entre as modalidades em estudo ($F_{3,89} = 26,443$; g.l. = 14; $p < 0,001$). A comparação múltipla das médias mostrou que todas as modalidades diferiram significativamente entre si com valores médios de respetivamente 1,04 ($\pm 0,30$) na testemunha, 0,70 ($\pm 0,25$), no Movento® (0,02 \pm 0,22).

Na amostragem efectuada em T+14, verificou-se um ligeiro aumento da densidade populacional dos fitoseídeos em todas as modalidades. A análise das variâncias mostrou diferenças estatisticamente significativas entre as modalidades em estudo ($F_{3,89} = 54,827$; g.l. = 14; $p < 0,001$). A comparação múltipla das médias mostrou que todas as modalidades diferiram significativamente entre si com valores médios de respetivamente 1,08 ($\pm 0,23$) na testemunha, 0,74 ($\pm 0,15$), no Movento® (0,02 \pm 0,05).

Na amostragem efectuada em T+21, a densidade populacional dos fitoseídeos sofreu um ligeiro decréscimo nas modalidades Testemunha e Movento®, aumento ligeiramente na referência tóxica. A análise das variâncias revelou diferenças estatisticamente significativas entre as modalidades em estudo ($F_{3,89} = 7,302$; g.l. = 14; $p < 0,01$). Assim, a densidade média dos fitoseídeos nas modalidades Testemunha (0,98 \pm 0,48) e Movento® (0,71 \pm 0,49), apesar de não ter diferido entre si, foi significativamente superior à da referência tóxica (0,04 \pm 0,07).

Na amostragem efectuada em T+35, verificou-se um ligeiro aumento da densidade populacional de fitoseídeos nas modalidades testemunha e referência tóxica, estabilizando na modalidade tratada com Movento®. A análise de variância revelou diferenças significativas entre as modalidades em estudo ($F_{3,89} = 16,215$; g.l. = 14; $p < 0,001$). A comparação múltipla das médias revelou que a densidade populacional nas modalidades testemunha (1,04 \pm 0,33) e Movento® (0,71 \pm 0,28) não diferiu significativamente entre si. Por sua vez, foi significativamente superior à da referência tóxica (0,12 \pm 0,12).

A referência tóxica, à base de alfa-cipermetrina (Karate®Zeon) revelou-se tóxica (classe 4) para os fitoseídeos durante todo o ensaio. A variação média da densidade populacional em relação à Testemunha variou entre 88,7% na última amostragem e 100% na amostragem efectuada 4 dias após a realização dos tratamentos (Quadro 2).

O inseticida Movento® apresentou toxicidade sensivelmente constante ao longo do ensaio, sendo que a variação da população em relação à Testemunha variou entre 25,8% em T+4 e 32,3% em T+7. A variação média da densidade populacional de fitoseídeos em relação à Testemunha foi de 29,7%, pelo que este inseticida foi classificado como medianamente tóxico para os referidos auxiliares (Classe 2) (**Erro! A origem da referência não foi encontrada.**).

Ensaio 2 – Amares

Na amostragem preliminar (T0) a densidade populacional de formas móveis de fitoseídeos por folha foi bastante homogénea nas modalidades ensaiadas, com valores que oscilaram entre 0,67 \pm 0,25 na testemunha e 0,82 \pm 0,49 na referência. Da análise de variâncias, não foi possível detectar diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5%, entre as modalidades em estudo ($F_{3,89} = 0,183$; g.l. = 14; $p = 0,835$) (Figura 2).

Na amostragem efectuada em T+4, verificou-se uma diminuição da densidade populacional dos fitoseídeos nas modalidades tratadas, sendo esta bastante evidente na referência tóxica. A análise de variâncias revelou a existência de diferenças estatisticamente significativas entre as modalidades em estudo ($F_{3,89} = 6,266$; g.l. = 14; $p < 0,05$), sendo que a densidade populacional nas modalidades testemunha (0,9 \pm 0,49) e spirotetramat (0,64 \pm 0,51) foi significativamente superior à da referência tóxica (0,02 \pm 0,02).

Na amostragem realizada em T+7, a densidade populacional dos fitoseídeos aumentou de forma considerável nas modalidades testemunha e Movento®, continuando a diminuir na referência tóxica. A análise das variâncias mostrou diferenças estatisticamente significativas entre as modalidades em estudo ($F_{3,89} = 5,923$; g.l. = 14; $p < 0,05$). A comparação múltipla das médias mostrou que a densidade populacional de fitoseídeos nas modalidades testemunha

(1,30 ± 1,01) e Movento® (0,90 ± 0,30) não diferiram significativamente entre si e apresentaram valores significativamente superiores aos da referência tóxica (0,00 ± 0,00).

Na amostragem efectuada em T+14, verificou-se um ligeiro decréscimo nas modalidades testemunha e Movento®, enquanto que na referência tóxica a tendência por para a recuperação. Tal como na observação anterior, verificaram-se diferenças estatisticamente significativas entre as modalidades em estudo ($F_{3,89} = 13,922$ g.l. = 14; $p = 0,001$). A comparação múltipla das médias mostrou que as modalidades testemunha (1,24 ± 0,5) e Movento® (0,84 ± 0,41) não diferiram significativamente entre si e apresentaram valores significativamente superiores aos da referência tóxica (0,02 ± 0,04).

Na amostragem efectuada em T+21, a densidade populacional dos fitoseídeos continuou a diminuir nas modalidades Testemunha e Movento®, sendo que na referência tóxica continuou um tendência para a recuperação. A análise das variâncias revelou diferenças significativas entre as modalidades em estudo ($F_{3,89} = 27,945$; g.l. = 14; $p < 0,001$). Assim, a densidade média dos fitoseídeos na referência tóxica (0,10 ± 0,04) foi significativamente inferior à da testemunha (0,97 ± 0,24) e da modalidade tratada com Movento® (0,74 ± 0,22), não diferindo estas entre si.

Na amostragem efectuada em T+35, a densidade populacional dos fitoseídeos evidenciou uma tendência para a recuperação nas modalidades testemunha e Movento® e para a estabilização na referência tóxica. A análise das variâncias revelou diferenças muito significativas entre as modalidades em estudo ($F_{3,89} = 8,007$; g.l. = 14; $p < 0,01$). Assim, a densidade média dos fitoseídeos na referência tóxica (0,10 ± 0,10) foi significativamente inferior à da testemunha (1,16 ± 0,40) e do Movento® (0,90 ± 0,64), não diferindo estas entre si.

Em termos de toxicidade o Karate®, revelou-se tóxico (classe 4) para os fitoseídeos durante todo o ensaio. A variação média da densidade populacional em relação à Testemunha foi sempre superior a 81%, (Quadro 3).

O inseticida à base de spirotetramat apresentou toxicidade crescente na fase inicial do ensaio, atingindo o valor máximo de 38,1% na amostragem efectuada em T+14.

Os valores de toxicidade crescente verificado com o Movento®, corroboram a ausencia de choque dos Ketoenóis, ou seja, estes produto apresenta um comportamento característico das substâncias activas inibidoras da síntese lipídica dos artrópodes (Rodrigues, 2006).

Por outro lado, verificaram-se pequenas diferenças de toxicidade registadas nos pomares de Ponte de Lima e de Amares, em que nesta ultima localidade, a toxicidade do spirotetramat foi aparentemente mais elevada que em Ponte de Lima. Este aspecto pode ser explicado pela possível suscetibilidade diferenciada das espécies presentes em ambos os pomares aos pesticidas.

Conclusões

O inseticida à base de spirotetramat (Movento®), revelou-se ligeiramente tóxico (clase 2) em ambas as localidades, corroborando os resultados obtidos nos ensaios realizados no mesmos locais no ano de 2007 (Rodrigues, não publicado). Por sua vez, o inseticida à base de lambda-cialotrina (Karate®) confirmou a falta de seletividade para os fitoseídeos em ambos os ensaios, mostrando-se adequado para ser utilizado como referencia tóxica em ensaios do género (Rodrigues et al, 2004; 2004; Rodrigues, 2006).

No que respeita aos auxiliares estudados, o Movento® revelou perfil adequado para a sua utilização em programas de protecção integrada em macieir, em conformidade com as orientações do Grupo de Trabalho Pesticidas e Auxiliares da OILB/SROP, (Boller *et al.*, 2005).

Referências

Blümel, S.; Aldersohf, S.; Bakker, F. M.; Baier, B.; Boller, E.; Brown, K.; Bulemans, D.; Candolfi, M. P.; Huber B.; Linder, C.; Louis, F.; Mütter, J.; Niensted, K. M.; Oberwalder, C.; Schirra, K. J.; Ufer, A. & Vogt, H., 2000. Guidance document to

- detect side effects of plant protection products on predatory mites (Acari: Phytoseiidae) under field conditions: vineyards and orchards. *In*: Candolfi, M. P.; Blümel, S.; Forster, R.; Bakker, F. M.; Grimm, C.; Hassan, S. A.; Heimbach, U.; Mead-Briggs, M. A.; Reber, B.; Schmuck, R. & Vogt, H. (Eds.), 2000. *Guidelines to evaluate side effects of plant protection products to non-target arthropods*, 145-153
- Candolfi, M. P.; Blümel, S.; Forster, R.; Bakker, F. M.; Grimm, C.; Hassan, S. A.; Heimbach, U.; Mead-Briggs, M. A.; Reber, B.; Schmuck, R. & Vogt, H. (Eds.), 2000. *Guidelines to evaluate side effects of plant protection products to non-target arthropods*. IOBC, BART and EPPO, Joint Initiative, IOBC/WPRS Gent, 158p.
- Ferragut, F. & Escudero, A., 1997. Taxonomía y distribución de los ácaros depredadores del género *Euseius* Wainstein 1962, en España (Acari: Phytoseiidae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **23**: 227-235.
- McMurtry, J.A.; Moraes G. J. & Sourassou, N.F, 2013. Revision of the lifestyles of phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) and implications for biological control strategies. *Systematic & Applied Acarology* 18(4): 297–320. <http://dx.doi.org/10.11158/saa.18.4.1>
- Miedema, E., 1987. Survey of phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) in orchard and surrounding vegetation of northwestern Europe especially in the Netherlands. Keys, descriptions and figures. *Neth. J. Pl. Path.* **93** (2): 1-65.
- OEPP, 1999a. PP 1/152(2) Mise en place et analyse des essais d'évaluation biologique. *Directives pour l'évaluation biologique des produits phytosanitaires*, **1**(3):37-51.
- OEPP, 1999b. PP 1/181(2) Conduite des essais d'évaluation biologique et presentation des rapports. *Directives pour l'évaluation biologique des produits phytosanitaires*, **1**(3):52-66.
- Rodrigues J.R.; Miranda N.R.C., Rosas, J.D.F., Maciel C.M. e Torres L.M. (2002). Side effects of fifteen insecticides on predatory mites (Acari: Phytoseiidae) under field conditions in an apple orchard. *Bull. OILB/SROP*: 25, 11: 53-62.
- Rodrigues, J.R. (2006) – Valorização da acção de ácaros predadores da família Phytoseiidae, na limitação natural de ácaros fitófagos em vinha e macieira. Dissertação de Doutoramento em Ciências Agrárias/Entomologia. UTAD, 324p.
- Rodrigues, R.; Gonçalves, R.; Silva, C. e Torres, L.M. (2004) – Toxicity of five insecticides on predatory mites (Acari: Phytoseiidae) in vineyards in two portuguese regions. *Bull OILB/SROP*, 27, 7: 37-44.

Quadros e figuras

Quadro 1 – Inseticidas utilizados nos ensaios realizados em vinha e respetivas doses.

Substância activa	Formulação	Produto comercial	
		Marca	Concentração
lambda-cialotrina	CS (100 g.l ⁻¹)	Karate® Zeon	10 cc. hl ⁻¹
spirotramat	OD (50 g.l ⁻¹)	Movento®	100 cc.hl ⁻¹
EC – concentrado para emulsão; OD – Óleo dispersível			

Quadro 2 – Classificação da seletividade dos inseticidas, relativamente aos fitoseídeos, nas categorias propostas pelo Grupo de Trabalho Pesticidas e Auxiliares da OILB/SROP. Ponte de Lima, 2008.

Produto comercial	T+4		T+7		T+14		T+21		T+35		Tmédia*	
	%	Cl	%	Cl	%	Cl	%	Cl	%	Cl	%	Cl
Movento®	25,8	2	32,3	2	31,9	2	27,0	2	31,5	2	29,7	2
Karate®	100	4	98,5	4	97,8	4	96,0	4	88,7	4	96,2	4

% = variação da densidade populacional de fitoseídeos em relação à Testemunha, dada pela equação de Henderson-Tilton. Cl = Classe de selectividade. Tmédia = toxidade média, calculada a partir do número médio de fitoseídeos relativos às amostragens efectuadas após os tratamentos.

Quadro 3 – Classificação da seletividade dos inseticidas, relativamente aos fitoseídeos, nas categorias propostas pelo Grupo de Trabalho Pesticidas e Auxiliares da OILB/SROP. Amares, 2008.

Produto comercial	T+4		T+7		T+14		T+21		T+35		Tmédia*	
	%	Cl	%	Cl	%	Cl	%	Cl	%	Cl	%	Cl
Movento®	35,4	2	36,9	2	38,1	2	19,8	2	28,8	2	34,0	2
Karate®	98,5	4	100	4	98,8	4	91,8	4	93,2	4	96,7	4

% = variação da densidade populacional de fitoseídeos em relação à Testemunha, dada pela equação de Henderson-Tilton. Cl = Classe de seletividade. Tmédia = toxidade média, calculada a partir do número médio de fitoseídeos relativos às amostragens efectuadas após os tratamentos.

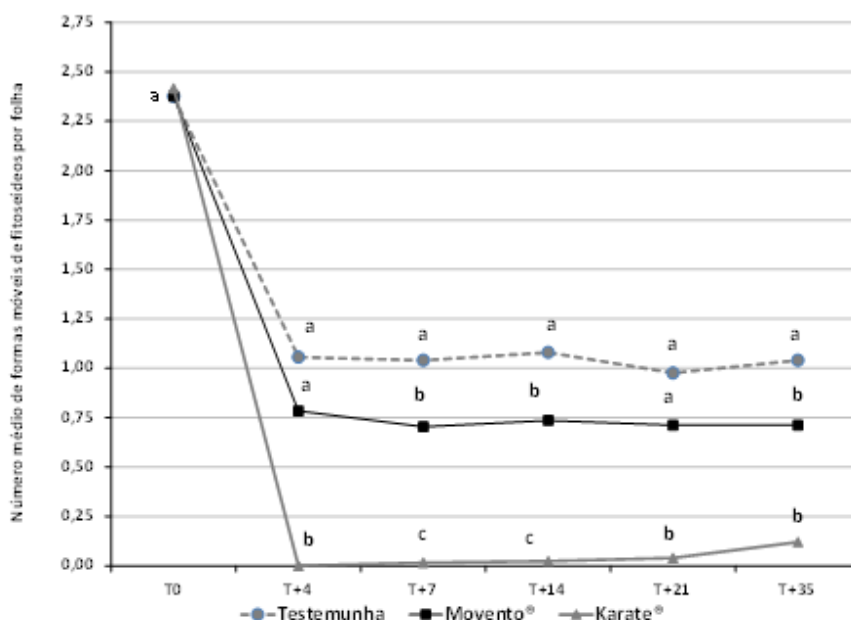


Figura 1 - Evolução do número médio de formas móveis de fitoseídeos por folha de macieira, nas modalidades ensaiadas. Ponte de Lima, 2008. Valores com mesma letra na mesma coluna, não diferem significativamente entre si ao nível de 0,05 (Teste de-Duncan).

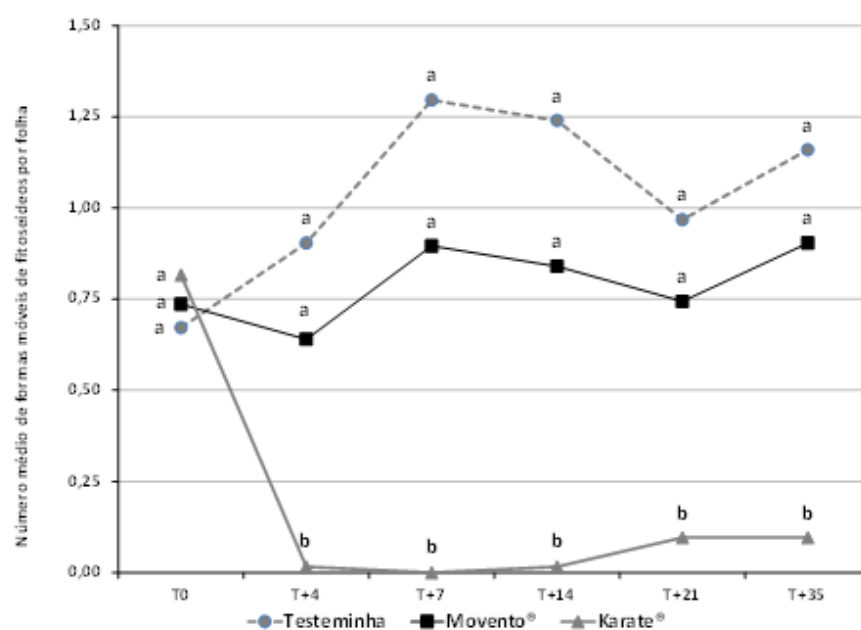


Figura 2 - Evolução do número médio de formas móveis de fitoseídeos por folha de macieira, nas modalidades ensaiadas. Amares, 2008. Valores com mesma letra na mesma coluna, não diferem significativamente entre si ao nível de 0,05 (Teste de-Duncan).

Avaliação do efeito antagonista de fungos endofíticos contra *Verticillium dahliae* em condições *in vitro*

Diogo Mina¹, José Alberto Pereira¹, Albino Bento¹ & Paula Baptista¹

¹Centro de Investigação de Montanha (CIMO) / Instituto Politécnico de Bragança, Escola Superior Agrária, *Campus* de Santa Apolónia, Apartado 1172, 5301-854 Bragança, Portugal. pbaptista@ipb.pt

Resumo

A verticilose, causada pelo fungo *Verticillium dahliae*, é uma das doenças da oliveira que mais prejuízo causa a nível mundial. O presente trabalho tem como objetivo avaliar a atividade antagonista de fungos endofíticos contra o *V. dahliae*, com o intuito de selecionar os isolados de forma a poderem vir a ser utilizados no futuro como agentes de luta biológica da verticilose. As espécies fúngicas endófitas a testar foram isoladas de folhas, ramos e raízes de oliveira da cv. Galega, que é moderadamente tolerante à verticilose.

Desta forma, foram estabelecidas co-culturas entre fungos endofíticos e *V. dahliae* em meio PDA. Os fungos endofíticos testados foram *Penicillium purpurogenum*, *Macrophomina phaseolina*, *Trichoderma gamsii*, *Fusarium oxysporum* e *Phomopsis columnaris*. Como controlo utilizaram-se co-culturas da mesma espécie fúngica. Durante a interação avaliou-se o crescimento radial, a taxa de esporulação e a viabilidade dos esporos das espécies fúngicas, e caracterizou-se macro- e microscopicamente as colónias, em especial na zona de interação.

De entre as espécies testadas, *T. gamsii* e *F. oxysporum*, foram as que inibiram mais o crescimento (26% e 31%, respetivamente), a produção (68% e 48%, respetivamente) e a germinação (100% e 90%, respetivamente) de esporos de *V. dahliae*, quando comparado com o controlo. À exceção de *P. purpurogenum* e *P. columnaris*, o mecanismo adotado pelos fungos endofíticos testados foi “agonismo”, caracterizado pela redução do crescimento de *V. dahliae* e aumento de crescimento dos fungos opositores. Adicionalmente, foram verificadas alterações morfológicas nas colónias interagentes e, em especial, no *V. dahliae*, destacando-se o desenvolvimento de colónias com bordos irregulares e alteração da coloração do micélio. Observações feitas ao microscópio ótico na zona de interação mostraram a ocorrência de várias alterações morfológicas no fungo *V. dahliae*, que incluía a vacuolização e lise das hifas, e a produção de cristais. Estas alterações foram sobretudo verificadas na presença dos fungos endofíticos *P. columnaris* e *F. oxysporum*. Espera-se que os resultados obtidos permitam o desenvolvimento de uma nova forma de luta biológica contra a verticilose pela utilização de fungos endofíticos.

Palavras-chave: oliveira, verticilose, agentes de luta biológica, antagonismo.

Abstract

Evaluation of the antagonist effect of endophytic fungi against *Verticillium dahliae* in *in vitro* conditions

Verticillium wilt, caused by the fungus *Verticillium dahliae*, is considered to be the major cause of olive-crop damage worldwide. The main aim of this work is to evaluate the antagonistic activity of endophytic fungi against *V. dahliae*, in order to select isolates that can be used in the future as biological control agents against this disease. The endophytic fungi studied were isolated from roots, twigs and leaves of olive tree, cv. Galega, which is known to be moderately tolerant to verticillium wilt.

Dual cultures between *V. dahliae* and endophytic fungi were established in PDA medium. The fungal endophytes tested were *Penicillium purpurogenum*, *Macrophomina phaseolina*, *Trichoderma gamsii*, *Fusarium oxysporum* and *Phomopsis columnaris*. Dual

cultures with the same fungal species were used as controls. Throughout the interaction were evaluated the internal radial fungal growth, sporulation rate and sporulation viability of both fungal species. Macro- and microscopic characterization of fungal colonies were also performed, particularly in the interacting zone.

Among the endophytes studied, *T. gamsii* and *F. oxysporum* were the species that most inhibited *V. dahliae* growth (26% and 31%, respectively), sporulation (68% and 48%, respectively) and germination (100% and 90%, respectively), when compared with control. With the exception of *P. purpurogenum* and *P. columnaris*, the mechanism displayed by the tested endophytes was "agonism", characterized by the reducing of *V. dahliae* growth and by the increasing of endophytes growth. Additionally, morphological changes were observed in the interacting fungal species, especially in *V. dahliae*, by showing irregular colony borders and color changes in mycelium. Observations made by microscope in the interacting zone showed several morphological alterations including vacuolation and lysis of hyphal of *V. dahliae*, and crystals production. These changes were mainly observed in the presence of *P. columnaris* and *F. oxysporum* endophytes. The results obtained will be very useful to designed a new form of biological control against verticillium wilt, through the use of endophytic fungi.

Keywords: olive tree, verticilosis, biological control agents, antagonism.

Introdução

A oliveira é a principal cultura nos países do Mediterrâneo (Moral et al., 2009), onde se localiza cerca de 98% da área mundial de olival (Gonzálvez, 2002). Aproximadamente 10 milhões de toneladas de azeitonas são produzidas anualmente a nível mundial, sendo 90% canalizada para a produção de azeite e 10% para azeitona de mesa. Das doenças que atacam a oliveira destaca-se a verticilose, diagnosticada pela primeira vez em Itália nos anos 40. A verticilose, causada pelo fungo *Verticillium dahliae*, afeta mais de 200 espécies vegetais, geralmente numa fase mais jovem da planta. *Verticillium dahliae* produz microesclerócios (estruturas reprodutoras constituídas por células muito compactas) capazes de resistir no solo durante vários anos. Em condições favoráveis, o microesclerócio desenvolve-se, originando as hifas que constituem o organismo adulto (Jiménez et al., 2002). Este fungo patogénico penetra no hospedeiro através das suas raízes, levando a uma quebra no crescimento, murchidão e desfoliação. A verticilose é atualmente um dos problemas mais preocupantes devido à importância económica das perdas causadas e à dificuldade do seu controlo (Quesada et al., 2012). Desde há muito que se sabe que o uso de microrganismos poderá ter um grande potencial na luta biológica contra organismos patogénicos do solo (Cook, 1985; Tyvaert et al., 2014; Alabouvette, 2009; Shittu et al. 2009a). Os organismos endofíticos podem ser descritos como fungos ou bactérias que colonizam os tecidos internos de espécies vegetais sem lhes causar sintomas visíveis de doença. O seu modo de ação na luta biológica é variado podendo atuar de dois modos: diretamente sobre o patógeno (parasitismo, antibiose, competição por nutrientes) ou indiretamente por indução de resistência na planta hospedeira (Eyles et al., 2010; Gao et al., 2010). São vários os trabalhos que se têm focado no uso de fungos e bactérias na luta biológica contra o *Verticillium* (Li et al., 2012; Lin et al., 2009; Tyvaert et al., 2014; Shittu et al., 2009b). No entanto, e tanto quanto é do nosso conhecimento, não houve ainda nenhum trabalho que explorasse as potencialidades de microrganismos endofíticos na luta contra doenças da oliveira, incluindo a verticilose. Neste contexto, no presente trabalho pretendeu-se identificar e seleccionar fungos endofíticos antagonistas de *V. dahliae*. Os endófitos testados foram isolados da cultivar Galega descrita como sendo moderadamente tolerante à verticilose.

Material e Métodos

Endofíticos testados. Foram seleccionadas as cinco espécies mais abundantes de fungos endofíticos (*Fusarium oxysporum*, *Phomopsis columnaris*, *Penicillium purpurogenum*,

Macrophomina phaseolina, *Trichoderma gamsii*) isolados previamente de raízes, raminhos e folhas da cv. Galega. Estas espécies encontram-se depositadas na Coleção de Culturas da Escola Agrária, do Instituto Politécnico de Bragança. A identificação dos isolados foi conseguida através da amplificação e sequenciação da região Espaçadora Transcrita Interna (ITS) do DNA ribossomal (rDNA), usando os iniciadores oligonucleotídicos universais ITS1 e ITS4 (White et al., 1990). A obtenção de inóculo para os ensaios da atividade antagonista foi feita a partir de culturas fúngicas em crescimento ativo em meio de cultura Batata Dextrose Agar (BDA), a 25°C no escuro.

Estabelecimento de co-culturas. Os ensaios da avaliação da atividade antagonista de fungos endófitos contra *V. dahliae* foram efectuados recorrendo ao método da co-cultura. Para o seu estabelecimento foram usadas Placas de Petri (9 cm de diâmetro) contendo 10 mL de meio BDA, na superfície do qual foi colocado um inóculo de cada espécie fúngica (com cerca de 0,5 cm de diâmetro), retirados das regiões periféricas das respetivas culturas em crescimento ativo, a uma distância de 3 cm entre si. Como controlo foram usadas culturas com 2 inóculos da mesma espécie fúngica. A incubação das culturas foi efetuada no escuro, a uma temperatura de 25 ± 2 °C. Foram preparadas 5 Placas de Petri para cada combinação fúngica.

Parâmetros avaliados nas co-culturas. Foi avaliado o crescimento, a produção e a viabilidade dos esporos das duas espécies fúngicas interaguentes.. O crescimento dos fungos foi avaliado ao longo do tempo através da medição do raio interno (entre os inóculos) das colónias, até que as colónias dos dois fungos se tocassem. Para a avaliação da produção e da viabilidade de esporos, prepararam-se inicialmente suspensões de esporos de cada fungo interactuante numa solução aquosa de Tween 80 (0,02% v/v). A contagem de esporos foi feita numa câmara de Neubauer, sendo a viabilidade determinada pelo cálculo da percentagem de germinação dos esporos. Para tal, inocularam-se placas de Petri contendo meio agar/agar (15 g/L) com 1 mL de suspensão de esporos (10^7 esporos/mL). Ao fim de 24 horas de incubação a 25 ± 2 °C no escuro, determinou-se a percentagem de germinação (contagem do número de esporos germinados e não germinados), a partir de um total de 300 esporos por placa de Petri. Foi ainda efectuada uma caracterização morfológica macroscópica e microscópica das colónias.

Análise estatística. Os resultados do crescimento radial, esporulação e germinação são apresentados na forma de diferenças percentuais relativamente ao controlo. Os dados foram tratados através de uma análise de variância (ANOVA), utilizando o programa SPSS v.18 e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos indicaram que das cinco espécies fúngicas endofíticas, *F. oxysporum*, *T. gamsii* e *M. phaseolina* inibiram significativamente o crescimento de *V. dahliae* quando comparado com o controlo em cerca de 30%, 26% e 5%, respectivamente (Fig. 1A). A elevada capacidade combativa ou a agressividade exibida por estas duas espécies endofíticas contra o *V. dahliae* foi ainda confirmada pelo aumento significativo do seu crescimento (8%, 29% e 4%, respectivamente) face ao controlo. Segundo Tuininga (2005), neste tipo de interação em que ocorre redução de crescimento de uma das espécies e aumento de crescimento da outra espécie, é designada por antagonismo. Nestas situações, a inibição do crescimento do fungo opositor é usualmente atribuída à produção de compostos voláteis e/ou difusíveis, tais como antibióticos (Boddy, 2000). Por vezes estão ainda envolvidos metabolitos ou enzimas extracelulares (Heilmann-Clausen & Boddy, 2005). De facto, a produção de metabolitos antimicrobianos e de enzimas que degradam a parede celular tem sido verificada em vários géneros de fungos (Frisvad et al., 2008; Druzhinina et al., 2011, Teixeira et al., 2012). Assim sendo, é provável que estes mesmos compostos possam estar envolvidos na inibição do crescimento de *V. dahliae*. As restantes espécies endofíticas testadas, *P. columnaris* e *P. purpurogenum*, não promoveram uma inibição do crescimento de *V. dahliae*. Para a última espécie endofítica foi inclusive observado uma inibição significativa do seu crescimento pelo

fitopatogénio, em cerca de 5% quando comparado com o controlo. Este comportamento sugere a ocorrência de um segundo tipo de interação, o antagonismo, por ocorrer redução de crescimento de uma das espécies fúngicas sem prejuízo para a outra (Tuininga, 2005). Neste tipo de interação, o mecanismo responsável pela inibição do crescimento da espécie opositora é essencialmente por “interferência de hifas”. Este mecanismo é referido como sendo mediado pela produção de metabolitos difusíveis, não-enzimáticos, excretados apenas quando as hifas interatuantes estabelecem contacto (Boddy, 2000).

Na seleção de microrganismos antagonistas é adicionalmente importante avaliar a sua ação inibitória na esporulação e na germinação dos esporos do fitopatogénio, por constituírem fatores decisivos do processo de infeção. Assim sendo, no final do ensaio das co-culturas procedeu-se à quantificação de esporos e à análise da sua viabilidade em ambas as colónias fúngicas. Neste estudo excluiu-se a espécie endofítica *P. columnaris* por não ter esporulado. Verificou-se que, do total dos isolados endofíticos testados, apenas *T. gamsii* inibiu significativamente a esporulação (68%; Fig. 1B). Relativamente à germinação dos esporos, tanto *T. gamsii* como *F. oxysporum* afectaram negativamente *V. dahliae* (cerca de 100% e 90%, respetivamente; Fig. 1C) face ao controlo. Estas mesmas espécies fúngicas endofíticas, quando em co-cultura com *V. dahliae*, aumentaram a produção de esporos em cerca de 40% face ao controlo, e a espécie *T. gamsii* adicionalmente a sua viabilidade traduzida pelo aumento significativo do número de esporos germinados (299%; $p < 0,001$), quando comparado com o controlo. Por sua vez, a espécie endofítica *M. phaseolina* não produziu esporos na presença de *V. dahliae*.

A observação macroscópica das co-culturas revelou ainda alterações ao nível da colónia de *V. dahliae*. Na presença de *P. columnaris*, *M. phaseolina* e *F. oxysporum*, o fungo *V. dahliae* apresentava colónias com margens irregulares e alteração da coloração quando comparado com o controlo (dados não mostrados). A produção intra- e intercelular de pigmentos foi anteriormente observada em várias interações interespecíficas, à semelhança do observado no presente estudo (Donnelly & Boddy 2001). A caracterização microscópica da zona de interação para estas mesmas co-culturas indicou várias alterações morfológicas no fungo *V. dahliae*, que incluía a vacuolização e lise das hifas, e a produção de cristais (dados não mostrados). No que concerne aos fungos endofíticos, apenas se registou a produção de exsudados de coloração vermelha por parte do endófito *P. purpurogenum* quando em co-cultura com *V. dahliae*, situação não observável no controlo (dados não mostrados).

Conclusões

Com este estudo verificou-se que os fungos endofíticos *F. oxysporum*, *T. gamsii* e *M. phaseolina* foram os que exibiram uma maior ação inibitória no crescimento, esporulação e germinação de *V. dahliae*. *Fusarium oxysporum* e *P. columnaris* induziram ainda alterações morfológicas macroscópicas e microscópicas ao nível das colónias fúngicas de *V. dahliae*. Apesar destas espécies endofíticas constituírem potenciais agentes de luta biológica contra a verticilose, é necessário confirmar a sua ação antagonista em condições *in vivo*, através da realização de ensaios em estufa

Agradecimentos

Trabalho financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT), Projeto PTDC/AGR-AAM/102600/2008 “Isolamento e seleção de fungos endofíticos da oliveira para luta biológica contra *Colletotrichum acutatum* e *Verticillium dahliae*”.

Referências

- Alabouvette, C., Olivain, C., Migheli, Q. & Steinberg, C. 2009. Microbiological control of soil-borne phytopathogenic fungi with special emphasis on wilt inducing *Fusarium oxysporum*. New Phytologist 184, 529–544.
- Boddy, L. 2000. Interspecific combative interactions between wood-decaying basidiomycetes. FEMS Microbiology Ecology 31: 185-194
- Cook, R.J. (1985) Biological control of plant pathogens: theory to application. Phytopathology 75, 25–29.
- Donnelly, D.P., Boddy, L. 2001. Mycelial dynamics during interactions between *Stropharia caerulea* and other cord-forming, saprotrophic basidiomycetes. New Phytologist 151: 691-704
- Druzhinina, I.S., Seidl-Seiboth, V., Herrera-Estrella, A., Horwitz, B.A., Kenerley, C.M., Monte, E., Mukherjee, P.K., Zeilinger, S., Grigoriev, I.V. & Kubicek, C.P., 2011. Trichoderma: the genomics of opportunistic success. Nature Reviews Microbiology 9:749–759
- Eyles, A., Bonello, P., Ganley, R. & Mohammed, C. 2010, Induced resistance to pests and pathogens in trees. New Phytologist 185: 893-908
- Frisvad, J.C., Andersen, B. & Thrane, U. 2008. The use of secondary metabolite profiling in chemotaxonomy of filamentous fungi. Mycological Research 112: 231-240.
- Gao, F., Zhou, B.J., Li, G.Y., Jia, P.S., Li, H. & Zhao, Y.L. 2010. A glutamic acid-rich protein identified in *V. dahliae* from an insertional mutagenesis affects microsclerotial formation and pathogenicity. PLoS One 5:e15319
- González, V. 2002. La importancia de la olivicultura ecológica. P. 9-16. In: V. González & R. Muñoz (eds.), La Olivicultura ecológica en España. Editora y Distribuidora El Olivo, S.L.L., Jaén.
- Heilmann-Clausen, J. & Boddy, L. 2005. Inhibition and stimulation effects in communities of wood decay fungi: exudates from colonized wood influence growth by other species. Microbial Ecology 49: 399-406
- Jiménez, A., Simón, V.J. & Martínez, J.D. 2002. El olivar regado en la provincia de Jaén. Investigaciones geográficas. Nº 28. Págs. 5-32.
- Li, C., Shi, L., Han, Q., Hu, H., Zhao, M., Tang, C. & Li, S. 2012. Biocontrol of Verticillium wilt and colonization of cotton plants by an endophytic bacterial isolate Journal of Applied Microbiology 113: 641–651
- Lin, L., Quiao, Y., Ju, Z., Ma, C., Liu, Y., Zhou, Y. & Dong, H. 2009 Isolation and Characterization of endophytic Bacillus subtilis Jaas ed1 Antagonist of Eggplant Verticillium wilt. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 73(7): 1489-1493
- Liu, Y. & Yang, Q. 2007. Cloning and heterologous expression of aspartic protease SA76 related to biocontrol in Trichoderma harzianum. FEMS Microbiology Letters 277:173–181
- Liu, Y., Yang, Q. & Song, J. 2009. A new serine protease gene from Trichoderma harzianum is expressed in Saccharomyces cerevisiae. Prikladnaya Biokhimiya i Microbiologiya 45:28–32
- López-Escudero, F.J., del Río, C., Caballero, J.M. & Blanco-López, M.A. 2004. Evaluation of olive cultivars for resistance to Verticillium dahliae. European Journal of Plant Pathology 110: 79-85.
- Moral, J. & Trapero, A. 2009. Assessing the susceptibility of olive cultivars to anthracnose caused by Colletotrichum acutatum. Plant disease 93 (10):1028-1036.

- Oliveira, I., Pereira, A., Lino-Neto, T., Bento, A. & Baptista, P. 2012. Fungal diversity associated to the olive moth, *Prays oleae* Bernard: a survey for potential entomopathogenic fungi. *Microbial Ecology* 63: 964-974.
- Quesada, J.M., Penyalver, R., López, M.M. 2012. Epidemiology and Control of Plant Diseases Caused by Phytopathogenic Bacteria: The Case of Olive Knot Disease Caused by *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. *Plant Pathology*. Dr. Christian Joseph Cumagun (Ed.). InTech
- Shittu, H.O., Castroverd, D.C.M., Nazar, R.N. & Robb, J. 2009a. Plant-endophyte interplay protects tomato against a virulent *Verticillium*. *Planta* 229:415–426.
- Shittu, H.O., Shakir, A., Nazar, R., Robb, J. 2009b. Endophyte-induced *Verticillium* protection in tomato is range-restricted. *Plant Signaling & Behavior* 4(2):160-161
- Teixeira, M., Martins, M., Silva, J., Kirsch, L., Fernandes, O., Carneiro, A., De Conti, R. & Durán, N. 2012. Amazonian Biodiversity: Pigments from *Aspergillus* and *Penicillium*-Characterizations, antibacterial activities and their toxicities *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy* 300 6(3):300-311
- Troian, R., Steindorff, A., Ramada, M., Arruda, W. & Ulhoa, C. 2014. Mycoparasitism studies of *Trichoderma harzianum* against *Sclerotinia sclerotiorum*: evaluation of antagonism and expression of cell wall-degrading enzymes genes *Biotechnology Letters* 36:2095–2101
- Tuininga, A.R. 2005. Interspecific interaction terminology: from mycology to general ecology. In the fungal community, its organization and role in the ecosystem. Dighton, J., White, J. F. & Oudemans, P. (Ed.). London, U.K. Taylor & Francis, pp 265-283.
- Tyvaert, L., Franc, S.C., Debode, J. & Hofte1, M. 2014. The endophyte *Verticillium* Vt305 protects cauliflower against *Verticillium* wilt. *Journal of Applied Microbiology* 116:1563--1571
- White, T., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, Innis, M., Gelfand, D., Shinsky, J., White, T.J. (Ed.) San Diego, USA. Academic Press, pp. 315-322.

Quadros e figuras

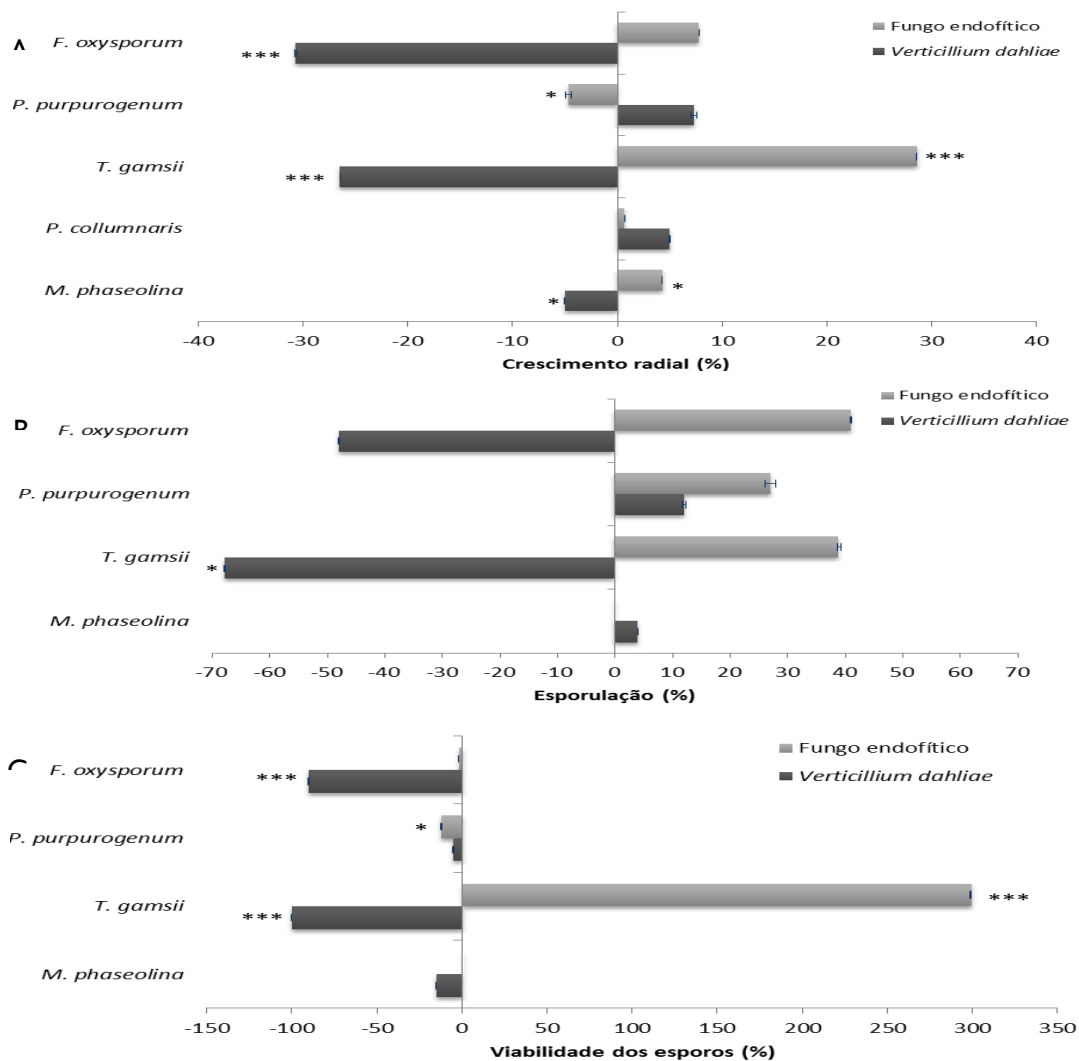


Figura 1. Diferenças (A) no crescimento do raio interno, (B) na taxa de germinação e (C) na viabilidade dos esporos (média \pm erro padrão, n = 5) dos fungos endofíticos e de *Verticillium dahliae* em relação aos respectivos controles. O crescimento foi avaliado após 5-6 dias em co-cultura, tendo a taxa de esporulação e a viabilidade dos esporos sido avaliadas após 15 dias e 14-16 horas do início do ensaio, respectivamente. O aumento ou a diminuição das taxas de crescimento, produção e viabilidade dos esporos são representadas com valores positivos e negativos, respectivamente. *P. columnaris* não esporulou em meio de cultura neste estudo. Os asteriscos representam valores estatisticamente diferentes do controle em *p < 0,05, **p < 0,01 e ***p < 0,001.

***Dryocosmus kuriphilus*: uma nova e preocupante praga do castanheiro em Portugal**

Luis M. Martins¹, José Gomes-Laranjo¹, Albino Bento² & Maria Manuel Mesquita³

¹ Centre for the Research and Technology of Agro-Environmental and Biological Sciences, CITAB, University of Trás-os-Montes and Alto Douro, UTAD, Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal, lmartins@utad.pt, www.utad.pt.

² Instituto Politécnico, Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança.

³ Direção Regional da Agricultura e Pescas do Norte, Vila Real.

Resumo

O cinipídeo (vespa) das galhas do castanheiro (*Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu) é um inseto originário da China, sendo considerado dos mais nocivos para o castanheiro (*Castanea sativa* Mill). Na União Europeia (EU) o himenóptero foi detetado pela primeira vez em Itália em 2002, progredindo nos anos seguintes para os restantes países da EU. Em Espanha o primeiro foco foi encontrado em 2011 na Catalunha e em Portugal registado o primeiro foco em junho de 2014, no concelho de Barcelos.

A praga é nociva para praticamente todas as espécies de *Castanea* e os ataques ocorrem em árvores de qualquer idade. Os estragos devem-se às posturas nos gomos de maio a julho, no interior dos quais se desenvolvem larvas. No ano seguinte, nos gomos afetados desenvolvem-se galhas de onde emergem fêmeas adultas que realizam novas posturas, promovendo uma dispersão muito rápida e exponencial. Esta pode também ocorrer pelo transporte de material infestado de umas regiões para outras.

Os elevados prejuízos à produção de castanha que ocorreram em Itália em consequência dos ataques de *D. kuriphilus*, obrigam a medidas imediatas e urgentes em Portugal, tanto na prevenção como no controlo do inseto. Para o efeito foi estabelecido um plano de contingência, visando a aplicação de medidas que compreendem a quarentena e remoção dos focos e a monitorização da incidência nos locais com castanheiro. Esta fase é assim fundamental para controlar o melhor possível a dispersão e planear atempadamente o recurso à luta biológica a aplicar em 2015.

Palavras-chave: Cinipídio das galhas, *Castanea sativa*, dispersão Portugal

Abstract

Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu is a species of gall wasp known by the common names chestnut gall wasp, Oriental chestnut gall wasp, and Asian chestnut gall wasp. It is native from China and it is known in many other parts of the world, particularly the Northern Hemisphere, as an introduced species and an invasive horticultural pest. It attacks many species of chestnut (*Castanea* spp), including most cultivated varieties. It is considered the world's worst pest of chestnuts. In Spain the first symptoms were found in 2011 and Portugal recorded the first attack in June 2014, in Barcelos region – North of the country.

The plague cause damages due to postures buds in May-July, within which larvae develop. The following year, the affected buds develop in galls where adult females emerge that perform new attacks, promoting a very rapid and exponential dispersion. The dispersion can also occur by transport of infested material from one region to other.

The high damage to chestnut production that occurred in Italy in consequence of *D. kuriphilus* attacks, lends to apply urgent measures in Portugal, both in prevention and control of the insect. For this purpose a contingency plan, aimed at implementing measures that include quarantine and removal of foci and monitoring the impact on areas with chestnut was

established. This phase is therefore crucial to control the best possible dispersion and timely planning the use of biological control to apply in 2015.

Keywords:Gall wasp, *Castanea sativa*, Portugal

Introdução

Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu (DK) é um inseto da ordem *Hymenoptera* e da família *Cynipidae*, Sub-família *Cynipinae*, tribo *Cynipini*. É uma espécie univoltina (uma geração por ano), telítoca (apenas produz fêmeas), vivendo as fêmeas adultas 2 a 10 dias, tempo suficiente para a postura de cerca de 100 ovos, podendo ser encontrados 20 a 30 ovos por gomo (EMPPO, 2005). Sendo um inseto que se reproduz por partenogénese e telitoquia todos os ovos são viáveis, pelo que a dispersão, realizada pelas fêmeas é muito rápida e exponencial.

As larvas formadas no interior dos gomos causam deformação na sua estrutura levando a que os ramos no ano seguinte apresentem formações de galhas nos gomos e folhas. Isso prejudica o crescimento dos ramos e a frutificação, bem como a qualidade da castanha. Ataques sucessivos levam ao gradual declínio dos castanheiros e infestações graves podem causar a morte da planta (Teixeira, 2011).

Desde a postura até ao desenvolvimento das larvas não é possível detetar qualquer sintoma, por simples observação visual. Geralmente, os primeiros sintomas, nos ramos e folhas, ocorrem a partir de meados de Abril. Inicialmente as galhas são de cor verde-clara, passando a rosadas, com dimensões de 5 e 20 mm. A dispersão é feita pelo voo das fêmeas adultas, que apesar de limitado, pode atingir distancias maiores com a ajuda do vento, ou pela circulação de material infestado (EFSA, 2010; Teixeira, 2011).

O himenóptero ataca praticamente todas as espécies do género *Castanea* e seus híbridos, conhecendo-se alguns genótipos resistentes. Assim, de acordo com Botta citado em EFSA (2010), as variedades híbridas *Bouche de Bétizac*, (*C. sativa* x *C. crenata*), *Idae* (*C. mollissima* x *C. crenata*) e *Vignols* (*C. crenata* x *C. sativa*) juntamente com a *Muraie* e *Pudenga* (*C. sativa*) são pouco suscetíveis a *D. kuriphilus*.

D. kuriphilus é originário da China, tendo sido detetado pela primeira vez no Japão na Região Okayama em 1941, posteriormente na Coreia, depois nos Estados Unidos América em 1974, Nepal (1999). Na Europa, terá entrado em Itália em 2002, de onde se foi dispersando para França e Eslovénia (2005), Hungria e Suíça (2009), Croácia (2010), República Checa (2012) e Alemanha e Roménia (2013). Na Península Ibérica, entrou em Espanha pela Catalunha (2012), aparecendo depois focos em 2013 na Cantábria e em 2014 na Galiza e Andaluzia. Em Portugal, foi declarado oficialmente a sua presença em 5 junho 2014 no concelho de Barcelos. O inseto faz parte da Lista A2 da OEPP sendo um dos organismos mais nocivos para árvores do género *Castanea* (DGAV., 2014).

Na sequência da deteção dos primeiros focos da praga no concelho de Barcelos, em 30 de maio de 2014, a Direção Regional de Agricultura e Pescas do Norte (DRAPN) coordenou um conjunto de ações visando a identificação dos locais infestados e a preparação de um plano de implementação de estratégias de prevenção e luta no curto e médio prazos.

Os resultados da prospeção realizada entre junho e setembro de 2014 permitiram determinar 3 “zonas infestadas”, nomeadamente as zonas de Barcelos, de Melgaço e de Baião/Cinfães. Foi também possível apurar a existência de diversas freguesias ainda isentas da praga. No entanto, a grande capacidade de dispersão deste inseto constitui uma grande preocupação o que determinará quais as seguintes fases do plano de trabalho, que são, resumidamente, prosseguir com a prospeção e inspeção e a aplicação de meios de luta, quer para controlo da praga quer para prevenção de alastramento a outras zonas ainda isentas.

Material e Métodos

Em 30 de maio 2014 foram observadas galhas em dois castanheiros bravios em povoamento disperso, não podados, com mais de 50 anos, localizados junto ao acervo de lavoura e a uma linha de caminho-de-ferro, na freguesia de Aguiar, Concelho de Barcelos (fig.ura 1). No local havia castanheiros da variedade *Bouche de Bétizac* não atacados. Próximo, existia uma plantação com três anos de castanheiros da variedade *Marsol*, também atacados.

Na sequência da visita ao local, a DRAPN encetou medidas de controlo, visando conhecer a atual dispersão do agente, por um lado e intervir nas primeiras zonas infestadas. Programou-se e deu-se início ao trabalho de prospeção do cinípídeo, para permitir a delimitação das zonas infestadas, zonas tampão e consequentes zonas demarcadas, de modo a serem tomadas as necessárias medidas de proteção fitossanitária, tendo em vista a proibição da produção de material de propagação vegetativa dentro destas zonas, bem como a comercialização de castanheiros nelas produzidos, dando ainda informações sobre os locais onde deve ser iniciada, logo que possível, a luta biológica através de largadas do parasitóide específico *Torymus sinensis* Kamijo.

Os técnicos da Direção Regional de Agricultura e Pescas do Norte desenvolveram um trabalho intensivo de observação de sintomas em locais com castanheiros (soutos e árvores dispersas), numa malha de 2x2 km, em colaboração com os agricultores e associações de produtores, como a Cooperativa de Barcelos, a Associação Florestal do Lima e a Associação Portuguesa da Castanha (RefCast).

A unidade territorial considerada foi a área da freguesia, bastando a deteção de um foco, para considerar a freguesia como zona infestada. Foram distribuídas pelos prospetores as listagens das freguesias dos concelhos da região em estudo. Sempre que uma determinada freguesia era declarada positiva, a prospeção prosseguia, prioritariamente, para as freguesias limítrofes e assim sucessivamente. Cada prospetor/equipa comunicava diariamente os resultados da prospeção realizada à DRAPN que coordenava todos os elementos, reorganizando os trabalhos à medida que surgiam novas zonas infestadas e difundindo os resultados pelo grupo de trabalho.

Foi elaborada uma “ficha de prospeção” para registo dos dados do trabalho de campo, que contempla informações sobre cada local, nomeadamente a georreferenciação, caracterização do local (souto, árvores dispersas, variedades, número e idade das plantas) e caracterização/avaliação sumária do ataque (infestação: inicial, média ou grave; árvores isoladas: muito ou pouco afetadas).

Os inspetores fitossanitários realizaram a inspeção aos operadores económicos viveiristas e comerciantes e notificaram os que se encontravam dentro das zonas demarcadas sobre a proibição de produção de plantas do género *Castanea* bem como de circulação para fora dessa zona.

Resultados e Discussão

Pela observação do foco localizado em Aguiar (Barcelos) foi possível perceber a existência de galhas do ano anterior (secas). Como os sintomas eram até agora pouco conhecidos, é provável que não fosse dado o alerta em 2013 devido a essa razão. Contudo, todos os indícios apontam para que o inseto já estivesse presente nesse ano.

Os primeiros resultados obtidos das inspeções efetuados próximo de Aguiar (Barcelos), referem-se a finais do mês de junho (30/06) e mostraram a presença do inseto em locais relativamente próximo, i.e., em duas freguesias do concelho de Vila Verde e quatro em Ponte de Lima. Foram ainda detetados sintomas em Santa Marinha do Zêzere, no concelho de Baião, sendo este certamente um foco com origem diferente do de Barcelos (quadro 1).

Com a intensificação das prospeções (até 10 de julho) constatou-se que o nível de infestação era já substancialmente elevado, com 27 novas freguesias em Barcelos e aparecimento de novos concelhos (Cinfães, Esposende, Melgaço) com zonas infestadas.

A identificação das freguesias num Sistema de Informação Geográfica, referente a 30 de junho e 10 de julho é apresentada na Figura 2.

Com a continuação da prospeção, e no período de 10 de julho a 30 de julho, foram registadas mais sete freguesias com a presença de *D. kuriphilus* (quadro 1). Há assim indícios de que apesar de apenas ter sido detetada a sua presença em finais de maio 2014, num foco que se julgaria ser o inicial, constata-se a existência de muitos outros focos, sugerindo que a dispersão tenha sido favorecida pelo Homem, através da utilização nas plantações de plantas infetadas ou eventualmente tenha sido transportado inadvertidamente num qualquer meio de transporte (fig. 2).

Em cumprimento do Plano de Ação Nacional é determinado um raio de 15 km à volta das zonas infestadas, obtendo-se deste modo as zonas demarcadas, que à data de 5 de setembro são três: Barcelos, Melgaço e Baião/Cinfães (fig. 3).

Conclusões

Relativamente ao foco inicial em Aguiar, Barcelos, a DRAPN, em articulação com a Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV), a RefCast, a Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), o Instituto Politécnico de Bragança (IPB) e demais elementos do grupo de trabalho do “Plano de ação nacional para controlo do inseto *Dryocosmus Kuriphilus* Yasumatsu” (DGAV, 2014), concluíram não serem viáveis medidas de erradicação face à área de dispersão verificada. Os tratamentos com inseticidas, além de não existirem produtos homologados para esta finalidade, algo que poderia ter sido contornado por uma autorização excecional num caso de emergência, não foram considerados como opção, observada a experiência pouco profícua em outros Países e a dimensão e localização das árvores que tornariam perigosa a aplicação. Foi assim feita uma recomendação de corte dos ramos afetados. Estes deveriam ser preferencialmente queimados, mas face à época de risco de incêndio, foram enterrados em vala de 50 cm de profundidade.

Tudo indica que a continuação da dispersão será inevitável, tomando como exemplo o ocorrido noutros países. Por a luta química ser inviável é fundamental enveredar pela luta biológica cujos resultados se fazem notar mas somente a médio prazo. Não são assim de desprezar expectativas de perdas económicas avultadas nos próximos anos, designadamente em locais de produção intensiva de castanha. A realização de ações de sensibilização aos agricultores é fundamental. É necessário esclarecer que nos próximos anos irão provavelmente ocorrer perdas importantes mas ao mesmo tempo criar esperança na recuperação dos castanheiros, com a progressiva introdução do parasitóide de origem asiática – o inseto *Torymus sinensis* (Gibbs et al., 2011).

Referências

- DGAV (Direção-Geral de Alimentação e Veterinária); ICNF, I.P.; DRAP Norte; INIAV, I.P.; UTAD; IPB; REFCast. 2014. Plano de ação nacional para controlo do inseto *Dryocosmus Kuriphilus* Yasumatsu. DGAV, Lisboa, 27 pp.
- Teixeira. R. 2011. Cinipídeo dos castanheiros – Boletim Técnico. Instituto Nacional dos Recursos Biológicos (INRB), Unidade de Investigação de Proteção de Plantas, Oeiras, 3 pp.
- Gibbs, M., K. Schönrogge, A. Alma, G. Melika, A. Quacchia, G. N. Stone and A. Aebi. 2001. *Torymus sinensis*: a viable management option for the biological control of *Dryocosmus kuriphilus* in Europe? BioControl 56: 527–538.
- EMPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). 2005. Data sheets on quarantine pests. *Dryocosmus kuriphilus*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 35: 422–424.

Quadros e figuras



Figura 1 - À esquerda, um castanheiro afetado por *Dryocosmus kuriphilus* e castanheiro com cerca de 6 anos da variedade *Bouche de Bétizac* não afetado (seta). À direita, aspeto das galhas causadas pela infestação do inseto na mesma árvore.

Quadro 6 - Freguesias com árvores afetadas por *Dryocosmus kuriphilus* até 10/jul/14 e registo de novas freguesias afetadas, a sublinhado, até em 30/jul/14.

Concelhos	Freguesias
Amares	Prozelo, <u>Rendufe</u>
Baião	Santa Marinha do Zêzere
Barcelos	Abade de Neiva, Aborim, Aguiar, Aldreu, Alheira, Alvito (São Martinho), Alvito (São Pedro), Balugães, Campo, Carapeços, Cossourado, Couto, Durrães, Feitos, Fragoso, Igreja Nova, Macieira de Rates, <u>Oliveira</u> , Palme, Panque, Quintiães, Roriz, Silva, Tamel (Santa Leocádia), Tamel (São Pedro Fins), Tregosa, <u>Ucha</u> , Vila Boa, Vila Frescainha (São Martinho), Vila Frescainha (São Pedro), Vilar do Monte
Cinfães	Espadanedo, São Cristóvão de Nogueira
Esposende	Curvos
Melgaço	<u>Cristoval</u> , Fiães
Ponte de Lima	Anais, Cabaços, Freixo, Mato, <u>Navió</u> , Rebordões (Santa Maria), Sandiães
Vila Verde	<u>Freiriz</u> , <u>Moure</u>

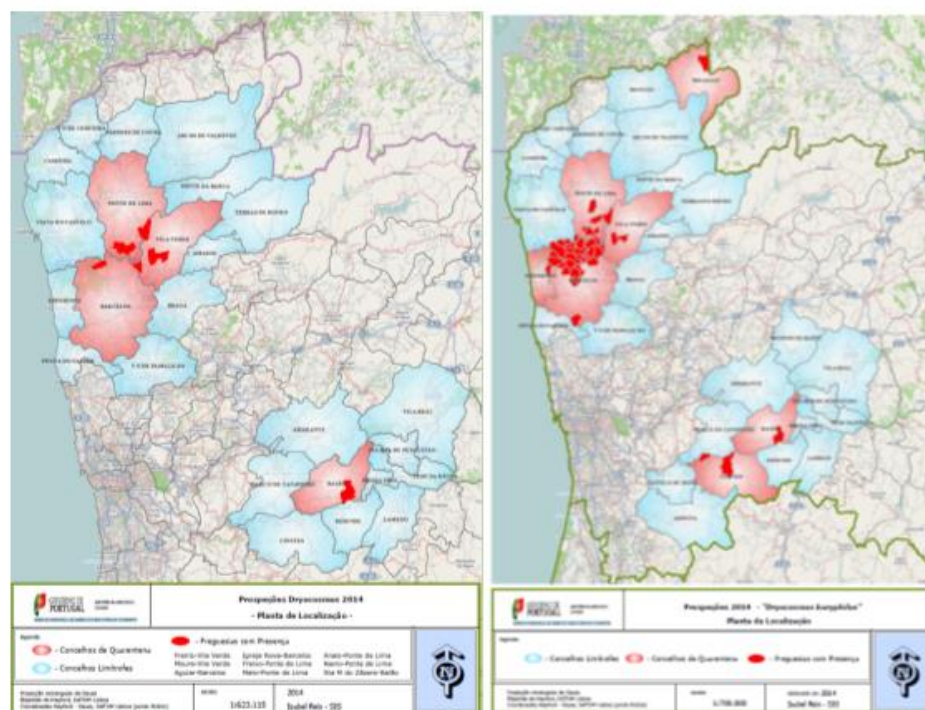


Figura 2 - Dispersão de *Dryocosmus kuriphilus* em Portugal em 30/06/14 e 10/07/14.

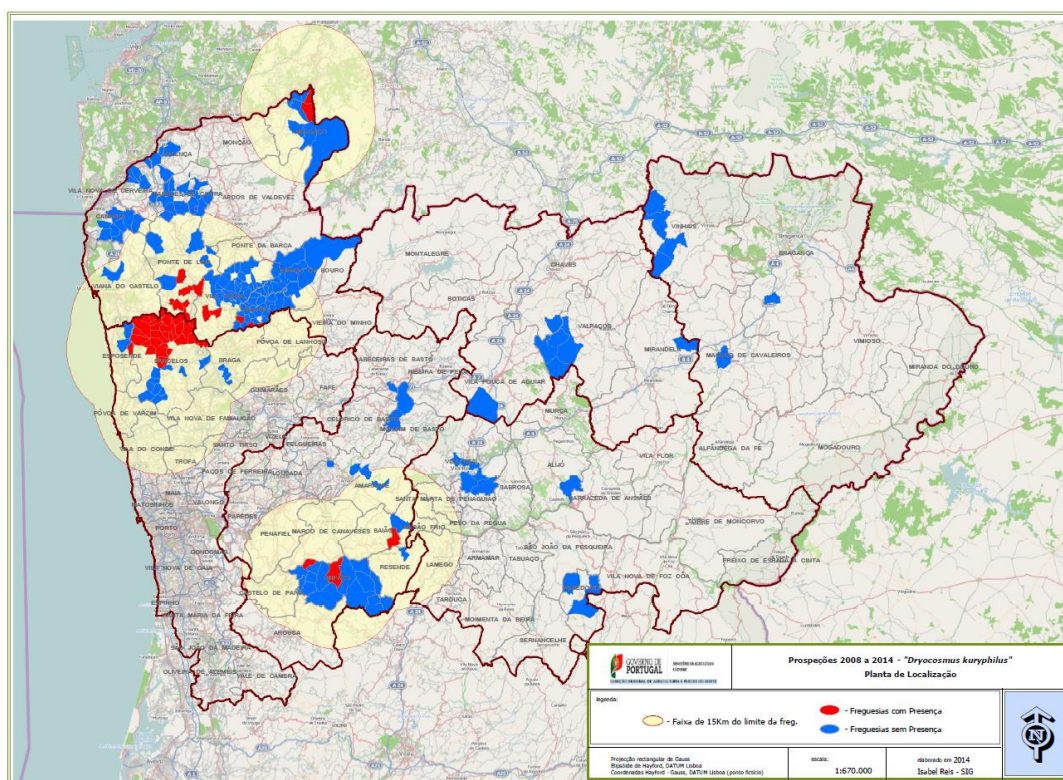


Figura 3 - Dispersão de *Dryocosmus kuriphilus* em Portugal, setembro 2014.

A mosca-da-fruta *Bactrocera invadens* Drew (Diptera: Tephritidae) na Ilha de Santiago, Cabo Verde

Alfesene Baldé¹, Raimundo Cabrera Perez ², Reinaldo Macedo Soares Pimentel³, David João Horta Lopes³ & António Maria Marques Mexia⁴

¹Instituto Nacional de Investigação e Desenvolvimento Agrário (INIDA), S. Jorge dos Órgãos, Ilha de Santiago, Cabo Verde; e-mail: alfesene@hotmail.com

²UDI Fitopatologia, Universidad de La Laguna, La Laguna, Tenerife, Islas Canarias; e-mail: rcabrera@ull.es

³ Azorean Biodiversity Group (GBA, CITA-A) and Platform for Enhancing Ecological Research & Sustainability (PEERS), Universidade dos Açores, Departamento de Ciências Agrárias, Rua Capitão João d'Ávila, S. Pedro, 9700-042 Angra do Heroísmo, Azores; e-mail: reinaldo.pimentel@uac.pt; dlopes@uac.pt

⁴ Universidade Técnica de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia, Departamento de Proteção de Plantas e Fitoecologia, Tapada da Ajuda; e-mail: amexia@isa.utl.pt

Resumo

A introdução de *Bactrocera invadens* Drew (Diptera: Tephritidae) em Cabo Verde terá ocorrido em 2007, na ilha de Santiago, tendo-se depois dispersado para as ilhas do Fogo, Brava e Santo Antão. A presença desta praga em Cabo Verde alarga assim o vasto número de países africanos onde atualmente está presente (EPPO; 2010).

O objetivo do presente trabalho, desenvolvido no âmbito do projeto CabMedMac (MAC/3/A163), consistiu na monitorização e avaliação das densidades populacionais dos adultos de *B. invadens* em campos de mangueiras e bananeiras da ilha de Santiago.

A monitorização realizou-se com armadilhas denominadas ABT com Creolax, à razão de uma por local, em quatro locais da Ilha. Efetuaram-se recolhas mensais, com contagem do número de adultos capturados e renovação do líquido utilizado (creolina) como atrativo.

De acordo com os resultados obtidos, os níveis populacionais de *B. invadens* nos locais onde as armadilhas foram instaladas, registaram valores extremamente elevados, com capturas médias mensais da ordem de 4.500 adultos em bananeiras (Monte Negro) e de 2.900 adultos em mangueiras (Barsona), ambos os locais situados na zona Este da Ilha, que parece ser a que possui populações da praga mais elevadas, quando comparadas com as zonas Oeste (Ribeira da Barca) e Sul (Cidade Velha).

De uma forma geral e avaliando os resultados obtidos, são preocupantes os níveis elevados de infestação desta praga encontrados e a facilidade que a mesma possui de rapidamente invadir as zonas de cultura, em especial a bananeira, comprometendo assim a produção.

Palavras-chave: CabMedMac, nova praga, mangueira, bananeira, monitorização

Abstract

The introduction of *Bactrocera invadens* Drew (Diptera: Tephritidae) in Cape Verde occurred in 2007, on the island of Santiago, and later dispersed to the islands of Fogo, Brava and Santo Antão. The presence of this pest in Cape Verde extends the vast number of African countries where currently is present (EPPO, 2010).

The purpose of this study, developed under the project CabMedMac (MAC/3/A163), consisted in monitoring and evaluating the population densities of adults of *B. invadens* in fields of mango and banana trees of the island of Santiago

The monitoring was conducted with traps called ABT with Creolax, at the rate of one per site, with monitoring at four locations on the island. Monthly collections, were made with counting the number of adults captured and renewal of the fluid used (creolin) as attractive.

According to the results obtained, the population levels of *B. invadens* where traps were installed, recorded extremely high values, with monthly average catch of approximately 4,500 adults in banana trees (Monte Negro) and 2,900 adults in mango trees (Barsona), both places situated on the East side of the island, which seems to have the higher pest populations when compared with the Western areas (Ribeira da Barca) and South (Cidade Velha).

Generally speaking and evaluating the results obtained, worrying high levels of infestation of this pest were detected, indicating that it can easily and quickly invade the areas of culture, in particular the banana areas, undermining thus their production.

Keywords: CabMedMac, new pest, mango, banana, monitoring

Introdução

Bactrocera invadens Drew, Tsuruta & White (Diptera: Tephritidae) foi descrita em 2005 e é nativa do sudeste da Ásia. Crê-se que invadiu o continente africano através do subcontinente indiano (EPPO, 2005). Foi detetada em 2003 no Quênia (Drew, 2005; Lux et al., 2003; EPPO, 2009; De Meyer, 2010) e rapidamente alastrou pelo centro e sul de África, estando hoje assinalada em mais de 20 países do continente africano, entre os quais alguns com que Portugal tem relações comerciais como Angola (Goergen et al., 2011), Moçambique (Jose *et al.*, 2013) e Guiné (EPPO, 2010; Garcia & Bandeira, 2011) (Garcia & Bandeira, 1980; EPPO, 2009), constituindo-se como uma praga de quarentena para a comunidade europeia e a nível mundial (Goergen et al., 2011).

A sua introdução em Cabo Verde foi registada em 2007, na ilha de Santiago, tendo depois se dispersado para as ilhas do Fogo, Brava e Santo Antão (Baldé, 2012).

O adulto tem um tamanho médio de 5-7 mm com o tórax de cor variável de vermelho-acastanhado a preto com listas amarelas laterais e asas transparentes (fig. 1 e 2). A fêmea adulta (fig. 2) tem um ovipositor bem desenvolvido e facilmente visível, que serve para depositar ovos dentro dos frutos.

Sendo um tefritídeo, o seu ciclo de vida é em tudo semelhante ao da mosca-do-Mediterrâneo, *Ceratitis capitata* (Wiedemann). A fêmea adulta põe os ovos, dos quais emergem larvas que se alimentam da polpa destruindo-a. Estas larvas na fase final do seu desenvolvimento, saem do fruto para o solo onde se enterram para pupar. Destas pupas emergem os novos adultos que irão iniciar um novo ciclo. Normalmente os adultos estão presentes durante todo o ano, tendo o seu pico quando termina a época normal de amadurecimento das mangas (Vayssières et al., 2014). Na ilha de Santiago o pico populacional dos adultos é normalmente registado em Junho (Baldé, 2012). *B. invadens* possui um poder reprodutivo elevado e um comportamento agressivo originado deslocamentos por competição de outras moscas da fruta (ex: *Ceratitis corysra*) (Ekesi et al., 2009) originando, assim, rapidamente elevadas densidades populacionais em presença de hospedeiros alimentares.

B. invadens é altamente invasiva, polífaga, tendo com mais de 40 hospedeiros conhecidos, aparecendo a manga (*Mangifera indica*), a banana (*Musa* spp.) que é atacada tanto verde como madura (fig. 3 e 4), a anona (*Annona muricata*), a goiaba (*Psidium guajava*), o caju (*Anacardium occidentale*) a nêspera (*Eriobotrya japonica*) e os citrinos (*Citrus sinensis* e *Citrus x paradisi*) como os seus hospedeiros preferenciais (Mwatawala et al., 2006; 2009; EPPO, 2009). Sobre a banana é de referir os trabalhos de Cugala et al. (2014) em laboratório, que apontam para o facto de a banana em verde não permitir o desenvolvimento das larvas de *B. invadens* contrariando o apresentado nas fig. 3 e 4 e observado no campo, na ilha de Santiago, em Cabo Verde.

O exposto mostra a importância deste trabalho que teve como principal objetivo conhecer as densidades populacionais dos adultos de *B. invadens* na ilha de Santiago em duas das principais culturas frutícolas da ilha, as mangueiras e as bananeiras, que constituem a base da alimentação das suas populações e, no caso das bananas, uma importante fonte de rendimento para os seus escassos produtores.

Material e métodos

A monitorização das populações selvagens de *B. invadens* foi realizada em quatro zonas da ilha de Santiago (fig. 5), em parcelas de bananeiras (Monte Negro) em mangueiras (Barsona), ambas localizadas na zona Este da Ilha bem como em outras duas zonas a Oeste (Ribeira da Barca) e a Sul (Cidade Velha) em mangueiras (fig. 5).

Na monitorização utilizaram-se armadilhas denominadas ABT (fig. 6), face aos resultados positivos obtidos em estudos anteriores na monitorização desta praga (Baldé, 2012), com Creolax (cujo ingrediente ativo é a creolina), à razão de uma armadilha por local, colocadas a uma altura que se situou entre 1,60m a 1,80m.

Foram realizadas recolhas mensais nos diferentes locais monitorizados com a contagem do número de adultos capturados e renovação do atrativo (creolina) (fig. 7).

Resultados e discussão

De acordo com os resultados obtidos nos locais escolhidos para a monitorização (fig. 5) onde as armadilhas foram instaladas, os níveis populacionais de *B. invadens* registados foram extremamente elevados (fig. 8 e 9).

O pico populacional nas bananeiras em Montenegro (zona Este) surgiu em setembro e atingiu uma média mensal por armadilha de mais de 4.500 adultos (fig. 8) num hospedeiro importante as bananeiras, sendo o valor mais elevado registado em todas as zonas monitorizadas.

Trata-se de uma situação preocupante e que deveria perspetivar qualquer intervenção limitadora pelas autoridades locais no sentido de reduzir os prejuízos elevados observados nos frutos (fig. 3 e 4).

Em mangueiras, na zona de Barsona (zona Este), o pico populacional coincidiu com a época de maturação das mangas que ocorre em agosto. Nesta zona registaram-se, em média, mais de 2.900 adultos por armadilha (fig. 9), valor deveras preocupante e que deveria perspetivar qualquer intervenção limitadora, embora esta seja operacionalmente difícil quer pelo elevado porte destas fruteiras em toda a ilha de Santiago, quer pela inexistência de maquinaria adequada (pulverizador), quer ainda pela difícil acessibilidade à zona desta cultura.

É de referir que estes dois locais, Monte Negro (fig. 8) e Barsona (fig. 9) foram os que registaram as maiores densidades populacionais de adultos de *B. invadens* e estão ambos localizados na zona Este da Ilha (fig. 5), zona que pelos dados obtidos (fig. 13) parece ser a que possui as densidades populacionais desta praga mais elevadas, quando comparadas com as zonas Oeste (Ribeira da Barca) e Sul (Cidade Velha).

Em mangueiras na Cidade Velha, a Sul, observam-se dois picos populacionais (fig. 11), sendo um mais precoce (fevereiro) do que o registado na zona Este (agosto) e o outro, em julho, um pouco desfasado, um mês antes da época de maturação das mangas que se situa, normalmente, em agosto. Esta situação poder-se-á ficar a dever às especificidades da zona principalmente devido à sua exposição (zona Sul) e poderá significar a existência nesta zona de mais do que uma geração desta praga e a antecipação do 2º pico ter origem no precoce amadurecimento deste frutos nesta zona, referido pela população e técnicos em relação às outras analisadas. Para além disso existem nesta zona alguns hospedeiros hortícolas que poderão contribuir também para esta situação

Ainda em mangueiras, na última zona de monitorização, Ribeira da Barca (na zona Oeste), observou-se um pico populacional, um pouco precoce, em julho, como o segundo

registrado na Cidade Velha, ou seja desfasado em um mês da época de maturação normal das mangas, mas com níveis populacionais perto dos 1.000 adultos (fig. 12).

Os desfasamentos temporais observados nas mangueiras são mais evidentes através da análise, para a mesma cultura, de todas as zonas monitorizadas (fig. 13).

Conclusões

De uma forma geral e avaliando os resultados obtidos, são preocupantes os níveis populacionais elevados de infestação de *B. invadens* encontrados em bananeiras (média mensal por armadilha mais de 4.500 adultos) e mangueiras (2.900 adultos) nas quatro zonas mais representativas destas culturas na ilha de Santiago.

Ao registar estes níveis populacionais em especial nas bananeiras apercebemo-nos do quanto contribuem para comprometer assim a maior parte da produção, uma vez que não sejam implementadas quaisquer medidas limitativas.

É de referir que os dois locais que registaram as maiores densidades populacionais estão ambos localizados na zona Este da Ilha, mas em culturas diferentes o que pode indiciar a existência de condições mais propícias ao desenvolvimento e proliferação desta nova praga.

A Sul, na Cidade Velha, ao se terem registado dois picos populacionais, sendo um mais precoce e o outro um pouco desfasado (1 mês) poderá significar a existência, nesta zona de mais do que uma geração desta praga, apoiada pela existência de outros hospedeiros ou devido a uma exposição geográfica mais favorável.

Seria importante prosseguir este estudos alargando as zonas de monitorização, testar novas substâncias como atrativos (metileugenol, por exemplo) bem como estudar as taxas de infestação dos diferentes hospedeiros aliada à sua época de amadurecimento ou ataque por esta praga.

A entrada de *B. invadens* em Portugal poderá ocorrer através da introdução de frutos infestados, quer seja por importação ou pelo seu transporte em bagagem, pelo que os controlos fitossanitários em portos e aeroportos são essenciais para prevenir a saída e posterior introdução desta praga em outros países com os quais existem regulares ligações aéreas.

Agradecimentos

Ao pessoal técnico do INIDA de Cabo verde que contribuiu para a realização deste trabalho.

Ao projeto CABMEDMAC (MAC/3/A163) por todo o apoio financeiro e material que permitiu a realização deste trabalho.

Referências bibliográficas

- Baldé, A. 2012 Contribuição para o estudo da mosca-da-fruta *Bactrocera invadens* (Drew, Tsuruta & White) na ilha de Santiago- Cabo Verde. Dissertação para obtenção de Grau de Mestre em Agronomia e Recursos Naturais, Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Praia, 62 pp.
- Cugala, D., Ekesi, S., Ambasse, D., Adamu, R.S. & Mohamed, S.A. 2014. Assessment of ripening stages of Cavendish dwarf bananas as host or non-host to *Bactrocera invadens*. J. Appl. Entomol. 138: 449–457.
- Drew, R.A.I., Tsuruta, K. & White, I.M. 2005. A new species of pest fruit fly (Diptera: Tephritidae: Daciniinae) from Sri Lanka and Africa. African Entomology 13: 149-154
- Ekesi, S., Billah, M.K., Nderitu, P.W., Lux, S.A. & Rwomushana, I. 2009. Evidence for competitive displacement of *Ceratitidis cosyra* by the invasive fruit fly *Bactrocera*

- invadens* (Diptera: Tephritidae) on mango and mechanisms contributing to the displacement. J. Econ. Entomol. 102: 981–991.
- EPPO, 2010. Report of a Pest Risk Analysis for *Bactrocera invadens* (Technical No. 10-16120), Pest Risk Analysis. OEPP/EPPO, Paris, France.
- Garcia, F.R.M. & Bandeira, R.R. 2011. Biodiversidade de moscas-das-frutas (Diptera, Tephritidae) em Moçambique. Acolhendo Alf. Nos Países Língua Port. 5; 24–44.
- Goergen, G., Vayssières, J.-F., Gnanvossou, D., Tindo, M. 2011. *Bactrocera invadens* (Diptera: Tephritidae), a New Invasive Fruit Fly Pest for the Afrotropical Region: Host Plant Range and Distribution in West and Central Africa. Environ. Entomol. 40, 844–854.
- Hurt, C. & Takeuchi, Y. 2006. http://www.docstoc.com/docs/109521085/10-16103_PRA_Record_Bactrocera_invadens
- Jose, L., Cugala, D. & Santos, L. 2013. Assessment of invasive fruit fly fruit infestation and damage in Cabo Delgado province, northern Mozambique. Afr. Crop Sci. J. 21: 21–28.
- Lux, S.A., Copeland, R.S., White, I.M., Manrakhan, A. & Billah, M.K. 2003. Insect Science and its Application 23: 355-360
- Mwatawala, M.W., De Meyer, M., Makundi & R.H., Maerere, A.P. 2006. Seasonality and host utilization of the invasive fruit fly, *Bactrocera invadens* (Dipt., Tephritidae) in central Tanzania. J. Appl. Entomol. 130: 530–537.
- Mwatawala, M.W., De Meyer, M., Makundi, R.H. & Maerere, A.P. 2009. Host range and distribution of fruit-infesting pestiferous fruit flies (Diptera, Tephritidae) in selected areas of Central Tanzania. Bull. Entomol. Res. 99: 629.
- Vayssières, J.-F., Sinzogan, A., Adandonon, A., Rey, J.-Y., Dieng, E.O., Camara, K., Sangaré, M., Ouedraogo, S., Hala, N., Sidibé, A., Keita, Y., Gogovor, G., Korie, S., Coulibaly, O., Kikissagbé, C., Tossou, A., Billah, M., Biney, K., Nobime, O., Diatta, P., N'Dépo, R., Noussourou, M., Traoré, L., Saizonou, S. & Tamo, M. 2014. Annual population dynamics of mango fruit flies (Diptera: Tephritidae) in West Africa: socio-economic aspects, host phenology and implications for management. Fruits 69: 207–222

Quadros e figuras



Figura 1 - Macho adulto de *Bactrocera invadens* (foto de A. Baldé).



Figura 2 - Fêmea adulta de *Bactrocera invadens* (foto R. Cabrera).



Figura 3 - Pormenor das posturas de *Bactrocera invadens*, em banana verde e madura (foto R. Cabrera).



Figura 4 - Aspeto da polpa de banana afetada por larvas de *Bactrocera invadens* (foto R. Cabrera).



Figura 5 - Localização das zonas de monitorização dos adultos de *Bactrocera invadens* na Ilha de Santiago.



Figura 6 – Aspeto da armadilha ABT com creolina utilizada na monitorização dos adultos de *Bactrocera invadens* (foto de A. Baldé).



Figura 7 - Aspeto da recolha dos adultos de *Bactrocera invadens* no campo (foto de A. Baldé).

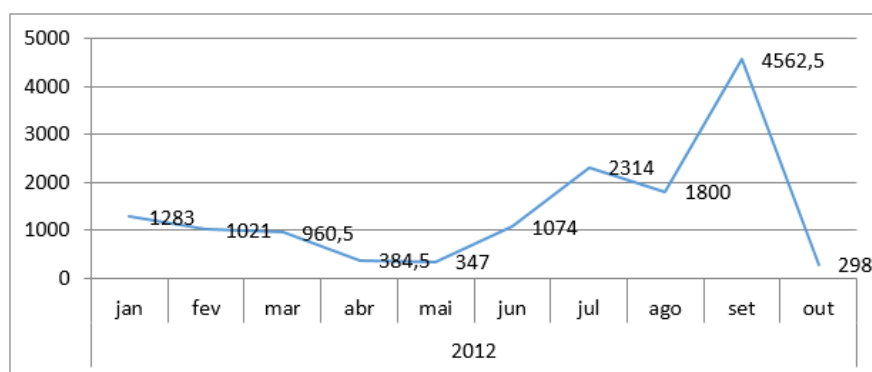


Figura 8 - Evolução das capturas médias de adultos de *Bactrocera invadens* na zona de produção de bananas de Monte Negro.

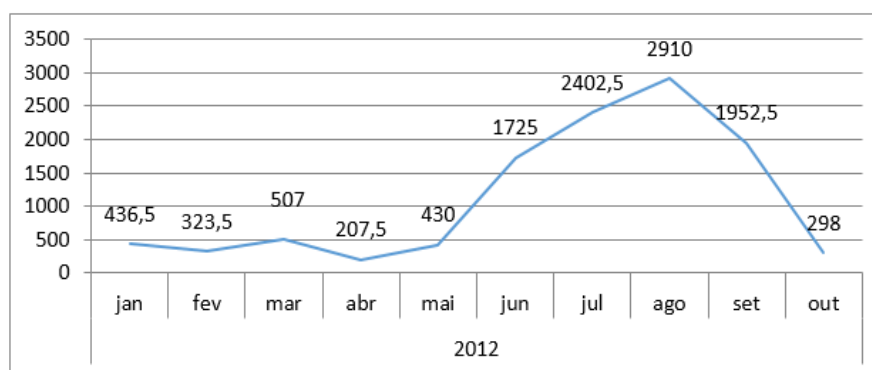


Figura 9 - Evolução das capturas médias de adultos de *Bactrocera invadens* na zona de produção de mangas de Barsona.

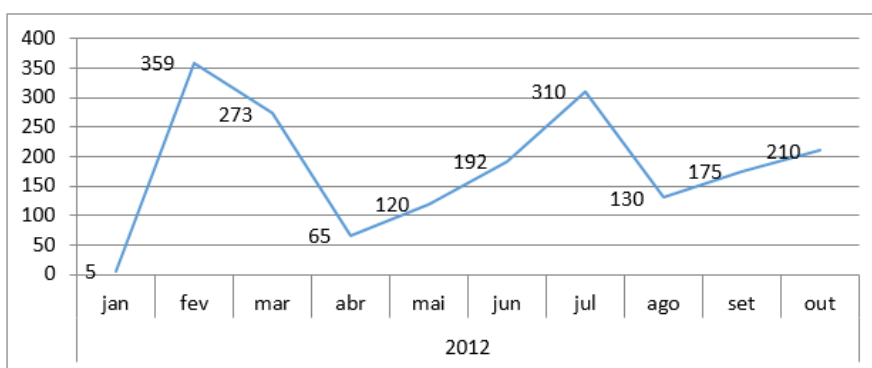


Figura 10 - Evolução das capturas média de adultos de *Bactrocera invadens* na zona de produção de mangas da Cidade Velha.

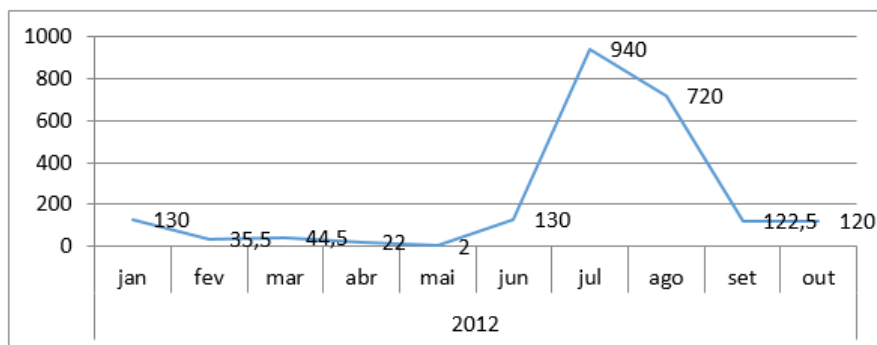


Figura 11 - Evolução das capturas médias de adultos de *Bactrocera invadens* na zona de produção de mangas da Ribeira da Barca.

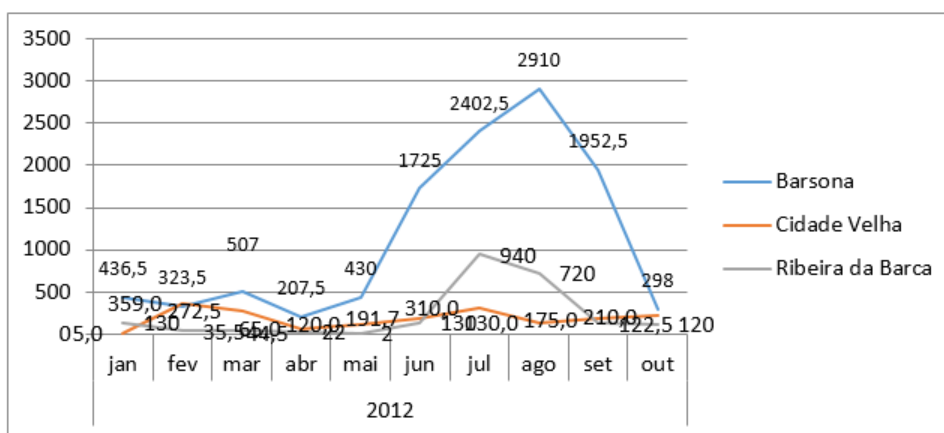


Figura 12 - Evolução das capturas médias de adultos de *Bactrocera invadens* nas três zonas de produção de mangas da Ilha de Santiago.

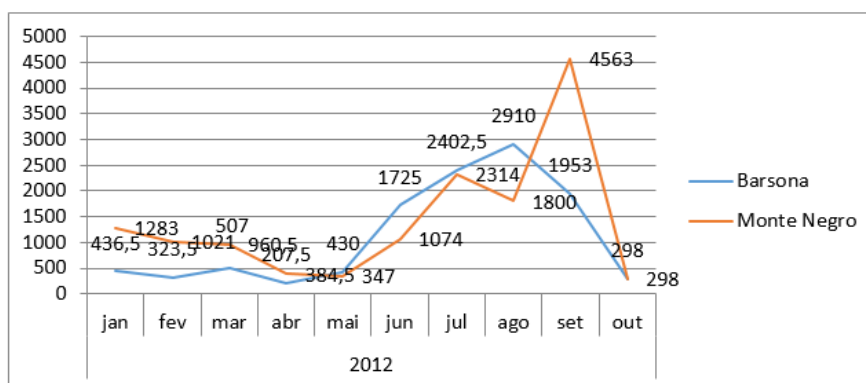


Figura 13 - Evolução das capturas médias de adultos nas duas zonas de produção, na zona Este da ilha de Santiago, com registo das maiores densidades populacionais de *Bactrocera invadens*.

Avaliação da atividade antimicrobiana e propriedades biológicas de fungos endofíticos

Eric Pereira, José Alberto Pereira, Elza Borges & Paula Baptista

CIMO/Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, Apartado 1172, 5301-854 Bragança, Portugal. pbaptista@ipb.pt

Resumo

Os fungos endofíticos são organismos que colonizam os tecidos internos das plantas, sem aparentemente causarem quaisquer danos no hospedeiro. Nas duas últimas décadas, estes fungos têm recebido considerável atenção pela produção de compostos bioativos com aplicação no tratamento e prevenção de doenças humanas. Num estudo anterior foi avaliada a comunidade de fungos endofíticos presente em diferentes órgãos da oliveira (*Olea europaea*) do nordeste transmontano, tendo-se observado uma grande diversidade, em especial nas raízes.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana e enzimática de quatro espécies fúngicas endofíticas obtidas da raiz da oliveira: *Fusarium oxysporum*, *Bionectria ochroleuca*, *Penicillium canescens* e *Paecilomyces lilacinus*. A atividade antimicrobiana contra bactérias gram+, gram- ou leveduras, foi avaliada em meio de cultura batata dextrose agar (BDA), pela determinação dos halos de inibição. Três dos endófitos testados inibiram significativamente o crescimento de pelo menos cinco dos microrganismos utilizados, quando comparado com o controlo (cloranfenicol – bactérias; fluconazol – leveduras). Dos endófitos testados o que apresentou maior atividade contra bactérias foi *P. canescens* e contra leveduras foi *F. oxysporum*. A inibição exibida por estas duas espécies foi significativamente superior ao controlo. A identificação de enzimas hidrolíticas produzidas pelos fungos endófitos foi realizada em meio BDA pela avaliação do halo de degradação do substrato, previamente incorporado no meio de cultura, por parte da enzima. Das quatro enzimas pesquisadas foi possível identificar a produção de duas, amilase e celulase. A primeira foi produzida apenas pelo fungo *P. canescens*. Por sua vez, a celulase foi produzida por todos os endófitos estudados.

Palavras-chave: Oliveira, antibióticos, antifúngicos, atividade enzimática.

Abstract

Evaluation of antimicrobial activity and biological properties of endophytic fungi

The endophytic fungi are organisms which colonize the inner tissues of plants, apparently without causing any damage to the host. In the past two decades, these fungi have received considerable attention due to the production of bioactive compounds with application in the treatment and prevention of human diseases. In a previous study we have evaluated the community of endophytic fungi present in different organs of the olive tree (*Olea europaea*) in the north-eastern of Portugal (Trás-os-Montes region), and it was observed a great diversity, especially in the roots.

This study aimed to evaluate the antimicrobial and enzymatic activity of four endophytic fungal species isolated from olive tree roots: *Fusarium oxysporum*, *Bionectria ochroleuca*, *Penicillium canescens* and *Paecilomyces lilacinus*. The antimicrobial activity against gram+ and gram- bacteria or yeasts was evaluated in potato dextrose agar (PDA) medium by calculation of the diameter of the zone of inhibition. Three of the endophytes tested inhibited significantly the growth of five microorganisms when compared to the

control (chloramphenicol - bacteria, fluconazole - yeast). Among the endophytes tested, *P. canescens* and *F. oxysporum* showed the greatest antimicrobial activity against bacteria and yeast, respectively. The inhibition displayed by these fungi was significantly higher in relation to the control. The production of hydrolytic enzymes by fungal endophytes was assessed in PDA medium by evaluating the degradation of the substrate, previously incorporated into the culture medium, by the enzyme. Among the four enzymes evaluated, only two (amylase and cellulase) were produced by endophytic fungi. Amylase was only produced by the fungus *P. canescens* whereas cellulase was produced by all the endophytes studied.

Keywords: Endophytic, olive tree, antibiotics, antifungal, enzymatic activity.

Introdução

Os fungos endofíticos são organismos que colonizam os tecidos internos dos órgãos das plantas, sem aparentemente causarem quaisquer danos no hospedeiro (Hyde & Soyong, 2008). A sua capacidade de co-existir e co-evoluir com a planta hospedeira é atribuída ao equilíbrio conseguido entre a virulência do endófito e as defesas do hospedeiro (Schulz & Boyle, 2005). Este tipo de associação caracteriza-se pelo endófito aumentar o crescimento, reprodução e resistência/tolerância a stresses bióticos e abióticos, da planta hospedeira (Saikkonen et al., 2004). Por sua vez, a planta hospedeira serve de refúgio ao endófito protegendo-o, fornece-lhe os nutrientes necessários para o seu desenvolvimento e possui ainda um papel importante na sua transmissão (Saikkonen et al., 2004).

Atualmente, a pesquisa de compostos naturais e de enzimas nestes fungos tem vindo a ganhar cada vez mais importância, por representarem uma fonte rica e diversa de novos compostos bioativos naturais (Ownley et al., 2010) e de enzimas (Sunitha et al., 2013). De facto, a multiplicidade de associações que se podem estabelecer entre espécies de fungos e de plantas, favorece o aparecimento de novas e diversas vias metabólicas e, consequentemente, a produção de novos metabolitos bioativos (Carter, 2011). Até ao momento foram descritos mais de 20 000 compostos naturais novos e bioativos obtidos de fungos endofíticos (Ownley et al., 2010), e 51% destes apresentam estruturas inéditas (Yang et al., 2012). Estes compostos naturais, produzidos por fungos endofíticos, apresentam um amplo espetro de atividades biológicas, como por exemplo antimicrobiana, antiparasitária, neuroprotetiva, antioxidante, antidiabética, propriedades imunossupressoras, antiviral, anticolinesterásica, antineoplásicos e citotóxica (Guo et al., 2000; Zhang et al., 2006; Wang et al., 2012).

Os fungos endófitos possuem ainda a capacidade de produzirem uma grande variedade de enzimas extracelulares, incluindo proteases, lípases, celulasas, pectinases, xilanases, amílases, entre outras (Robl et al., 2013; Sunitha et al., 2013). A produção enzimática por fungos endofíticos é variável, estando relacionada com a especificidade entre a planta hospedeira e o fungo (Sunitha et al., 2013). A maioria destas enzimas está envolvida no processo de colonização da planta hospedeira pelo endófito ou no antagonismo exercido pelo endófito contra fitopatogénicos (Cao et al., 2009).

O presente trabalho pretende avaliar o potencial antimicrobiano e enzimático de quatro fungos endofíticos (*Fusarium oxysporum*, *Bionectria ochroleuca*, *Penicillium canescens* e *Paecilomyces lilacinus*) isolados da raiz da oliveira. O potencial antimicrobiano será avaliado contra bactérias gram-, gram+ e leveduras; e as enzimas avaliadas serão a amilase, celulase, lacase e lipase. Pretende-se selecionar os isolados fúngicos mais promissores para trabalhos futuros com vista à sua utilização na indústria farmacêutica como produtores de antibióticos e antifúngicos naturais, bem como de enzimas.

Material e Métodos

Estirpes microbianas: Os ensaios da atividade antimicrobiana foram efetuados contra bactérias gram+ (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*), bactérias gram- (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*) e leveduras (*Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Candida parapsilosis*). As leveduras foram cultivadas a 25°C durante 48h, em meio de cultura YPDA (agar levedura peptona dextrose). As bactérias foram cultivadas a 37°C durante 24h e mantidas em meio de cultura LB (Luria Bertani). Os fungos endofíticos testados foram *Fusarium oxysporum*, *Bionectria ochroleuca*, *Penicillium canescens* e *Paecilomyces lilacinus*. Estes fungos foram isolados da raiz de oliveira cv. Cobrançosa da região de Mirandela e mantidos em meio de cultura batata dextrose ggar (BDA) a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ no escuro.

Análise da atividade antimicrobiana: Os ensaios da avaliação da atividade antimicrobiana foram efetuados segundo a metodologia descrita por Pereira et al. (2011), pela medição da área do halo de inibição (cm^2). Como controle positivo utilizou-se discos 30 $\mu\text{g/ml}$ cloranfenicol para bactérias e 25 $\mu\text{g/ml}$ fluconazol para leveduras. Efectuaram-se três repetições de cada combinação (fungo endofítico x microrganismo) e cada ensaio foi repetido duas vezes.

Avaliação da produção de enzimas extracelulares: As enzimas avaliadas foram a amilase, celulase, lacase e lipase. A produção destas enzimas foi avaliada qualitativamente pela observação dos halos de degradação do substrato pelas enzimas produzidas pelos fungos endofíticos em meio de cultura BDA (Maria et al., 2005). Realizaram-se três repetições para cada enzima.

Análise de dados: Os valores das áreas dos halos de inibição (atividade antimicrobiana) e de degradação (atividade enzimática) exibidas pelos fungos endofíticos são apresentados como a média de três experiências independentes seguida pelo erro padrão. As diferenças entre as médias foram feitas por análise de variância (ANOVA), utilizando o *software* SPSS v. 21 e as médias foram comparadas no teste de Turkey ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

Atividade antimicrobiana

Das quatro espécies endófitas estudadas, três (*F. oxysporum*, *P. canescens* e *P. lilacinus*) apresentaram potencial antimicrobiano, inibindo significativamente leveduras (Fig. 1), bactérias gram+ (Fig. 2) e gram- (Fig. 3). Os endófitos *P. canescens* e *F. oxysporum* foram os que apresentaram um maior poder inibitório, tendo *F. oxysporum* sido mais eficaz contra as leveduras e *P. canescens* contra as bactérias (gram+ e gram-). A espécie *F. oxysporum* inibiu significativamente *C. parapsilosis*, *C. albicans* e *C. glabrata*, em 116%, 83% e 64%, respectivamente face ao antifúngico comercial fluconazol (25 $\mu\text{L/mL}$). A capacidade inibitória de *F. oxysporum* contra leveduras patogénicas humanas foi anteriormente observada em isolados endofíticos obtidos de *Orchidaceae* (Vaz et al., 2009) e *Nothapodytes foetida* (Musavi & Balakrishnan, 2014). Esta capacidade inibitória poderá estar relacionada com a produção de metabolitos secundários biologicamente ativos tais como beauvericina, eniatinas e exopolissacarídeos (Jayasinghe et al., 2006) que demonstraram possuir efeitos antibióticos (Wang et al., 2011).

O fungo *P. canescens* foi o que apresentou uma maior atividade antibacteriana. Quando comparado com o controlo (30 $\mu\text{L/mL}$ cloranfenicol), esta espécie inibiu significativamente as bactérias gram+ *B. cereus*, *B. subtilis* e *S. aureus* em 190%, 141% e 139%, respectivamente (Fig. 2); e as bactérias gram- *E. coli* e *P. aeruginosa* em 169% e 39%, respectivamente (Fig. 3). As espécies pertencentes ao género *Penicillium* são sobejamente conhecidas pela sua capacidade em produzir metabolitos secundários ativos, incluindo

antibióticos (Rancic et al., 2006) e antifúngicos (Nicoletti et al., 2007). A atividade antimicrobiana observada especificamente para o *P. canescens* pode ser atribuída, entre outros fatores, à produção de compostos antimicrobianos, tal como, griseofulvina, canescina, ácido clavulânico, e alcalóides que contêm triptofano (Nicoletti et al., 2007; Bertinetti et al., 2009). De entre as espécies endófitas estudadas, apenas *P. canescens* demonstrou capacidade de inibir a bactéria gram- *P. aeruginosa*, tendo sido esta inibição significativamente superior ao antibiótico cloranfenicol (30 µL/mL). Este resultado revela um grande potencial desta espécie fúngica no tratamento de doenças infecciosas causadas por *P. aeruginosa*. Este aspeto reveste-se de especial importância uma vez que tem sido frequentemente relatado o aumento de resistência de *P. aeruginosa* a muitos dos antibióticos disponíveis no mercado (Jung et al., 2005).

A espécie endófito *P. lilacinus* apesar de ter inibido todos os microrganismos testados, os valores dos halos de inibição foram geralmente significativamente inferiores aos do controlo. A capacidade inibitória desta espécie endófito pode estar relacionada com a produção de uma toxina característica das espécies *Paecilomyces spp.*, a paecilotoxina, tendo já sido comprovada a sua atividade antimicrobiana contra bactérias gram+ (Mikami et al., 1989).

Análise da atividade de enzimas extracelulares

Os fungos endofíticos foram estudados quanto à sua capacidade em produzir as enzimas extracelulares amilase, celulase, lacase e lipase. Destas enzimas, apenas se observou a produção da amilase e da celulase (Fig. 4). A amilase foi produzida exclusivamente pelo endófito *P. canescens*. Estudos anteriores, observaram igualmente a capacidade de várias estirpes de *Penicillium* de produzirem amilase (Khokhar et al., 2011). Esta enzima tem vindo a ganhar muito destaque devido à sua enorme aplicabilidade em vários processos industriais, em especial no alimentar (Emmanuel et al., 2000) e farmacêutico (Sunitha et al., 2012). As amilases são ainda importantes na indústria têxtil, de bebidas, de detergentes, alimentação animal e química (Khokhar et al., 2011).

A produção de celulase foi observada em todos os fungos testados, sendo superior nas espécies *P. canescens* e *F. oxysporum*, e inferior nas espécies *P. lilacinus* e *B. ochroleuca* (Fig. 4). À semelhança do presente estudo, a produção de celulase por *F. oxysporum* (Onofre et al., 2013) e *Penicillium* sp. (Khokhar et al., 2011) foi anteriormente observada. As celulases têm uma enorme aplicação na indústria têxtil, de bebidas para a produção de sumos de frutas, vinificação e nutrição animal (incorporação em rações) (Miettinen-Oinonen et al., 2004).

É de notar ainda que as espécies endofíticas (*F. oxysporum* e *P. canescens*) que exibiram maior atividade antimicrobiana foram também as que exibiram maior atividade enzimática. Este resultado sugere que a produção destas enzimas, em especial da celulase, possa contribuir em parte para a inibição dos microrganismos testados. Esta sugestão é reforçada pelo facto da acumulação de enzimas extracelulares (incluindo a celulase) na zona de interação entre microrganismos já ter sido referenciado (Srinon et al., 2006).

Conclusões

Dos quatro fungos endofíticos isolados da raiz de oliveira, três apresentaram actividade antimicrobiana e todos apresentaram atividade enzimática para a celulase. De entre as espécies estudadas, *F. oxysporum* e *P. canescens*, parecem ser os mais promissores no tratamento de doenças infecciosas causadas por bactérias e leveduras por originarem halos de inibição significativamente superiores aos antibióticos/antifúngicos comerciais. Este estudo confirma o potencial dos fungos endofíticos como uma fonte promissora na procura de antibióticos/antifúngicos naturais, assim como uma fonte natural de enzimas com aplicações em várias áreas.

Agradecimentos

Este trabalho é financiado por Fundos FEDER através do Programa Operacional Factores de Competitividade – COMPETE e por Fundos Nacionais através da FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia no âmbito do projeto “EndoBio - Isolamento e seleção de fungos endofíticos da oliveira para luta biológica contra *Colletotrichum acutatum* e *Verticillium dahliae*” (PTDC/AGR-PRO/4354/2012).

Bibliografia

- Bertinetti, B.V., Peña, N.I. & Cabrera, G.M. 2009. An Antifungal Tetrapeptide from the Culture of *Penicillium canescens*. *Chemistry & Biodiversity* 6:1178-1184.
- Cao, R., Liu, X., Gao, K., Mendgen, K., Kang, Z., Gao, J., Dai, Y. & Wang, X. 2009. Mycoparasitism of endophytic fungi isolated from reed on soilborne phytopathogenic fungi and production of cell wall-degrading enzymes in vitro. *Current Microbiology* 59:584-592.
- Guo, B., Dai, J., Ng, S., Huang, Y., Leong, C., Ong, W. & Carte, B. 2000. Cytonic acids A and B: novel tridepside inhibitors of hCMV protease from the endophytic fungus *Cytospora species*. *Journal of Natural Products* 63:602 – 604.
- Hyde, K. & Soyong, K. 2008. The fungal endophyte dilemma. *Fungal Diversity* 33:167 – 173.
- Jayasinghe, L., Abbas, H.K., Jacob, M.R. & Herath, W.H.M.W. 2006. N-Methyl-4-Hydroxy-2-Pyridinone Analogs from *Fusarium oxysporum*. *Journal of Natural Products* 69:439-442.
- Jung, R., Fish, D.N., Obitsh, M.D. & Maclaren, R. 2005. Surveillance of multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* in an urban tertiary-care teaching hospital. *Pharmacotherapy* 25:1353-1364.
- Khokhar, I., Mukhtar, I. & Mushtaq, S. 2011. Isolation and screening of amylolytic filamentous fungi. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management* 15:203-206.
- Emmanuel, L., Stephan, J., Bernard, H. & Abdel, B. 2000. Thermophilic archeal amylolytic enzymes. *Enzyme and Microbial Technology* 26:3-14.
- Miettinen-Oinonen, A., Londesborough, J., Joutsjoki, V., Lantto, R., Vehmaanpera, J. & Primalco Ltd. Biotec. 2004. Three cellulases from *Melanocarpus albomyces* for textile treatment at a neutral pH. *Enzyme and Microbial Technology* 34:332-341.
- Mikami, Y., Yazawa, K., Fukushima, K., Arai, T., Udagawa, S. & Samson, R. 1989. Paecilotoxin production in clinical or terrestrial isolates of *Paecilomyces lilacinus* strains. *Mycopathologia* 108:195-199.
- Nicoletti, R., Lopez-Gresa, M.P., Manzo, E., Carella, A. & Ciavatta, M.L. 2007. Production and fungitoxic activity of Sch 642305, a secondary metabolite of *Penicillium canescens*. *Mycopathologia* 163: 295-301.
- Onofre, S.B., Mattiello, S.P., Silva, G.C., Groth, D. & Malagi, I. 2013. Production of cellulases by the endophytic fungi *Fusarium oxysporum*. *Journal of Microbiology Research* 3:131-134.
- Ownley, B., Gwinn, K. & Vega, F. 2010. Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: ecology and evolution. *BioControl* 55:113 – 128.
- Pereira, E., Santos, A., Reis, F., Tavares, R., Baptista, P., Lino-Neto, T. & Almeida-Aguiar, C. 2013. A new effective assay to detect antimicrobial activity of filamentous fungi. *Microbiological Research* 168:1 – 5.

- Rancic, A., Sokovic, M., Karioti, A., Vukojevic, J. & Skaltsa, H. 2006. Isolation and structural elucidation of two secondary metabolites from the filamentous fungus *Penicillium ochrochloron* with antimicrobial activity. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 22:80 – 84.
- Robl, D., Delabona, P., Mergel C.M., Rojas, J.D., Costa, P., Pimentel, I., Vicente, V.P. Pradella, J. & Padilla, G. 2013. The capability of endophytic fungi for production of hemicellulases and related enzymes. *BMC Biotechnology* 13:94.
- Saikkonen, K., Wäli, P., Helander, M. & Faeth, S.H. 2004. Evolution of endophyte-plant symbioses. *Trend in Plant Science* 9:275-280.
- Schulz, B. & Boyle, C. 2005. The endophytic continuum. *Mycological Research* 109:661-686.
- Srinon, W., Chuncheon, K., Jirattiwatukul, K., Soyong, K. & Kanokmedhakul, S. 2006. Efficacies of antagonistic fungi against *Fusarium* wilt disease of 40 cucumber and tomato and the assay of its enzyme activity. *Journal of Agricultural Technology* 2:191-201.
- Sunitha, V.H., Ramesha, A., Savitha, J. & Srinivas, C. 2012. Amylase production by endophytic fungi *cylindrocephalum* sp. isolated from medicinal plant *Alpinia Calcarata* (Haw.) Roscoe. *Brazilian Journal of Microbiology* 1:1213-1221.
- Sunitha, V.H., Devi, D.N. & Srinivas, C. 2013. Extracellular enzymatic activity of endophytic fungal strains isolated from medicinal plants. *World Journal of Agricultural Sciences* 9:1-9.
- Vaz, A., Mota, R., Bomfim, M., Vieira, M., Zani, C., Rosa, C. & Rosa, L. 2009. Antimicrobial activity of endophytic fungi associated with *Orchidaceae* in Brazil. *Canadian Journal of Microbiology* 55:1381 – 1391.
- Wang, Q.X., Li, S.F., Zhao, F., Dai, H.Q., Bao, L., Ding, R., Gao, H., Zhang, L.X., Wen H-A & Liu, H-W. 2011. Chemical constituents from endophytic fungus *Fusarium oxysporum*. *Fitoterapia* 82:777–781.
- Wang, L., Xu, B., Su, Z., Lin, F., Zhang, C. & Kubicek, C. 2012. Bioactive metabolites from *Phoma* species, an endophytic fungus from the Chinese medicinal plant *Arisaema erubescens*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 93:1231 – 1239.
- Yang, X., Zhang, J. & Luo, D. 2012. The taxonomy, biology and chemistry of the fungal *Pestalotiopsis* genus. *Nature Products Report* 29: 622.
- Zhang, H., Song, Y. & Tan., R. 2006. Biology and chemistry of endophytes. *Natural Products Reports* 23:753-771.
- Maria, G.L., Sridhar K.R. & Raviraja N.S. 2005. Antimicrobial and enzyme activity of mangrove endophytic fungi of southwest coast of India. *Journal of Agricultural Technology* 1:67-80

Figuras e quadros

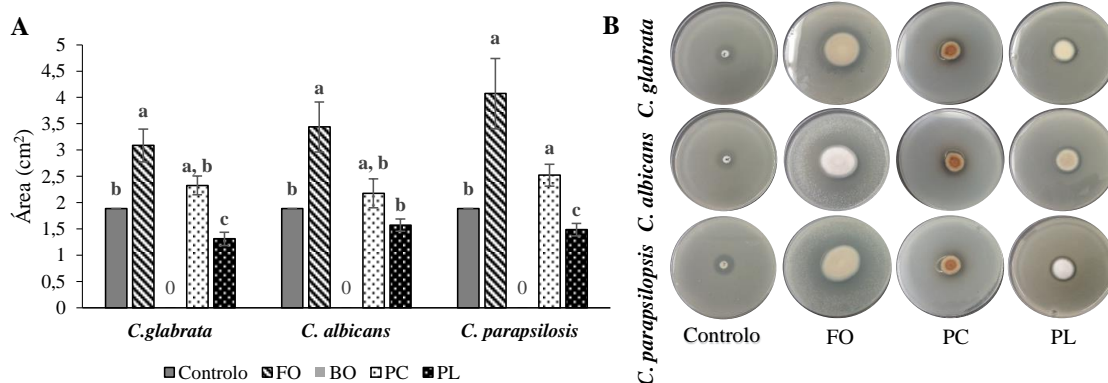


Figura 4 – Área dos halos de inibição (A) e aspeto macroscópico (B) dos ensaios da atividade antimicrobiana de fungos endofíticos contra as leveduras *C. glabrata*, *C. albicans* e *C. parapsilosis*. A barra indica média \pm erro padrão (n=3). Em cada levedura valores médios com letras diferentes, diferem significativamente ($p < 0,05$). Legenda: Controlo – 25 μ L/mL Fluconazol; FO - *Fusarium oxysporum*; BO - *Bionectria ochroleuca*; PC - *Penicillium canescens*; PL - *Paecilomyces lilacinus*.

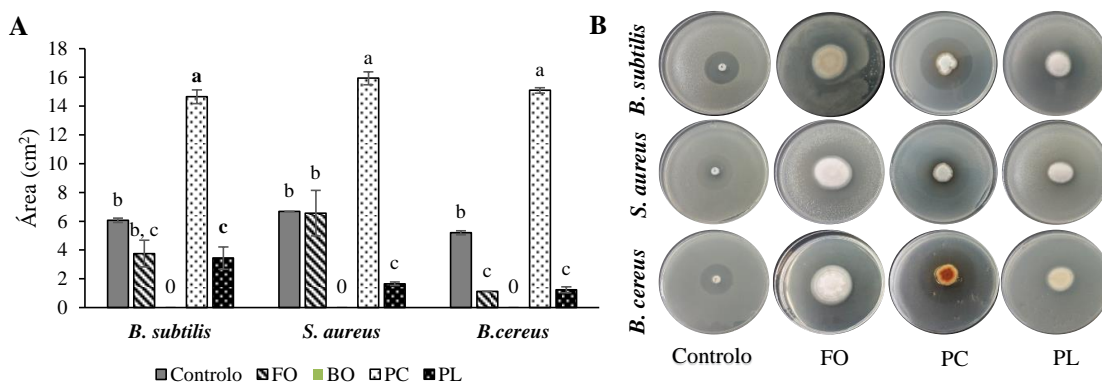


Figura 2 - Área dos halos de inibição (A) e aspeto macroscópico (B) dos ensaios da atividade antimicrobiana de fungos endofíticos contra as bactérias gram+ *B. subtilis*, *S. aureus* e *B. cereus*. A barra indica média \pm erro padrão (n=3). Em cada levedura valores médios com letras diferentes, diferem significativamente ($p < 0,05$). Legenda: Controlo – 30 μ L/mL Cloranfenicol; FO - *Fusarium oxysporum*; BO - *Bionectria ochroleuca*; PC - *Penicillium canescens*; PL - *Paecilomyces lilacinus*.

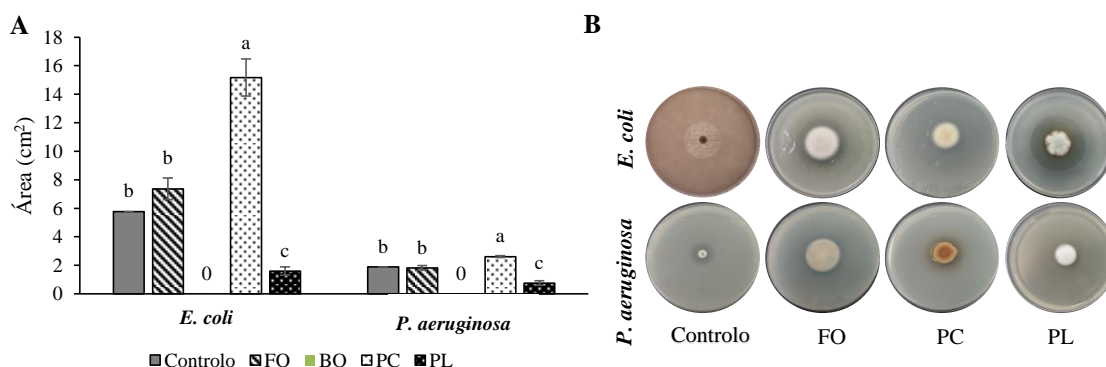


Figura 3 – Área dos halos de inibição (A) e aspeto macroscópico (B) dos ensaios da atividade antimicrobiana de fungos endofíticos contra as bactérias gram- *E. coli* e *P. aeruginosa*. A barra indica média \pm erro padrão (n=3). Em cada levedura valores médios com letras diferentes, diferem significativamente ($p < 0,05$). Legenda: Controlo – 30 μ L/mL Cloranfenicol; FO - *Fusarium oxysporum*; BO - *Bionectria ochroleuca*; PC - *Penicillium canescens*; PL - *Paecilomyces lilacinus*.

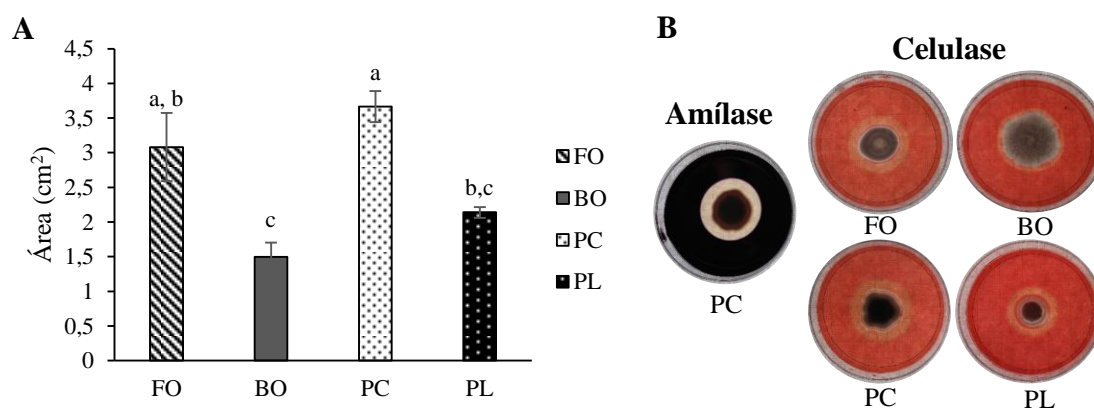


Figura 4 - Atividade enzimática da celulase em fungos endofíticos (A). A barra indica média \pm erro padrão (n=3). Valores médios com letras diferentes, diferem significativamente ($p < 0,05$). Aspeto macroscópico dos ensaios da atividade enzimática (B) dos fungos endofíticos evidenciando os halos de degradação dos substratos da amílase e celulase. Legenda: FO - *Fusarium oxysporum*; BO - *Bionectria ochroleuca*; PC - *Penicillium canescens*; PL - *Paecilomyces lilacinus*.

Avaliação da comunidade microbiana endo e epifítica em *Olea europaea* e seu potencial na luta biológica da tuberculose da oliveira

Teresa Gomes¹, José Alberto Pereira², Albino Bento³ & Paula Baptista⁴

Centro de Investigação de Montanha (CIMO) / Instituto Politécnico de Bragança, Escola Superior Agrária, *Campus* de Santa Apolónia, Apartado 1172, 5301-854 Bragança, Portugal.

¹teresa.mdg@gmail.com, ²jpereira@ipb.pt, ³bento@ipb.pt, pbaptista@ipb.pt⁴

Resumo

A tuberculose da oliveira é causada pela bactéria *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* e ocorre frequentemente em quase todas as regiões olivícolas do mundo, incluindo o Nordeste Transmontano (Portugal). Esta bactéria encontra-se epifiticamente na oliveira e, ao penetrar nos tecidos da planta, origina a produção de nódulos causando severos danos no olival, ao reduzir a produção e qualidade do produto final. Devido ao crescente interesse pelo estudo da comunidade microbiana presente nas plantas e pela sua exploração como agentes de luta biológica contra doenças de espécies agrícolas, o presente trabalho pretende avaliar a diversidade microbiana endo- e epifítica em oliveira e explorar as suas potencialidades na luta biológica contra a tuberculose. Deste modo, procedeu-se ao isolamento da comunidade microbiana epifítica e endofítica a partir de caules e folhas sãs colhidas em 21 oliveiras na região de Mirandela. Os isolados obtidos foram identificados por sequenciação da região espaçadora transcrita interna do rDNA (fungos) e por sequenciação do gene 16S rRNA (bactérias).

Os fungos filamentosos foi o grupo de microrganismos mais frequentemente isolado em ambas as comunidades microbianas (epifítica e endofítica), seguida pelas bactérias e leveduras. No que concerne à comunidade endofítica, dos 1140 segmentos analisados (caules e folhas), foram obtidos 318 isolados. Esta comunidade foi dominada pela espécie fúngica *Phaeosphaeria avenaria*. A diversidade e a frequência de colonização por microrganismos endofíticos foi significativamente superior nos caules quando comparado com as folhas. Foi também ao nível dos caules onde se observou um maior número de espécies endófitas exclusivas, quer ao nível dos fungos como das bactérias. A população epifítica contou com um total de 620 isolados, sendo as espécies mais frequentes *Coprinellus xanthothrix*, *Coprinellus radians*, *Cladosporium cladosporioides* e *Coprinopsis phlyctidospora*. A abundância e a diversidade de microrganismos epifíticos nos caules e nas folhas foram muito similares. Em geral, os resultados mostraram que a parte aérea da oliveira apresenta uma grande diversidade microbiana. As potencialidades das espécies isoladas na luta biológica contra a tuberculose serão discutidas.

Palavras-chave: oliveira, fungos, bactérias, leveduras, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*.

Abstract

Evaluation of endo- and epiphytic microbial community in *Olea europaea* and its potential for biological control of olive tree tuberculosis.

The olive knot (OK) is a disease caused by the bacteria *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. It occurs in almost worldwide olive-growing regions, including northeastern of Portugal. This bacterium is found epiphytically in the olive tree and, after tissues infection, produces spherical knots on the trunk and branches causing severe damages by reducing the production and quality of the final product. The study of microbial community associated with plants and its potential use as biological control agents against plant diseases have been recently addressed by researchers. This study aims to assess the endo- and epiphytic microbial diversity

in olive tree and explore their role in the biological control against OK. Thus, the isolation of endophytic and epiphytic microbial community from stems and leaves were performed by collecting 21 asymptomatic olive trees, in the Mirandela region. The isolates were identified by sequencing the internal transcribed spacer region (ITS) of rDNA (fungi) and the 16S gene of rRNA (bacteria).

The most frequently isolated group of microorganisms in both microbial communities (epiphytic and endophytic) was the filamentous fungi, followed by bacteria and yeasts. Regarding endophytic community, a total of 318 isolates were obtained from the 1140 segments analyzed (stems and leaves). This community was dominated by the fungal specie *Phaeosphaeria avenaria*. The diversity and frequency of colonization by endophytic microorganisms was significantly higher in stems than in leaves. A highest number of exclusive endophyte fungal species was also observed in stems. In what concerns epiphytic community, a total of 620 isolates were obtained being *Coprinellus xanthothrix*, *Coprinellus radians*, *Cladosporium cladosporoides* and *Coprinopsis phlyctidosporea* the most frequently isolated. Both abundance and diversity of epiphytic microorganisms in the stems and leaves were very similar. In general, the results show that the olive stems has a large microbial diversity. The potentialities of the isolates obtained in the biological control of OK will be discussed.

Keywords: olive tree, fungi, bacteria, yeast, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*.

Introdução

A bactéria *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* é o agente causal da tuberculose da oliveira, doença que ocorre em todas as regiões olivícolas do mundo, incluindo a região Transmontana (Penyalver et al., 2006). Esta bactéria, quando presente na filosfera da oliveira, penetra na planta através de feridas provocadas, por exemplo, por cortes acidentais, poda, granizo, entre outras (Quesada et al., 2012). A doença manifesta-se pela formação de nódulos em toda a parte aérea da oliveira, em especial nos rebentos e raminhos jovens, levando ao enfraquecimento das oliveiras (seca e morte dos ramos) com a consequente quebra da produção (Quesada et al., 2012). A estratégia de proteção dominante contra esta doença tem sido a luta cultural, principalmente através da poda dos ramos doentes e seleção de cultivares menos sensíveis à doença. A luta química tem, por sua vez, mostrado reduzida eficácia (Quesada et al., 2010); e a luta biológica tem sido muito pouco explorada (Quesada et al., 2012).

A parte aérea das plantas é conhecida por possuir uma grande diversidade de microrganismos quer ao nível da população que coloniza a superfície (epifítica) ou o interior (endofítica) dos diferentes órgãos da planta (Whipps et al., 2008). Estes microrganismos desempenham funções importantes, incluindo o aumento da proteção da planta hospedeira contra agentes fitopatogénicos (Berg, 2009). No caso da oliveira, a população microbiana endo- e epifítica da parte aérea encontra-se pouco descrita e a sua população fúngica, tanto quanto se sabe, desconhecida. O estudo das duas comunidades microbianas pode contribuir para o conhecimento da sua diversidade e elucidar o seu papel na resistência/tolerância da planta hospedeira contra potenciais stresses bióticos (Arnold et al., 2003) e abióticos (Hyde & Soyong, 2008). Adicionalmente, estes microrganismos, por partilharem o mesmo espaço com os agentes fitopatogénicos na parte aérea das plantas, apresentam uma maior potencialidade de serem explorados como agentes de luta biológica (Tonelli et al., 2010). Neste contexto, o presente trabalho pretendeu avaliar a diversidade de fungos filamentosos endo- e epifíticos em ramos e folhas de oliveira, e explorar o seu potencial como agentes de luta biológica contra a tuberculose da oliveira.

Material e Métodos

Seleção dos olivais e recolha do material vegetal: Aleatoriamente foram seleccionadas 21 árvores de oliveira (*Olea europea* L.) num olival localizado na região de

Mirandela (Trás-os-Montes). Em cada árvore, recolheram-se duas amostras de ramos e folhas para posterior isolamento de fungos endofíticos e epifíticos.

Isolamento de fungos epifíticos: As folhas e os caules (1g/ 9 ml solução tampão) foram colocados separadamente, em agitação orbital durante 1 hora a 200 rpm, numa solução tampão fosfato de potássio a pH 7.0 (8g/L de NaCl; 0,2 g/L de KCl; 1,4 g/L de Na₂HPO₄; 0,24 g/L de KH₂PO₄). Após remoção das folhas e dos caules, procedeu-se à centrifugação (10000 rpm, durante 10 min) e o pellet obtido foi dissolvido em 4 ml da solução tampão. O material vegetal utilizado foi acondicionado a 4°C para posterior isolamento de fungos endofíticos. Após preparação de sucessivas diluições (1:10) da suspensão de microrganismos, procedeu-se à inoculação de dois meios de cultura, batata dextrose agar (BDA) e agar padrão para contagem (PCA), por incorporação de 1 mL da amostra no meio de cultura. As colónias fúngicas obtidas foram agrupadas através das suas características morfológicas, contadas e identificadas molecularmente após obtenção de culturas puras por repicagens sucessivas em meio BDA ou PCA.

Isolamento de fungos endofíticos: O isolamento de fungos endofíticos foi efectuado nas mesmas folhas e ramos utilizados no isolamento de fungos epifíticos, seguindo a metodologia descrita por Martins et al. (2013). Os meios utilizados para o isolamento foram BDA e PCA. O crescimento fúngico foi acompanhado diariamente e à medida que as colónias surgiam estas eram repicadas para o respectivo meio de cultura até obtenção de culturas puras.

Identificação molecular dos isolados fúngicos. As colónias fúngicas com características morfológicas similares foram agrupadas. Cada grupo foi identificado molecularmente através da amplificação e sequenciação da região espaçadora transcrita interna (ITS) do DNA nuclear ribossomal utilizando os *primers* universais ITS1 e ITS4 (White et al., 1990), seguindo a metodologia descrita por Oliveira et al. (2012).

Análise de dados: A diversidade e abundância de fungos filamentosos endo- e epifíticos foram determinados em cada órgão da oliveira (ramos e folhas). A frequência de colonização (expressa em percentagem) foi calculada através do número de segmentos colonizados por uma espécie endofítica dividido pelo número total de segmentos colonizados. A abundância relativa (expressa em percentagem) foi calculada através do número de isolados obtidos para uma espécie epifítica dividido pelo número total de isolados obtidos. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), utilizando o programa SPSS v.20 e as médias comparadas pelo teste de *Tukey* ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

As 21 oliveiras amostradas apresentaram uma população fúngica epifítica e endofítica abundante e diversificada, tendo-se obtido um total de 938 isolados pertencentes a 116 espécies (quadro 1). A população fúngica epifítica foi mais abundante (620 isolados) e diversificada (87 taxa) quando comparada com a população endofítica (318 isolados pertencentes a 54 taxa). Resultados similares foram obtidos por Osono & Mori (2004) e Osono (2007) em folhas de *Fagus crenata* e *Cornus stolonifera*. Na figura 1 é indicada as onze espécies mais frequentemente isoladas em ambas as comunidades analisadas. De entre a comunidade fúngica epifítica da oliveira, as espécies *Cladosporium cladosporoides* e *Coprinopsis phlyctidospora*, foram as que apresentaram uma maior abundância relativa (27% do total dos isolados), seguindo-se as espécies *Coprinellus aff. radians* e *Coprinellus xanthothrix*, com 10% cada (fig. 1B). As espécies *C. phlyctidospora*, *C. aff. radians* e *C. xanthothrix* pertencem ao grupo dos macrofungos e a sua elevada abundância na parte aérea da oliveira pode ser devida à sua ocupação sazonal, aquando da colheita do material vegetal, junto ao tronco ou sob a copa da oliveira. De facto, vários estudos sugerem que os esporos existentes na atmosfera são uma potencial fonte de fungos colonizadores da superfície das plantas (Aylor, 2002; Levetin & Dorsey, 2006). À semelhança do observado no presente estudo, a presença de *C. aff. radians*, foi verificada epifiticamente em folhas de *Bambusa* (Li et al., 2012). Os fungos identificados

epifiticamente na oliveira pertencem a diversos grupos funcionais, incluindo entomopatogénicos, saprófitas e fitopatogénicos (dados não apresentados). De entre os fungos entomopatogénicos destaca-se, em especial, a espécie *Beauveria bassiana* devido à sua elevada abundância relativa (5,5%) na copa das oliveiras (fig. 1B). Esta espécie é conhecida por ocorrer naturalmente na superfície de diferentes espécies vegetais (Doberski & Tribe, 1980) e por desempenhar um papel importante na luta biológica de pragas, inclusive da oliveira (Oliveira et al., 2012). Estudos anteriores realizados nas espécies lenhosas *Quercus faginea*, *Pistacia lentiscus*, *Cistus albidus*, *Acer monspessulanum* e *Osyris quadripartita*, em clima mediterrâneo, mostraram uma diversidade de fungos epifíticos semelhante à da oliveira (Inácio et al., 2002).

De entre a comunidade fúngica endofítica da oliveira, a espécie *Leptosphaeria avenaria*, foi a mais frequentemente isolada (fig. 1A). Esta espécie foi igualmente descrita como endófito em estudos anteriores efectuados por Márquez et al. (2007), em folhas e caules de *Dactylis glomerata* e Promputtha et al. (2007), em folhas de *Magnolia liliifera*. As restantes espécies apresentaram uma frequência de colonização inferior a 2%. Algumas destas espécies, apesar de se encontrarem descritas como sendo saprófitas e patogénicas (por exemplo *Alternaria* sp., *Penicillium* sp., e *C. cladosporioides*) foram, à semelhança do presente estudo, detectadas ao nível da comunidade endofítica em diversas espécies vegetais (Gazis & Chaverri, 2010; Angelini et al., 2012; Osono, 2007). Adicionalmente foi identificada na oliveira a presença de fungos descritos anteriormente como endófitos incluindo as espécies *Pyronema domesticum*, isolada de folhas de *Prunus avium* (Neda et al., 2011), *Penicillium solitum*, isolado de rebentos de *Panicum* (Giauque & Hawques, 2013), e *Davidiella macrospora* isolada de raízes de *Phragmites australis* (Angelini et al., 2012). Tanto quanto é do nosso conhecimento, a presença endofítica das espécies *Ochrocladosporium adansoniae*, *Phoma aloes*, *Sarcinomyces crustaceus* e *Geopyxis rehmanii*, foi identificada pela primeira vez neste trabalho, existindo apenas referência a fungos endofíticos dos géneros *Phoma* sp. (Prabavathy & Valli Nachiyar, 2013), *Geopyxis* sp. (Stark et al., 2009) e *Sarcinomyces* sp. (Hortova & Norvotny, 2011).

A comunidade fúngica endo- e epifítica diferiram entre os diferentes tecidos da oliveira analisados (quadro 1). Em ambas as comunidades, o número de isolados e de taxa foi superior nos caules face às folhas. Esta diferença foi sobretudo notória ao nível da comunidade fúngica endofítica (nos caules: 266 isolados pertencentes a 44 taxa; nas folhas: 52 isolados pertencentes a 20 taxa). Resultados similares foram obtidos em estudos anteriores reportados por Osono & Mori (2003), Sun et al. (2012) e Jin et al., (2013), que também observaram maior colonização de fungos endófitos em caules comparativamente às folhas. Segundo Rodrigues (1994), a estrutura e os diferentes substratos presentes nos caules e folhas podem influenciar a colonização dos fungos endófitos e o facto de os caules serem mais permanentes comparativamente com as folhas (Guo et al. 2008; Sun et al. 2012) também pode justificar a maior colonização de fungos filamentosos neste órgão.

Verificou-se igualmente que das onze espécies endofíticas mais abundantes, cinco (*Sarcinomyces crustaceus*, *Phoma aloes*, *Pyronema domesticum*, *Penicillium solitum* e *Davidiella macrospora*) foram isoladas exclusivamente de caules e as restantes simultaneamente de caules e folhas (fig. 1A). Neste último caso, observou-se uma maior frequência de colonização dos caules face às folhas, com diferenças significativas para as espécies *L. avenaria*, *O. adansoniae*, *C. cladosporioides* e *Alternaria* sp.. Resultados similares foram obtidos por Sun et al. (2008), que identificaram diferentes populações endofíticas, entre caules e folhas, sugerindo que os diferentes tecidos vegetais do hospedeiro tem um efeito significativo na composição da comunidade endofítica. Contrariamente ao verificado para as espécies endofíticas, ao nível da comunidade fúngica epifítica, as onze espécies com maior abundância relativa foram isoladas de ambos os órgãos da oliveira analisados (fig. 1B). Esta similaridade de abundância relativa de espécies epifíticas entre órgãos de planta foi anteriormente observada por Osono & Mori (2004). A taxa de colonização de ramos e folhas por estas espécies epifíticas foi muito similar, com excepção da espécie *Fusarium solani* que

demonstrou ser significativamente mais abundante nos caules (1.6%) em comparação com as folhas (0.8%) ($P < 0,05$).

A comparação das duas comunidades fúngicas (endo- e epifítica) revela a existência de 25 espécies em comum (dados não mostrados). O caule foi o órgão que apresentou o maior número de espécies em comum (18 espécies) entre a comunidade endo- e epifítica. Por sua vez, nas folhas apenas se registaram 13 espécies comuns entre as duas microfloras. Das espécies representadas na fig. 1, apenas *C. cladosporioides* foi identificado em ambas as microfloras estudadas. Alguns trabalhos têm igualmente demonstrado a capacidade de alguns fungos presentes epifiticamente na superfície da planta poderem também estar presente na forma endofítica (Mukhtar et al., 2010). Segundo Petrini (1991), a integração de determinadas espécies de microrganismos epifíticos na comunidade endofítica, deve-se à capacidade dos primeiros invadirem os tecidos vegetais da planta hospedeira sem activar os seus mecanismos de defesa. Hoffman & Arnold (2007) sugerem que estes microrganismos se estabelecem no interior da planta quando as condições do exterior se tornam inóspitas.

Conclusões

A oliveira apresentou grande abundância e diversidade de espécies fúngicas na sua filosfera. A comunidade endofítica apresentou menor número de isolados e de espécies em ambos os tecidos vegetais estudados, face à comunidade epifítica. Ao contrário do observado para a comunidade epifítica, a frequência de colonização por parte dos fungos endofíticos diferiu entre os órgãos da oliveira sendo superior nos caules. Este resultado sugere a existência de uma especificidade das espécies endófitas por um determinado tecido da planta hospedeira. O conhecimento da diversidade e das interações que se possam estabelecer entre comunidade epifítica – endofítica - planta hospedeira poderá contribuir para o desenvolvimento de uma nova estratégia de luta biológica contra doenças do olival. Espera-se, no futuro, avaliar a capacidade antagonista de alguns dos isolados obtidos contra o agente causal da tuberculose.

Agradecimentos

Este trabalho é financiado por Fundos Nacionais através da FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia no âmbito do projeto “Proteção da oliveira em modo de produção sustentável num cenário de alterações climáticas globais: ligação entre infraestruturas ecológicas e funções do ecossistema” (EXCL/AGR-PRO/0591/2012).

Referências

- Angelini, P., Runini, A., Gigante, D. & Reale, L. 2012. The endophytic fungal communities associated with the leaves and roots of the common reed (*Phragmites australis*) in Lake Trasimeno (Perugia, Italy) in declining and healthy stands. *Fungal Ecology*: 1-11.
- Arnold A.E., Mejia L., Kylo D., Rojas E., Maynard Z., Robbins N. & Herre E.A. 2003. Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100:15649–15654.
- Aylor D.E. 2002. Aerobiology of fungi in relation to capture and release by plants. In S.E. Lindow, E.I. Hecht-Poinar and V.J. Elliott (eds), *Phyllosphere Microbiology*. APS Press: St. Paul, pp. 341–364.
- Berg, G. 2009. Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *Appl Microbiol Biotechnol* 84:11–18.
- Doberski, J.W. & Tribe, H.T. 1980. Isolation of entomogenous fungi from elm bark and soil with reference to ecology of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *Transactions of the British Mycological Society* 74: 95–100.

- Giauque, H. & Hawkes C. 2013 Climate affects symbiotic fungal endophyte diversity and performance. *American Journal of Botany* 100(7):1435-1444.
- Guo, L.D., Huang, G.R. & Wang, Y. 2008. Seasonal and tissue age influences on endophytic fungi of *Pinus tabulaeformis* (*Pinaceae*) in the Dongling Mountains, Beijing. *Journal of Integrative Plant Biology* 50:997–1003.
- Hoffman, M. & Arnold, A.E. 2008. Geographic locality and host identity shape fungal endophyte communities in cupressaceous trees. *Mycological Research*, 331–344
- Hortova, B. & Novotny, D. 2011. Endophytic fungi in branches of sour cherry trees: a preliminary study. *Czech Mycology* 63(1):77–82.
- Hyde, K.D. & Soyong K. 2008. The fungal endophyte dilemma. *Fungal Diversity* 33: 163–173.
- Inácio, J. Pereira, P. De Carvalho, M. Fonseca, A. Amaral-Collaco, M.T. & Spencer-Martins, I. 2002. Estimation and Diversity of Phylloplane Mycobiota on selected plants in a Mediterranean-type ecosystem in Portugal. *Microbial Ecology*, 44(4) 344-53
- Jin, H., Yan, Z., Liu, Q., Yang, X., Chen, J. & Qin, B. 2013. Diversity and dynamics of fungal endophytes in leaves, stems and roots of *Stellera chamaejasme* L. in northwestern China. *Antonie van Leeuwenhoek* 104:949–963.
- Levetin, E. & Dorsey, K. 2006. Contribution of leaf surface fungi to the air spora *Aerobiologia* 22:3–12.
- Li, S. Peng, Y., Zhu, T. Zhu, H. Mao, C. & Qiao, T. 2012. Diversity of epiphytic fungi on the diseased and healthy leaves of *Bambusa*. *African Journal of Microbiology Research* 6(49):7556-7563.
- Márquez, S., Bills, G.F & Zabalgoeazcoa I. 2007. The endophyte community of *Dactylis glomerata*. *Zealand Grassland Association: Endophyte Symposium* pp. 69.
- Martins, F., Pereira, J.A., Bento, A. & Baptista, P. 2013. Diversity and distribution pattern of fungal endophytes in *Olea europaea* L. *VII Congreso Ibérico de Agroingeniería y de Ciencias Hortícolas*, Madrid (Espanha), 26-29 agosto de 2013. Livro de atas on line: N° C0573, 6 pp..
- Mukhtar, I., Khokhar, I., Mushtaq, S. & Ali A. 2010. Diversity of epiphytic and endophytic microorganisms in some dominant weeds. *Pakistan Journal of Weeds Science Resource* 16 (3):287-297.
- Neda, H. Halász, K. Pósa, T. Péter, G. Hrotkó, K. Gáspár, L. & Lukács, N. 2011. Diversity of endophytic fungi isolated from cherry (*Prunus avium*). *Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology* 15(2):1-6.
- Oliveira, I., Pereira, J.A., Lino-Neto, T., Bento, A. & Baptista, P. 2012. Fungal diversity associated to the olive moth, *Prays oleae* Bernard: a survey for potential entomopathogenic fungi. *Microbial Ecology* 63:964-974.
- Osono T. & Mori A. 2003. Colonization of Japanese beech leaves by phyllosphere fungi. *Mycoscience* 44:437-441.
- Osono T. & Mori A. 2004. Distribution of phyllosphere fungi within the canopy of giant dogwood. *Mycoscience* 45:161-168.
- Osono, O. 2007. Endophytic and epiphytic phyllosphere fungi of red-osier dogwood (*Cornus stolonifera*) in British Columbia. *Mycoscience* 48:47–52.
- Penyalver, R., García, R., Ferrer, A., Bertolini, A., Quesada, E., Salcedo J. M., Piquer, C.I., Pérez-Panadés, J., Carbonell J., del Río E.A.C., Caballero J. M. & López M. M. . 2006. Factors Affecting *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* Plant Inoculations and Their Use for Evaluation of Olive Cultivar Susceptibility. *The American Phytopathological Society* 96(3):313-319.

- Petrini, O. (1991). Fungal endophytes of tree leaves. In Microbial Ecology of Plants in a Mediterranean-Type Ecosystem in Portugal. Microbial Ecology 44:344–353.
- Prabavathy, D. & Valli Nachiyar, C. 2013. Screening the Bioactivity of ethyl acetate extract of endophytic *Phoma* sp isolated from *Vitex negundo*. International Conference on Chemical and Environmental Engineering (ICCEE'2013) April 15-16, 2013 Johannesburg (South Africa).
- Promptuttha, I. Lumyong, S. Dhanasekaran, V. McKenzie, E.H.C. Hyde, K.D. & Jeewon, R. 2007. A Phylogenetic Evaluation of Whether Endophytes Become Saprotophs at Host Senescence. Microbial Ecology 53:579–590.
- Quesada, J.M., Penyalver, R. & López M.M. 2012. Epidemiology and Control of Plant Diseases Caused by Phytopathogenic Bacteria: The Case of Olive Knot Disease Caused by *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi*, Plant Pathology, Dr. Christian Joseph Cumagun (Ed.), ISBN: 978-953-51-0489-6, InTech
- Quesada, J.M., Penyalver, R., Pérez-Panadés, J., Salcedo, C.I., Carbonell, E.A. & López, M.M. 2010. Comparison of chemical treatments for reducing epiphytic *Pseudomonas savastanoi* pv. *Savastanoi* populations and for improving subsequent control of olive knot disease. Crop Protection 29(12):1413-1420.
- Rodrigues, K.F. 1994. The foliar fungal endophytes of the Amazonian Palm *Euterpe oleracea*. Mycologia 86:376–385.
- Sun, X., Ding, Q., Hyde, K.D. & Guo, L.D. 2012. Community structure and preference of endophytic fungi of three woody plants in a mixed forest. Fungal Ecology 5:624–632.
- Tonelli, M.L. Taurian, T. Ibáñez, F. Angelini, J. & Fabra, A. 2010. Selection and in vitro characterization of biocontrol agents with potential to protect peanut plants against fungal pathogens. Journal of Plant Pathology 92 (1):73-82
- Whipps, J.M., Hand, P., Pink, D. & Bending, G.D. 2008. Phyllosphere microbiology with special reference to diversity and plant genotype. Journal of Applied Microbiology 105:1744–1755.
- White, J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M., Gelfand, D., Shinsky, J., White, T. J. (ed) PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Academic Press, San Diego, pp. 315-322.

Quadros e figuras

Quadro 1 – Abundância e diversidade de espécies endo- e epifíticas em caules e folhas de oliveira.

	Endofíticos			Epifíticos			Total		Total
	Caule	Folha	Total	Caule	Folha	Total	Caule	Folha	
Abundância	266	52	318	318	302	620	584	354	938
Diversidade	44	20	54	63	52	87	89	59	116

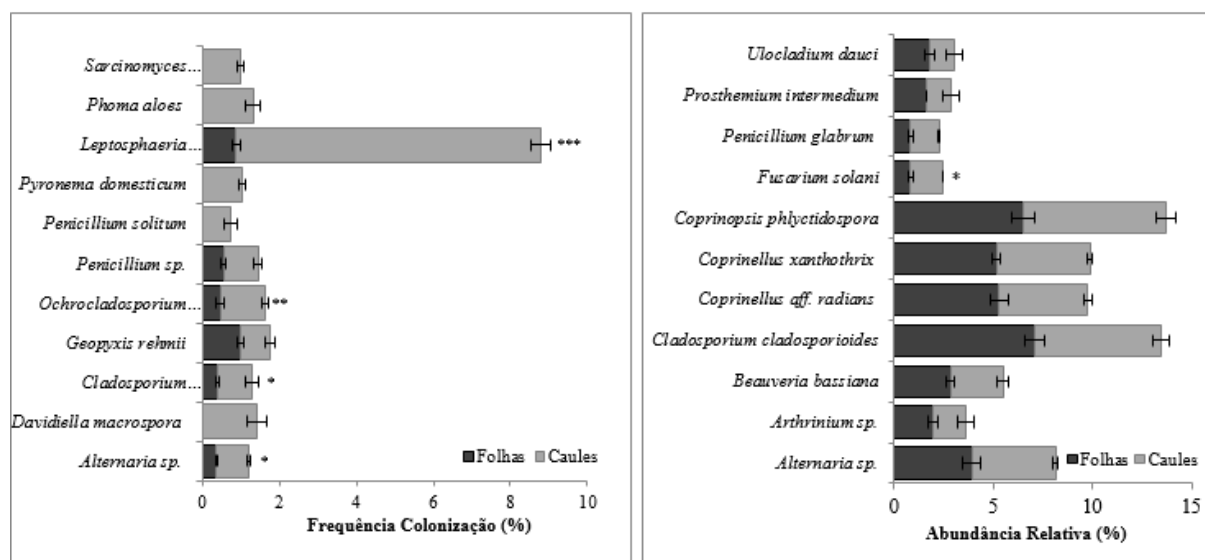


Figura 1 – Frequência de colonização (%) de espécies endofíticas (A) e Abundância relativa (%) de espécies epifíticas (B), em caules e folhas de oliveira. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$

Avaliação do potencial antimicrobiano de fungos endofíticos da oliveira

Cynthia Malhadas¹, Paula Guedes² & Paula Baptista¹

¹Centro de Investigação de Montanha (CIMO) / Instituto Politécnico de Bragança, Escola Superior Agrária, *Campus* de Santa Apolónia, Apartado 1172, 5301-854 Bragança, Portugal. pbaptista@ipb.pt

²REQUIMTE / Laboratório de Toxicologia, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Rua Jorge Viterbo Ferreira, 228, 4050-313 Porto, Portugal.

Resumo

Atualmente, a pesquisa de compostos bioativos naturais com aplicação no tratamento e prevenção de doenças humanas tem vindo a ganhar cada vez mais importância. Alguns destes estudos centram-se na bioprospeção de produtos naturais de origem microbiana. De entre os microrganismos com maior importância como fonte de produtos naturais destacam-se os fungos, sendo responsáveis por 38% do total dos compostos biologicamente ativos de origem microbiana descritos. A maioria destes metabolitos é explorada pela sua atividade como antibióticos. Assim, o objetivo geral deste trabalho consistiu na avaliação do potencial antimicrobiano de fungos endofíticos isolados de folhas de oliveira. As espécies fúngicas estudadas foram *Penicillium commune*, *Penicillium canescens* e *Alternaria alternata*. A atividade antimicrobiana foi avaliada em condições *in vitro* utilizando como microrganismos teste bactérias gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis*), gram-negativas (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*) e leveduras (*Candida albicans*, *Candida parapsilosis* e *Candida glabrata*). Como testemunha utilizou-se cloranfenicol (30 µg/ml) para bactérias e fluconazol (25 µg/ml) para leveduras. As três espécies de fungos endofíticos testados inibiram o crescimento de pelo menos quatro dos microrganismos utilizados. A espécie *A. alternata* foi a que apresentou maior atividade antagónica contra as leveduras, originando percentagens de inibição superiores a 90% quando comparado com a testemunha. As espécies *P. commune* e *P. canescens* foram mais eficazes contra as bactérias. Face a testemunha, *P. commune* originou percentagens de inibição a variar entre 11% para *B. subtilis* e 242% para *C. parapsilosis*; já no caso de *P. canescens* a variação situou-se entre 26% para *E. coli* e 112% para *C. glabrata*. Os resultados obtidos abrem novas perspectivas para a utilização destas espécies endófitas no tratamento de doenças infecciosas causadas por bactérias e leveduras.

Palavras-chave: Atividade antibacteriana, atividade antifúngica, *Candida*, *Penicillium*, *Alternaria*.

Abstract:

Evaluation of the antimicrobial potential of endophytic fungi from olive tree

Actually, the research on the use in the treatment and prevention of human diseases of natural bioactive compounds, has earned a lot of importance. Some of these studies focus on the bioprospection of natural products of microbial origin. The most important microorganisms as sources of natural products stand out fungi, being responsible for 38% of biologically active compounds total as it is described. Most of these metabolites are exploited for their activity as antibiotics. Therefore, the aim of this study was the evaluation of the antimicrobial potential of endophytic fungi that were isolated from olive leaves. The studied fungal species were *Penicillium commune*, *Penicillium canescens* and *Alternaria alternata*. The antimicrobial activity was evaluated under *in vitro* conditions using as microorganisms tests Gram-negative bacteria (*Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*), Gram-positive bacteria

(*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis*) and yeasts (*Candida albicans*, *Candida parapsilosis* and *Candida glabrata*). As control we used chloramphenicol (30 mg / ml) for bacteria and fluconazole (25 mg / ml) for yeasts. The three species of endophytic fungi tested inhibited the growth of, at least, four microorganisms. The species *A. alternata* showed the highest antagonistic activity against yeasts, yielding percentages of inhibition higher than 90% when compared to control. The species *P. commune* and *P. canescens* were more effective against bacteria. Compared to the control, *P. commune* gave percentages of inhibitions that ranged between 11% for *B. subtilis* and 242% for *C. parapsilosis*, while, for *P. canescens* they ranged from 26% for *E. coli* and 112% for *C. glabrata*. The results open new perspectives for the use of these endophyte species in the treatment of infectious diseases caused by bacteria and yeasts

Keywords: Antibacterial activity, antifungal activity, *Candida*, *Penicillium*, *Alternaria*.

Introdução

Nos últimos anos os fungos endofíticos têm sido alvo de estudo tendo em vista a pesquisa e detecção de novos compostos com atividade biológica de interesse a nível farmacêutico e medicinal. Este interesse deve-se sobretudo ao facto destes fungos representarem uma fonte rica e diversa de compostos bioativos naturais, contribuindo para a produção de uma vasta gama de metabolitos biologicamente ativos, tais como antibióticos, compostos antitumorais, imunossuppressores, antivirais, agentes antiparasíticos e compostos inativadores de enzimas (Gunatilaka, 2006; Olano et al., 2008; Donnez et al., 2009). Estes fungos, caracterizam-se por colonizarem inter- e intracelularmente os tecidos internos das plantas, durante todo o seu ciclo de vida ou parte dele, sem causarem sintomas aparentes de doença no hospedeiro (Hyde & Soyong, 2008). É precisamente durante esta interação que o fungo endofítico produz uma grande diversidade de metabolitos que favorecem o crescimento vegetativo e a competitividade da planta hospedeira. No que concerne especificamente aos metabolitos secundários produzidos por fungos endofíticos e relacionados com atividade antimicrobiana, destacam-se sobretudo os compostos fenólicos (e.g. quinonas e flavonóides), alcalóides, peptídeos, terpenóides e esteróides (Yu et al., 2009).

Estima-se que a diversidade de fungos endofíticos seja enorme, cerca de 1,5 milhões de espécies. Deste total, apenas 10% foram descobertas e estudadas até ao momento, e apenas 1% foram alvo de estudo quanto à sua capacidade de produção de metabolitos secundários (Guo et al., 2008). O desconhecimento da diversidade fúngica associada às suas potencialidades biotecnológicas sugere a existência de uma grande quantidade de compostos bioativos naturais que se encontram ainda por explorar. A bioprospeção de novos compostos antimicrobianos ao nível de fungos endofíticos reveste-se, neste âmbito, de enorme importância. Na atualidade, muitos dos antibióticos e antifúngicos disponíveis no mercado têm-se mostrado ineficazes no tratamento de infeções causadas por bactérias e fungos, respetivamente. Tendo em vista esta estratégia, o grupo de investigação AgroBiotecnologia da Escola Superior Agrária de Bragança iniciou, em 2012, o estudo da diversidade de fungos endofíticos em diferentes órgãos (raiz, caules e folhas) da oliveira (*Olea europaea* L.). Os resultados obtidos indicaram a existência de uma grande diversidade de fungos endofíticos (Martins, 2013). O presente trabalho pretende avaliar as potencialidades biotecnológicas de alguns dos isolados obtidos e selecionar os mais promissores para trabalhos futuros com vista à sua utilização na indústria farmacêutica como produtores de antibióticos e antifúngicos naturais. Para tal, procedeu-se à avaliação do potencial antimicrobiano de três fungos endofíticos, *Penicillium commune*, *Penicillium canescens* e *Alternaria alternata*, isolados da folha de oliveira contra bactérias Gram -, Gram +, e leveduras.

Material e Métodos

Estirpes microbianas

Os ensaios da atividade antimicrobiana foram efetuados contra bactérias Gram + (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*), bactérias Gram – (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*), e leveduras (*Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Candida parapsilosis*). Todos os microrganismos tiveram proveniência do Departamento de Biologia da Universidade do Minho (Braga, Portugal). As leveduras foram cultivadas a uma temperatura de 25°C durante 24 h, em meio de cultura YPDA [extrato de levedura 1% (p/v), peptona 2% (p/v), glucose 2% (p/v) e agar 2% (p/v)]. As bactérias foram cultivadas a 37°C durante 24 h, em meio de cultura LB [triptona 1% (p/v), extrato de levedura 0,5% (p/v), NaCl 1% (p/v), e agar 2% (p/v)].

Foram testadas três espécies de fungos endofíticos, *Penicillium commune*, *Penicillium canescens* e *Alternaria alternata*, previamente isolados de folha de oliveira cv. Cobrançosa. Estes fungos encontram-se depositados na Coleção de Culturas da Escola Agrária, do Instituto Politécnico de Bragança. A sua identificação baseou-se na amplificação e sequenciação da região espaçadora transcrita interna (ITS) do DNA nuclear ribossomal utilizando os *primers* universais *ITS1* e *ITS4* (White et al., 1990), seguindo a metodologia descrita por Oliveira et al. (2012). A obtenção de inóculo para os ensaios da atividade antimicrobiana foi feita a partir de culturas fúngicas em crescimento ativo em meio de cultura Batata Dextrose Agar (BDA), a 25°C no escuro.

Análise da atividade antimicrobiana

Os ensaios da avaliação da atividade antimicrobiana foram efetuados segundo a metodologia descrita por Pereira et al. (2011). Prepararam-se suspensões de esporos das espécies endofíticas a testar em solução aquosa de Tween 80 (0,02% v/v), à concentração final de 10⁶ esporos/mL. 10 µL desta suspensão foi transferida para o centro de uma placa de Petri (9 cm de diâmetro) contendo 10 mL de meio de cultura BDA. As placas de Petri foram postas a incubar a 25°C, no escuro, durante 3 dias para *P. commune*, 6 dias para *A. alternata* e 8 dias para *P. canescens*. Após incubação, a superfície das placas de Petri contendo as colónias fúngicas, foi coberta uniformemente com 3 mL de uma suspensão de bactérias ou leveduras preparada em meio de agar-água (0,8%, p/v), à concentração de 10⁷ UFC (unidades formadoras de colónias)/mL. A suspensão de bactérias e leveduras foi obtida transferindo a biomassa de uma cultura de 24h de crescimento para 5 mL de NaCl 0,85% (p/v). Um volume desta suspensão foi adicionado ao meio de agar-água 0,8% (p/v) de forma a obter a concentração pretendida. Para a contagem de microrganismos/esporos foi utilizado uma câmara de Neubauer. Após 24h de incubação a 25°C (para leveduras) ou 32°C (para bactérias) no escuro, avaliou-se a atividade antimicrobiana de cada espécie fúngica, pela determinação da área dos halos de inibição à volta das colónias fúngicas. Como testemunha utilizou-se cloranfenicol (30 µg/ml) para bactérias e fluconazol (25 µg/ml) para leveduras. Efectuaram-se três repetições de cada combinação (fungo endofítico x microrganismo) e cada ensaio foi repetido três vezes.

Análise de dados

A partir dos valores dos raios dos halos de inibição determinaram-se as respectivas áreas sendo, estes resultados apresentados na forma de diferenças percentuais face à testemunha. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), utilizando o programa SPSS v.18 e as médias comparadas pelo teste de Tukey (p <0,05).

Resultados e discussão

O aumento da resistência por parte dos microrganismos aos antibióticos/antifúngicos existentes, tem potenciado a procura de novos agentes antimicrobianos (Pavithra et al., 2012; Phongpaichit et al., 2013). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), um dos maiores problemas de saúde pública na atualidade advém precisamente das limitações dos antibióticos

disponíveis no mercado para o tratamento de infecções causadas por microrganismos. Para este problema, poderá haver uma possível solução que passa pela descoberta de novos antibióticos e antifúngicos, com mecanismos de ação distintos dos que estão, neste momento, disponíveis no mercado. Esta medida, foi recentemente reforçada pela Sociedade Americana de Doenças Infeciosas ao solicitar a descoberta de 10 novas classes de antibióticos até 2020 (Wright, 2012). O mesmo autor considera que a bioprospeção de metabolitos bioativos de origem natural (microrganismos, plantas e animais) apresenta um enorme potencial para a obtenção de novos antibióticos e antifúngicos. A descoberta de novos metabolitos produzidos por fungos endofíticos poderá assim dar um enorme contributo para o desenvolvimento de novos fármacos antimicrobianos. No presente estudo avaliou-se a capacidade de três espécies fúngicas endofíticas (*P. commune*, *A. alternata* e *P. canescens*) inibirem o crescimento de bactérias Gram +, Gram - e leveduras. Verificou-se que o poder inibitório dos fungos endofíticos foi variável consoante a espécie. O endófito *A. alternata* demonstrou ser mais eficaz contra as leveduras (fig. 1), enquanto *P. commune* e *P. canescens* foram mais eficazes contra as bactérias (figs 2 e 3). De entre as leveduras analisadas *C. parapsilosis* demonstrou ser a mais sensível e *C. albicans* a mais resistente aos endófitos estudados (fig. 1). Ao nível das bactérias, *B. cereus* (gram +) e *P. aeruginosa* (gram -), foram as mais sensíveis aos endófitos testados (figs 2 e 3).

O estudo dos efeitos antifúngicos (fig. 1) revelou que apenas o endófito *A. alternata* teve a capacidade de inibir significativamente o crescimento das três leveduras testadas, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* e *C. albicans*, em mais de 90% quando comparado com a testemunha (fluconazol 25 µg/mL). O fungo *P. canescens* inibiu significativamente *C. glabrata* em 112% comparativamente à testemunha, enquanto *C. albicans* e *C. parapsilosis* apresentaram maior resistência. Similarmente, o endófito *P. commune* exibiu unicamente capacidade para inibir a levedura *C. parapsilosis*, em cerca de 242% face ao antifúngico comercial fluconazol, apresentando as espécies *C. glabrata* e *C. albicans* maior resistência. Os resultados dos ensaios antibacterianos, indicam que o fungo *P. canescens* e *P. commune* apresentam uma maior atividade contra bactérias Gram + (fig. 2) e a segunda espécie adicionalmente contra bactérias Gram- (Fig. 3). Quando comparado com a testemunha (cloranfenicol 30 µg/ml), *P. canescens* inibiu significativamente o crescimento de *B. subtilis*, *S. aureus* e *B. cereus*, em 44%, 28% e 35%, respetivamente (fig. 2). A atividade inibitória de *P. commune* contra as bactérias gram+ fez-se sentir sobretudo nas espécies *S. aureus* e *B. cereus*, registando-se reduções significativas do seu crescimento em 26% e 48%, respetivamente, face à testemunha. Ao nível das bactérias Gram - (fig. 3) o endófito *P. commune* inibiu significativamente o crescimento de *P. aeruginosa* em 77% e o endófito *P. canescens* o de *E. coli* em 26%, comparativamente à testemunha.

De uma maneira geral, a atividade antimicrobiana exibida pelos fungos endofíticos encontra-se associada à produção de compostos pertencentes a várias classes químicas incluindo esteróides (Dai et al., 2006), sesquiterpenos, diterpenos e triterpenóides (Yu et al., 2010), peptídeos (Cui et al. 2008), alcalóides (Qin et al. 2009) e compostos fenólicos (Han et al., 2008). À semelhança do observado no presente estudo, espécies pertencentes ao género *Penicillium*, tinham já demonstrado a capacidade antimicrobiana (Rancic et al., 2006; Nicoletti et al., 2007). A atividade antimicrobiana exibida pelo *P. canescens* no presente estudo pode ser atribuída, entre outros fatores, à produção de compostos fenólicos (e.g. ácido clavulânico) e de alcalóides, anteriormente referenciados como possuindo propriedades antifúngicas e antibacterianas (Nicoletti et al., 2007; Bertinetti et al., 2009).

Conclusões

Todos os fungos endofíticos isolados da folha de oliveira e testados no presente estudo apresentaram atividade antimicrobiana. De entre as espécies estudadas, *A. alternata* pareceu ser a mais promissora no tratamento de doenças infecciosas causadas pelas leveduras, originando halos de inibição significativamente superiores aos antifúngicos comerciais. Por sua vez, as espécies *P. canescens* e *P. commune*, mostraram ser mais eficazes contra as bactérias. Este

estudo confirma o potencial dos fungos endofíticos como uma fonte promissora na procura de antibiótico/antifúngicos naturais.

Agradecimentos

Este trabalho é financiado por Fundos Nacionais através da FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia no âmbito do projeto “EndoBio - Isolamento e seleção de fungos endofíticos da oliveira para luta biológica contra *Colletotrichum acutatum* e *Verticillium dahliae*” (PTDC/AGR-PRO/4354/2012).

Referências

- Cui HB, Mei WL, Miao CD, Lin HP, Hong K. & , Dai HF. 2008. Antibacterial constituents from the endophytic fungus *Penicillium sp.*0935030 of mangrove plant *Acrostichum aureum*. Chemical Journal of Chinese Universities, 33: 407-10.
- Dai JQ, Krohn K, Flörke U, Draeger S, Schulz B, KissSzikszai A, et al. 2006. Metabolites from the endophytic fungus *Nodulisporium sp.* from *Juniperus cedre*. European journal of organic chemistry, 3498–506.
- Donnez, D.; Jeandet, P.; Clement, C. & Courot, E. 2009. Bioproduction of resveratrol and stilbene derivatives by plant cells and microorganisms. Trends in Biotechnology, vol. 27, no. 12, p. 706-713
- Gunatilaka AA. 2006. Natural products from plant-associated microorganisms: distribution, structural diversity, bioactivity, and implications of their occurrence. J Nat Prod, 69(3):509-26
- Guo L, Wu JZ, Han T, Cao T, Rahman K, Qin LP. 2008. Chemical Composition, antifungal and antitumor properties of ether extracts of *Scapania verrucosa* Heeg. and its endophytic fungus *Chaetomium fusiforme*. Molecules, 13:2114–25.
- Han Z, Mei WL, Cui HB, Zeng YB, Lin HP, Hong K, et al. 2008. Antibacterial constituents from the endophytic fungus *Penicillium sp.* Og mangrove plant *cerbera manghas*. Chemical Journal of Chinese Universities, 29(4): 749-752
- Hongsheng Yu, Lei Zhang, Lin Li, Chengjian Zheng, Lei Guo, Wenchao Li, Peixin Sun, Luping Qin. 2009. Recent developments and future prospects of antimicrobial metabolites produced by endophytes. Microbiological Research. 2009; e.g. 32(165):437-449
- Hyde, K. D. and Soyong, K. 2008. The fungal endophyte dilemma. Fungal Diversity, 33: 163-173.
- Martins Fátima, Pereira José Alberto, Bento Albino & Baptista Paula. 2013. Diversity and distribution pattern of fungal endophytes in *Olea Europaea L.* VII Congresp Ibérico de agroingeniería y Ciencias Hortícolas, Madrid, Spain 26-29 August.
- Nicoletti, R., Lopez-Gresa, M.P., Manzo, E., Carella, A., Ciavetta, M.L. 2007. Production and fungitoxic activity of Sch 642305, a secondary metabolite of *Penicillium canescens*. *Mycopathologia*, 163 (5): 295-301.
- Olano, C., Méndez, C., and Salas, J.A. 2008. Improving production of bioactive secondary metabolites in actinomycetes by Metabolic engineering. Metab Eng 10 : 281-292.
- Oliveira, I., Pereira, A., Lino-Neto, T., Bento, A., Baptista, P. 2012. Fungal diversity associated to the olive moth, *Prays oleae* Bernard: a survey for potential entomopathogenic fungi. *Microbial Ecology*, 63: 964-974
- Pavithra, N., Sathish, L., Ananda, K. 2012. Antimicrobial and enzyme activity of endophytic fungi isolated from Tulsi. *Journal of Pharmaceutical and biomedical sciences*, 16 (12): 1-6.

- Pereira, E., Santos, A., Reis, F., Tavares, R., Baptista, P., Lino-Neto, T., Almeida-Aguiar, C. 2011. A new effective assay to detect antimicrobial activity of filamentous fungi. *Microbiological Research*, 168: 1-5.
- Phongpaichit, V., Prachayasittikul, S., Ruchirawat, S., Prachayasittikul, V. 2013. High therapeutic potential of *Spilanthes acmella*: a review. *EXCLI Journal*, 12: 291-312.
- Qin JC, Zhang YM, Gao JM, Bai MS, Yang SX, Laatschb H et al. 2009. Bioactive metabolites produced by *Chaetomium globosum*, an endophytic fungus isolated from *Ginkgo biloba*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 19(6):1572-4.
- Rancic, A., Sokovic, M., Karioti, A., Vukojevic, J., Skaltsa, H. 2006. Isolation and structural elucidation of two secondary metabolites from the filamentous fungus *Penicillium ochrochloron* with antimicrobial activity. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 22(1): 80-84.
- White, T.J., Bruns T, Lee, S., Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand D.H., Sninsky JJ, White TJ (eds) *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, Academic Press, San Diego, 315-322.
- Wright, G. 2012. Antibiotics: A new hope. *Chemistry & Biology*, 19: 3-10.

Quadro e figuras

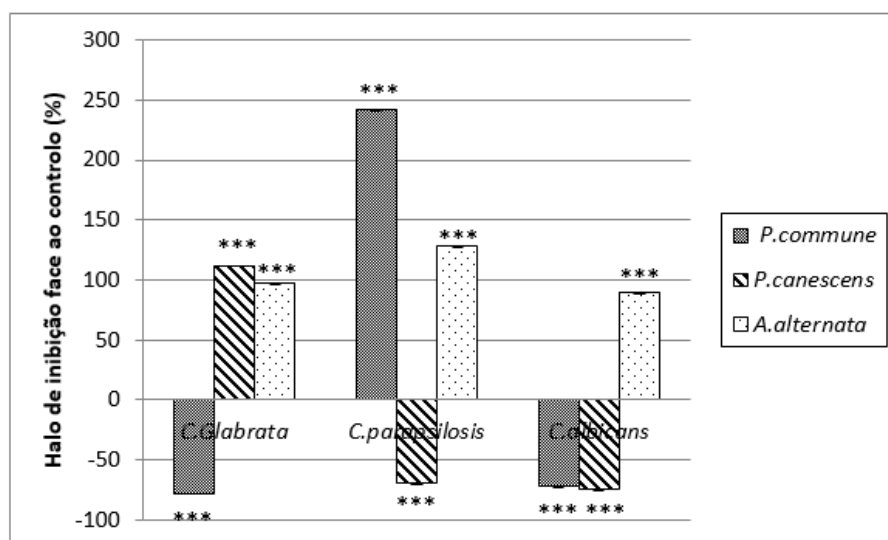


Figura 1 – Diferenças de área de halos de inibição exibida pelos fungos endofíticos *P. commune*, *P. canescens* e *A. alternata*, contra as leveduras *C. glabrata*, *C. parapsilosis* e *C. albicans*. A barra indica a média \pm erro padrão (n=3). Os asteriscos representam valores estatisticamente diferentes da testemunha (fluconazol 25 μ g/mL) em *p < 0,05, **p < 0,01 e ***p < 0,001.

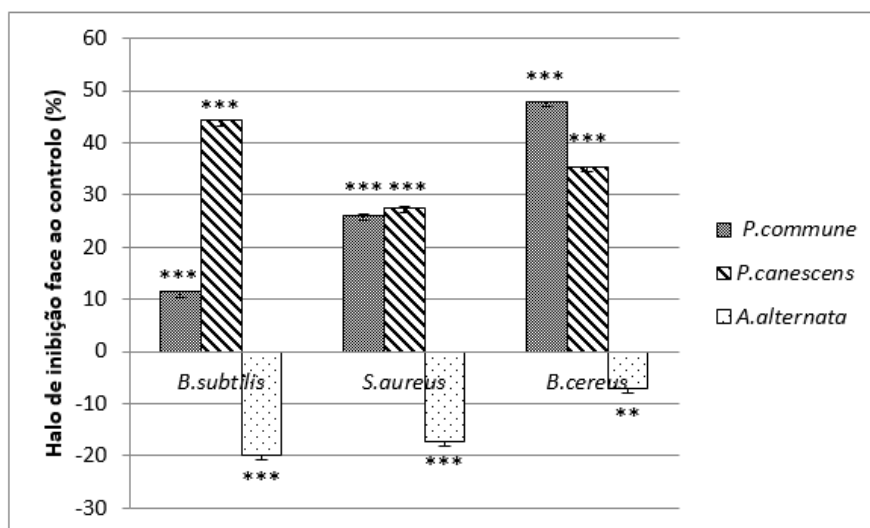


Figura 2 – Diferenças de área de halos de inibição exibida pelos fungos endofíticos contra as bactérias Gram+ *B. subtilis*, *S. aureus* e *B. cereus*. A barra indica a média \pm erro padrão (n=3). Os asteriscos representam valores estatisticamente diferentes da testemunha (cloranfenicol 30 μ g/mL) em *p < 0,05, **p < 0,01 e ***p < 0,001.

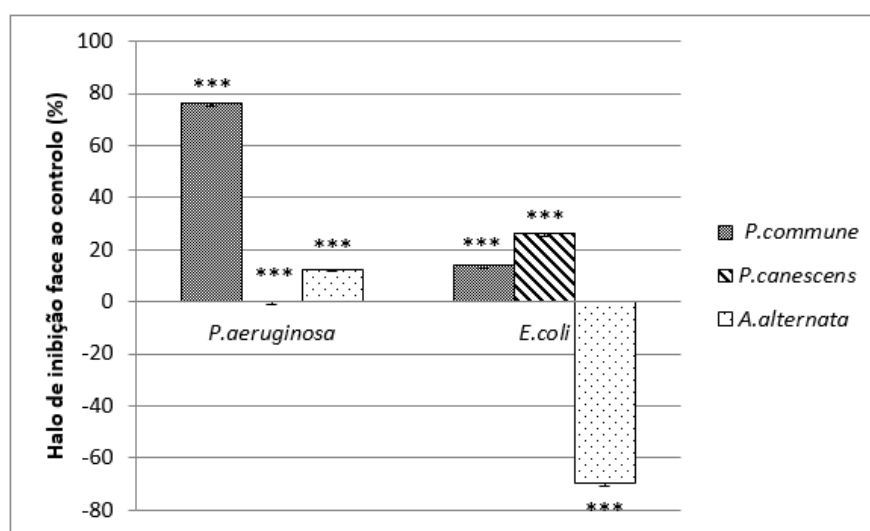


Figura 3 – Diferenças de área de halos de inibição exibida pelos fungos endofíticos contra as bactérias Gram - *P. aeruginosa* e *E. coli*. A barra indica média \pm erro padrão (n=3). Os asteriscos representam valores estatisticamente diferentes da testemunha (cloranfenicol 30 μ g/mL) em *p < 0,05, **p < 0,01 e ***p < 0,001.e.

Efeito da planta hospedeira no potencial antagonista de fungos endofíticos contra *Colletotrichum acutatum* em condições *in vitro*

Fátima Martins, José Alberto Pereira, Albino Bento & Paula Baptista

Centro de Investigação de Montanha (CIMO) / Instituto Politécnico de Bragança, Escola Superior Agrária, *Campus* de Santa Apolónia, Apartado 1172, 5301-854 Bragança, Portugal. pbaptista@ipb.pt

Resumo

Vários estudos realizados na última década têm evidenciado o potencial de fungos endofíticos em promover a resistência das plantas hospedeiras a doenças. No entanto, o efeito que a planta hospedeira exerce no potencial antagonista de fungos endofíticos contra fitopatogénios é pouco conhecido. Num estudo anterior verificamos que o fungo endofítico *Penicillium commune*, isolado de *Olea europaea* cv. Cobrançosa, inibia o crescimento do fitopatogénio *Colletotrichum acutatum*, que constitui o principal agente causal da gafa na oliveira. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito das folhas da oliveira cv. Cobrançosa no antagonismo exibido por *P. commune* contra *C. acutatum* em condições *in vitro*. Estabeleceram-se co-culturas em meio agar com as duas espécies fúngicas na presença e na ausência (controlo) da folha previamente esterilizada e isenta de endófitos. O fitopatogénio foi inoculado em simultâneo, e 10 e 12 dias após o endófito. Durante os doze dias após a inoculação do fitopatogénio, foi avaliada o tipo de interação fúngica bem como o crescimento radial, esporulação e germinação das duas espécies. Adicionalmente foi determinado, durante o ensaio, a percentagem de folhas colonizadas pelo endófito e fitopatogénio. Os resultados obtidos indicaram que a folha da oliveira aumentou a atividade antagonista de *P. commune* contra *C. acutatum*. Na presença de folha, o fungo *P. commune* reduziu o crescimento (0,78 vezes), a esporulação (1,13 vezes) e a germinação (1,18 vezes) de *C. acutatum* face ao controlo (sem folha). Esta redução acentuou-se quando o patogénico foi inoculado 10 e 12 dias após o endófito (>1,20 vezes no crescimento, >1,22 vezes na esporulação e >2,07 vezes na germinação, face ao controlo). A maior combatividade/agressividade de *P. commune* face a *C. acutatum* foi confirmado pela elevada percentagem de folhas colonizadas pelo *P. commune* (100%) e pela diminuição da percentagem de folhas colonizadas pelo *C. acutatum*, de 67% para 0%, dos 8 até aos 12 dias de co-cultura. Os resultados obtidos permitem evidenciar o papel da planta hospedeira no mecanismo antagonista exibido pelo fungo endofítico contra o fitopatogénio, e poderá ser bastante útil no aumento da eficiência da luta biológica desta doença.

Palavras-chave: Gafa, *Penicillium commune*, folha de oliveira, antagonismo, crescimento.

Abstract:

Effect of host plant on antagonistic potential of endophytic fungi against *Colletotrichum acutatum* in vitro conditions. Several studies performed in the last decade showed the potential of endophytic fungi to promote the resistance of host plants to diseases. However, knowledge about the effect of host plant on antagonist potential of endophytic fungi against phytopathogenic is scarce. In a previous study we verified that the endophytic fungi *Penicillium commune*, isolated from the host plant *Olea europaea* cv. Cobrançosa inhibited the growth of phytopathogen *Colletotrichum acutatum*, which is the main causal agent of anthracnose in olive tree. This study aimed assessing the effect of olive leaves from cv. Cobrançosa on the antagonism displayed by *P. commune* against *C. acutatum* under *in vitro* conditions. Dual cultures on agar medium were established with the two strains either in the presence of olive leaf (+leaf) or in its absence (-leaf) previously sterilized and free of endophytes. The phytopathogen was inoculated simultaneously with the endophytic, or 10 and

12 days after the endophyte inoculation. Within the first 12 days after inoculation of phytopathogenic, the fungi interaction type, as well as the radial growth, germination and sporulation of both fungal strains were evaluated. Additionally, the colonization percentage of leaves by the endophyte and the phytopathogen were assessed in the assay. The results indicated that olive leaf increased antagonist activity of *P. commune* against *C. acutatum*. In the presence of olive leaf (+leaf), *P. commune* fungus reduced the growth (0.78 fold), sporulation (1.13 fold) and germination (1.18 fold) of *C. acutatum* compared to the control (-leaf). This reduction was accentuated when the pathogen was inoculated 10 and 12 days after endophyte (> 1.20 fold in growth > 1.22 fold in sporulation and > 2.07 fold in germination, comparatively to control). The highest combativeness/aggressiveness of *P. commune* towards *C. acutatum* was confirmed by the high percentage of leaves colonized by *P. commune* (100%) and decreased the percentage of leaves colonized by *C. acutatum*, from 67% to 0%, from 8 up to 12 days of co-culture. The results obtained highlight the role of the host plant in antagonists mechanism exhibited by endophytic fungus against phytopathogen, and could be very helpful in improving the efficiency of the biological control of this disease.

Keywords: Gafa, *Penicillium commune*, olive leaf, antagonism, growth.

Introdução

A oliveira é uma das árvores frutíferas mais importante dos países da bacia do Mediterrâneo, incluído Portugal. Extensas áreas ocupadas por oliveais na região de Trás-os-Montes apresentam um impacto económico significativo e uma importante dimensão social, ambiental e paisagística. A Gafa da oliveira, causada por *Colletotrichum acutatum*, é uma doença responsável por importantes prejuízos ao nível da quantidade e qualidade da produção (Talhinhas et al., 2011). A luta química tem sido a principal estratégia de controlo adotada (Trapero & Blanco, 1999), através de tratamentos preventivos com produtos cúpricos (Gomes & Cavaco, 2003; Soares et al., 2006). Contudo, verifica-se que os tratamentos químicos não são completamente eficazes na prevenção desta doença, estando ainda associados problemas ambientais e de toxicidade. Neste contexto, torna-se necessário a implementação de medidas que promovam métodos de produção sustentável sendo, neste âmbito, a luta biológica uma alternativa à luta química. Os fungos endofíticos são um grupo diversificado de microrganismos que vivem de forma assintomática na maioria dos tecidos vegetais, conferindo proteção às plantas contra stresses abióticos e bióticos (Arnold et al., 2003). Estas propriedades têm incentivado a realização de trabalhos que visem a bioprospeção destes fungos para a sua posterior exploração como agentes de luta biológica contra doenças de diversas culturas agrícolas (Mejía et al., 2008; Mendoza & Sikora, 2009). Contudo, o sucesso do uso de fungos endofíticos na luta biológica, requer um conhecimento prévio do modo de ação destes microrganismos e do efeito das interações entre fungo endofítico-planta hospedeira-fitopatogénico, entre outros fatores. Alguns estudos têm mostrado que o efeito benéfico exercido pelos fungos endofíticos sobre a planta hospedeira só é observável quando estabelecem associação. Por exemplo, verificou-se em ensaios laboratoriais e de campo que nem a planta *Dichanthelium lanuginosum* nem o fungo endófito *Curvularia protuberata* conseguem sobreviver separadamente em solos com elevada temperatura (38°C), mas em associação conseguem tolerar altas temperaturas (Rodriguez et al., 2004).

Num estudo anterior verificamos que o fungo endofítico *Penicillium commune*, isolado de folhas de *Olea europaea* cv. Cobrançosa, inibia o crescimento, germinação e esporulação do fitopatogénico *C. acutatum*, em condições *in vitro*. Neste sentido, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito das folhas da oliveira cv. Cobrançosa no antagonismo exibido por *P. commune* contra *C. acutatum* em condições *in vitro*.

Material e Métodos

Colheita do material vegetal. Selecionaram-se aleatoriamente 7 árvores da cv. Cobrançosa num olival em Mirandela. Em cada árvore, recolheram-se folhas sãs que foram utilizadas para avaliar o seu efeito no potencial antagonista do fungo endofítico *P. commune* contra o fitopatogénico *C. acutatum*.

Esterilização do material vegetal. As folhas foram lavadas em água destilada, e após o seu corte em segmentos quadrados (1cm x 1 cm), procedeu-se à sua esterilização. O processo de desinfeção consistiu na imersão sequencial dos segmentos em etanol 70% (v/v) durante 2 min; lixívia (3-5% cloro ativo) durante 3 min; etanol 70% (v/v) durante 1 min; e três vezes em água destilada estéril (1 min em cada imersão). Com o intuito de eliminar os fungos endofíticos eventualmente presentes nos segmentos foliares procedeu-se a uma segunda desinfeção utilizando o fungicida Calda Bordalesa. Após remoção do excesso de água os segmentos foram transferidos para erlenmeyers contendo uma solução de Calda Bordalesa (3,0 g/mL) que foram postos a agitar (100 rpm/min) durante uma hora. Os segmentos foram em seguida imersos em água destilada estéril por três vezes (1 min em cada imersão).

Estabelecimento de co-culturas. As folhas previamente esterilizadas foram usadas no estabelecimento de co-culturas entre o endófito *P. commune* e o patogénico *C. acutatum*. No estabelecimento das co-culturas foram usadas Placas de Petri (9 cm de diâmetro) contendo 10 mL de meio agar (15g/L) na superfície do qual foi colocado um inóculo de cada espécie fúngica (10 µL de suspensão de esporo 10^6 esporos/mL), a uma distância de 3 cm entre si. Entre os inóculos foi depositado um segmento de folha previamente esterilizada. O fitopatogénico foi inoculado em simultâneo, e 10 e 12 dias após o endófito. Os inóculos fúngicos foram preparados numa solução aquosa de Tween 80 (0,02% v/v) a partir de culturas em crescimento ativo em meio de cultura batata dextrose agar (BDA). Como controlo foram usadas co-culturas sem segmento foliar. A incubação das culturas foi efetuada no escuro, a uma temperatura de 25 ± 2 °C. Foram preparadas 5 Placas de Petri para cada ensaio.

Parâmetros avaliados nas co-culturas. Durante os doze dias após a inoculação do fitopatogénio, foi avaliada o tipo de interação fúngica bem como o crescimento radial, esporulação e germinação das duas espécies fúngicas. Estes parâmetros foram avaliados seguindo a metodologia descrita por Martins et al. (2012). Para as co-culturas com inoculações em simultâneo, foi ainda determinada a frequência de colonização e de ocorrência do endófito e do fitopatogénio nas folhas. Para tal, ao fim de 8 dias de co-cultura o segmento foliar foi transferido para a superfície de meio de cultura BDA contido em Placas de Petri, que foram postas a incubar no escuro a 25 ± 2 °C. O crescimento fúngico do segmento foliar foi acompanhado diariamente e à medida que as colónias surgiam estas eram identificadas morfológicamente e contabilizadas.

Análise de Dados. Os resultados do crescimento radial, esporulação e germinação são apresentados na forma de médias mais ou menos o desvio padrão para cada ensaio. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), utilizando o programa SPSS v.18 e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A frequência de colonização (FC,%) foi calculada como sendo a razão entre o número de segmentos foliares com crescimento fúngico e o número total de segmentos analisados, e a frequência de ocorrência (FO, %) foi determinada como a razão entre o número de isolados de uma espécie fúngica e o número total de isolados.

Resultados e Discussão

Neste estudo verificou-se que a presença de folha de oliveira influenciou significativamente a atividade antagonista exibida pelo *P. commune* contra *C. acutatum* (Quadro 1). De uma maneira geral, a folha de oliveira aumentou o efeito antagonista exibido pelo *P. commune* que demonstrou ser variável de acordo com o tempo de inoculação do patogénico (simultâneo ou 10 e 12 dias após o endófito).

Em inoculações simultâneas e na presença de folha, o fungo *P. commune* reduziu significativamente a esporulação de *C. acutatum* (1,13 vezes) quando comparado com o controle (ausência de folha) (quadro 1). Neste tratamento, o crescimento e a germinação de *C. acutatum* foram inferiores 0,78 e 1,18 vezes face ao controle, respetivamente, não sendo contudo esta diferença estatisticamente significativa. No que concerne ao fungo endófito, observou-se um aumento significativo do seu crescimento (1,54 vezes), esporulação (1,20 vezes) e germinação (1,13 vezes) face ao controle.

A atividade antagonista observada foi superior quando o fitopatogénio era inoculado 10 e 12 dias após o endófito (quadro 1). A inoculação ao fim de 10 e 12 dias na presença de folha de oliveira resultou num decréscimo significativo do crescimento (1,20 e 1,50 vezes, respetivamente), esporulação (1,22 e 1,70 vezes, respetivamente) e germinação (2,07 e 3,29 vezes, respetivamente) de *C. acutatum* face ao controle (co-culturas sem folha). Por sua vez, o fungo endófito, nos mesmos tratamentos, incrementou significativamente o seu crescimento (1,12 a 1,35 vezes), esporulação (1,32 a 1,36 vezes) e germinação (1,10 a 1,16 vezes) quando comparado com o controle. Os resultados obtidos sugerem que a inoculação prévia de *P. commune* lhe confere uma vantagem competitiva em relação a *C. acutatum* traduzida num aumento da sua atividade antagónica. Trabalhos anteriores demonstraram, à semelhança do presente estudo, que de uma maneira geral, os fungos que ocupam um maior volume de substrato possuem uma maior capacidade combativa em relação aos fungos que ocupam menores volumes de substrato (Zakaria & Boddy, 2002; Wald et al., 2004).

Em todos os tratamentos efetuados, a inibição de *C. acutatum* ocorreu sem o estabelecimento de contato físico entre as colónias interatuantes. Martins e colaboradores (2012) em co-culturas estabelecidas com as mesmas espécies fúngicas inoculadas simultaneamente, observaram similarmente uma redução significativa do número de esporos produzidos por *C. acutatum*, sem a ocorrência de contato físico entre as colónias. Segundo Boddy (2000), este mecanismo é descrito como antibiose e está relacionado com a produção de compostos voláteis e/ou difusíveis, tais como antibióticos ou metabolitos extracelulares, e inclusive enzimas extracelulares por parte do fungo antagonista (Heilmann-Clausen & Boddy, 2005). Deste modo, a atividade antagonista exibida por *P. commune* pode ter resultado da secreção destes compostos cuja produção parece ser potenciada pela folha da oliveira. Adicionalmente, a folha pode influenciar indiretamente este mecanismo antagonista, pela produção de substâncias que podem constituir uma fonte de alimento ao endófito e assim, aumentar a sua capacidade combativa. O fungo *P. commune* usado neste estudo foi isolado de folhas de oliveira e, neste tipo de associação endofítica, é sabido que a planta hospedeira tem um papel importante no fornecimento de nutrientes necessários ao desenvolvimento do fungo endófito (Saikkonen et al., 2004).

A resposta da interação entre *P. commune* e *C. acutatum* foi ainda avaliada pela determinação da percentagem de folhas colonizadas por ambas as espécies fúngicas, em inoculações simultâneas, ao longo de 12 dias de co-cultura. Os resultados obtidos confirmam a maior agressividade/combatividade do endófito face ao *C. acutatum* (fig. 1). Verificou-se que percentagem de folhas colonizadas por *C. acutatum* diminuiu ao longo do ensaio de 67% (dia 8) para 0% (dia 12), enquanto que a percentagem de folhas colonizadas por *P. commune* manteve-se nos 100% a partir dos 8 dias de co-cultura até ao final do ensaio (fig. 1A). Por sua vez, a frequência de ocorrência de *P. commune* aumentou de 60% para 100% e a de *C. acutatum* diminuiu de 40% para 0%, desde os 8 dias até aos 12 dias de co-cultura (fig. 1B). Este resultado reforça o potencial deste fungo endófito para poder vir a ser utilizado no futuro como agente de luta biológica contra o *C. acutatum*. É contudo necessário confirmar estes resultados em ensaios *in planta* e em condições mais próximas das verificadas no campo.

Conclusão

Neste estudo verificou-se que a combatividade/agressividade exibida pelo fungo endofítico *P. commune* contra o fitopatogénio *C. acutatum* foi significativamente incrementada por folhas de oliveira, órgão a partir do qual se isolou o endófito. Os resultados obtidos permitem evidenciar o papel da planta hospedeira no mecanismo antagonista exibido pelo fungo endofítico contra o fitopatogénio. Compreender corretamente a interação planta hospedeira e endófito, bem como os mecanismos subjacentes às interações entre endófitos e patógenos, poderá ser bastante útil para o desenvolvimento de estratégias eficazes na luta biológica desta doença.

Agradecimentos

Trabalho financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT), Projeto PTDC/AGR-AAM/102600/2008 “Fungos entomopatogénicos em pragas da oliveira: isolamento, caracterização e seleção para controlo biológico”.

Referências

- Arnold, A.E., Mejia, L.C., Kylo, D., Rojas, E.I., Maynard, Z., Robbins, N., Herre, E.A. 2003. Fungal endophyte limit pathogen damage in a tropical tree. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:15649-15654.
- Boddy, L. 2000. Interspecific combative interactions between wood-decaying basidiomycetes. *FEMS Microbiology Ecology* 31: 185-194.
- Gomes, H.B. & Cavaco, M. 2003. Protecção Integrada da Oliveira-Lista de produtos fitofarmacêuticos, níveis económicos de ataque. Ministério da Agricultura, Desenvolvimento Rural e Pescas-Direcção Geral de Protecção das Culturas, Oeiras.
- Heilmann-Clausen, J. & Boddy, L. 2005. Inhibition and stimulation effects in communities of wood decay fungi: exudates from colonized wood influence growth by other species. *Microbial Ecology* 49: 399-406.
- Martins, F., Pereira J.A., Bento A., Baptista P. 2012. Atividade antagonista de fungos endofíticos da oliveira contra *Colletotrichum acutatum*: correlação com a planta hospedeira. *Série atas Portuguesas de Horticultura* (ISBN: 978-972-8936-12-9), nº 21: 237-243. VI Simpósio Nacional de Olivicultura, 15-17 Novembro.
- Mejía, L.C., Rojas, E.I., Maynard, Z., Bael, S.V., Elizabeth, A., Hebbar, P., Samuels, G.J., Robbins, N. & Herre, E.A. 2008. Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. *Biological Control* 46: 4-14.
- Mendoza, A.R. & Sikora, R.A. 2009. Biological control of *Radopholus similis* in banana by combined application of the mutualistic endophyte *Fusarium oxysporum* strain 162, the egg pathogen *Paecilomyces lilacinus* strain 251 and the antagonistic bacteria *Bacillus firmus*. *BioControl* 54: 263-272
- Rodriguez, R.J., Redman, R.S., Henson, J.M., in *The Fungal Community: Its Organization and Role in the Ecosystem*, Dighton, J., Jr, White J.F., Oudemans, PEds. (CRC Press, Boca Raton, FL, 2004), pp. 683–695.
- Saikkonen, K., Wäli, P., Helander, M., Faeth, S.H. 2004. Evolution of endophyte-plant symbioses. *Trend in Plant Science*, 9(6): 275-280.
- Soares, M.E., Pereira, J.A., Bastos, L. 2006. Validation of a method to quantify copper and other metals in olive fruit by ETAAS. Application to the residual metal control after olive tree treatments with different copper formulations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54:3923-3928.
- Talhinhas, P., Mota-Capitão, C., Martins, S., Ramos, A.P., Neves-Martins, J., Guerra-Guimarães, L., Várzea, V., Silva, M.C., Sreenivasaprasad, S. & Oliveira, H. 2011.

Epidemiology, histopathology and aetiology of olive anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* in Portugal. Plant Pathology 60: 483-495.

Trapero, A. & Blanco, M.A. 1999. Enfermedades. P.479-532. In: D. Barranco, R. Fernández-Escobar & L. Rallo (eds.), El Cultivo del Olivo. Junta de Andalucía, MundiPrensa.

Wald, P., Crockatt, M., Gray, V., Boddy, L. 2004. Growth and interspecific interactions of the rare oak polypore *Piptoporus quercinus*. Mycological Research, 108: 189-197.

Zakaria, A.J., Boddy, L. 2002. Mycelial foraging by *Resinicium bicolor*: interactive effects of resource quantity, quality and soil composition. FEMS Microbiology Ecology, 40: 135.

Quadros e figuras

Quadro 1- Crescimento radial (mm), esporulação (10^{-6} conídios/ml) e germinação (média \pm desvio padrão; n=3) de *Colletotrichum acutatum* e *Penicillium commune* em co-cultura na presença (tratamento) e na ausência (controle) da folha. O fitopatogénio foi inoculado em simultâneo (End + Fito), 10 dias (Endo + Fito 10d) e 12 dias (Endo + Fito 12d) após o endófito. Para cada ensaio, valores médios com letras diferentes, diferem significativamente ($p < 0,05$) entre tratamento e respetivo controle.

		Endo + Fito		Endo + Fito 10d		Endo + Fito 12d	
		Tratamento	Controlo	Tratamento	Controlo	Tratamento	Controlo
Crescimento	Endo	0,17 \pm 0,02a	0,11 \pm 0,01b	2,3 \pm 0,09a	1,7 \pm 0,1b	1,34 \pm 0,6a	1,2 \pm 0,2a
	Fito	0,18 \pm 0,01a	0,14 \pm 0,01a	0,5 \pm 0,05a	0,6 \pm 0,05b	0,16 \pm 0,05a	0,24 \pm 0,07b
Esporulação	Endo	1,9 \pm 0,05a	1,6 \pm 0,2b	2,5 \pm 0,3a	1,9 \pm 0,3b	3,8 \pm 0,1a	2,8 \pm 0,2b
	Fito	0,8 \pm 0,05a	0,9 \pm 0,05b	0,9 \pm 0,1a	1,1 \pm 0,1b	0,3 \pm 0,0a	0,5 \pm 0,0b
Germinação	Endo	84 \pm 3,1a	74 \pm 1,3b	88 \pm 2,7a	80 \pm 3,2b	96 \pm 1,9a	83 \pm 2,8b
	Fito	25 \pm 2,0a	27 \pm 2,7a	14 \pm 1,6a	29 \pm 4,3b	7 \pm 1,6a	23 \pm 1,7b

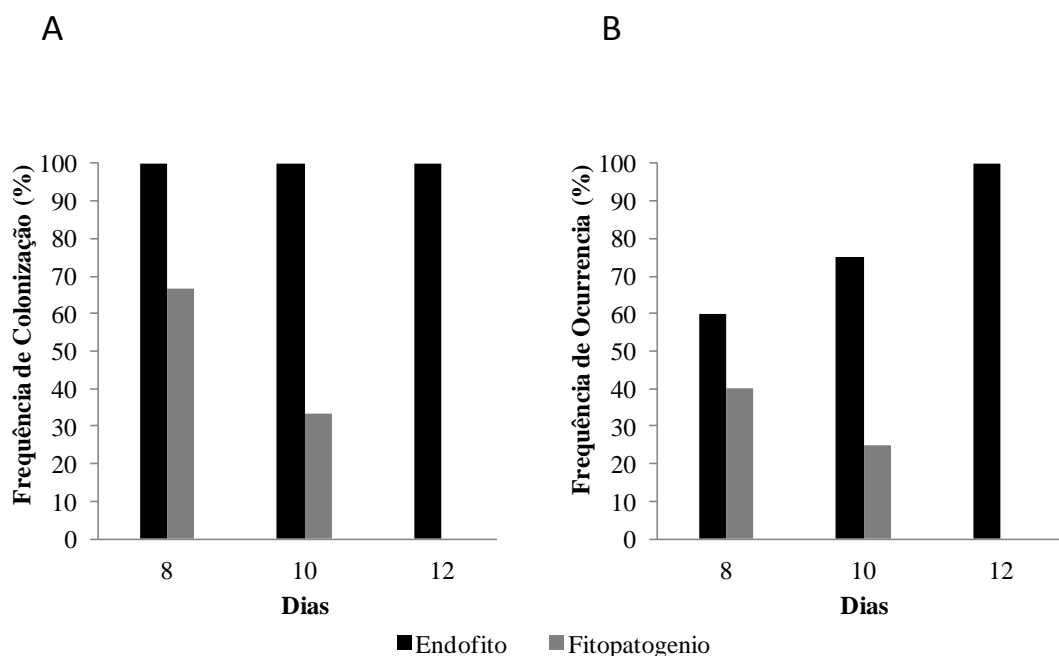


Figura 1- (A) Frequência de colonização e (B) Frequência de ocorrência de *C. acutatum* e *P. commune* nos segmentos foliares de oliveira quando inoculados em simultâneo (End + Fito), ao longo de 12 dias de co-cultura.

Monitorização do declínio do castanheiro com fotografia aérea de pequeno formato

Luis M. Martins¹, João P. Castro², Ricardo Bento³ e Joaquim J. Sousa³

¹ Centre for the Research and Technology of Agro-Environmental and Biological Sciences, CITAB, University of Trás-os-Montes and Alto Douro, UTAD, Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal, lmartins@utad.pt.

² Centro de Investigação de Montanha, Instituto Politécnico, Bragança.

³ INESC-TEC; Pólo UTAD.

Resumo

A doença da tinta (*Phytophthora cinnamomi*) e o cancro (*Cryphonectria parasitica*) são as doenças que causam mais danos ao castanheiro europeu (*Castanea sativa*).

Decorridas duas décadas, após a introdução do cancro do castanheiro em Portugal, a hipovirulência começou a observar-se nalguns locais. A população dessas estirpes caracteriza-se pela baixa diversidade em termos de grupos de compatibilidade. Em Portugal muitas das sub-populações pertencem apenas ao grupo EU-11, que aparece somente nalguns locais em Itália.

O sucesso do tratamento depende da forma como a população do fungo se estende na área que se pretende tratar. Assim, este estudo refere-se à monitorização de inoculações realizadas na região da Padrela (Valpaços).

Para a monitorização da área tratada e avaliar o declínio do castanheiro, realizaram-se voos aerofotogramétricos, que abrangem 231 ha. Para o voo foi usado o Veículo Aéreo Não Tripulado (UAV) *eBee* da *senseFly*. Obtiveram-se fotografias aéreas policromadas e de infravermelho próximo (NIR), que foram comparadas com imagens de 2006. Verificou-se que apesar das novas plantações (11%), a área de coberto pelo castanheiro sofreu uma regressão, pois em 129 ha (56%) a condição dos soutos piorou. Grande parte do declínio deve-se aos agentes bióticos, o que pode ser comprovado com observações de campo.

Palavras-chave: *Cryphonectria parasitica*, *Phytophthora cinnamomi*, declínio do castanheiro, UAV *eBee*.

Abstract

The Chestnut ink disease (*Phytophthora cinnamomi*) and the chestnut blight (*Cryphonectria parasitica*) are diseases that cause more damage to European chestnut (*Castanea sativa*).

After two decades from the first occurrence of chestnut blight in Portugal, the hypovirulence began to be observed in some locations. The population of these strains is characterized by low diversity. Many of the sub-populations belong only to the EU-11 group, which appears only in some orchards in Italy.

Successful treatment depends on the way the population of the fungus extends in the area to be treated. This study refers to the monitoring of inoculations in the Padrela region (Valpaços).

For monitoring and evaluating the treated area and know the chestnut decline, were made aerophotogrammetric flights, covering 231 ha. It was used an Unmanned Aerial Vehicle (UAV) *eBee* (*senseFly*) and were obtained color and near infrared (NIR) aerial photographs. Those photographs were compared to aerial images taken in a national flight in 2006. In the period 2006-2014 occurred investments in new chestnut areas (11%), but the area covered by chestnut decreased. In 129 ha (56%) the chestnut decline increased. The biotic agents were the principal causes of the *C. sativa* decline, who was confirmed by field observations.

Keywords: *Cryphonectria parasitica*, *Phytophthora cinnamomi*, Chestnut decline, UAV eBee.

Introdução

O castanheiro (*Castanea sativa* Mill.) tem assumido crescente importância económica em Portugal, desde meados da década de 1980, facto também notório na área produtora da “Castanha da Padrela”, onde se desenrolou este trabalho. Nesta zona, a castanha Judia é uma das principais fontes de receita das populações locais. Todavia, a intensificação da produção favoreceu o aparecimento de problemas fitossanitários, destacando-se a doença da tinta, causada pelo oomiceta do solo *Phytophthora cinnamomi* Rands, e o cancro (*Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr.) como as principais causas do declínio. Os sintomas causados por estes ou outros agentes bióticos, podem ser monitorizados por deteção remota devido à alteração da assinatura espectral das árvores afectadas.

No caso de *C. parasitica*, trata-se de um organismo de quarentena da lista A2. Os meios de luta têm sido difíceis de implementar dado o seu custo e os resultados imprevisíveis. Já a utilização de estirpes hipovirulentas (*HV*) é um método promissor. O tratamento com *HV*, leva à conversão da forma original virulenta (*V*) do ascomiceta, na forma *HV*, através da fusão do citoplasma das hifas das estirpes em confronto (Grente & Sauret, 1969).

A fotografia aérea convencional ou as imagens de satélite podem ser utilizadas na monitorização, mas a sua aquisição tem custos avultados, sobretudo quando as áreas a avaliar são pouco extensas ou há necessidade de fazer reconhecimentos intervalados por curtos períodos de tempo.

Neste estudo é apresentada uma alternativa para monitorizar a sanidade de castanhais, através da realização de voos aerofotogramétricos com o Veículo Aéreo Não Tripulado (UAV) *eBee* da *senseFly*. Obtiveram-se fotografias aéreas policromadas e de infravermelho próximo (NIR), que foram comparadas com imagens aéreas de 2006. No período 2006-2014, verificou-se que apesar das novas plantações (11%), a área de coberto pelo castanheiro sofreu uma regressão, pois em 129 ha (56%) a condição dos souts piorou. Grande parte do declínio deve-se aos agentes bióticos, o qual foi comprovado com observações de campo.

Material e Métodos

Fotografia aérea de pequeno formato

A área de estudo (231 ha) localiza-se na freguesia de Padrela e Tazém, no concelho de Valpaços. Para obter Fotografia Aérea de Pequeno Formato (FAPF) foi utilizado um Veículo Aéreo Não Tripulado (VANT), também chamado UAV (do inglês *Unmanned Aerial Vehicle*) e mais conhecido como Drone (zangão, em inglês). O modelo usado foi o *EBee* da *SenseFly* (Figura 5).

O voo realizou-se em 18 de Julho de 2014, à altura de 300 m, ao longo de seis linhas de voo, orientadas no sentido Norte - Sul, sendo a resolução das imagens de 16 cm. Após a cobertura procedeu-se à ortorectificação e georreferenciação das imagens, com base em pontos de controlo do terreno (Figura 6).

Ocupação pelo castanheiro

Para a fotointerpretação, desenvolveram-se chaves fotográficas referentes a árvores com diferente condição fisiológica. As observações e fotografias de campo foram comparadas com as imagens

aéreas, indicando-se na

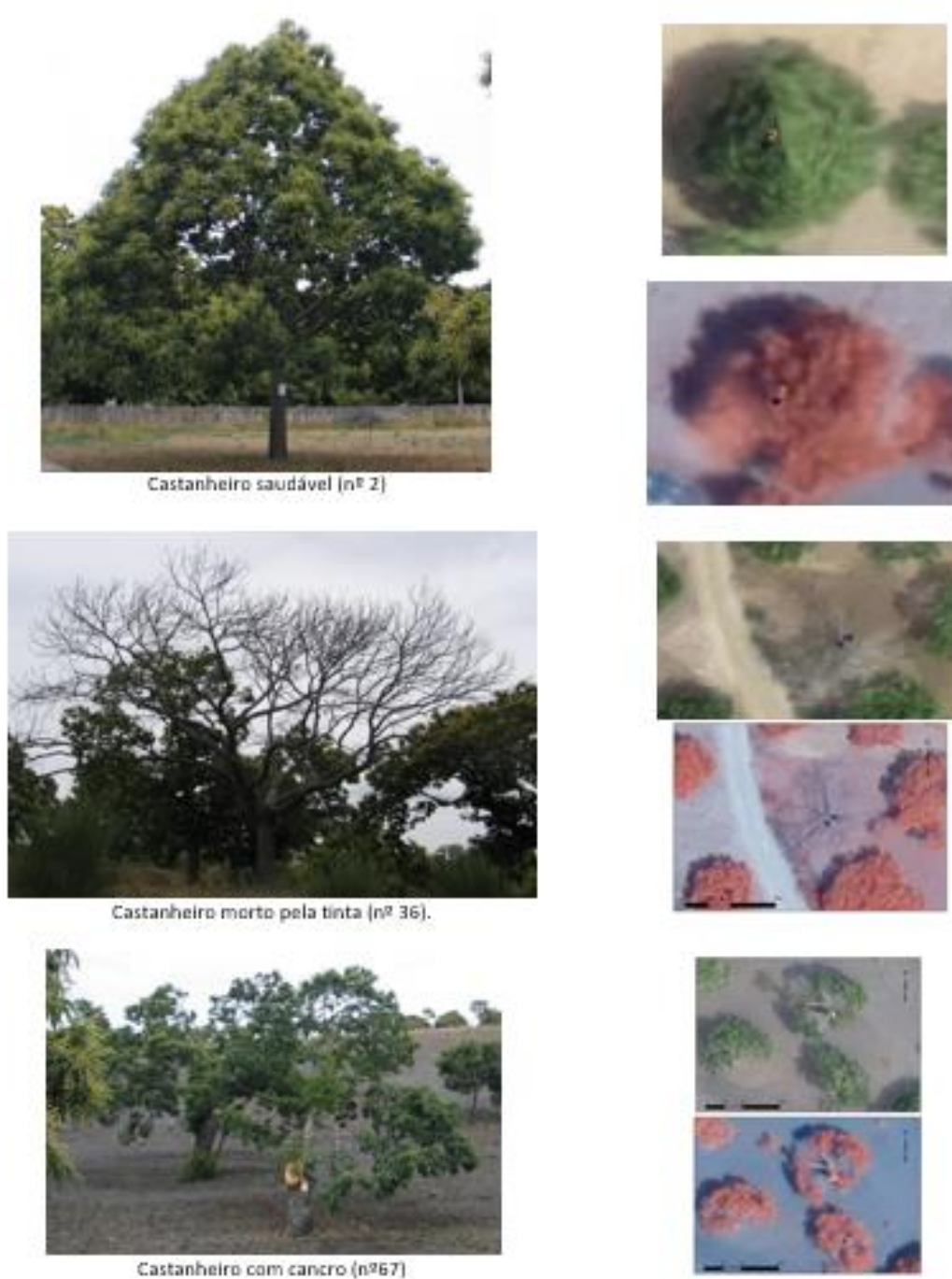


Figura 7 alguns exemplos.

Num Sistema de Informação Geográfica (SIG), com as coordenadas de base em WGS 84, foi colocado o polígono retangular da área de estudo e distribuídas 231 parcelas circulares com um raio de 17,84 m. Estas estão dispostas numa malha sistemática de 100x100 m, correspondendo a uma quadrícula de 1 ha.

Ao SIG adicionaram-se fotografias aéreas ortoretificadas de falsa cor, com a largura do pixel de 1 m, datadas de 2006. Estas fotos foram obtidas aquando da realização do Inventário Florestal Nacional, pela então Autoridade Florestal Nacional. Nas imagens e em cada parcela, fez-se a análise visual relativa ao *Índice de Coberto (IC)* pelo castanheiro. Para isso, foi considerada proporção entre a área coberta pelas copas e a superfície da parcela de 1000 m². O

valor representado varia entre 0 e 100. Nas fotos de 2014, fez-se o mesmo procedimento, relativo ao coberto pelo castanheiro nesse ano.

De acordo com a evolução do coberto, foi estabelecido um índice para a *Qualidade do Povoamento (QP)* que pode variar de 0 a 20. Se $IQ < 10$, significa que a percentagem de coberto pelo castanheiro diminuiu no período em análise (2006 a 2014).

$$QP = (IC14 - IC06 + 100) * 0,1$$

Onde: QP = Qualidade do Povoamento (0 a 20)

$IC14$ = índice de coberto pelo castanheiro em 2014 (0 a 100)

$IC06$ = índice de coberto pelo castanheiro em 2006 (0 a 100)

Vitalidade dos souts

Para conhecer a evolução da vitalidade, usaram-se métodos para estimar parâmetros com base em atributos observados em pontos vizinhos. Segundo Soares (2000), os fenómenos espaciais estruturados, como os povoamentos florestais, têm uma distribuição que não é aleatória. Assim, podem aplicar-se métodos que permitam prever e quantificar a distribuição espacial (Rodrigues, 2002), neste caso da incidência de doenças.

Nos métodos geoestatísticos assume-se a existência de correlação espacial entre variáveis aleatórias georeferenciadas, correlação que depende da distância entre pontos e que tende a diminuir à medida que essa distância aumenta (Muge, 1990). Esses métodos podem utilizar observações pontuais relativas a uma única variável regionalizada de interesse, $Z(\mathbf{x}_i)$, referida a um conjunto de pontos $\{\mathbf{x}_i\}$ da área de estudo (métodos univariados) ou utilizar também variáveis regionalizadas auxiliares, cujos valores poderão contribuir para melhorar as estimativas da variável de interesse principal, desde que esta esteja correlacionada. Na interpolação é analisado o comportamento variáveis regionalizadas, $Z(\mathbf{x}_i)$, cuja continuidade espacial pode ser modelada por um *semivariograma* representado em baixo,

$$\gamma(\mathbf{h}) = \frac{1}{2} \cdot E[Z(\mathbf{x}_i + \mathbf{h}) - Z(\mathbf{x}_i)]^2$$

onde: x_i e $x_i + h$ representam vetores de posição de pares de pontos na área de estudo.

Resultados e Discussão

Índice de coberto e declínio do castanheiro

Pela análise dos resultados, constata-se que a FAPF policromada e de falsa cor podem ser usadas com fiabilidade e a baixo custo, na monitorização da sanidade de *C. sativa*. Observamos algum arrastamento nas segundas que deverá ser corrigido em futuras missões. A sua utilização conjunta com observações de campo possibilitou reconhecer o agravamento do declínio do castanheiro da Padrela de 2006 até 2014.

De acordo com a análise dos dados (quadro 1) verifica-se que Índice de Coberto (IC) não sofreu diferenças significativas no período de 2006 a 2014 ($26,5 \pm 3,5$ e $26,0 \pm 2,8$). A evolução de IC mostra que o valor da Qualidade dos Povoamentos (QP), numa escala de 0 a 20 é baixo ($10,0 \pm 1,9$). O Erro de Amostragem ($SE\%$) de QP é reduzido, revelando que a variação de IC é baixa, tendo assim a mesma tendência em toda a área de estudo.

Contrariamente ao que seria desejável, a maioria dos souts (129 ha; 56 %) teve um crescimento reduzido, i.e., inferior a 5%, ou mesmo negativo. Nalgumas parcelas as perdas chegam a 65%. O declínio deveu-se à mortalidade ou à perda da dimensão das copas devido agentes bióticos ou abióticos, pois é pouco evidente o corte voluntário pelo agricultor, para conversão por outras culturas.

As novas plantações correspondem a 11% (26 ha), mas a área de produção em termos globais sofreu uma regressão, passando de 35% (2006) para 30% (2014). Em 129 ha (56%) a condição dos soutos piorou. Houve ainda povoamentos que melhoraram (21%), devendo-se ao crescimento de árvores saudáveis e ao aumento do *IC* pelas novas plantações. Assim, muita da mortalidade observada é dispersa por todos os povoamentos, sendo também compensada por novas plantações nos mesmos soutos.

Vitalidade dos soutos

Através da krigagem ordinária foi possível mapear as áreas de maior e de menor declínio (Figura 8). Neste caso, verificamos que a zona de Vale de Coelho teve um comportamento mais favorável, podendo isso estar associado à exposição predominantemente a Norte. As manchas relativas aos soutos em pior condição tem uma maior distribuição, o que está em concordância com a análise de dados desenvolvida de acordo com o *IC*.

Conclusões

No inventário ou monitorização do declínio da floresta há vantagens quando se utiliza a deteção remota. As FAPF são muito versáteis na observação de sintomas por poderem usar várias regiões do espectro eletromagnético, que associado à adequada resolução, possibilitam separar as copas com diferentes níveis de ataque. Na monitorização da sanidade do castanheiro com FAPF, há trabalhos desenvolvidos em Portugal (Abreu et al., 1993; Castro et al., 2010; Martins et al., 2007), Suíça (Bissegger & Heiniger, 1994) e Itália (Ambrosini et al., 1997). Os inventários merecem pois ter continuidade, para que identificação das causas do declínio e a avaliação do efeito das intervenções para melhoria dos soutos possa ser mais objetiva (Silva, 2001; Martins et al., 2001a; 2001b).

Neste estudo demonstrou-se a viabilidade de utilizar a aeronave *eBee SensFly* na monitorização da sanidade de áreas com *C. sativa*. Tem custos operacionais muito baixos, sendo até a qualidade e resolução das imagens superior à de voos nacionais. Para áreas superiores a 1000 ha, pode ser preferível utilização de metodologias de amostragem com coberturas aéreas parcelares ou então o recurso a aeronaves tripuladas.

O estudo demonstrou que a utilização de séries fotográficas permite a análise objetiva do declínio dos soutos. O índice utilizado (percentagem de coberto de copas) reflete, de forma adequada, a evolução das árvores pois é independente da condição da luz e da condição momentânea do castanheiro que pode, por exemplo, recuperar de uma sintomatologia de clorose. Os valores de *IC* e o trabalho de campo permitiram também verificar que o declínio tem múltiplas causas, sendo o cancro uma delas. Assim, a zonagem recorrendo à deteção remota permite inferir sobre um quadro global de declínio, mas problemas fitossanitários específicos necessitam sempre dos devidos registos de campo.

A evolução do *IC* permitiu concluir que apesar de existirem novas plantações estas não compensam o declínio. Neste caso, os povoamentos em regressão devido a fatores bióticos e abióticos atingem 56% (129ha). As perdas que nalguns soutos chegam a 65% e refletem-se em perdas económicas.

Em última análise, apesar da instalação de novos soutos (11% na área de estudo) e de novas plantações, em povoamentos instalados a área de produção em termos globais até sofreu uma regressão, passando de 35% (2006), para 30% (2014). Considerando que estes dados terão replicações noutros locais, deverá existir uma cuidada reflexão, pois apesar dos esforços e investimentos nesta cultura, esta está a sofrer uma regressão continuada, cujas causas merecem ser melhor compreendidas, para que as futuras intervenções sejam mais assertivas e eficazes.

Referências

- Abreu, C. G., Marques, C. P., Varejão, E. e Cardoso, A. O. 1993. Aplicação da fotografia policromada de infravermelho na detecção da doença da tinta do castanheiro. *Cienc. Biol. Ecol. Syst.* 13 (1/2): 20.
- Silva, M. I. L. 2001. Monitorização da doença da tinta do castanheiro com fotografias aéreas de pequeno formato, Rel. Final de Estágio de Eng. Florestal, UTAD, Vila Real, 103 pp.
- Martins, L. M., M. I. Silva and C. G. Abreu. 2001a. Monitoring of chestnut ink disease by small format aerial photography. EC Chestnut Cost Meeting, May 23-27, Ascona, Suíça.
- Martins, L. M., M. I. Lufinha, C. P. Marques and C. G. Abreu. 2001b. Small format aerial photography to assess chestnut ink disease. *For. Snow Landsc. Res.* 76 (3): 357-360.
- Ambrosini, I., L. Gherardi, M. Viti, G. Maresi and T. Turchetti. 1997. Monitoring diseases of chestnut stands by small format aerial photography. *Geocarto Internacional* 12 (3): 41-46.
- Bissegger, M. and U. Heiniger. 1991. Chestnut blight (*Cryphonectria parasitica*) north of the Swiss alps. *Eur. J. For. Path.* 21: 250-252.
- Castro, J., Azevedo, J.C. and Martins, L. 2010. Temporal analysis of sweet chestnut decline in northeastern Portugal using geostatistical tools. *Acta Horticulturae* 866: 405-410.
- Muge, A. J. S. 1990. Elementos de geoestatística. IST (pub. Interna), Lisboa, 63 pp.
- Grente, J. et S. Sauret. 1969. L'hypovirulence exclusive, phénomène original en pathologie végétale. *C. R. Hebd. Seances Acad. Sci., Ser D. Sci Nat* 268: 2347-2350.
- Martins, L.M., J. P. Castro, F. W. Macedo, C. P. Marques and C. G. Abreu. 2007. Assessment of the spread of Chestnut Ink Disease using remote sensing and geostatistical methods. *European Journal of Plant Pathology* 119 (2): 159-164.
- Rodrigues, J. M. G. 2002. Caracterização de um índice de vitalidade da floresta portuguesa. DGF, Lisboa, 15 pp. (publicação interna).
- Soares, A. 2000. Geoestatística para as ciências da terra e do ambiente. IST, Lisboa, 175 pp.
- Sensefly. 2014 <http://spatialtechnologies.ca/sensefly-ebee.html>

Quadros e figuras



Figura 5 - VANT *eBee* (Sensefly, 2014) e preparação do equipamento para o voo.

Quadros e figuras

Quadro 7- Evolução do índice de coberto e da área com castanheiro de 2006 a 2014.

	2006	2014	2006 a 2014		SE (%)
			(ha)	(%)	
(IC) Índice de Coberto (1 a 100)	26,5±3,5	26,0±2,8			13,3%; 10,7%
(AC) Área de Coberto (0.01*IC.T; ha)	61,2±8,1	60,1±6,4			13,3%; 10,7%
(AC%) Área de Coberto (AC/AT; %)	35%	30%			
(QP) Qualidade dos Povoamentos (0 a 20)		10,0±1,9			1,9%
Índice de coberto de novas plantações (IC)		12,5±3,1			25,1%
Povoamentos que pioraram (ha)			129	56%	
Povoamentos que melhoraram (ha)			48	21%	
Outras culturas (ha)			28	12%	
Novas plantações (ha)			26	11%	
(AT) Área TOTAL de castanheiro (ha)	177 (77%)	203 (88%)			
	TOTAL (T)		231	100%	

Outras culturas: áreas ardidas, campo de futebol, urbano, pastagens, arbustivas.

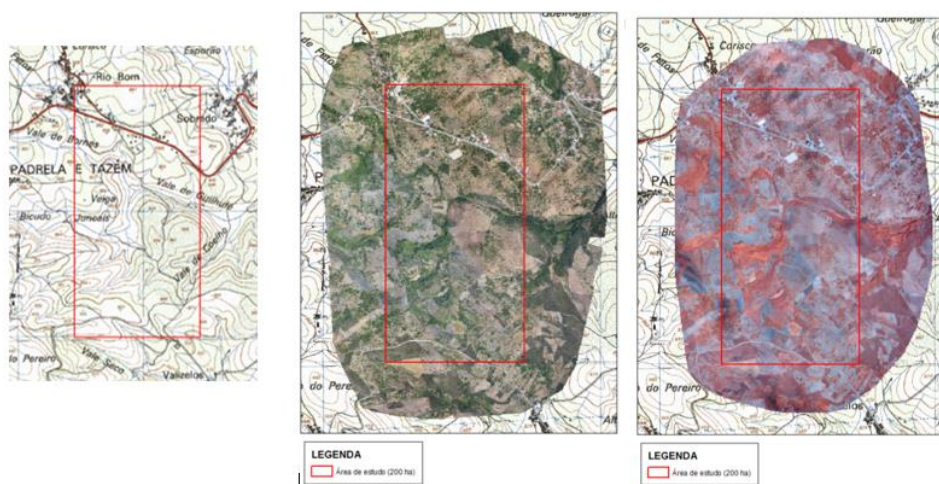


Figura 6- Área de estudo e fotografia aérea de cor normal e de infravermelho próximo.

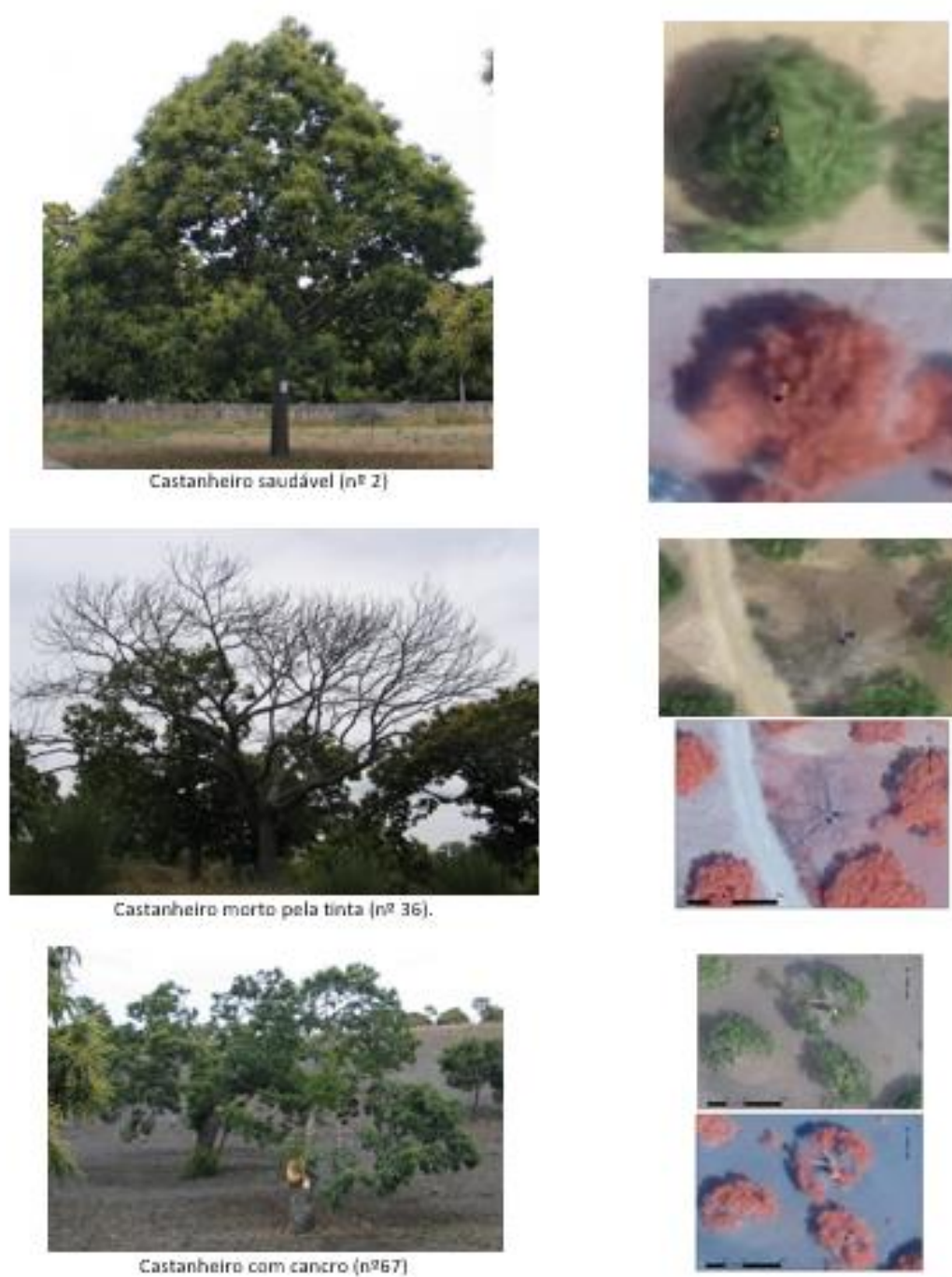


Figura 7 - Castanheiros com diferentes condições fitossanitárias.

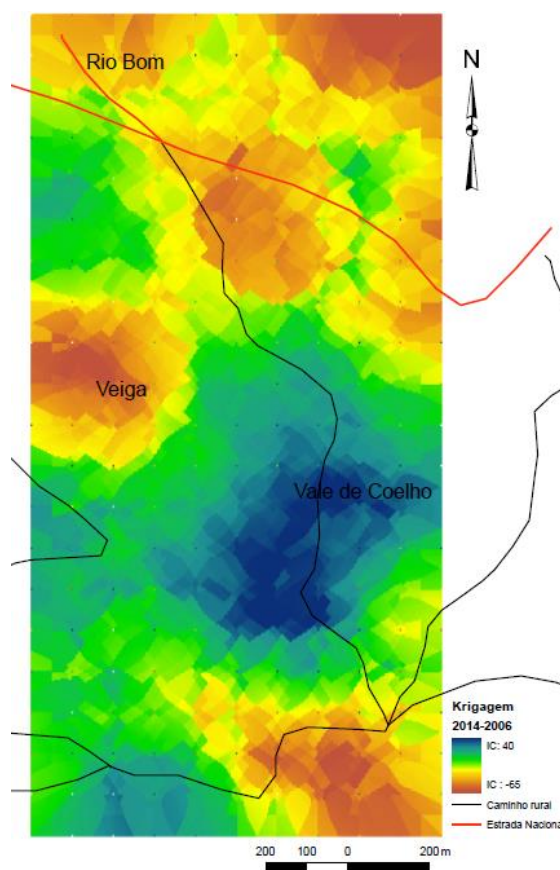


Figura 8 - Interpolação geoestatística (krigagem ordinária). As zonas a castanho representam as áreas de maior declínio e a azul onde se registou melhorias nos soutos.

O problema da sésia (*Synanthedon* sp.) (Lepidoptera: Sesiidae) em pomares de macieira na região Oeste

Anabela Maurício¹, Ricardo Eira², Elisabete Figueiredo³ & José Pereira Coutinho⁴

¹ Frubaça CRL, Cooperativa de Produtores de Fruta e Produtos Hortícolas, Acipreste, Apt.12, 2460-997 Alcobaça, abcnm@sapo.pt

² BIOSANI - Agricultura Biológica e Protecção Integrada, Lda., Rua Serra do Louro, 2950-131 Palmela, ricardo@biosani.com

³ CEER. Instituto Superior de Agronomia /Univ. Lisboa. Tapada da Ajuda. 1349-017 Lisboa, elisalacerda@isa.utl.pt

⁴ Instituto Politécnico de Castelo Branco/Escola Superior Agrária. Qta. da Sra. de Mércules, 6001-909 Castelo Branco jpcoutinho@ipcb.pt

Resumo

A sésia é um lepidóptero conhecido em pomares de macieira. Nos últimos anos, começaram a verificar-se ataques severos em pomares novos na região Oeste. Assim, tornou-se imperioso conhecer o problema, pelo que no âmbito de uma operação ProDeR medida 4.1 – cooperação para a inovação se implementou uma linha de trabalho com o objectivo de avaliar a importância do problema e perspectivar meios de protecção. Em galerias sob o ritidoma das macieiras, nos cones radicícolas, no porta-enxerto ou no tronco, foi detectada *Synanthedon myopaeformis*; em armadilhas delta iscadas com feromona sexual foram capturados também indivíduos de *Pyropteran chrysidiformis* e, provavelmente, outro sesídeo. Em dois pomares, foram instalados 300-350 difusores para confusão sexual, de duas formulações diferentes, Isomate-Plus e Izonete-Z, a última contendo também feromona de broca, *Zeuzera pyrina*, havendo um terceiro pomar testemunha, sem confusão sexual. Os resultados deste ensaio, iniciado em 2012, têm sido satisfatórios no que se refere à diminuição de árvores atacadas e número de larvas por galeria. Não houve captura de adultos de sésia nas armadilhas de monitorização iscadas com feromona sexual de *S. myopaeformis* nos pomares em confusão sexual apesar de se ter usado feromona não específica nos difusores.

Palavras-chave: *Synanthedon*, *Pyropteran*, confusão sexual, Isomate-Plus, Izonete-Z

Abstract

The red-belted clearwing moth (*Synanthedon myopaeformis*) is a known lepidopteran in apple orchards. In recent years, severe attacks have been seen in new orchards in the Oeste region, Portugal (north of Lisbon). Thus, it is imperative to understand the problem. For this, study tasks were implemented in order to assess the importance of the red-belted clearwing moth and to evaluate possible protection measures within the Portuguese rural development program ProDeR, measure 4.1 - cooperation for innovation. In galleries under the bark of apple trees, in rootstock or trunk, mainly in burr knots, it was detected *S. myopaeformis*; in delta traps with sex pheromone for this species, individuals of *Pyropteran chrysidiformis* were also captured and probably of other sesiidae species. An experiment has been conducted in three orchards: in two orchards 300-350 dispensers of sex pheromone were installed for mating disruption with two different formulations, one in each orchard, Isomate-Plus and Izonete-Z, the latter also containing *Zeuzera pyrina* sex pheromone; a third orchard without mating disruption was used as a control. This mating disruption experiment, started in 2012, and the results obtained have been satisfactory regarding the reduction of attacked trees and the number of larvae per tree. There was no captures of sesiidae moths in baited monitoring traps with sex

pheromone of *S. myopaeformis* in the experimental orchards despite dispensers contain general sex pheromone compounds of sesiidae.

Keywords: *Synanthedon*, *Pyropteron*, mating disruption, Isomate-Plus, Izonete-Z

Introdução

A sésia (*Synanthedon* spp.) é um lepidóptero (Lepidoptera: Sesiidae) conhecido em pomares de macieira desde longa data. Nos anos 80 e 90 do século passado era conhecida como uma praga de pomares velhos e abandonados, não representando ameaça em pomares novos e em pomares velhos em plena produção. Nos últimos anos, contudo, começaram a verificar-se ataques severos em pomares novos na região Oeste, com uma tipologia bem diferente da anteriormente conhecida. Deste modo tornou-se imperioso conhecer o problema, perceber as mudanças no sistema cultural a ele associadas e, deste modo, encontrar soluções eficazes e eficientes. COTHN, Frutoeste, Campotec, Cooperativa Agrícola do Bombarral, Associação de Agricultores da Região de Alcobça, Ecofrutas, Instituto Superior de Agronomia/UL e Escola Superior Agrária de Castelo Branco/IPCB iniciaram em 2013 um estudo do problema da sésia na região Oeste, integrado na operação FITOPOMO financiado pelo PRODER – medida 4.1, tendo como objectivos, em primeiro lugar, a identificação das espécies de sésia presentes no ambiente dos pomares de macieira afetados, o conhecimento da extensão do problema, a identificação das causas do recrudesimento da espécie e a procura de soluções.

Neste trabalho dá-se conhecimento do problema da sésia na região Oeste e dos avanços do conhecimento sobre esta praga já obtidos pelos trabalhos desenvolvidos no âmbito da operação FITOPOMO.

Apresentam-se neste trabalho os primeiros resultados de incidência da praga em pomares onde foi implementada a técnica de confusão sexual nos últimos três anos.

Material e métodos

Em 2011, em Outubro e Novembro, foi efectuada uma avaliação do ataque de sésia em 110 ha de pomares dos concelhos de Alcobça e Nazaré por observação de 50 árvores.

Em 2012, decidiu-se efectuar uma primeira avaliação de comportamento de confusão sexual para esta praga. Assim, instalaram-se difusores de feromona sexual de *Synanthedon exitiosa* (Say) (espécie neártica) ISOMATE-Plus, na parcela Ferro, IZONET Z com feromona de broca da macieira (*Zeuzera pyrina* (L.)) e de *S. tipuliformis* (Clerck) na parcela Termas Novas e o pomar da parcela França foi usado como testemunha. Em todas estas parcelas tinham sido observados ataques em 2011. Na escolha das parcelas teve-se em consideração não só a existência de elevada incidência de ataque de sésia em 2011, mas também a sua dimensão e forma de modo a permitir eficácia deste meio de protecção biotécnico. As cultivares e o porta-enxerto instalados nos três pomares são do tipo Gala e M9, respectivamente. Os dois primeiros foram instalados em 2010 e 2011; a parcela França tinha, na altura, mais de 15 anos de idade. Os difusores foram instalados em 2012, 2013 e 2014. A densidade e as datas de colocação são indicadas no quadro 1. Paralelamente à colocação de difusores foram colocadas armadilhas delta iscadas com feromona sexual de *Synanthedon myopaeformis* (Borkhausen), da marca Biosani, para avaliação de eficácia da confusão sexual e colocaram-se cintas-armadilha (fig. 1). No final do ciclo vegetativo, em cada um dos anos, procedeu-se, numa amostra de, pelo menos, 50 árvores, à contagem do número de cones radicíferos, cones atacados, cancro e número de larvas e pupas nos cones atacados e cancros.

Em 2013, os cones radicíferos e as zonas com cancro foram raspadas e pinceladas com uma calda isolante e cobre (fig. 2), antes do início do ciclo vegetativo. Dada a baixa incidência do ataque da praga observada no final de 2013, este procedimento não foi repetido no ano seguinte.

Também em 2013, larvas colectadas em cones radicíferos foram mantidas em laboratório para pupação e emergência dos adultos com vista à identificação específica.

Em 2014, no final do ciclo vegetativo procedeu-se a avaliação do ataque, numa amostra de 30 árvores, numa parcela contígua à parcela Ferro mas não sujeita a confusão sexual, a Quinta do Pinheiro. Esta parcela foi plantada em 2012, com Granny Smith, em M9.

Resultados e discussão

Detectaram-se ataques de sésia em 12 dos pomares observados em 2011, representando cerca de 20% da área amostrada (quadro 2). O ataque encontrava-se sobretudo nos cones radicíferos no porta-enxerto (figs. 3a a 3c) ena cultivar??, mas também foi observado no eixo deste (fig. 3d). Nos pomares jovens o ataque só foi observado no porta-enxerto. A incidência (nº de árvores atacadas) foi mais elevada em pomares jovens (à excepção da parcela França) e não pareceu causar prejuízos em pomares mais velhos. No início da queda da folha as árvores com mais larvas apresentavam folhas com um avermelhado mais acentuado. Em muitos dos cones radicíferos do porta-enxerto foram detectadas larvas. Nas parcelas Termas Velhas, Carrasqueira, Ervedosa e França detectaram-se larvas em cancos no tronco.

Em 2012, verificou-se que a instalação das armadilhas de monitorização foi efectuada demasiado tarde, pois foram observadas capturas imediatamente após a sua colocação na parcela testemunha. Assim, os difusores para confusão sexual foram também colocados tardiamente.

No que se refere à evolução do ataque, à data de observação no final do ciclo vegetativo de 2012 (5 de Novembro) para avaliação do número de árvores atacadas constatou-se que, comparativamente ao ano 2011, o número de larvas por foco (conjunto de galerias por local atacado na árvore) e presente em cada árvore foi menor (apenas uma a quatro larvas) e houve cones que apresentavam serradura, mas onde já não se observavam larvas (quadro 3). Observaram-se larvas de diferentes instares; as maiores estavam inseridas mais profundamente nos troncos ou porta-enxertos. À semelhança do ano anterior, nos pomares mais novos todos os focos estavam localizados em cones do porta-enxerto. Em 2013, no final do ciclo vegetativo o número de larvas por foco foi menor (menos do que duas larvas) do que em 2012 e houve cones em que não se detectaram larvas. Na parcela Ferro (em que se instalou ISOMATE-Plus) não se observaram focos de novas galerias. Nas parcelas Termas Novas e França detectaram-se novos focos, mas em número inferior a 2011. No final do ciclo em 2014, verificou-se que o número de larvas por foco se manteve (apenas 1 a 2 larvas). Contudo, o número de árvores atacadas aumentou face a 2013. Nas parcelas Ferro e Termas Novas, as larvas eram pequenas e as galerias ainda pouco extensas e pouco profundas, assim como pequena a quantidade de excrementos. Na parcela França (testemunha) as larvas estavam em vários instares de desenvolvimento. Foram, também, encontradas larvas jovens em cancos (fig. 3d), em qualquer das três parcelas.

Na pequena amostra de larvas recolhidas, em 2013, em galerias sob o ritidoma e mantidas em laboratório, conseguiu-se obter a emergência de um adulto que aparenta ser da espécie *S. myopaeformis*. Nas armadilhas delta foram capturados, além desta espécie, também indivíduos de *Pyropteron chrysidiformis* (Esper), conhecida por atacar espécies herbáceas, e, provavelmente, outra espécie de sesídeo. Estas identificações estão em processo de confirmação. Estas espécies partilham um componente da feromona sexual (El-Sayed, 2014).

No que se refere ao acompanhamento das curvas de voo, só se verificaram capturas no pomar testemunha (parcela França), o que indica um bom funcionamento da confusão sexual nas parcelas onde foram instalados os difusores (parcelas Ferro e Termas Novas), apesar de a feromona usada não ser específica para *S. myopaeformis*. Como se mencionou atrás estas espécies partilham componentes na sua feromona sexual (Z3Z1318Ac e E3Z1318Ac) (El-Sayed, 2014). As capturas de indivíduos distintamente da espécie *S. myopaeformis*, no pomar testemunha, tiveram início, em 2013, em meados de Maio e, em 2014, no início do mesmo mês

(fig. 4). Em 2014, o nível de capturas foi nulo de 4 de Junho a 9 de Julho (fig.4); foi efectuado um tratamento contra afídeos com clorpirifos em 6 de Junho. Analisando as capturas médias diárias nos três anos de observação (Fig. 4) observam-se dois a três picos por ciclo fenológico com cerca de um mês de intervalo, embora alguns destes picos apresentem valores de capturas médias bastante baixas. Para analisar estas curvas era importante perceber outros factores que possam influenciar o voo desta espécie.

De salientar que todos os pomares jovens onde se verificou o ataque têm como porta enxerto M9, de características ananicas, com tendência para formar cones radicíferos que facilitam a penetração das jovens larvas nos tecidos. Ateyyat (2006) verificou que o porta-enxerto influencia não só o número de cones radicíferos, mas também, a proporção destes que são atacados por sésia, sendo que pomares enxertados em M9 e M26 apresentaram maior ataque que os enxertados em M106. Leskey & Bergh (2005) verificaram que o início dos ataques e a sua persistência, assim como a dimensão das populações de sésia (*S. scitula* (Harris)) em pomares jovens estão dependentes da quantidade de cones radicíferos e que os pomares são susceptíveis mesmo no primeiro ano de plantação. Segundo estes autores, os porta-enxertos ananicas promovem o desenvolvimento destes cones, assim como a tutoragem e a amontoa reduz a tendência do seu aparecimento.

Nos pomares idosos em que neste trabalho se observou ataque este sucedeu, frequentemente, nos cancos sendo que alguns destes pomares apresentavam elevado número de cancos, como na parcela França. As fêmeas de sésia são atraídas por feridas no ritidoma, corte da poda ou de abrasão (Leskey & Bergh, 2006), pelo que os cancos são um factor de risco.

Conclusões

Verificámos, como consequência da aplicação da técnica de confusão sexual, a diminuição do número de novas galerias e do número de árvores atacadas, sobretudo em 2013, apesar do ataque ainda permanecer em níveis elevados, sugerindo que a resolução do problema terá de passar por uma abordagem integrada, utilizando diferentes meios de protecção e, sobretudo, por uma abordagem preventiva, tendo em conta a gravidade e consequências que um ataque inicial poderá ter a longo prazo na produtividade e na vida útil do pomar.

Referências bibliográficas

- Ateyyat, M.A. 2006. Effect of three apple rootstocks on the population of the small red-belted clearwing borer, *Synanthedon myopaeformis*. *Journal of insect science* 6(40), 5pp. <http://www.insectscience.org/6.40>
- El-Sayed, A.M. 2014. The Pherobase: database of pheromones and semiochemicals. <http://www.pherobase.com>
- Leskey, T.C. & Bergh, J.C. 2005. Factors promoting infestation of newly planted, nonbearing apple orchards by dogwood borer (Lepidoptera: Sesiidae). *Journal of economic entomology* 98: 2121-2132.

Quadros e figuras

Quadro 1 – Avaliação preliminar de confusão sexual para protecção contra sésia na região de Alcobaça – densidade de cada difusor e datas de colocação destes e de diferentes armadilhas.

Parcela	Ano	Instalação das armadilhas de monitorização	Instalação dos difusores da confusão sexual	Tipo de difusores	Nº de difusores	Instalação de cintas armadilha (data e nº)
Ferro	2012	28/05/2012	28/05/2012	ISOMATE Plus	350 difusores/ha (pomar com 2500 plantas, os difusores foram colocados em ziguezague de 7 em 7 árvores)	8 Jun. (5)
	2013	08/04/2013	30/04/2013			11 e 29 Jun. e 30 Jul. (total: 45)
	2014	28/04/2014	05/05/2014			25 Jun. e 25 Jul. (total: 20)
Termas Novas	2012	28/05/2012	28/05/2012	IZONET Z	300 difusores/ha (pomar com 2500 plantas, os difusores foram colocados em ziguezague de 8 em 8 árvores)	8 Jun. (5)
	2013	08/04/2013	30/04/2013			11 e 29 Jun. e 30 Jul. (total: 45)
	2014	28/04/2014	05/05/2014			25 Jun. e 25 Jul. (total: 20)
França (testemunha)	2012	28/05/2012	28/05/2012			8 Jun. (5)
	2013	08/04/2013	30/04/2013			11 e 29 Jun. e 30 Jul. (total: 45)
	2014	28/04/2014	05/05/2014			25 Jun. e 25 Jul. (total: 20)

Quadro 2 - Pomares de pomóideas na região de Alcobaça com ataque por sésia – observações efectuadas em 2011.

Parcela	Localização ¹	Idade do pomar (anos) ²	Variedade e PE ³	Órgãos atacados ⁴	Árvores atacadas (%) e tipo ataque
Ferro	Maiorga			2	Gala /M9
Termas Novas	Maiorga	1	Gala /M9	PE (CR)	20,0%; 1-2 focos ⁵
França	Valado dos Frades	> 15	Gala /M9	PE (CR) Tronco (CR)	> 50%; (a) ⁶
Termas Velhas	Valado dos Frades	> 15	Gala /M9	PE Tronco (CR)	(a) ⁶
Carrasqueiro	Acipreste	> 25	Gala /M7	Tronco (CR)	(a) ⁶
Ervedosa	Acipreste	> 25	Gala /M7	Tronco (CR)	(a) ⁶
Lancha	Bárrio	3	Golden /M9	PE (CR)	69,8%; vários focos ⁵
Lezíria	Bárrio	3	Golden /M9	PE (CR)	28,5%; 1-2 focos ⁵
Serrão Grande	Bárrio	3	Fuji /M9	PE (CR)	9,0%; 1-2 focos ⁵
Serrão Quadrado	Bárrio	3	Fuji /M9	PE (CR)	7,8%; 1-2 focos ⁵
Várzea	Bárrio	3	Fuji /M9	PE (CR)	13,0%; 1-2 focos ⁵
Campo	Bárrio	> 25	Rocha/Ba 29	Tronco (eixo)	6,0%; (a) ⁶

¹ Acipreste pertence à freguesia de Évora de Alcobaça; todas as freguesias pertencem ao concelho de Alcobaça excepto Valado dos Frades que pertence ao concelho da Nazaré; ² idade d pomar à data de observação; ³ PE – Porta-enxerto; cultivar de macieira do tipo Gala, Golden e Fuji e pereira da cv. Rocha; ⁴ CR - cones radicíferos; ⁵ focos de ataque por árvore, podendo cada um deles conter mais de uma larva de sésia; ⁶ (a) – ataque sem causar prejuízos.

Quadro 3 – Ataque por sésia em quatro pomares, na região de Alcobaça, de 2012 a 2014 – dados da observação efectuada no final do ciclo vegetativo em, pelo menos, 50 árvores/parcela (excepto a parcela Quinta Pinheiro em que se observou 30 árvores/parcela).

Parcela	Árvores atacadas por sésia (%) ¹		
	5/11/2012	18/11/2013	17/10/2014
Ferro (confusão sexual)	71,2%; ≥1 foco /árv. atacada (amostra: 268 árv.)	0%	20% (5,4% cones totais atacados; 4 árv. c/ cones atacados; 5 árv. c/ cancro; 1 árv. c/ cone e cancro; 1,0 larva/ cone atacado; 2,0 larvas/ cancro)
Termas Novas (confusão sexual)	19,0%; 1 foco pequeno/árv. atacada (amostra: 100 árv.)	2,0% (1 árvore c/ larva e outra só serradura seca)	20% (9,2% cones totais atacados; 9 árv. c/ cones atacados; 1 árv. c/ cancro; 1,0 larva/ cone atacado; 1 larva/ cancro)
França (testemunha)	100,0%; ≥ foco /árvore (amostra: 100 árvores)	3,3%; 1 foco /árv. atacada (1-2 larvas cada) (amostra: 110 árv.)	46%; (23,9% cones totais atacados; 14 árv. c/ cones atacados; 1 árv. c/ cancro; 7 árv. c/ cone e cancro; 0,3 larva/ cone atacado; 1,2 larvas/ cancro)
Qta. Pinheiro (adjacente a Ferro)			53,3%; (33,3% cones totais atacados; 16 árv. c/ cones atacados; 0,9 larva/ cone atacado)

¹ Quando nada é referido em contrário a amostra em que incidiu a observação foi de 50 árvores.



Figura 1 – Cinta-armadilha para sésia (parcela França).



Figura 2. Limpeza, raspagem de cones radicíferos e cancos nos pomares atacados (parcela França).



Figura 3 - a-b) Cones radicíferos em porta-enxertos com ataque de sésia, vendo-se as serradura e as larvas em b)– parcela Ferro; c) Cancro no tronco com ataque de sésia, vendo-se a serradura – parcela França.

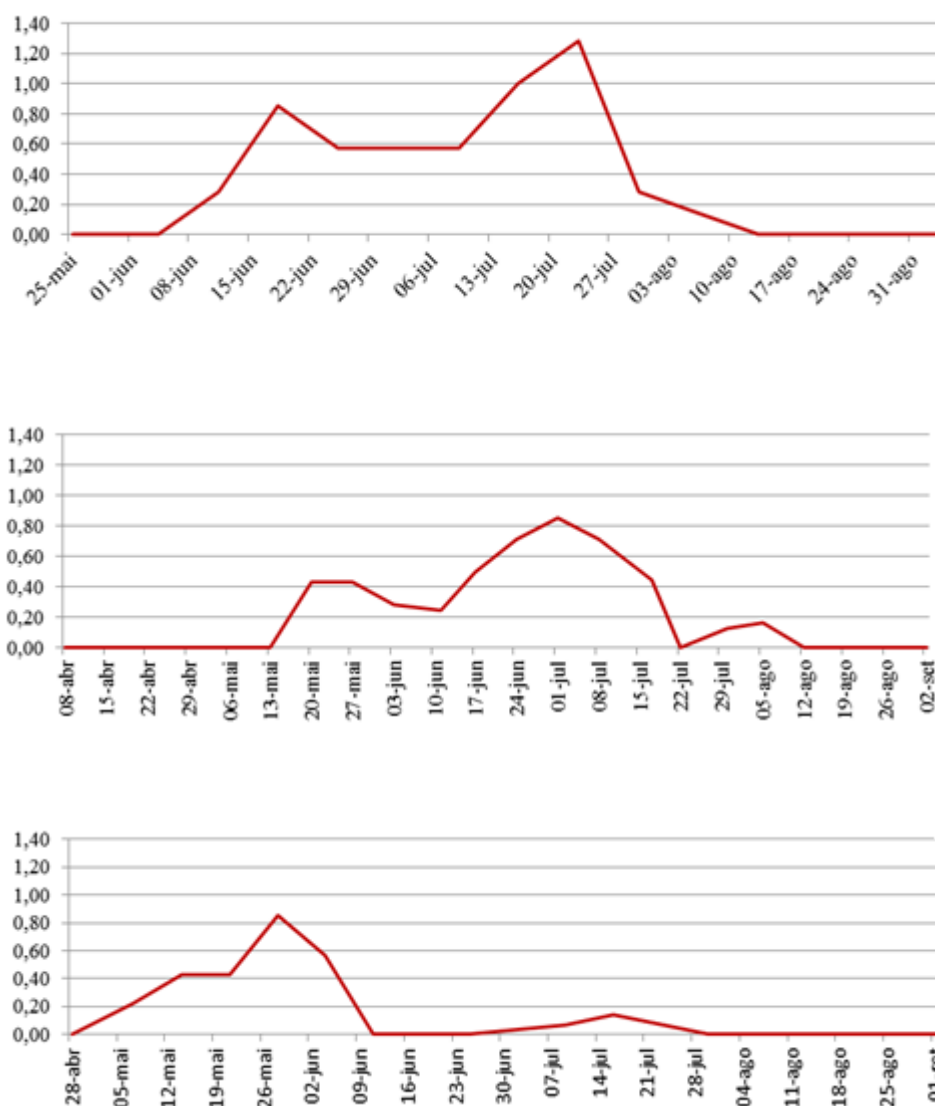


Figura 4 – Captura média diária de indivíduos identificados como pertencentes à espécie *Synanthedon myopaeformis*, em armadilha delta iscada com feromona desta espécie, em 2012 (a), 2013 (b) e 2014 (c), no pomar de macieiras França – pomar testemunha do ensaio de confusão sexual.

Vírus da granulose de *Cydia pomonella* numa estratégia de mini-dose para reduzir danos e populações de bichado da fruta

Francisco Vieira¹ & Fátima Dias¹

¹AAPIM – Associação de Agricultores para Produção Integrada de Frutos de Montanha, Av. Monsenhor Mendes do Carmo, 23, R/C Esq. 6300-586 Guarda, geral@aapim.com

Resumo

O bichado-da-fruta, *Cydia pomonella* L., é praga chave em pomares de macieiras e tem registado um crescimento populacional ao longo dos anos, na região da Cova da Beira (Portugal). Este facto, tem aumentado a pressão de tratamentos, para manter os danos em níveis aceitáveis. O vírus-da-grulose de *Cydia pomonella* (CpGV), está homologado em Portugal, desde 2010, com o nome comercial Madex e apresenta-se como uma solução para baixar os níveis populacionais do bichado-da-fruta. Em dois anos do ensaio (2013 e 2014) a utilização de CpGV num programa de mini-dose enquadrado numa estratégia com inseticidas, demonstrou ser importante no controlo da praga, baixando o número de frutos perfurados por *C. pomonella* (prejuízo) e reduzindo o número de lagartas dispausantes em cartão canelado (risco potencial da praga). A abordagem ao bichado-da-fruta e as suas consequências foram diferentes nos dois anos, contudo a aplicação de CpGV mostrou-se essencial na redução de prejuízos e da população diapausante. No final de 2013 a parcela sem CpGV tinha 3,21 vezes mais frutos perfurados por *C. pomonella* e 6,74 vezes mais lagartas por cartão canelado, comparativamente à modalidade tratada com CpGV. No final de 2014 a parcela sem CpGV tinha 3,95 vezes mais frutos perfurados por *C. pomonella* e 2,48 vezes mais lagartas por cartão canelado, por comparação à modalidade tratada com CpGV.

Palavras Chave: CpGV, Madex, *C. pomonella*, prejuízos, risco potencial

Abstract

***Cydia pomonella* Granulovirus in a mini-dose strategy to reduce damages and populations of codling moth**

The codling moth, *Cydia pomonella* L., is a key pest in apple orchards and has recorded a population growth over the years, in the Cova da Beira region (Portugal). This has increased the use of treatments to maintain damage at acceptable levels. The *Cydia pomonella* Granulovirus (CpGV), is approved in Portugal, since 2010, under the brand name Madex and is a solution to reduce the codling moth population. During the two years of the study (2013 and 2014) using CpGV in a mini-dose program with insecticides, proved to be important in control of codling moth, reducing the number of fruit penetrated by *C. pomonella* (loss) and reducing the number of larvae in corrugated card (potential risk). The tactic to control the codling moth and its consequences were different in the two years, however the application of CpGV proved essential in reducing losses and reducing the potential risk for the following years. In 2013, at harvest the plot without CpGV had 3.21 times more fruit penetrated by *C. pomonella* and 6.74 times more larvae per corrugated cardboard by comparison with the plot with CpGV. In 2014 the plot without CpGV had 3.95 times more fruit penetrated by *C. pomonella* and 2.48 times larvae per corrugated cardboard by comparison with the plot with CpGV.

Keywords: CpGV, Madex, *C. pomonella*, damages, potential risk

Introdução

O bichado-da-fruta, *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera, Tortricidae) é a principal praga em pomares de macieiras. Sendo uma praga que ataca directamente os frutos, a tolerância à sua presença é, evidentemente, baixa. Níveis de frutos perfurados (prejuízos) acima de 1%, começam a entrar no domínio do inadmissível num pomar comercial (DRAPN, 2010), o que significa que, apenas baixos níveis populacionais de bichado são toleráveis.

Existem actualmente, duas abordagens no controlo do bichado: Inseticidas de síntese e confusão sexual. Muitas vezes, a dimensão, forma, homogeneidade dos pomares, associadas à grande variância de culturas, geram dificuldade na implementação da confusão sexual (Charmillot, 1995). Nesses casos, a utilização de inseticidas de síntese, são a opção inevitável. A utilização exclusiva de inseticidas tem consequências secundárias, mas podem ser bem geridas, principalmente, quando as populações de bichado são baixas. Em situações de populações altas, obriga a mais intervenções e a praga fica sujeita a uma pressão de selecção, que pode gerar fenómenos de resistência.

Em Portugal, na região da Cova da Beira, o controlo do bichado é assegurado, essencialmente, com recurso a inseticidas. A praga tem registado uma propensão crescente dos níveis populacionais (Almeida, 2007), apesar da variabilidade entre anos (Vieira & Almeida, 2009). Esta população crescente, poderá estar associada a fenómenos de resistência, já identificados a substâncias ativas mais antigas (Almeida, 2005), mas, também a condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento do bichado, pomares abandonados, entre outros. Ano após ano, a estratégia insecticida é muito semelhante e mesmo com seis ou sete tratamentos, os níveis de estragos à colheita podem ser elevados (Vieira & Almeida, 2009).

O vírus da granulose de *Cydia pomonella* (CpGV) exhibe grande virulência e especificidade para lagartas de *C. pomonella* (Zichová, T, *et al*, 2011), sendo altamente patogénico nos primeiros instares larvares (Jehle, *et al*. 2006). A sua aplicação pode ter grande interesse, onde ocorrem fenómenos de resistência a inseticidas (Jehle, J.A., 2008; Zichová, T, *et al*, 2011), e na redução de níveis populacionais de bichado (Audemard, 1996). O CpGV tem uma eficácia elevada imediatamente após a aplicação e diminui para metade após 5 a 8 dias, até perder a eficácia 10 a 15 dias após a aplicação, fundamentalmente devido à radiação solar (Charmillot, 1998). Nas condições meteorológicas da Cova da Beira, a sua aplicação tem interesse na 1ª geração do bichado.

O vírus da granulose de *Cydia pomonella* está homologado em Portugal, desde 2010, com a marca comercial Madex. Trata-se de uma suspensão concentrada de 3×10^{13} grânulos/L de vírus da granulose de *Cydia pomonella*.

Com o propósito de testar a aplicação de vírus da granulose de *Cydia pomonella*, na redução de prejuízos e populações de *C. pomonella*, foi realizado um ensaio, num pomar com histórico de grande população da praga, numa estratégia de mini-doses, conjuntamente com inseticidas.

Material e Métodos

O ensaio decorreu em 2013 e 2014 e teve lugar num pomar de macieiras, com área total de 3,14ha, localizado na freguesia de Gonçalo, concelho da Guarda. O pomar tem um histórico de elevada população de *Cydia pomonella* L.. O pomar de macieiras, com orientação Norte-Sul, é composto pelas variedades Golden e Starking, com 20 anos de idade e compasso de 4,5 x 2.

O pomar foi dividido em 2 parcelas, contíguas, com as mesmas características. Em ambas as parcelas foram utilizados os mesmos inseticidas de síntese no controlo de *C. pomonella*. O factor de diferenciação das modalidades foi a utilização de vírus da granulose de *Cydia pomonella* (CpGV). Na parcela Oeste, com 1,62ha, não foi aplicado CpGV. Na parcela Este, com 1,52ha, foi aplicado CpGV, numa estratégia de mini-doses (quadro 1 e 2).

Nos dois anos do ensaio, os tratamentos com inseticidas de síntese e com CpGV, para controlar o bichado da fruta, foram posicionados pela: observação das capturas em armadilha delta com feromona (curva de voo), colocada na zona que divide as duas modalidades; análise dos acumulados de temperaturas; seguimento das condições meteorológicas para o desenvolvimento da praga. A aplicação de CpGV foi baseada numa estratégia de mini-dose, dirigida à 1ª geração de *C. pomonella*, com uma primeira aplicação a 50ml/ha, com o intuito de “infestar” o pomar com o vírus, seguido de 4 aplicações de 10 a 15ml/ha (quadro 1 e 2). Para além das aplicações com inseticidas de síntese exclusivas para controlo de *C. pomonella*, foi realizado, nos 2 anos de ensaio, um tratamentos dirigido para *Ceratitis capitata* (Wied.), em finais de agosto, com efeitos no controlo do bichado.

Em 2013 foi delineada uma estratégia com 7 aplicações de inseticidas de síntese, 4 das quais na 1ª geração, em virtude da alta população diapausante de *C. pomonella*, que resultou em elevadas capturas no início da 1ª geração (fig. 1). Em 2014, o posicionamento dos tratamentos inseticidas foi de forma comum na região (6 tratamentos).

A avaliação da presença de bichado nas duas modalidades foi realizada por:

- Avaliação da percentagem de frutos perfurados por lagartas de *C. pomonella*, no final da 1ª geração e à colheita, pela contagens de pelo menos 1000 frutos (6-8 árvores completas). Foram classificados como perfurados todos os frutos que evidenciavam entrada do bichado da fruta, independentemente da evolução no interior. Esta avaliação representa o prejuízo de bichado.
- Avaliação do número médio de lagartas diapausantes de *C. pomonella* por cartão canelado, pela contagens de lagartas em 50 cartões canelados, colocados na base do tronco. Os cartões canelados foram colocados na 2ª quinzena de julho, antes da descida das lagartas e retirados após a colheita, na 2ª quinzena de outubro. Esta avaliação representa o risco potencial da praga para o ano seguinte.

Resultados e Discussão

Em 2013, a pressão de bichado foi muito alta, em consequência da enorme população de lagartas diapausantes, do ano anterior. A pressão da praga reflectiu-se no número de capturas em armadilha delta com feromona, com um pico de 87 adultos/semana logo na fase inicial da 1ª geração e com um acumulado anual de 670 capturas (fig. 1). Neste ano a pressão do bichado foi muito forte na 1ª geração, cujas capturas em armadilhas delta com feromona, representaram 65% do acumulado anual.

Em 2014, a população da 2ª geração de bichado foi a mais importante, e com maior efeitos no resultados obtidos. Esta geração, representou 64% das capturas anuais, em armadilha delta com feromona.

Em 2013, a abordagem ao bichado com 4 aplicações de inseticidas de síntese, permitiu, à partida, um bom controlo da grande população de *C. pomonella*. A percentagem de frutos perfurados por *C. pomonella*, no final da 1ª geração, foi de 1,08% na modalidade sem CpGV e de 0,25% na modalidade com CpGV (fig. 2). À Colheita, a percentagem de frutos perfurados por *C. pomonella* foi de 1,96% na modalidade sem CpGV e de 0,61% na modalidade com CpGV (fig. 2), o que representou um prejuízo 3,21 vezes superior na modalidade sem CpGV.

Em 2014, as condições meteorológicas condicionaram a aplicação de inseticidas, na 1ª geração, pelo que, não foram aplicados na data ideal. Este facto contribuiu para um valor alto de frutos perfurados por *C. pomonella* no final da 1ª geração (fig. 2). Por outro lado, as condições meteorológicas na 2ª geração do bichado, foram muito favoráveis ao desenvolvimento da praga.

Em 2014, a percentagem de frutos perfurados por *C. pomonella*, no final da 1ª geração do bichado da fruta, foi de 5,97% na modalidade sem CpGV e de 0,79% na modalidade com CpGV (fig. 2). À Colheita, a percentagem de frutos perfurados por *C. pomonella* foi de 16,84%

na modalidade sem CpGV e de 4,26% na modalidade com CpGV (fig. 2). A modalidade sem CpGV apresentou prejuízos à colheita, 3,95 vezes superior à modalidade com CpGV.

Em 2013, o número médio de lagartas de *C. pomonella* por cartão canelado, foi de 2,29 na modalidade sem CpGV e de 0,34 na modalidade com CpGV (fig. 3). A modalidade sem CpGV apresentou 6,74 vezes mais lagartas por cartão canelado que a modalidade com CpGV.

Em 2014, o número médio de lagartas de *C. pomonella* por cartão canelado, foi de 15,22 na modalidade sem CpGV e de 6,13 na modalidade com CpGV (fig. 3). A modalidade sem CpGV apresentou 2,48 vezes mais lagartas por cartão canelado que a modalidade com CpGV.

Conclusões

A utilização de vírus da granulose de *Cydia pomonella* (CpGV) numa estratégia de mini-doses, integrada com aplicação de inseticidas, permitiu reduzir os prejuízos e reduzir o risco potencial para o ano seguinte.

Nos dois anos do ensaio verificaram-se consequências diferentes do bichado, com baixos prejuízos em 2013 e prejuízos inaceitáveis num pomar comercial em 2014. Contudo, em ambos os anos, a aplicação de CpGV contribuiu para a obtenção de prejuízos significativamente mais baixos (3,21 e 3,95 vezes menos frutos perfurados, em 2013 e 2014, respectivamente). O efeito da aplicação de CpGV, na redução da população diapausante é mais expressivo. Em 2013 a modalidade com CpGV apresentou 6,74 vezes menos lagartas/cartão que a modalidade sem CpGV. Em 2014, o elevado ataque de bichado na 2ª geração, fase em que não se aplicou CpGV, atenuou o seu importante efeito na redução do risco potencial. Todavia, a população de lagartas em cartão canelado em 2014, na modalidade com CpGV foi 2,48 vezes menos que na modalidade sem CpGV.

A utilização de vírus da granulose de *Cydia pomonella*, pode ser um bom aliado, quando não se consegue tirar o melhor partido dos inseticidas de síntese, como quando as condições meteorológicas interferem na sua aplicação e eficácia.

É essencial a utilização de medidas para redução das populações de *C. pomonella*, sob pena dos inseticidas de síntese serem mais propensos à perda de eficácia. A utilização de vírus da granulose de *Cydia pomonella* demonstrou ter um papel importante nesse na redução do risco potencial do bichado.

Referências

- Almeida, J. 2005: Resultados de Ensaio de Resistência ao Bichado da Fruta (*Cydia pomonella* L.) na região da Beira Interior; Jornada Técnica SNAA “40anos ao Serviço da Agricultura Portuguesa”. Viseu
- Almeida, J. 2007: Resistência do Bichado aos Inseticidas – Situação da Beira Interior. Jornadas Técnicas. Viseu
- Audemard H., Sauphanor B., Francelet J., Orts R., Blanc M., Martinet C., Combe F., Payen C. & Welschen P. 1996. Protection intégrée du verger de pommiers de l'an 2000: Lutte contre le carpocapse, *Cydia pomonella* L.. L'Arboriculture fruitière, février.
- Charmillot, P.J. 1995. Possibilités et limites de la lutte contre la carpocapse au moyen de la technique de confusion et du virus de la granulose: recommandation pratiques. Revue suisse Vitic. Arboric. Hortic. 27 (2): 76-77.
- Charmillot, P.J., Pasquier, D. & Scalco, A. 1998. Le virus de la granulose du carpocapse *Cydia pomonella*. Efficacité en microparcelles, rémanence et rôle des adjuvants. Revue suisse Vitic. Arboric. Hortic. 30 (1): 61-64.
- DRAPN, 2010: O bichado (*Cydia pomonella* L.) em Pomóideas. Textos de divulgação técnica da Estação de Avisos de Entre Douro e Minho n.2/2010 (II série)
- Schaub, L. 2000. La résistance des ravageurs en arboriculture. Revue suisse Vitic. Arboric. Hortic. 32 (1): 54-55.

- Vieira, F. & Almeida, J. 2009: O Bichado (*Cydia pomonella* L.). A importância do Risco Potencial. *O Segredo da Terra* 27: 22-25
- Jehle, J. A. 2008: The future of *Cydia pomonella* granulovirus in biological control of codling moth. In *Ecofruit – Proceedings to the 13th International Conference on Cultivation, Thechnique and Phytopathological Problems in Organic Fruit-Growing*. Weinsberg, Germany: 265-270.
- Zichová, T., Faltá, V., Kocourek, F. & Stará, J. 2011: Differences in the susceptibility of codling moth population to *Cydia pomonella* granulovirus in the Czech Republic. *Hort. Sci.* Vol. 38. N.º1: 21-26.

Quadros e figuras

Quadro 1: Aplicações de inseticidas de síntese e de vírus da granulose de *Cydia pomonella* (CpGV), para controlo de *C. pomonella* em 2013.

Data	Inseticida (modalidades 1 e 2)	Madex (CpGV) (modalidade 2)	Observações
3 Maio	Ovicida	-	Início posturas 1ª geração
10 Maio	Ovo-larvicida	-	Início eclosões 1ª geração
17 Maio	-	50ml/ha	Início eclosões 1ª geração
27 Maio	Larvicida	15ml/ha	Eclosões 1ª geração
4 Junho	-	10ml/ha	Eclosões 1ª geração
11 Junho	Larvicida	10ml/ha	Eclosões 1ª geração
17 Junho		10ml/ha	Final 1ª geração
5 Julho	Ovo-larvicida	-	Início eclosões 2ª geração
21 Julho	Larvicida	-	Eclosões 2ª geração
10 Agosto	Larvicida	-	Eclosões 2ª geração

Quadro 2: Aplicações de inseticidas de síntese e de vírus da granulose de *Cydia pomonella* (CpGV), para controlo de *C. pomonella* em 2014.

Data	Inseticida (modalidades 1 e 2)	Madex (CpGV) (modalidade 2)	Observações
2 Maio	Ovo-larvicida	-	Início eclosões 1ª geração
8 Maio	-	50ml/ha	Início eclosões 1ª geração
15 Maio	-	15ml/ha	Eclosões 1ª geração
21 Maio	Ovo-larvicida	-	Eclosões 1ª geração
23 Maio	-	10ml/ha	Eclosões 1ª geração
5 Junho	Larvicida	10ml/ha	Eclosões 1ª geração
11 Junho	-	10ml/ha	Final 1ª geração
3 Julho	Larvicida	-	Início eclosões 2ª geração
21 Julho	Larvicida	-	Eclosões 2ª geração
13 Agosto	Larvicida	-	Eclosões 2ª geração

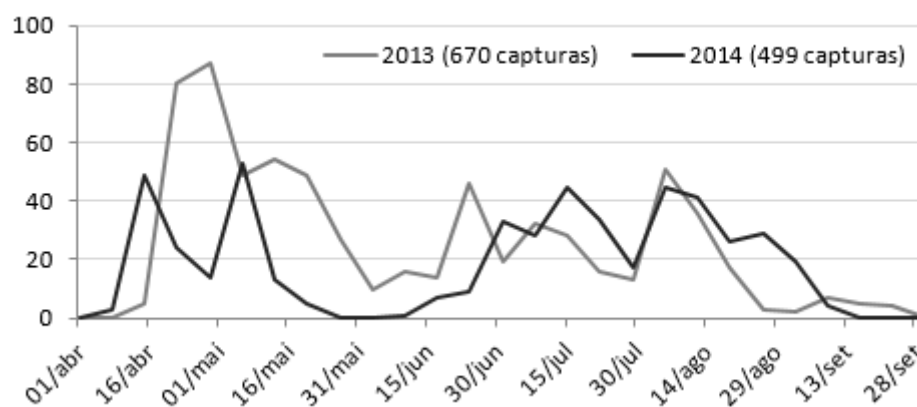


Figura 1 – Capturas de *Cydia pomonella* L. em armadilha delta com feromona, em 2013 e 2014.

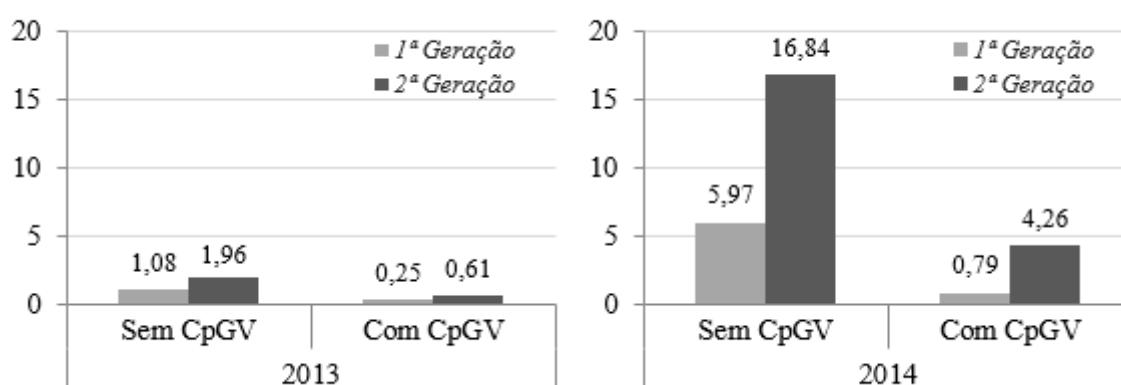


Figura 2 – Percentagem de frutos com perfurações de *Cydia pomonella* L. no final da primeira geração e à colheita, nas modalidades com e sem aplicação de vírus da granulose de *Cydia pomonella* (CpGV), nos anos 2013 e 2014.

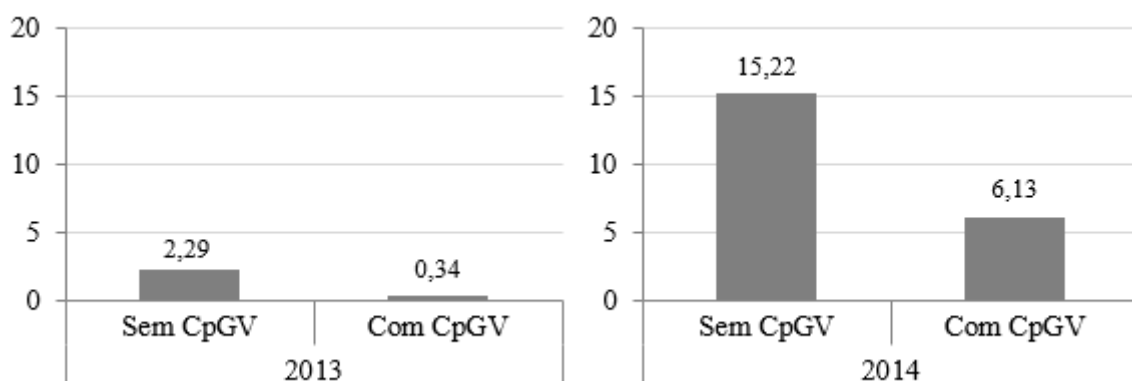


Figura 3 – Número médio de lagartas diapausantes de *Cydia pomonella* L. em cartão canelado, após a colheita, nas modalidades com e sem aplicação de vírus da granulose de *Cydia pomonella* (CpGV), nos anos 2013 e 2014.

Como pode o design acrescentar valor à fruticultura?

Filipa Pais

CIAUD, Faculdade de Arquitetura, Universidade de Lisboa, Rua Sá Nogueira, Pólo Universitário, Alto da Ajuda, 1349-055 Lisboa, Portugal, filipa.pias@gmail.com

Resumo

O design é o elemento que faz a ponte entre a criatividade e a inovação, que transforma o invisível em visível. O design pode ajudar as PME a desenvolver vantagens competitivas que lhes proporcionem um posicionamento sustentável, porque é acima de tudo uma ferramenta de gestão dos constrangimentos sociais, económicos e ambientais do projecto, em virtude dos contributos de todos na identificação do problema, na análise e elaboração de ideias e conceitos, de modo a fomentar um pensamento crítico e construtivo, para que a solução seja entendida não como uma proposta, mas sim como um compromisso, assumido e compreendido por todos os intervenientes.

Mas para que os decisores económicos, as empresas e até os designers aceitem o design como um parceiro do negócio é necessário primeiro que seja entendido como um investimento e não como uma despesa e para isso é necessário poder avaliar numa linguagem acessível a empresas e designers o custo/benefício do investimento em design. O propósito deste estudo de casos é o de contribuir para sensibilizar as PME do sector agro-alimentar a investirem em design. Um investimento que para além do retorno, pode também significar um activo estratégico para as PME.

Palavras chave: Agro-alimentar, Valor do design, Investimento, Competitividade

Abstract

How can design add value to fruit?

Design is the element that links people to the consumption experience and to the company, that who makes connection between who asks, pays, develops, produces, sells, buys and uses. The design process promotes the participation of all in the analysis and development of new approaches and concepts, so that the solution is understood not only as a proposal, but also as commitment, accepted and understood by all stakeholders. Only that way will it be possible to turn ideas into concepts and eventually into products that incorporate sensory and recreational values, which not only meet the requirements but also inspire people and increase the company's value chain.

However for economic policy makers, companies and designers to accept the design as a business partner it is necessary that firstly design is understood as an investment and not as a cost. To be so, the cost / benefit of investing in design, should be evaluated in a language accessible to companies and designers.

The purpose is to raise awareness in the SMES for the importance of management Design, by evaluating the return on investment in communication design in the agro-food industry sector, contributing to a more conscious, effective and integrated design in SMES management, to understand the design as a management tool, a partner that adds value to their business and also to provide designers with a different approach to show the contribution of their work.

Keywords: Agro-food industry, Design value, Investment, Competitiveness

Introdução

Num mercado que deixou de ser para todos para passar a ser o do António, da Maria, do Francisco e da Luísa, essencialmente motivado por emoções e experiências, o preço deixou de ser a única vantagem competitiva possível, ou que interessa às PME portuguesas, porque nos nossos dias a maioria das pessoas, mesmo quando adquirem fruta, compram emoções, momentos e experiências. O design, pelo seu processo de trabalho, pode ligar o produto com o que o rodeia, realçando as suas qualidades e especificidades, nomeadamente a sua origem e a responsabilidade social de quem o produz, pode também agregar qualidades lúdicas e sensoriais, complementar o produto com outros produtos, serviços e parcerias, de modo a criar outras oportunidades de oferta e de interesse para o consumidor, acrescentando um valor que não será facilmente substituído por dinheiro, capaz de criar um posicionamento único e sustentado para a empresa.

No estudo realizado pela Universidade de Cambridge em 2010 (Value of Food & Drink Manufacturing to the UK, 2010), sobre o valor económico do agro-industrial no Reino Unido, constatou-se que a competitividade do sector residia na vontade empreendedora que tinha sabido manter, mesmo na situação de crise financeira que a Europa ainda atravessa. Tal capacidade de resiliência deve-se ao investimento efectuado em novos métodos de trabalho e em inovação, desenvolvidos em estreita colaboração com actividades de I&D, nomeadamente com design, que tem ajudado a produzir oferta adequada para uma sociedade cada vez mais informada sobre os benefícios para a saúde de uma alimentação saudável.

A percepção que o contributo do design faz diferença tem feito com que existam várias iniciativas para dar um valor ao design. A OCDE⁵ no relatório *Enhancing the competitiveness of SMEs⁶ through innovation 2000* destaca o investimento em design como fundamental para criar vantagens competitivas e considera que de todos os investimentos em I&D⁷ o do design é provavelmente o que terá um menor custo face ao impacto e retorno para a empresa. Por sua vez, a União Europeia no documento *Design as a driver of user-centred innovation 2009*, entende o design como uma ferramenta de gestão e destaca a necessidade das empresas investirem em inovação para ultrapassarem a actual crise financeira, mas constata que se verifica exactamente o contrário no meio empresarial, em particular nas PME. Tendo criado recentemente uma área de apoio ao design - *European Design Innovation Initiative*, e convidado uma equipa de designers a elaborar um estudo dirigido a empresas, organizações, designers e ensino do design, sobre como se deve utilizar e integrar o design numa empresa ou organização - *Design for Growth & Prosperity - Report and Recommendations of the European Design Leadership Board*, (2012). Em Março de 2012 apresentaram a plataforma *European Design Innovation Initiative*, que por sua vez lançou o programa *Measuring Design Value*⁸. O *Design Measuring Value*, tendo por base o *Manual Frascati*⁹, pretende identificar parâmetros que possibilitem avaliar o contributo do design para a economia, de modo a construir um modelo de boas práticas que caracterize a contribuição do design para o crescimento da macro-economia e do PIB (WP1, 2012, p. 12). O grupo de estudo defende que até ao momento não existe nenhuma relação de causa e efeito entre o investimento num activo intangível e o seu resultado económico. Contudo constata que apesar de não ser a condição suficiente para o

5 OCDE - Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico.

6 SME – *Small and minimum enterprise*.

7 I&D – Investigação & Desenvolvimento.

8 <http://www.measuringdesignvalue.eu/>

9 O *Manual Frascati* teve como objectivo criar critérios de avaliação de R&D, de modo a poder-se desenvolver dados estatísticos e estudar a evolução da actividade. O *Manual Frascati* foi desenvolvido pela OCDE em 1963 em Frascati, Itália.

sucesso, o investimento em design é fundamental para incrementar oferta adequada às necessidades das pessoas e para diminuir custos com produção.

Se de facto as PME do sector agro-alimentar português não têm meios para medir o custo/benefício do design, será difícil entender o design como um investimento que acrescenta valor (tangível e intangível) ao negócio. Com este estudo de casos pretende-se criar um modelo que permita avaliar o retorno do investimento em design no sector agro-alimentar e deste modo sensibilizar as PME deste sector a entenderem o design como uma competência que acrescenta valor ao negócio.

Desenvolvimento

Quando escolhemos a “laranja do Algarve” ou a “cereja do Fundão”, estamos a optar pelas suas qualidades e propriedades nutritivas, mas também por valores imateriais que nos remetem para momentos, emoções e experiências (Sol, doce, praia, natureza, serra, confiança, satisfação, etc). De facto nos nossos dias os mercados são cada vez menos motivados por produtos e cada vez mais por experiências, o que significa que para lá da qualidade da oferta a empresa deverá também ser capaz de associar qualidades lúdicas e cognitivas, que se reflectirão nos seus activos e rácios financeiros. Em particular neste sector, onde de uma forma geral a alimentação passou a ser essencialmente encarada como um momento de degustação de sabores e aromas, onde se dá grande importância à origem, ao modo de produção e preparação dos produtos agrícolas. Sem darmos conta o design está presente no nosso dia-a-dia, é o elemento que liga as pessoas à experiência e consequentemente ao produto e à empresa, de facto através do design podemos compreender melhor quais são as necessidades e expectativas das pessoas quando adquirem um produto e podemos trabalhar com base nesses pressupostos (Verganti, *Design's role in innovation*, 2010) e colaborar com as PME que se dedicam à fruticultura a desenvolverem vantagens competitivas.

Portugal reúne condições únicas, naturais e culturais, que permitem uma oferta distinta e de excelência nos produtos agrícolas, nomeadamente nos hortícolas e frutas, onde destacamos as frutas com certificação DOP e IGP10, designadamente a castanha e os produtos da floresta, nomeadamente a produção de mel e frutos silvestres que segundo o *Eurostat Forestry 2011* representam para Portugal uma importante fonte de rendimento e uma oportunidade para criar oferta competitiva¹¹, utilizando recursos próprios e renováveis.

Mas será que as PME produtoras de frutas em geral e em particular as que produzem fruta DOP usufruem do potencial do design para acrescentar valor?

A convite do *Design Management Europe*, Gert L. Kootstra (2009) desenvolveu um estudo sobre a integração do design nas empresas europeias e pode verificar que as empresas que apresentavam melhor desempenho económico foram as que na maioria integraram o design na gestão da empresa, tendo o investimento sido feito de forma proporcional à dimensão da empresa. A grande maioria aumentou em cinco anos o volume de negócios, por vezes até em mais de 25%. O estudo constatou ainda que as probabilidades para incorporar o design na actividade da empresa está directamente relacionado com o número de colaboradores da empresa. Contudo também se apercebeu que de um modo geral as empresas não estão convencidas da capacidade do design para acrescentar valor ao negócio, porque não sabem

10 Ameixa d'Elvas, Amêndoa Douro, Ananás dos Açores/São Miguel, Anona da Madeira, Castanha da Terra Fria, Castanha de Padrela, Castanha dos Soutos da Lapa, Castanha Marvão-Portalegre, Cereja da Cova da Beira, Cereja de São Julião-Portalegre, Citrinos do Algarve, Maçã Bravo de Esmolfe, Maçã da Beira Alta, Maçã da Cova da Beira, Maçã de Alcobaça, Maçã de Portalegre, Maçã Riscadinha de Palmela, Maracujá dos Açores/S. Miguel, Pêra Rocha do Oeste e Pêssego da Cova da Beira.

11 *Eurostat Forestry in the EU and the world 2011*, p.24.

como utilizar e avaliar o investimento em design, pelo que para além do obstáculo habitual, que são os custos com design, devemos considerar como principal barreira para a utilização do design o factor desconhecimento. Assim sendo o relatório aconselha a promover formação e consultoria na área do design e adequada às necessidades da empresa, Kootstra acredita que com conhecimento e os recursos necessários as empresas terão maior disponibilidade para investir em design. Também o relatório de Finbarr Livesey e James Moultrie (2009) sobre investimento em design no Reino Unido, indica que os gastos com design são proporcionais à dimensão da empresa, quanto maior é a empresa maior é o valor gasto em design, sendo que as micro-empresas apresentaram um investimento em design bastante reduzido e somente 25% consideraram tê-lo feito. O relatório conclui que a dificuldade para avaliar e monitorizar o investimento em design é a principal barreira para não se utilizar este recurso na gestão diária de uma empresa. E sugere a participação de todos, empresas, designers, gestores e decisores, para elaborarem um modelo de avaliação fácil e acessível, para que a avaliação e monitorização do investimento se torne numa prática comum nas empresas, tal como sucede com outras ferramentas de gestão. Foi também para tentar colmatar esta situação e explicar a empresas e designers a mais valia do investimento em design que nasceu em 2011 o *Design Roi - Measurable Design*. O *Design Roi - Measurable Design* acredita que o modelo contribuirá para melhorar a comunicação entre designers e empresas, nomeadamente micro-empresas e PME, defende no entanto que não terá grande utilidade para as empresas que já integram o design, nomeadamente as grandes empresas que têm muitas vezes competências na área da gestão do design e indicadores próprios para avaliar o desempenho do design.

O *Design Council* que iniciou a sua actividade em 1944, como resposta do governo de Winston Churchill para estimular o crescimento da economia inglesa no pós-guerra, tem ao longo da sua actividade desenvolvido vários programas de apoio às empresas, nomeadamente o programa *Design Leadership Programme* destinado às PME, que em 2012 constatava que por cada libra investida em design o negócio tinha recuperado 20£, aumentado o lucro em cerca de 4£ e recuperado cerca de 5£ com o aumento das exportações. O *Designing Demand* outro programa promovido pelo *Design Council* também em 2012 estimava que 9 em cada 10 empresas que recorreram ao programa reconheceram o design como recurso estratégico para o sucesso da empresa e melhoraram as suas vendas em cerca de 14% acima da previsão inicial. Por sua vez a *DBA Design Business Association*¹² que nasceu em 1986 no Reino Unido para reconhecer, promover e premiar a intervenção do design no crescimento económico de um negócio, acredita que a forma mais eficaz de comunicar o valor do design é medir a sua real contribuição e divulgá-la, o que acontece através dos prémios anuais *DBA Design Effectiveness Awards*. A avaliação é feita por projecto e é efectuada através da análise de dados preferencialmente apresentados em percentagem, que mostrem de forma inequívoca a causa e efeito entre a solução apresentada pelo design e o benefício para o negócio.

Xenia Viladas entende o “valor do design” como o “paradoxo do design”, ou seja, a contradição que existe entre as vantagens percebidas do investimento em design e ao mesmo tempo a relutância que existe em investir em design. No dia em que o design provar o seu custo/benefício, o paradoxo acaba e o design passa a ter uma relação mais fácil com as empresas (s.d., p.1). Também defende que as empresas mais inovadoras nem sempre têm sistemas precisos para medir o retorno do investimento em inovação/design, mas indicadores e objectivos previamente definidos para um dado período de tempo, tais como: aumentar as vendas em x % em y meses, aumentar a quota de mercado em x % em y meses, reduzir os custos de produção com o *redesign* do produto em x % em y meses, o número de patentes e registos de marcas, de prémios de design e o *payback* (Viladas, 2010, p.141). Para Xenia Viladas (*idem*,

12 <http://www.dba.org.uk/>.

2010, p.24) o contributo do designer será o de entender quais são os recursos que diferenciam a empresa e de que modo é que esses recursos podem identificar, agregar e comunicar valor. Ou seja o design deverá ter a capacidade de gerir e desenvolver soluções que acrescentem valor para a PME, tendo por base o entendimento dos constrangimentos associados ao projecto e o contributo de todos os envolvidos na procura do posicionamento único, nomeadamente através das qualidades e benefícios para a saúde da ingestão de frutas, a origem, modo de produção e conhecimento do negócio.

Pretende-se abordar este estudo de casos tendo como referência a análise do retorno do investimento em design numa amostra de PME do sector agro-alimentar localizada nas regiões Centro e Alentejo (NUT 2), que compreendem respectivamente as sub-regiões: Beira Interior Norte, Serra da Estrela, Cova da Beira, Beira Interior Sul e Pinhal Interior Sul, Médio Tejo, Alto Alentejo, Alentejo, e Lezíria do Ribatejo, que se inserem na unidade territorial NUT 313. Propõe-se que o estudo de casos compreenda 3 anos de actividade e tenha como base a utilização de alguns indicadores financeiros, como o ROA, o ROI, o *payback* e o rácio RODI desenvolvido pelo *Design Council* (Design Returns 2004-08).

Pela sua dimensão o sector agrícola português dificilmente terá capacidade para atingir níveis de produção que lhe permitam competir com base no preço, mas em contrapartida usufrui de uma qualidade ímpar que lhe dá acesso a nichos de mercado, essencialmente motivados pela qualidade, distinção e responsabilidade social do produto. A grande maioria dos produtos agro-alimentares fazem parte da “dieta mediterrânica”, que mais do que um programa gastronómico, significa um modo de vida, uma forma de estar e de partilhar a mesa, que se reflecte na produção, preparação e degustação dos alimentos. Elevada recentemente pela UNESCO a Património Cultural Imaterial da Humanidade, a “dieta mediterrânica” é uma excelente oportunidade para diferenciar o produto nos mercados, através da criação de oferta distinta e de fomentar parcerias que complementem e se possível agreguem valores sensoriais e lúdicos aos produtos.

Referências

- Design as a driver of user-centred innovation, Commission of the European Communities, 2009 [Internet] Disponível em http://ec.europa.eu/index_en.htm [consultado em 17/10/2011]
- Design for Growth & Prosperity – Report and Recommendations of the European Design Leadership Board, European Commission, 2012.
- Design delivers for business, Design Leadership Programme, Design Council, September 2012 [Internet] Disponível em <http://www.designcouncil.org.uk/> [consultado em 17/10/2011] [consultado em 10/9/2013]
- Design Returns, A review of national design strategy 2004-08, Design Council, 2008
- European Commission, European Research on Traditional Foods, European Communities, 2007
- Forestry in the EU and the world, Eurostat Statistical books, 2011, [Internet] Disponível em http://epp.eurostat.ec.europa.eu/cache/ITY_OFFPUB/KS-31-11-137/EN/KS-31-11-137-EN.PDF [consultado em 01/12/2011]

13 NUTS - Nomenclatura de unidade territorial estatística, que se divide em níveis: NUT 1, NUT 2 e NUT 3. As NUTS compreendem 3 níveis hierárquicos de divisão territorial de cada Estado-membro: NUT 1, NUT 2 e NUT 3.

- KOOTSTRA, Gert L., *The incorporation of design management in today's business practices An analysis of design management practices in Europe*, DME, 2009, [Internet] Disponível em <http://www.beda.org/index.php/resources/item/121-design-management> [Consultado em 19/10/2011]
- MOULTRIE, J, Livesey, F, *Company Spending on Design: Exploratory survey of UK firms 2008*, University of Cambridge, 2009
- OCDE - Conference for Ministers responsible for SMEs and Industry Ministers Bologna, Enhancing the competitiveness of SMEs through innovation, 2000
- PITKÄNEN, Antti, *Design Roi - Measurable Design*, Arts Promotion Centre Finland, 2012
- The Value of Design Factfinder Report, Design Council 2007
- Value of Food & Drink Manufacturing to the UK, Futures Scenarios for the UK Food & Drink Industry IFM Centre for Industry and Government, University of Cambridge, 2010.
- VERGANTI, Roberto, *Changing the rules of innovation by radically innovating what things mean*, Design Council, [Internet] Disponível em <http://www.designcouncil.org.uk> [consultado em Junho 2010]
- VERGANTI, Roberto, *Changing the rules of innovation by radically innovating what things mean*, Design Council, [Internet] Disponível em <http://www.designcouncil.org.uk> [consultado em Junho 2010]
- VERGANTI, Roberto, *Design's role in innovation*, Design Council, 2010, [internet] Available <http://www.designcouncil.org.uk> [consultado em 28/6/2010]
- VILADAS, Xenia, *Managing Design for Profits*, Indexbook, 2010, 1ª edição 2008
- VILADAS, Xenia, *Managing design, managing expectations?*, DME, [s.d.] [Internet] Disponível em <http://www.dmeaward.com/wp-content/uploads/2013/07/Managing-design1.pdf>, [consultado em 19/10/2011]
- WP 1 - Deliverable 1: Analytical Framework Paper, € Design | Measuring Design Value, October 2012, [Internet] Disponível em <http://www.measuringdesignvalue.eu/index.php> [consultado em 28/6/2013]

Análise do mercado sobre as potencialidades do consumo de medronho em fresco: Resultados preliminares.

Fátima Oliveira ¹, Justina Franco ²

Instituto Politécnico de Coimbra, Escola Superior Agrária de Coimbra/CERNAS, Bencanta 3045-601 Coimbra, ¹) foliveira@esac.pt; 2) jfranco@esac.pt

Resumo

Com o objetivo de conhecer as potencialidades do consumo do medronho em fresco têm sido desenvolvidos estudos organoléticos e físicos-químicos ao fruto. Sendo um fruto que ainda não é alvo de comercialização fora da sua área de produção é necessário conhecer a perceção do mercado do medronho em fresco. Para atingir parte deste objetivo foram realizados e validados 164 inquéritos em duas superfícies comerciais na região de Coimbra, com prova do produto no local. Os resultados revelaram que 80% dos inqueridos conhecia o medronho e 39% mostrou-se muito satisfeito com a prova do fruto e 56% mostrou-se satisfeito. O atributo mais apreciado foi o sabor. Cerca de 87% dos inqueridos revelou que a disponibilidade a pagar era inferior 1,5 €.

Palavras chave: Comercialização; Cadeia de valor; Medronheiro; Consumidor; Fruto

Abstrat

With the aim to know the potential consumption of fresh strawberry tree fruits organoleptic and physical-chemical studies of the fruit have been developed. Being a fruit that is not yet the target of marketing outside of their production area is necessary to know the perception of the market for fresh strawberry tree fruits. To achieve part of this goal they had carried out and validated 164 inquires in two commercial surfaces in Coimbra region, with experiment of product in the place. The results revealed that 80% of surveyed knew the arbutus and 39% was very satisfied with proof of the fruit and 56% expressed satisfaction. The most appreciated attribute was the flavor. About 87% of surveyed revealed that willingness to pay was below 1.5€.

Keywords: Marketing; Value chain; arbutus; consumer; fruit

Introdução

O medronheiro (*Arbutus unedo* L.) é uma espécie de origem mediterrânica, que habitualmente vegeta sem grandes problemas consociada com algumas espécies florestais. Nos últimos anos tem vindo a adquirir a importância de uma fruteira, plantada em pomares estromes com o objetivo de produção de frutos para os diversos fins. O medronho é um fruto edível e saboroso, quando completamente maduro. Tem pequenas dimensões apresentando, no entanto, variações no peso e diâmetros. Dos diversos estudos verifica-se que o peso varia entre 1 e 14 g, o diâmetro longitudinal entre 1 a 2 cm e o equatorial entre 1,1 e 2,7 cm.

Relativamente à sua composição nutricional é um fruto calórico, muito rico em fibra e em minerais como o Ca, Mg e K quando comparado com outro pequeno fruto que também pode ser colhido em plantas espontâneas: a amora (Quadro 1).

No medronho, os carotenoides, β caroteno e o licopeno parecem adquirir importância e os fenóis totais variam entre 386 e 1973 mg GAE/100 g; nos açúcares é a frutose que tem maior importância variando a concentração entre 3,6 e 14,5 mg/100 g, o que confere o sabor doce e agradável dos medronhos quando completamente maduros. Vários compostos com propriedades anti-oxidantes foram encontrados como os ácidos orgânicos: fumárico, láctico,

málico, subérico, cítrico e quinico. O ácido gálico é também referido. Há mesmo autores que consideram o medronho um dos frutos mais ricos em protoantocianidinas.

Diversos autores consideram o consumo destes frutos maduros benéfico para a saúde (Ayaz et al., 2000; Alarcão-E-Silva et al., 2001; Pallauf et al., 2008; Ruiz-Rodríguez et al., 2011; Oliveira et al., 2011), sendo tradicionalmente aconselhado no tratamento de distúrbios gastrointestinais, problemas urológicos, renais, dermatológicos, assim como aplicações cardiovasculares (Oliveira et al., 2011). No entanto, apesar de conter quantidades de nutrientes e compostos bioativos mais elevados que muitas espécies cultivadas, o consumo de medronhos em fresco é limitado (Orak et al., 2011).

Estes frutos possuem o inconveniente de por vezes serem considerados indigestos (fato que poderá estar relacionado com o seu teor em celulose – 3 g/100 g), podendo provocar uma “indefinida sensação de mal-estar”. Molina et al. (2011) referem que embora não se tenham encontrado referências científicas relativas ao seu conteúdo em etanol, o consumo de medronhos em avançado estado de maturação é popularmente tido como causador de sintomas de embriaguez; por outro lado Guerreiro et al. (2013) contrapõem que o baixo teor de etanol não pode causar tal sensação. Na análise das tendências da procura alimentar, temos de ter em consideração que os consumidores são todos diferentes. O que se designa por “consumidor médio” é uma minoria da sociedade (Alvensleben, 1997) e as motivações de procura de alimentos são: as necessidades nutritivas, a saúde, o prazer, por razões de conveniência e a segurança alimentar, no sentido da qualidade alimentar e da preservação do meio ambiente, nomeadamente nas sociedades com maior rendimento disponível. Moser et al. (2011) concluiu que a escolha de compra e a disponibilidade a pagar por frutas e legumes frescos é impulsionada principalmente por atributos pessoais como sejam: a saúde e a experiência em termos de qualidade. Salientou que o marketing direto nos sistemas agroalimentares localizados é “vencedor” do ponto de vista do consumidor, no entanto estes sistemas de marketing direto representa uma quota de mercado dos frutos e legumes muito pequena. As conclusões de Moser et al (2011) demonstram que o atributo “local” tem aumentado a sua relevância em comparação com os atributos, biológico e certificação e origem. O que parece indicar que os consumidores identificam o “local” com garantia de qualidade, sendo o atributo “local” uma ferramenta importante para a comunicação de outros atributos, como seja, a qualidade nutricional, a produção de modo sustentável e o apoio à economia local, resultados importantes para o mercado a analisar neste trabalho. Wills et al. (2009), concluiu que a rotulagem dos alimentos representa uma ferramenta que pode ajudar os consumidores a tomar decisões acerca da sua alimentação e estilo de vida no entanto, esta informação que está disponível nos Estados Unidos da América desde a muitos anos não evitou o aumento da obesidade e os consumidores manifestaram a confusão sobre a forma como tal informação é transmitida. O atributo “local” e a informação sobre este atributo pode ser uma ferramenta para a divulgação do medronho mas a rotulagem que é o veículo para a transmissão de informações sobre o produto pode ter um efeito contraditório.

No caso do medronho não existe ainda trabalho desenvolvido sobre o consumo em fresco, a comercialização existente é restrita a feiras locais e integrada em sistemas de comercialização muito curtos e com reduzida capacidade económica, sendo necessário conhecer a perceção do mercado e a disponibilidade a pagar (DAP) que é definida como o máximo valor que o consumidor está disponível a pagar por um produto ou serviço (Wertenbroch & Skiera, 2002). Carson, (1999), define DAP como o valor monetário representativa do excedente do consumidor antes e depois de introduzida uma alteração a um atributo específico ao produto sendo esta a área no qual muitos trabalhos se inserem. A DAP dos consumidores liga-se intrinsecamente à forma como o consumidor percebe a qualidade através de determinado atributo ou tenta observar o valor que os consumidores dão a determinados atributos, como seja a informação sobre o modo de produção ou a introdução de um atributo. Esta avaliação realiza-se aplicando diferentes metodologias, como sejam a do

inquérito e o método dos mercados experimental (Angulo & Gil, 2007; Kiesel & Villas Boas, 2007; E. Van Loo, et al, 2011; Rousseau & Vranken, 2011 e McCluskey & Loureiro, 2003).

Neste trabalho estes atributos não podem ainda ser avaliados de forma a serem validados do ponto de vista científico porque os consumidores não têm o fruto à sua disposição e não é possível compará-lo com outras situações e experiências. Para existir um mercado é necessário que os consumidores reconheçam a qualidade, tornando a definição de qualidade um elemento imprescindível. O conceito de qualidade tem duas dimensões: uma objetiva que se refere aos atributos técnicos desse produto e a dimensão subjetiva que refere a percepção do consumidor, ou seja, existe uma diferença entre a qualidade reconhecida por quem produz e a qualidade reconhecida pelo consumidor que é quem constitui o mercado. Segundo Grunert (2005), a relação entre estes dois conceitos está no cerne da importância económica do conceito de qualidade: somente quando os produtores conseguem traduzir o que o consumidor deseja para as características do produto físico, e estes podem inferir as qualidades do produto então nesse caso, a qualidade será um parâmetro de competitividade para produtores. Segundo Grunert (s.d) existe uma percepção da qualidade a nível horizontal e uma a nível vertical. A nível horizontal distingue a qualidade antes e depois da compra e a vertical inclui um conjunto de características intrínsecas ou extrínsecas e a forma de como os consumidores descobrem se esses atributos são os desejáveis através da ligação aos desejos motivadores do comportamento. Estes conceitos são importantes porque no caso de medronho não temos a situação da dimensão horizontal, através da experimentação do produto numa situação de mercado, vamos tentar observar a dimensão vertical, considerando o curto espaço de tempo que alguns consumidores contactam com este produto. A inferência na DAP não poderá ser vista de acordo com outros trabalhos apresentados na bibliografia, porque a experiência com o produto não existe pelo menos em situação de mercado e nos casos em que existe não é vista como uma fruta, mas algo que se podia consumir em meio rural por prazer de um produto distinto e fácil de apanhar. Este trabalho foi desenvolvido no âmbito de duas tarefas do projeto apoiado pela FCT “*Arbutus unedo plants and products quality improvement for the agro-forestry sector -PTDC/AGR-FOR/3746/2012*” e tem como o objetivo conhecer a percepção do consumidor sobre o consumo de medronho em fresco e a sua potencialidade em mercado.

Material e Métodos.

Tendo em consideração as diferentes técnicas quantitativas e qualitativas de investigação de mercados em produtos alimentares, optou-se pelo inquérito simples e curto ao consumidor após a prova de um medronho. Foram ainda observadas *in loco* as reações após a entrega do folheto informativo acerca do produto e do trabalho a ser realizado. O inquérito é e uma técnica muito conhecida e a mais popular em termos de investigação de mercado, mas não está isenta de interferências proveniente do entrevistador e o local e a hora terão efeitos sobre as respostas que só um estudo mais alargado poderá esclarecer. A melhor forma de aprender acerca da investigação de mercado é fazendo-a Goftan (1997). Foi considerando que este é um processo evolutivo na introdução de um novo produto na sua forma de consumir que este grupo de trabalho realizou este inquérito. Os frutos foram colhidos na região de Penacova no dia anterior à apresentação na Superfície Comercial. Foram selecionados os que apresentavam uma coloração laranja-vermelha, com peso ≥ 5 g, diâmetros equatorial e longitudinal $\geq 1,6$ e $1,5$ mm respetivamente, firmeza 16 a 25% (Agrosta 100 e ponteira 25), teor de sólidos solúveis 18 a 25 Brix e acidez cerca de 8,5 g/L ácido málico. Os medronhos testados foram retirados do seu estado selvagem em medronheiros selecionados mas não tratados com quaisquer produtos fitofarmacêuticos e sem adubação. Este fato foi referido aquando da prova do medronho e os inqueridos foram questionados sobre desejo da alteração do fruto por técnicas agronómicas. Em 21/10/2013 foram realizados 104 inquéritos (63,4%) no Hipermercado Jumbo na Superfície Comercial Dolce Vita de Coimbra, entre as 9-15 horas e no dia 12/12/2013 foram realizado 60 inquéritos (36,6%) no Supermercado Intermaché em Condeixa entre as 9-14 horas. Os frutos

colhidos para a apresentação no Hipermercado Jumbo, apresentavam diâmetros superiores e cores mais brilhantes do que os colhidos para a apresentação no supermercado Intermarché. Esta diferença foi devida às diferenças de época de colheita e não da região. Os dados foram analisados através do Software IBM SPSS 21. Para medir a intensidade de associação entre variáveis utilizou-se o coeficiente de correlação de Pearson (r), que é aplicado quando as variáveis seguem uma distribuição normal. Em algumas situações as variáveis não seguem a distribuição Normal. O Coeficiente de Spearman (r_o) é utilizado como alternativa e não é sensível a assimetrias na distribuição, não sendo exigido a presença da distribuição Normal. O quadro 2 resume os resultados dos inquéritos em número e em percentagem por cada das variáveis analisadas.

Resultados e Discussão

Para a caracterização da amostra em termos sociais foi questionada a idade e o género. Não foram realizadas perguntas sobre as características socioeconómicas dos inqueridos para não ocasionar apreensão e facilitar a realização do inquérito e não alterar a percepção da prova do fruto. Os inquiridos foram questionados sobre conhecimentos que detinham sobre o medronho, alguns já tinham ouvido falar mas nunca o tinham observado; nestes casos foi considerado que não detinham conhecimento. Dos inquiridos 131 (80%) já tinham provado ou observado o fruto e só 33 (20%) é que não o conheciam. Existe uma relação negativa baixa e significativamente diferente de zero, ($r=-,291$; r_o Spearman $=-,0281$; $p\text{-level} = 0,000 < 0,01$) entre o conhecimento do medronho e a idade. Cerca de 8% (Coeficiente de determinação - r^2) da variância da variável “conhecimento” é explicada pela idade. O conhecimento aumenta com a idade. Não existe uma relação significativa entre esta variável e as restantes. Alguns inquiridos relataram experiências anteriores com o fruto, mas para não enviesar a resposta, foi salientado a necessidade de responder acerca da prova realizada. Cerca de 39% mostrou-se muito satisfeita e 56% satisfeita com a prova. Dos inquiridos que não tinham tido contacto com o fruto 27% mostrou-se muito satisfeito e 73% satisfeito. O género feminino mostrou-se um grau de satisfação mais elevado; o grupo com idade ≤ 18 anos mostrou-se satisfeito, para as categorias de idade mais elevada a respostas são idênticas para a situação de muito satisfeito ou de satisfeito. Apesar das diferenças em termos percentuais não existem relações estatisticamente significantes entre o grau de satisfação, a idade, o género e o nível de conhecimento sobre o medronho, seja ao nível de significância de 10%, 5% ou 1%.

Foi solicitado que indicassem os três atributos do fruto que mais apreciaram por ordem decrescente de preferência os atributos. O atributo que foi mais vezes escolhido em 1ª preferência foi o Sabor, seguido da Cor. A textura foi o atributo escolhido em 1º lugar por 20% dos inqueridos. O Sabor foi também o atributo escolhido com maior frequência em 2º lugar, seguida da textura.

Existem duas correlações estatisticamente significativas a 5% do nível de significância entre os atributos “cor”, “outros” e o género. Na análise das correlações estatisticamente significativas (cor/género) e (outro/género) observamos que as mulheres foram mais sensíveis à cor, tendo 40 inquiridas (24% do total, 49% dos inquiridos do sexo feminino) selecionado este como o 1º atributo. Alguns dos inqueridos relacionaram a cor vermelha com a riqueza do fruto em antioxidantes, antes de lhe ter sido entregue o folheto com as características do fruto. Por outro lado, os homens mostraram-se mais indecisos quanto ao atributo que mais apreciaram, (género/cor, $r_o=-,173$, $p\text{-level}=0,042$; género/outros, $r=,642$, $p\text{-level}=,003$, $r_o=,660$, $p\text{-level}=,002$). Do ponto de vista de técnica de marketing os resultados indicam que existe uma relação significativa entre o género e o atributo “cor” e entre o género e “outros” atributos, e que poder-se-á atuar sobre a Cor para promoção do fruto.

Questionou-se os inquiridos acerca do interesse em alterar alguns dos atributos e 40% responderam que alteravam e 58% não alterava nenhum atributo. Em resposta aberta a maioria indicou que gostariam que o sabor fosse mais intenso. Acerca da disponibilidade de comparem

o fruto caso este estivesse à venda 87% dos inquiridos estariam dispostos a comprá-lo. Existe uma associação positiva baixa, estatisticamente significativa entre o grau de satisfação e a disponibilidade de compra ($r=,308$, $p\text{-level}=,000$; $ro=,239$, $p\text{-level}=,002$), ou seja, 9,5% da disponibilidade a comprar é explicada pelo grau de satisfação. Não existem outras associações estatisticamente significativas. Em relação aos inqueridos que mostraram a disponibilidade para a compra, estes foram questionados quanto à DAP. Esta questão é fulcral para o objetivo do trabalho e dos produtores de medronho, mas é uma questão sensível devido ao fato da resposta ser influenciada pelo inquiridor. Foi realizada a pergunta para uma embalagem de 125g, utilizada para a venda dos pequenos frutos, sendo apresentado ao inquirido a embalagem para melhor percepção em termos de dimensão e capacidade de carga da embalagem. Foi selecionada esta embalagem pelo fato de ser um fruto sensível ao toque, a pressão e por esta ser transparente permitindo assim a sua visualização. Os inquiridos que não responderam correspondem ao número dos que não estão disponíveis para a compra. Dos inqueridos que estavam disponível para comprar o fruto 61% mostrou-se disponível a pagar entre 1 e 1,5€ (exclusivo) e cerca de 26% dos inqueridos estavam disponíveis a pagar menos de 1 €. Na análise da correlação observa-se que existe uma associação negativa baixa estatisticamente significativa entre a DAP e a idade ($r=-,202$, $p\text{-level}=,015$; $ro=-,252$, $p\text{-level}=,002$). Não se observaram outras correlações estatisticamente significativas. Se consideramos a relação entre a DAP e o grupo de idade, o grupo com idade ≤ 18 anos está disponível a pagar entre 1 e 1,5€. Os dois grupos seguintes também apresentam uma disponibilidade a pagar entre o 1 e 1,5€. O grupo entre os 40 e 60 anos apresentaram uma DAP de valores mais elevados (1,5 – 2 €). Analisou-se a disponibilidade a pagar com o local do inquérito e não se observou qualquer associação, ou seja, não existem diferenças pelo fato de se ter realizado o inquérito numa grande superfície numa zona frequentada por um nível social mais urbano em relação a uma superfície mais pequena (supermercado) numa zona menos urbana como é Condeixa. Os inquiridos referiram de forma frequente o fato do medronho ser um fruto da juventude e da saudade. Deve-se salientar que alguns inquiridos foram influenciados na determinação do preço a pagar pelo fato de conhecerem o medronheiro e da dificuldade que existe na colheita deste para fins comerciais. Foi ainda referido o fato de o fruto estar disponível durante os passeios no campo sem necessidade de o pagar. Os inqueridos foram sensíveis ao folheto entregue após a realização do inquérito e salientaram o fato de ter propriedades antioxidantes e de ser um fruto português e da região Centro. Um estudo mais aprofundado deverá ser realizado nas zonas urbanas de Lisboa e Porto onde se concentra um número maior de consumidores justificando o custo logístico que este fruto poderá ter. Será ainda necessário realizar entrevistas às empresas distribuidoras de frutas frescas e aos responsáveis dos centros de venda ao consumidor final.

Conclusão

Como foi referido anteriormente estes resultados são provisórios: os inquiridos mostraram-se satisfeitos com o fruto, tendo sido sensíveis à cor e à relação da cor com o valor antioxidante e de ser um fruto local; verificou-se também que a entrega do folheto informativo ajudou nessa relação. No entanto, no momento de definirem um valor para o produto esse valor foi muito inferior em relação aos pequenos frutos que atualmente se comercializam. Foi referido por alguns inquiridos o fato de que o medronho ao ser comido provocar embriaguez ou indisposição. Os resultados laboratoriais, obtidos até à data, não conseguiram encontrar relação entre o consumo do fruto e a indisposição referida; podendo ser uma crença e não um fato. É pois importante ter essa variável em atenção visto que pode afetar a disposição a pagar. Será importante realizar uma pequena análise acerca das potencialidades do medronho como fruto livre de substâncias químicas de síntese. Esta primeira avaliação não permite dizer que nas atuais condições de cultivo do medronheiro, as produtividades obtidas e o preço que o consumidor está disposto a pagar seja uma cultura rentável para fruto fresco. Outros estudos são necessários e este é um dos passos para a diversificação e desenvolvimento do medronheiro.

Bibliografia

- Alarcão-E-Silva, M.L.C.M.M., Leitão, A.E.B., Azinheira, H.G. & Leitão, M.C.A. 2001. The Arbutus berry: Studies on its color and chemical characteristics at two mature stages, Journal of Food Composition and Analysis 14: 27–35.
- Alvensleben, R. 1997. Consumer Behaviour in Padberg, D.I., C. Riston, L.M. Albisu, eds. Agro-Food Marketing. New York: CAB International: 209-223.
- Angulo, A. & Gil, J.M. 2007. Risk perception and consumer willingness to pay for certified beef in Spain. Food Quality and Preference 18: 1106–1117.
- Ayaz, F.A., Kucukislamoglu, M. & Reunanen, M. 2000 Sugar, non-volatile and phenolic acids composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L. var *ellipsoidea*) fruits. Journal of Food Composition and Analysis 13:171–177.
- Carson, R. 1999. Contingent valuation: A user's guide. Discussion Paper 99-26. University of California, San Diego.
- E. Van Loo, V. Caputo, R. Nayga, J. Meullenet & S. Ricke 2007. Consumers' willingness to pay for organic chicken breast: Evidence from choice experimente Food Quality and Preference 22 (7): 603–613.
- Gofton, L. 1997. Marketing reserach in Padberg, D.I., C. Riston, L.M. Albisu, eds. Agro-Food Marketing. New York: CAB International: 225-252.
- Grunert, K. s.d. Current issues in the understanding of consumer food choice. The MAPP Centre, The Aarhus School of Business, Denmark, <http://www.fearp.usp.br/egna/resumos/Grunert.pdf>.
- Grunert, K. 2005. Food quality and safety: consumer perception and demand European Review of Agricultural Economics 32 (3): 369–391.
- Guerreiro, A.C., Gago, C.M.L., Miguel, M.G.C. & Antunes, M.D.C. 2013. The effect of temperature and film covers on the storage ability of *Arbutus unedo* L. fresh fruit. Scientia Horticulturae 159: 96–102.
- Kiesel, K. & Villas-Boas, S. 2007. Got Organic Milk? Consumer Valuations of Milk Labels after the Implementation of the USDA Organic Seal. Journal of Agricultural & Food Industrial Organization 5(1).
- McCluskey J. & Loureiro M. 2003. Consumer Preferences and Willingness to Pay for Food Labeling: A Discussion of Empirical Studies, Journal of Food Distribution Research 34(3), November.
- Molina, M., Pardo-De-Santayana, M., Aceituno, L., Morales, R. & Tradío, J. 2011. Fruit production of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) in two Spanish forests. Forestry 84 (4): 419-429.
- Moser, R. & Raffaelli, R. 2011. Credence-Based Attributes: A Review. International Food and Agribusiness Management Review 14 (2): 121-142.
- Oliveira, I., Baptista, P., Albino, B. & Pereira, J.A. 2011. *Arbutus unedo* L. and its benefits on human health (Review). Journal of Food and Nutrition Research 50 (2): 73–85.
- Orak, H., Aktas, T., Yagar, H., Isbilir, S., Ekinci, N. & Sahin, F. 2013. Antioxidant activity, some nutritional and colour properties of vacuum dried strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruit . Acta Sci. Pol., Technol. Aliment. 10(3): 327-338.
- Pallauf, K., Rivas-Gonzalo, J.C., del Castillo, M.D., Cano M.P. & Pascual-Teresa, S 2008. Characterization of the antioxidant composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits, Journal of Food Composition and Analysis 21: 273-281.
- Rousseau, S. & Vranken, L. 2011. The Impact of Information on the Willingness-to-Pay for Labeled Organic Food Products. Paper prepared for presentation at the EAAE 2011 Congress Change and Uncertainty August 30 to September 2,.

- Ruiz-Rodríguez, B-M., Morales, P., Fernández-Ruiz, V., Sánchez-Mata, M-C., Cámara, M., Díez-Marqués, C., Pardo-de-Santayana, M., Molina, M. & Tardío, J. 2011. Valorization of wild strawberry-tree fruits (*Arbutus unedo* L.) through nutritional assessment and natural production data. *Food Research International* 44: 1244-1253.
- Wertenbrock, K. & Skiera, B. 2002. Measuring consumers' willingness to pay at the point of purchase. *Journal of Marketing Research* 39: 228-241.
- Wills J., Schmidt, D., Pillo-Blocka, F. & Cairns, G. 2009 Exploring global consumer attitudes toward nutrition information on food labels, *Nutrition Reviews* 67(1): 102-106.

Quadros e figuras

Quadro 1 - Composição do medronho *versus* amora por 100g de peso edível

Elementos não Minerais	Medronho*	Amora**	Elementos Minerais	Medronho*	Amora**
Energia (kcal)	61,48-135,95	25,0-43,92	Potássio (mg)	79,72-323,14	160,0-189,0
Hidratos de carbono (g)	14,11-31,55	5,1-6,24	Cálcio (mg)	40,54-104,12	41,0-44,0
Fibra total (g)	10,04-22,27	3,1-3,16	Magnésio (mg)	9,56-45,85	23,0-30,0
			Vitamina C (mg)	122,0-262,7	15,0-17,0

*Ruiz-Rodriguez *et al.* (2011); ** <http://www.frutas-hortalizas.com>

Quadro 2 – Resultados dos inquéritos

Idade	Número de	(%)	Valor acumulado	Género		(%)	
				Número de inqueridos			
				Masc.	Fem.	\	Fem.
<=18	6	4	4	5	1	83	17
> 18 e <=25	20	12	16	9	11	45	55
>25 e <=40	22	13	29	5	17	23	77
>40 e <=60	50	31	60	16	34	32	68
>60	66	40	100	29	37	44	56
Total	164	100		64	100	39	61

Grau de Satisfação	Número	(%)	Conhecimento do medronho				Género			
			Sim (n°)	Não (n°)	Sim (%)	Não (%)	Masc. (n°)	Fem (n°)	Masc.(%)	Fem (%)
Muito satisfeito	64	39	55	9	42	27	19	45	30	45
Satisfeito	91	56	67	24	51	73	40	51	63	51
Insatisfeito	3	2	3	0	2	0	2	1	3	1
Muito insatisfeito	6	4	6	0	5	0	3	3	5	3
Total	164	100	131	33	100	100	64	100	100	100

Grau de satisfação	Número					Percentagem (%)				
	≤18	> 18 e ≤25	>25 e ≤40	>40 e ≤60	>60	≤18	> 18 e ≤25	>25 e ≤40	>40 e ≤60	>60
Muito satisfeito	1	4	7	21	31	17	20	32	42	47
Satisfeito	5	16	13	26	31	83	80	59	52	47
Insatisfeito	0	0	1	1	1	0	0	5	2	2
Muito insatisfeito	0	0	1	2	3	0	0	5	4	5
Total	6	20	22	50	66	100	100	100	100	100

Atributo		Textura			Cor			Aroma			Sabor			Outro		
Posição	Nº	%	% Acum.	Nº	%	% Acum.	Nº	%	% Acum.	Nº	%	% Acum.	Nº	%	% Acum.	
1º	33	20,1	26,8	53	32,3	41,4	6	3,7	10,7	65	39,6	44,2	1	0,6		
2º	47	28,7	65	38	23,2	71,1	16	9,8	39,3	52	31,7	79,6	5	3	5,3	
3 º	43	26,2	100	37	22,6	100	34	20,7	100	30	18,3	100	13	7,9	31,6	
Total	123	75		128	78		56	34,1		147	89,6		19	11,6	100	
Não selecionado	41	25		36	22		108	65,9		17	10,4		145	88,4		
Total	164	100		164	100		164	100		164	100		164	100		

		Cor			Total	Percentagem (%)				Outros			Total	Percentagem (%)			
		1ª	2ª	3ª		1ª	2ª	3ª	Total em 1ª	1ª	2ª	3ª		1ª	2ª	3ª	Total em 1ª
Sexo	Masculino	13	18	16	47	25	47	43	28	1	4	2	7	100	80	15	14
	Feminino	40	20	21	81	75	53	57	49	0	1	11	12	0	20	85	0
	Total	53	38	37	128	100	100	100	41	1	5	13	19	100	100	100	5

Preço em Euros por 125 g	Inqueridos	(%)	Percentagem das respostas validadas (%)	Valor acumulado (%)
< 1	38	23,2	26,2	26,2
≥1 e <1,5	88	53,7	60,7	86,9
≥1,5 e <2	16	9,8	11	97,9
≥2	3	1,8	2,1	100
Total	145	88,4	100	
Não responderam	19	11,6%		
Total	164	100%		

Preço em Euros por 125 g	Idade					Total
	≤18	> 18 e ≤25	>25 e ≤40	>40 e ≤60	>60	
< 1	0	4	3	9	22	38
≥1 e <1,5	6	11	12	28	31	88
≥1,5 e <2	0	5	2	7	2	16
≥2	0	0	1	1	1	3
Total	6	20	18	45	56	145
Distribuição percentual por grupos de idade (%)						
< 1	0	20	17	20	39	26
≥1 e <1,5	100	55	67	62	55	61
≥1,5 e <2	0	25	11	16	4	11
≥2	0	0	6	2	2	2
Distribuição percentual no total (%)						Total
< 1	0	11	8	24	58	100
≥1 e <1,5	7	13	14	32	35	100
≥1,5 e <2	0	31	13	44	13	100
≥2	0	0	33	33	33	100

Atmosfera controlada dinâmica na prevenção do acastanhamento interno em pera ‘Rocha’: eficácia dos sensores de etanol e de fluorescência de clorofilas

Teresa Deuchande¹, Susana M. P. Carvalho^{1,2}, Christian Larrigaudière³, Fernanda Fidalgo⁴, Umbelina Guterres², Nelson Isidoro⁵ & Marta Vasconcelos¹

¹CBQF - Centro de Biotecnologia e Química Fina – Laboratório Associado, Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa/Porto, Rua Arquitecto Lobão Vital, Apartado 2511, 4202-401 Porto

²Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Departamento de Geociências Ambiente e Ordenamento do Território, Rua do Campo Alegre 697, 4169-007 Porto, Portugal

³IRTA, Postharvest Department, Parc Científic i Tecnològic Agroalimentari, Parc de Gardeny, Edifici Fruitcentre, 25003 Lleida - Spain

⁴Biosystems & Integrative Sciences Institute (BioISI), Departamento de Biologia, Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Rua do Campo Alegre s/n, 4169-007 Porto, Portugal

⁵Coopval, Cooperativa Agrícola dos Fruticultores do Cadaval, Estrada Nacional 115, km 26, 2550-108 Cadaval, Portugal

Resumo

A pera ‘Rocha’ é suscetível ao desenvolvimento de acastanhamento interno (AI) durante o armazenamento prolongado em atmosfera controlada estática (ACE). Este estudo teve como objetivo avaliar o potencial da atmosfera controlada dinâmica (ACD) monitorizada por dois tipos de sensor (etanol e fluorescência de clorofilas) na prevenção do AI em pera ‘Rocha’, com ênfase no metabolismo fermentativo e sistema antioxidante. Neste estudo, peras de um pomar foram armazenadas em três câmaras comerciais de atmosfera controlada durante 145 dias, com as seguintes condições de armazenamento: 1) ACD monitorizada por um sensor de etanol (ACD-EtOH); 2) ACD monitorizada por um sensor de fluorescência de clorofilas (ACD-FC); 3) ACE. No final do armazenamento os frutos em ACD-FC e ACE não foram afetados por AI, ao contrário dos frutos armazenados em ACD-EtOH, os quais apresentaram uma incidência de 15% após 125 dias e 20% após 145 dias de armazenamento. A elevada incidência de AI nos frutos armazenados em ACD-EtOH após 125 dias pareceu estar maioritariamente relacionada com os elevados níveis de etanol observado nestes frutos, comparativamente com os níveis detetados nos frutos da ACD-FC e ACE. Embora, após 125 dias, tenha ocorrido uma diminuição dos níveis de ácido ascórbico nos frutos da ACD-EtOH, após 145 dias os frutos superaram este decréscimo e os valores foram superiores aos registados nos frutos das outras condições de armazenamento. Estes resultados sugerem que a utilização do sensor de fluorescência de clorofilas para ajustar os níveis de oxigénio durante o armazenamento em ACD é uma estratégia eficaz na prevenção do AI em pera “Rocha”. Pelo contrário, a informação dada pelo sensor de etanol parece ser insuficiente para evitar a indução do metabolismo fermentativo. Os resultados sugerem ainda, que a principal causa do AI em pera ‘Rocha’ poderá estar, primariamente relacionada com o metabolismo fermentativo.

Palavras-chave: acidentes fisiológicos, ácido ascórbico, baixo O₂, metabolitos fermentativos, *Pyrus communis*

Abstract

Dynamic controlled atmosphere in the prevention of internal browning in ‘Rocha’ pear: efficacy of the ethanol and chlorophyll fluorescence sensors

‘Rocha’ pear is susceptible to internal browning (IB) during long term storage under static controlled atmosphere (SCA). This study aimed to evaluate the potential of the dynamic controlled atmosphere (DCA) monitored by two types of sensors (ethanol and chlorophyll fluorescence) in the prevention of IB in ‘Rocha’ pear, focusing on the fermentative metabolism and antioxidant system. In this study, pears from one orchard were stored in three commercial controlled atmosphere chambers during 145 days, under the following storage conditions: (1) DCA monitored by an ethanol sensor (DCA-EtOH); (2) DCA monitored by a chlorophyll fluorescence sensor (DCA-CF); (3) SCA. At the end of storage the fruits stored under DCA-CF and SCA were not affected by IB, unlike the fruit stored in DCA-EtOH, which had an incidence of 15% after 125 days and 20% after 145 days of storage. The high incidence of IB in the fruits stored under DCA-EtOH, after 125 days, appeared to be mainly related with the high levels of ethanol in the fruits as compared to the levels detected in fruits of DCA-CF and SCA. Although, after 125 days of storage, there was a decrease in the levels of ascorbic acid in the fruits stored under DCA-EtOH, the fruits overcame this decrease and the values were higher than those recorded in the fruits of the other storage conditions after 145 days. These results suggest that the use of a chlorophyll fluorescence sensor to adjust the oxygen levels during storage under DCA is an effective strategy in preventing IB in ‘Rocha’ pear. On the contrary, the information provided by the ethanol sensor seems to be insufficient to prevent the induction of the fermentative metabolism. The results also suggest that the main cause of IB in ‘Rocha’ pear may be primarily related with the fermentative metabolism.

Keywords: ascorbic acid, fermentative metabolites, low O₂, physiological disorders, *Pyrus communis*

Introdução

A pera ‘Rocha’ é suscetível ao desenvolvimento de acastanhamento interno (AI) durante o armazenamento prolongado em atmosfera controlada estática (ACE). Em AC os baixos níveis de O₂ (entre os 2-3%) e elevados níveis de CO₂ combinados com a refrigeração contribuem para a redução da atividade metabólica dos frutos conferindo-lhes a capacidade de manter os seus atributos de qualidade durante o armazenamento prolongado. No entanto, em função do tempo de armazenamento, os reduzidos níveis de O₂ podem ocasionar uma situação de hipoxia no interior dos frutos causando stress oxidativo e induzindo a fermentação. O stress oxidativo e o uso da via fermentativa como via metabólica para produção de energia, podem levar à ocorrência de acidentes fisiológicos durante o armazenamento. Na base destes acidentes fisiológicos está por um lado o menor aporte de energia, havendo menos energia disponível para a regeneração celular e manutenção do sistema antioxidante (Veltman et al., 1999), e por outro lado a produção de metabolitos fermentativos que em concentrações elevadas podem ser tóxicos para as células. Com a utilização da atmosfera controlada dinâmica (ACD) pretende-se evitar a indução da fermentação e proporcionar as condições ótimas de armazenamento considerando a máxima retenção dos atributos de qualidade e a prevenção da incidência de acidentes fisiológicos durante o armazenamento prolongado. Em ACD a concentração de O₂ na atmosfera de armazenamento é progressivamente reduzida até ao limite mínimo tolerado pelos frutos (inferior a 1%), abaixo do qual o metabolismo respiratório passa de predominantemente aeróbio para anaeróbio. Quando o nível crítico de O₂ é atingido, a concentração de O₂ é ajustada com vista a repor as condições ótimas de armazenamento. A deteção do nível crítico de O₂ baseia-se na monitorização da resposta fisiológica dos frutos ao stress causado pelo baixo O₂ na atmosfera de armazenamento, a qual pode ser monitorizada através da utilização de sensores

especializados. Atualmente são utilizados três tipos de sensores capazes de detectar alterações significativas dos seguintes parâmetros: (1) quociente respiratório (rácio entre o CO₂ produzido/O₂ consumido) (Gasser et al., 2010); (2) fluorescência de clorofilas (FC) (Prange et al., 2002, 2003) e (3) produção de etanol (Schouten et al., 1997; Veltman et al., 2003). Ao longo de todo o período de armazenamento, de acordo com a informação dada pelo sensor utilizado, os níveis de O₂ são ajustados com vista a manter as condições ótimas de armazenamento. Os sensores devem ser suficientemente precisos para garantir que a atmosfera é ajustada antes que ocorram danos nos frutos decorrentes da utilização de baixas concentrações de O₂. O ajuste da composição gasosa pode ser automático, ou seja os sensores podem estar ligados a um sistema de controlo capaz de ajustar automaticamente os níveis de O₂ na câmara de AC, ou pode ser executado por um operador.

Prange et al. (2002, 2003) observaram, em vários frutos e vegetais, que para concentrações específicas de baixo O₂ o Fo (fluorescência mínima emitida quando o material vegetal está adaptado a condições de obscuridade) aumentava e o Fv/Fm (fluorescência variável/ fluorescência máxima que ocorre quando a luz aumenta até ao ponto de saturação) diminuía, sendo que essas concentrações específicas de O₂ correspondiam às estimadas como mínimas toleradas pelos respetivos produtos. Foi ainda observado que uma vez repostos os níveis de O₂ os valores de Fo baixavam para o valor inicial (Prange et al., 2003). Com base nestas observações os autores sugeriram a utilização de sensores de FC como um método rápido e não destrutivo para determinar o nível mínimo de O₂ aceitável para o armazenamento de frutos e vegetais. Os resultados obtidos nestes estudos levaram ao desenvolvimento do sistema HarvestWatch™ para aplicação em sistemas de atmosferas controlada, sendo atualmente amplamente utilizado para o armazenamento de maçãs em AC (Watkins, 2008). DeLong et al. (2007) demonstraram para duas variedades de maçãs, ‘Cortland’ e ‘Delicious’, que o armazenamento em ACD utilizando o sistema HarvestWatch™ permite uma melhor retenção dos atributos de qualidade do que o armazenamento em AC.

O sensor de etanol é capaz de detectar concentrações mínimas de etanol (50 ppb), no entanto, durante o armazenamento mesmo em níveis de O₂ acima do limite mínimo tolerado pelos frutos, por vezes há produção de metabolitos fermentativos, não ocorrendo contudo uma alteração no seu metabolismo respiratório (Peppelenbos & Oosterhaven, 1998). Schouten et al. (1997) demonstraram que o armazenamento de maçãs ‘Elstar’ em ACD-EtOH fazendo o ajuste dos níveis de O₂ de forma a manter as concentrações de etanol atmosférico abaixo de 1 ppm permitia uma melhor retenção dos atributos de qualidade do que o armazenamento em AC com níveis de O₂ ultrabaixos (ULO) (1,2% O₂+ 2,5% CO₂). Veltman et al. (2003) demonstrou, para a mesma variedade de maçã, que o armazenamento em ACD-EtOH contribui para uma maior retenção da firmeza e da cor quando comparado com o armazenamento em AC, conduzindo também a uma diminuição da incidência de ‘skin spots’, uma desordem fisiológica específica da maçã ‘Elstar’. No que respeita a pera ‘Rocha’ a utilização de ACD para o armazenamento prolongado ainda não foi estudada. Atendendo aos efeitos benéficos da utilização da ACD reportados noutros frutos, este estudo teve como objetivo avaliar o potencial da ACD, monitorizada por dois tipos de sensor (etanol e fluorescência de clorofilas), na prevenção do AI em pera ‘Rocha’ durante o armazenamento em condições comerciais, tendo por base o metabolismo fermentativo e o sistema antioxidante.

Material e Métodos

Material vegetal e delineamento experimental

As peras (*Pyrus communis* L. cv Rocha) foram colhidas de um pomar localizado no Cadaval (39 ° 16 'N, 9 ° 8' W) e armazenadas em três câmaras comerciais nas quais foram implementadas as seguintes condições de armazenamento: (1) AC estática (3% O₂ + 0,5% de CO₂, -0,5 ° C); (2) ACD monitorizada por um sensor de etanol (ACD-EtOH); (3) ACD monitorizada por um sensor de fluorescência de clorofilas (ACD-FC). As condições de

temperatura (-0,5 °C) e umidade relativa (95%) foram iguais em todas as câmaras. Nas duas câmaras de ACD os níveis de CO₂ foram mantidos a 0,5% durante todo o período de armazenamento e os níveis de O₂ foram ajustados de acordo com os dados obtidos pelos respectivos sensores. Durante o armazenamento em ACD-EtOH os níveis de O₂ foram mantidos entre 0,4 e 1%, enquanto durante o armazenamento em AC-FC a concentração de O₂ foi mantida entre 0,2 e os 1,2%.

À colheita e periodicamente durante o armazenamento foram preparadas amostras de polpa de pera (3 réplicas de 3 frutos cada) para a análise de ácido ascórbico, e amostras de sumo, utilizando 9 frutos, para a análise dos metabolitos fermentativos (etanol e acetaldeído). As amostras de polpa foram congeladas em azoto líquido e moídas numa picadora comercial sendo depois armazenadas a -80 °C até a análise. Os sumos de pera foram preparados numa liquidificadora comercial e filtrados em papel de celulose sendo congelados a -25 °C, temperatura à qual foram mantidos até a análise.

Estimativa da incidência e índice de acastanhamento interno

Para determinar a incidência de AI, foram avaliados 60 frutos em cada ponto experimental. Os frutos foram cortados longitudinalmente e transversalmente, sendo a incidência de AI expressa como a percentagem de frutos afetados pelo total de frutos observados.

Metabolismo fermentativo

As concentrações de etanol e acetaldeído foram determinadas como descrito por Ke et al. (1994) com pequenas modificações. Amostras de 10 ml de sumo de pera previamente preparadas como acima indicado, foram descongeladas a 4 °C e colocadas num vial de 20 ml com uma tampa de rosca com septo. Posteriormente, as amostras foram incubadas num banho a 65 °C durante 1 hora. Após o período de incubação 1ml de 'headspace' foi retirado com uma seringa de vidro de 1 ml e injetada num cromatógrafo de gás (HP 5890 II, Hewlett Packard) equipado com uma coluna CP-WAX 57 CB chromepack (0.25 mm x 50 m x 0.2 µm, Agilent Technologies Inc., EUA) e um detetor de ionização por chama (FID). As condições de operação foram as seguintes: temperatura do forno a 90 °C, temperatura do injetor 250 °C, temperatura do detetor de 220 °C. As análises foram feitas em triplicado.

Sistema antioxidante

As concentrações de ácido ascórbico (AsA) e dehidroascórbico (DHA) foram determinadas como descrito por Zapata & Dufour (1992), com algumas modificações. As amostras de polpa de pera (10 g) foram homogeneizadas em 10 ml de metanol/água (5:95 v/v) e HCl (10 g/L) usando um Ultra-Turrax (modelo IKA Labortechnik T 25, Staufen, Germany). O homogeneizado foi centrifugado a 5.000 rpm durante 15 minutos a 4 °C (Universal 320R, Hettich, Germany) e o sobrenadante foi filtrado num filtro de pregas. A 3 ml de extrato foi adicionado 1 ml de solução de dicloridrato de 1,2- fenilenodiamina (OPDA), sendo a mistura incubada durante 30 a 40 minutos a 4 °C e posteriormente filtrada através de um filtro de 0,45 µm. As amostras foram analisadas num HPLC equipado com um detetor UV-Vis (UV-1575), um injetor automático (AS-1555) e uma bomba (PU-1580), todos controlados por software adequado (Borwin v. 1.5, da Jasco Corporation, Japan). Para a separação do ácido ascórbico do dehidroascórbico foi utilizada uma coluna de fase reversa Spherisorb ODS2 5 µm (250 × 4,6 mm da Waters Corporation, USA). A fase móvel foi metanol/água (5:95, v/v) contendo 5 mM de cetrimida e 50 mM de dihidrogenofosfato de potássio. Durante as medições o fluxo foi mantido a 1,8 ml.min⁻¹ e o volume de amostra injetado foi de 20 µl.

Análise estatística

Os dados foram analisados em relação a diferenças significativas por análise de variância (ANOVA) utilizando o GraphPad Prism version 6.0 (San Diego, CA, USA). Os dados

apresentados nas figuras foram sujeitos a separação de médias utilizando-se o teste LSD (least significant difference) ($P=0,05$) para cada tempo de armazenamento.

Resultados e Discussão

Os frutos armazenados em AC e ACD-FC não foram afetados por AI, ao contrário dos frutos armazenados em ACD-EtOH, os quais ao fim de 125 dias apresentavam uma incidência de AI superior a 15% e de 20% após 145 dias de armazenamento (Fig. 1). DeEll et al. (1995) demonstraram que a metodologia de fluorescência de clorofilas (FC) é capaz de detectar situações de stress, em maçãs 'Marshall McIntosh', causadas por baixos níveis de O_2 e elevados níveis de CO_2 na atmosfera de armazenamento permitindo prevenir a incidência de acidentes fisiológicos durante o armazenamento. Laffer (2011) reportou também uma redução da incidência de AI em pera 'Uta', após 6 meses de armazenamento em ACD-FC, comparativamente com a observada nos frutos armazenados em AC. Contrariamente, Matheis et al. (2013) referiram o desenvolvimento de AI mais precocemente e com maior incidência em peras 'd'Anjou' armazenadas em ACD-FC do que em AC a 1,5% de O_2 . Estes autores, observaram ainda que o desenvolvimento de AI não produziu qualquer alteração no sinal de fluorescência de clorofilas sugerindo que este sensor poderá não detectar a situação de stress que conduz ao desenvolvimento de AI nesta cultivar de pera.

A elevada incidência de AI nos frutos armazenados em ACD-EtOH após 125 dias pareceu estar maioritariamente relacionada com os elevados níveis de metabolitos fermentativos presentes nestes frutos (53,3 μ l etanol/L e 7,6 μ l acetaldeído/L), quando comparados com os níveis detetados nos frutos da ACD-FC (23,9 μ l etanol/L e 6 μ l acetaldeído/L) e ACE (3,4 μ l etanol/L e 4,4 μ l acetaldeído/L) (Fig. 2A, 2B). Estes resultados sugerem que nos frutos armazenados em ACD-EtOH ocorreu uma alteração do metabolismo respiratório, passando de predominantemente aeróbio para anaeróbio a partir dos 75 dias de armazenamento (Fig. 2A, 2B). Os resultados obtidos neste estudo estão de acordo com os reportados por Deuchande et al. (2012), que demonstraram existir uma correlação positiva entre a incidência de AI e os níveis elevados de etanol e acetaldeído em pera 'Rocha'. Pinto et al. (2001) sugeriram também que estes metabolitos fermentativos poderão estar parcialmente envolvidos no desenvolvimento de AI em pera 'Blanquilla', porém estes autores consideraram que os níveis de etanol e acetaldeído são insuficientes para explicar o AI.

Relativamente aos níveis de ácido ascórbico total (AA), após 125 dias de armazenamento verificaram-se diferenças entre as concentrações presentes nos frutos armazenados nas diferentes atmosferas, sendo que os frutos com concentrações mais elevadas de AA foram os da ACD-FC (2,2 mg 100 g⁻¹ peso fresco) seguidos dos da ACE (1,8 mg 100g⁻¹ peso fresco) e por último os da ACD-EtOH (1,3 mg 100 g⁻¹ peso fresco) (Fig. 3). No entanto, após 145 dias de armazenamento os frutos da ACD-EtOH apresentaram níveis de AA superiores aos registados nos frutos das outras duas condições de armazenamento (Fig. 3). A diminuição dos níveis de AA nos frutos tem sido associada a uma maior suscetibilidade ao desenvolvimento de AI (Veltman et al., 2000). De acordo com Veltman et al. (1999), o AI surge quando a concentração de AA durante o armazenamento é reduzida abaixo de um determinado limite.

Os rácios de AA na forma oxidada e reduzida (DHA/AsA) foram inferiores nos frutos da ACD-FC durante todo o período de armazenamento comparativamente com os registados nos frutos das outras condições de armazenamento (Fig. 3). Estes resultados indicam que o armazenamento em ACD-FC poderá contribuir para uma menor exposição dos frutos a condições de stress oxidativo, permitindo a manutenção do seu potencial redox.

Conclusões

A ausência de incidência de AI nos frutos armazenados em ACD-FC poderá estar relacionada com a concentração inferior de metabolitos fermentativos no final do

armazenamento, em comparação com os observados nos frutos das outras duas condições de armazenamento. Estes resultados sugerem que a utilização do sensor de fluorescência de clorofilas para ajustar os níveis de O₂ durante o armazenamento em ACD é uma estratégia eficaz na prevenção do AI em pera "Rocha". Pelo contrário, o aparecimento precoce de AI, com elevada incidência nos frutos armazenados em ACD-EtOH, associado à produção de elevados níveis de metabolitos fermentativos, sugere que a informação dada pelo sensor de etanol poderá não ser suficiente para evitar a indução do metabolismo fermentativo. Os resultados sugerem ainda, que a causa do AI em pera 'Rocha' poderá estar, primariamente relacionada com o metabolismo fermentativo.

Os resultados deste estudo são promissores, no entanto este é apenas um ensaio preliminar, havendo a necessidade de desenvolver mais estudos envolvendo um maior número de pomares por um período de armazenamento mais prolongado, para poder concluir acerca da eficácia da utilização da ACD-FC na prevenção do AI em pera 'Rocha'.

Referências

- Blackman, F.F. 1928. Formulation of a catalytic system for the respiration of apples and its relation to oxygen. *Proceeding of Royal Society B* 103: 491-523.
- DeEll, J.R., Prange, R.K. & Murr, D.P. 1995. Chlorophyll fluorescence as a potential indicator of controlled-atmosphere disorders in 'Marshall' McIntosh apples. *HortScience* 30: 1084-1085.
- DeLong, J.M., Prange, R.K. & Harrison, P.A. 2007. Chlorophyll Fluorescence-Based Low-O₂ CA Storage of Organic 'Cortland' and 'Delicious' Apples. *Acta Horticulturae* 737: 31-37.
- Deuchande, T., Fidalgo, F., Larrigaudière, C. & Almeida, D.P.F. 2012. Internal browning disorders during storage of 'Rocha' pear: effects of harvest maturity and CO₂ partial pressure. *Avances en poscosecha de frutas y hortalizas* pp. 583-587.
- Gasser, F., Naunheim, W., Gabioud, S. & Bozzi Nising, A. 2010. Dynamic CA storage of apples: monitoring of the critical oxygen concentration and adjustment of optimum conditions during oxygen reduction. *Acta Horticulturae* 876: 39-46.
- Ke, D., Yahia, E., Mateos, M. & Kader, A.A. 1994. Ethanolic fermentation of 'Bartlett' pears as influenced by ripening stage and atmospheric composition. *Journal of American Society of Horticultural Science* 119: 976-982.
- Lafer, G. 2011. Effect of Different CA Storage Conditions on Storability and Fruit Quality of Organically Grown 'Uta' Pears. *Acta Horticulturae* 909: 757-760.
- Matheis, J., Felicetti, D. & Rudell, D.R. 2013. Pithy brown core in 'd'Anjou' pear (*Pyrus communis* L.) fruit developing during controlled atmosphere storage at pO₂ determined by monitoring chlorophyll fluorescence. *Postharvest Biology and Technology* 86: 259-264.
- Peppelenbos, H.W. & Oosterhaven, J. 1998. A theoretical approach on the role of fermentation in harvested plant products. *Acta Horticulturae* 464: 381-386.
- Pinto, E., Lentheric, I., Vendrell, M. & Larrigaudière, C. 2001. Role of fermentative and antioxidant metabolisms in the induction of core browning in controlled-atmosphere stored pears. *Journal of Science of Food and Agriculture* 81: 364-370.
- Prange, R.K., DeLong, J.M. & Wright, A.H. 2010. Chlorophyll Fluorescence: Applications in Postharvest Horticulture. *Chronica Horticulturae* 50 (1): 13-15.
- Prange, R.K., DeLong, J.M., Harrison, P.A., Leyte, J.C. & McLean, S.D. 2003. Oxygen concentration affects chlorophyll fluorescence in chlorophyll-containing fruit and vegetables. *Journal of American Society of Horticultural Science* 128: 603-607.

- Schouten, S.O.P., Prange, R.K., Verschoor, J., Lammers, T.R. & Oosterhaven, J. 1997. Improvement of quality of 'Elstar' apples by dynamic control of ULO conditions. *Postharvest Horticulture Series* 16: 71-78.
- Veltman, R.H., Verschoor, J.A. & Ruijsch van Dugteren, J.H. 2003. Dynamic control system (DCS) for apples (*Malus domestica* Borkh. cv 'Elstar'): optimal quality through storage based on product response. *Postharvest Biology and Technology* 27: 79-86.
- Veltman, R.H., Kho, R.M., van Schaik, A.C.R., Sanders, M.G. & Oosterhaven, J. 2000. Ascorbic acid and tissue browning in pears (*Pyrus communis* L. cvs Rocha and Conference) under controlled atmosphere conditions. *Postharvest Biology and Technology* 19: 129-137.
- Veltman, R.H., Sanders, M.G., Persijn, S.T., Peppelenbos H.W. & Oosterhaven, J. 1999. Decreased ascorbic acid levels and brown core development in pears (*Pyrus communis* cv. communis). *Physiologia Plantarum* 107: 39-45.
- Watkins, C.B. 2008. Dynamic controlled atmosphere storage - a new technology for the New York storage industry? *New York fruit quarterly* 16(1): 23-26.
- Zapata, S. & Dufour, J-P. 1992. Ascorbic, dehydroascorbic and isoascorbic acid simultaneous determination by reverse phase ion interaction HPLC. *Journal of Food Science* 57: 506-511.

Quadros e figuras

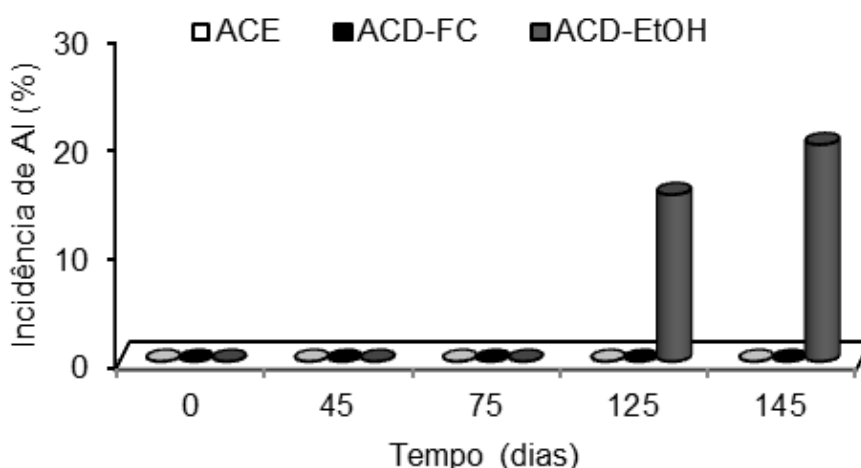


Figura 9: Efeito do armazenamento em atmosfera controlada estática (ACE) e atmosfera controlada dinâmica, monitorizada por um sensor de fluorescência de clorofilas (ACD-FC) e por um sensor de etanol (ACD-EtOH) na incidência de acastanhamento interno. Os valores de incidência representam a percentagem de frutos com acastanhamento interno pelo total de frutos observados (n = 60).

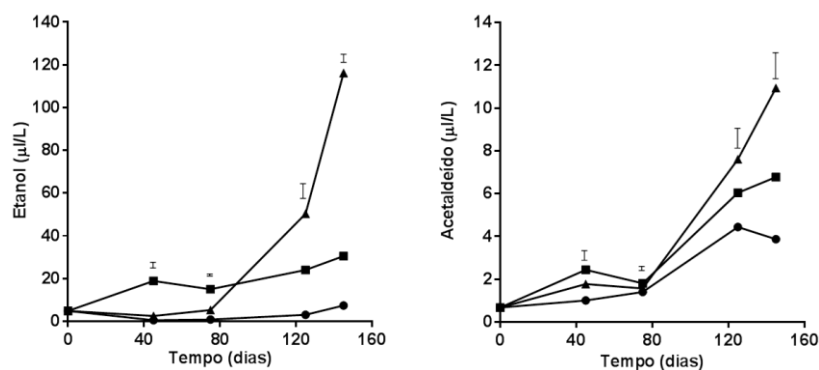


Figura 10: Efeito do armazenamento em atmosfera controlada estática (ACE) (●) e atmosfera controlada dinâmica, monitorizada por um sensor de fluorescência de clorofilas (ACD-FC) (■) e por um sensor de etanol (ACD-EtOH) (▲) nas concentrações de etanol (A) e acetaldeído (B). Os resultados representam a média de 3 réplicas de 3 frutos cada e as barras representam o valor do LSD ($P=0,05$).

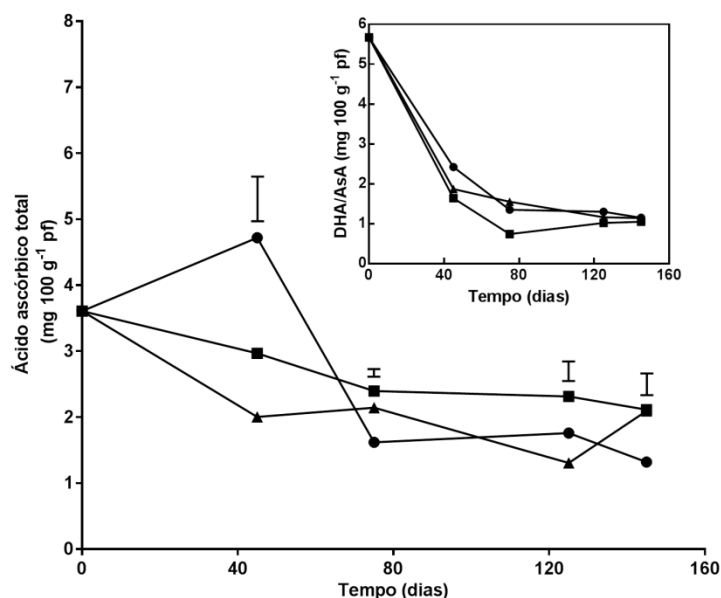


Figura 3: Efeito do armazenamento em atmosfera controlada estática (ACE) (●) e em atmosfera controlada dinâmica, monitorizada por um sensor de fluorescência de clorofilas (ACD-FC) (■) e por um sensor de etanol (ACD-EtOH) (▲) na concentração de ácido ascórbico total durante o armazenamento e no rácio entre o ácido ascórbico na forma oxidada (DHA) e reduzida (AsA) (gráfico complementar). Os resultados representam a média de 3 réplicas de 3 frutos cada e as barras verticais representam o valor do LSD ($P=0,05$).

Qualidade da pera 'Rocha': efeito do tempo de prateleira na textura e na preferência do consumidor¹⁴

Cristina M. Oliveira¹, Ana Garcia², Mariana Mota¹ e André Alpalhão³

¹DCEB, CEER, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa, crismoniz@isa.ulisboa.pt, mariana@isa.ulisboa.pt

²FRUTUS, Estação Fruteira do Montejunto, EN 366, KM 4, Cadaval, ana.garcia@frutus.pt

³SELECTIS, Herdade das Praias, Apartado 120 E.C. Bonfim, Setúbal, aalpalhao@selectis.pt

Resumo

Em pera 'Rocha' oriunda de dois pomares foram avaliadas características de qualidade (teor de sólidos solúveis (TSS), firmeza e cor) e efetuadas análises sensoriais por provadores treinados, após um período de prateleira de 2, 4, 6 e 8 dias a 20° C, com o objetivo de estabelecer uma eventual relação entre textura e preferência do consumidor. Num primeiro ensaio foram estabelecidas três classes de textura: firme, frutos com 2 dias de prateleira e firmeza > 4,5 0,5 kg cm⁻² textura média, frutos com 4 dias de prateleira e firmeza entre 4,5 to 2 0,5 kg cm⁻² e fundentes, frutos com 6 dias de prateleira e firmeza < 2,0 0,5 kg cm⁻². Para validar estes resultados foi realizado um segundo ensaio sensorial no qual participaram 45 provadores, com peras da classe de calibre 60-65 mm e semelhante TSS. Verificou-se que os provadores foram capazes de distinguir as 3 classes de textura e o nível de preferência estava relacionado com a textura e cerca de metade preferiu peras fundentes e metade peras firmes. Apesar de se verificar uma regressão linear significativa ($P < 0,001$) entre a cor e firmeza, o coeficiente de determinação foi muito baixo ($R^2 = 0,153$) o que significa que as peras de uma classe de textura têm diferentes valores de tonalidade (h° , ângulo hue) e a cor só pode ser usada para distinguir entre peras firmes e fundentes. Adicionalmente 310 entrevistas individuais foram realizadas na zona da grande Lisboa, com o objetivo de verificar os hábitos de compra e consumo de pera 'Rocha', resultando que 52% preferem peras firmes mais verdes e 48% preferem mais peras maduras e fundentes. Os resultados das entrevistas estão de acordo com os resultados de testes sensoriais, dois graus de maturação podem diferenciar o produto, favorecendo a sua comercialização de forma a satisfazer o consumidor.

Palavras-chave: avaliação sensorial, cor, diferenciação do produto, firmeza, *Pyrus communis*

Abstract

Effects of shelf-life in texture and consumer preference of 'Rocha' pear.

Aiming to access the relation between texture and consumer preference, quality characteristics of fruits (total soluble solids, firmness and colour) from 2 orchards were evaluated immediately after a shelf-life period of 2, 4, 6 and 8 days at 20 °C and subjected to sensory texture evaluation by trained assessors. Three classes of texture: Firm= fruits with 2 days of shelf life and firmness > 4.5 0.5 kg cm⁻², medium = fruits with 4 days of shelf life and firmness between 4.5 to 2 0.5 kg cm⁻² and soft = fruits with 6 days of shelf life and firmness <

¹⁴ Este artigo é uma adaptação de uma comunicação oral apresentada no XII International Pear Symposium, Leuven, 14-19 julho de 2014, e foi submetida como artigo à Acta Horticulturae.

2.0 0.5 kg cm⁻² were found. To validate these results a consumer's sensory test was done, consumers were able to distinguish the 3 classes of texture and the preference level was related to texture, overall the preferred texture class was medium, and about half like soft pears and half like firm pears. Despite the significant linear regression ($P < 0.001$) between colour and firmness, R^2 was very low ($=0.153$) which means that pears of a texture class have different values of hue (h°) and colour can only be used to distinguish between very hard and very soft pears. These results are in agreement with three hundred and ten personal interviews carried out, where 52% prefer more green and crunchy pears and 48% prefer more mature and soft pears. Two degrees of ripening might differentiate the product and could be beneficial for the marketing of this fruit, in order to meet consumer demands.

Keywords: colour variation, firmness, *Pyrus communis*, ripening, sensory quality of fruit

Introdução

A pera Rocha, de acordo com as normas da Comunidade Europeia, é um produto com denominação de origem protegida (DOP), de alta qualidade que cobre uma área geográfica marcada por temperaturas amenas durante todo o ano, devido à influência atlântica. A estimativa do consumo médio per capita de pera em Portugal é cerca de 7 kg, podendo-se concluir que o mercado nacional é insuficiente e as exportações representam uma parte significativa do valor da produção. Atualmente, o mercado exige pomares mais produtivos, porém a qualidade do fruto é cada vez mais importante e a prioridade é a produção de peras com excelentes características sensoriais. A pera 'Rocha' é uma fruta média de tamanho pequeno (130 g), que cuja epiderme varia de verde a amarelo e cuja polpa varia de crocante a macia-fundente, dependendo do amadurecimento. A textura da pera é, provavelmente, o principal fator limitante para a aceitação num mercado com foco no consumidor. Assim, o conhecimento da variação de firmeza durante o amadurecimento de frutos e a preferência do consumidor são de extrema importância. De acordo com Predieri e Gatti (2009) a variação da cor da epiderme poderá ser uma indicação visual de amadurecimento e ser útil para ajudar os consumidores a comparar frutas em diferentes fases de maturação. Os objetivos deste trabalho foram investigar as alterações da textura durante o período de prateleira quantificada através da medição da firmeza com o penetrómetro, definir as classes de textura que os consumidores consideram como firme, média e fundente, perceber qual a preferência dos consumidores e se a firmeza se relaciona com a cor da epiderme medida com o colorímetro. Em resumo, é possível diferenciar o produto com base na textura, a fim de atender à procura dos consumidores?

Material e Métodos

O método utilizado neste trabalho foi semelhante ao de Predieri e Gatti (2009) realizado com a cultivar Abate Fétel, no entanto, considerando que a pera 'Rocha' é uma cultivar muito diferente realizaram-se algumas adaptações.

As peras vieram de dois pomares denominados por Juncal e Várzea Velha localizados na Sobrena, Peral, Cadaval, representativos da região de produção da pera 'Rocha'. No Juncal as pereiras 'Rocha' foram enxertadas em BA29, espaçadas 4 x 1,5 m (1666 árvores ha⁻¹) e foram plantadas in 1984; na Várzea, o porta-enxerto era o BA29, o espaçamento de 4 x 2,3 m (1087 árvores ha⁻¹) e foram plantadas in 1987. Em ambos os pomares o sistema de condução é o eixo central revestido. A produtividade em 2013 do Juncal e da Várzea foi 53 e 10,5 t ha⁻¹, respetivamente. Os frutos foram colhidos na maturação comercial, a 2 de setembro de 2013 a partir de árvores com uma carga típica. Os frutos foram armazenados numa câmara comercial de atmosfera normal a uma temperatura que variou entre -1 e 0 ° C e a humidade relativa (HR) 98-99%. As características de qualidade foram medidas imediatamente após a colheita em 40 frutos por pomar.

As características avaliadas foram: a massa (PF), medido com uma balança de precisão ao centígrama (Kern 572), o diâmetro com um paquímetro digital (IP67, Mitutoyo), a firmeza da polpa com um penetrômetro (FT 327) equipado com uma sonda de 8 mm e a cor (L, a, b) com um colorímetro (Minolta CR 400). No caso da firmeza e da cor efetuaram-se duas medições por fruto em zonas diametralmente opostas. Nas análises químicas, realizaram-se sumos com quartos de cinco peras por amostra e nesses sumos fizeram-se as determinações. As análises efetuadas foram as normalizadas para a pera Rocha, a acidez titulável foi determinada pela titulação de 10 mL de sumo com 0,1 N de NaOH até ao ponto de pH 8,1 (expressa em g de ácido málico por L de sumo) e o teor em sólidos solúveis (TSS) foi medido em cada amostra de sumo através de um refratômetro digital (Hanna instruments, Modelo HI 96801). As componentes da cor foram determinadas de acordo com McGuire (1992).

Após um período de conservação de 10 semanas, amostras de 40 frutos por pomar (N=40) foram retiradas da câmara e determinou-se o TSS, a firmeza e cor dos frutos após um período de prateleira de 2, 4, 6 e 8 dias a 20° C. Avaliou-se a regressão linear entre a cor e firmeza destas peras. A textura sensorial de fatias sem epiderme dessas peras foi avaliada por um painel de 8 provadores treinados através de uma escala linear de 10 cm (0=firme a 10=fundente) e quantificada medindo a distância da origem à marca (Dever et al., 1996). Cada provador avaliou 3 fatias de pera por pomar e tempo de prateleira (amostras codificadas). Nesta prova também foi perguntado a preferência (pomar e dia de prateleira). Este teste foi efetuado a 20 de novembro de 2013 e teve como objetivo criar uma escala de firmeza sensorial.

Em peras do pomar do Juncal conservadas durante 14 semanas após um período de prateleira de 2, 4, 6 e 8 dias a 20° C, determinaram-se as características de qualidade (TSS, a firmeza e cor dos frutos). Avaliou-se a regressão linear entre a cor e firmeza destas peras. O teste sensorial realizou-se com um grupo de 45 consumidores, com idades entre 23 e 70 anos, 23 do género feminino e 22 masculino. O calibre dos frutos era o mais representativo da pera 'Rocha', 60-65 mm e o TSS das peras era semelhante ($P > 0,05$) de forma a não influenciar os resultados. De forma a evitar que as fatias acastanhassem, as fatias foram cortadas mesmo antes da prova e colocadas em pratos codificados. Aos consumidores foi pedido que classicassem cada amostra como firme, média ou fundente e indicassem numa escala hedónica de 5 pontos (adaptada de Lawless and Heymann, 1998) qual a textura (1 - firme, 2 - média e 3 - fundente) e grau de preferência: 1- não gosta nada, 2- não gosta medianamente, 3- não gosta nem desgosta, 4 - gosta medianamente, 5 - gosta muito.

Os dados foram analisados por ANOVA e as médias comparadas com o teste de Tukey ($\alpha = 0,05$) usando o software Statistix 9 (Analytical Software, Tallahassee, Florida).

Resultados e Discussão

Os resultados da caracterização da qualidade à colheita estão apresentados no quadro 1. Excetuando o TSS e a tonalidade da epiderme, os frutos dos dois pomares apresentaram diferentes características, resultando da variabilidade que normalmente existe entre locais e técnicas culturais. No entanto, após 10 semanas de conservação (quadro 2), não se registaram diferenças significativas entre os dois pomares na firmeza e na tonalidade da epiderme das peras, em média os frutos do pomar do Juncal tinham um TSS mais elevado do que a Várzea (12,7% e 12,2% respetivamente, $P < 0,01$). Os provadores discriminaram com mais precisão a firmeza dos frutos da Várzea. Considerando como critério a relação a média \pm o desvio padrão da firmeza medida com o penetrômetro e a classificação sensorial da firmeza pelos provadores foram estabelecidas três classes de textura: firme, frutos com 2 dias de prateleira e firmeza $> 4,5$ $0,5 \text{ kg cm}^{-2}$, textura média, frutos com 4 dias de prateleira e firmeza entre $4,5$ a $2,0$ $0,5 \text{ kg cm}^{-2}$ e fundentes, frutos com 6 dias de prateleira e firmeza $< 2,0$ $0,5 \text{ kg cm}^{-2}$.

A tonalidade variou de verde para mais amarelo entre as classes mas o coeficiente de determinação foi baixo ($r^2 = 0,623$) com $P < 0,001$. Durante a maturação das peras há normalmente uma perda significativa da tonalidade verde, registada para 'Beurré Bosc' e

‘Doyenné du Comice’ (Elgar et al., 1997), e para a ‘Williams’ (Agar et al., 1999; Bower et al., 2003) e ‘Abate Fetel’ (Predieri and Gatti, 2009). No caso da ‘Rocha’ (quadro 2) também se registou uma perda estatisticamente significativa, ($P < 0,001$) e considerando os frutos de ambos os pomares verificou-se uma regressão linear estatisticamente significativa ($P < 0,001$) com um coeficiente de determinação (r^2) relativamente baixo ($r^2=0,623$). De acordo com o quadro 2, a tonalidade foi apenas significativamente diferente ($P < 0,001$) entre peras com 2 dias e prateleira e 6 dias de prateleira.

Na prova pediu-se aos provadores que indicassem qual a sua preferência em relação às peras com 2, 4, 6, e 8 dias de prateleira. No quadro 3 verifica-se que face aos 1ºs e 2ºs lugares de preferência as peras com 4 dias de prateleira obtiveram o maior número de preferência (13); a seguir as de 2 dias (9), depois as peras com 6 dias de prateleira (8) e por último as peras de 8 dias de prateleira (4).

Em relação ao teste efetuado aos consumidores verificou-se que estes conseguiram distinguir as três classes de textura (quadro 4). 93 % dos consumidores atribuíram uma pontuação > 3 às peras de textura média. Em relação à preferência das outras classes, 67% prefere peras fundentes e 64% prefere firmes.

Apesar de se verificar uma regressão linear significativa ($P < 0,001$) entre a tonalidade da epiderme e firmeza medida com o penetrómetro de peras das 3 classes de textura, firme, média e fundente (fig. 1), o coeficiente de determinação (R^2) foi muito baixo (0,153) o que significa que as peras de uma classe de textura têm diferentes valores de tonalidade (h°) e a cor só pode ser usada para distinguir entre peras firmes e fundentes.

Os resultados deste teste estão de acordo com os resultados das 310 entrevistas realizadas (Oliveira, 2007) na zona da grande Lisboa, com o objetivo de verificar os hábitos de compra e consumo de pera ‘Rocha’, resultando que 52% preferem peras firmes mais verdes e 48% preferem mais peras maduras e fundentes. Dois graus de maturação podem diferenciar o produto, favorecendo a sua comercialização de forma a satisfazer o consumidor. Em Itália, Predieri et al., (2007) propõe para a cultivar Abate Fetel 3 graus de maturação.

Conclusões

A quantificação das componentes da qualidade tem que ser definida para cada cultivar. Foi possível estabelecer uma relação entre firmeza medida pelo penetrómetro e as características de textura firme, média ou fundente, avaliadas sensorialmente. Frutos com 2, 4, e 6 dias de prateleira correspondem a peras destas classes, respetivamente. Cerca de metade dos consumidores gosta de peras firmes e crocantes e metade peras macias e fundentes. Dois graus de maturação podem diferenciar o produto, favorecendo a sua comercialização de forma a satisfazer o consumidor. Em pera ‘Rocha’, embora se verifique uma mudança na cor da epiderme durante o amadurecimento não se registou uma regressão significativa entre frutos de três classes de textura e a tonalidade, isto é, a cor pode ser usada para distinguir entre peras firmes e fundentes.

Agradecimentos

Este trabalho teve suporte financeiro do Programa PRODER projeto FRUTOROCHA - Medida 4.1.Cooperação para a Inovação. PA nº 020226012386/7/8

Referências

- Agar, I.T., Biasi, W.V., Mitcham, E.J., 1999. Exogenous ethylene accelerates ripening responses in Bartlett pears regardless of maturity or growing region. *Postharvest Biol. Technol.* 17: 67–78.
- Bower, J.H., Biasi, W.V., Mitcham, E.J., 2003. Effect of ethylene in the storage environment on quality of ‘Bartlett’ pears. *Postharvest Biol. Technol.* 28: 371–379.

- Elgar, H.J., Watkins, C.B., Murray, S.H., Gunson, F.A., 1997. Quality of 'Buerre Bosc' and 'Doyenne du Comice' pears in relation to harvest date and storage period. *Postharvest Biol. Technol.* 10: 29–37.
- Dever, M.C., MacDonald, R.A., Cliff, M.A. 1996. Sensory evaluation of sweet cherry cultivars. *HortScience* 31: 150–153.
- Lawless, H.T., Heymann, H. (Eds.), 1998. *Sensory Evaluation of Food. Principles and Practices*. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht.
- McGuire, R.G. 1992. Reporting of objective color measurements. *HortScience* 27(12): 1254–1255.
- Oliveira C. M. (Editor), 2007. *Tecnologia Pós-colheita para a Melhoria da Qualidade e Segurança Alimentar de Pera, Maçã e Kiwi*. ISAPress
- Predieri, S. and Gatti, E. 2009. Effects of cold storage and shelf-life on sensory quality and consumer preference of 'Abate Fetel' pears. *Postharvest Biology and Technology* 51 (3): 342–348.

Quadros e figuras

Quadro 1. Valores médios do diâmetro, massa, tonalidade, teor de sólidos solúveis, acidez titulável e firmeza de frutos de 'Rocha' de dois pomares (Juncal e Várzea) à colheita (2 de setembro de 2013). Nível de significância P ou n.s. (não significativo), de acordo com a análise de variância (ANOVA). Médias seguidas pela mesma letra não são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($\alpha \leq 0,05$).

Pomar	Diâmetro (mm)	Massa (g)	Tonalidade (h°)	TSS (%)	AT (ml L ⁻¹ sumo)	Firmeza (0,5 kg cm ⁻²)
Juncal	64,7 a	157,2 a	105,6	12,9	2,1 a	6,0 a
Várzea	62,5 b	137,6 b	107,2	12,4	1,8 b	6,5 b
Prob (F)	<0,001	<0,001	n.s.	n.s.	0,002	<0,001

Quadro 2. Características de qualidade das peras com 2, 4, 6 e 8 dias de prateleira após 10 semanas de conservação. Nível de significância P ou n.s. (não significativo), de acordo com a análise de variância (ANOVA). Médias seguidas pela mesma letra não são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($\alpha \leq 0,05$). N=12 peras por pomar e dia de prateleira.

Dias de prateleira	JUNCAL				VÁRZEA			
	Firmeza (0,5 kg cm ⁻²)	Textura* (1-10)	Tonalidade (h°)	TSS (%)	Firmeza (0,5 kg cm ⁻²)	Textura* (1-10)	Tonalidade (h°)	TSS (%)
2	5,8 a	1,3 c	106,4 a	12,8	5,1 a	1,4 d	105,3 a	11,9 b
4	3,1 b	6,0 b	101,5 ab	12,7	3,2 b	4,5 c	103,8 a	11,8 b
6	1,8 c	7,5 a	99,3 c	12,7	2,0 c	6,7 b	97,3 b	11,8 b
8	1,0 d	8,6 a	94,0 d	12,5	1,2 c	8,6 a	94,0 b	13,3 a
Prob (F)	<0,001	<0,001	0,000	n.s.	<0,001	<0,001	<0,001	0,004

*A textura foi avaliada numa escala de 10 cm (0=firme to 10=fundente).

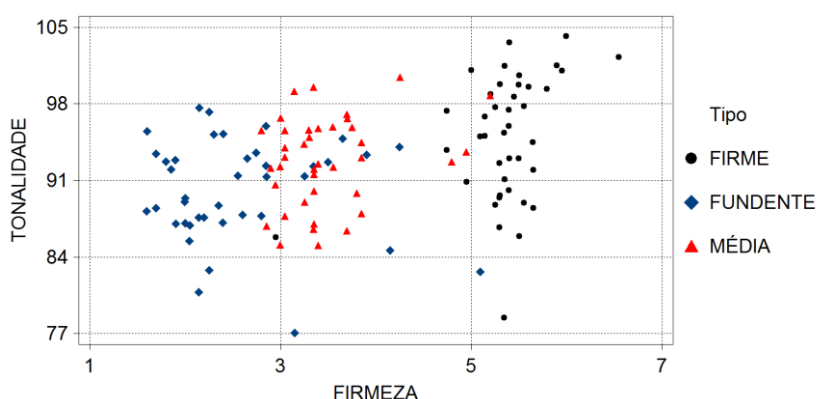
Quadro 3. Número de provadores e ordem de preferência de peras com 2, 4, 6, e 8 dias de prateleira, considerando os dois pomares e 8 provadores.

Preferência	2 dias	4 dias	6 dias	8 dias
1º lugar	7	4	4	1
2º lugar	2	9	4	3
3º lugar	2	2	8	2
4º lugar	5	1	0	10

Quadro 4. Características das peras e resultados da prova de 16 de dezembro de 2103 com 2, 4 e 6 dias de prateleira após conservadas em câmara durante 14 semanas. Nível de significância P ou n.s. não significativo, de acordo com a análise de variância (ANOVA). Médias seguidas pela mesma letra não são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($\alpha \leq 0,05$).

Dias de prateleira	Firmeza (0,5 kgm cm ⁻²)	Classes Textura* (1-3)	Preferência** (1-5)	Tonalidade (h°)	TSS (%)
2	5,4 a	1,0 c	3,7 b \pm 1,2	95,2 a	12,9
4	3,5 b	2,0 b	4,3 a \pm 0,6	92,5 b	13,1
6	2,5 c	2,7 a	3,8 b \pm 1,2	90,2 b	13,0
Prob (F)	< 0,001	< 0,001	0,01	< 0,001	n.s.

*Na prova organoléptica pediu-se aos 45 participantes para classificar a textura das peras como 1 - firme, 2 - média e 3 - fundente. **Preferência: 1- não gosta nada, 2- não gosta medianamente, 3- não gosta nem desgosta, 4 - gosta medianamente, 5 - gosta muito. Teste efetuado a 45 consumidores.

Figura 1. Relação entre tonalidade (h°) e firmeza (0,5 kg cm⁻²) de peras de textura firme, média e fundente. N=40 peras de cada tipo.

Estudo comparativo do teor em fitoquímicos de pequenos frutos produzidos em Portugal e provenientes de mercados longínquos

Alfredo Aires^{1*}, Rosa Paula M. Carvalho², Eduardo Rosa^{1,2}, Berta Gonçalves^{1,3} & Ana Paula Silva^{1,2}

¹Centro de Investigação e de Tecnologias Agro-Ambientais e Biológicas, CITAB, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, UTAD, Quinta de Prados, 5001-801 Vila Real, Portugal, alfredo@utad.pt, bertag@utad.pt, asilva@utad.pt

²Departamento de Agronomia, Escola de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, UTAD, Quinta de Prados, 5001-801 Vila Real, Portugal, rpaula@utad.pt, asilva@utad.pt

³Departamento de Biologia e Ambiente, Escola de Ciências da Vida e do Ambiente, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, UTAD, Quinta de Prados, 5001-801 Vila Real, Portugal, bertag@utad.pt.

Resumo

Assiste-se em Portugal a um forte crescimento do sector dos pequenos frutos, com especial relevo para o mirtilo e framboesa. A vantagem competitiva que Portugal pode oferecer é permitir uma maior precocidade da oferta para os mercados do centro e norte da Europa, relativamente aos mercados longínquos do continente Centro e Sul-americano. Devido às suas condições edáfo-climáticas, Portugal pode produzir desde o inverno até à primavera e deste modo abastecer os mercados com produções precoces. A menor distância associada a uma maior precocidade poderá resultar numa significativa redução dos custos de comercialização e na oferta de um produto de superior qualidade nutricional. Neste contexto, apresentamos este trabalho no qual avaliamos qualitativamente a produção de amora (*Rubus* sp.), framboesa (*Rubus idaeus*), groselha (*Ribes uva-crispa*), e mirtilo (*Vaccinium corymbosum*) produzidos em Portugal, México, Holanda e Chile. Para tal, foram determinados por HPLC-DAD os teores em vitamina C, compostos fenólicos, ácidos orgânicos e açúcares. Foi também determinada a atividade antioxidante pelos métodos de aprisionamento de radicais 2,2-difenil-1-picrylhydrazil (DPPH), da inibição de radicais de 2,20-azino-bis (ácido 3-ethylbenzthiazoline-6-sulfônico) (ABTS), da redução de Fe²⁺ em Fe³⁺ (poder redutor) e ainda pela quelatização de metais. De acordo com os resultados os frutos produzidos em Portugal destacam-se por apresentarem menores teores em sacarose (amora), maiores teores em vitamina C (framboesa e groselha), maiores teores em ácido cítrico, (framboesa), ácido glucónico e ácido málico (amora) e ácido quínico (mirtilo) e maiores teores em fenóis totais (mirtilo, amora e groselha). Verificou-se ainda que mirtilo, groselha e amora apresentam quantidades consideráveis de compostos fenólicos associados a propriedades benéficas à saúde humana, nomeadamente ácido clorogénico, rutina, e antocianinas de diferentes tipos entre as quais: delfinidinas, cianidinas e malvidinas. A maior atividade antioxidante foi encontrada para a groselha produzida em Portugal. Com base nestes resultados, podemos inferir que o elevado teor em compostos bioativos e antioxidantes dos pequenos frutos produzidos no país associada a uma maior proximidade dos mercados Europeus poderá ser uma vantagem competitiva para a fileira.

Palavras-chave - Qualidade nutricional, atividade antioxidante, compostos bioativos.

Abstract

Nowadays there is an increase business of small fruits in Portugal with special emphasize for blueberry and raspberry. The enormous advantage of Portugal resides on the precocity of their production and thus, Portugal can offer to northern and central Europe markets fresh production sooner than the other traditional producers placed in Centre and South

America. Based on their type of soils and climate conditions, Portugal can produce during the entire winter and spring small fruits, and thus associated with minor distance to northern and central Europe can offer productions with precocity and high quality. Nevertheless few studies have been published about the quality of the small fruits produced in Portugal. Therefore, we set this study aiming the evaluation of nutritional quality and health potential benefits of blackberry (*Rubus* sp.), raspberry (*Rubus idaeus*) currant (*Ribes uva-crispa*), and blueberry (*Vaccinium corymbosum*) from different origins: Portugal, Mexico, Holland and Chile. We evaluate several bioactive compounds such as phenolics, vitamin C, organic acids and free sugars with HPLC-DAD/VIS methods. The antioxidant activity was measured using the scavenging activity of 2,2-difenil-1-picrylhydrazil (DPPH) radical, scavenging activity of 2,20-azino-bis (acid 3-ethylbenzthiazoline-6-sulfônico) (ABTS) radical reduction capacity of Fe^{2+} in Fe^{3+} and Fe^{2+} -metal chelating assays. Our results showed that fruits produced in Portugal has minor amounts of sucrose (blackberry), higher levels vitamin C (raspberry and currant), higher levels of acid citric acid (raspberry), gluconic and malic acid (blackberry), and quinic acid (blueberry). Moreover we found that blueberry, blackberry and currant present considerable amounts of important phenolics associated with beneficial properties to the health human, namely chlorogenic acid, rutin, cyanidin, malvidin and delphinidin. The highest antioxidant activity was found to the currant produced in Portugal. Based on these results we think that the higher levels of antioxidant and bioactive compounds of our small fruits associated with a higher proximity to the European markets can be a competitive advantage for our producers.

Keywords – Nutritional value, antioxidant activity, bioactive compounds.

Introdução

O sector dos pequenos frutos, sobretudo os pequenos frutos vermelhos (mirtilos, groselha, framboesa, amora, entre outros) tem em Portugal sofrido um forte estímulo em virtude quer da forte procura dos mercados externos quer também do mercado interno que começa já a assimilar muita da produção nacional. De acordo com dados recentes do Observatório dos Mercados Agrícolas e Importações agroalimentares (OMAIAA, 2014), apesar de ser extremamente difícil quantificar áreas e produções, as estimativas apontam para uma produção nacional anual de 500 toneladas para a framboesa (para consumo em fresco), 22 toneladas de framboesa (para industria), 400 toneladas de mirtilo (consumo em fresco) e 50 toneladas de amora silvestre (indústria). No nosso país, as grandes superfícies, são os principais clientes para este tipo de produtos. Cerca de 95% da produção, tanto em fresco, como congelada destina-se ao mercado externo e apenas 5% ao mercado interno (OMAIAA, 2014).

Para além da novidade de tipo de produção, o seu consumo tem sido muito potenciado pelas recentes evidências do seu efeito benéfico para a saúde humana, seja pelo seu consumo em fresco, seja em forma processada ou seja ainda combinados com outros alimentos. Estas propriedades benéficas derivam quer do baixo teor calórico (moderados a baixos teores de hidratos de carbono/açúcares) quer do elevado teor em compostos bioativos como os fenólicos, incluindo flavonoides e antocianinas, frequentemente associados a processos anti-oxidativos (de Souza et al., 2014). Recentes estudos epidemiológicos têm evidenciado a importância do consumo de pequenos frutos na prevenção de processos inflamatórios e doenças degenerativas (Shi et al., 2014). Não obstante de existir uma extensa caracterização da composição nutricional deste tipo de frutos, ainda pouco dados existem sobre estudo comparativos entre produções originárias de Portugal e de outros Países. Deste modo, apresentamos este trabalho no sentido de explorar as potenciais diferenças das nossas produções face a outros países, chamando a atenção para a oportunidade que as nossas produções podem oferecer face as outras, não só pela qualidade mas também pela nossa maior proximidade dos mercados tradicionais do Norte e Centro da Europa, pois têm um elevado consumo de pequenos frutos e não os conseguem produzir fora de época normal devido ao clima.

Material e Métodos

Material vegetal: Neste estudo foram utilizadas as seguintes espécies vegetais com diferentes origens: amora (*Rubus* sp.) do México e Portugal; groselha (*Ribes uva-crispa*) de Holanda e Portugal; mirtilo (*Vaccinium corymbosum*) do Chile e Portugal e framboesa (*Rubus idaeus*) de Portugal. Adquiriram-se em superfícies comerciais 125 g de peso fresco de cada espécie, nas mesmas condições de prateleira (temperatura e humidade relativa). Após esta recolha, procedeu-se a registo do seu peso fresco e à sua liofilização (UltraDrySystem™, USA) até completa desidratação. Registou-se o respetivo peso seco e trituraram-se as amostras até se obter um pó fino. Estas amostras foram mantidas a 4°C até às determinações analíticas.

Determinação de ácidos orgânicos, açúcares livres e vitamina C: Estas determinações foram feitas por HPLC-DAD, tendo por base os métodos descritos por Phillips et al. (2010) para a determinação de ácidos orgânicos e de Daniel et al. (1981) para os açúcares livres. Os resultados foram expressos sobre a forma de média (três repetições) \pm desvio padrão da média. O teor em vitamina C foi determinado por HPLC-DAD de acordo com a metodologia de Hernández et al. (2006) e expresso em mg.g^{-1} de Peso seco.

Determinação dos fenóis totais e individuais: O conteúdo de fenóis totais, também hoje conhecido como capacidade redutora total, foi determinado espectrofotometricamente (Javanmardi et al., 2003). Os resultados foram expressos em miligramas de equivalente ácido gálico por grama de peso seco (mg.g^{-1} PS), tendo-se realizado em simultâneo uma curva de calibração com ácido gálico, cuja equação matemática resultante ($y=0,0198x+0,0697$, $r^2 = 0,9993$) permitiu a quantificação do teor em fenólicos totais.

A determinação dos fenólicos individuais foi feita por HPLC-DAD (Aires et al., 2013). A identificação dos compostos fenólicos individuais foi feita por comparação com padrões comerciais externos (Extrasynthese, França), através dos respetivos tempos de retenção e espectros UV. A quantificação foi feita utilizando parâmetros como o volume de extração, volume de injeção, área do padrão interno (naringina, Extrasynthese) e respetiva área do composto. Os resultados foram expressos em $\mu\text{g.g}^{-1}$ de peso seco.

Atividade antioxidante: A atividade antioxidante das diferentes amostras foi realizada pelos métodos espectrofotométricos do aprisionamento de radicais 2,2-difenil-1-picrylhydrazil (DPPH) (Siddhraj & Becker, 2003), da inibição de radicais de 2,20-azino-bis (ácido 3-ethylbenzthiazoline-6-sulfônico) (ABTS) (Sratil et al., 2006), da redução de Fe^{2+} em Fe^{3+} (poder redutor) (Hinneburg et al., 2006) e ainda pela quelatização de metais (Gülçin, 2006). No caso do método do DPPH, os resultados foram expressos em % de aprisionamento de radicais de $\text{DPPH}^{\bullet+}$ (Siddhraj & Becker, 2003); no caso do método do ABTS na % de inibição de radicais de $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (Sratil et al., 2006); no caso do poder redutor o aumento da absorvância traduz o aumento da atividade antioxidante (Hinneburg et al., 2006) e por último no caso do método da quelatização de metais os resultados foram expressos na capacidade das amostras fixarem metais (Fe^{2+}) também chamada de quelatização (Gülçin, 2006). Todas as determinações foram feitas em triplicado e os valores são apresentados sobre a forma de média (três repetições) \pm desvio padrão da média.

Análise estatística: Os dados obtidos foram submetidos a uma análise de variância através de uma análise não paramétrica (Wilcoxon test) usando o programa SPSS V.17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA). Procedeu-se também a uma Análise de Componentes Principais (PCA). Os cálculos estatísticos foram feitos para um intervalo de confiança igual ou superior a 95% ($p<0,05$).

Resultados e Discussão

Como ponto prévio devemos realçar que os teores médios e respetivas variações em nutrientes, fitoquímicos e outros compostos bioativos, estão sempre dependentes de diferentes fatores, entre os quais genéticos, época e técnicas de produção, sistema de condução, fertilizações, regime e/ou ausência de rega, condições edáfo-climáticas, tratamentos

fitossanitários, época de colheita, etc.... As condições de processamento após a colheita, armazenamento, conservação e venda são também fundamentais para a preservação e estabilidade destes compostos (Piljac-Zegarac & Šamec, 2011). Neste contexto, tendo em conta que apenas nos debruçamos sobre o estudo comparativo entre diferentes espécies disponíveis no mercado, não sabendo por isso, quais as respetivas condições de produção, apenas iremos refletir nesta discussão o efeito da origem, sabendo que os fatores acima referido serão sempre importantes nas variações encontradas. Neste estudo, interessou-nos sobretudo efectuar uma reflexão sobre a qualidade da produção à disposição dos consumidores.

Determinação de ácidos orgânicos, açúcares livres e vitamina C: Os teores médios apresentados para estes três grupos de constituintes, são apresentados nos Quadro 1, 2 e Figura 1. Tal como é possível observar como principais ácidos orgânicos identificáveis obtivemos o ácido málico e shikímico. Menor presença dos ácidos quinico, tartárico e cítrico (Quadro 1). Contrariamente ao que estávamos à espera, praticamente não detetamos a presença de ácido cítrico, que tem disso referido por diferentes autores como um dos ácidos orgânicos mais frequente neste tipo de produtos frescos e em especial nos mirtilos (Wang & Chen, 2010). A presença de ácido quinico nos mirtilos produzidos em Portugal vem confirmar os resultados de Fonseca et al. (2012). De um modo geral a maior diversidade de ácidos orgânicos foi encontrada para as espécies produzidas em Portugal. Em média, verificamos por ordem decrescente a seguinte distribuição de ácidos orgânicos totais: framboesa de Portugal ($251,2 \text{ mg.g}^{-1}$ PS)>amora de Portugal ($174,9 \text{ mg.g}^{-1}$ PS)>mirtilo de Portugal ($144,4 \text{ mg.g}^{-1}$ Peso seco)>groselha de Portugal ($10,8 \text{ mg.g}^{-1}$ Peso seco)>groselha da Holanda ($6,4 \text{ mg.g}^{-1}$ Peso seco)>amora do México ($1,3 \text{ mg.g}^{-1}$ Peso seco)>Mirtilo do Chile ($0,9 \text{ mg.g}^{-1}$ Peso seco). Relativamente aos teores em açúcares-livres (Quadro 2) verificamos que em média todos os pequenos frutos apresentaram maiores teores médios em frutose, seguindo-se a glucose, galactose e sacarose. Já relativamente à vitamina C (Figura 1), verificamos a ocorrência de diferenças significativas ($p < 0,05$) entre diferentes origens para todos os frutos, sendo a groselha produzida em Portugal, o fruto que apresentou o maior teor médio em vitamina C. Estas diferenças poderão ser explicadas não só por fatores de ordem genética (Anttonen & Karjalainen, 2005), mas também pelas condições de transporte e conservação que poderão ter provocado uma maior degradação da vitamina C, que tal como qualquer outro composto orgânico se degrada com o tempo, sobretudo quando o período que dista da colheita ao consumo é grande (Villa-Rodriguez et al., 2013). Razão pela qual, frutos de países mais longínquos estarão muito mais sujeitos a perdas que as nossas produções, tal como estes dados parecem sugerir.

Determinação dos fenóis totais e individuais: Verificamos que de um modo geral (Quadro 3), os teores médios em fenólicos totais foram semelhantes sendo a groselha produzida em Portugal aquela que apresentou maior teor médio. Os valores encontrados são muito semelhantes aos referidos na literatura para este tipo de frutos (Pantelidis et al., 2007). Já relativamente à diversidade de fenólicos individuais, verificamos a maior diversidade de compostos ocorreu nas espécies produzidas em solo nacional, com especial destaque para o grupo das delphinidinas na groselha e das malvidinas nos mirtilos (Quadro 4). De um modo geral, em média, os teores totais em fenólicos individuais identificados por HPLC foram de $1422 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$ PS para os mirtilos oriundos do México e cerca de $2202 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$ PS para os mirtilos produzidos em Portugal. Esta diferença de uma vez e meia, pode ser justificada por uma maior perda destes compostos nas produções mais longínquas, motivada por uma degradação durante o transporte e distribuição. E neste período que ocorre, sobretudo quando as condições de conservação são deficientes, grandes perdas de valor nutricional e portanto qualitativo dos frutos frescos (Villa-Rodriguez et al., 2013). Um longo período de tempo entre a colheita, processamento, distribuição e venda ao consumidor, influencia a estabilidade dos compostos e deste modo promove a sua degradação. Daí a vantagem da nossa produção que pode ser colocada rapidamente no mercado sem grandes perdas de valor nutricional e qualitativo. De um modo geral, os mirtilos foram aqueles que apresentaram a maior diversidade de compostos,

com uma maior proporção de malvidinas (58 e 64 % do total dos fenólicos individuais identificados por HPLC nos mirtilos do Chile e de Portugal respetivamente).

Atividade antioxidante: O benefício de uma dieta rica em compostos antioxidantes tem sido um dos fortes incentivos ao estudo da composição dos pequenos frutos, sobretudo mirtilos e framboesas e mais recentemente groselhas, amoras e fisalis (*Physalis peruviana*). Os valores da atividade antioxidante (AA) determinada neste estudo estão representados na Figura 2. Foi possível verificar que, exceto a groselha proveniente da Holanda para os métodos do DPPH, ABTS e Poder redutor, todos os pequenos frutos apresentaram atividades antioxidantes bastante interessantes com valores médios acima dos 60%. Verificamos também que a proveniência e a espécie dos frutos tiveram uma influência significativa ($p < 0,05$) nos teores médios da AA.

De acordo com os resultados da análise de componentes principais (PCA) (Figura 3), os métodos de DPPH, ABTS e poder redutor apresentam uma maior afinidade entre si e quando em causa estão os compostos fenólicos, já o método da quelatização de metais parece ter uma maior afinidade com a vitamina C, que aliás é um composto com reconhecida elevada AA. Esta tendência parece assim justificar a razão pela qual a groselha da Holanda que apresentam uma menor AA pelos três primeiros métodos e uma elevada AA pelo método da quelatização de metais, por ter um elevado teor em vitamina C. No entanto esta capacidade não deve ser encarada como muito positiva pois é sabido que a vitamina C em presença de iões metálicos Fe^{3+} tem uma atividade pró-oxidante. Assim, será importante que os frutos além de vitamina C apresentem outros compostos que contrariem esta ação, como por exemplo os compostos fenólicos. A maior proximidade entre a vitamina C, delfinidina-3-galactoside e delfindina-3-arabinsoside (2 fenólicos) e o método da quelatização de metais (Figura 3), que parece justificar a maior AA da groselha da Holanda e da framboesa de Portugal exibida por este método, é assim um bom exemplo deste sinergismo. Os resultados da PCA (Figura 3) demonstram assim que a AA tende a ser resultado de um efeito combinado de compostos e não apenas de um só composto. Razão pela qual, a tendência será para amostras com maior riqueza e diversidade de compostos fenólicos e/ou outros compostos bioativos, apresentarem uma maior atividade antioxidante.

De acordo com estes resultados, podemos assim constatar que a produção portuguesa de pequenos frutos, à disposição dos nossos consumidores, apresenta para alguns parâmetros nutricionais, uma qualidade superior, o que pode constituir uma vantagem competitiva para este sector no nosso País. Refiram-se como exemplos muito interessantes a groselha e as amoras que por serem muito mais perecíveis que os mirtilos têm uma maior vantagem em ser comercializadas de uma forma mais rápida, pelo que a nossa maior proximidade aos mercados consumidores nacionais e europeus, poderá constituir uma vantagem para os nossos produtores.

Conclusões

A qualidade da nossa produção, caracterizada por uma maior diversidade e quantidade em compostos bioativos, associada uma maior proximidade dos principais mercados consumidores nacionais e Europeus situados no Norte e Centro da Europa, torna Portugal um país muito promissor no sector dos pequenos frutos. Conseguimos colocar nos mercados nacionais e Europeus de uma forma rápida produtos de elevada qualidade de produções precoces, de forma expedita e com menores custos económicos de transporte. Acreditamos, que o passo seguinte será atingir uma dimensão de produção que permita satisfazer estes mercados com quantidades suficientes, que nos torne mais competitivos.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro da FUNDAÇÃO PARA A CIÊNCIA E TECNOLOGIA (FCT) (Alfredo Aires-SFRH/BPD/65029/2009), sob o projeto estratégico PEst-OE/AGR/UI4033/2014.

Referências

- Aires, A., Carvalho, R., Rosa, E.A.S. & Saavedra, M.J. 2013. Phytochemical characterization and antioxidant properties of organic baby-leaf watercress produced under organic production system. *CyTA-Journal of Food* 11: 343-351.
- Anttonen, M.J., & Karjalainen, R.O. 2005. Environmental and genetic variation of phenolic compounds in red raspberry. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18: 759-769.
- Daniel, P.F., De Feudis, D.F., Lott, I.T. & McCluer, R.H. 1981. Quantitative microanalysis of oligosaccharides by high-performance liquid chromatography. *Carbohydrate Research* 97: 161-180.
- de Souza, V.R., Pereira, P.A.P., Silva, T.L.T., Lima, L.C.O., Pio, R. & Queiroz, F. 2014. Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. *Food Chemistry* 156: 362-368.
- Fonseca, A. T., Gonçalves, B., Aires, A., Carvalho, R. P., Silva, A., Vilela, A. & Silva, A. P. 2012. Efeito da data de colheita nos teores de açúcares e ácidos orgânicos em quatro cultivares de mirtilo (*Vaccinium corymbosum* L.). IV Colóquio Nacional da Produção de Pequenos Frutos. Faro, Portugal 20-21 Abril. p. 111-120.
- Gülçin, İ. 2006. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid). *Toxicology* 217: 213-220.
- Hernández, Y., Lobo, M.G., González, M. 2006. Determination of vitamin C in tropical fruits: A comparative evaluation of methods. *Analytical, nutritional and clinical methods. Food Chemistry* 96: 654-664.
- Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E. & Vivanco, J.M. 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food Chemistry* 83: 547-550.
- Observatório dos Mercados Agrícolas e Importações Agro-Alimentares. 2014. http://www.observatorioagricola.pt/item.asp?id_item=115.
- Pantelidis, G.E., Vasilakakis, M., Manganaris, G.A. & Diamantidis, Gr. 2007. Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chemistry* 102: 777-783.
- Phillips, M., Case, R., Rimmer, C., Sander, L., Sharpless, K., Wise, S. & Yen, J. (2010). Determination of organic acids in *Vaccinium* berry standard reference materials. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 398: 425-434.
- Piljac-Zegarac, J. & Šamec, D. 2011. Antioxidant stability of small fruits in postharvest storage at room and refrigerator temperatures. *Food Research International* 44: 45-50.
- Shi, L., Yun-en Liu, Y.-E., Tan, De-H., Yan, T.-C., De-qun Song, De-Q., Hou, M-X. & Meng, X.-X. 2014. Blueberry anthocyanins ameliorate cyclophosphamide-induced liver damage in rats by reducing inflammation and apoptosis. *Journal of Functional Foods* 11: 71-81.
- Siddhraj, P. & Becker, K. 2003. Antioxidant properties of various solvents extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam) leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 2144-2155.
- Sratil, P., Klejdus, B. & Kubán, V. 2006. Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables-evaluation of spectrophotometric methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 607-616.
- Villa-Rodriguez, J.A., Palafox-Carlos, H., Yahia, E.M., Gonzalez-Aguilar, G.A. 2013. Maintaining antioxidant potential of fresh fruits and vegetables after harvest. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (*in press*, doi:10.1080/10408398.2012.685631)

Wang, S. Y. & Chen, C.-T. 2010. Effect of allyl isothiocyanate on antioxidant enzyme activities, flavonoids and post-harvest fruit quality of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L., cv. Duke). Food Chemistry 122: 1153-1158.

Quadros e figuras

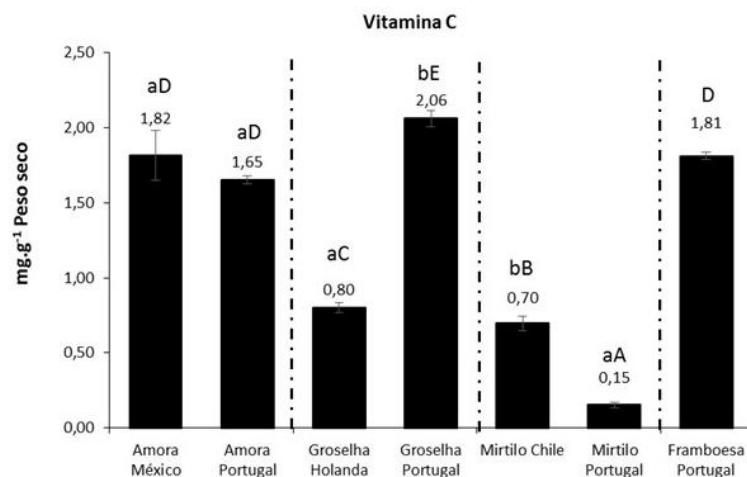


Figura 1 – Teores médios em vitamina C expressos em mg.g⁻¹ de Peso seco nas amostras estudadas. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre origens diferentes da mesma espécie (minúsculas) e espécies diferentes independentemente da origem (maiúsculas) (p<0,05).*

Quadro 1 - Teores médios em ácidos orgânicos para as espécies de pequenos frutos em estudo. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre origens diferentes da mesma espécie (minúsculas) e espécies diferentes independentemente da origem (maiúsculas) ($p < 0,05$).*

Amostra (origem)	mg.g ⁻¹ Peso seco					
	Ácido glucónico	Ácido quínico	Ácido tartárico	Ácido málico	Ácido shikimico	Ácido cítrico
Amora (México)	--	--	--	1,3 ± 0,05 aB	--	--
Amora (Portugal)	109,6 ± 8,0 B	--	21,4 ± 3,2 B	42,6 ± 9,5 bD	1,3 ± 0,2 A	--
Groselha (Holanda)	--	--	--	6,4 ± 0,13 aC	--	--
Groselha (Portugal)	--	--	--	5,9 ± 0,82 aC	4,8 ± 0,3 B	--
Mirtilo (Chile)	--	--	--	0,7 ± 0,1 A	--	0,2 ± 0,1 A
Mirtilo (Portugal)	67,0 ± 0,8 A	31,30 ± 2,02	--	--	46,1 ± 1,1 C	--
Framboesa (Portugal)	103,9 ± 8,3 B	--	5,7 ± 0,5 A	42,8 ± 1,6 D	--	98,9 ± 7,2 B

(--) Não detectado.

(*) Valores são apresentados sobre a forma de média (três repetições) ± desvio padrão da média.

Quadro 2 - Teores médios em açúcares livres para as espécies de pequenos frutos em estudo. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre origens diferentes da mesma espécie (minúsculas) e espécies diferentes independentemente da origem (maiúsculas) ($p < 0,05$).*

Amostra (origem)	mg.g ⁻¹ Peso seco			
	Glucose	Galactose	Frutose	Sacarose
Amora (México)	9,1 ± 1,0 aC	9,1 ± 0,9 aC	54,1 ± 2,8 b	3,3 ± 0,4 aB
Amora (Portugal)	9,6 ± 1,3 bC	9,5 ± 1,8 aC	31,5 ± 4,1 a	3,5 ± 0,7 aB
Groselha (Holanda)	8,2 ± 0,5 bB	6,4 ± 1,3 bB	45,7 ± 4,6 b	--
Groselha (Portugal)	2,4 ± 0,3 aA	2,5 ± 1,0 aA	15,4 ± 0,3 a	--
Mirtilo (Chile)	14,2 ± 1,6 aD	13,3 ± 1,9 aD	44,3 ± 3,2 a	1,5 ± 0,3 aA
Mirtilo (Portugal)	18,3 ± 0,6 bE	23,7 ± 3,0 bD	68,1 ± 1,9 b	2,8 ± 0,2 bB
Framboesa (Portugal)	7,4 ± 0,8 B	6,4 ± 1,7 B	24,5 ± 2,8	18,1 ± 3,2C

(--) Não detectado. (*) Valores são apresentados sobre a forma de média (três repetições) ± desvio padrão da média.

Quadro 3 – Teores médios de fenólicos totais para as espécies de pequenos frutos em estudo. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre origens diferentes da mesma espécie (minúsculas) e espécies diferentes independentemente da origem (maiúsculas) ($p < 0,05$).*

Amostra (origem)	mg EAG.g ⁻¹ Peso seco
Amora (México)	28,8 ± 0,6 aC
Amora (Portugal)	26,0 ± 1,3 aC
Groselha (Holanda)	8,9 ± 1,7 aA
Groselha (Portugal)	51,7 ± 3,7 bE
Mirtilo (Chile)	37,2 ± 1,5 aD
Mirtilo (Portugal)	33,5 ± 2,6 bD
Framboesa (Portugal)	19,5 ± 1,7 B

(*) Valores são apresentados sobre a forma de média (três repetições) ± desvio padrão da média.

Quadro 4 – Teores médios dos principais fenólicos individuais identificados por HPLC, expressos em $\mu\text{g.g}^{-1}$ PS*: ácido clorogénico (AcClo); delfinidina-3-galactósido (Delf-3-galac), delfinidina-3-glucósido (Delf-3-glu), delfinidina-3-arabinósido (Delf-3-arab), malvidina-3-galactósido (Mal-3-gal), malvidina-3-glucósido (Malv-3-gluc) e malvidina-3-arabinósido (Malv-3-arab). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre origens diferentes da mesma espécie (minúsculas) e espécies diferentes independentemente da origem (maiúsculas) ($p < 0,05$).

Amostra (origem)	AcClo	Rutina	Delf-3-galac	Delf-3-glu	Delf-3-arab	Mal-3-gal	Malv-3-gluc	Malv-3-arab
Amora (México)	8,3 \pm 1,1 aA	36,2 \pm 3,2 bB	152,5 \pm 9,3 aC	--	--	119,0 \pm 9,7 aA	--	--
Amora (Portugal)	7,8 \pm 1,0 aA	--	173,3 \pm 6,2 bD	--	--	214,6 \pm 13,3 bC	--	79,1 \pm 8,4 A
Groselha (Holanda)	10,9 \pm 1,2A	--	17,8 \pm 2,6 aA	30,1 \pm 6,0 aA	38,5 \pm 9,1 aA	--	--	--
Groselha (Portugal)	--	--	50,6 \pm 4,7 bB	33,6 \pm 3,0 aA	199,3 \pm 22,9 bB	--	--	--
Mirtilo (Chile)	78,0 \pm 1,6 bB	17,1 \pm 43,3 aA	44,9 \pm 9,8 aB	458,7 \pm 21,8 bD	--	171,4 \pm 10,6 aB	346,9 \pm 11,1 a	305,2 \pm 20,9 aB
Mirtilo (Portugal)	65,2 \pm 1,6 aB	44,7 \pm 4,1 bB	45,6 \pm 6,5 aB	286,3 \pm 21,2 aC	351,9 \pm 54,0 C	189,7 \pm 16,2 aB	851,6 \pm 9,0 b	366,9 \pm 9,4 bC
Framboesa (Portugal)	--	--	47,9 \pm 7,7 B	218,6 \pm 19,7 B	--	--	--	--

(--) Não detectado. (*) Valores são apresentados sobre a forma de média (três repetições) \pm desvio padrão da média.

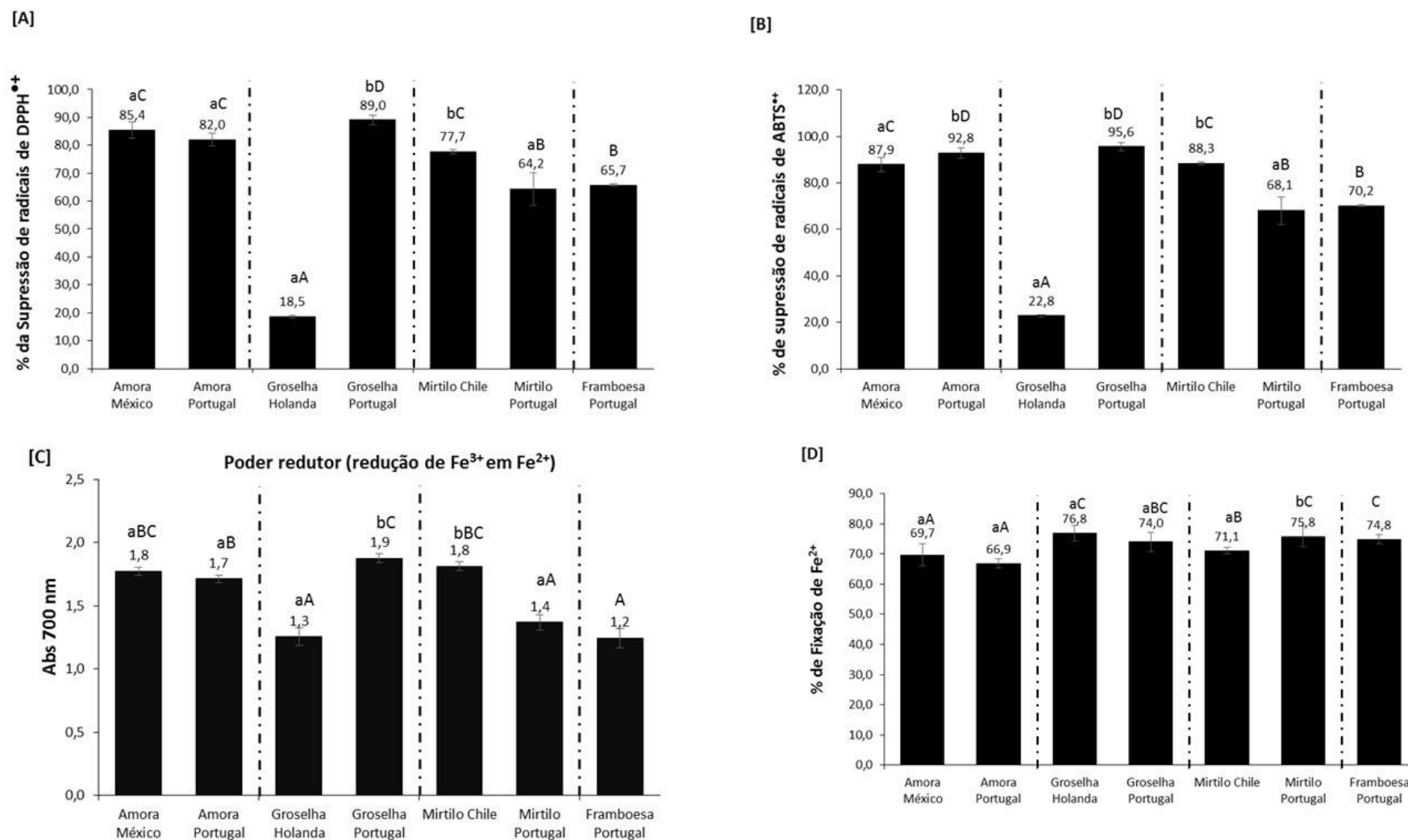


Figura 2 – Teores médios da actividade antioxidante expressa pelos diferentes métodos de determinação. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre origens diferentes da mesma espécie (minúsculas) e espécies diferentes independentemente da origem (maiúsculas) ($p < 0,05$).

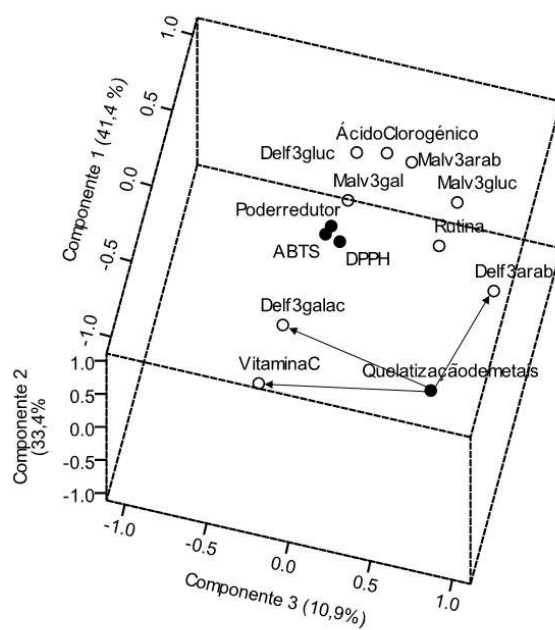


Figura 3 – Análise de componentes principais (PCA).

Efeito da desidratação osmótica nas propriedades físico-químicas de castanha fatiada

Teresa Delgado^{1,2}, Bruna Paim³, José Alberto Pereira¹, Susana Casal² & Elsa Ramalhosa¹

¹Centro de Investigação de Montanha (CIMO) – Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de St^a Apolónia, Apartado 1172, 5301-855 Bragança, Portugal

²REQUIMTE, Serviço de Bromatologia e Hidrologia, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Rua de Jorge Viterbo Ferreira n.º 228, 4050-313 PORTO, Portugal

³Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Farroupilha Alegrete, Campus Alegrete, Alegrete, Brasil

Resumo

O objetivo do presente trabalho foi o de avaliar o papel da temperatura (30; 45 e 60 °C), tempo (2,5; 5,0 e 7,5 h) e concentração da solução osmótica (sacarose) (60, 70 e 80%, m/v) sobre algumas propriedades físico-químicas da castanha, variedade Longal, (variação de cor, redução de peso, ganho de sólidos, perda de água, teor de humidade e teor de humidade normalizado), utilizando a Metodologia de Superfície de Resposta. Os modelos obtidos para estas propriedades apresentaram bons ajustes com coeficientes de determinação (R^2) entre 0,850 e 0,976 e um R^2 -ajustado entre 0,715 e 0,954, permitindo prever os dados experimentais com bastante rigor. Verificou-se que a temperatura e a concentração de soluto tiveram um papel importante em todas as propriedades analisadas. Contudo, a concentração de soluto não influenciou significativamente a variação de cor. Já o tempo foi um fator importante para a variação de cor, ganho de sólidos, teor de humidade e teor de humidade normalizado. Tal como previsto, foram observadas maiores variações de cor a temperaturas e tempos mais elevados. O teor de humidade e o teor de humidade normalizado foram menores para concentrações de soluto e temperaturas maiores. Observou-se também uma maior perda de peso e maior ganho de sólidos, a concentrações de soluto, temperaturas e tempos mais elevados. A maior perda de água foi observada para as concentrações de soluto e temperaturas mais elevadas, não sendo afetada pelo tempo.

Palavras-chave: *Castanea sativa* Miller; Longal; Metodologia de Superfície de Resposta; Cor; Ganho de sólidos; Teor de Humidade.

Abstract

Effect of osmotic dehydration on physico-chemical properties of chestnut slices. The aim of this study was to evaluate the role of temperature (30, 45 and 60 °C), time (2.5, 5.0 and 7.5 h) and osmotic solution concentration (sucrose) (60, 70 and 80% w/v) on some physicochemical properties of chestnut (colour variation, weight reduction, solid gain, water loss, moisture content and normalized moisture content) using the Response Surface Methodology. The models obtained for these properties showed good fits with determination coefficients (R^2) between 0.850 and 0.976, and R^2 -adjusted between 0.715 and 0.954, allowing the prediction of experimental data with great accuracy. It was found that temperature and solute concentration had an important role in all properties analyzed; however, the solute concentration did not significantly influence the color variation. On the other hand, time was an important factor for the color variation, solid gain, moisture content and normalized moisture content. As expected, higher color variations were observed at higher temperatures and time. The lowest moisture and normalized moisture contents were obtained at high solute concentrations and temperatures. A higher weight loss and solids gain were observed at higher

solute concentrations, temperatures and time. Nevertheless, the highest water loss was observed for the highest solute concentration and temperature, not being affected by time.

Keywords: *Castanea sativa* Miller; Longal; Response Surface Methodology; Colour; Solid Gain; Moisture Content.

Introdução

A produção de castanha é uma atividade económica importante para alguns países da Europa. Este continente contribui com 6,4% da produção mundial de castanha, sendo Portugal responsável por cerca de 15% da produção europeia (FAO, 2014). A região de Trás-os-Montes contribui com 80,5% da produção nacional (INE, 2014).

A castanha é um fruto sazonal e pouco estável ao armazenamento prolongado, ocorrendo algumas alterações, tais como, significativa perda de peso e desenvolvimento de fungos. Com vista a retardar este tipo de alterações e permitir o seu consumo mais alargado é importante encontrar alternativas para a conservação deste produto. A desidratação osmótica (DO) tem-se mostrado uma tecnologia promissora na preservação de produtos perecíveis (Rastogi et al., 2002; Shi & Le Maguer, 2002) e na sua disponibilização para regiões distantes da área de produção, além de ser um método simples e de baixo custo (Shi & Le Maguer, 2002). A DO consiste na imersão do alimento numa solução osmótica. A estrutura celular do tecido permite que a perda de água e o ganho de solutos ocorra simultaneamente até um ponto de equilíbrio (Rastogi et al., 1997). Ambos os fluxos de massa são afetados por muitos fatores, tais como temperatura, tempo e concentração de solutos da solução osmótica, entre outros (Lazarides, 1994; Torreggiani, 1993).

A maioria dos estudos de DO realizados até ao momento em castanha têm-se centrado em variedades espanholas utilizando diferentes agentes osmóticos e temperaturas. Os agentes osmóticos estudados têm incluído o cloreto de sódio, glucose e soluções de sacarose, com concentrações usuais entre os 40 e 60%, sendo em alguns casos mais baixas para o cloreto de sódio (17 a 26,5%). A gama de temperatura estudada tem variado de 25 a 65 °C (Chenlo et al., 2006a, 2006b, 2007; Moreira et al., 2007, 2008, 2011a, 2011b).

A fim de melhorar e otimizar processos pela combinação e análise do papel dos diferentes fatores (e.g. temperatura, concentração de soluto, tempo, etc.) e minimizar análise de erros, têm sido desenvolvidas técnicas estatísticas. A Metodologia de Superfície de Resposta (*Response Surface Methodology*) é uma dessas técnicas onde se conjuga a influência de variáveis independentes (fatores) nas variáveis de interesse. Além de ter a vantagem de analisar os efeitos das variáveis independentes e da sua interação, esta metodologia gera um modelo matemático que descreve os processos químicos ou bioquímicos a estudar (Anjum et al., 1997).

Deste modo, o objetivo do presente trabalho foi o de avaliar o papel da temperatura (30; 45 e 60 °C), tempo (2,5; 5,0 e 7,5 h) e concentração da solução osmótica (sacarose) (60, 70 e 80%) sobre algumas propriedades físico-químicas da castanha (variação de cor, perda de peso, ganho de sólidos, perda de água, teor de humidade e teor de humidade normalizado), recorrendo à Metodologia de Superfície de Resposta.

Material e Métodos

Material Biológico

As castanhas utilizadas neste estudo foram adquiridas em Bragança, em Novembro de 2013, e armazenadas em câmaras frigoríficas (4±1 °C) até à realização dos ensaios de desidratação osmótica. A variedade de castanha utilizada neste estudo foi a Longal. As castanhas usadas nos ensaios foram obtidas após remoção cuidadosa da casca exterior e laminagem em fatias com uma espessura de 4 a 6 mm.

Desidratação Osmótica

As soluções osmóticas foram preparadas a partir de açúcar comercial (sacarose) e água destilada. As concentrações de sacarose utilizadas foram 60, 70 e 80% (m/v), a três temperaturas diferentes (30, 45 e 60 °C) e tempos de contacto (2,5; 5,0 e 7,5 h).

A desidratação foi realizada em copos de 1 L onde se colocavam 70 g de castanha fresca fatiada e 700 mL de solução de açúcar, com agitação constante a 310 rpm. Em cada uma das experiências foram usadas soluções osmóticas frescas. Após a remoção da solução de sacarose, as amostras foram escorridas e secas com papel absorvente para remover o excesso de solução. Os ensaios foram realizados em duplicado.

A fim de acompanhar adequadamente a cinética de desidratação osmótica, foram analisados vários parâmetros, tais como: a redução de peso (WR), ganho de sólidos (SG), a perda de água (WL) e teor de humidade normalizado (NMC), determinados de acordo com as seguintes expressões (1-4) (Lerici et al., 1985):

$$WR = \frac{M_0 - M}{M_0} \quad (\text{Eq. 1})$$

$$SG = \frac{m - m_0}{M_0} \quad (\text{Eq. 2})$$

$$WL = WR + SG \quad (\text{Eq. 3})$$

$$NMC = \frac{1 - \frac{m}{M}}{1 - \frac{m_0}{M_0}} = \frac{X}{X_0} \quad (\text{Eq. 4})$$

onde M_0 e M representa a massa total da amostra antes e após a desidratação osmótica, respetivamente. m_0 e m são o peso inicial de sólidos (matéria seca) da castanha laminada (g) e o peso de sólidos (matéria seca) da castanha laminada após a desidratação osmótica, respetivamente.

Cor

A análise da cor foi realizada na castanha laminada antes e após a desidratação osmótica, usando o colorímetro Minolta CR-400 no espaço de cores *CIELab*, através das coordenadas: L^* , a^* e b^* , usando o software *Spectra Magic Nx* (versão CM-S100W 2.03.0006). A fim de analisar as mudanças de cor devidas ao processo de desidratação osmótica, a diferença total de cor (ΔE^*) foi calculada de acordo com a seguinte equação:

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (\text{Eq. 5})$$

Desenho Experimental e Análise Estatística

A fim de determinar o efeito de algumas variáveis da desidratação osmótica sobre certas propriedades físico-químicas de castanha, foi utilizada a metodologia de superfície de resposta (RSM) através do software Minitab®. Foram testados três fatores independentes: concentração de sacarose (60, 70 e 80%, m/v), temperatura (30, 45 e 65 °C) e tempo (2,5; 5,0 e 7,5 h).

As variáveis de resposta foram: ΔE^* , WR , SG , WL , NMC e teor de humidade. Cada variável a ser otimizada foi codificada em três níveis: -1, 0, 1 (quadro 1). A correspondência entre variáveis codificadas e não codificadas encontra-se indicada no quadro 1. A relação

encontrada entre as variáveis dependentes (ΔE^* , WR , SG , WL , NMC e teor de humidade) e as variáveis operacionais foi estabelecida pelo seguinte modelo polinomial de segunda ordem:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i>j}^k \beta_{ij} X_i X_j \quad (\text{Eq. 6})$$

6)

em que Y é a variável dependente prevista; β_0 é uma constante que corrige a resposta no ponto central da experiência; β_i são os coeficientes de regressão para os termos lineares; β_{ii} são os coeficientes para os termos quadráticos; β_{ij} são os coeficientes relativos ao efeito de interação das variáveis i e j ; X_i e X_j são variáveis independentes, e k igual ao número de fatores independentes.

No total foram realizadas 20 experiências com seis repetições do ponto central (experiências 1, 5, 14, 15, 19 e 20). A fim de reduzir a influência de erros sistemáticos, a sequência das experiências foi estabelecida aleatoriamente. As experiências realizadas no ponto central permitiram estimar o erro experimental, enquanto as outras experiências permitiram o cálculo dos coeficientes de regressão do modelo. A adequação dos modelos foi prevista através do coeficiente de determinação (R^2) e análise de variância (ANOVA).

Resultados e Discussão

Os coeficientes dos polinômios de segunda ordem obtidos para as variáveis dependentes estudadas no presente trabalho encontram-se apresentados no quadro 2. Pela análise dos resultados podemos concluir que foram obtidos bons ajustes entre os dados experimentais e os previstos pelos modelos, originando coeficientes de determinação entre 0,850 e 0,976, e R^2 ajustados entre 0,715 e 0,954. Além disso a falta de ajuste (*lack of fit*) não foi significativa ($p > 0,05$), variando o valor de p entre 0,094 e 0,717.

Em relação à variação total de cor (ΔE^*), concluiu-se pela análise dos dados que a temperatura e o tempo tiveram um papel muito importante, com valores de p para os termos X_2 e X_3 inferiores a 0,001 (quadro 2). Por outro lado, a concentração de soluto não influenciou significativamente a variação de cor. Pela análise da fig. 1A, verificou-se que à medida que se aumentou a temperatura, a variação total de cor também aumentou. Este aumento foi mais significativo a tempos mais elevados (7,5 h) comparativamente com os mais baixos (tempo=2,5 h). Esta maior variação de cor com a temperatura e tempo pode estar relacionada com a ocorrência de reações de escurecimento devido à atividade enzimática da polifenoloxidase durante a desidratação osmótica, bem como reações de acastanhamento não enzimático, ou seja, reações de Maillard e caramelização, favorecidas por temperaturas elevadas.

Em termos do teor de humidade e do teor de humidade normalizado (NMC), foram encontrados comportamentos semelhantes. Neste caso, a concentração de soluto, a temperatura e o tempo foram fatores significativos (quadro 2). Pela análise dos gráficos de superfície de resposta, verificou-se que tanto a concentração de soluto como a temperatura apresentaram efeitos semelhantes. À medida que se aumentou uma destas variáveis, ocorreu uma diminuição do teor de humidade. Pela análise da fig. 1B, observou-se que o tempo influenciou mais acentuadamente a temperaturas baixas (30 °C) do que altas (60 °C), provocando também uma diminuição do teor de humidade.

Em relação à perda de água (WL) (fig. 1C), verificou-se que a concentração de sacarose e a temperatura foram fatores importantes neste parâmetro. Independentemente da temperatura testada, o aumento da concentração de açúcar promoveu a perda de água. A maior perda de água foi observada quando as concentrações de sacarose e as temperaturas foram mais elevadas. Em relação à redução de peso (WR), foi observado um comportamento semelhante ao da perda de água (resultados não apresentados).

No que respeita ao ganho de sólidos (SG), verificou-se que os três fatores testados - concentração de soluto, temperatura e tempo - foram significativos (quadro 2). Contudo, a temperatura foi o fator que mais contribuiu para o ganho de sólidos (maior coeficiente). Pela análise do gráfico de superfície de resposta (fig. 1D), verificou-se que à medida que se

aumentou a concentração de sacarose e a temperatura, o ganho de sólidos aumentou. Foi também observado um comportamento idêntico entre a concentração de sacarose e o tempo (resultados não apresentados), tendo-se obtido um maior ganho de sólidos à medida que se aumentou a concentração do agente osmótico e o tempo.

Em termos gerais, a cor não foi influenciada pela concentração da solução osmótica, ao contrário da temperatura e tempo. Assim, temperaturas mais baixas originaram um produto com uma menor variação de cor, teor de humidade mais elevado e perda de água inferior, o que poderá acarretar um produto com um reduzido tempo de prateleira. Por outro lado, ao aumentar a concentração do agente osmótico e a temperatura consegue-se obter um produto mais estável durante um período de tempo maior, apesar de ocorrer um maior ganho de sólidos, o que poderá ser indesejável.

Conclusões

Em suma, verificou-se que os três fatores estudados - concentração de sacarose, temperatura e tempo - são fatores importantes a ter em conta no processo de desidratação osmótica de castanha laminada, influenciando significativamente algumas características deste produto. Foram obtidos bons ajustes entre os dados experimentais e os previstos pelos modelos, obtendo-se coeficientes de determinação entre 0,850 e 0,976, R^2 ajustados entre 0,715 e 0,954, e um *lack of fit* não significativo ($p > 0,05$). Para o teor de humidade, ganho de sólidos e teor de humidade normalizado, a concentração de sacarose, temperatura e tempo foram fatores significativos. Em relação à variação total de cor (ΔE^*), apenas a temperatura e o tempo foram significativos. Por outro lado, em relação à redução de peso (WR) e à perda de água (WL) o tempo não foi um fator significativo.

Agradecimentos:

A Teresa Delgado agradece à FCT pela bolsa de Doutoramento (SFRH/BD/82285/2011). Os autores agradecem ao CIMO (PEst-OE/AGR/UI0690/2011), ao REQUIMTE (PEst-C/EQB/LA0006/2013) e ao POCTEP - Programa Cooperação Transfronteiriça Espanha-Portugal pelo apoio financeiro através do Projeto "RED/AGROTEC - Red transfronteriza España Portugal de experimentación y transferencia para el desarrollo del sector agropecuario y agroindustrial".

Referências

- Anjum, M. F., Tasadduq, I., & Al-Sultan, K. 1997. Response surface methodology: A neural network approach. *European Journal of Operational Research* 101:65–73.
- Chenlo, F., Moreira, R., Fernández-Herrero, C. & Vázquez, G. 2006a. Mass transfer during osmotic dehydration of chestnut using sodium chloride solutions. *Journal of Food Engineering* 73:164-173.
- Chenlo, F., Moreira, R., Fernández-Herrero, C. & Vázquez, G. 2006b. Experimental results and modeling of the osmotic dehydration kinetics of chestnut with glucose solutions. *Journal of Food Engineering* 74:324-334.
- Chenlo, F., Moreira, R., Fernández-Herrero, C. & Vázquez, G. 2007. Osmotic dehydration of chestnut with sucrose: Mass transfer processes and global kinetics modelling. *Journal of Food Engineering* 78:765-774.
- FAO. 2014. www.faostat.fao.org. Production. Chestnut.
- INE. 2014. www.ine.pt. Dados estatísticas. Produção das principais culturas agrícolas.
- Lazarides, H.N. 1994. Osmotic preconcentration: developments and prospects. In: *Minimal Processing of Foods and Process Optimization*. An Interface. CRC Press, Boca Raton, FJ, pp. 73–85.

- Lerici, C.R., Pinnavaia, T.G., Dalla Rosa, M. & Bartolucci, L. 1985. Osmotic dehydration of fruit: Influence of osmotic agents on drying behavior and product quality. *Journal of Food Science* 50:1217–1226
- Moreira, R., Chenlo, F., Chaguri, L. & Mayor, L. 2011b. Analysis of Chestnut Cellular Tissue during Osmotic Dehydration, Air Drying, and Rehydration Processes. *Drying Technology* 29:10-18.
- Moreira, R., Chenlo, F., Chaguri, L. & Oliveira, H. 2007. Drying of Chestnuts (*Castanea sativa* Mill.) after Osmotic Dehydration with Sucrose and Glucose Solutions. *Drying Technology* 25:1837-1845.
- Moreira, R., Chenlo, F., Chaguri, L. & Vázquez, G. 2011a. Air drying and colour characteristics of chestnuts pre-submitted to osmotic dehydration with sodium chloride. *Food and Bioproducts Processing* 89:109-115.
- Moreira, R., Chenlo, F., Chaguri, L., Fernandes, C. 2008. Water absorption, texture, and color kinetics of air-dried chestnuts during rehydration. *Journal of Food Engineering* 86:584-594.
- Rastogi, N.K., Raghavarao, K.S.M.S. & Nirarjan, K. 1997. Mass transfer during osmotic dehydration of banana, Fickian diffusion in cylindrical configuration. *Journal of Food Engineering* 31:423–432.
- Rastogi, N.K., Raghavarao, K.S.M.S., Nirarjan, K. & Knorr, D. 2002 Recent developments in osmotic dehydration: Methods to enhance mass transfer. *Trends in Food Science and Technology* 13:48–59.
- Shi, J. & Le Maguer, M. 2002 Osmotic dehydration of foods: Mass transfer and modeling aspects. *Food Reviews International* 18:305–335.
- Torreggiani, D. 1993. Osmotic dehydration in fruit and vegetable processing. *Food Research International* 26:59–68.

Quadros e figuras

Quadro 1 - Variáveis independentes e os seus valores codificados e não codificados

Valor codificado	Concentração de sacarose (%, m/v)	Temperatura (°C)	Tempo (h)
-1	60	30	2,5
0	70	45	5,0
1	80	60	7,5

Quadro 2 – Parâmetros dos modelos polinomiais previstos para a ΔE^* , Teor de Humidade, *WR*, *SG*, *WL* e *NMC* segundo a RSM.

Termos	ΔE^*		Teor de Humidade		WR		SG		WL		NMC	
	Coefficiente	p	Coefficiente	p	Coefficiente	p	Coefficiente	p	Coefficiente	p	Coefficiente	p
Constante	10,3	0,000	20,4	0,000	0,0296	0,032	0,141	0,000	0,170	0,000	0,553	0,000
X ₁	-0,234	0,386	-7,28	0,000	0,0560	0,000	0,0288	0,010	0,0848	0,000	-0,198	0,000
X ₂	4,49	0,000	-3,26	0,011	-0,0178	0,049	0,0455	0,001	0,0277	0,037	-0,0885	0,011
X ₃	2,02	0,000	-2,73	0,026	-0,00985	0,242	0,0326	0,005	0,0227	0,077	-0,0741	0,026
X ₁ ²	0,0381	0,883	0,984	0,357	-0,00622	0,439	-0,00844	0,365	-0,0146	0,221	0,0267	0,357
X ₂ ²	1,26	0,001	1,07	0,318	-0,0134	0,112	-0,000023	0,998	-0,0134	0,259	0,0291	0,318
X ₃ ²	-0,185	0,479	1,14	0,291	-0,00255	0,748	-0,00896	0,338	-0,0115	0,330	0,0308	0,291
X ₁ X ₂	-0,595	0,109	0,562	0,690	0,0195	0,089	-0,0196	0,131	-0,000169	0,991	0,0153	0,690
X ₁ X ₃	-0,108	0,757	-0,0582	0,967	0,0341	0,008	-0,0258	0,056	0,00827	0,596	-0,00158	0,967
X ₂ X ₃	0,866	0,028	0,798	0,573	-0,0160	0,152	0,00310	0,801	-0,0129	0,411	0,0217	0,573
Lack of fit		0,717		0,094		0,589		0,260		0,094		0,094
R ²	0,976		0,872		0,885		0,850		0,872		0,872	
R ² (ajustado)	0,954		0,756		0,781		0,715		0,757		0,756	

X₁ – Concentração de açúcar (% m/v); X₂ – Temperatura (°C); X₃ – Tempo (horas).

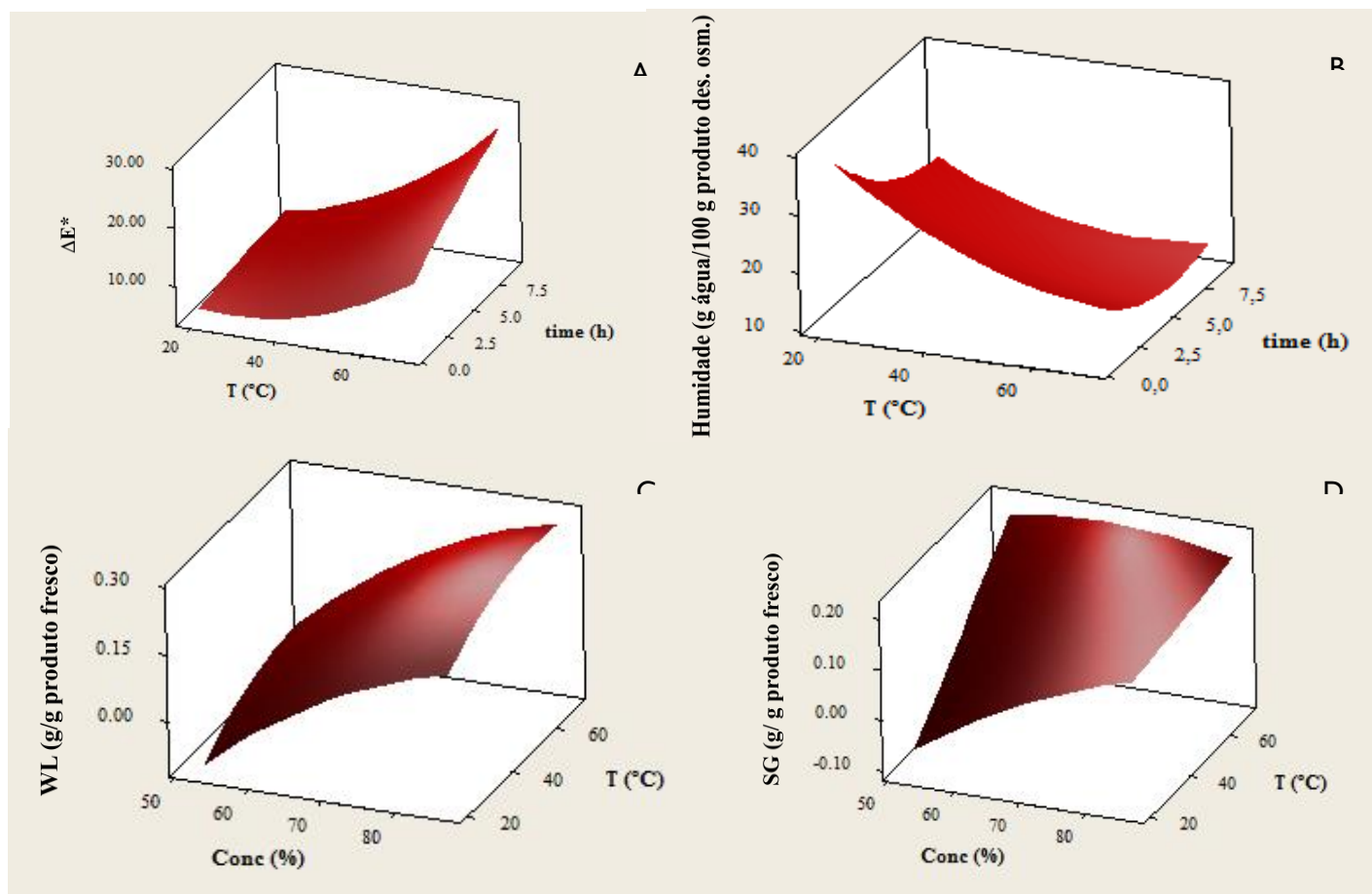


Figura 1 – Gráficos de Superfície de Resposta referentes a: A - Variação total de cor (ΔE^*); B – Teor de humidade; C – Perda de água (WL); e D – Ganho de sólidos (SG).

Otimização da aplicação de um bio-estimulante para o aumento da produtividade e qualidade do morango

João F. Silva¹, Rita F. Pinheiro¹, Ana L. Amaro², Maria J. Pereira², Mariana Roriz², Ana Aguiar¹, Manuela Pintado², Marta W. Vasconcelos², Susana M.P. Carvalho^{1,2 *}

¹ Faculdade de Ciências, Universidade do Porto, Departamento de Geociências Ambiente e Ordenamento do Território, Rua do Campo Alegre 697, 4169-007 Porto, Portugal

² CBQF - Centro de Biotecnologia e Química Fina – Laboratório Associado, Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa/Porto, Rua Arquitecto Lobão Vital, Apartado 2511, 4202-401 Porto, Portugal, * Email: susana.carvalho@fc.up.pt

Resumo

Os bio-estimulantes à base de produtos naturais têm vindo a ser utilizados por alguns produtores de morango para aumentar a produtividade e qualidade do fruto. Atendendo ao seu elevado custo é premente levar a cabo estudos que permitam validar os seus efeitos e otimizar a sua aplicação. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito da aplicação de um bio-estimulante comercial à base de extratos de algas na produtividade e qualidade do morango produzido em sistema de cultura sem solo. Nesse sentido, foram testadas duas vias de administração (fertirrega e foliar), duas frequências de aplicação (a cada 15 e a cada 30 dias, durante todo o ciclo cultural) e três doses de bio-estimulante (1,5; 3,0 e 4,5 l/ha). De um modo geral, a aplicação do bio-estimulante para o aumento da produção revelou-se mais eficaz por via da fertirrega comparativamente à aplicação foliar. O maior acréscimo de produtividade foi observado aquando da aplicação de 4,5 l/ha a cada 15 dias por fertirrega (20%), tendo-se verificado um aumento do número total de frutos produzidos (11%) e do peso médio dos frutos (8%), comparativamente ao controlo comercial (1,5 l/ha a cada 30 dias). No que respeita os parâmetros de qualidade, observou-se um aumento máximo de firmeza (45%), na aplicação via fertirrega de 4,5 l/ha de bio-estimulante a cada 30 dias. Aplicações foliares demonstraram promover um maior teor de sólidos solúveis dos frutos e a manutenção da sua luminosidade durante o armazenamento. Os resultados deste estudo evidenciam claramente que a escolha do método de aplicação do bio-estimulante tem um impacto relevante em particular na produtividade e textura dos frutos.

Palavras-chave: *Ascophyllum nodosum*, cor, extratos de algas, firmeza, *Fragaria ananassa*, grau brix, número de frutos.

Abstract

Biostimulants derived from natural products are being used by several strawberry growers to increase productivity and fruit quality. Given their high cost it is of utmost importance to carry out studies to validate their positive effect at plant level and to optimize their application. This study aimed at evaluating the effect of a commercial seaweed-derived biostimulant on yield and quality of strawberry produced in soilless cultivation system. Therefore, two application methods (fertigation and foliar application), two frequencies of application (every 15 and every 30 days throughout the cultivation period) and three doses of biostimulant (1.5, 3.0 and 4.5 l/ha) have been tested. In general, the application of biostimulant aiming at increased productivity proved to be more effective via fertigation compared to foliar application. The highest productivity was observed upon application of 4.5 l/ha every 15 days via fertigation (20% increase), with an increase in the total number of fruits produced (11%) and in the average fruit fresh weight (8%), compared to the commercial control (i.e. 1.5 l/ha every 30 days). As regards the quality parameters, there was a maximum increase of firmness

(45%) when 4.5 l/ha of seaweed extract was applied via fertigation every 30 days. Foliar applications promoted the highest levels of soluble solids content and were efficient in maintaining the fruit brightness during storage. This study clearly showed that the method, dose and frequency of biostimulant application has a significant impact on the productivity and fruit texture.

Introdução

Devido à crescente competitividade no setor hortofrutícola, os produtores de morango procuram aumentar a produtividade recorrendo frequentemente à aplicação de reguladores de crescimento de síntese, à base de giberelinas (Roussos *et al.*, 2009). No entanto, a aplicação destes químicos privilegia o aumento da dimensão do fruto descurando as propriedades bioquímicas e o sabor do mesmo. Como tal, tem-se verificado um aumento da insatisfação dos consumidores de morango devido ao sabor e qualidade inconsistente destes frutos (Azodanlou *et al.*, 2003). Assim, nos últimos 10-15 anos os bio-estimulantes à base de extratos de algas marinhas começaram a ser amplamente utilizados como alternativa aos reguladores de crescimento de síntese (Craigie *et al.*, 2011). Estes produtos possuem na sua composição substâncias bioativas, potenciadoras do metabolismo das plantas quando aplicados em pequenas quantidades (Zhang & Schmidt, 1997). Entre as substâncias presentes nos bio-estimulantes à base de extratos de algas encontram-se nutrientes essenciais, vários compostos orgânicos, enzimas, ácidos húmicos e aminoácidos (ex. betaínas), vitaminas, hormonas vegetais (giberelinas, citocininas e auxinas) e elementos inorgânicos em baixas concentrações (Khan *et al.*, 2009; Zodape *et al.*, 2011; Abubakar *et al.*, 2013). Ao nível da planta têm sido descritos em diferentes estudos efeitos no aumento do desenvolvimento do sistema radicular (facilitando a absorção de água e nutrientes), aumento do crescimento vegetativo e aumento da taxa de floração e frutificação. Paralelamente, foi ainda observado um aumento da resistência a stresses abióticos (temperaturas extremas, seca, salinidade) e stress bióticos (resistência a pragas e doenças), o que resulta de um modo geral num aumento do rendimento das culturas (Crouch & van Staden 1992; Khan *et al.*, 2009; Zodape *et al.*, 2011; Dantas *et al.*, 2012).

Embora existam alguns estudos que comprovam o efeito positivo da aplicação de extratos de algas na cultura de morango (Roussos *et al.*, 2009; Alam *et al.*, 2013), a informação disponível é ainda muito escassa nomeadamente no que respeita a otimização da aplicação dos mesmos à cultura de morango em sistema hidropónico. Por exemplo, é sabido que em certas espécies o modo de aplicação (fertirrega ou foliar) (Spann & Little, 2011) assim como a dose de bio-estimulante aplicada influencia a eficácia do mesmo. Atendendo aos custos associados à utilização destes produtos é fundamental avaliar de uma forma detalhada os efeitos da sua aplicação a nível da produtividade e qualidade. Este estudo teve como objectivo otimizar a aplicação de um bio-estimulante comercial na produção de morangos em sistema hidropónico. Para tal, foram avaliados os efeitos do modo de aplicação (fertirrega e foliar), dose (1.5; 3.0 e 4.5 l/ha em fertirrega e 1.5 e 3.0 l/ha na aplicação foliar) e frequência de aplicação (quinzenal ou mensal) do bio-estimulante na produtividade e qualidade dos frutos. Os atributos de qualidade (teor em sólidos solúveis, firmeza e cor) foram avaliados quer à colheita quer após 7 dias de vida de prateleira, a 5 °C.

Material e Métodos

Condições de crescimento

Este estudo foi conduzido no período de Outubro de 2013 a Junho de 2014. Plantas enraizadas de morango (*Fragaria ananassa* Duch), cultivar 'Festival', com duas a três folhas, foram plantadas no dia 16 de Outubro de 2013, com uma densidade de 20 plantas m⁻² numa estufa multi-túnel de polietileno com 1 ha, equipada com o sistema New Growing System (NGS, Almería, Espanha). Este sistema de produção sem solo com recirculação da solução

nutritiva, é constituído mangas de polietileno de dupla camada onde é colocado o substrato (fibra de coco) e a tubagem, para garantir a fertirrega gota-a-gota. Estas mangas são suportadas por calhas de ferro suspensas a uma altura regulável.

No total foram avaliadas 10 modalidades de aplicação de um bio-estimulante comercial à base de extratos de algas (*Ascophyllum nodosum*) (Fitoalgas green, SAPEC Agro, Portugal), sendo seis tratamentos aplicados por fertirrega e quatro por via foliar (pulverização das folhas). Os seis tratamentos com aplicação por fertirrega resultaram da combinação de três concentrações de bio-estimulante (1.5, 3.0 e 4.5 l/ha), cada uma das quais aplicadas a cada 15 ou 30 dias, ao longo de todo o ciclo cultural. Os restantes quatro tratamentos foram aplicados por via foliar, com concentrações de 1.5 e 3.0 l/ha, também aplicados quinzenal ou mensalmente. O tratamento de controlo foi a aplicação de 1.5 l/ha a cada 30 dias, uma vez que essa era a modalidade utilizada pelo produtor sendo aplicada a toda a estufa, já que esta apenas possui um setor de fertirrega. Como tal, para os restantes tratamentos foi aplicada uma dose extra de bio-estimulante com o auxílio de uma seringa, sendo injectada individualmente em cada planta a dose extra correspondente ao respetivo tratamento.

Análise dos parâmetros produtivos

A colheita dos frutos decorreu de Fevereiro a Junho de 2014. Os frutos foram colhidos no estado de maturação comercial (i.e. 100 % da superfície com cor vermelha) já que os mesmos se destinam ao mercado nacional. Todos os frutos colhidos ao longo do ciclo cultural foram contados e pesados com uma balança de precisão. Com os dados recolhidos foram determinados os parâmetros de produtividade, expressos em peso total de frutos planta⁻¹ e em número de frutos planta⁻¹.

Análise dos parâmetros físico-químicos

No pico de produção foi efetuada uma avaliação de qualidade à colheita (dia 0) e após 7 dias de vida de prateleira em morangos conservados em câmaras de refrigeração a 5 °C. Nesse sentido foram determinados os seguintes parâmetros físico-químicos: teor em sólidos solúveis (TSS), firmeza e cor do pericarpo.

O TSS foi medido em cada amostra de sumo de morango (n = 3) através de um refratómetro digital (Modelo PR-32 Alpha, Atago Co., Tokyo, Japan). A firmeza dos frutos foi determinada na zona equatorial do fruto com recurso a um texturómetro (TA.XTPlus Texture Analyzer, Tetsu Technologies, Massachusetts, EUA), equipado com uma célula de carga de 5 kg. A força para conduzir uma sonda cilíndrica TA-55, 5 mm de diâmetro a perfurar 5 mm do tecido, a uma velocidade de 1.5 mm s⁻¹ foi registada. A determinação da cor da epiderme dos frutos foi efetuada segundo o sistema de coordenadas CIE, L*, a*,b*, por meio de um colorímetro CR-400 (Konica-Minolta, Osaka, Japan), com um iluminante D65 e um ângulo de observação de 2°. O equipamento foi calibrado com uma placa branca no início de cada uma das datas de observação das amostras. A coordenada tonalidade (hue°) foi calculada pela equação $h^{\circ} = \arctan(b^*/a^*)$. As medições com o colorímetro foram realizadas na zona equatorial dos frutos de cada tratamento.

Resultados

Parâmetros de produtividade

A aplicação de bio-estimulante por fertirrega na dose de 4.5 l/ha a cada 15 dias, originou uma maior produtividade (20%; Fig. 1) comparativamente com o controlo (1.5 l/ha a cada 30 dias), embora sem diferenças significativas entre estes tratamentos. O aumento de produtividade resultou do acréscimo do número total de frutos produzidos (10%; Fig. 1) assim como do aumento do peso médio do fruto (8%; resultados não apresentados). Relativamente ao modo de aplicação, verifica-se que geralmente a aplicação de bio-estimulante por fertirrega é mais eficaz no aumento da produtividade, apresentando ainda um número de frutos por planta

significativamente superior ao observado nos tratamentos por via foliar. Por fim, avaliando o efeito da frequência de aplicação na produtividade pode-se concluir que a aplicação do bio-estimulante a cada 15 dias promoveu o peso total de frutos produzidos por planta com diferenças significativas na maioria dos tratamentos via fertirrega e foliares (Fig. 1A). Curiosamente, quando comparados tratamentos que resultaram na mesma dose de bio-estimulante numa base mensal (i.e. dose 1.5 l/ha a cada 15 dias comparativamente com 3 l/ha a cada 30 dias), verifica-se que uma menor dose de bio-estimulante mais frequente é mais eficaz no aumento do número de frutos.

Um estudo recente também demonstrou o aumento da produtividade (em 30 a 40%) e do número de frutos em três cultivares de morango ('Camarosa', 'Chandler' e 'Festival') tratadas com 1 ou 2 g/l de bio-estimulante em pó à base de extratos de algas *Ascophyllum nodosum*. Porém, aplicações de doses superiores (4 g/l) não tiveram efeito significativo nestes parâmetros produtivos quando comparados com plantas controlo onde não foi aplicado bio-estimulante. Paralelamente a cultivar 'Albion' não se mostrou sensível à aplicação de bio-estimulante, o que revela que existe uma interação entre o bio-estimulante e a cultivar (Alam *et al.*, 2013). A aplicação de Actiwave® aumentou igualmente a produtividade (g planta⁻¹) em 26% (Spinelli *et al.*, 2010).

Parâmetros físico-químicos

Teor em sólidos solúveis

A aplicação de bio-estimulante via fertirrega, na dose de 1.5 l/ha a cada 15 dias resultou na produção de morangos com um TSS mais baixo quando comparado com os restantes tratamentos. Porém, esta diferença só foi significativa para aplicações de 3 e 4.5 l/ha a cada 30 dias na modalidade de fertirrega e na aplicação foliar de 1.5 l/ha a cada 30 dias, tendo representado um aumento máximo de 11% (Fig. 2.). Relativamente ao modo de aplicação, a aplicação foliar de bio-estimulante mostrou ser o método que, independentemente da concentração e frequência de aplicação, deu origem a frutos com maior TSS à colheita (Fig. 2).

Após 7 dias de armazenamento a 5 °C verificou-se uma tendência decrescente no TSS dos frutos armazenados, tendo sido esse decréscimo mais acentuado no tratamento 1.5 l/ha a cada 30 dias quando aplicados via fertirrega (o que representa o tratamento com menor dose de bio-estimulante). O decréscimo verificado no TSS sugere a redução no total de açúcares e pode ser atribuído à actividade metabólica dos frutos durante o armazenamento, podendo ser explicado pela hidrólise da sacarose e a utilização de açúcares redutores na respiração do fruto (Mishra & Kar, 2014). No caso da fertirrega, uma maior frequência na aplicação de bio-estimulante, ou seja, de 15 em 15 dias, parece ter um efeito benéfico na manutenção do TSS no fruto durante a vida de prateleira, possivelmente ao reduzir o stress metabólico possivelmente associado a uma aplicação mais esporádica, de 30 em 30 dias. Contrariamente, na aplicação foliar, a frequência de aplicação mais eficaz na manutenção do TSS foi a de 30 em 30 dias, o que pode ser interpretado pela facilidade de acesso ao bio-estimulante aplicado directamente na parte aérea da planta.

Firmeza

A firmeza é um critério frequentemente usado para avaliar a qualidade dos frutos, uma vez que está directamente relacionada com o desenvolvimento dos mesmos, com o amadurecimento e com o potencial de armazenamento dos mesmos (De Ketelaere *et al.*, 2004). Uma redução da firmeza de um fruto diminui o seu tempo de prateleira uma vez que os torna mais predispostos a lesões mecânicas, contaminações e aparecimento de bolor (Cordenunsi *et al.*, 2003).

A aplicação de bio-estimulante via fertirrega na dose de 4.5 l/ha a cada 30 dias promoveu o maior aumento da firmeza dos frutos à colheita, resultando em frutos 45% mais firmes que os do tratamento controlo, que por sua vez originou os frutos com a menor firmeza embora não

significativamente diferente de outros tratamentos (Fig. 3). Apesar de os melhores resultados de firmeza dos frutos terem sido observados com a aplicação de 4.5 l/ha a cada 30 dias, a aplicação da mesma concentração mas de 15 em 15 dias parece ter um efeito negativo neste parâmetro de qualidade. No que respeita a via de administração do bio-estimulante, a aplicação foliar não teve efeito benéfico na firmeza dos frutos relativamente ao método de aplicação fertirrega e não foram encontradas diferenças significativas entre diferentes doses e frequência de aplicação do bio-estimulante.

Como seria de esperar, do dia 0 para o dia 7 verificou-se de um modo geral uma diminuição na firmeza dos frutos (Fig. 3). Esta diminuição de firmeza ocorre, durante o armazenamento, independentemente do estado de maturação inicial do fruto (Nunes *et al.*, 2006). Verificou-se igualmente uma tendência decrescente na firmeza dos tratamentos via fertirrega com uma frequência de aplicação quinzenal à medida que a concentração aumenta, sugerindo um maior conteúdo de água na sua composição, uma vez que o seu peso apresenta uma tendência contrária à anteriormente referida (Fig. 1.) A firmeza do morango decresce ao longo do seu desenvolvimento, derivado em parte à expansão da parede celular à medida que o estado de hidratação aumenta (Schwab & Raab, 2004). A aplicação de tratamentos foliares à base de extratos de algas resultou num aumento do tempo de prateleira de pêssegos (Skelton & Senn, 1966). No caso da aplicação de bio-estimulante via foliar, nas doses de 1.5 e 3 l/ha, a cada 15 dias, verificou-se um aumento e a manutenção da firmeza dos frutos, respectivamente, o que pode estar relacionado com alguma desidratação na superfície dos frutos, provocada pelo contacto directo com o bio-estimulante.

Outra observação importante foi que a aplicação bio-estimulante na dose de 1.5 l/ha a cada 15 dias (3.0 l/ha no final de 30 dias) origina frutos com uma maior firmeza do que aplicar a 3.0 l/ha de 30 em 30 dias. Menor concentração com uma maior frequência tem um efeito positivo na firmeza dos frutos relativamente à aplicação de concentrações mais elevadas com menor frequência. O fornecimento mais frequente de bio-estimulante pouco concentrado pode resultar numa situação de melhor equilíbrio metabólico, favorecendo a manutenção da integridade das células e atrasando a perda de atributos de qualidade inerentes à vida de prateleira.

Cor

Os frutos provenientes dos tratamentos foliares, que apresentam a mesma dose de aplicação mensal (1.5 l/ha a cada 15 dias e 3.0 l/ha a cada 30 dias) resultaram no valor significativamente mais baixo de L^* à colheita (Tabela 1). De um modo geral, verificou-se uma tendência decrescente do valor de L^* durante o armazenamento, significando que o fruto se tornou mais baço, com exceção dos tratamentos acima indicados coo apresentando menor L^* à colheita onde se registou uma manutenção da luminosidade dos frutos. Já para as aplicações via fertirrega na dose 4.5 l/ha a cada 30 dias, registaram-se os valores significativamente mais elevados de L^* relativamente aos restantes tratamentos.

No que respeita a intensidade vermelha no dia da colheita, tal como foi descrito para a luminosidade, observou-se uma intensidade inferior nos frutos produzidos por plantas com aplicação foliar na dose 1.5 l/ha a cada 15 dias e 3 l/ha a cada 30 dias, com diferenças significativas para com os restantes tratamentos foliares. Passados 7 dias de armazenamento os frutos apresentam uma tendência de redução do valor de a^* , tendo sido registado que frutos provenientes do tratamentos de controlo 1.5 l/ha apresentaram o valor mais elevado e portanto, conservaram melhor a intensidade vermelha. No que diz respeito à tonalidade, no dia 0, os frutos oriundos do tratamento com a dose de 4.5 l/ha a cada 15 apresentaram o valor mais baixo de tonalidade, com diferenças significativas relativamente aos tratamentos via fertirrega mensais, com a exceção da aplicação de controlo. Por sua vez o valor mais alto foi registado na mesma dosagem responsável pelo valor mais baixo mas com frequência diferente (4.5 l/ha a cada 30 dias), com diferenças significativas relativamente às restantes aplicações via fertirrega mensais bem como aos tratamentos foliares na dose 1.5 l/ha a cada 15 dias e 3.0 l/ha a cada 30

dias, sendo que os frutos produzidos nestes dois últimos casos recebem a mesma dose mensalmente. Passados 7 dias de armazenamento, a tonalidade dos frutos decresceu de forma generalizada, indicando que os frutos ficaram com uma maior tonalidade vermelha.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao José Carvalho pelo apoio prestado para a implementação do ensaio na sua empresa Hortivolátil (Famalicão).

Referências

- Abubakar AR, Ashraf N, Ashraf M. 2013. Effect of plant biostimulants on growth, chlorophyll content, flower drop and fruit set of pomegranate Cv Kandhari Kabuli. *International Journal of Agriculture, Environment & Biotechnology* 6: 305-309.
- Alam MZ, Braun PG, Norrie J, Hodges DM. 2013. Effect of *Ascophyllum* extract application on plant growth, fruit yield and soil microbial communities of strawberry. *Canadian Journal of Plant Science* 93: 23-36.
- Azodanlou R, Darbellay C, Luisier JL, Villettaz JC, Amado R. 2003. Quality assessment of strawberries (*Fragaria* species). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 715–721.
- Cordenunsi BR, Nascimento JRO, Lajolo FM. 2003. Physico-chemical changes related to quality of five strawberry fruit cultivars during cool-storage. *Food Chemistry* 83: 167–173.
- Craigie JS. 2011. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *Journal of Applied Phycology* 23: 371-393.
- Crouch IJ, van Staden J. 1992. Effect of seaweed concentrate on the establishment and yield of greenhouse tomato plants. *Journal of Applied Phycology* 4: 291–296.
- Dantas ACVL, Queiroz JMO, Almeida VO, Vieira EL. 2012. Effect of gibberellic acid and the biostimulant stimulate® on the initial growth of tamarind. *Revista Brasileira de Fruticultura* 34: 8-14.
- De Ketelaere B, Lammertyn J, Molenberghs G, Desmet M, Nicolai B, de Baerdemaeker J. 2004. Tomato cultivar grouping based on firmness change, shelf life and variance during postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology* 34: 187-201.
- Khan W, Rayirath UP, Subramanian S, Jithesh MN, Rayorath P, Hodges DM, Critchley AT, Craigie JS, Norrie J, Balakrishnan P. 2009. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *Journal of Plant Growth Regulation* 28: 386-399.
- Mishra, R. & Kar, A. 2014. Effect of Storage on the Physicochemical and Flavour Attributes of Two Cultivars of Strawberry Cultivated in Northern India. *The Scientific World Journal*. vol. 2014, Article ID 794926, 7 pages.
- Nunes MCN, Brecht JK, Morais AMMB, Sargent SA. 2006. Physicochemical changes during strawberry development in the field compared with those that occur in harvested fruit during storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86: 180-190.
- Roussos PA, Denaxa NK, Damvakaris T. 2009. Strawberry fruit quality attributes after application of plant growth stimulating compounds. *Scientia Horticulturae* 119: 138-146.
- Schwab W, Raab T. 2004. Developmental changes during strawberry fruit ripening and physico-chemical changes during postharvest storage. In: Dris R, Jain SM. (Eds.), *Production Practices and Quality Assessment of Food Crops, 'Quality handling and Evaluation'*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands 3: 341–369.

- Skelton BJ, Senn, TL. 1966. Effect of seaweed on quality and shelf-life of Harvest Gold and Jerseyland peaches. South Carolina Agr. Expt. Sta. Hort. Dept. Res. Ser. No. 86.
- Spann TM, Little HA. 2011. Applications of a commercial extract of the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* increases drought tolerance in container-grown 'Hamlin' sweet orange nursery trees. *HortScience* 46: 577-582.
- Spinelli F, Fiori G, Noferini M, Sprocatti M, Costa G. 2010. A novel type of seaweed extract as a natural alternative to the use of iron chelates in strawberry production. *Scientia Horticulturae* 125: 263–269.
- Zhang X, Schmidt RE. 1997. The impact of growth regulators on the α -tocopherol status in water-stressed *Poa pratensis* L. *International Turfgrass Society Research Journal* 8: 1364–1373.
- Zodape ST, Gupta A, Bhandari SC, Rawat US, Cahudhary DR, Eswara K, Chikara J. 2011. Foliar application of seaweed sap as biostimulant for enhancement of yield and yield quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Journal of Scientific and Industrial Research* 70: 215-219.

Quadros e figura

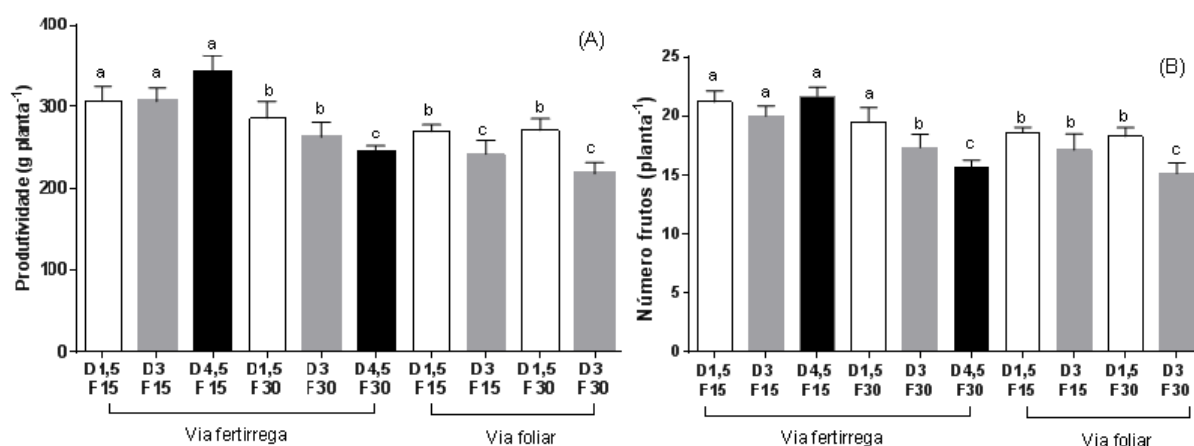


Figura 1 - Efeito da aplicação de bio-estimulante por via fertirrega e via foliar na produtividade em g/planta (A) e no número de frutos por planta (B) de morango cv. 'Festival' produzido em sistema hidropônico NGS. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre tratamentos. Abreviaturas: D = dose da aplicação de bio-estimulante (l/ha); F = frequência de aplicação (dias). Tratamento controle = D1,5 F30 via fertirrega.

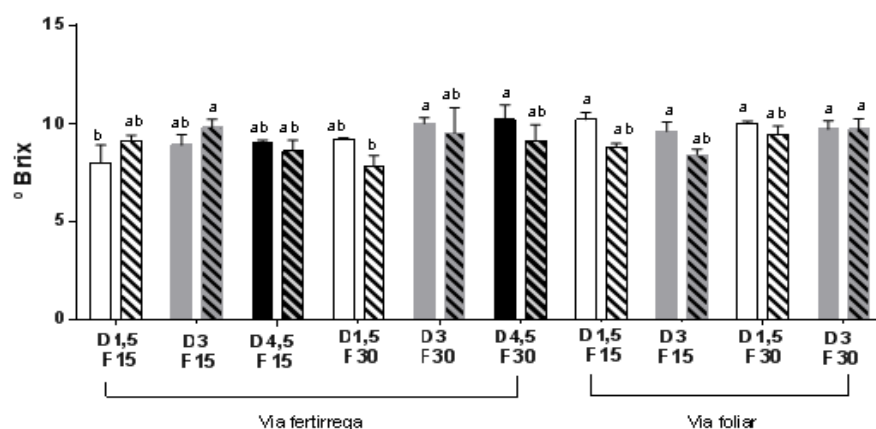


Figura 2 - Efeito da aplicação de bio-estimulante por via fertirrega e via foliar no grau brix de frutos, à colheita (barras sem riscas) e após 7 dias (barras com riscas) de vida de prateleira a 5°C, de morango cv. 'Festival' produzido em sistema hidropónico NGS. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre tratamentos para a mesma data. Abreviaturas: D = dose da aplicação de bio-estimulante (l/ha); F = frequência de aplicação (dias). Tratamento controle = D1,5 F30 via fertirrega.

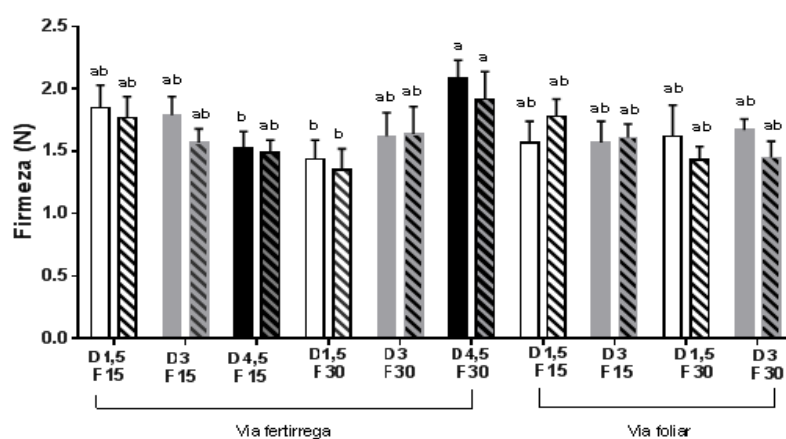


Figura 3 - Efeito da aplicação de bio-estimulante por via fertirrega e via foliar na firmeza de frutos, à colheita (barras sem riscas) e após 7 dias (barras com riscas) de vida de prateleira a 5°C, da cultivar 'Festival' produzido em sistema hidropónico NGS. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) entre tratamentos para a mesma data. Abreviaturas: D = dose da aplicação de bio-estimulante (l/ha); F = frequência de aplicação (dias). Tratamento controle = D1,5 F30 via fertirrega.

Tabela 3 - Efeito da aplicação de bio-estimulante nos Parâmetros: Luminosidade, Coordenada a*, Tonalidade e Diferença de Cor Total de frutos à colheita (dia 0) e após 7 dias de vida de prateleira a 5°C. Os valores apresentados são as médias \pm erro padrão. Abreviaturas: D = concentração da aplicação de bio-estimulante (L/ha); F frequência de aplicação (dias). Tratamento controle = D1,5 F30 via fertirrega.

Tratamento	Luminosidade (L*)		Coordenada a*		Tonalidade (h°)		Δ E
	Dia 0	Dia7	Dia 0	Dia 7	Dia 0	Dia7	
Fertirrega							
D1,5 F15	35,9±1,83 bc	32,9±1,92 ab	36,8±3,70 bc	35,1±1,97 bc	29,30±3,51 ab	27,84±2,36 ab	6,50±2,37 a
D3 F15	36,4±3,01 bc	32,9±2,05 ab	37,7±3,15 c	34,9±3,21 bc	29,03±2,95 ab	28,51±3,72 ab	7,60±4,58 a
D4,5 F15	35,0±2,59 ab	34,1±3,4 bc	35,4±3,64 bc	33,8±2,88 bc	27,11±3,41 a	29,25±4,18 ab	7,04±4,34 a
D1,5 F30	34,9±1,81 ab	34,3±3,18 bc	35,9±3,20 bc	35,8±3,71 c	28,21±3,60 ab	28,76±2,68 ab	6,49±4,82 a
D3 F30	35,0±2,38 ab	32,6±2,03 a	34,6±2,65 ab	33,2±3,43 a	28,94±4,17 b	26,02±1,95 b	6,42±4,38 a
D4,5 F30	37,6±2,48 c	33,6±1,2 b	36,0±3,91 bc	33,6±1,91 a	31,87±4,44 c	28,50±3,10 ab	7,89±3,11 a
Foliar							
D1,5 F15	33,9±2,06 a	34,4±2,63 bc	32,8±2,74 a	33,5±4,13 a	28,28±3,48 ab	29,21±3,76 ab	6,41±2,26 a
D3 F15	36,2±2,93 bc	32,9±2,66 ab	35,9±2,93 bc	33,2±3,38 a	30,15±3,81 b	28,42±3,02 a	8,31±4,47 a
D1,5 F30	36,5±3,23 bc	34,8±1,82 c	35,9±4,72 bc	34,4±3,21 a	29,87±3,90 ab	29,25±1,96 a	8,11±4,01 a
D3 F30	33,4±2,03 a	34,6±1,92 c	32,9±2,60 a	34,4±1,97 b	27,50±2,79 ab	27,90±3,22 ab	6,12±2,52 a

Efeito da aplicação de um bioestimulante em duas cultivares de cerejeira (*Sweetheart* e *Skeena*): II) produção, calibre, índice de rachamento e características químicas dos frutos

Sofia Correia¹, Filipa Queirós², Carlos Ribeiro³, Ivo Oliveira⁴, Ana Luzio⁵, Ana Paula Silva⁶ & Berta Gonçalves⁷

¹ Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. E-mail: sofiacorreia@utad.pt

² Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. E-mail: filipa_queiros@portugalmail.pt

³ Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Departamento de Agronomia, Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. E-mail: cribeiro@utad.pt

⁴ Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. E-mail: ivobio@hotmail.com

⁵ Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. E-mail: aluzio@utad.pt

⁶ Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Departamento de Agronomia, Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. E-mail: asilva@utad.pt

⁷ Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Departamento de Biologia e Ambiente, Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. E-mail: bertag@utad.pt

Resumo

Na cerejeira, o calibre, a firmeza e a relação açúcares/ácidos dos frutos são parâmetros de qualidade muito valorizados pelo consumidor, pelo que o ceresicultor é levado a procurar estratégias tendentes a obter essa valorização, como a utilização de bioestimulantes, prática cada vez mais recorrente na fruticultura, de forma a proporcionar melhorias no desenvolvimento da árvore e na produtividade. Este trabalho teve como objectivo estudar o efeito da aplicação de um bioestimulante comercial na produção, calibre, índice de rachamento, pH e sólidos solúveis de frutos de duas cultivares (cvs.) de cerejeira, *Sweetheart* e *Skeena*, enxertadas em Gisela 6. O ensaio foi conduzido num pomar instalado em Carrazedo de Montenegro, concelho de Valpaços (latitude 41°33' N, longitude 7°17' W, altitude 770 m), norte de Portugal. O tratamento consistiu na aplicação de um bioestimulante constituído maioritariamente por extracto de algas marinhas (*Ascophyllum nodosum*). Foram verificadas diferenças significativas ($p < 0,05$) de produção entre as duas cvs., sendo a cv. *Skeena* a que apresentou maior produção. Nos parâmetros biométricos, os frutos da cv. *Skeena* tratados apresentaram maior calibre, enquanto que os da cv. *Sweetheart* sem tratamento apresentaram menor massa e menor tamanho. Verificaram-se diferenças significativas entre cvs. para todos os parâmetros biométricos analisados ($p < 0,001$). Com efeito, o tratamento com o bioestimulante promoveu o aumento na massa e no tamanho dos frutos ($p < 0,05$), e diminuiu significativamente o índice de rachamento ($p < 0,05$) em ambas as cvs. O pH dos frutos analisados apresentou diferenças significativas entre as cvs. ($p < 0,001$), entre tratamentos ($p < 0,001$) e com a interação de ambos ($p < 0,05$). Os valores mais elevados registaram-se nos frutos da cv. *Skeena* tratados, e os mais baixos nos da cv. *Sweetheart* não tratados. O teor em sólidos solúveis variou significativamente entre cvs. ($p < 0,001$), apresentando valores inferiores nos frutos da cv. *Skeena* sem tratamento e valores superiores nos da cv. *Sweetheart* tratados.

Com este estudo verificou-se que a aplicação do bioestimulante melhorou a qualidade dos frutos nas cvs. estudadas.

Palavras-chave: *Prunus avium* L.; Extracto de Algas Marinhas (*Ascophyllum nodosum*); Parâmetros Biométricos; pH; Sólidos Solúveis.

Abstract

Effect of the biostimulant application in two cultivars of sweet cherry tree (*Sweetheart* and *Skeena*): II) production, size, cracking index and chemical characteristics of the fruits

In sweet cherry tree, the fruit size, firmness and sugar/acid ratio are fundamental quality parameters appreciated by the consumer. So, the producer of sweet cherries is led to look for strategies to obtain this value, as the use of biostimulants, practice increasingly applicant in fruit growing, to provide improvements in plant development and productivity. This work aimed to study the effect of the biostimulant application in production, size, cracking index, pH and soluble solids of the fruits from two cultivars (cvs.), *Sweetheart* and *Skeena*, grafted on Gisela 6. The study was carried out in an orchard installed in Carrazedo de Montenegro, Valpaços, north of Portugal. The treatment consisted in the application of biostimulant composed mainly of seaweed extract (*Ascophyllum nodosum*). Significant differences ($p<0.05$) were found between cvs. on overall production and the *Skeena* cv showed higher yield. In biometric parameters, the treated fruits of *Skeena* cv. showed higher size, whereas the untreated *Sweetheart* cv showed less weight and less size cherries. There were significant differences between cvs. for all biometric parameters assessed ($p<0.001$). The biostimulant promoted an increase in the weight and size of fruits ($p<0.05$). In cracking index determination was also found a strong influence of treatment ($p<0.05$), since this parameter was lower in treated fruits of both cvs. The pH of the fruits analyzed showed significant differences between cvs. ($p<0.001$), between treatments ($p<0.001$) and the interaction of both ($p<0.05$). The highest values were verified in treated fruits of *Skeena* cv. and lowest in untreated fruits of *Sweetheart* cv. The content of soluble solids varied significantly between cvs. ($p<0.001$), with lower values in fruits from *Skeena* cv. With this study it was found that the application of the biostimulant improved the quality of the fruit in the studied cvs.

Keywords: *Prunus avium* L.; Seaweed Extract (*Ascophyllum nodosum*); Biometric Parameters; pH; Soluble Solids.

Introdução

Originária da Ásia, a cerejeira, *Prunus avium* L., é atualmente produzida em quase toda a Europa, oeste da Ásia e noroeste de África (Crespi *et al.*, 2005). Em Portugal, a sua produção é modesta, no entanto é muito valorizada pelos consumidores, apresentando assim uma elevada importância económica no nosso país. Na cerejeira, o calibre do fruto, a firmeza e a relação açúcares/ácidos são parâmetros de qualidade muito valorizados pelo consumidor, pelo que o ceresicultor é levado a procurar estratégias tendentes a obter essa valorização. Embora as condições de cultivo possam interferir na expressão do potencial de cada cv., encontram-se no mercado diversos produtos que podem ser utilizados para incrementar o calibre do fruto (Whiting & Lang, 2004; Whiting & Ophardt, 2005). É o caso da aplicação de reguladores de crescimento que são já usados para a melhoria da qualidade da cereja, nomeadamente no aumento do calibre (Lenahan *et al.*, 2006; Kappel & MacDonald, 2007; Zhang & Whiting, 2011). Contudo, tem-se verificado um atraso na maturação, perda de cor e, nalgumas situações, um aumento da suscetibilidade ao fendilhamento com a sua aplicação (Clayton *et al.*, 2006; Özkaya *et al.*, 2006; Cline & Trought, 2007; Stern *et al.*, 2007; Zhang & Whiting, 2011).

Embora sejam inexistentes os estudos que avaliem a eficácia da utilização de bioestimulantes pode ser uma solução a explorar na fruticultura, de forma a proporcionar melhorias no desenvolvimento da árvore e sua produtividade. Estes produtos de origem orgânica, contendo extratos de algas marinhas, promovem o crescimento vegetal (Zodape, 2001). Outro aspecto relevante na melhoria da produtividade da cereja é a diminuição do índice de rachamento provocado pela precipitação quando o fruto já se encontra na fase de maturação (Simon, 2006; Balbontín *et al.*, 2013). Inicialmente pensava-se que o rachamento das cerejas ocorria devido à absorção excessiva de água através do sistema radicular, mas estudos posteriores (Sawada, 1931; Christensen, 1976) demonstram que ele é essencialmente devido à absorção de água pela epiderme do fruto. Várias metodologias foram já adotadas de forma a prevenir o rachamento dos frutos, tais como: proteger fisicamente os frutos da chuva (Børve & Meland, 1998; Thomidis & Exadaktylou, 2013), pulverizar os frutos com reguladores de crescimento (Usenik *et al.*, 2005; Cline & Trought, 2007), ou com produtos contendo cálcio (cloreto de cálcio, hidróxido de cálcio ou nitrato de cálcio – Lang *et al.*, 1998; Wójcik *et al.*, 2013). Neste estudo foi aplicado um bioestimulante comercial com extrato de algas marinhas (*Ascophyllum nodosum*) em duas cvs. de cerejeira, *Skeena* e *Sweetheart*, enxertadas em Gisela 6, com o intuito de estudar o efeito da sua aplicação na produção, calibre, índice de rachamento, pH e sólidos solúveis.

Material e Métodos

Aplicação do bioestimulante nas cerejeiras

O ensaio foi conduzido num pomar instalado em Carrazedo de Montenegro, concelho de Valpaços (latitude 41°33' N, longitude 7°17' W, altitude 770 m), norte de Portugal. No local, a precipitação anual aproxima-se dos 1000 mm, grande parte concentrada nos meses mais frios, entre novembro e abril. O pomar compreende as cultivares *Sweetheart* e *Skeena* enxertadas em Gisela 6, e as árvores são conduzidas em eixo vertical ao compasso de 4,5x2 m; à data deste estudo encontravam-se na sexta folha. O tratamento consistiu na aplicação reiterada do bioestimulante na dose de 0,05% em três momentos, tendo a primeira aplicação coincidido com o estado de fruto vingado, especificamente 4 semanas após a plena floração (frutos com 8-10 mm de diâmetro), e as restantes ao engrossamento do fruto.

Determinação da produção, calibre, índice de rachamento e características químicas das cerejas

A produção foi determinada em 10 árvores de cada cv. e de cada tratamento. A data de colheita da cv. *Skeena* foi 8 de julho e a da cv. *Sweetheart* foi 15 de julho de 2014. A massa foi determinada no pomar usando uma balança (Kern EW, Germany) com capacidade máxima de 30 kg. Os frutos foram colhidos e transportados para o laboratório para realizar as restantes determinações. A altura, largura e diâmetro de 40 frutos por cv. e tratamento foram medidos com paquímetro digital (Mitutoyo, UK) de forma a determinar o calibre dos frutos. O índice de rachamento foi calculado de acordo com o método de Bilgener *et al.* (1999). A sensibilidade dos frutos ao rachamento foi avaliada a 25°C em vasos com 2 litros de água durante 6 horas. Com intervalos de 2 horas os frutos rachados foram contados e retirados, e os restantes permaneceram nos vasos. Esta metodologia foi realizada em triplicado para cada cv. e tratamento. O índice de rachamento foi calculado de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{Índice de Rachamento (\%)} = (5a + 3b + c) \times 100 / 200$$

Onde, a, b e c representam o número de frutos rachados após 2, 4 e 6 horas, respectivamente. O total de frutos para cada cv. e tratamento foi de 40 e o máximo de frutos rachados é $40 \times 5 = 200$; número total de frutos imersos: 40; factor de multiplicação dos frutos rachados após as primeiras 2 horas foi de 5. As características químicas foram determinadas a partir do sumo extraído de 3 réplicas de 10 frutos de cada cv. e tratamento, usando uma extratora-centrífuga (Tefal Elea, China). Para a determinação do pH foi usado um

potenciômetro (Jenway, UK) e para a determinação do total de sólidos solúveis foi usado um refratômetro digital (AtagoPR-101, Japan).

Análise estatística

Os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) com teste de Duncan a 5% de significância para comparação entre as médias, utilizando-se o *software* STATISTICA 2010 (StatSoft Inc., 2010).

Resultados e Discussão

Diferenças significativas ($p < 0,05$) foram verificadas ao nível da produção entre as duas cvs., variando os valores entre 10,27 kg/árvore na cv. *Sweetheart* sem tratamento e 16,95 kg/árvore na cv. *Skeena* tratada (Quadro 1). Alguns autores reportaram o aumento de produção de 20% em batata, 28% em morango e 41% em pepino com a utilização de biofertilizantes contendo extracto de algas marinhas (Booth, 1966; Stephenson, 1966; Abetz, 1980). No entanto, no nosso estudo verificamos apenas um aumento médio de 5% com a aplicação de bioestimulante. Foram encontradas diferenças significativas ($p < 0,001$) entre as duas cvs para todos os parâmetros biométricos. O tratamento com o biostimulante apresentou efeito ($p < 0,05$) nos parâmetros de massa, largura e diâmetro dos frutos, havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) apenas na largura ao nível da interacção de ambos (Cv. *T). Os frutos da cv. *Sweetheart* sem tratamento apresentaram os valores mais baixos de massa (7,27 g), largura (23,71 mm) e diâmetro (21,13 mm), enquanto que os da cv. *Skeena* com tratamento registaram os valores mais elevados 10,39 g, 27,08 mm e 24,09 mm, respetivamente. A largura dos frutos variou entre 22,20 mm (cv. *Sweetheart* com tratamento) e 24,04 mm (cv. *Skeena* sem tratamento). De forma geral, os frutos da cv. *Skeena* tratados apresentaram maior calibre, enquanto que os da cv. *Sweetheart* sem tratamento apresentaram menor massa e menor tamanho (Quadro 1 e Figura 1). Resultados similares foram obtidos por Rama (1991) utilizando algas marinhas (*Sargassum wightii*) na produção de maçã chinesa (*Zizyphus mauritiana*). Na determinação do índice de rachamento verificou-se também uma forte influência do tratamento ($p < 0,05$). O índice de rachamento foi inferior nos frutos tratados de ambas as cvs., verificando-se uma diminuição mais acentuada nos frutos da cv. *Skeena*. Os valores deste parâmetro variaram entre 7,00% nos frutos da cv. *Skeena* tratados e 27,17% nos da cv. *Skeena* sem tratamento (Quadro 1). Com este tratamento foi possível diminuir o índice de rachamento em 68% na cv. *Skeena* e 37% na cv. *Sweetheart*. Até à data são inexistentes estudos sobre o rachamento dos frutos de cerejeira usando extratos de algas marinhas ou bioestimulantes. Thomidis & Exadaktylou (2013) registaram com o uso de plásticos protectores uma redução média de 27% nos frutos de três cvs. de cerejeira. Wójcik (2013) aplicou cálcio na cv. de cerejeira *Burlat* reportando uma diminuição de rachamento dos frutos de 18%. Já os autores Cline & Trought (2007) aplicaram ácido giberélico nas cvs. *Bing* e *Sam*, e verificaram um aumento do rachamento de 26 para 44%. No entanto, há outros estudos (Usenik *et al.*, 2005) que sustentam que o ácido giberélico diminui o rachamento, e outros (Facteau, 1985; Horvitz *et al.*, 2003) onde não foi detectada nenhuma influência do tratamento. É ainda de salientar que estes dados são fortemente influenciados pelo ano de colheita, devido à variação anual da quantidade de precipitação. Neste estudo, a análise das características químicas, pH e teor de sólidos solúveis, evidenciou diferenças significativas ($p < 0,001$) entre as cvs. O pH dos frutos analisados apresentou diferenças significativas entre tratamentos ($p < 0,001$) e ao nível da interacção de ambos ($p < 0,05$). Os valores de pH mais elevados registaram-se nos frutos da cv. *Skeena* tratados (4,30) e os mais baixos nos da cv. *Sweetheart* sem tratamento (4,13). O teor em sólidos solúveis foi mais elevado na cv. *Sweetheart* com tratamento (23,4 °Brix) e na cv. *Skeena* sem tratamento registaram-se os valores mais baixos (17,5 °Brix). Clayton *et al.* (2006) e Lenahan *et al.* (2006) registaram também um aumento do teor de sólidos solúveis nos frutos após a aplicação de ácido giberélico. Um estudo mais recente refere que a utilização de extracto de algas (*Ascophyllum*

nodosum) melhorou o rendimento, calibre e qualidade de melancia (Abdel-Mawgoud *et al.*, 2010).

Conclusões

O tratamento com o bioestimulante promoveu o aumento do rendimento de produção, da massa, do tamanho, do pH e do teor de sólidos solúveis dos frutos de ambas as cvs. em estudo. Este tratamento promoveu também uma diminuição do índice de rachamento nos frutos de ambas as cvs., sendo por isso uma mais-valia a aplicação deste bioestimulante no melhoramento da qualidade da cereja.

Agradecimentos

Este trabalho foi suportado pelo Projeto “GoldCherry – Incremento da produção de cereja de qualidade”, PA 53626 – financiado pelo Fundo Europeu Agrícola de Desenvolvimento Rural (FEADER) e pelo Estado Português através da Medida 4.1. Cooperação para a Inovação do programa PRODER – Programa de Desenvolvimento Rural. A Fundação para a Ciência e Tecnologia financia a bolsa de doutoramento de Sofia Correia (SFRH/BD/52541/2014).

Referências

- Abdel-Mawgoud, A., Tantaway, A.S., Hafez, M. and Habib, H., 2010. Seaweed Extract Improves Growth, Yield and Quality of Different Watermelon Hybrids. *Res J Agric & Biol Sci*, 6: 161–168.
- Abetz, P., 1980. Seaweed extracts: have they a place in Australian agriculture or horticulture? *J Aust Inst Agric Sci*, 46: 23–29.
- Balbontín, C., Ayala, H., Bastías, R., Tapia, G., Ellena, M., Torres, C., Yuri, J.A., Quero-García, J., Ríos, J.C. & Silva, H., 2013. Cracking in sweet cherries: A comprehensive review from a physiological, molecular, and genomic perspective. *Chilean J Agric Res*, 73: 66–72.
- Bilgener Ş., Demirsoy L. & Demirsoy H., 1999. The effects of vapor gard, GA₃ and calcium hydroxide applications on fruit cracking in ‘Türkoğlu’ sweet cherry. Etkilerinin araştırılması. III. *National Horticultural Congress*, Turkey. 828–832 (in Turkish).
- Børve, J. & Meland, M., 1998. Rain cover protection against cracking for cherry orchards. *Acta Hortic*, 468: 441–447.
- Booth, E., 1966. Some properties of seaweed manure. *Proc. Fith Int Seaw. Symp. Halifax (Pergamon Press Oxford)*, 349–357.
- Christensen, J.V., 1976. Cracking in Cherries. *Journal of Plant and Soil Science*, 80: 289–324.
- Clayton, M., Biasi, W.V., Agar, I.T., Southwick, S.M. & Mitcham, E.J., 2006. Sensory quality of ‘Bing’ sweet cherries following preharvest treatment with hydrogen cyanamide, calcium ammonium nitrate, or gibberellic acid. *HortScience*, 41: 745–748.
- Cline, J.A. & Trought, M., 2007. Effect of gibberellic acid on fruit cracking and quality of Bing and Sam sweet cherries. *Can J Plant Sci*, 87: 545–550.
- Crespi, A.L., Castro, A.S. & Bernardos, S. 2005b. Organografia e Conservação das Plantas Vasculares. In A Flora da Região Demarcada do Douro. Azevedo, J. (ed.), Vol. I, Mirandela, 189.
- Facteau, T.J., Rowe, K.E., & Chesnut, N.E., 1985. Response patterns of gibberellic acid-treated sweet cherry fruit at different soluble solids levels and leaf/fruit ratios. *Scientia Hortic*, 27: 257–262.

- Horvitz, S., López Camelo, A. F., Yommi, A. & Godoy, C., 2003. Application of gibberellic acid to 'Sweetheart' sweet cherries: effects on fruit quality at harvest and during cold storage. *Acta Hortic*, 628: 311–316.
- Kappel, F. & MacDonald, R.A., 2007. Early gibberellic acid sprays increase firmness and fruit size of 'sweetheart' sweet cherry. *J Amer Pomol Soc*, 61: 38–43.
- Lang, G.A., Guimond, C.M., Floree, J.M., Facticeau, T.J., Azarenko, A., Kappel, F. & Southwick, S., 1998. Performance of calcium/sprinkler-based cherry cracking prevention strategies. *Acta Hortic*, 468: 649–656.
- Lenahan, O.M., Whiting, M.D. & Elfving, D.C., 2006. Gibberellic acid inhibits floral bud induction and improve 'Bing' sweet cherry fruit quality. *HortScience*, 41: 654–659.
- Özkaya, O., Dündar, Ö. & Küden, A., 2006. Effect of preharvest gibberellic acid treatments on postharvest quality of sweetcherry. *J. Food. Agric. Environ.*, 4: 189–191.
- Rama, K., 1991. Effect of aqueous seaweed extract on *Zizyphus mauritiana* Lam. *J Indian Bot Soc*, 71: 19–21.
- Sawada, E., 1931. Studies on the Cracking of cherries. *Agric and Hort*, 6: 864–892.
- Simon, G., 2006. Review on rain induced fruit cracking of sweet cherries (*Prunus avium* L.), its causes and the possibilities of prevention. *Int J Hort Sci*, 12 (3): 27–35.
- Stephenson, W.M., 1966. The effect of hydrolyzed seaweed on certain pests and diseases. *Proc. Fith Int Seaw. Symp. Halifax (Pregamon Press Oxford)*, 405–415.
- Stern, R.A., Flaishman, M., Applebaum, S. & Ben-Arie, R., 2007. Effect of synthetic auxins on fruit development of 'Bing' cherry (*Prunus avium* L.). *Sci Hort*, 114: 275–280.
- Thomidis, T. & Exadaktylou, E., 2013. Effect of a plastic rain shield on fruit cracking and cherry diseases in Greek orchards. *Crop Protection*, 52: 125–129.
- Usenik, V., Kastelec, D. & Stampar, F., 2005. Physicochemical changes of sweet cherry fruits related to application of gibberellic acid. *Food Chem* 90: 663–671.
- Whiting, M.D. & Lang, G.A., 2004. Bing sweet cherry on the dwarfing rootstock *Gisela 5*: crop load affects fruit quality and vegetative growth but not net CO₂ exchange. *J Amer Soc Hort Sci*, 129: 407–415.
- Whiting, M.D. & Ophardt, D., 2005. Comparing novel sweet cherry crop load management strategies. *HortSci*, 40: 1271–1275.
- Wójcik, P., Akgül, H., Demirtaş, I., Sarısu, C., Aksu, M. & Gubbuk, H., 2013. Effect of preharvest sprays of calcium chloride and sucrose on cracking and quality of 'Burlat' sweet cherry fruit. *J Plant Nutr*, 36:1453–1465,
- Zhang, C. & Whiting, M.D., 2011. Improving 'Bing' sweet cherry fruit quality with plant growth regulators. *Sci Hort*, 127: 341–346.

Zodape, S.T. 2001. Seaweeds as a biofertilizer. *J Sci & Ind Res*, 60: 378–382.

Quadros e figuras



Figura 1. – Aspeto geral das cerejas em estudo. **A:** Frutos controlo da cv. *Skeena*; **B:** Frutos tratados com bioestimulante da cv. *Skeena*; **C:** Frutos controlo da cv. *Sweetheart*; **D:** Frutos tratados com bioestimulante da cv. *Sweetheart*.

Quadro 1. – Produção, calibre, índice de rachamento e características químicas das cerejas das cvs. *Skeena* e *Sweetheart* tratadas com bioestimulante e controlo ($p < 0,05$; Média \pm Erro Padrão).

Cultivar (Cv)	Produção (kg/árvore)	Massa (g)	Altura (mm)	Largura (mm)	Diâmetro (mm)	Índice de Rachamento (%)	pH	Total de Sólidos Solúveis (°Brix)
Skeena (SK)	16,37 \pm 1,56	10,11 \pm 0,10	23,85 \pm 0,09	26,71 \pm 0,11	24,01 \pm 0,08	14,58 \pm 4,04	4,29 \pm 0,01	17,82 \pm 0,34
Sweetheart (SW)	10,61 \pm 1,33	7,31 \pm 0,09	22,33 \pm 0,09	23,77 \pm 0,11	21,21 \pm 0,10	9,67 \pm 2,29	4,20 \pm 0,03	23,20 \pm 0,25
<u>Tratamento (T)</u>								
Controlo (C)	13,03 \pm 1,53	8,28 \pm 0,12	23,13 \pm 0,10	25,04 \pm 0,13	22,54 \pm 0,12	17,00 \pm 3,09	4,21 \pm 0,03	20,25 \pm 1,26
Com bioestimulante (B)	13,95 \pm 1,64	8,86 \pm 0,13	23,04 \pm 0,10	25,41 \pm 0,15	22,88 \pm 0,12	7,25 \pm 1,51	4,29 \pm 0,01	20,77 \pm 1,21
<u>Cv x T</u>								
SK x C	15,79 \pm 1,84	9,89 \pm 0,15	24,04 \pm 0,14	26,35 \pm 0,16	23,80 \pm 0,13	27,17 \pm 4,23	4,28 \pm 0,01	17,50 \pm 0,64
SK x B	16,95 \pm 2,60	10,39 \pm 0,14	23,81 \pm 0,11	27,08 \pm 0,13	24,09 \pm 0,10	7,00 \pm 2,47	4,30 \pm 0,01	18,13 \pm 0,28
SW x C	10,27 \pm 2,20	7,27 \pm 0,12	22,47 \pm 0,12	23,80 \pm 0,15	21,13 \pm 0,14	11,83 \pm 1,76	4,13 \pm 0,01	23,00 \pm 0,10
SW x B	10,96 \pm 1,62	7,36 \pm 0,14	22,20 \pm 0,13	23,71 \pm 0,17	21,37 \pm 0,13	7,50 \pm 2,29	4,27 \pm 0,03	23,40 \pm 0,52
<u>Valor de P</u>								
Cv	0,009	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,122	<0,001	<0,001
T	0,663	0,009	0,546	0,018	0,012	0,009	<0,001	0,271
Cv x T	0,912	0,071	0,388	0,024	0,166	0,093	0,002	0,796

Gestão de tecnologia na fruticultura portuguesa: teoria e estudo de caso da resposta do setor da pera ‘Rocha’ à proibição da difenilamina

Domingos P.F. Almeida

Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa.
Email: dalmeida@isa.ulisboa.pt.

Resumo

A gestão de tecnologia é indispensável à competitividade internacional das empresas e dos respetivos setores. O tratamento com difenilamina (DPA) foi a tecnologia padrão para mitigar o escaldão superficial e os acastanhamentos internos durante o armazenamento prolongado da pera ‘Rocha’. Na sequência da avaliação das substâncias ativas para utilização fitofarmacêutica, o uso da DPA foi proibido a partir da campanha de 2013. Esta alteração tecnológica decorre de um processo legislativo iniciado duas décadas antes. A ameaça sobre esta tecnologia setorial (DPA) era conhecida, pelo menos, uma década antes de a decisão ter produzido efeitos. Em 2010, o impacto económico da proibição do uso da DPA no setor da pera nacional foi estimado entre 22 e 39 milhões de euros, ou seja 16 a 28% do valor total da produção tendo por base os valores médios do triénio 2007-2009. No entanto, nada de consequente foi feito para gerir a transição tecnológica que se antevia. Obtida uma autorização extraordinária, nada de consequente foi feito até 2013, apesar da enorme responsabilidade económica e social dos agentes do setor. Com a proibição efetiva da DPA, o setor inicia, de forma reativa, um processo de experimentação que se encontra em curso. Nesta comunicação descreve-se o caso, nas suas componentes tecnológicas, comerciais e legais, revê-se a investigação efetuada na última década, os projetos de investigação e de formação avançada propostos, os seminários *ad hoc* sobre o tema e avaliam-se as suas consequências, do ponto de vista de gestão de inovação e de gestão risco setorial e procura-se retirar lições sobre a importância de bem-fazer a gestão da interface tecnológica e a incorporação eficaz de tecnologia exógena nas operações de empresas frutícolas.

Palavras-chave: curva tecnológica, gestão de inovação, pós-colheita frutícola.

Abstract

Technology management is essential to the international competitiveness of companies and their industries. Postharvest treatment with diphenylamine (DPA) has been the standard technology to mitigate superficial scald and internal browning disorders during long-term storage of ‘Rocha’ pear. DPA has been banned in 2013 following the reevaluation of active ingredients in Europe. This technological change is the result of a legislative process initiated two decades earlier. The threat over this technology (DPA) has been known for at least one decade before the final ban. As a last warning, an European decision in 2009 determined that DPA could only be used in the European Union until May 2010 with a possible extension until 2011. In 2010, the economic impact of the ban on DPA on the Portuguese pear industry was estimated in 22 to 39 million euros, i.e. 16 to 28% of the crop value (base: 2007-2009 average). The recommendation for the experimental development of alternative techniques was ignored. An exceptional authorization for DPA was obtained and nothing else was done until 2013. With the effective prohibition of DPA, the pear industry initiated, reactively, an ongoing experimental process to explore alternatives. This case is studied in its technological, commercial, and legal aspects, considering the research performed in the last decade, the *ad hoc* seminars on the topic and lessons are drawn from the perspective of innovation management and industry risk management.

Keywords: technology curve, innovation management, postharvest technology.

Introdução

A gestão da tecnologia é indispensável à competitividade das empresas e dos setores económicos que resultam da sua ação agregada. A palavra «tecnologia» tem várias aceções: refere-se à «aplicação concreta de conhecimento científicos e técnicos à conceção, ao desenvolvimento e ao fabrico de um produto» (Détrie, 1993) ou, num sentido microeconómico, aos «processos pelos quais uma organização transforma trabalho, capital matérias-primas e informação em bens ou serviços de maior valor» (Christensen, 1997). O termo será aqui empregue em ambas as aceções, sem o rigor semântico que trabalhos doutra natureza exigiriam, mas sem que a ambiguidade impeça a compreensão dos argumentos de fundo aqui expostos e das ilações a tirar do estudo deste caso. A tecnologia é uma variável estratégica decisiva para o sucesso das empresas e dos setores da economia constituídos pelo conjunto de empresas afins. A natureza do negócio pode ser rápida e drasticamente alterada por inovações exteriores à empresa. Uma empresa pode adotar distintas estratégias tecnológicas, tipificadas na literatura (Malecki, 1997), mas não deve ignorar a relevância concorrencial da gestão tecnológica.

Neste trabalho estuda-se o caso da proibição da difenilamina (DPA) e as respostas do setor nacional da pera ‘Rocha’ a esta alteração. Este caso serve para ilustrar as fragilidades da gestão estratégica da tecnologia na fruticultura portuguesa e, a pretexto do caso estudado, introduzir os agentes do setor aos conceitos de base da gestão estratégica de tecnologia.

A pera em Portugal

A produção portuguesa de pera baseia-se na cultivar ‘Rocha’, simultaneamente sensível a escaldão superficial e a acastanhamentos internos. A área ocupada por pomares de pera cresceu de 10 971 ha em 2011 para 12 014 ha em 2013, enquanto a produção oscilou no triénio entre um mínimo de 116,3 mil de toneladas em 2012 e 230,4 mil toneladas em 2011 (INE, 2014), num valor de mercado ao produtor de 84 a 166 milhões de euros. Desta atividade dependem cerca de 4800 trabalhadores (ETI), 3200 nos pomares e 1600 nas centrais fruteiras (Almeida, 2010a). Existe uma forte especialização regional na produção de pera: 91% da área e 95% da produção nacional está localizada na NUTS II Centro (INE, 2014). A pera representa 20% do volume de frutos carnudos frescos produzidos em Portugal, ocupando o terceiro lugar após a maçã (31%) e a laranja (27%) (INE, 2014). É o fruto com maior contributo positivo para a balança comercial agrícola. As exportações, em volume, representaram 40% da produção em 2013 e a taxa de cobertura das exportações pelas importações foi de 7,6 vezes em 2012 e de 5,1 vezes em 2013. O consumo *per capita* bruto foi de 8,7 kg na média do triénio 2011-2013 o que representa uma quota de 7,9% do consumo de fruta muito inferior à proporção da fruta produzida em Portugal. A importância relativa desta atividade na economia agrária nacional justifica uma estratégia tecnológica.

A identidade da pera portuguesa, em grande medida decorrente da tipicidade da cultivar ‘Rocha’, a existência de uma Denominação de Origem Protegida (DOP), e o conjunto de organizações de produtores com instalações, equipamento e um corpo técnico e comercial competente são pontos fortes deste subsector da fruticultura portuguesa que, em conjunto, indiciariam a capacidade de desenvolver estratégias tecnológicas setoriais adequadas.

Até 2013, a tecnologia de preparação de pera ‘Rocha’ para o mercado consistia em aplicação de fungicida (s.a. imazalil) e DPA através de *drench*, no arrefecimento em câmara, armazenamento em frio normal a temperatura de -1 °C a 0 °C e 90 a 95% de humidade relativa ou em atmosfera controlada nas mesmas condições de temperatura e humidade e com pressões parciais de oxigénio e de dióxido de carbono muito variáveis entre os operadores, em função da tecnologia disponível e da opções técnicas. A situação tecnológica está em rápida alteração, mas estima-se que cerca de 58% do volume de pera seja armazenado em frio normal e 42% em atmosfera controlada. Na região Oeste, a pera ‘Rocha’ é colhida entre a segunda semana de agosto e a primeira de setembro, dependendo do ano, a que é armazenada em frio normal é

comercializada no período até dezembro a janeiro (4 a 5 meses) enquanto a pera armazenada em atmosfera controlada pode ser comercializada até maio a junho (até 9 meses). As perdas anuais estão estimadas em 12 mil toneladas, tendo em conta a média do triénio 2011-2013 (INE 2014). São mais de 8 milhões de euros.

Estudo do caso da alteração provocada pela proibição da defenilamina

Contexto

A DPA foi uma componente essencial do portfolio tecnológico do setor da pera ‘Rocha’, sendo a tecnologia utilizada para prevenir acidentes fisiológicos durante o armazenamento. A sua eficácia contra o escaldão superficial é elevada e o seu modo de ação é claro (Isidoro e Almeida, 2006). Embora não estivesse homologada diretamente para essa finalidade, a DPA reduz a incidência e a severidade de acastanhamentos internos. A DPA foi registada para utilização em maçã nos EUA em 1947 e tem vindo a ser objeto de sucessivas avaliações toxicológicas e ambientais nos EUA e na Europa.

O processo de proibição da tecnologia

A União Europeia iniciou um extenso programa de reavaliação das substâncias ativas utilizadas na proteção das culturas estabelecido pela Diretiva 91/414/CEE. Este programa foi efetuado por etapas. As segunda e terceira etapas da reavaliação foram conduzidas de acordo com o Regulamento (EC) n.º 451/2000 onde se incluía a DPA. Após um longo processo de organização do dossier técnico-científico e auscultações sobre o seu conteúdo, a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) concluiu em setembro de 2008 a avaliação do risco em relação à DPA e em fevereiro de 2009 o *Standing Committee on the Food Chain and Animal Health* efetuou o exame final sobre o processo decidindo pela não inclusão da DPA no Anexo I (lista positiva) da Diretiva 91/414/CEE. Em 2009 e na sequência da avaliação, a Comissão pronuncia-se pela não inclusão da DPA no Anexo 1 (Decisão da Comissão n.º 859/2009 de 30 novembro), com a remoção da DPA do mercado até 30 de maio de 2010, com possível derrogação do prazo até maio de 2011, mantendo-se os limites máximos de resíduos válidos até nova regulamentação. Na sequência deste longo processo, o uso do DPA em pera foi proibido em Portugal a partir da campanha de 2013.

A resposta dos fornecedores da tecnologia

Os fornecedores de DPA (Cerexagri, XEDA International, Decco e Pace International) formaram um grupo de trabalho para produzir os resultados que levassem à dissipação das dúvidas levantadas e favorecem a inclusão da DPA na lista positiva e, simultaneamente, litigaram judicialmente tentando cancelar a decisão da Comissão de banir o DPA ou obter uma extensão de dois anos do período de comercialização da substância ativa.

A resposta do setor da pera ‘Rocha’

Face à ameaça, a Associação Nacional de Produtores de Pera Rocha (ANP) envidou esforços em finais de 2008 junto da entidade oficial responsável pela homologação de produtos fitofarmacêuticos para tentar manter a DPA na lista positiva (Anónimo, 2009). A ANP referia-se à proibição da DPA como “bastante grave”, sustentando que o “potencial de conservação da pera ‘Rocha’ (...) fica reduzido a três meses” sem recurso a esta tecnologia (Anónimo, 2009). Um ano e meio depois, a mesma ANP solicitou um estudo e um parecer (Almeida, 2010a). Esse estudo estimava em 2010 o impacto económico da proibição do uso do DPA no setor da pera nacional entre 22 e 39 milhões de euros, ou seja 16 a 28% do valor total da produção tendo por base os valores médios do triénio 2007-2009. O mesmo estudo advertia que «este impacto no valor global da produção nacional de pera manter-se-á previsivelmente nos 3 a 5 anos seguintes até que haja um ajustamento estrutural da tecnologia de armazenamento ou o desenvolvimento e otimização de métodos alternativos ao DPA com eficácia comparável. Como consequência do encurtamento do período de comercialização os mercados, interno e de exportação, serão

ocupados por concorrentes estrangeiros ou por frutas substitutas da pera e os circuitos comerciais implementados serão perdidos. É ainda previsível que a redução dos lucros provocada pelo encurtamento do período de comercialização tenha consequências na viabilidade económica de alguns dos intervenientes na produção, armazenamento e preparação para mercado de pera ‘Rocha’.» Concluía-se pelo interesse em autorizar, excecionalmente, a utilização da DPA para a prevenção de acidentes fisiológicos de conservação em pera ‘Rocha’ durante a campanha de 2011/2012 e recomendava-se o desenvolvimento experimental específico para atingir este desiderato na pera ‘Rocha’ (Almeida, 2010a).

A ação da ANP junto das autoridades nacionais e os esforços de vários países no tabuleiro europeu permitiu obter uma autorização extraordinária. Obtida a autorização, nada de consequente foi feito até 2013. Suportou-se assim, no plano nacional, a iniciativa da *task force* dos fornecedores de DPA a nível europeu mas não foi trabalhada de forma sistemática nenhuma alternativa para a pera ‘Rocha’.

Em 2013, com a proibição efetiva do DPA, o setor iniciou, de forma reativa, um processo de experimentação que se encontra em curso, através do projeto QUALIPERA promovido pela ANP, o Centro Operativo e Tecnológico Hortofrutícola Nacional e um conjunto de centrais fruteiras e financiado pelo PRODER (políticas agrícolas).

Entretanto, foi obtido o uso extraordinário para um outro agente anti-escaldão, a etoxiquina, que anteriormente não estava homologado para peras em Portugal e que foi também excluído do Anexo 1 em 2008. A etoxiquina foi sujeita a uma nova submissão e a processo acelerado de revisão [Regulamento (CE) n.º 33/2008].

Esforços técnico-científicos proativos

A DPA foi considerada um perigo para a saúde e para o ambiente e a necessidade de encontrar alternativas à sua utilização está identificada internacionalmente há longa data (Lau, 1993) e em Portugal, pelo menos, desde 2004. Na sequência da identificação desse risco, claramente expresso no artigo, publicaram-se estudos sobre alternativas ao DPA em pera ‘Rocha’ (e.g., Isidoro e Almeida, 2006). Numa atuação consequente, no plano científico, foram promovidos pelo autor e obtidos recursos para efetuar um projeto de doutoramento (SFRH/BD/73216/2010) para estudar as bases fisiológicas dos acastanhamentos internos. Foram ainda concebidos e efetuadas candidaturas a dois outros projetos que sendo bem avaliados tecnicamente não foram considerados elegíveis para financiamento: o projeto de investigação (HEALTHYPEAR, PTDC/AGR-ALI/120106/2010) e o projeto de pós-doutoramento (SFRH/BPD/80080/2011) ambos sobre a questão da mitigação dos acidentes fisiológicos de conservação da pera ‘Rocha’. O painel de avaliadores da proposta HEALTHYPEAR referiu explicitamente que, se o projeto se destinava a beneficiar um setor económico, deveria ser participado pelos beneficiários.

Em março de 2010 o autor enviou por escrito um esboço de programa de trabalho à ANP, tentando sensibilizar a associação representativa do setor para a premência de efetuar um trabalho sistemático para encontrar tecnologias alternativas ao DPA. Acedeu ainda a participar em seminários promovidos por associações do setor, nomeadamente o *workshop* “The Rocha pear in Portugal: a Case Study” (Almeida 2010b), o seminário «Atualizações sobre Tratamentos Pós-colheita de Produtos Hortofrutícolas» (Almeida 2012a) e as Jornadas Técnicas Balanço da Campanha da Pera (Almeida 2012b). Em todos estes eventos o tema da conservação da pera no período pós-DPA esteve em cima da mesa, sem consequências.

A empresa AgroFresh promoveu os ensaios de eficácia necessários à homologação da substância ativa 1-metilciclopropeno (Carvalho e Almeida 2011a e 2011b) para aplicações pós-colheita em pera ‘Rocha’, que viria a ser homologada para uso na campanha de 2011. Veio de um fornecedor de tecnologia a única ação técnico-científica consequente para dar resposta ao setor da pera portuguesa.

O desalinhamento dos esforços em investigação setorial

A relação biunívoca entre investigação científica e desenvolvimento económico está documentada e serve de base a diversas políticas públicas. A pera ‘Rocha’, por ser uma cultivar menor nos principais países produtores de pera, é pouco estudada: num levantamento efetuado pelo autor em 2010, apenas 1% da produção científica internacional sobre pera incidia sobre a cultivar ‘Rocha’. Nos projetos financiados entre 2000 e 2010 que incluíram estudos sobre pera investiram-se cerca de 1 milhão de euros, repartidos de forma semelhante entre o financiamento através das políticas científicas (através da Fundação para a Ciência e a Tecnologia) e o financiamento para experimentação através da política agrícola. Os temas estudados nestes projetos incluíram nutrição azotada, biocontrolo de podridão azul, pera minimamente processada, aplicações de revestimentos comestíveis, secagem de pera, produção integrada, métodos não-destrutivos para avaliar a qualidade, qualidade e segurança alimentar, sustentabilidade e valorização da DOP.

Estes exemplos ilustram o funcionamento do sistema de conhecimento frutícola que se propõe beneficiar o setor. Por um lado, dificilmente se pode justificar uma adequação entre as escolhas dos investigadores e os desejos ou necessidades estratégicas da maioria das empresas do setor. Paradoxalmente, alguns destes projetos foram promovidos exclusivamente pelo setor, através das suas empresas e associações e todos os outros financiados pelas medidas de política agrícola foram efetuados com o envolvimento ou mesmo a pedido de empresas do setor. A avaliação *ex post* do ponto de vista de incorporação de conhecimento em produtos e processos está por fazer. Um outro indicador de gestão deve ser extraído: na década em análise a pera ‘Rocha’ terá gerado um valor acumulado de vendas à “porta” da central fruteira de 1000 milhões de euros. O investimento identificado em projetos científicos específicos foi público e reflete um esforço de I&D de 0,1% muito abaixo do limiar da baixa intensidade de I&D. Todavia, não é a falta de recursos que está em causa, mas a eficiência da sua utilização e o âmbito estratégico da gestão da Investigação, Desenvolvimento e Inovação (IDI) em benefício do setor da fruticultura. A análise deste esforço, humano e financeiro, e dos seus benefícios tangíveis pede uma conclusão: nenhum dos desafios que o setor da pera enfrentou nos últimos 5 anos e para os quais a investigação desempenha um papel importante foi contemplado nos esforços efetuados.

No *workshop* “The Rocha pear in Portugal: a Case Study” que decorreu em Lisboa em 2010 no âmbito do 28th International Horticultural Congress (Almeida, 2010b), o autor reviu detalhadamente o passado recente e a capacidade para IDI para o setor e considerou haver necessidade de IDI sistemática, argumentado que poderiam e deveriam ser atribuídos recursos, humanos e financeiros, a essas atividades, como vários exemplos mostram no mundo. O quadro 1 reproduz o último diapositivo apresentado no *workshop*. As questões não foram objeto de uma reflexão consequente nem utilizado em nenhum exercício de planeamento subsequente.

Gestão da interface tecnológica

Convém partir da realidade e não de castelos nas nuvens: em relação à tecnologia, as empresas frutícolas são empresas dominadas pelo fornecedor. Esta situação caracteriza-se pelo facto dos fornecedores serem a principal fonte de acumulação tecnológica e de a transferência de tecnologia se fazer predominantemente através da compra de equipamentos (ou substâncias) e dos serviços relacionados com a sua instalação, operação e manutenção (Privatt, 1994). Justifica-se, assim, analisar os mecanismos de gestão estratégica da tecnologia, na medida em que a tecnologia afeta a atividade das empresa e do setor, a sua posição concorrencial e a estrutura da concorrência num determinado mercado (Détrie, 1993).

A colocação de pera ‘Rocha’ no mercado assenta num conjunto de tecnologias. Na área da pós-colheita frutícola, o património tecnológico de cada empresa varia ligeiramente, mas o património agregado do setor consiste em i) fungicida imazalil; ii) drencher; iii) sistemas de refrigeração mecânica de expansão direta e indireta; iv) atmosfera controlada; v) calibradores e embaladoras; vi) embalagem e transporte terrestre. Uma análise setorial do inventário

tecnológico em relação a outras regiões produtoras de pera sugere um domínio limitado das tecnologias emergentes e a total dependência dos fornecedores para aquisição do conhecimento relevante.

As tecnologias que contribuem para a colocação de pera no mercado não têm todas a mesma relevância concorrencial. Importa por isso entender e identificar claramente a tipologia concorrencial das tecnologias (Détrie, 1993). As tecnologias de base são dominadas pela empresa, sustentaram o seu sucesso passado (e.g., imazalil, DPA, embalagem, calibradores). As tecnologias-chave são aquelas que têm um forte impacto concorrencial e do seu domínio resultam vantagens claras. No setor da fruticultura nacional são a gestão do frio e, no caso da maçã, pera e kiwi, a atmosfera controlada. As tecnologias emergentes, por estarem ainda em desenvolvimento, têm um impacto marginal na atividade, mas devem ser objeto de vigilância porque podem vir a tornar-se tecnologias-chave. Estão nesta situação os aditivos, os revestimentos comestíveis e alguns sistemas de pilotagem da atmosfera controlada.

O impacto competitivo das tecnologias altera-se, sendo importante monitorizar o ciclo de vida das tecnologias, como ilustra o caso da DPA. Não é fácil prever o desenvolvimento das tecnologias (Christensen, 1997). No entanto, as empresas têm de reagir à sua evolução e devem ter mecanismos informais ou formais de vigilância tecnológica. O ciclo de vida das tecnologias desenvolve-se em três fases: uma fase inicial em que há um esforço financeiro (de desenvolvimento ou de absorção) com reduzido retorno, uma segunda fase em que as competências acumuladas permitem ganhos rápidos e, finalmente, uma fase em que a tecnologia atinge os seus limites e não permite ganhos adicionais significativos. A análise e as conclusões da curva do ciclo de vida das tecnologias é diferente no caso de empresas fornecedoras de tecnologia ou de empresa compradoras de tecnologia desenvolvida exogenamente, como é o caso das empresas frutícolas. Posicionar uma tecnologia no seu ciclo de vida é essencial para suportar a decisão estratégica de continuar a apostar na tecnologia ou de investir na sua substituição e para orientar os esforços de investigação de translação. Um momento crítico na gestão tecnológica é a transição entre curvas. A cada momento, as alternativas a uma tecnologia padrão e madura são menos eficientes e existem diversas opções tecnológicas muitas das quais não irão ter sucesso comercial. Esta transição envolve riscos: se for feita demasiado cedo, a empresa incorpora ineficiências, se for feita demasiado tarde os concorrentes ganham vantagens. Um bom sistema de IDI setorial deveria fornecer aos decisores empresariais os coeficientes técnicos para que possam reduzir os riscos associados às opções tecnológicas da empresa.

Os critérios tecnológicos não são os únicos, nem porventura os mais importantes, mas devem ser contemplados na definição da estratégia global da empresa. As ferramentas de diagnóstico e de vigilância só se justificam para apoiar a decisão empresarial de escolha de tecnologias e da consequente afetação de recursos, i.e., ao serviço de uma estratégia tecnológica. Dos diversos mecanismos de acesso a novas (para a empresa) tecnologias, a compra de produto acabado, os contratos de investigação externa e os acordos de cooperação são os mais adequados ao setor da fruticultura. Os modernos sistemas de gestão de IDI deixaram de lado a conceção linear de inovação empurrada pela investigação e gerem o conhecimento organizacional através de interfaces entre a organização e a sua envolvente. É através da interface tecnológica que a organização absorve o conhecimento científico e tecnológico existente que é útil aos seus processos de negócio e acompanha as atividades de criação de novo conhecimento resultante da investigação. A gestão da interface tecnológica envolve três componentes: i) vigilância; ii) cooperação e iii) previsão. Um sistema, todavia, não funciona bem sem todas as suas componentes: à interface tecnológica juntam-se duas outras interfaces que têm de ser geridas – mercado de organizacional – e uma adequada política e estratégia de inovação, procedimentos de gestão de ideias e de oportunidades e uma eficaz gestão de projetos de inovação.

Conclusões

O caso da DPA na pera ‘Rocha’ ilustra as dificuldades em reconhecer e atuar sobre uma ameaça que resulta de uma alteração tecnológica – neste caso, proibição de uma tecnologia padrão – mesmo quando está identificada e existem os recursos humanos e financeiros para agir atempadamente. Uma adequada gestão de IDI setorial deve trazer resultados positivos e melhorar a capacidade de reação, senão de antecipação, do setor da fruticultura a alterações tecnológicas que tenderão a ser mais curtas, sobrepostas, e cuja resposta exige capacidade de absorção. A análise conjunta da forma de utilização dos recursos públicos de apoio à IDI no setor, das escolhas dos projetos e dos problemas enfrentados pelo setor da pera ‘Rocha’ sugere que a gestão de IDI setorial não tem sido a melhor.

Referências

- Almeida, D.P.F. 2010a. Impacto da proibição do tratamento com difenilamina em pêra ‘Rocha’ em Portugal, Associação Nacional de Produtores de Pêra Rocha, 16 p.
- Almeida, D.P.F. 2010b. Research to serve the Portuguese ‘Rocha’ pear industry: organization, achievements, and future needs. Workshop “The Rocha pear in Portugal: a Case Study”, 28th International Horticultural Congress, Lisbon, Portugal, August 22-27. Book of abstracts, volume I, p. 303.
- Almeida, D.P.F. 2012a. Modulação química da fisiologia pós-colheita e avanços na utilização do 1-MCP em pêra Rocha. Seminário «Atualizações sobre Tratamentos Pós-colheita de Produtos Hortofrutícolas», Batalha, 15 de março. [Sem registo escrito].
- Almeida, D.P.F. 2012b. Principais resultados de ensaios realizados em pêra rocha com produtos alternativos ao DPA. Jornadas Técnicas Balanço da Campanha da Pêra, Bombarral, 13 novembro 2012. [Sem registo escrito].
- Anónimo. 2009. Colocação no mercado de produtos fitofarmacêuticos. Caso da difenilamina (DPA). InfoRocha 49, janeiro.
- Carvalho, R. & Almeida, D.P.F. 2011a. Efficacy of SmartFresh™ on ‘Rocha’ pear stored under controlled atmosphere. Final report of the efficacy trial for registration of 1-methylcyclopropene prepared for AgroFresh Inc., Rohm and Haas Service, 23 p.
- Carvalho, S.M.P. & Almeida, D.P.F. 2011b. Efficacy of SmartFresh™ on ‘Rocha’ pear during refrigerated storage under normal atmosphere. Final report of the efficacy trial for registration of 1-methylcyclopropene prepared for AgroFresh Inc., Rohm and Haas Service, 38 p.
- Christensen, C.M. 1997. The innovator’s dilemma. Harvard Business School Press, Boston, Massachusetts, USA.
- Détrie, J.-P. 1993. Strategor. Política global da empresa. Segunda edição. Publicações Dom Quixote, Lisboa.
- INE. 2014. Estatísticas agrícolas 2013. Instituto Nacional de Estatística, Lisboa.
- Isidoro, N. & Almeida, D.P.F. 2006. α -Farnesene, conjugated trienols, and superficial scald in ‘Rocha’ pear as affected by 1-methylcyclopropene and diphenylamine. Postharvest Biology and Technology 42: 49-56.
- Lau, O.L. 1993. Scald and its control: The North American situation. Acta Horticulturae 326: 225-230.
- Malecki, E.J. 1997. Technology and economic development: The dynamics of local, regional and national competitiveness. Second edition. Addison Wesley Longman, London.

Quadros e figuras

Quadro 4 – Questões levantadas pelo autor na sua comunicação ao workshop “The Rocha pear in Portugal: a Case Study” em 2010.

- Does the sector have the absorptive capacity to use knowledge in a post-agricultural, post-industrial, and post-capitalist society?
- Can the horticultural sector maintain a competitive R&D organization as a public-private partnership?
- Are the players able to walk the walk not just talk the talk?
- Can we meet complex future challenges?
- Can we compete for international funding?
- Can the horticultural sector be efficient in converting knowledge into money?

Agricultura biológica vs convencional: avaliação de parâmetros bioquímicos e qualidade sensorial da variedade de Amora *Chester Thornless*

Andreia Pinto¹, Alice Vilela², Fernanda Cosme², Fernando Nunes³, Rosário Anjos⁴, Teresa Pinto^{4*}

¹ Aluna da Licenciatura em Ciência Alimentar – UTAD;

² IBB/CGB-UTAD – Instituto de Bioengenharia e Biotecnologia, Centro de Genómica e Biotecnologia, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Edifício de Enologia, 5001-801 Vila Real, Portugal;

³ CQ-VR, Centro de Química de Vila Real, Departamento de Química, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 5001-801 Vila Real, Portugal;

⁴ Centre for the Research and Technology of Agro-Environmental and Biological Sciences, CITAB, University of Trás-os-Montes and Alto Douro, UTAD, Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal. *tpinto@utad.pt

Resumo

A agricultura convencional é o modo de produção mais utilizada em grande escala, dado a sua elevada produtividade. Contudo, este modo de agricultura utiliza uma grande quantidade de produtos químicos com impacto ambiental negativo e preocupação acrescida sobre a segurança alimentar dos produtos produzidos. O recurso ao modo de produção biológico pode ser uma solução para a minimização dos impactos referidos.

O consumo regular de fruta em geral e da amora em particular, está associado à presença de compostos oriundos do metabolismo secundário, nomeadamente compostos fenólicos e especialmente antocianinas, os quais apresentam grande capacidade de reagir com radicais livres, contribuindo para a prevenção patologias como a redução de risco de cancro, de doenças cardiovasculares e envelhecimento precoce.

Assim, o objetivo deste trabalho foi comparar as características sensoriais e bioquímicas de amoras *Chester Thornless* obtidas por dois modos de produção: convencional e biológico. Os parâmetros bioquímicos avaliados foram: o teor em sólidos solúveis totais (°Brix), a acidez total, o teor em compostos fenólicos totais, o teor em antocianinas totais, a capacidade antioxidante e a o perfil fenólico das amoras.

Com este trabalho, mostrou-se que as amoras obtidas por produção biológica apresentam significativamente maior teor em antocianinas totais, °Brix e compostos fenólicos totais. A análise sensorial revelou que as amoras produzidas em agricultura convencional se destacam pelos descritores gosto doce, gosto amargo e flavor a amora. A prova hedónica mostrou que as amoras preferidas pelos consumidores/provadores foram as cultivadas em agricultura convencional.

Palavras chave: Compostos fenólicos totais, antocianinas totais, grau Brix, capacidade antioxidante, acidez total.

Abstract

Conventional farming is widely used in large-scale production, given its higher productivity. However, this type of agriculture uses a lot of chemicals causing a negative environmental impact and increased on food safety of products produced concern. The use of biological farming is essential because it uses alternative methods to pests and diseases and weeds control, soil treatment, avoiding the use of pesticides and chemical fertilizers.

Regular consumption of fruit in general and blackberry in particular, is associated to the presence of compounds derived from secondary metabolism, particularly phenolic compounds

and especially anthocyanins, which have large ability to react with free radicals, helping to prevent risks of cancer, cardiovascular disease and premature aging..

The aim of this study was to compare the biochemical and sensory properties of *Chester Thornless* blackberries obtained by two different types of farming: conventional and biological. The biochemical parameters studied were: total soluble solids (°Brix), total titratable acidity, total phenolic compounds, total anthocyanin, antioxidant capacity and the phenolic profile of blackberry fruits. Blackberries obtained by biological farming have a significantly higher content on total anthocyanin, total soluble solids and total phenolic compounds.

Sensory analysis showed that blackberries produced by conventional farming were more scored on sweet taste, bitter taste and flavor. Hedonic evaluation showed that consumers preferred blackberries produce by conventional farming.

Keywords: Phenolic compounds, total anthocyanins, Brix degree, antioxidant capacity, titratable acidity.

Introdução

Originárias da Ásia, as amoras terão chegado à Europa no século XVII. Atualmente são cultivadas por todo o Mundo, essencialmente em regiões de climas temperados (Gonçalves, 2013). As plantas de amora pertencem ao Género *Rubus*, família das Rosáceas. O Género *Rubus*, sendo dos mais diversos do reino vegetal, contempla um grande número de espécies, desde as selvagens até às cultivares de frutos comestíveis que foram domesticadas e seleccionadas (Gonçalves, 2012). O subgénero da amora é *Eubatus*.

A amora é um fruto muito nutritivo, rico em água, tendo um baixo valor calórico, contendo cerca de 43 kcal por cada 100 g. Contém ainda quantidades significativas de nutrientes reguladores e protetores como a fibra, a vitamina C, a vitamina K e o ácido fólico. Além disso, é rica em compostos fitoquímicos, nomeadamente ácidos fenólicos, taninos e flavonóides, substâncias responsáveis pelo seu poder antioxidante, tornando esta fruta um forte aliado na proteção contra o envelhecimento celular em geral, e do tecido nervoso em particular (Sousa, 2007; Araújo et al., 2009; Jacques & Zambiasi, 2011).

Assim, o objetivo do presente trabalho consistiu em comparar as características sensoriais e bioquímicas das amoras da variedade *Chester Thornless*, obtidas em dois modos de produção: convencional e biológico.

Material e métodos

A variedade de amora utilizada neste trabalho foi a *Chester Thornless* em dois modos de produção, convencional e biológica. Em ambas as produções as condições climáticas e as condições do solo eram semelhantes.

Método de extração dos compostos fenólicos totais

A extração dos compostos fenólicos das amoras obtidas pelos dois modos de produção foi realizada em triplicado de acordo com a metodologia descrita por Geisenheim Research Center (2010). O extrato obtido foi conservado a -20°C para análises posteriores.

Determinação das antocianinas totais, grau Brix e acidez total e compostos fenólicos totais

A determinação das antocianinas totais do sumo das amoras obtidas pelos dois modos de produção foi efetuada pelo método de diferença de pH, o grau Brix foi efetuado com recurso a um refratómetro e o valor obtido expresso em g/100g, a acidez total foi determinada por titulação e os resultados expressos em percentagem, os compostos fenólicos totais foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteau de acordo com os métodos descritos por Geisenheim Research Center (2010).

Determinação da capacidade antioxidante pelo método de ABTS⁺

A capacidade antioxidante das amoras de cada um dos modos de produção, convencional e biológica, foi determinada no extrato dos compostos fenólicos totais pelo método do catião radical ABTS⁺ adaptado de Huang et al. (2012).

Análise do perfil fenólico das amoras por HPLC

O perfil fenólico dos extratos fenólicos das amoras foi determinado por HPLC-DAD utilizando um aparelho Dionex 3000 ultimate (Dionex Corporation) que está equipado com um detetor de fotodíodos. A coluna foi uma ACE 5 C-18, de 250 mm de comprimento por 4,6 mm de diâmetro. Na fase móvel A utilizou-se uma solução aquosa de ácido fórmico a 5% para ajustar o pH, devido à sua volatilidade e características acidificantes, já a fase móvel B era composta por uma solução de metanol. Relativamente ao gradiente utilizado foi de 5% B, 5min; gradiente até 65% de B em 60 min; 65% B 5min, 5% B, 5min. O detetor de conjunto de fotodíodos foi operado entre 200-600 nm, e o perfil cromatográfico foi registado a 280 nm, 325 nm e 525 nm. Injetaram-se 50 µL de amostra com um fluxo de 1 mL/min a uma temperatura de 35°C.

Análise do perfil sensorial

O perfil sensorial foi avaliado por um painel de 12 provadores pertencente à ECVA–DeBA–UTAD. As provas decorreram num laboratório equipado para análise sensorial segundo as normas ISO 6658:2005.

Foi efetuada uma análise descritiva quantitativa (ADQ) que permitiu desenvolver o perfil sensorial de cada um dos frutos com descritores apropriados para todos os parâmetros sensoriais avaliados (cor, intensidade do odor, intensidade do gosto, gosto doce, gosto ácido, gosto amargo, adstringência, flavor a amora, flavor a bolor, firmeza e suculência) utilizando uma escala estruturada de 5 pontos (1 – menos intenso; 5 – mais intenso - ISO 4121:2003).

As amostras foram servidas à temperatura ambiente, em pratos de pirex, codificadas com códigos de 3 dígitos, sendo a ordem de apresentação aleatória. Os provadores podiam lavar a boca com água mineral, entre cada amostra. Também foram fornecidas pequenas tostas de pão, com o objetivo de limpar o palato entre amostras. Ainda foi realizada uma prova hedônica com o objetivo de saber a preferência do consumidor/provador.

Análise estatística

A análise estatística dos parâmetros analisados foi efetuada utilizando programas Excel Microsoft e o STATISTICA 2010. Utilizou-se o teste de Duncan ($p \leq 0.05\%$ de significância), nos parâmetros da análise sensorial e bioquímicos, para verificar a existência de diferenças significativas entre os dois modos de produção dos frutos. O perfil sensorial das amostras foi avaliado com um gráfico aranha.

Resultados e Discussão

Grau Brix e acidez total das amoras obtidas pelos dois modos de produção

A amostra de amoras produzida por agricultura biológica apresentou um teor em sólidos solúveis totais (7,2 g / 100g) significativamente superior ao obtido pela produção convencional (6,9 g / 100 g) como pode ser observado no Quadro 1. Quanto à acidez total não foram observadas diferenças significativas entre as amoras obtidas pelos dois modos de produção (Quadro 1).

Compostos fenólicos totais das amoras obtidas pelos dois modos de produção

A variedade *Chester* de produção biológica apresenta um conteúdo em compostos fenólicos totais significativamente superior (2865,6 mg ácido gálico/100g) às amostras de amora produzida por agricultura convencional (2165,1 mg ácido gálico/100g) como pode ser observado no Quadro 1.

Teor de antocianinas totais das amoras obtidas pelos dois modos de produção

O teor em antocianinas totais das amoras produzidas por agricultura biológica (1378,4 mg/100g) foi significativamente superior às amoras produzidas por agricultura convencional (970,0 mg/100g) como apresentado no Quadro 1.

Perfil fenólico das amoras obtidas pelos dois modos de produção

Os compostos detetados e identificados nas amostras de amora produzidas pelos dois modos de produção foram: proantocianidina, não identificado 1, não identificado 2, a cianidina-3-glucosídeo e a peonidina-3-glucosídeo, sendo a cianidina-3-glucosídeo a antocianina presente em maior quantidade (Figuras 1 e 2). Estes resultados estão de acordo com outros estudos realizados em frutos vermelhos, nomeadamente em amora por Seeram et al., (2006). Nas amostras de amora da produção biológica foi detetado um maior número de compostos fenólicos. Foi possível observar, pelo perfil fenólico das amoras, quatro das seis antocianinas mais importantes consideradas por diversos investigadores. De facto, segundo Jacques & Zambiasi (2011) as antocianinas pelargonidina, cianidina, delfinidina, peonidina, petunidina e malvidina são as mais importantes nos alimentos devido à sua capacidade antioxidante.

Capacidade antioxidante das amoras obtidas pelos dois modos de produção

As amostras de amora de produção convencional apresentaram uma capacidade antioxidante superior, contudo não há diferenças significativas entre as duas amostras produzidas pelos dois modos de agricultura (convencional vs biológica) como apresentado no Quadro 1.

Análise sensorial das amoras obtidas pelos dois modos de produção

Após a análise de dados do perfil sensorial das duas amostras (Figura 3), observou-se que a *Chester* biológica destaca-se na cor e na intensidade do gosto, enquanto a *Chester* convencional se destaca no gosto doce, sendo que apenas apresentam diferenças significativas na cor e no gosto doce. Na prova hedónica nenhum dos provadores mostrou preferência pela *Chester* da produção biológica.

Conclusões

Os resultados obtidos sugerem que as amoras provenientes de produção convencional e biológica registaram teor semelhante de acidez total e capacidade antioxidante. Relativamente ao teor em antocianinas totais, grau Brix e teor em compostos fenólicos totais, foram as amoras de produção biológica que apresentaram valores mais elevados. O perfil fenólico destas variedades de amora exhibe quatro das antocianinas mais importantes estabelecidas por diversos investigadores, apenas não estando presentes a petunidina e malvidina nos frutos estudados. A análise sensorial revelou que as amoras da produção biológica se destacam na cor e na intensidade do gosto. No entanto, a prova hedónica permitiu-nos verificar que as amoras obtidas por produção convencional são as preferidas dos consumidores. Estas conclusões, ainda que preliminares confirmam o potencial fenólico das amoras e consequentemente a importância que têm na nossa alimentação contribuindo para mais e melhor saúde.

Referências bibliográficas

- Geisenheim Research Center 2010. The sustainable improvement of European berry production, quality and nutritional value in a changing environment: Strawberries, Currants, Blackberries, Blueberries and Raspberries, Fruit quality characterization and determination, Work Package No.3, EUBerry.
- Gonçalves, D.M. 2012. A planta da Amora de Silva. http://www.inrb.pt/fotos/gca/folha_de_divulgacao_hef_no2__a_planta_de_amora_de_silva_1369823855.pdf

- Gonçalves, D.M. 2013. Amora Tecnologias de Produção. http://www.inrb.pt/fotos/gca/folha_de_divulgacao_hef_no4__amora__tecnologias_de_producao_1369824140.pdf
- Huang, W.Y., Zhang H, Li, W.X. & Li, X.Y, 2012. Survey of antioxidant capacity and phenolic composition of blueberry, blackberry, and strawberry in Nanjing. Huang et al. / J Zhejiang Univ-Sci B (Biomed & Biotechnol).
- ISO 4121:2003 - Sensory analysis - Guidelines for the use of quantitative response scales. http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_ics/catalogue_detail_ics.htm?ics1=67&ics2=240&ics3=&csnumber=33817.
- ISO 6658:2005 - Sensory analysis - Methodology - General guidance. http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_ics/catalogue_detail_ics.htm?ics1=67&ics2=240&ics3=&csnumber=36226
- Jacques, A.C. & Zambiasi, R.C. 2011. Fitoquímicos em amora-preta (*Rubus* spp), Ciências Agrárias, Londrina, v. 32, n. 1, p. 245-260.
- Seeram, N.P, Adams L.S, Lee, Y.Z.R, Sand, D., Scheuller H.S. & Heber. D. 2006. Blackberry, Black Raspberry, Blueberry, Cranberry, Red Raspberry, and Strawberry Extracts Inhibit Growth and Stimulate Apoptosis of Human Cancer Cells In Vitro; J. Agric. Food Chem. 54:9329–9339.
- Sousa, M.B, 2007. Amora Qualidade pós-colheita. http://www.inrb.pt/fotos/gca/7_amora_qualidade_pos_colheita_1369137029.pdf

Quadros e figuras

Quadro 1 - °Brix (g/100g), Acidez total (% ácido cítrico), Compostos fenólicos totais (mg de equivalente ácido gálico/kg de fruto), Teor em antocianinas totais (mg/100g) e Capacidade antioxidante (mmol de equivalentes de trolox/kg de fruto) dos frutos de amora de produção convencional e biológica. Médias com letras comuns não são significativamente diferentes a $P < 0,05$ (teste de Duncan).

Amostras	°Brix	Acidez total	Compostos fenólicos totais	Antocianinas totais	Capacidade antioxidante
<i>Chester</i> Biológica	7,2 ±0,14 a	1,61 ±0,09 a	2865,6 ±315,4 b	1378,4 ±13,1 b	21,55±3,27 a
<i>Chester</i> Convencional	6,9 ±0,10 b	1,75 ±0,02 a	2165,1 ±351,7 a	970,0 ±25,4 a	22,17 ±3,38 a

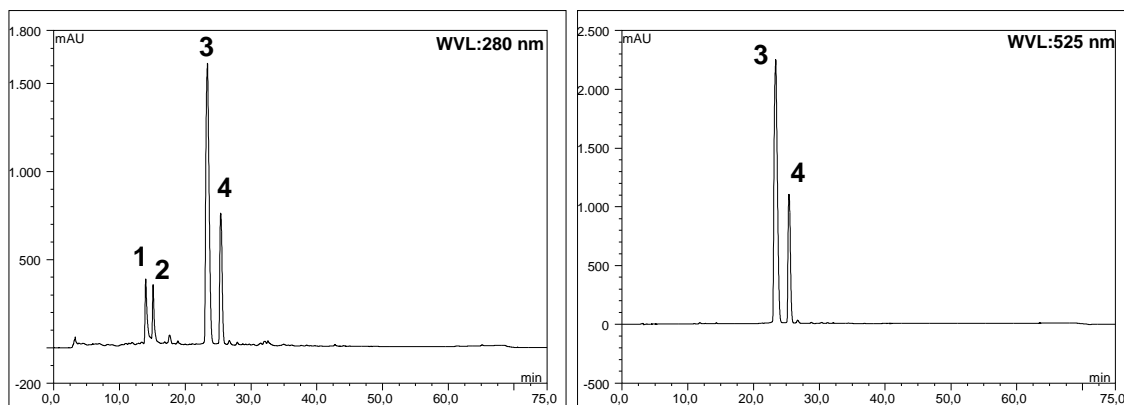


Figura 1 - Cromatogramas a 280 nm e 525 nm relativos à análise por HPLC da amora de produção biológica. 1- Proantocianidina 1, 2- Proantocianidina 2, 3- Cianidina-3-glucósido, 4- Derivado da Peonidina

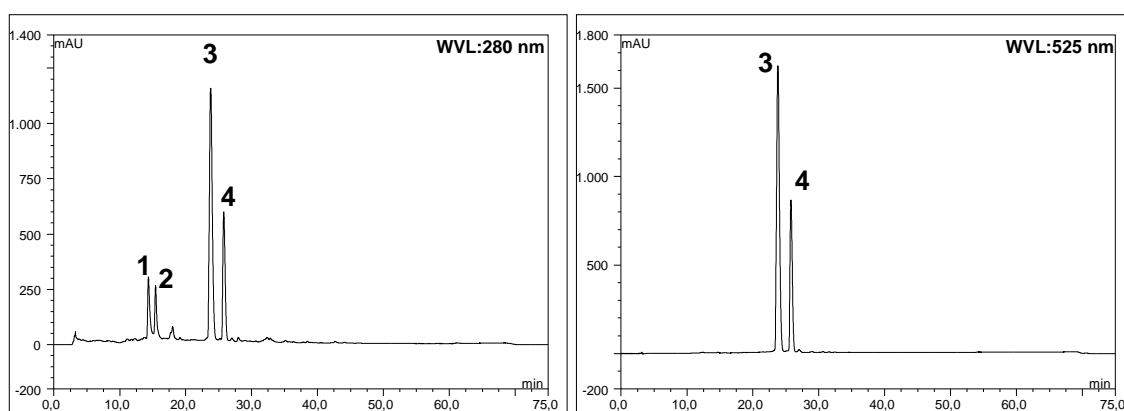


Figura 2 - Cromatogramas a 280nm e 525nm relativos à análise por HPLC da amora de produção convencional. 1- Proantocianidina 1, 2- Proantocianidina 2, 3- Cianidina-3-glucósido, 4- Derivado da Peonidina

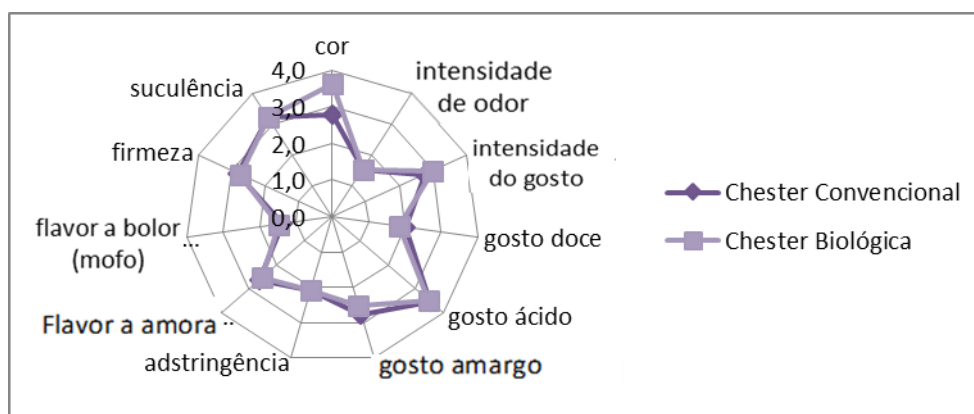


Figura 3 - Perfil sensorial das amostras de amora produzidas por agricultura convencional e biológica.

Agricultura biológica vs agricultura convencional: avaliação de parâmetros bioquímicos e qualidade sensorial de framboesa *Tulameen*

Andreia Gonçalves¹, Alice Vilela², Fernanda Cosme², Fernando Nunes³, Teresa Pinto⁴ & Rosário Anjos^{4*}

¹ Aluna da Licenciatura em Ciência Alimentar – UTAD

² IBB/CGB-UTAD – Instituto de Bioengenharia e Biotecnologia, Centro de Genómica e Biotecnologia, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Edifício de Enologia, 5001-801 Vila Real, Portugal;

³ CQ-VR, Centro de Química de Vila Real, Departamento de Química, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 5001-801 Vila Real, Portugal;

⁴ Centre for the Research and Technology of Agro-Environmental and Biological Sciences, CITAB, University of Trás-os-Montes and Alto Douro, UTAD, Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal.

*ranjos@utad.pt

Resumo

A produção e consumo de framboesa têm aumentado significativamente, o que estará relacionado com a sua composição rica em compostos bioativos, benéficos para o Homem. Este fruto está presente maioritariamente na Ásia, Europa e América do Norte. Relativamente a Portugal a espécie mais frequentemente cultivada é o fruto vermelho, de sabor agri-doce, com um aroma agradável em que a polpa possui pequenas sementes e textura granulosa. O principal objetivo deste trabalho foi determinar as características bioquímicas e sensoriais presentes na variedade de framboesa *Tulameen* proveniente de produção biológica e de produção convencional. Assim, analisou-se nos frutos o teor em sólidos solúveis totais (°Brix), a acidez total, o teor em compostos fenólicos totais, o teor de antocianinas totais, o perfil fenólico por HPLC, a capacidade antioxidante e o perfil sensorial. Pela análise do perfil fenólico por HPLC comprovou-se que para todos os frutos analisados, os compostos fenólicos totais majoritários foram uma antocianina (cianidina-3-soforósido) e uma proantocianidina. Em termos estatísticos, entre os dois modos de produção (biológica e convencional) observaram-se diferenças significativas para o teor em sólidos solúveis totais, acidez total, compostos fenólicos totais, antocianinas totais e capacidade antioxidante. Pela análise sensorial, verificou-se que a preferência dos provadores foi para os frutos produzidos por agricultura convencional, provavelmente pelo facto destes frutos possuírem um teor em sólidos solúveis totais superior e uma percentagem de acidez total inferior. Os resultados das diferentes análises mostraram que o modo de produção (biológica vs convencional) afeta a composição química do fruto e consequentemente a sua capacidade antioxidante e características sensoriais.

Palavras chave: Compostos fenólicos totais, antocianinas totais, grau Brix, capacidade antioxidante, acidez total.

Abstract

Organic farming vs. conventional farming: evaluation of biochemical parameters and sensory quality of raspberry *Tulameen*.

The importance of raspberry production has increased significantly, as it is a very rich fruit in bioactive compounds, beneficial for human consumption. This fruit is mainly present in Asia, Europe and North America. In Portugal, the most commonly cultivated species is the red fruit, with a bittersweet flavor and a pleasant aroma. The pulp of this fruit has small seeds and a grainy texture. The main objective of this study was to determine the biochemical parameters and sensory quality of *Tulameen* raspberry variety, produced by organic farming and conventional farming. Total soluble solids (°Brix), total acidity, total phenolic compounds, total

anthocyanins, phenolic profile by HPLC, antioxidant capacity and sensory profile, were analyzed in the fruits. The phenolic profile analyzed by HPLC shows that in all fruits, the major phenolic compounds were anthocyanins (cyanidin-sophoroside) and a proanthocyanidin. The type of raspberry production affects significantly the content of total soluble solids, total acidity, total phenolic compounds, total anthocyanins and the antioxidant capacity. Sensory analysis showed that the tasters preferred the fruits produced by conventional farming probably due to their higher content insoluble solids and lower percentage of total acidity. The results also showed that the mode of production (organic vs conventional) affects the fruits chemical composition and consequently its antioxidant capacity and sensorial characteristics.

Keywords: Phenolic compounds, brix degree, total anthocyanins, antioxidant capacity, total acidity.

Introdução

A agricultura convencional ou intensiva é caracterizada pelo uso excessivo de pesticidas, fertilizantes e também pela emissão de dióxido de carbono em excesso para a atmosfera aumentando consideravelmente os problemas dos ecossistemas, devido ao aumento da poluição para valores que não são suportados pelas diversas espécies animais e vegetais, afetando também os solos e as culturas (Soutinho, 2012).

Com o aumento da preocupação dos consumidores pela segurança e qualidade alimentar tem aumentado a procura de alimentos biológicos (Vrcek et al., 2014). A prática da agricultura biológica visa a produção de alimentos a partir de métodos que contribuam para a preservação dos ecossistemas, passando pelos recursos naturais e biodiversidade. Assim, este modo de agricultura baseia-se, principalmente, no uso dos recursos renováveis e rotações plurianuais, restringindo o uso de fertilizantes corretivos e produtos fitofarmacêuticos (CE834/2007, Comissão Europeia, 2007).

A produção de framboesa (*Rubus idaeus*) está presente nos cinco continentes, maioritariamente no hemisfério Norte (Sousa et al., 2007). Em Portugal a produção de framboesa beneficia de condições climáticas bastante favoráveis o que permite a sua comercialização e disposição ao consumidor durante períodos de tempo mais alargados (Sousa et al., 2007). Do grupo dos pequenos frutos, a framboesa é a mais cultivada, apesar de não ser muito consumida pelos portugueses (Oliveira, 2007). Sousa et al (2007) referem que este fruto possui um sabor adocicado e um aroma agradável. A coloração das variedades pode variar do amarelo ao preto, podendo também adquirir os tons alaranjado, rosa, vermelho claro e intenso e púrpura. Em Portugal a espécie mais cultivada é a de fruto vermelho, cujo fruto possui um sabor agridoce, aroma agradável e a polpa possui pequenas sementes conferindo-lhe uma textura granulosa. A framboesa é um fruto rico em compostos bioativos e contém os mais altos níveis de antioxidantes (Pacheco, 2012). Neste fruto podem ser encontrados diversos compostos bioativos de carácter nutritivo, como as vitaminas C e E, a glutathione, o β -caroteno, fitoquímicos e flavonóides, como as antocianinas cianidina-3-sophorósido e cianidina-3-glucósido (Mullen & McGinn, 2002), ácidos fenólicos e taninos. A framboesa é um fruto que possui um pH baixo devido à presença de ácidos orgânicos que são relevantes na cor da framboesa (Nunes, 2006).

A variedade *Tulameen* possui um fruto de sabor agradável com bagas firmes e coesas (Berrysmart, 2014). Assim, o presente trabalho tem como objetivo principal a avaliação da composição bioquímica e da qualidade sensorial da framboesa *Tulameen* de produção biológica e produção convencional.

Material e métodos

Neste trabalho analisaram-se framboesas da variedade *Tulameen* provenientes de dois modos de produção, convencional e biológica. Em ambas as produções as condições climáticas e as condições do solo eram semelhantes.

Método de extração dos compostos fenólicos totais

A extração dos compostos fenólicos totais das framboesas foi realizada em triplicado de cada um dos modos de produção, convencional e biológica, de acordo com a metodologia descrita por Geisenheim Research Center (2010). O extrato obtido foi conservado a -20°C para análises posteriores.

Determinação das antocianinas totais, grau Brix, acidez total e compostos fenólicos totais

A determinação das antocianinas totais das framboesas de cada um dos modos de produção, convencional e biológica, foi efetuada no extrato obtido das framboesas utilizando o método de diferença de pH, o grau Brix foi efetuado com recurso a um refratômetro e o valor obtido foi expresso em g/100g, a acidez total foi determinada por titulação e os resultados expressos em percentagem, os compostos fenólicos totais foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu, todos estes parâmetros foram determinados de acordo com o descrito por Geisenheim Research Center (2010).

Determinação da capacidade antioxidante pelo método de ABTS⁺

A capacidade antioxidante das framboesas de cada um dos modos de produção, convencional e biológica, foi determinada no extrato dos compostos fenólicos totais pelo método do catião radical ABTS⁺ adaptado de Huang et al. (2012).

Análise do perfil fenólico das framboesas por HPLC

O perfil fenólico dos extratos fenólicos das framboesas foi determinado por HPLC-DAD utilizando um aparelho Dionex 3000 ultimate (Dionex Corporation) que está equipado com um detetor de fotodíodos. A coluna foi uma ACE 5 C-18, de 250 mm de comprimento por 4,6 mm de diâmetro. Na fase móvel A utilizou-se uma solução aquosa de ácido fórmico a 5% para ajustar o pH, devido à sua volatilidade e características acidificantes, já a fase móvel B era composta por uma solução de metanol. Relativamente ao gradiente utilizado foi de 5% B, 5min; gradiente até 65% de B em 60 min; 65% B 5min, 5% B, 5min. O detetor de conjunto de fotodíodos foi operado entre 200-600 nm, e o perfil cromatográfico foi registado a 280 nm, 325 nm e 525 nm. Injetaram-se 50 µL de amostra com um fluxo de 1 mL/min a uma temperatura de 35°C.

Análise do perfil sensorial

O perfil sensorial foi avaliado por um painel de 12 provadores pertencente à ECVA-DeBA-UTAD. As provas decorreram num laboratório equipado para análise sensorial segundo as normas ISO 6658:2005.

Foi efetuada uma análise descritiva quantitativa (ADQ) que permitiu desenvolver o perfil sensorial de cada um dos frutos com descritores apropriados para todos os parâmetros sensoriais avaliados (cor, intensidade do odor, intensidade do gosto, gosto doce, gosto ácido, gosto amargo, adstringência, flavor a framboesa, flavor a bolor, firmeza e suculência) utilizando uma escala estruturada de 5 pontos (1 – menos intenso; 5 – mais intenso - ISO 4121:2003).

As amostras foram servidas à temperatura ambiente, reunidas com códigos de 3 dígitos, sendo a ordem de apresentação aleatória. Os provadores podiam lavar a boca com água mineral, entre cada amostra. Também foram fornecidas pequenas tostas de pão, com o objetivo de limpar o palato entre amostras. Ainda foi realizada uma prova hedónica como objetivo de saber a preferência do consumidor/provador.

Análise estatística

A análise estatística dos parâmetros analisados foi efetuada utilizando os programas Excel Microsoft e o STATISTICA 2010. Utilizou-se o teste de Duncan ($p \leq 0.05\%$ de significância), nos parâmetros sensoriais e bioquímicos, para verificar a existência de diferenças significativas entre os dois modos de cultivo dos frutos. O perfil sensorial das amostras foi avaliado com um gráfico aranha.

Resultados e discussão

Grau Brix e acidez total das framboesas obtidas pelos dois modos de produção

O grau Brix (quadro 1), das amostras, para os dois modos de produção é significativamente diferente, sendo que na produção biológica (10,8 °B) o valor tende a ser inferior ao da produção convencional (11,6 °B). Os valores obtidos no presente estudo estão compreendidos no intervalo de valores (9,6 e 14,7 °B) determinados por Çekiç et al. (2010).

A framboesa de produção biológica apresenta um teor em acidez total (1,7 % ácido cítrico) significativamente superior às framboesas obtidas por produção convencional (1,2% ácido cítrico) como pode ser observado no quadro 1. Quando se comparam estes valores com os descritos na bibliografia verifica-se que são semelhantes aos de Kivi (2013) que determinaram valores de acidez total entre 1,20% e 1,50% e aos de Souza et al. (2014) cujos resultados variaram de 0,79% a 1,87%.

Compostos fenólicos totais das framboesas obtidas pelos dois modos de produção

As framboesas de produção convencional apresentam um valor significativamente mais elevado de compostos fenólicos totais (88,4 mg ácido gálico/100 g) do que as framboesas da produção biológica (58,3 mg ácido gálico/100 g) (quadro 1). Wang & Lin (2000) referem que os teores de compostos fenólicos totais presentes em framboesas variam entre 57 mg de ácido gálico/100 g de fruto fresco e 245 mg de ácido gálico/100 g de fruto fresco.

Perfil fenólico das framboesas obtidas pelos dois modos de produção

Pela análise dos resultados obtidos por HPLC, e após a realização da média dos valores obtidos, verifica-se que o perfil fenólico das amostras de framboesa obtidas pelos dois modos de produção é diferente o que pode ser observado nos cromatogramas apresentados nas figuras 1 e 2.

Assim, as framboesas de produção convencional apresentam uma área superior de proantocianidina 1, proantocianidina 2, cianidina-3-soforósido e cianidina-3- glucosídeo (51,9 mAU, 314,2 mAU, 555,9 mAU e 255,0 mAU, respetivamente) enquanto as framboesas de produção biológica apresentam áreas inferiores (33,3 mAU, 292,9 mAU, 326,9 mAU e 90,8 mAU, respetivamente). Contudo, a antocianina pelargonidina-3-soforósido só foi detetada nas amostras de framboesas de produção convencional e com uma área pequena (6,9 mAU). Enquanto, um derivado da peonidina apenas foi detetada nos frutos de produção biológica (derivado da peonidina- 26,2 mAU).

A amostra de framboesa de produção biológica apresenta uma área de ácido elágico mais elevada (21,9 mAU) do que a amostra de framboesa de produção convencional (12,2 mAU). Um dos derivados do ácido elágico só foi detetado nas framboesas de agricultura biológica (derivado do ácido elágico- 10,9 mAU).

Seeram et al. (2006), detetaram em frutos vermelhos, incluindo a framboesa vermelha, a presença de cianidina-3-soforósido, cianidina-3-glucosídeo, o ácido elágico e seu derivado, também Beekwilder et al. (2005) identificaram, o composto cianidina-3-glucosídeo e a pelargonidina-3-sofrósideo em framboesas.

Teor de antocianinas totais das framboesas obtidas pelos dois modos de produção

As framboesas de produção biológica apresentam valores significativamente inferiores de antocianinas totais (10,9 mg pelargonidina-3-glucosídeo/100 g) do que as framboesas de produção convencional (17,8 mg pelargonidina-3-glucosídeo/100 g) como apresentado no quadro 1.

Wang e Lin (2000) determinaram em framboesas teores de antocianinas totais entre 0,1 mg de cianidina-3-glucosídeo/100 g a 75 mg de cianidina-3-glucosídeo/100 g sendo que os valores obtidos neste estudo expressos em mg de cianidina-3-glucosídeo/100 g (biológica - 7,2; convencional - 11,8) estão compreendidos no intervalo de valores referido por estes autores.

Capacidade antioxidante das framboesas obtidas pelos dois modos de produção

As framboesas produzidas por agricultura convencional apresentam uma capacidade antioxidante significativamente superior (10,4 $\mu\text{mol trolox/g}$) aos frutos produzidos por agricultura biológica (1,9 $\mu\text{mol trolox/g}$) (quadro 1), o que está de acordo com o seu maior conteúdo em compostos fenólicos totais e antocianinas.

Çekiç (2010) obteve valores de capacidade antioxidante (12,9 $\mu\text{mol trolox/g}$) em framboesas da variedade *Tulameen* produzidas em agricultura convencional semelhantes aos obtidos neste estudo.

Análise sensorial das framboesas obtidas pelos dois modos de produção - Prova descritiva

Quando se analisam os resultados do perfil sensorial (figura 3) de cada amostra verificam-se diferenças entre as amostras quanto à cor, intensidade do gosto e intensidade de odor.

Na análise dos outros parâmetros, gosto ácido, gosto amargo, adstringência, flavor a framboesa, flavor a bolor, firmeza e suculência os provadores consideram que as amostras eram bastante semelhantes entre si.

Análise sensorial das framboesas obtidas pelos dois modos de produção - Prova hedónica

A análise sensorial das framboesas obtidas pelos dois modos de produção na prova hedónica realizada pelo painel de provadores teve como objetivo perceber quais as preferências dos consumidores quanto às amostras de framboesa em estudo. Verificou-se que a amostra preferida pelo painel de provadores foi a de produção convencional (58%) em prejuízo da de produção biológica (42%).

Conclusões

Neste estudo pode-se concluir que as framboesas apresentam teores de antocianinas totais, sólidos solúveis totais, acidez total, capacidade antioxidante e compostos fenólicos totais diferentes em função do modo de produção da framboesa. Assim, conclui-se que o modo de produção afeta significativamente todos os parâmetros estudados.

Na análise do perfil fenólico constata-se que os compostos com maior área correspondem à cianidina-3-sofrósideo e à proantocianidina. Já o composto com menor área corresponde ao ácido elágico.

Na prova hedónica realizada pelo painel de provadores, pode-se concluir que a preferência pelas framboesas da variedade *Tulameen* produzidas por agricultura convencional se poderá dever ao facto desta possuir um teor em sólidos solúveis totais superiores e uma percentagem de acidez total inferior.

Bibliografia

- Beekwilder, J., Jonker, H., Meesters, P., Hall, R.D., Meer, I.M., Van Der & Ric De Vos, C.H. 2005. Antioxidants In Raspberry: On-Line Analysis Links Antioxidant Activity To A Diversity Of Individual Metabolites. *J. Agric. Food Chem.*, 53: 3313-3320.
- Berrysmart, Nestlé. 2014. <http://www.berrysmart.pt/framboesa.html>
- Geisenheim Research Center. 2010. The sustainable improvement of European berry production, quality and nutritional value in a changing environment: Strawberries, Currants, Blackberries, Blueberries and Raspberries, fruit quality characterization and determination, Work Package N°. 3. EUBerry.
- Huang, W., Zhang, H., Wen-xu Liu, W. & Chun-yang Li, C. 2012. Survey of antioxidant capacity and phenolic composition of blueberry, blackberry, and strawberry in Nanjing. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B (Biomedicine & Biotechnology)*, 13(2): 94-102.

- ISO 4121:2003 - Sensory analysis - Guidelines for the use of quantitative response scales. http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_ics/catalogue_detail_ics.htm?ics1=67&ics2=240&ics3=&csnumber=33817.
- ISO 6658:2005 - Sensory analysis - Methodology - General guidance. http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_ics/catalogue_detail_ics.htm?ics1=67&ics2=240&ics3=&csnumber=36226
- Mullen, W. & McGinn, J. 2002. Ellagitannins, Flavonoids, and Other Phenolics in Red Raspberries and Their Contribution to Antioxidant Capacity and Vasorelaxation Properties. *J. Agric. Food Chem.* 50(18): 5191-5196.
- Nunes, T.I.F. 2006. Efeito das variedades, condições culturais e conservação na qualidade do morango (*Fragaria ananassa* Duch.). Escola Superior Agrária de Santarém, Instituto Politécnico de Santarém. Trabalho de Final de Curso, p.70.
- Oliveira, P.B. 2007. Framboesa - Tecnologias de produção Edição no âmbito do Projecto PO AGRO DE&D N° 556. Folhas de Divulgação AGRO 556, n° 3, Novembro.
- Pacheco, A.C.S. 2012. Conservação dos frutos de duas cultivares de framboesa (Sevillana e Maravilla) em fresco e em doce. Dissertação de Mestrado. Tecnologia de Alimentos, Instituto Superior de Engenharia, Universidade do Algarve, Faro.
- Regulamento (CE) N° 834/2007 do Conselho de 28 de Junho de 2007 relativo à produção biológica e à rotulagem dos produtos biológicos e que revoga o Regulamento (CEE) n° 2092/91.
- Seeram, N.P., Adams, L.S., Zhang Y., Lee R., Sand, D., Scheuller H.S. & Heber D. 2006. Blackberry, Black Raspberry, Blueberry, Cranberry, Red Raspberry, and 34 Strawberry Extracts Inhibit Growth and Stimulate Apoptosis Of Human Cancer Cells *In Vitro*. *J. Agric. Food Chem.*, 54: 9329-9339.
- Sousa, M.B., Curado, T. Negrão e Vasconcellos F. & Trigo, M.J. 2007. Framboesa – Qualidade Pós-Colheita. Edição no âmbito do Projeto PO AGRO DE&D N° 556. Folhas de divulgação AGRO 556 n° 6. MADRP, Lisboa, Novembro.
- Soutinho, S.M.A. 2012. Avaliação dos compostos fenólicos e da atividade antioxidante de frutos vermelhos produzidos em modo biológico. Dissertação de Mestrado em Qualidade e Tecnologia Alimentar. Instituto Politécnico de Viseu, Outubro.
- Souza, V.R., Pereira, P.A.P., Pinheiro, A.C.M., Nunes, C.A., Pio, R., Queiroz, F. 2014. Evaluation of the Jelly Processing Potential of Raspberries Adapted in Brazil. *Journal of Food Science*, 79 (3): 407-412.
- Vrcek, I.V., Cepo, D.V., Rašić, D., Peraica, M., Zuntar, I., Bojic, M., Mendaš, G. & Medic-Šaric, M. 2014. A comparison of the nutritional value and food safety of organically and conventionally produced wheat flours. *Food Chemistry*, 143: 522–529.

Quadreos e figuras

Quadro 5. - Teor em antocianinas totais (mg pelargonidina-3-glucosídeo/100 g de fruto); grau brix; acidez total (% ácido cítrico); capacidade antioxidante (μmol trolox/g) e teor em compostos fenólicos totais (mg ácido gálico/100 g). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$)

Amostra	Antocianinas totais	Grau brix	Acidez total	Capacidade antioxidante	Teor em compostos fenólicos totais
<i>Tulameen</i> convencional	17,8±1,2b	11,6±0b	1,2±0,1a	10,4±1,7b	88,4±10,9b
<i>Tulameen</i> biológica	10,9±0,5a	10,8±0a	1,7±0,2b	1,9±0,4a	58,3±3,0a

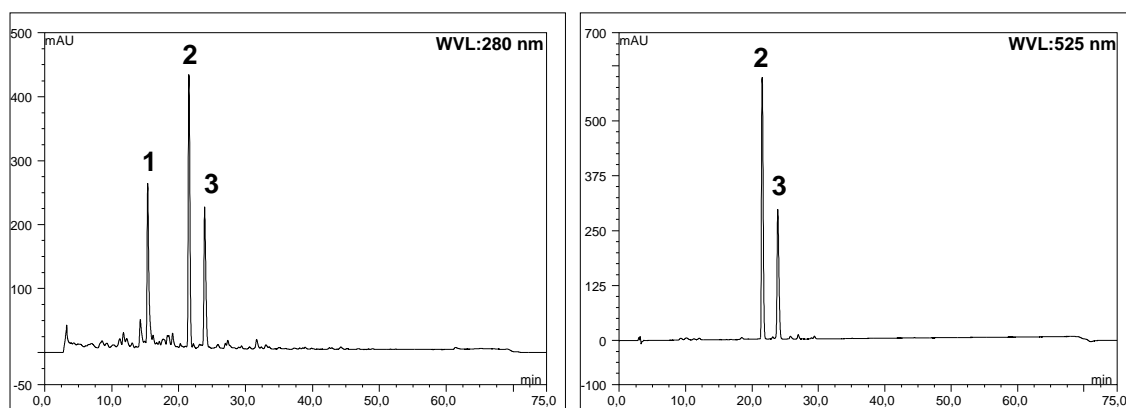


Figura 1 - Cromatogramas a 280 nm e 525 nm relativos à análise por HPLC da framboesa de produção convencional. 1- Pro-antocianidina, 2- Cianidina-3-soforósido, 3- Cianidina-3-glucósido.

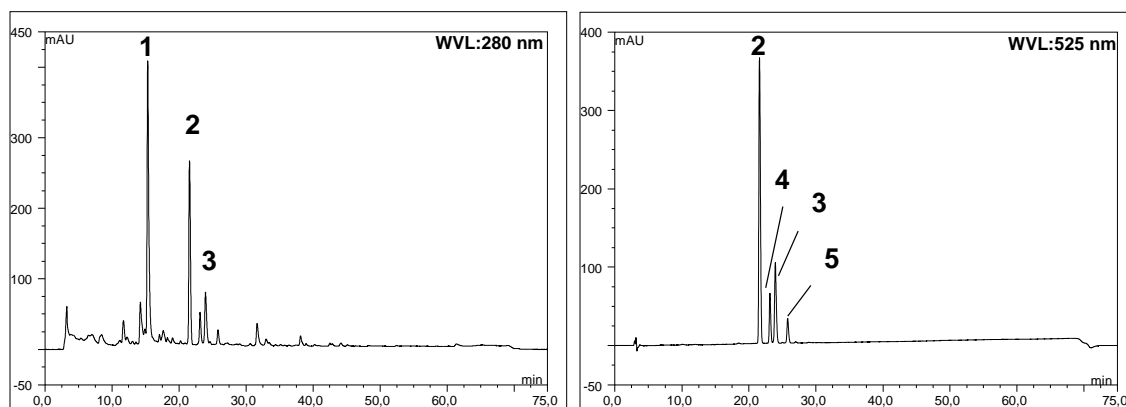


Figura 2 - Cromatogramas a 280 nm e 525 nm relativos à análise por HPLC da framboesa de produção biológica. 1- Pro-antocianidina, 2- Cianidina-3-soforósido, 3- Cianidina-3-glucósido, 4- Derivado da Peonidina 1, 5- Derivado da Peonidina 2

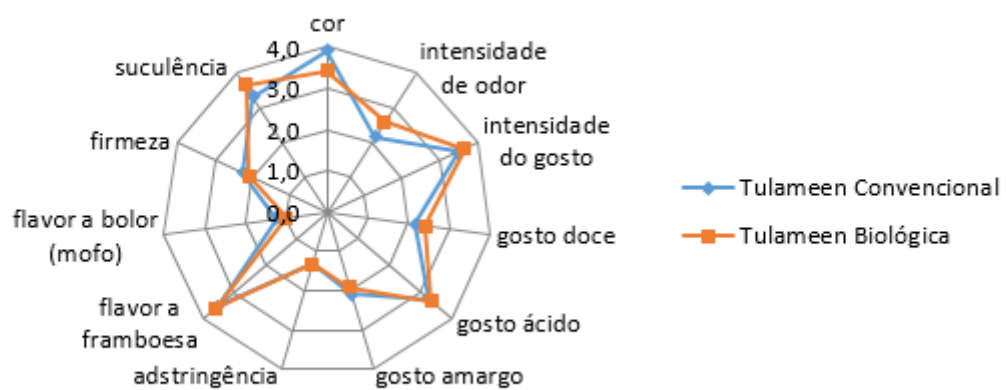


Figura 3 - Perfil sensorial das amostras de framboesa obtidas por agricultura biológica e convencional.

Análise imediata de açúcares e acidez titulável em mirtilos através de espectroscopia de Infravermelho

Manuela Machado¹, Nelson Machado¹, Raúl Dominguez-Perles¹ e Ana Barros¹

¹ Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal

Resumo:

A procura de mirtilos tem aumentado devido aos seus reconhecidos benefícios para saúde, tendo este facto levado a um aumento da sua produção. Torna-se portanto importante o desenvolvimento de métodos rápidos e fiáveis para a determinação de parâmetros de qualidade pós-colheita. Neste âmbito, amostras de quatro cultivares distintas de mirtilos – *Palmetto*, *Legacy*, *Camelia* e *Duke* – foram caracterizadas, relativamente ao grau Brix e acidez titulável e concomitantemente foram registados os seus espectros de Infravermelho, tendo em vista a criação de um método analítico para avaliação dos mesmos, recorrendo a esta técnica. Através de uma análise associada a métodos de estatística multivariada dos espectros, foi possível, não só diferenciar as quatro cultivares de mirtilos, mas também relacionar satisfatoriamente os mesmos com o grau Brix, e a acidez titulável, com R^2 de 0,999 e 0,980 respetivamente.

Palavras-chave: qualidade, análise multivariada, *Vaccinium corymbosum*.

Abstract:

With the increased request of the blueberries due to their well-known health benefits, an increase in their production is evident. Therefore, it is important to develop rapid and reliable methods for the determination of post-harvest quality parameters. In this context, samples from four different cultivars of blueberries - *Palmetto*, *Legacy*, *Duke* and *Camelia* - were characterized in relation to the Brix degree and titratable acidity and concomitantly their infrared spectra were recorded with an aim to the creating an analytical method for evaluation the same parameters, using this technique. Through an analysis using multivariate statistical methods, it was possible not only to distinguish the blueberries cultivars, but also correlate satisfactorily the infrared spectrum with Brix degree, and titratable acidity with R^2 of 0.999 and 0.980, respectively.

Keywords: quality, multivariate analysis, *Vaccinium corymbosum*.

Introdução:

Nos últimos anos, os benefícios para a saúde atribuídos a alguns frutos, principalmente os frutos vermelhos, entre os quais os mirtilos, têm chamado a atenção dos consumidores para os mesmos, aumentando grandemente o seu consumo, e consequentemente a sua produção (FAO, 2012). Estes benefícios estão amplamente relacionados com o seu elevado conteúdo em compostos fenólicos, tendo este facto sido comprovado por vários estudos recentemente realizados (Jimenez-Garcia et al., 2013; Mukulic et al. 2012; Paredes-Lopez et al, 2012). Apesar deste facto, a composição química destes frutos varia com diversos fatores, tais como o cultivar, fatores ambientais, pós-colheita, e estado de maturação, sendo a sua qualidade refletida não só pelo seu conteúdo polifenólico, mas também pelo grau Brix e diversos parâmetros físico-químicos, entre os quais a acidez titulável (Muller et al., 2012; Castrejo et al., 2008; Riihinen et al., 2008).

Assim, o aumento da procura, e produção, destes frutos, faz com que sejam necessárias metodologias céleres e acessíveis para o controlo imediato da sua qualidade aquando da

colheita, e processamento, o que não se coaduna muitas vezes com os métodos laboratoriais colorimétricos clássicos, que são dispendiosos, morosos, e requerem um processamento da amostra. Para além destes inconvenientes, é necessário apontar que estes métodos requerem o manuseamento de solventes dispendiosos e tóxicos, que no final resultam em resíduos nocivos para a saúde e meio ambiente. Consequentemente, é importante encontrar metodologias adequadas e versáteis, para uma determinação imediata, e se possível *in loco*, de parâmetros de qualidade e segurança alimentar, que poderão adicionalmente auxiliar na determinação do melhor momento de colheita. Este último facto é de especial relevância neste tipo de frutos, que passam rapidamente de um grau de maturação adequado, para um estado de maturação que não permite já a sua colocação no circuito comercial comum.

Neste contexto, a espectroscopia de Infravermelho surge como uma ferramenta importante, uma vez que, recorrendo ao acessório ATR (do inglês *Attenuated Total Reflectance*), é possível o registo de espectros sem qualquer tipo de preparação prévia da amostra, permitindo determinações rápidas, e sem recurso a solventes orgânicos (Sinelli et al., 2008). Assim, este tipo de abordagem, quando implementada, poderia conduzir a poupanças assinaláveis de tempo e outros recursos. Este tipo de metodologia tem já sido largamente avaliada para determinação de parâmetros de qualidade, e composição fenólica, de diferentes matrizes alimentares, tendo até ao momento apresentado resultados promissores (Duarte et al., 2002; Sinelli et al., 2008; Karoui et al., 2010)

Este trabalho tem como objetivo relacionar parâmetros de qualidade pós-colheita de quatro diferentes cultivares de mirtilos (*Vaccinium corymbosum*) com os respetivos espectros de infravermelho, usando para esse efeito o método de estatística multivariada de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS-R). A regressão por mínimos quadrados parciais é um método usado para modelar a relação entre um conjunto de variáveis preditoras e um conjunto de variáveis de resposta. A regressão por mínimos quadrados parciais tem como vantagem a aceitabilidade de mais variáveis que objetos, evitando problemas de colinearidade entre variáveis (Coimbra et al., 1999). Para além disso, esta abordagem tem em conta a resposta, aquando da extração dos fatores – denominação atribuída nesta metodologia aos componentes principais – tratando-se de um processo iterativo em que os fatores obtidos são utilizados para mimetizar a resposta, e vice-versa, até que fatores correspondentes ao menor erro, para previsão da resposta, sejam obtidos.

Material e Métodos:

Amostragem: Foram colhidos frutos de quatro cultivares distintos de mirtilos: Palmetto, Camélia (variedades protegidas), Legacy e Duke. As plantas foram instaladas em 2008. A plantação localiza-se na freguesia de Avanca (latitude 40°49'N e longitude 8°34'W), concelho de Estarreja, distrito de Aveiro, pertencente à empresa Biobaga. Todas as plantas foram cultivadas sobre condições agronómicas padronizadas. O pomar foi explorado em modo de produção biológica, as plantas estavam instaladas num camalhão coberto com casca de pinheiro, com um sistema gota-a-gota e um coberto vegetal espontâneo na entrelinha. Foram recolhidos cerca de 500 g de mirtilos por cultivar, no seu estado ótimo de maturação.

Determinação do Grau Brix: Para cada cultivar foi preparado um sumo, utilizando vinte mirtilos, com recurso a um homegeneizador comum. O grau Brix de cada sumo obtido foi medido num refratómetro digital (Atago PR-101 (0-45%)), onde foi colocada uma pequena quantidade de sumo em cada leitura, tendo sido efetuadas duas repetições de cada medida.

Determinação da acidez titulável: Foram titulados 2 ml de sumo com uma solução padrão de hidróxido sódio (0,1N), até pH 8,2. Efetuaram-se duas titulações e os resultados forma expressos em % de ácido cítrico.

Aquisição dos espectros de infravermelho e análise estatística multivariada: Os espectros de Infravermelho foram registados com recurso a um espectrofotómetro de

infravermelho IS50 FT-IR produzido pela *Thermo Scientific*, EUA, com acessório de ATR incorporado (IS50-ATR), controlado pelo software Omnic, *Thermo Scientific*, EUA. Os espectros foram registados entre 400 cm^{-1} e 4000 cm^{-1} com 4 cm^{-1} de resolução e 64 scans. Para cada cultivar o espectro foi registado três vezes, tendo sido utilizada uma alíquota distinta de cada sumo para o registo de cada um dos espectros. As linhas de base foram posteriormente corrigidas, recorrendo ao procedimento automático do software Ominic, utilizando polinómios de 6º grau. Antes de se proceder à análise dos espectros estes foram normalizados usando a normalização SNV (*standard normal variate*). A análise multivariada foi realizada usando o software Origin (versão 9.1) da OriginLab Corporation, *Northampton, MA*, EUA. Apenas O intervalo espectral ($1000\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$), que se verificou ser o mais conveniente para este procedimento, apresentando melhores resultados, foi utilizado na regressão PLS-R. Os fatores extraídos da análise PLS-R foram posteriormente utilizados na Análise Discriminante, de modo a verificar se as cultivares são discerníveis através de Infravermelho. Todos os métodos foram devidamente calibrados e validados, através do procedimento de *Cross Validation, Leave-one-Out*. O número de fatores para cada determinação foi escolhido de modo a minimizar o erro associado ao modelo RMSE (*Root Mean Square Error*).

Resultados e Discussão:

As amostras das diferentes variedades de mirtilos apresentam valores muito semelhantes, no que diz respeito à acidez titulável, apresentando valores de cerca de 0,1% de ácido cítrico, o que está de acordo com o descrito na literatura para este tipo de fruto (Sinelli et al. 2008). No que se refere ao grau Brix, este varia entre 9,2 para a cultivar *Duke* e 11,5 para a *Palmetto*. Estes valores obtidos através de métodos padrão foram posteriormente utilizados para, conjuntamente com os espectros de Infravermelho, obter modelos, que permitam futuramente a previsão dos mesmos, através somente dos espectros registados. Com este propósito, o método de regressão PLS foi usado para estabelecer uma correlação entre os parâmetros grau Brix e acidez titulável e os dados espectrais. Para este efeito, foram realizadas calibrações recorrendo ao espectro médio de cada uma das cultivares, e posteriormente previstos os parâmetros para cada um dos espectros individualmente, com recurso aos modelos obtidos.

Para esta análise, numa fase inicial, e recorrendo aos espectros subtraídos de linha de base e normalizados, foram selecionados os intervalos espectrais ótimos, para obtenção destas correlações. Assim, inicialmente, as análises foram levadas a cabo com os intervalos espectrais $950\text{--}1800$ e $2750\text{--}3700\text{ cm}^{-1}$ em simultâneo (Figura 1), e o peso da variância em cada número de onda para as determinações avaliado. Verificou-se que apesar de serem visíveis variações na região de altas frequências ($2750\text{--}3700\text{ cm}^{-1}$, Figura 1), estas não seguem uma tendência específica, sendo pouco preponderantes para as determinações pretendidas. De facto, nesta região encontram-se modos de elongação da ligação de carbono ou oxigénio com hidrogénio, possuindo portanto contribuições de vários sistemas químicos distintos, o que faz com que estes picos não sejam determinantes. Numa segunda fase foi utilizada toda a região de baixa frequência ($950\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$), tendo-se verificado que a região com números de onda ($1000\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$), corresponde essencialmente a modos de elongação (C-O), apresenta o maior peso para obtenção de correlações. De facto, é nesta zona que se verificam as maiores variações entre as diferentes amostras (Figura 1), e apesar de se verificarem também diferenças espectrais, entre as amostras na região ($1700\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$) correspondente à elongação dos grupos carbonilo (C=O), a introdução da mesma no processo de análise multivariada, conduziu a modelos de pior qualidade.

Desta forma, foi utilizada a região espectral de 1000 a 1200 cm^{-1} , para a calibração dos modelos de previsão. Como se pode verificar na Figura 2, com o uso dos dois primeiro fatores obtidos com a região mencionada, que representam 99,59 % da variância entre as amostras, observa-se uma clara separação entre os sumos referentes a cada cultivar. De facto, constatou-

se, que a aplicação destes dois fatores em Análises Discriminantes posteriores permitiu diferenciar os sumos no que diz respeito à cultivar dos mirtilos correspondentes, o que não deixa de ser um ponto interessante na aplicação deste tipo de abordagem, com recurso a métodos espectroscópicos.

Para a determinação do grau Brix, recorrendo ao intervalo espectral 1000 a 1200cm¹, foi obtido um modelo, em que a utilização de duas variáveis latentes, ou fatores, correspondeu a um erro mínimo (RMSE) de 0,93%, verificando-se um coeficiente de correlação entre os valores medidos e os previstos por este modelo bastante satisfatório ($R^2=0,9991$) (figura 3). Relativamente à acidez titulável, obteve-se o modelo do qual foram extraídos os valores apresentados na figura 4, e que apresentam um coeficiente de correlação de 0,9819 com os valores experimentais. Este modelo utiliza seis variáveis latentes, que correspondem ao erro mínimo associado ao modelo, com um valor de 6,99%, um pouco superior ao obtido para a determinação do °Brix. Apesar do reduzido número de amostras, e de nestes dois parâmetros, Brix e acidez titulável as amostras apresentarem resultados muito semelhantes, com a aplicação da análise estatística multivariada aos espectros de Infravermelho, foi possível obter modelos que permitem correlacionar os espectros das diferentes amostras com estes parâmetros de forma satisfatória.

Conclusão:

A espectroscopia de infravermelho acoplada a métodos de análise multivariada demonstra ter potencial para ser utilizada como uma ferramenta adequada à distinção de cultivares e sua possível certificação, uma vez que neste trabalho foram usadas duas cultivares que são tidas como sendo variedades protegidas.

Foi possível demonstrar a exequibilidade desta metodologia para obtenção de modelos para determinação do grau Brix e a acidez titulável, com recurso à espectroscopia de Infravermelho, sendo que neste caso as determinações foram realizadas, mesmo com recurso a um pequeno conjunto de amostras para calibração. Esta técnica apresenta resultados bastante positivos, mostrando-se uma promissora ferramenta na determinação de parâmetros de qualidade de frutos.

Referências:

- Castrejon, A.D.R. Eichholoz, I. Rohn, S. Kroh, L.W. 2008. Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening. *Food Chemistry*, 109:564-572.
- Coimbra, M.A. Barros, A. Rutledge, D.N. Delgadillo, I. 1999. FTIR spectroscopy as a tool for the analysis of olive pul cell-wall polysaccharid extracts, *Carbohydrate Research*, 317:145-154
- Duarte, I. Barros A. Delgadillo, I. Almeida, C. Gil, A. 2002. Application of FTIR spectroscopy for the quantification of sugars in mango juice as a function of ripening, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50:3104-3111.
- Jimenez-Garcia, S.N. Guevara-Gonzales, R.G. Miranda-Lopes, R. Feregrino-Perez, A.A. Torres-Pacheco, I. Vazquez-Cruz, M.A. 2013. Functional properties and quality characteristics in berries: Biochemistry, biotechnology and genomics. *Food Research International*, 54:1195-1207.
- Karoui, R. Downey, G. Blecker, C. 2010. Mid-infrared spectroscopy coupled with chemometrics: A tool for the analysis of intact food systems and the exploration of their molecular structure - quality relationships – a review, *Chemical Reviews*, 110:6144-6168.

- Mukulic-Petkovsek, M. Slatrar, A. Stampar, F. Veberic, R. 2012. HPLC- Ms^n identification and quantification of flavonols glycosides in 28 wild and cultivated berry species. Food Chemistry, 135:2138-2146.
- Muller, D. Scharztz, M. Richling, Z. 2012. High performance liquid chromatography analysis of anthocyanins in bilberries (*Vaccinium myrtillus* L.), blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) and corresponding juices. Journal of Food Science, 77:340-343.
- Paredes-Lopez, O. Cervantes-Ceja, M.L. Vigna-Perez, M. Hernandez-Peres, T. 2010. Berries: Improving human health and healthy aging, and promoting quality life – A review. Plant Foods for Human Nutrition, 65:299-308.
- Riihinen, K. Joakola, L. Karenfampi, S. Hohtola, A. 2008. Organ-specific distribution of phenolic compounds in bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and “northblue” blueberry (*Vaccinium corymbosum*, *V. angustifolium*). Food Chemistry, 110:156-160.
- Sinelli, N. Spinandi, A. Di Egidio, V. Mignami, I. Casiraghi, E. 2008. Evaluation of quality and nutraceutical content of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) by near infrared and mid-infrared spectroscopy. Postharvest Biology and Technology, 50:31-36.

Figuras e quadros:

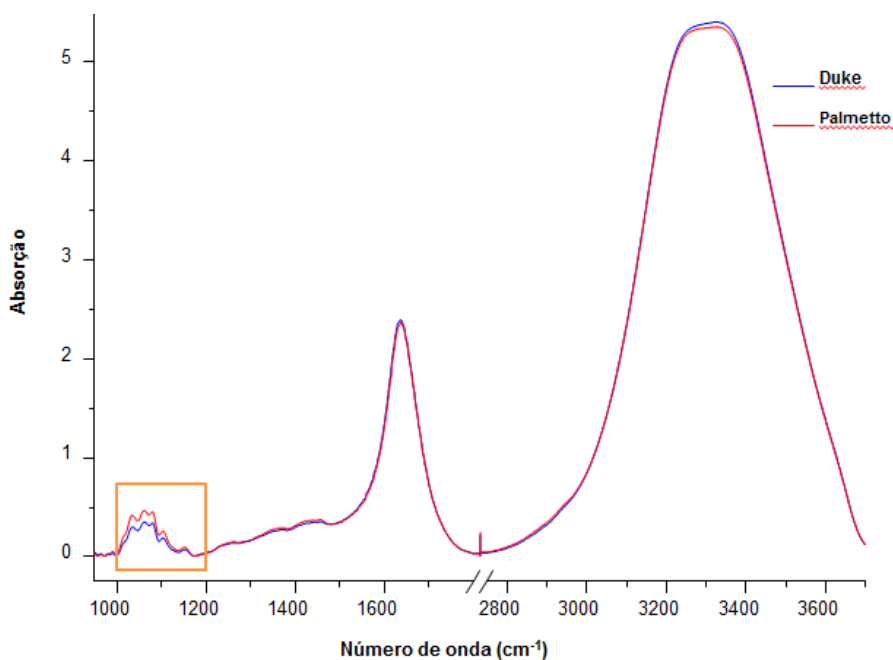


Figura 1- Espectro de Infravermelho de dois dos cultivares em estudo.

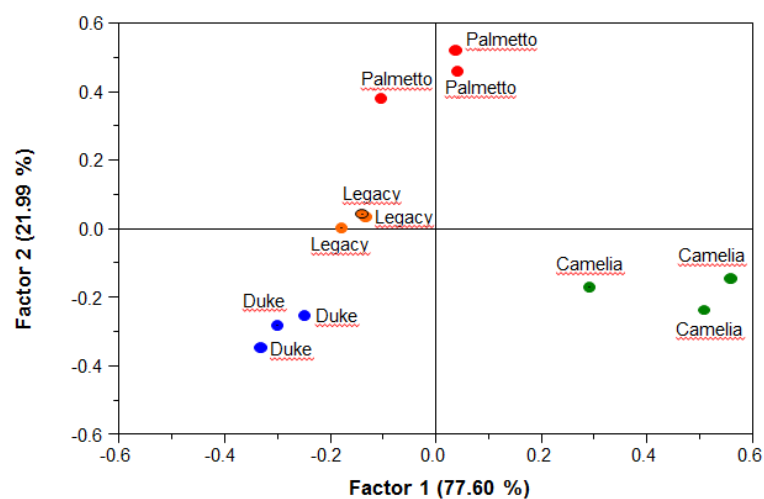


Figura 2 – Análise discriminante aplicada aos espectros dos sumos dos diferentes cultivares de mirtilos.

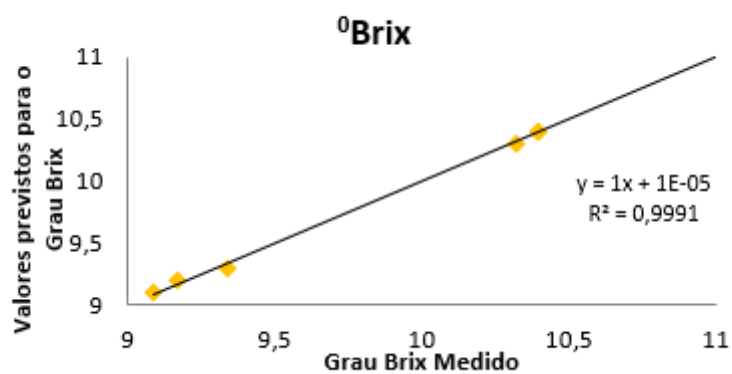


Figura 3- Correlação entre o grau Brix medido por métodos clássicos e os valores previstos pelo espectro de infravermelho.

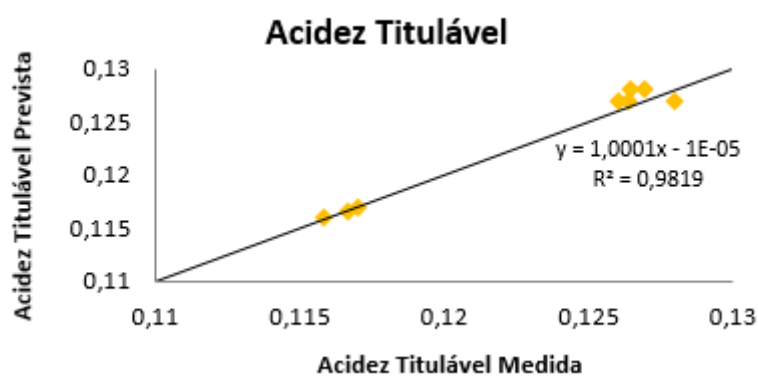


Figura 4- Correlação entre a acidez titulável medida através de métodos clássicos e os valores previstos pelo espectro de infravermelho.

Avaliação das propriedades físico-químicas e sensoriais do figo-da índia (*Opuntia ficus-indica*) desidratado

C. Gago¹, A. Guerreiro¹, G. Miguel¹, M.L. Faleiro², D. Candeias³ & M.D. Antunes¹

¹Universidade do Algarve, Faculdade de Ciências e Tecnologia, IBB-CBV, Edif. 8, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal

²Universidade do Algarve, Faculdade de Ciências e Tecnologia, IBB-CBME, Edif. 8, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal

³Centro de Excelência Para a Valorização dos Recursos Mediterrânicos, Departamento Consultoria e I&DT, C. C.de Transportes - r/c sala 0, 7700 - 061 Almodôvar

Resumo

A figueira-da-índia (*Opuntia ficus-indica*) foi trazida para a Europa por descobridores espanhóis e adaptou-se bem à zona mediterrânica. No Algarve e no Alentejo, estes catos crescem selvagens há séculos e serviam para delimitar as propriedades e para alimentar os animais. No entanto, os frutos sempre tiveram um consumo restrito na alimentação humana.

Contudo, em Portugal, a produção de figo-da-índia proveniente de pomares convenientemente estabelecidos, está atualmente em crescimento. A existência desde há vários anos de um mercado internacional estabelecido, justifica a procura de novas formas de apresentação do fruto tendo em perspetiva a entrada dos produtores nacionais num segmento de mercado em que se inserem os produtos à base de figo-da-Índia, podendo dar um contributo para o aumento do índice de exportação de produtos agrícolas.

O objectivo deste trabalho é avaliar o efeito de diferentes métodos/formas de secagem/desidratação na conservação do figo-da-índia, permitindo a manutenção das qualidades do fruto e a sua disponibilidade durante todo o ano para ser comercializado sob a forma de fruto seco e/ou para a incorporação em produtos alimentares.

Os frutos de cor amarelo-alaranjado e verde-amarelado foram colhidos no Alentejo, no final de agosto quando se encontravam maduros. Selecionaram-se os frutos que não apresentavam danos. Estes frutos foram descascados e aleatoriamente separados em 3 grupos. No 1º grupo os frutos (T1) foram cortados em rodela. No 2º grupo de frutos (T2) utilizou-se apenas a polpa (retiraram-se as sementes) e no 3º grupo de frutos (T3) utilizou-se a polpa com readição de 5% (p/p) de sementes, visando a obtenção de barras desidratadas ('snacks'). Todos os frutos processados (T1, T2 e T3) foram submetidos a desidratação a 60°C. Foram avaliadas as propriedades físico-químicas e sensoriais dos frutos após a secagem. Os resultados já obtidos indicam que as barras desidratadas são as preferidas pelos provadores com uma apreciação muito positiva pelo sabor, cor e doçura.

Palavras-chave: Figo-da-índia, *Opuntia ficus-indica*, desidratação, qualidade.

Abstract

Evaluation of the physic-chemical and sensory properties of prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) dehydrated The prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) was brought to Europe by Spanish explorers and well adapted to the Mediterranean area. In Algarve and Alentejo, these cacti grow wild for centuries and served to delimit the orchards, to feed the animals, nevertheless, the fruits always had a limited role in the human diet.

However, in Portugal, the production of prickly pear from properly established orchards is currently growing. The existence for several years of an established international market, justifies the search for new ways of presenting the fruit taking into perspective the entrance of

domestic producers in a market segment in which they operate based in prickly pear products, which may make a contribution to exports.

The aim of this work was to evaluate the effect of different methods / ways of drying / dehydration in the conservation of prickly pear, enabling the maintenance of the quality of the fruit and its availability throughout the year to be marketed as dried fruit and / or for incorporation into foodstuffs.

The fruits of yellow-orange and yellow-green color were harvested in Alentejo, in late August when they were ripe. Fruits, which showed no damage, were selected. These fruits were peeled and randomly separated into three groups. In the 1st group the fruits (T1) were cut into slices. In the 2nd group of fruits (T2) only pulp was used (all seeds were removed) and in the 3rd group of fruits (T3) was used the pulp with re-addition of 5% (w / w) of seeds, with the intention to obtain dehydrated bars (snacks). All processed fruits (T1, T2 and T3) were subjected to dehydration at 60 °C. The physicochemical and sensory properties of fruits were measured after drying. The results obtained showed that the dehydrated bars are preferred by tasters with a very positive appreciation for the flavor, color and sweetness.

Keywords: Prickly pear, *Opuntia ficus-indica*, dehydration, quality.

Introdução

O figo-da-índia é uma fruta tropical nativa da América, encontrada em regiões áridas e semiáridas (Castellar et al., 2006). A *Opuntia ficus-indica*, planta trazida para a Europa pelos descobridores espanhóis, adaptou-se bem à zona mediterrânica. Contudo, a produção de figo-da-índia proveniente de pomares convenientemente estabelecidos, só agora está a crescer em Portugal. A existência desde há vários anos de um mercado internacional estabelecido e a organização da fileira a nível nacional, requer a procura de novas formas de apresentação do fruto tendo em vista a entrada dos produtores nacionais num segmento de mercado em que se inserem os produtos à base de figo-da-índia.

Há cada vez maior procura dos consumidores por produtos naturais, com alto conteúdo em fibra e baixos níveis de aditivos (Hoffman-La Roche, 1989). O fornecimento de vitaminas, fibras, minerais, açúcares e características sensoriais dos frutos fazem deles uma matéria-prima atractiva para elaboração de produtos naturais (Sepúlveda et al., 2003). Segundo Chiteva e Wairagu (2013) independentemente da sua origem ou variedade, os figos-da-índia são um bom reservatório natural de minerais tais como Mg, Ca e K, componentes nutritivos e antioxidantes como a vitamina C. Com base na sua baixa acidez, elevada doçura e cor atraente e estável, os frutos de *Opuntia* podem ter um uso muito adequado como aditivos em produtos naturais ou substituto na produção de diversos géneros alimentícios.

Os figos-da-índia têm cores atractivas com ecótipos que vão do verde, laranja até ao vermelho. A sua utilização na elaboração de “snacks” poderá valorizar este fruto, podendo aumentar o nível de consumo interno e elevar as possibilidades de exportação, originando toda uma gama de produtos novos, com vantagens para a saúde. Já foram efectuadas algumas experiências na elaboração de barras utilizando polpa de figo-da-índia, que indicaram possibilidades promissoras (Sepúlveda et al., 2000).

Assim, o objectivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes métodos/formas de secagem/desidratação (rodela desidratada ou barra desidratada) na conservação do figo-da-índia, permitindo a manutenção das qualidades do fruto e a sua disponibilidade durante todo o ano para ser comercializado sob a forma de fruto seco e/ou para a incorporação em produtos alimentares.

Material e métodos

Os ecótipos dos figos-da-índia “laranja” e “verde” foram colhidos no Alentejo (Almodôvar/Serpa) em Agosto-Setembro de 2014. Em ambos os casos a colheita realizou-se

quando mais de 75% do fruto tinha mudado de cor, tinham a cor laranja ou verde-amarelado, de acordo com o ecótipo. Após a colheita os frutos foram transportados para o laboratório de pós-colheita da Universidade do Algarve.

No laboratório, os frutos sem quaisquer danos foram selecionados, retirados os gloquídeos, lavados em água corrente, imersos numa solução de hipoclorito de sódio a 20 ppm (5 min.) e descascados. Cerca de um terço dos frutos foram selecionados aleatoriamente para o tratamento 1 (T1), i. e., foram cortados em fatias transversais com cerca de 1 cm de espessura e desidratados a $60\pm 2^\circ\text{C}$, durante 72 horas. Nos restantes figos-da-índia descascados, a cada 100g de frutos foram adicionados 0,4g de ácido cítrico, de seguida os frutos foram triturados. Todas as sementes foram retiradas utilizando um passador. Assim, o tratamento 2 (T2) é constituído pela polpa triturada (ligeiramente acidificada) e o tratamento 3 (T3) por polpa triturada (ligeiramente acidificada) com re-adição de 5% (p/p) de sementes. Em ambos, T2 e T3, se colocaram 350g em bandejas de alumínio antiaderentes, e a desidratação foi feita num equipamento de ar forçado marca Binder. O tempo de secagem foi aproximadamente de 72-80 horas, à temperatura de $60\pm 2^\circ\text{C}$.

Os três tratamentos foram submetidos às caracterizações físico-químicas, antes e após a desidratação, e realizadas em triplicado:

- Cor: medida com um colorímetro Minolta meter CR-300 (CE Minolta, Tokyo, Japan) com iluminante D₆₅ e observação a 10°. As alterações de cor foram quantificadas utilizando a escala CIEab (L^* , a^* , b^* , C^* e h°).

- pH: determinação com potenciómetro, calibrado com soluções tampão de pH 7,0 e 4,0;

- Acidez total titulável (ATT): determinada pelo método titulométrico;

- Sólidos solúveis totais (SST): leitura direta num refratómetro digital em °Brix (model PR-100, Atago Co., Tokyo, Japan);

- Teor de água: determinado em estufa sob pressão reduzida, a 70°C , até peso constante;

- A actividade da água (A_w) foi determinada utilizando um analisador Rotronic Hydrolab.

Após a conclusão do processo de desidratação, foi realizada uma prova por um painel de 15 provadores, na qual os três tratamentos efectuados nos dois ecótipos do figo-da-índia, foram avaliados numa escala de 1 (mau) a 5 (excelente) alguns parâmetros subjetivos, tais como aroma, textura, aparência, acidez, doçura, adstringência, sabor e aceitabilidade global.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e para a comparação das médias utilizou-se o Duncan's Multiple-Range Test ($P<0.05$).

Resultados e discussão

Após o processamento dos frutos e antes da desidratação (Tabela 1), os parâmetros da cor (L^* , C^* e h°) apresentam diferenças significativas entre os dois ecótipos e entre tratamentos. As rodela dos frutos (T1) apresentam valores mais elevados de L^* do que os outros dois tratamentos, quer nos frutos “laranja” quer nos “verdes”. Esta diminuição do valor de L^* , no processo de trituração dos frutos pode dever-se ao facto de alguns compostos presentes nos frutos, tais como os aminoácidos e os compostos fenólicos, estarem relacionados com o escurecimento enzimático e com a redução dos valores L^* da escala de cores CIELab. Os valores de h° mostram bem a diferença de cor dos frutos “laranja” e “verde”. A trituração dos frutos (T2 e T3) “laranja” origina uma cor laranja-avermelhado enquanto as rodela (T1) mantém uma cor laranja-amarelado. O mesmo processo de trituração (T2 e T3) nos frutos “verdes” realça a cor verde e as rodela (T1) mantém o verde mais amarelado.

Nos dois ecótipos, o T2 apresenta maior teor de água (menor % de humidade) que se deverá à ausência de sementes. Contudo, os valores de humidade em todos os tratamentos aqui apresentados situam-se dentro da gama dos valores reportados para a polpa em cultivares Chilenas (84-90%) (Sepulveda, 1998; Saenz, 2000).

O conteúdo em sólidos solúveis totais apresentou um menor valor nos frutos “verdes” em rodela (T1), todos os outros valores foram semelhantes. No entanto todos os valores estão dentro da gama de valores de SST (°Brix) referidos para as cultivares Mexicanas (12-17%) (Saenz-Hernandez, 1995).

Os figos-da-índia são considerados como alimentos pouco ácidos ($\text{pH} > 4.5$) devido ao baixo teor de ácidos orgânicos (El-Gharras et al., 2006). Os valores de pH da polpa (T1), dos nossos dois ecótipos, estão de acordo com os referidos na literatura para as cultivares Mexicanas e Chilenas que apresentam valores de pH entre 5,5 e 6,4 (Askar e El-Samahy, 1981; Sawaya et al., 1983; Sepulveda e Saenz, 1990; Joubert, 1993; Stintzing et al., 2001) e também próximos dos valores reportados para as cultivares Italianas (6,4-6,5) (Gurrieri et al., 2000). Os valores de pH inferiores em T2 e T3 devem-se à incorporação de ácido cítrico e são muito semelhantes aos valores referidos para polpa de figos-da-índia “laranja” (cultivados no Chile) processada para elaborar barras desidratadas (Gómez, 2009). De acordo com os valores de pH dos vários tratamentos está a acidez titulável, apresentando valores mais baixos para o T1 e valores mais elevados para os T2 e T3 (nos dois ecótipos).

Após a desidratação (Tabela 2) as diferenças entre os valores de L^* apresentados pelos dois ecótipos parecem atenuar-se, mas mantêm-se os valores mais elevados nas rodela (T1). São os valores de h° , nos tratamentos nos frutos “verdes”, que sofrem maiores alterações durante a desidratação, passaram dos tons “verde” iniciais para os vermelhos-acastanhados.

O T1 apresentou a menor percentagem de humidade, quer nos frutos “laranja” quer nos “verdes”, o mesmo aconteceu com a actividade da água. Apesar das diferenças na A_w entre tratamentos, os valores foram sempre inferiores a 0,64, valor que inibe praticamente toda a actividade microbiana. Segundo Larrañaga et al. (1999) nos alimentos a baixa A_w (entre 0,61 e 0,85) as alterações microbianas mais frequentes são os fungos; nesses valores, as bactérias estão geralmente inibidas e considera-se que uma A_w inferior a 0,7 é o limite abaixo do qual há garantias de estabilidade.

Os SST (°Brix) nas barras desidratadas (T2 e T3) foram mais elevados do que os das rodela (T1). Provavelmente durante o processamento dos frutos ocorreu ruptura de ligações nalguns constituintes e potenciada pela temperatura de desidratação, originou um aumento no teor de sólidos solúveis. Os valores de SST nas barras T2 e T3, nos dois ecótipos, foi quase sempre superior ao apresentado por Gómez (2009) para as barras desidratadas obtidas a partir de figos-da-índia “laranja do Chile” (77,5).

Devido à incorporação de ácido cítrico nos tratamentos T2 e T3, os valores de pH são menores e a ATT é mais elevada nestes tratamentos. As barras T2 e T3 apresentam valores de pH ligeiramente superiores aos referidos por Gomez (2009), para as barras desidratadas obtidas a partir de figos-da-índia chilenos, mas com acidez titulável superior. Nas barras T2 e T3 os valores de acidez titulável foram semelhantes aos referidos por Sepulveda et al. (2000).

Após a conclusão do processo de desidratação, todos os tratamentos tiveram apreciação positiva dos provadores quanto ao aroma, doçura, acidez e adstringência (Fig. 1). A textura só teve apreciação positiva nas barras sem sementes (T2), provenientes dos dois ecótipos de frutos. A aceitabilidade global foi melhor para as barras desidratadas sem sementes (T2), e ligeiramente superior quando provenientes dos frutos “laranja” (fig. 1).

Conclusão

A boa aceitabilidade das barras desidratadas pelo painel de provadores, a cor atractiva, a doçura, o sabor e a não adição de conservantes mostram o potencial promissor destes produtos provenientes de figo-da-índia. Mais trabalho está a ser feito avaliar a qualidade intrínseca destes produtos e a sua manutenção ao longo do tempo de armazenamento.

Bibliografía

- Castellar, R., Obon, J. M. & Fernández-López, J. A.. 2006. The isolation and properties of a concentrated red-purple betacyanin food colourant from *Opuntia stricta* fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86: 122–128.
- Chiteva, R. & Wairagu, N. 2013. Chemical and nutritional content of *Opuntia ficus-indica* (L.). *African Journal of Biotechnology*, 12(21): 3309-3312.
- El-Gharras, H., Hasib, A., Jaouad, A. & El-Bouadili, A. 2006. Chemical and physical characterization of three cultivars of maroccan yellow prickly pears (*Opuntia ficus-indica*) at three stages of maturity. *Cienc. Tecnol. Aliment.* 5(2): 93-99.
- Gómez, P. G. L. 2009. Elaboración de barras deshidratadas a partir de pulpa de tunas anaranjada y púrpura con incorporación de sucralosa y semillas de linaza. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Escuela de Agronomía. Santiago do Chile.
- Gurrieri, S., Miceli, L., Lanza, C. M., Tomaselli, F., Bonomo, R. P. & Rizzarelli, E. 2000. Chemical Characterization of Sicilian Prickly Pear (*Opuntia ficus indica*) and Perspectives for the Storage of Its Juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 5424-5431.
- Hoffman- La Roche. 1989. Snacks Gourmet. *Alimentos Procesados* 8(5): 16-18.
- Joubert, E. 1993. Processing of the Fruit y Pear Cultivars Grown in South Africa. *International Journal of Food Science and Technology* 28, 377-387.
- Larrañaga, I., J. Carballo, M. Rodríguez y J. Fernández. 1999. Control e higiene de los alimentos. Edit. MC GRAW HILL. España. 544p.
- Saenz-Hernandez, C. 1995. Food manufacture and byproducts. In: Barbera, G.; Inglese, P.; Pimienta-Barrios, E. (Eds.). *Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear*. FAO Plant Production and Protection Paper 132, 137-143.
- Saenz, C. 2000. Processing technologies: an alternative for cactus pear (*Opuntia* spp.) fruits and cladodes. *Journal of Arid Environments* 46, 209-225.
- Sawaya, W. N., Khatchadourian, H. A., Safi, W. M. & Al-Muhammad, H. M. 1983. Chemical Characterization of Prickly Pear Pulp, *Opuntia Ficus Indica*, and the Manufacturing of Prickly Pear Jam. *Journal of Food Technology* 18, 183-193.
- Sepúlveda, E.; Saenz, C. 1990. Características Químicas y Físicas de Pulpa de Tuna (*Opuntia Ficus Indica*). *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos* 30, 51-55.
- Sepúlveda, E. 1998. Cactus pear fruit potential for industrialization. *Proceedings of the International Symposium: cactus pear and Nopalitos processing and uses*, C. Saenz (ed.), Santiago, Chile: pp. 17-21.
- Sepúlveda, E., Sáenz, C. & Alvarez, M. 2000. Physical, chemical and sensory characteristics of dried fruit sheets of cactus pear (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.) and quince (*Cydonia oblonga* Mill.). *Italian Journal of Food Science* 1: 47-54.
- Sepúlveda, E., Sáenz, C. & Cid, L. 2003. Elaboración de láminas de frutilla. In: XIII Congreso Latinoamericano de Nutrición. Acapulco, México.
- Stintzing, F. C., Schieber, A. & Carle, R. 2001. Phytochemical and nutritional significance of cactus pear. *International Food Research Technology* 212, 396-407.

Quadros e figuras

Tabela 1 - Caracterização físico-química dos ecótipos do figo-da-índia “laranja” e “verde”, antes do processo de secagem, quando submetidos aos diferentes tratamentos: rodela (T1), barras de polpa triturada (T2) e barras de polpa triturada com 5% de sementes (T3).

Parâmetros		Ecótipo “laranja”						Ecótipo “verde”					
		T1		T2		T3		T1		T2		T3	
Cor	L*	48,63±0,98	b	35,11±2,32	d	32,48±1,77	d	59,30±1,28	a	42,86±2,47	c	40,99±0,46	c
	C*	38,42±1,24	a	20,83±5,78	b	20,86±3,66	b	14,77±0,56	bc	12,37±1,09	bc	10,89±0,56	c
	h°	87,71±0,62	c	79,2±2,93	d	79,87±2,27	d	102,7±1,16	b	119,3±1,61	a	114,70±4,69	a
Humid. (%)		84,29±0,20	d	88,89±0,06	a	87,22±0,20	b	86,23±0,31	c	88,88±0,17	a	86,30±0,04	c
°Brix		14,17±0,15	b	14,23±0,03	b	14,20±0,06	b	13,57±0,14	a	14,37±0,20	b	14,43±0,18	b
pH		5,88±0,05	a	4,02±0,28	b	4,00±0,32	b	6,16±0,14	a	3,73±0,05	b	3,77±0,02	b
ATT ⁺		0,06±0,00	c	0,35±0,03	b	0,40±0,05	ab	0,05±0,00	c	0,48±0,02	a	0,48±0,02	a

Os valores seguidos pela mesma letra, na mesma linha, não são significativamente diferentes (Duncan's New Multiple Range Test, $P<0.05$). ⁺Acidez titulável (% Ácido cítrico).

Tabela 2 - Caracterização físico-química dos ecótipos do figo-da-índia “laranja” e “verde”, após desidratação, quando submetidos aos diferentes tratamentos: rodela (T1), barras de polpa desidratadas (T2) e barras de polpa desidratadas com 5% de sementes (T3).

Parâmetros		Ecótipo “laranja”						Ecótipo “verde”					
		T1		T2		T3		T1		T2		T3	
Cor	L*	49,14±0,57	a	39,35±0,52	b	35,34±1,17	c	50,34±0,77	a	40,41±1,28	b	41,72±0,52	b
	C*	25,07±0,98	a	18,57±0,69	c	12,62±0,49	d	22,00±1,18	b	12,97±0,57	c	12,10±0,42	d
	h°	69,64±0,13	c	75,77±0,68	b	78,41±1,33	a	74,26±0,20	b	53,67±1,20	d	51,61±0,61	e
Humid. (%)		19,33±0,68	d	24,22±0,12	b	21,67±0,58	c	18,18±1,09	d	29,92±0,50	a	25,42±0,85	b
A _w		0,44±0,003	d	0,50±0,01	b	0,53±0,01	a	0,43±0,01	d	0,47±0,01	c	0,44±0,01	d
°Brix		70,50±0,84	bc	81,33±5,52	a	76,17±1,17	ab	66,33±0,93	c	84,00±1,44	a	80,83±1,17	a
pH		5,30±0,18	b	4,00±0,01	c	3,96±0,02	cd	5,76±0,06	a	3,81±0,04	e	3,83±0,02	de
ATT ⁺		0,88±0,05	b	2,55±0,22	a	2,64±0,16	a	0,70±0,04	b	2,70±0,08	a	2,69±0,03	a

Os valores seguidos pela mesma letra, na mesma linha, não são significativamente diferentes (Duncan's New Multiple Range Test, $P<0.05$). ⁺Acidez titulável (% Ácido cítrico).

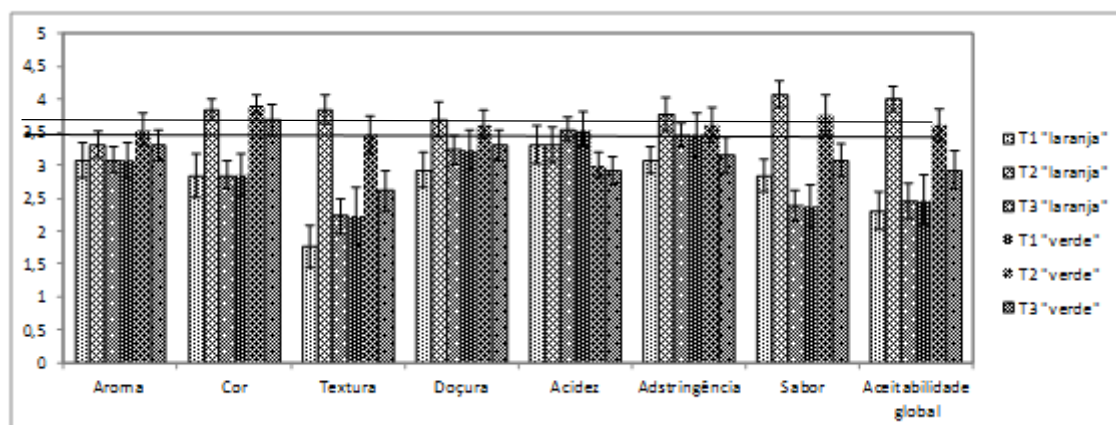


Figura 1. Paineis de provadores dos ecótipos do figo-da-índia “laranja” e “verde”, após desidratação, quando submetidos aos diferentes tratamentos: rodela (T1), barras de polpa triturada (T2) e barras de polpa triturada com 5% de sementes (T3).

Composição química de frutos de quatro cultivares de mirtilo em modo de produção biológico

Sónia Ferreira¹, Berta Gonçalves¹, Alfredo Aires¹, Rosa Paula Carvalho², Sofia Correia¹, Ivo Oliveira¹, Helena Ferreira¹, Eunice Bacelar¹ & Ana Paula Silva¹

¹CITAB, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Apartado 1013, 5000-801 Vila Real, sonjaf@gmail.com; bertag@utad.pt; alfredo@utad.pt; helenaf@utad.pt; areale@utad.pt; ivobio@hotmail.com; sofiacorreia@utad.pt; asilva@utad.pt.

²Departamento de Agronomia, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Apartado 1013, 5000-801 Vila Real, rpaula@utad.pt

Resumo

Nos últimos anos, verificou-se um interesse crescente pelo consumo de mirtilos, quer devido ao seu elevado valor nutricional com efeitos potenciais na saúde humana, quer devido à sua utilização em diversos produtos alimentares. Assim, torna-se cada vez mais importante a seleção das cultivares melhor adaptadas às nossas condições edafo-climáticas e que reúnam excelentes qualidades nutricionais e organoléticas. Estas características são influenciadas pelas concentrações de açúcares livres, ácidos orgânicos e fenóis que, por sua vez, são influenciados pela cultivar e ano de colheita. Foi objetivo deste estudo determinar a concentração de açúcares livres, ácidos orgânicos e compostos fenólicos nos frutos de quatro cultivares (cv.) de *Vaccinium* sp., ‘Camelia’, ‘Duke’, ‘Legacy’ e ‘Palmetto’ instaladas num pomar conduzido em modo de produção biológico, pertencente à empresa Biobaga, localizado em Avanca, distrito de Aveiro.

A quantificação de açúcares livres, ácidos orgânicos e compostos fenólicos foi realizada por HPLC em frutos recolhidos em 2011. Relativamente à composição em açúcares livres, foram detetadas diferenças significativas entre cultivares, apenas para a concentração de sacarose, com a cv. Palmeto a apresentar os maiores teores deste açúcar. O açúcar maioritário foi a frutose. Na quantificação dos ácidos orgânicos, a cv. ‘Duke’ apresentou as maiores concentrações de todos os ácidos orgânicos estudados, sendo o ácido mais abundante o cítrico, em todas as cultivares. Foram encontradas diferenças significativas entre cultivares, para todos os fenóis quantificados, com a exceção de cianidina-3-glucósido. Em todas as cultivares, a peonidina-3-galactósido foi o composto fenólico mais abundante, sendo que, para a cv. ‘Camelia’, peonidina-3-glucósido foi o segundo mais abundante, contrariamente ao detetado nas restantes cvs. nas quais o ácido clorogénico foi o segundo mais importante. Em síntese, foi de salientar o efeito marcado da cultivar na composição química dos frutos.

Palavras-chave – *Vaccinium* sp., Valor Nutricional, Qualidade do Fruto.

Abstract

Chemical composition of fruits of four blueberry cultivars in organic production

In the last few years, there was a growing interest in the consumption of blueberries, either due to their high nutritional value with potential effects on human health, either because of their use in various food products. Thus, it becomes increasingly important to select the best cultivars adapted to our soil and climate conditions and who possess excellent nutritional and organoleptic qualities. These characteristics are influenced by the concentration of free sugars, organic acids and phenols which, in turn, are influenced by the growing crop and year. The aim of this study was to determine the concentration of free sugars, organic acids and phenolic compounds analysis in fruits of four cultivars (cv.) of *Vaccinium* sp., ‘Camelia’, ‘Duke’,

'Legacy' and 'Palmetto' installed in an orchard conducted in organic production belonging to the company Biobaga, located in Avanca, district of Aveiro, Portugal

The quantification of sugars, organic acids, and phenolic compounds was performed by HPLC fruit collected in 2011. Sugar concentration in fruits was only significantly different in sucrose, with cv. 'Palmetto' presenting the highest concentration. Furthermore, fructose showed the highest concentration and sucrose the lowest. The cv. 'Duke' showed the highest concentrations in all organic acids studied, being citric acid the most abundant one. Significant differences among cultivars were found for all quantified phenols, with the exception cyanidin-3-glucoside. In all the cultivars peonidin-3-galactoside was the most abundant phenolic compound, and, for cv. 'Camelia', peonidin-3-glucoside was the second most abundant, unlike the remaining cultivars, in which chlorogenic acid was the second most important. In short, was highlight the marked effect of the cultivar on the chemical composition of the fruit.

Keywords – *Vaccinium* sp., Nutritional Value, Quality Fruit.

Introdução

Os mirtilos apresentam características sensoriais que fomentam o seu consumo em fresco e em alimentos processados (Skrede et al., 2000) e importantes qualidades nutricionais em resultado da elevada presença de componentes bioativos. Dentro destes salientam-se os flavonoides (como as antocianinas) e os ácidos fenólicos (como os ácidos hidroxicinâmicos) (Howard et al., 2003; Castrejón et al., 2008; Dragović-Uzelac et al., 2010; Gavrilova et al., 2011; Wang & Chen, 2010), que serão estudados no presente trabalho.

Em Portugal, são poucos os estudos existentes, relativamente às várias propriedades e composição dos frutos, nomeadamente: fenóis, antocianinas e atividade antioxidante, análises de rotina e análise sensorial, e somente um estudo se referiu às cultivares *Southern Highbush Blueberry* (SHB) 'Camelia' e 'Palmetto' (Fonseca et al., 2012). O conhecimento da composição química dos frutos poderá ser importante para melhor compreender a adaptabilidade das cultivares à região em estudo. Com esse objetivo, foi determinada a composição química dos frutos das cvs. 'Camelia', 'Duke', 'Legacy' e 'Palmetto', instaladas num pomar conduzido em modo de produção biológico, localizado em Avanca. Em concreto, foram determinadas as concentrações de açúcares livres, ácidos orgânicos e a concentração de fenóis individuais para os frutos destas cultivares colhidos em 2011.

Material e Métodos

Material vegetal: Foram colhidos frutos das quatro cultivares de mirtilos, 'Camelia', 'Palmetto' (ambas variedades protegidas), 'Legacy' e 'Duke'. As plantas foram instaladas em 2008. A plantação localiza-se na freguesia de Avanca (latitude 40°49'N e longitude 8°34'W), concelho de Estarreja, distrito de Aveiro, pertencente à empresa Biobaga. Todas as plantas foram cultivadas sobre condições agronómicas padronizadas. O pomar foi explorado em modo de produção biológico, as plantas estavam instaladas num camalhão coberto com casca de pinheiro, com um sistema gota-a-gota e um coberto vegetal espontâneo na entrelinha. Foram recolhidas amostras por cv., cerca de 2 kg de mirtilos, no seu estado óptimo de maturação.

Determinação de ácidos orgânicos e açúcares livres: Estas determinações foram feitas com recurso à Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) com base nos métodos descritos por Phillips et al. (2010) para a determinação de ácidos orgânicos, e de Daniel et al. (1981) para os açúcares livres.

Determinação dos fenóis: A determinação dos fenóis individuais foi por HPLC de acordo com o método descrito por Lamuela-Raventós & Waterhouse (1994) e de acordo com Gonçalves et al. (2007). Os resultados foram expressos em microgramas por grama de peso seco ($\mu\text{g.g}^{-1}$ PS)

Análise estatística: Os dados foram submetidos a uma análise de variância a um fator (one-way ANOVA; efeitos da cv.) usando o programa SPSS 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA). Quando a análise de variância se mostrou significativa ($P < 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey HDS.

Resultados e Discussão

Açúcares livres e ácidos orgânicos: A concentração de açúcares livres variou significativamente apenas para a sacarose, com a cv. 'Palmetto' a apresentar as maiores concentrações (quadro 1). No entanto, a frutose, é o açúcar livre mais abundante em todas as cultivares. Estudos realizados anteriormente referem também a sacarose como o açúcar livre presente em menores concentrações (Kader et al., 1994; Viljakainen et al., 2002; Dahlø, 2011; Mikulic-Petkovsek et al., 2012), enquanto que para a frutose há vários estudos que a destacam pelas maiores concentrações (Viljakainen et al., 2002; Dahlø, 2011; Fonseca et al., 2012), enquanto que noutros salientam também a glucose, com concentrações semelhantes à da frutose (Kader et al., 1994; Sousa et al., 2007; Wang & Chen, 2010; Mikulic-Petkovsek et al., 2012). Relativamente à galactose raramente foi referida e/ou quantificada (Viljakainen et al., 2002; Dahlø, 2011; Mikulic-Petkovsek et al., 2012).

O ácido orgânico com maior concentração foi o ácido cítrico (AC) enquanto que o ácido málico (AM) foi, de entre os ácidos orgânicos determinados, o que apresentou menor concentração em todas as cultivares (quadro 1). As cvs. 'Camelia' e 'Palmetto' apresentaram as menores concentrações de AC e AM, com a cv. 'Camelia' a apresentar simultaneamente a menor concentração de ácido quínico (AQ) e a cv. 'Duke' as maiores concentrações de todos os ácidos orgânicos estudados. Wang & Chen (2010), no seu estudo realizado na cv. 'Duke', registou uma muito maior concentração do AC e menor do AM, tal como verificado no presente estudo. Resultados semelhantes foram obtidos por outros autores (Ehlenfeldt et al., 1994; Kader et al., 1994; Viljakainen et al., 2002; Dahlø, 2011; Fonseca et al., 2012; Mikulic-Petkovsek et al., 2012;). Relativamente ao AQ, alguns autores referem concentrações semelhantes às do AM (Ehlenfeldt et al., 1994), enquanto outros autores referem concentrações de AQ superiores (Fonseca et al., 2012). As elevadas concentrações de ácidos orgânicos presentes nos mirtilos, conferem-lhe um sabor mais amargo e ácido do que noutras bagas (Fonseca et al., 2012), mas são também de extrema importância para a preservação dos frutos, auxiliando ainda na estabilização do ácido ascórbico e das antocianinas (Talcott, 2007).

A composição e concentração de açúcares livres e ácidos orgânicos, é fundamental para o sabor/propriedades organoléticas dos frutos, com o teor em açúcares a ser contrabalançado pela presença dos vários ácidos orgânicos, que conferem os sabores amargo e ácido aos mirtilos, mais ou menos acentuado, dependendo da cv. (Talcott, 2007). Fonseca e colaboradores (2012) referem numa análise sensorial realizadas às mesmas cultivares deste estudo, em que a cultivar com menor pontuação no sabor era a que continha menores quantidades de AC e AQ e maiores quantidade de açúcares, revelando desta forma a importância destes compostos para o sabor da baga.

Fenóis: No presente estudo, registaram-se concentrações significativamente diferentes para os fenóis estudados nas quatro cvs., com excepção da cianidina-3-glucósido (Cia-3-glu) (quadro 2). A cv. 'Camelia' apresentou concentrações mais elevadas de cianidina-3-arabinósido (Cia-3-a), delphinidina-3-arabinósido (Del-3-a), malvidina-3-galactósido (mal-3-gal) e peonidina-3-glucósido (peo-3-glu), tendo no entanto apresentado também as concentrações mais reduzidas de ácido clorogénico (ACl), peonidina-3-galactósido (peo-3-gal), petunidina-3-arabinósido (pet-3-a), petunidina-3-galactósido (pet-3-gal), petunidina-3-glucósido (pet-3-glu) e rutina (r). A cv. 'Palmetto' apresentou os valores mais elevados de peo-3-gal e pet-3-glu. A cv. 'Legacy' apresentou maior concentração de pet-3-gal. As cvs. 'Palmetto' e 'Legacy' salientam-se pelas maiores concentrações de pet-3-a. As cvs. 'Legacy' e 'Duke' salientam-se pelas maiores concentrações de rutina. Nas cvs. 'Duke' e 'Palmetto' não foi detetado um dos

ácidos fenólicos, o ácido cafeíco (ACa). Outros autores também não detetaram a presença deste ácido em algumas cvs. estudadas (Sellappan et al., 2002) ou detetaram-no em quantidades muito reduzidas (Mozě et al., 2011). Vários estudos referem que as proporções em que se encontram os diferentes compostos fenólicos dos mirtilos dependem da cultivar (Lohachoompol et al., 2008; Gavrilova et al., 2011; Wang et al., 2012), tal como registado no presente estudo, dependendo ainda de outros fatores como do ano de colheita (Howard et al., 2003; Dragović-Uzelac et al., 2010; Mozě et al., 2011; Moura, 2013), localização do pomar (Connor et al., 2002; Dragović-Uzelac et al., 2010; Mozě et al., 2011), sistema de cultivo, estado de maturação à colheita (Kampuse et al., 2009) e condições climáticas (Castrejón et al., 2008). Em todas as cultivares, a peo-3-gal foi o composto fenólico mais abundante, sendo que, para a cv. 'Camelia', peo-3-glu foi o segundo mais abundante, contrariamente ao detetado nas restantes cvs. nas quais o AClo foi o segundo mais importante. Outros autores detetaram elevadas concentrações de AClo, considerando este o ácido fenólico o que surgia em maiores concentrações (Kader et al., 1996; Skrede et al., 2000; Gavrilova et al., 2011; Mozě et al., 2011) nas cvs. que estudaram. Gavrilova e colaboradores (2011) também verificaram que o composto fenólico mais abundante na cv. 'Legacy' foi o AClo, enquanto que na cv. 'Duke' este composto foi o segundo mais abundante, com uma antocianina a surgir como o mais abundante, semelhante ao obtido no presente trabalho. No entanto, em nenhum destes estudos a antocianina mais abundante foi uma peonidina.

Conclusões

Os dados obtidos podem ser utilizados para otimizar a produção de mirtilos com maior conteúdo de compostos fenólicos. Assim sendo, a variação da concentração de ácidos orgânicos, de alguns açúcares e de compostos fenólicos individuais variaram com as cultivares, devido principalmente às diferenças genótípicas já que as condições de cultivo são semelhantes.

Salienta-se a cv. 'Camelia' que apresenta as maiores e as menores concentrações de muitos dos fenóis individuais determinados. Já a cv. 'Legacy' embora apresente também valores elevados de alguns dos compostos fenólicos, nunca apresentou os valores mais baixos de nenhum dos compostos. A cv. 'Duke' apresenta as mais elevadas concentrações de ácidos orgânicos (que conferem maior acidez à baga), em oposição às cvs. 'Camelia' e 'Palmetto'. Os teores de açúcares livres, por outro lado, não permitem distinguir nenhuma das cultivares. Todas estas cultivares aparentam grande potencial para cultivo na região. No entanto, são necessários mais estudos para a seleção das melhores cultivares, considerando um maior período de estudo, correlacionando os dados de composição química, produtividade e avaliação do consumidor.

Agradecimentos:

Este trabalho foi suportado pelo Projecto INNOFOOD - *INNOvation in the FOOD sector through the valorization of food and agro-food by-products* - NORTE-07-0124-FEDER-0000029, financiado pelo Programa Operacional Regional do Norte de Portugal (ON.2 - O Novo Norte) no âmbito do Quadro de Referência Estratégico Nacional (QREN), através do Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER), bem como através de fundos nacionais (PIDDAC), através da Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT/MEC).

Referências

- Castrejón, A. D. R., Eichholz, I., Rohn, S., Kroh, L. W. & Huyskens-Keil, S. 2008. Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening. *Food Chemistry*, 109(3): 564-572.
- Connor, A. M., Luby, J. J., Tong, C. B. S., Finn, C. E. & Hancock, J. F. 2002. Genotypic and Environmental Variation in Antioxidant Activity, Total Phenolic Content, and

- Anthocyanin Content among Blueberry Cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 127(1): 89-97.
- Dahlø, E. S. 2011. Variation in chemical composition and genetic differentiation among bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) populations on a latitudinal gradient. In Department of Biology, Vol. Master of Science in Cell and Molecular Biology, Norwegian University of Science and Technology. Trondheim, Norway, pp. 66.
- Daniel, P. F., De Feudis, D. F., Lott, I. T. & McCluer, R. H. 1981. Quantitative microanalysis of oligosaccharides by high-performance liquid chromatography. *Carbohydrate Research*, 97(2): 161-180.
- Dragović-Uzelac, V., Savić, Z., Brala, A., Levaj, B., Kovačević, D. B. & Biško, A. 2010. Evaluation of phenolic content and antioxidant capacity of blueberry cultivars (*Vaccinium corymbosum* L.) grown in the Northwest Croatia. *Food Technology and Biotechnology*, 48(2): 214-221.
- Ehlenfeldt, M. K., Meredith, F. I. & Ballington, J. R. 1994. Unique Organic Acid Profile of Rabbiteye vs. Highbush Blueberries. *HortScience*, 29(4): 321-323.
- Fonseca, A. T., Gonçalves, B., Aires, A., Carvalho, R. P., Silva, A., Vilela, A. & Silva, A. P. 2012. Efeito da data de colheita nos teores de açúcares e ácidos orgânicos em quatro cultivares de mirtilo (*Vaccinium corymbosum* L.). IV Colóquio Nacional da Produção de Pequenos Frutos. Faro, Portugal 20-21 Abril. p. 111-120.
- Gavrilova, V., Kajdžanoska, M., Gjamovski, V. & Stefova, M. 2011. Separation, Characterization and Quantification of Phenolic Compounds in Blueberries and Red and Black Currants by HPLC–DAD–ESI–MSn. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(8): 4009-4018.
- Gonçalves, B., Silva, A. P., Moutinho-Pereira, J. M., Bacelar, E., Rosa, E. & Meyer, A. S. 2007. Effect of ripeness and postharvest storage on the evolution of colour and anthocyanins in cherries (*Prunus avium* L.). *Food Chemistry*, 103(3): 976-984.
- Howard, L. R., Clark, J. R. & Brownmiller, C. 2003. Antioxidant capacity and phenolic content in blueberries as affected by genotype and growing season. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(12): 1238 - 1247.
- Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E. & Vivanco, J. M. 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian Ocimum accessions. *Food Chemistry*, 83(4): 547-550.
- Kader, F., Rovel, B., Girardin, M. & Metche, M. 1994. Composition du fruit du bluet (*Vaccinium corymbosum* L.) cultivé dans la region des Vosges. *Sciences des aliments*, 14(3): 281-290.
- Kader, F., Rovel, B., Girardin, M. & Metche, M. 1996. Fractionation and identification of the phenolic compounds of Highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *Food Chemistry*, 55(1): 35-40.
- Kampuse, S., Šnē, E., Šterne, D. & Krasnova, I. 2009. Chemical composition of highbush blueberry cultivars. *Agonomijas Vēstis*(12): 53-59.
- Lamuela-Raventós, R. M. & Waterhouse, A. L. 1994. A Direct HPLC Separation of Wine Phenolics. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45(1): 1-5.
- Lohachoompol, V., Mulholland, M., Srzednicki, G. & Craske, J. 2008. Determination of anthocyanins in various cultivars of highbush and rabbiteye blueberries. *Food Chemistry*, 111(1): 249-254.
- Mikulic-Petkovsek, M., Schmitzer, V., Slatnar, A., Stampar, F. & Veberic, R. 2012. Composition of Sugars, Organic Acids, and Total Phenolics in 25 Wild or Cultivated Berry Species. *Journal of Food Science*, 77(10): C1064-C1070.

- Moura, G. C. d. 2013. Aspectos de manejo e cultivares de mirtilo: qualidade e produtividade. Doutorado em Agronomia, Universidade federal de Pelotas, Pelotas.
- Mozě, Š., Polak, T., Gašperlin, L., Koron, D., Vanzo, A., Poklar Ulrih, N. & Abram, V. 2011. Phenolics in Slovenian Bilberries (*Vaccinium myrtillus* L.) and Blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59(13): 6998-7004.
- Phillips, M., Case, R., Rimmer, C., Sander, L., Sharpless, K., Wise, S. & Yen, J. 2010. Determination of organic acids in *Vaccinium* berry standard reference materials. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 398(1): 425-434.
- Sellappan, S., Akoh, C. C. & Krewer, G. 2002. Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Georgia-Grown Blueberries and Blackberries. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(8): 2432-2438.
- Skrede, G., Wrolstad, R. E. & Durst, R. W. 2000. Changes in Anthocyanins and Polyphenolics During Juice Processing of Highbush Blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). Journal of Food Science, 65(2): 357-364.
- Sousa, M. B., Curado, T., Negrão e Vasconcellos, F. & Trigo, M. J. 2007. Mirtilo: Qualidade Pós-Colheita. Edição no âmbito do Projeto PO AGRO DE&D Nº 556. Folhas de divulgação AGRO 556 nº 8. MADRP, Lisboa, Novembro.
- Talcott, S. T. 2007. Chemical components of berry fruits. p.51-72 In Y. Zhao (ed.), Berry fruit: Value-added products for health promotion, CRC Press Taylor & Francis Group, pp. 51-72.
- Viljakainen, S., Visti, A. & Laakso, S. 2002. Concentrations of organic acids and soluble sugars in juices from Nordic berries. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Plant Soil Science, 52(2): 101-109.
- Wang, S. Y., Camp, M. J. & Ehlenfeldt, M. K. 2012. Antioxidant capacity and α -glucosidase inhibitory activity in peel and flesh of blueberry (*Vaccinium* spp.) cultivars. Food Chemistry, 132(4): 1759-1768.
- Wang, S. Y. & Chen, C.-T. 2010. Effect of allyl isothiocyanate on antioxidant enzyme activities, flavonoids and post-harvest fruit quality of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L., cv. Duke). Food Chemistry, 122(4): 1153-1158.

Quadro 1 - Concentração (mg.g⁻¹ PS - peso seco) de açúcares livres e ácidos orgânicos nas quatro cultivares de *Vaccinium* sp. em 2011 (n=6). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as cultivares ($P < 0,05$).

Cultivar	Açúcares livres					Ácidos orgânicos		
	frutose	galactose	glucose	sacarose	açúcares totais	cítrico	málico	Quínico
Camelia	152,71	61,27	64,70	2,81 ^a	281,49	45,02 ^a	0,22 ^a	8,27 ^a
Duke	147,58	49,96	57,77	2,83 ^a	258,14	57,29 ^b	0,88 ^b	17,61 ^c
Legacy	146,34	57,74	53,08	2,79 ^a	259,95	47,54 ^{ab}	0,50 ^{ab}	11,97 ^b
Palmetto	132,86	56,93	53,48	5,31 ^b	248,57	40,83 ^a	0,38 ^a	11,35 ^b
Valor de P	0,449	0,127	0,481	0,022	0,493	0,003	0,007	< 0,001

Quadro 2 - Concentração (mg.g⁻¹ PS - peso seco) de fenóis individuais: ácido clorogénico (AClo), ácido cafeíco (ACa), cianidina-3-arabinósido (Cia-3-a), cianidina-3-glucósido (Cia-3-glu), delphinidina-3-arabinósido (Del-3-a), malvidina-3-galactósido (Mal-3-gal), peonidina-3-galactósido (Peo-3-gal), peonidina-3-glucósido (Peo-3-glu), petunidina-3-arabinósido (Pet-3-a), petunidina-3-galactósido (Pet-3-gal), petunidina-3-glucósido (Pet-3-glu) e rutina (R), nas quatro cultivares de *Vaccinium* sp. em 2011 (n=6). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre cultivares ($P < 0,05$).

Cultivar	AClo	ACa	Cia-3-a	Cia-3-glu	Del-3-a	Mal-3-gal	Peo-3-gal	Peo-3-glu	Pet-3-a	Pet-3-gal	Pet-3-glu	R
Camelia	87,78 ^a	33,53 ^b	10,75 ^b	50,09	26,05 ^b	1,52 ^b	112,98 ^a	102,67 ^c	8,37 ^a	8,35 ^a	2,25 ^a	7,55 ^a
Duke	140,67 ^b	0,0 ^a	0,96 ^a	66,20	2,77 ^a	0,003 ^a	174,86 ^{ab}	8,41 ^a	14,5 ^{ab}	13,47 ^{ab}	3,37 ^{ab}	43,43 ^b
Legacy	137,98 ^b	33,25 ^b	1,44 ^a	77,12	3,85 ^a	0,005 ^a	186,37 ^{ab}	12,62 ^a	15,85 ^b	16,36 ^b	3,29 ^{ab}	44,59 ^b
Palmetto	134,62 ^b	0,0 ^a	0,87 ^a	60,20	2,47 ^a	0,05 ^a	223,86 ^b	44,27 ^b	15,87 ^b	10,86 ^{ab}	4,43 ^b	16,05 ^a
Valor de P	< 0,001	0,003	< 0,001	0,177	< 0,001	< 0,001	0,005	< 0,001	0,008	0,005	0,036	< 0,001

Efeito de revestimentos edíveis à base de alginato na conservação de framboesas

A. Guerreiro¹, C. Gago¹, M.L. Faleiro², G. Miguel¹ & M.D. Antunes¹

¹Universidade do Algarve, Faculdade de Ciências e Tecnologia, IBB-CBV, Edf. 8, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal

²Universidade do Algarve, Faculdade de Ciências e Tecnologia, IBB-CBME, Edf. 8, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal

Resumo

As películas edíveis à base de polissacarídeos são utilizadas para aumentar o tempo de conservação e preservar a qualidade das framboesas podendo incorporar compostos antioxidantes e/ou antimicrobianos para melhorar a sua eficácia. O objetivo deste estudo foi testar a eficácia de um constituinte de óleos essenciais (eugenol) e do mel de medronheiro, incorporados numa película edível à base de alginato, na preservação da qualidade e prolongamento da capacidade de armazenamento de framboesas. No presente trabalho foram utilizadas películas edíveis à base de alginato a 1 e 2% onde foi incorporado o componente de óleos essenciais eugenol ou mel de medronheiro, nas concentrações de 0,1 e 5%, respetivamente. As framboesas foram mergulhadas nestas soluções durante 2 minutos, e em seguida armazenadas a 0,5 °C. Após 0, 7 e 14 dias, foram realizadas as análises físico-químicas [cor (CIE L*, h°), firmeza e °Brix], evolução microbiana e painel de provadores. Da análise dos resultados concluiu-se que as duas películas que melhor preservaram as características sensoriais e nutricionais das framboesas, ao longo do tempo de conservação, foram Alginato 2%+ Eugenol 0,1% e Alginato 2%.

Palavras-chave: Pós-colheita, qualidade, mel de medronheiro, eugenol, armazenamento

Abstract

The effect of edible coatings based on alginate on the storage life of raspberry The edible coatings based in polysaccharides are used to increase the shelf life and preserve the quality of raspberry and may incorporate antioxidants and/or antimicrobial agents to improve their effectiveness. The aim of this study was to test the effectiveness of a constituent of essential oils (eugenol) and strawberry tree honey, incorporated in an alginate-based edible coating in preserving the quality and extending the storage capacity of raspberries. In the present work were used edible coatings based on alginate 1 and 2%, with the incorporation of the essential oil eugenol, or strawberry tree honey at concentrations of 0.1 and 5%, respectively. The raspberries were dipped in these solutions for 2 minutes and then stored at 0.5 °C. After 0, 7 and 14 days, the physical-chemical analysis [color (CIE L*, h°), firmness and Brix], microbial evolution and taste panel were performed. Analyses of the results indicated that the two edible coatings that best preserved sensory and nutritional characteristics of raspberries along the shelf, were alginate 2%+0.1% eugenol and alginate 2%.

Key-words: Post-Harvest, quality, strawberry tree honey, eugenol, storage.

Introdução

O consumo de frutos frescos tem vindo a aumentar nos últimos anos devido à maior consciência dos consumidores para uma alimentação saudável. No entanto, estes produtos são altamente perecíveis, e as perdas podem ser de grande dimensão se não se aplicarem as técnicas corretas de pós-colheita.

As framboesas (*Rubus idaeus* L.) são de grande importância econômica e amplamente consumidas em fresco, congeladas ou em formas processadas, tais como geleias, compotas e sumos (Rao & Snyder, 2010). Para o consumo em fresco, as framboesas são colhidas quando estão com uma cor vermelho brilhante e podem ser armazenadas a 0-2 °C durante apenas alguns dias (Wang & Millner, 2009). Temperaturas baixas combinadas com outros fatores como as coberturas edíveis têm por objetivo reduzir os processos metabólicos, atrasando a senescência (Soliva-Fortuny & Martín-Belloso, 2003).

As coberturas edíveis compostas por polissacarídeos são apropriadas para aumentar a vida útil dos pequenos frutos, preservando a sua qualidade (González-Molina et al., 2008). Alguns óleos essenciais e seus componentes provaram ter um efeito antimicrobiano contra os agentes patogênicos de origem alimentar e são geralmente reconhecidos como seguros (GRAS) (Hammer et al., 1999; Antunes & Cavaco 2010; Miguel, 2010).

O objetivo deste estudo foi testar o efeito do constituinte de óleos essenciais eugenol, e mel de medronheiro usados como aditivos a coberturas edíveis à base de alginato a 1 e 2% na preservação da qualidade nutritiva e geral e na segurança alimentar da framboesa.

Materiais e Métodos

Material vegetal e preparação das amostras

Neste estudo foram utilizadas amostras homogêneas de framboesas (*Rubus idaeus* L.), sendo os frutos mergulhados nas seguintes soluções: alginato 1%, alginato 1% com mel de medronheiro 5%, alginato 1% com eugenol 0,1%, alginato 2%, alginato 2% com mel de medronheiro 5% e alginato 2% com eugenol 0,1%. Frutos do controlo não sofreram qualquer tratamento. Em seguida os frutos foram colocados em caixas de polietileno perfuradas e armazenados numa câmara de refrigeração a 0,5°C. Ao fim de 0, 7 e 14 dias, as caixas foram retiradas das câmaras de frio, e foram determinadas as características físico-químicas dos frutos, a evolução microbiana e um painel de provadores.

Cor, Firmeza e °Brix

A coloração das framboesas foi medida através de um colorímetro Minolta Meter CR-300 (CE Minolta, Japão), utilizando a escala CIELab (L* e h°).

A firmeza do fruto foi determinada através de um penetrómetro Chatillon TCD200 e Digital Force Gauge DFIS 50, (Jonh Chatillon & Sons, Inc.U.S.A.), recorrendo a um êmbolo cilíndrico de 8 mm de diâmetro a uma profundidade de 7 mm, sendo os resultados expressos em Newton (N).

Para a determinação do °Brix (%) recorreu-se à utilização do refractómetro digital PR1 ATAGO Co LTD (Japão), tendo a determinação sido feita no sumo da framboesa.

Carga Microbiana

Na aplicação da metodologia a seguir descrita, utilizou-se a referência normativa (NP-3788:2002 2013).

Foram analisados os microrganismos aeróbios totais (bactérias mesófilas e psicrófilas) em que o inóculo foi duplicado e colocado por incorporação em meio PCA (Plante Count Agar) (Biokar Diagnostics). No caso dos microrganismos psicrófilos as placas foram incubadas a 6 °C durante 72 horas e dos microrganismos mesófilos foram incubados a 30 °C durante 24 horas.

Para a análise de fungos e leveduras, o inóculo duplicado foi incorporado em meio Dicloran Rose Bengale Cloranfenicol (Biokar Diagnostics) e incubado a 30 °C durante 120 horas.

As análises microbiológicas foram expressas em unidades formadoras de colónias por grama (UFC/g).

Painel de Provadores

O painel de provadores foi formado por um grupo de 15 pessoas semi-treinadas, em que foram avaliados vários parâmetros, tais como aparência, textura, aroma, acidez, doçura e sabor, sendo que cada parâmetro poderia obter uma classificação de 1-Mau a 7-Excelente.

Resultados

Cor (L e °hue)*

No caso da luminosidade (L*), o valor do L* sofreu uma ligeira diminuição ao longo do tempo, sendo o alginato 2%+mel 5% o tratamento onde esta diminuição foi mais acentuada a partir dos 7 dias e também o tratamento alginato 2% aos 14 dias de armazenamento (Fig. 1). Esta diminuição do valor de L* pode ser explicada devido ao facto de alguns compostos presentes nos frutos, tais como os anidracídicos e os compostos fenólicos, estarem relacionados com o escurecimento enzimático e com a redução dos valores de L* da escala de cores CIELab, visto os compostos fenólicos serem oxidados em quinonas altamente instáveis, as quais são posteriormente polimerizadas em pigmentos castanhos, vermelhos e pretos (Oliveira, 2009). No entanto, esta diminuição foi baixa não afetando o aspeto exterior do fruto.

No presente estudo o valor de hue (h°) sofreu uma pequena diminuição nos primeiros 7 dias em alguns tratamentos (Fig. 1). No entanto, ao fim de 14 dias de armazenamento, os valores eram semelhantes em todos os tratamentos mantendo-se na escala da cor vermelha.

Krüger et al. (2011) verificaram, em framboesas, que os valores da cor sofreram uma ligeira diminuição nos primeiros 3 dias de conservação a 20°C. Por outro lado, Robbins & Moore (1990) detectaram um aumento na cor a 20°C por comparação com as temperaturas de armazenamento de 0 ou 4,5°C. Haffner et al. (2002), contrariamente, obtiveram resultados que mostram que o fruto vai escurecendo quando armazenado a 1,7°C. Han et al. (2004) verificaram que o valor de °hue sofreu uma ligeira diminuição, tal como se verificou no nosso estudo.

Firmeza e °Brix

Segundo os resultados obtidos, para a firmeza verificou-se que os valores diminuíram ligeiramente durante os 14 dias de armazenamento sem diferenças significativas entre tratamentos (Fig. 3). Por comparação com os estudos de Giovanelli et al. (2014) e de Han et al. (2004), verifica-se que o nosso valor inicial é menor e tem uma descida menos acentuada. Já Tezotto-Uliana et al. (2014) obtiveram resultados semelhantes aos observados no presente estudo.

Em relação ao °Brix, os valores mantiveram-se estáveis em todos os tratamentos ao longo do tempo de armazenamento, exceto o alginato 2%+eugenol 0,1% que aumentou aos 14 dias de armazenamento. Neste caso seria de esperar que os frutos com películas formuladas com mel obtivessem valores mais elevados de °Brix, no entanto, tal não se verificou, mostrando que a quantidade de mel aplicada não afetou as características organoléticas do fruto. No caso de Hassanpour (2014), os valores de °Brix diminuíram durante 8 dias de armazenamento, mas frutos com tratamentos apresentavam valores superiores.

Carga Microbiana

A determinação da carga microbiana é uma das análises mais importantes, quando falamos de frutos frescos para consumo.

No caso dos fungos e leveduras verificou-se que aos 7 dias de armazenamento o alginato 2%, alginato 2%+mel 5% e alginato 2%+eugenol 0,1% não apresentaram crescimento microbiano, mantendo-se esta tendência no alginato 2% aos 14 dias (Fig. 3). Aos 14 dias, além do alginato 2%, foram os tratamentos alginato 1% e alginato 1%+mel 5% que não apresentaram crescimento de fungos e leveduras. Os outros tratamentos apresentavam valores baixos, semelhantes aos iniciais.

No caso dos microrganismos aeróbios mesófilos verificou-se que o eugenol tem um papel importante no controlo do crescimento destes microrganismos, apresentando estes tratamentos um melhor controlo destas bactérias juntamente com o alginato 2% (Fig. 3). Os tratamentos com alginato 1% e controlo mantiveram os valores ao longo do tempo, apresentando os tratamentos com mel valores mais elevados após 7 dias de armazenamento. Após 14 dias, o tratamento alginato 1%+mel 5% apresentava valores iguais aos iniciais e o alginato 2%+mel 5% não mostrou crescimento destes microrganismos.

Foram também analisados os microrganismos psicotróficos, mas não se verificou crescimento dos mesmos ao longo do tempo de armazenamento.

Neste ensaio confirmou-se o efeito benéfico do eugenol na redução do crescimento microbiano. No caso do mel parece que demora mais tempo a atuar verificando-se o seu efeito benéfico mais tarde, neste caso aos 14 dias. De um modo geral, no crescimento microbiano observou-se que os valores obtidos são muito baixos, garantindo a segurança alimentar das framboesas nas condições deste ensaio (Jacxsens et al., 2003).

Painel de Provadores

O painel de provadores foi um dos parâmetros mais importantes neste estudo, pois a utilização de películas edíveis pode alterar as características organoléticas do produto, sendo este depois rejeitado pelo consumidor. Foi feita a avaliação da aparência, aroma, textura, doçura, acidez e sabor, numa escala de 1-mau a 7-excelente. Aos 14 dias apenas se avaliou a aparência do fruto por limitação de quantidade do produto para análise. Ao final dos 7 dias de armazenamento, os tratamentos com 2% de alginato apresentavam melhor aparência que os de 1% (Tabela 1). Também é de referir que, apesar de ligeira diferença, os tratamentos com mel tinham melhor aparência do que frutos tratados com eugenol. Na generalidade dos parâmetros avaliados no painel de provadores foram os tratamentos alginato 2%+eugenol 0,1% e alginato 1%+mel 5% que apresentaram ligeiramente melhores valores, apesar de não haver diferenças significativas entre os tratamentos.

Por outro lado, aos 14 dias todos os tratamentos apresentavam valores de aparência inferiores ao valor médio (4) indicando que 14 dias de armazenamento era muito nas condições deste ensaio, estando os frutos já em senescência, sendo rejeitados pelos consumidores.

Conclusões

No presente estudo, podemos concluir que a conservação do fruto em fresco até aos 7 dias, não evidenciou efeitos de senescência, mantendo uma aparência e qualidade nutricional apelativas em todos os tratamentos. Tal também foi comprovado através da análise química do fruto, que de uma forma geral, ao longo do tempo de conservação, mostrou a manutenção das propriedades qualitativas.

No entanto, tendo em conta todos os parâmetros qualitativos avaliados concluiu-se que as duas películas que melhor preservaram as características sensoriais e nutricionais das framboesas, ao longo do tempo de conservação, foram alginato 2%+eugenol 0,1% e Alginato 2%.

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia através do projeto PTDC/AGR-ALI/121085/2010 - INNCOAT- Inovação em filmes edíveis para melhorar a conservação de pequenos frutos e frutos minimamente processados.

Referencias

Antunes, M. D. C., and A. M. Cavaco. 2010. The Use of Essential Oils for Postharvest Decay Control. A Review. *Flavour and Fragrance Journal* 25 (5): 351–366.

- Giovanelli, G., S. Limbo, and S. Buratti. 2014. Effects of New Packaging Solutions on Physico-Chemical, Nutritional and Aromatic Characteristics of Red Raspberries (*Rubus Idaeus* L.) in Postharvest Storage. *Postharvest Biology and Technology* 98: 72–81.
- González-Molina, E., D. Moreno, and C. García-Viguera. 2008. Aronia-Enriched Lemon Juice: A New Highly Antioxidant Beverage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56 (23): 11327–33.
- Haffner, K., H.J. Rosenfeld, G. Skrede and L. Wang. 2002. Quality of Red Raspberry *Rubus Idaeus* L. Cultivars after Storage in Controlled and Normal Atmospheres. *Postharvest Biology and Technology* 24: 279–289.
- Hammer, K. A., C. F. Carson, and T. V. Riley. 1999. Antimicrobial Activity of Essential Oils and Other Plant Extracts. *Journal of Applied Microbiology* 86 (6): 985–90.
- Han, C., Y. Zhao, S.W. Leonard, and M.G. Traber. 2004. Edible Coatings to Improve Storability and Enhance Nutritional Value of Fresh and Frozen Strawberries (*Fragaria* × *Ananassa*) and Raspberries (*Rubus ideoaus*). *Postharvest Biology and Technology* 33 (1): 67–78.
- Hassanpour, H. 2014. Effect of Aloe Vera Gel Coating on Antioxidant Capacity, Antioxidant Enzyme Activities and Decay in Raspberry Fruit. *LWT - Food Science and Technology* 1–7.
- Jacxsens L., Devlieghere F., Ragaert P., Vanneste E., Debevere J. R. 2003. Relation between microbiological quality, metabolite production and sensory quality of equilibrium modified atmosphere packaged fresh-cut produce. *International Journal of Food Microbiology* 83: 263-280.
- Krüger, E., H. Dietrich, E. Schöpplein, S. Rasim, and P. Kürbel. 2011. Cultivar, Storage Conditions and Ripening Effects on Physical and Chemical Qualities of Red Raspberry Fruit. *Postharvest Biology and Technology* 60 (1): 31–37.
- Miguel, M.G. 2010. Antioxidant Activity of Medicinal and Aromatic Plants. A Review. *Flavour and Fragrance Journal* 25: 291–312.
- NP-3788:2002. 2013. *Microbiologia Alimentar. Regras Gerais Para a Contagem de Microrganismos a 30 °C*. (IPQ, Portugal.).
- Rao, A. V. and D. M. Snyder. 2010. Raspberries and Human Health: A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58 (7): 3871–83.
- Re, R., N. Pellegrini, and A. Proteggente. 1999. Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology & Medicine* 26 (98): 1231–1237.
- Robbins, J.A., Moore, P.P. 1990. “Color Changes in Fresh Red Raspberry Fruit Stored at 0, 4.5 or 20°C. *HortScience* 25: 1623–1.
- Soliva-Fortuny, R. C., and O. Martín-Belloso. 2003. New Advances in Extending the Shelf-Life of Fresh-Cut Fruits: A Review. *Trends in Food Science & Technology* 14 (9): 341–353.
- Tezotto-Uliana, J. V., G. P. Fargoni, G. M. Geerdink and R. A. Kluge. 2014. Chitosan Applications Pre- or Postharvest Prolong Raspberry Shelf-Life Quality. *Postharvest Biology and Technology* 91: 72–77.
- Wang, S. Y., and P. Millner. 2009. Effect of Different Cultural Systems on Antioxidant Capacity, Phenolic Content, and Fruit Quality of Strawberries (*Fragaria* X *Ananassa* Duch.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57 (20): 9651–7.

Quadros e figuras

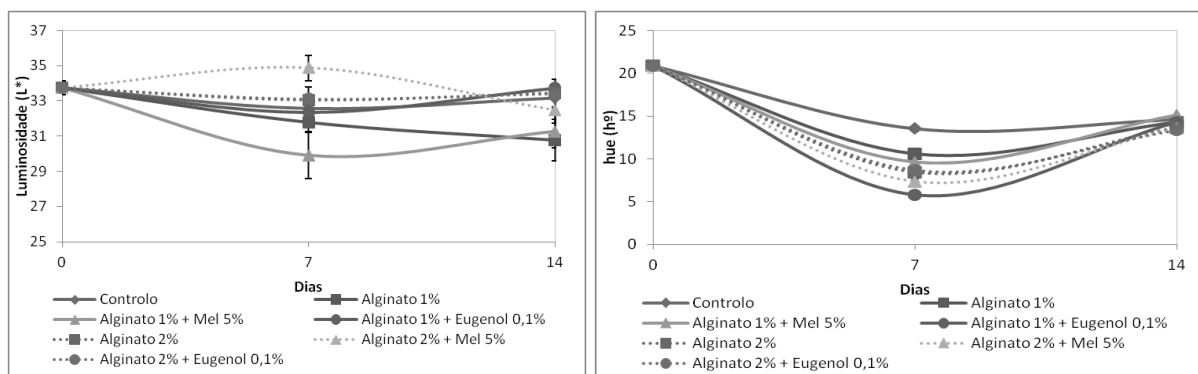


Figura 1 - Luminosidade (L^*) e ângulo Hue (h°) registados em framboesas durante 14 dias de armazenamento a 0,5 °C. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

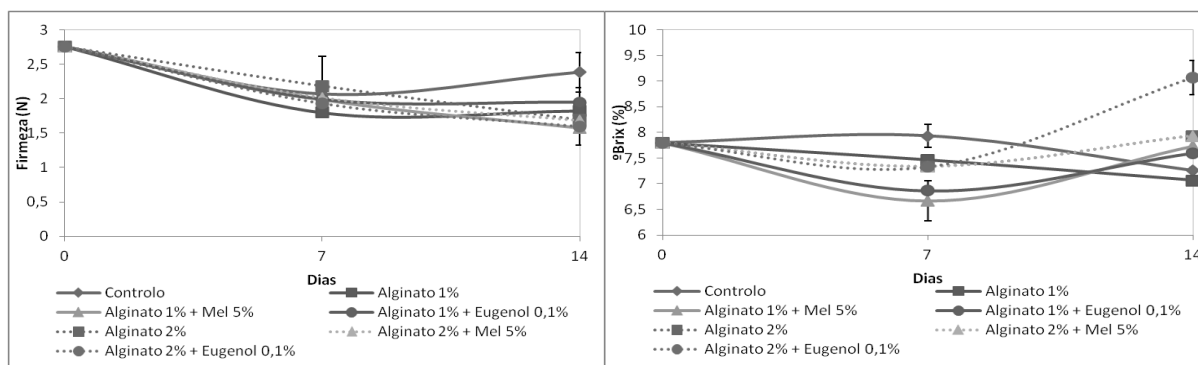


Figura 2 - Firmeza (N) e °Brix (%) registados em framboesas durante 14 dias de armazenamento a 0,5 °C. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

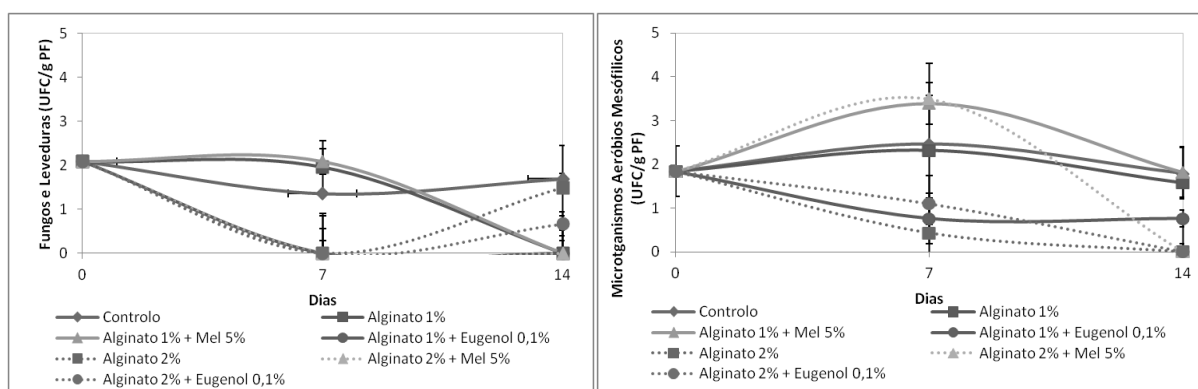


Figura 3 - Fungos e leveduras (UFC/g) e microrganismos aeróbios mesófilos (UFC/g) registados em framboesas durante 14 dias de armazenamento a 0,5 °C. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

Tabela 1 - Paineis de provadores efetuados em framboesas durante 14 dias de armazenamento a 0,5 °C. Os valores representam a média ± erro padrão de 15 repetições.

Tratamentos	Dias	Aparência	Aroma	Textura	Doçura	Acidez	Sabor
Controlo	0	6,1	6,0	5,9	5,9	5,7	6,0
	7	5,8	4,5	5,4	4,4	4,3	4,5
	14	3	-	-	-	-	-
Alginato 1%	0	6,1	6,0	5,9	5,9	5,7	6,0
	7	5,5	4,5	5,3	4,5	4,4	4,75
	14	2	-	-	-	-	-
Alginato 1% + Mel 5%	0	6,1	6,0	5,9	5,9	5,7	6,0
	7	5,4	4,6	5,6	5,3	4,8	5,3
	14	1,8	-	-	-	-	-
Alginato 1% + Eugenol 0,1%	0	6,1	6,0	5,9	5,9	5,7	6,0
	7	4,6	4,5	5,6	5	4,9	5,1
	14	1,5	-	-	-	-	-
Alginato 2%	0	6,1	6,0	5,9	5,9	5,7	6,0
	7	5,3	4,8	4,9	4,5	4,6	4,5
	14	1	-	-	-	-	-
Alginato 2% + Mel 5%	0	6,1	6,0	5,9	5,9	5,7	6,0
	7	5,8	4,8	5,5	4,8	4,6	4,9
	14	1,3	-	-	-	-	-
Alginato 2% + Eugenol 0,1%	0	6,1	6,0	5,9	5,9	5,7	6,0
	7	5,3	4,6	5,6	5,3	5	5,1
	14	3	-	-	-	-	-

Incremento do tempo de conservação de medronhos para consumo em fresco com utilização de películas edíveis

A. Guerreiro¹, C. Gago¹, M.L. Faleiro², G. Miguel¹ & M.D. Antunes¹

¹Universidade do Algarve, Faculdade de Ciências e Tecnologia, IBB-CBV, Edif. 8, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal

²Universidade do Algarve, Faculdade de Ciências e Tecnologia, IBB-CBME, Edif. 8, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal

Resumo

O medronho, atualmente usado em Portugal para fabrico de aguardente, apresenta boas características para consumo em fresco como produto “gourmet”. Neste trabalho avaliaram-se as propriedades qualitativas, nutricionais e sensoriais dos frutos para consumo em fresco assim como a melhor temperatura e tempo de conservação. Também se avaliou a utilização de películas edíveis enriquecidas com constituintes de óleos essenciais (eugenol e citral) e mel de medronheiro para melhorar a preservação da qualidade dos frutos ao longo do tempo de armazenamento.

Num primeiro ensaio avaliou-se a qualidade dos frutos armazenados a 0, 3 e 6°C durante 15 dias. Após seleção da melhor temperatura de armazenamento (0 °C) fez-se um segundo ensaio onde foram testadas as seguintes películas edíveis: 1) Controlo; 2) Alginato 1%; 3) Alginato 1% + Mel de medronheiro 5%; 4) Alginato 1% + Mel de medronheiro 2,5% + Eugenol 0,1%; 5) Alginato 1% + Mel de medronheiro 2,5% + Citral 0,15%; 6) Alginato 1% + Eugenol 0,1% + Citral 0,15%. Após a aplicação das películas, os frutos foram conservados a 0 °C durante 28 dias. As análises qualitativas realizadas durante o armazenamento foram cor (CIE L * h ° C*), firmeza, °Brix, perda de peso, atividade antioxidante (TEAC)], evolução microbiana e painel de provadores. Do trabalho efetuado concluiu-se que os medronhos possuem boas características sensoriais e nutricionais para consumo em fresco como produto “gourmet”, sendo nomeadamente, ricos em antioxidantes. Estes frutos conservam-se melhor a temperaturas de 0 °C, podendo a esta temperatura ser preservados até 15 dias com boas características de comercialização. Das películas edíveis utilizadas, a que melhor preservou as características do fruto foi Alginato 1% + Eugenol 0,1% + Citral 0,15%.

Palavras-chave: Pós-colheita, alginato, citral, eugenol, mel de medronheiro.

Abstract

The arbutus fruit, currently used in Portugal for making spirits, has good characteristics for fresh consumption as gourmet product. In this study was evaluated the nutritional and sensory quality of the fruits for fresh consumption as well as the better temperature and shelf-life properties. Also, it was evaluated the use of edible coatings enriched with essential oil components (citral and eugenol) and strawberry tree honey to improve the preservation of fruit quality during the storage time.

In a first experiment the quality of fruits stored at 0, 3 and 6°C for 15 days was evaluated. After selecting the optimum storage temperature (0°C) a second experiment was done in which the following edible films were tested: 1) Control; 2) Alginate 1%; 3) Alginate 1% + strawberry tree honey 5%; 4) Alginate 1% + strawberry tree honey 2,5% + Eugenol 0,1%; 5) Alginate 1% + strawberry tree honey 2,5% + Citral 0,15%; 6) Alginate 1% + Eugenol 0,1% + Citral 0,15%. After application of the coatings fruits were stored at 0 °C for 28 days. The physico-chemical analysis [color (CIE L*C*h°), firmness, Brix, weight loss, antioxidant activity (TEAC)], microbial evolution and taste panel were performed. From the work carried out it was concluded

that the arbutus berries have good sensory and nutritional characteristics for fresh consumption as a gourmet product being particularly high in antioxidants. These fruits are best stored at temperatures of 0°C. At this temperature fruits can be stored until 15 days with good marketing characteristics. The best edible coatings used to improve the preservation of nutritional and sensory characteristics was Alginate 1% + Eugenol 0,1% + Citral 0,15%.

Key-words: Post-harvest, alginate, citral, eugenol, strawberry tree honey.

Introdução

O medronheiro é um arbusto pertencente à família Ericacea, e ao género *Arbutus*. Encontra-se distribuída por países da orla mediterrânica, nomeadamente todo o sul da Europa, norte de África e Palestina. Pode ainda encontrar-se em países da orla atlântica, tais como Irlanda e Macaronésia (Canárias) (Celikel et al., 2008). Em Portugal existe predominantemente a sul do rio Tejo nomeadamente na região da Serra do Caldeirão e Monchique (Algarve) (Pedro, 1994), e a Norte, no Vale do Douro.

Os frutos desta planta são normalmente utilizados, em Portugal, para produção de aguardente de medronho e, em pequena quantidade, para consumo em fresco devido ao seu excelente sabor. Os medronhos são comestíveis quando estão totalmente maduros, ou seja, apresentam coloração vermelho escuro (no outono), sendo raramente ingeridos quando são imaturos. Temperaturas baixas combinadas com outros fatores como as coberturas edíveis têm por objetivo reduzir os processos metabólicos, atrasando a senescência (Soliva-Fortuny & Martín-Belloso, 2003), após a colheita.

As coberturas edíveis (EC) compostas por polissacáridos são apropriadas para aumentar a vida útil dos pequenos frutos, preservando a sua qualidade (González-Molina et al., 2008). Alguns óleos essenciais (EO) e seus componentes (EOC) provaram ter um efeito antimicrobiano contra os agentes patogénicos de origem alimentar e são geralmente reconhecidos como seguros (GRAS) (Hammer et al., 1999; Antunes & Cavaco, 2010; Miguel 2010).

Deste modo, os objetivos do presente estudo foram: otimizar a temperatura de conservação dos frutos para consumo em fresco e testar o efeito dos EOC eugenol e citral, e mel de medronheiro usados como aditivos a uma EC à base de alginato na preservação da qualidade e da segurança alimentar do medronho.

Materiais e Métodos

Material vegetal e preparação das amostras

Em ambos os ensaios foram utilizadas amostras homogéneas de medronhos (*Arbutus unedo* L.) provenientes de arbustos da Serra do Caldeirão, freguesia de Alte, e em que o estado de maturação foi definido pela coloração e pela firmeza apresentadas, à colheita.

Para o primeiro ensaio, a colheita realizou-se em meados de Outubro. Seguidamente, os frutos foram armazenados em cuvetes de poliestireno expandido (21,5cm x 13,5cm) cobertas por dois tipos de película, uma de polietileno linear de baixa densidade com 10 µm (PPL) de espessura e uma película de polietileno perfurada (PP) com 10 mm de diâmetro distanciadas 50mm, e cada cuvette continha 15 frutos. Por fim, as cuvetes foram armazenadas em câmaras de refrigeração a 0°C, 3°C e 6°C. Ao fim de 0, 4, 10 e 15 dias, as cuvetes foram retiradas das câmaras de frio e foram determinadas as características físico-químicas dos frutos.

Para o segundo ensaio, a colheita realizou-se em meados de Novembro e os frutos foram imersos nas seguintes soluções: 1) Controlo (Cont); 2) Alginato 1% (Al 1%); 3) Alginato 1% + Mel de medronheiro 5% (Al 1% + Mel 5%); 4) Alginato 1% + Mel de medronheiro 2,5% + Eugenol 0,1% (Al 1% + Mel 2,5% + Eug 0,1%); 5) Alginato 1% + Mel de medronheiro 2,5% + Citral 0,15% (Al 1% + Mel 2,5% + Cit 0,15%); 6) Alginato 1% + Eugenol 0,1% + Citral

0,15% ; (Al 1% + Eug 0,1% + Cit 0,15%). Em seguida os frutos foram colocados em caixas e armazenados em câmaras de refrigeração a 0,5°C. Ao fim de 0, 14 e 28 dias, as caixas foram retiradas das câmaras de frio, e foram determinadas as características físico-químicas dos frutos, análises microbiológicas e painel de provadores.

Cor, firmeza, °Brix e perda de peso

A coloração dos medronhos foi medida através de colorímetro Minolta Meter CR-300 (CE Minolta, Japão), utilizando a escala CIELab ($L^*a^*b^*$), posteriormente convertida em coordenadas angulares ($L^*C^*h^\circ$).

A firmeza do fruto foi determinada através de penetrómetro Chatillon TCD200 e Digital Force Gauge DFIS 50, (Jonh Chatillon & Sons, Inc.U.S.A.), utilizando êmbolo cilíndrico de 4 mm de diâmetro à profundidade de 7 mm. A firmeza foi determinada apenas de um lado do fruto e os resultados foram expressos em Newton (N).

Para a determinação do °Brix foi utilizado refratómetro digital PR1 ATAGO Co LTD (Japão), sendo a determinação feita no sumo do medronho.

A perda de massa foi registada ao longo do tempo (0, 7 e 14 dias) em amostras de 8 frutos, e reflete a percentagem de água perdida após a colheita.

Atividade antioxidante (TEAC)

A atividade antioxidante foi determinada a partir de sumo do fruto, com uma quantidade conhecida, aplicando-se o método adaptado de Re et al. (1999), quantificando a capacidade antioxidante em equivalentes de Trolox (TEAC).

Carga Microbiana

A carga microbiana foi avaliada só no ensaio com películas edíveis. Na aplicação da metodologia a seguir descrita, utilizou-se a referência normativa (NP-3788:2002). Foram analisados os microrganismos aeróbios totais (bactérias mesófilas e psicrófilas) e fungos e leveduras, tendo o inóculo sido duplicado e colocado por incorporação em meio PCA (Plante Count Agar) (Biokar Diagnostics). No caso dos microrganismos psicrófilos, as placas foram incubadas a 6 °C durante 72 horas; os microrganismos mesófilos foram incubados a 30 °C durante 24 horas. Para determinar a presença de fungos e leveduras houve inoculação em meio Dicloran Rose Bengale Cloranfenicol (Biokar Diagnostics) e incubação a 30 °C durante 120 horas.

As análises microbiológicas foram expressas em unidades formadoras de colónias por grama (UFC/g).

Painel de Provadores

O painel de provadores foi formado por um grupo de 15 pessoas semi-treinadas, que avaliou os parâmetros aparência, textura, aroma, acidez, doçura e sabor, numa escala de 1-Mau a 7-Excelente. O painel de provadores analisou frutos apenas do 2º ensaio.

Resultados e discussão

Cor (L^ e $^{\circ}hue$)*

No primeiro ensaio, os valores de luminosidade (L^*) diminuíram ao longo do tempo (Fig.1A). À temperatura de 0 °C, a diminuição foi menor do que às restantes temperaturas, em que os valores de L^* não apresentaram diferenças significativas entre si. No segundo ensaio, o valor de luminosidade (L^*) sofreu ligeira diminuição, no entanto, ao fim de 28 dias, o Alginato 1% + Eugenol 0,1% + Citral 0,15% teve valores ligeiramente superiores aos outros tratamentos e semelhantes ao início do ensaio (Fig.3A). Esta diminuição de L^* pode ser explicada devido ao facto de alguns compostos presentes nos frutos, tais como aminoácidos e compostos fenólicos, estarem relacionados com o escurecimento enzimático e com a redução dos valores de L^* , visto os compostos fenólicos serem oxidados em quinonas altamente instáveis, as quais são

posteriormente polimerizadas em pigmentos castanhos, vermelhos e pretos (Oliveira, 2009). No entanto, esta diminuição não afetou o aspeto exterior do fruto. Alarcão-e-Silva et al. (2001) verificaram que os valores de L^* vão diminuindo à medida que o medronho fica maduro, obtendo valores médios na ordem de 59,82 para frutos maduros.

Tanto no primeiro como no segundo ensaio, o valor de hue (h°) sofreu ligeira diminuição ao longo do tempo de conservação do medronho (Fig.1B e 3B), mantendo-se a cor amarelo-laranja com ligeiro aumento para laranja com o tempo. Segundo Alarcão-e-Silva et al. (2001), os valores de $^\circ$ hue para o medronho foram de 63,80, correspondendo a frutos mais amarelos que os do presente estudo.

Firmeza

A perda de firmeza, um dos parâmetros mais importantes na qualidade da fruta em pós-colheita, é geralmente causada pela degradação da pectina da parede da célula. Segundo os resultados obtidos no primeiro ensaio, houve diminuição da firmeza principalmente nos primeiros 5 dias, sendo que o tratamento 0 °C PP manteve melhor a firmeza até 10 dias (Fig. 1C).

No ensaio com películas edíveis, os valores da firmeza diminuíram nos primeiros 14 dias, exceto no alginato 1%+ Mel de medronheiro, no entanto, ao fim de 28 dias de armazenamento todos os tratamentos apresentaram valores semelhantes de firmeza, exceto alginato 1% e Alginato 1% + Mel de medronheiro 2,5% + Citral 0,15% com valores ligeiramente superiores (Fig.3C).

A firmeza à colheita foi de ~5,2N, o que está de acordo com os estudos de Guerreiro et al. (2013) e Guerreiro et al. (2014). De acordo com (Oms-Oliu et al., 2008), a firmeza de melão minimamente processado foi melhor conservada com a utilização de películas edíveis. Tal como esperado, no presente estudo, os valores da firmeza diminuíram ao longo do tempo de armazenamento, porém verificou-se que o uso de películas edíveis atenuou a perda de firmeza.

°Brix

No primeiro ensaio, verificou-se um ligeiro aumento de $^\circ$ Brix após 3 dias de armazenamento, mantendo-se depois constante até final do ensaio, sugerindo um ligeiro amadurecimento após a colheita (Fig. 1D). A 0°C, os valores de $^\circ$ Brix eram em média mais baixos, indicando a importância desta temperatura no retardamento do amadurecimento e senescência.

No segundo ensaio, os valores de $^\circ$ Brix (Fig.3D) mantiveram-se estáveis ao longo do tempo. Neste caso seria de esperar que os frutos com películas formuladas com mel obtivessem valores mais elevados de $^\circ$ Brix. No entanto, tal não se verificou, mostrando que a quantidade de mel aplicada não afetou as características organoléticas do fruto. Cavaco (2006), Guerreiro et al. (2013) e Guerreiro et al. (2014) obtiveram valores na ordem de 23,5 $^\circ$ Brix para o medronho, semelhantes aos do presente ensaio.

Perda de peso

No primeiro ensaio foi possível verificar que os frutos vão perdendo peso ao longo do tempo, sendo que, quanto maior a temperatura de armazenamento maior é a perda de peso, com diferenças significativas de 3 para 6°C (Fig.2A). Também se verificou maior perda de peso nas amostras em que foi utilizada película de polietileno perfurada, mesmo nas temperaturas mais baixas. Este facto resulta de trocas gasosas diretas com o exterior, permitindo ao fruto uma maior perda de água (Guerreiro et al., 2013).

No segundo ensaio, as amostras perderam peso ao longo do tempo, sendo que esta perda foi ligeiramente superior nos frutos com películas, especialmente na que tem maior concentração de mel, é a que perdeu mais peso (Fig.4A). Han et al. (2004) utilizando quitosano, registaram menor perda de peso do que em framboesas não revestidas, confirmando o estudo

de Krüger et al. (2011). Por outro lado, Giovanelli et al. (2014) e Guerreiro et al. (2014) obtiveram resultados similares para o armazenamento de framboesas e medronhos.

Atividade antioxidante (TEAC)

À temperatura de 0°C, os valores da atividade antioxidante (TEAC) mantiveram-se ao longo do tempo, independentemente do tipo de película (Fig. 2B). Às temperaturas de 3 e 6°C observou-se diminuição significativa da atividade antioxidante nos primeiros 3 dias de armazenamento, mas em seguida estes valores mantiveram-se.

No ensaio com películas edíveis, verificou-se diminuição dos valores de TEAC ao longo do tempo, em particular no controlo, alginato 1% e alginato 1% + mel de medronheiro 5% nos primeiros 14 dias (Fig. 4 B). No entanto, após 28 dias, os valores eram semelhantes em todos os tratamentos.

Pabuçcuoğlu (2008) obteve valores de TEAC para o medronho em extrato etanólico de 2,25 mM TE/100g peso fresco. Os resultados obtidos no presente trabalho são superiores aos referidos por aquele autor, mas concordantes com trabalhos de Guerreiro et al. (2013) e Guerreiro et al. (2014). De acordo com o estudo de Robles-Sánchez et al. (2013), a atividade antioxidante em manga cortada é superior em frutos com películas edíveis do que no controlo.

Carga microbiana

Aos 14 dias de armazenamento, o tratamento com alginato 1% + Eugenol 0,1% + citral 0,15% apresentou menos UFC de fungos e leveduras (Fig.4 C). No entanto, aos 28 dias, nenhum tratamento apresentava aumento de fungos e leveduras, com exceção do alginato 1% + eugenol 0,1% + citral 0,15%, que manteve valores semelhantes aos iniciais.

No caso dos microorganismos aeróbios mesófilos (Fig.4 D), verificámos que os valores se mantiveram ao longo do tempo, à exceção do alginato 1% + mel de medronheiro 5% em que não se verificou aumento do número de UFC. Foram analisados os microrganismos psicrotróficos, mas não se observou aumento ao longo do tempo de armazenamento.

É de referir que, em todos os casos, os valores da carga microbiana ficaram muito abaixo do limite permitido em segurança alimentar (Jacxsens et al., 2003).

Painel de Provadores

O painel de provadores mostrou que após 14 dias de armazenamento, todos os tratamentos apresentavam valores superiores ao valor médio 4 em todos os parâmetros exceto no controlo (Tabela 1). Ao final dos 28 dias de armazenamento, o tratamento com melhor classificação na aparência foi o alginato 1% + eugenol 0,1% + citral 0,15%.

Conclusões

No presente estudo, pode concluir-se que o medronho pode ser conservado pelo menos 15 dias entre 0 e 3 °C, mantendo aparência apelativa. Tal também foi comprovado através da análise química do fruto, ao longo do tempo de conservação, verificando-se a manutenção das propriedades qualitativas. Em relação à temperatura de conservação, verificou-se que, a 0 °C, os resultados de análises físicas e químicas foram mais estáveis ao longo do tempo, podendo concluir-se que, segundo o presente estudo, é a melhor temperatura de conservação.

Das películas edíveis utilizadas, a que melhor preservou as características nutricionais e sensoriais foi o Alginato 1% + Eugenol 0,1% + Citral 0,15%.

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia através do projeto PTDC/AGR-ALI/121085/2010 - INNCOAT- Inovação em filmes edíveis para melhorar a conservação de pequenos frutos e frutos minimamente processados.

Referências

- Alarcão-e-Silva, M., Leitão A.E.B., Azinheira, H.G. & Leitão, M.C.A. 2001. The Arbutus Berry: Studies on its color and chemical characteristics at two mature stages. *Journal of Food Compos Anal* 14:27-35.
- Antunes M.D.C. & Cavaco A.M. 2010. The use of essential oils for postharvest decay control. A review. *Flavour Fragr. J.* 25(5):351–66
- Celikel G., Demirsoy L. & Demirsoy H. 2008. The strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) selection in Turkey. *Sci. Hortic.* 118(2):115–19
- Giovanelli G., Limbo S. & Buratti S. 2014. Effects of new packaging solutions on physico-chemical, nutritional and aromatic characteristics of red raspberries (*Rubus idaeus* L.) in postharvest storage. *Postharvest Biol. Technol.* 98:72–81
- González-Molina E., Moreno D. & García-Viguera C. 2008. Aronia-enriched lemon juice: a new highly antioxidant beverage. *J. Agric. Food Chem.* 56(23):11327–33
- Guerreiro A., Gago C., Faleiro M.L., Miguel M. & Antunes M. 2014. The effect of alginate based edible coatings enriched with essential oils constituents in *Arbutus unedo* fresh fruit storage. *Postharvest Biol. Technol.* In Press
- Guerreiro A., Gago C., Miguel M. & Antunes M. 2013. The effect of temperature and film covers on the storage ability of *Arbutus unedo* L. fresh fruit. *Sci. Hortic.* 159:96–102
- Hammer K., Carson C.F. & Riley T. V. 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl. Microbiol.* 86(6):985–90
- Han C., Zhao Y., Leonard S. & Traber M. 2004. Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria* × *ananassa*) and raspberries (*Rubus idaeus*). *Postharvest Biol. Technol.* 33(1):67–78
- Jacxsens L., Devlieghere F., Ragaert P., Vanneste E. & Debevere J. 2003. Relation between microbiological quality, metabolite production and sensory quality of equilibrium modified atmosphere packaged fresh-cut produce. *Int. J. Food Microbiol.* 83:263-280.
- Krüger E., Dietrich H., Schöpplein E., Rasim S. & Kürbel P. 2011. Cultivar, storage conditions and ripening effects on physical and chemical qualities of red raspberry fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 60(1):31–37
- Miguel M. 2010. Antioxidant activity of medicinal and aromatic plants. A review. *Flavour Fragr. J.* 2009:291–312
- NP-3788:2002. Microbiologia Alimentar. *Regras gerais para a contagem microrganismos a 30 °C.*
- Oms-Oliu G., Soliva-Fortuny R. & Martín-Belloso O. 2008. Using polysaccharide-based edible coatings to enhance quality and antioxidant properties of fresh-cut melon. *LWT - Food Sci. Technol.* 41(10):1862–70
- Pabuçcuoglu, A., Kivçak, B., Bas, M. & Mert, T. 2003. Antioxidant activity of *Arbutus unedo* leaves; *Fitoterapia*, 74: 597-599
- Pedro, J. 1994. Carta da distribuição de figueira e medronheiro – Notícia Explicativa. Ministério do Ambiente e Recursos Naturais, Direcção Geral do Ambiente. Lisboa.
- Re R., Pellegrini N. & Proteggente A. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* 26(98):1231–37
- Robles-Sánchez R.M., Rojas-Graü M.A., Odriozola-Serrano I., González-Aguilar G. & Martín-Belloso O. 2013. Influence of alginate-based edible coating as carrier of antibrowning agents on bioactive compounds and antioxidant activity in fresh-cut Kent mangoes. *LWT - Food Sci. Technol.* 50(1):240–46
- Soliva-Fortuny R.C. & Martín-Belloso O. 2003. New advances in extending the shelf-life of fresh-cut fruits: a review. *Trends Food Sci. Technol.* 14(9):341–53

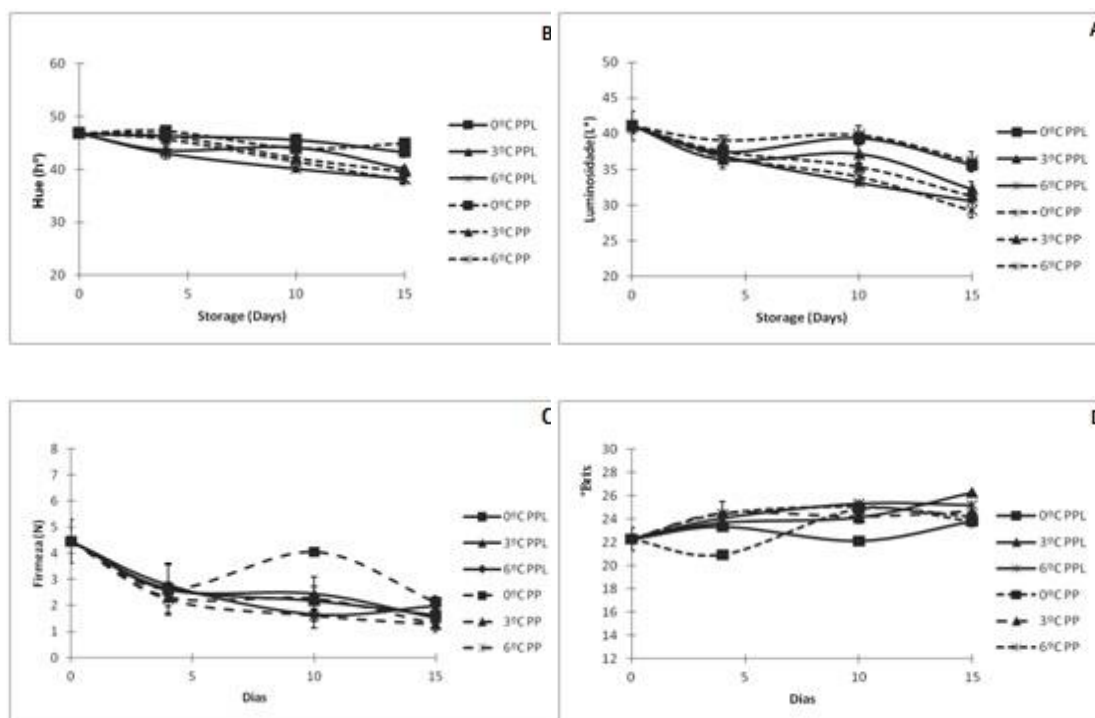


Figura 1 - Cor (L^* e $^{\circ}\text{hue}$) Firmeza (N) e $^{\circ}\text{Brix}$ (%) registrado em medrônho durante 15 dias de armazenamento a 0, 3 e 6°C. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

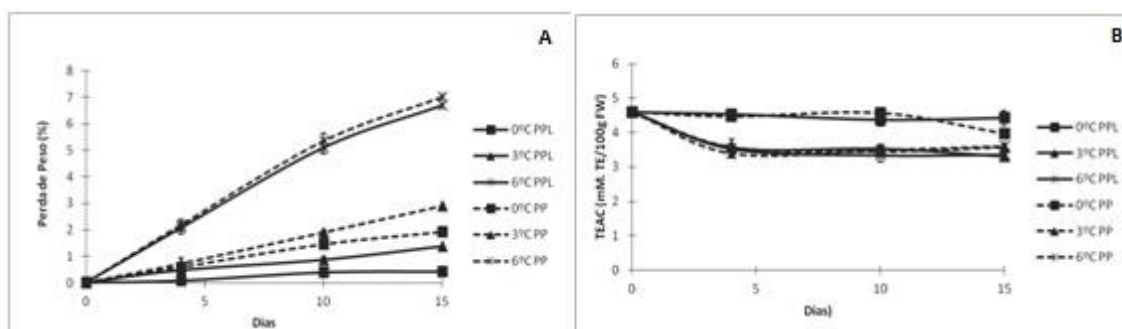


Figura 2 - Perda de massa (%) (A) e TEAC (mM TE/100g peso fresco) (B) de medrônho durante 15 dias de armazenamento a 0, 3 e 6°C. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

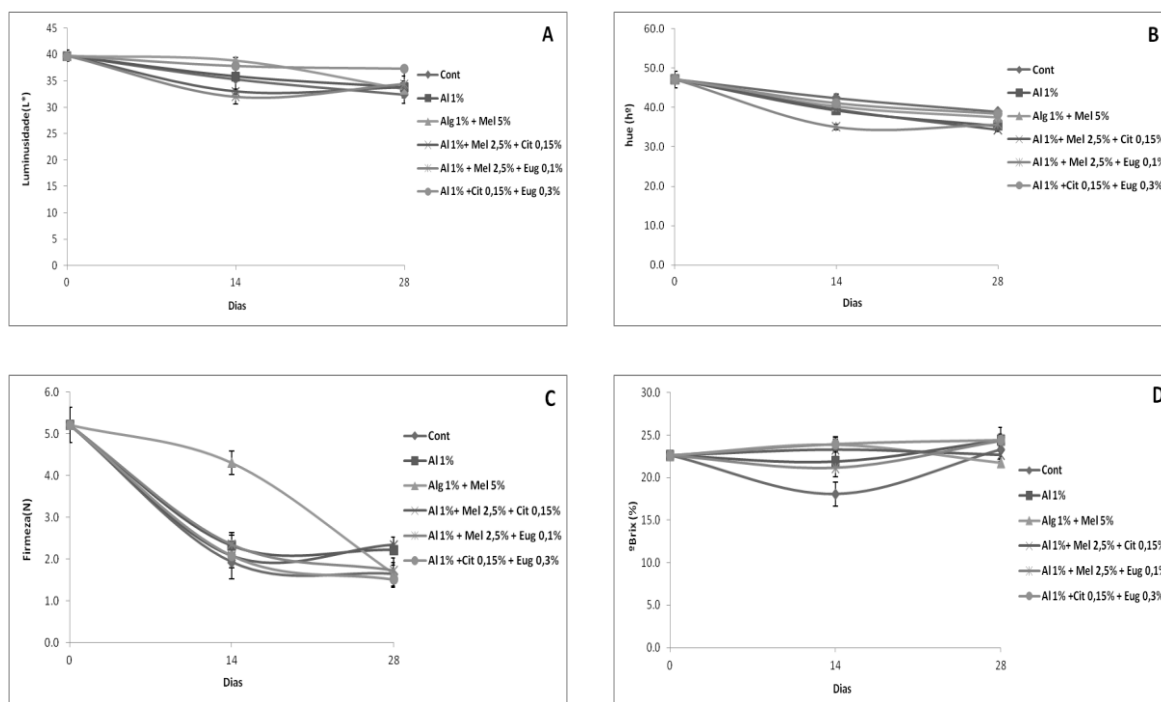


Figura 3 - Cor (L* e °hue) Firmeza (N) e °Brix (%) registado em medronhos revestidos com películas edíveis, durante 28 dias de armazenamento a 0,5°C. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

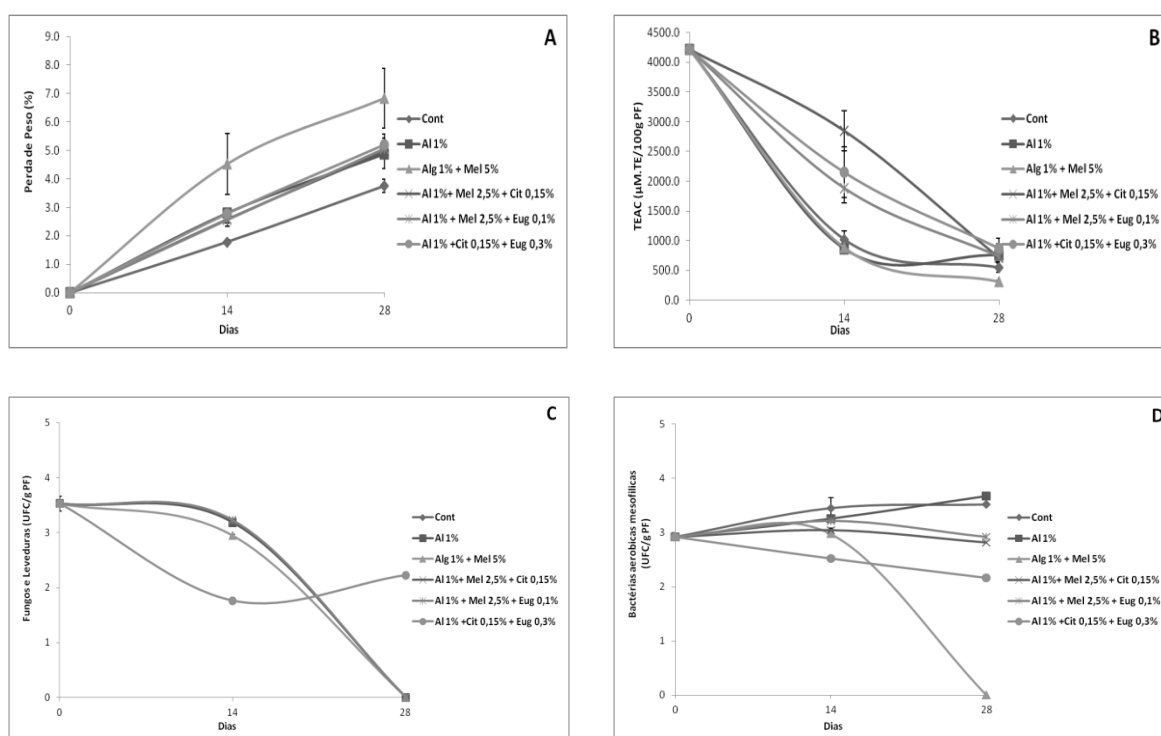


Figura 4 – Perda de peso (%), atividade antioxidante (TEAC), Fungos e Leveduras (UFC/g) e bactérias aeróbicas mesofílicas (UFC/g) registados em medronhos revestidos com películas edíveis, durante 28 dias de armazenamento a 0,5°C. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

Tabela 1 – Resultados da caracterização de medronhos durante 28 dias de armazenamento a 0,5 °C, por painel de provadores. Os valores representam a mediana \pm erro padrão de 15 repetições.

Tratamentos	Dias	Aparencia	Aroma	Textura	Doçura	Acidez	Sabor
Controlo	0	5,0	4,4	4,8	5,2	5,0	5,0
	14	3,2	4,2	3,4	4,2	3,6	3,8
	28	3,0	-	-	-	-	-
Alginato 1%	0	5,0	4,4	4,8	5,2	5,0	5,0
	14	4,2	4,6	4,2	5,0	4,8	5,0
	28	4,3	-	-	-	-	-
Alginato 1% + Mel 5%	0	5,0	4,4	4,8	5,2	5,0	5,0
	14	5,6	4,4	5,4	5,6	5,2	5,6
	28	4,7	-	-	-	-	-
Alginato + Mel 2,5% + Citral 0,15%	0	5,0	4,4	4,8	5,2	5,0	5,0
	14	5,4	4,4	5,0	5,2	5,0	5,4
	28	4,0	-	-	-	-	-
Alginato + Mel 2,5% + Eugenol 0,1%	0	5,0	4,4	4,8	5,2	5,0	5,0
	14	4,8	4,4	4,8	4,6	4,2	4,8
	28	4,7	-	-	-	-	-
Alginato 1% + Citral 0,15% + Eugenol 0,1%	0	5,0	4,4	4,8	5,2	5,0	5,0
	14	4,4	4,4	3,6	4,4	4,0	4,4
	28	5,0	-	-	-	-	-

Qualidade e conservação da cultivar de uva de mesa ‘Crimson Seedless’

Sara Domingos¹, André Ramalho², Hugo Nóbrega¹, António E. Leitão³, Luis F. Goulão³, Cristina M. Oliveira¹

¹DCEB, CEER Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa, saradomingos@isa.ulisboa.pt, nobregahugo@hotmail.com, crismoz@isa.ulisboa.pt

²Herdade Vale da Rosa, Ferreira do Alentejo, andre.ramalho@valedarosa.com

³Agri4Safe / BioTrop, Instituto de Investigação Científica Tropical, Lisboa, antonioeduardoleitao@gmail.com, goulao@iict.pt

Resumo

Dada a exigência de um produto com elevados padrões de qualidade caracterizou-se a produção da cultivar de uva de mesa Crimson Seedless obtida na Herdade Vale da Rosa, Ferreira do Alentejo em 2013. À colheita, a 4 de Setembro, os cachos apresentaram um índice de compactidade de $6,62 \pm 2,5$ bagos/cm de ráquis, peso médio de 759 ± 91 g e densidade 275 ± 104 bagos/cacho. A produção por planta foi de $35,7 \pm 4,3$ kg/videira. Em relação às características dos bagos, o peso médio foi de $4,85 \pm 1,26$ g, os diâmetros transversais e longitudinais foram de $16,8 \pm 1,7$ e $23,0 \pm 2,4$ mm, respetivamente, a tonalidade (h°) atingiu valores de $16,7 \pm 13,2$ e a luminosidade de $29,6 \pm 3,0$, a firmeza do bago, medida através do teste de compressão, foi de $14,8 \pm 6,0$ N, o TSS de $20,5 \pm 1,3$ °Brix, a acidez titulável foi de $4,4 \pm 0,4$ g ácido tartárico L⁻¹. Foram analisados os polifenóis totais que atingiram valores médios de $1,18 \pm 0,07$ mg de ácido gálico/g de película e os teores de trans-resveratrol, (+)-catequina e antocianinas foram de $0,64 \pm 0,17$, $0,007 \pm 0,003$, $0,20 \pm 0,03$ mg/g película, respetivamente. Os cachos foram conservados durante 3 meses, em câmara frigorífica a 0°C e 90% de HR. Foram testados dois tipos de embalamento comerciais: caixa com bolsa de plástico (bolsão) envolvendo os cachos e película plástica a cobrir o conjunto de 6 caixas. Os cachos conservados com bolsa sofreram uma variação de peso entre 3,3% e 4,8% após 28 e 91 dias de conservação seguidos de 4 dias em prateleira, respetivamente. No caso das caixas cobertas com película, a variação de peso foi de 4,5% e 8,4%, para as mesmas condições e períodos de conservação. Em ambas as modalidades, a intensidade da cor vermelha dos bagos aumentou ao longo do período de conservação. Numa escala entre 1=verde e 4=castanho, a cor da ráquis aumentou de 1 para 3 nos cachos conservados com bolsa e de 1 para 4 nas caixas envolvidas com película. O aspeto geral dos cachos manteve-se excelente durante 14 dias de conservação mais 4 dias de prateleira para as duas modalidades, diminuindo gradualmente ao longo da conservação com duração máxima de 91 dias e atingindo menor qualidade no tratamento caixas envolvidas com película. A modalidade conservação com bolsão para um período de 42 dias conduz a uvas classificadas com o aspeto geral de excelente.

Palavras-chave: uva de mesa, características qualitativas, cultivar apirénica, embalamento, pós-colheita

Abstract

Quality and storage of ‘Crimson Seedless’ table grape.

Considering the demand for a product with high quality standards, the quality attributes of the table grape ‘Crimson Seedless’ from Herdade Vale da Rosa, Ferreira do Alentejo, Portugal, collected on the 4th September 2013 is described. The bunches showed a compactness index of 6.62 ± 2.5 berries / cm of rachis, average weight 759 ± 91 g and density 275 ± 104 berries / bunch. The yield per plant was 35.7 ± 4.3 kg / vine. Regarding the characteristics of the berries, the average weight was 4.85 ± 1.26 g, the transverse and longitudinal diameters

were 16.8 ± 1.7 and 23.0 ± 2.4 mm, respectively, the color described by hue angle values of 16.7 ± 13.2 and $L = 29.6 \pm 3.0$. Firmness of the berry, measured by the compression test, was 14.8 ± 6.0 N, the SSC was 20.5 ± 1.3 ° Brix, titratable acidity was 4.4 ± 0.4 grams tartaric acid / L. Phenolic compounds average values of 1.18 ± 0.07 mg gallic acid / g of skin and the contents of trans-resveratrol, (+)-catechin and anthocyanins analyzed were 0.64 ± 0.17 , 0.007 ± 0.003 , 0.20 ± 0.03 mg / g of skin, respectively. The clusters were kept for three months in cold storage at 0 ° C and 90% RH. Two types of commercial packaging were tested: boxes with plastic bag wrapping the bunches and plastic film to cover the set of 6 boxes. The clusters wrapped with plastic bags experienced a change in weight between 3.3% and 4.8% after 28 and 91 days of storage followed by four days on shelf, respectively. In the case of boxes covered with plastic film, weight variation was 4.5% and 8.4%, for the same conditions and periods. In both types of packaging, the intensity of the colour of the berries increased throughout the storage period. On a scale between 1 = green and 4 = brown, the colour of rachis has increased from 1 to 3 in bunches wrapped with plastic bag and 1 to 4 in the case of boxes wrapped with film. The overall aspect of the bunches remained outstanding for 14 days of storage followed by 4 days at shelf period for the two types of package, gradually decreasing along the conservation period at a maximum of 91 days and reaching lower quality treatment in boxes wrapped with film. Storage with plastic bag wrapping the bunches for a period of 42 days resulted in grapes classified with excellent overall appearance.

Keywords: packaging, post-harvest, quality characteristics, seedless grape, table grape

Introdução

A produção de uva de mesa é muito exigente em mão de obra, em todos os processos de pré e pós-colheita e na preparação para o mercado de exportação. A sua manipulação exige conhecimentos e práticas especiais de colheita, embalagem, refrigeração, *marketing* e de processos logísticos. Na comercialização de uva de mesa, o aspeto, o tamanho dos cachos e dos bagos, a coloração uniforme, a qualidade fitossanitária, o sabor e a textura típicos de cada cultivar são atributos importantes e muito valorizados pelos consumidores. A qualidade da uva de mesa abrange características comuns a outros frutos como o teor em sólidos solúveis, acidez e cor mas também outras características como desidratação do bago mínima, não escurecimento do ráquis, desgrana mínima, ausência de defeitos na epiderme do bago, em particular podridão devido à *Botrytis cinerea*. O dióxido de enxofre (SO₂) é usado para controlar a deterioração causada por fungos, como a *Botrytis cinerea*, que se desenvolve nas condições de armazenamento (0 ° C a 0,5 ° C, 95% de humidade relativa) para a uva de mesa. A melhoria da embalagem e da cadeia de frio são responsáveis pela manutenção da melhor qualidade da uva de mesa e fundamentais para que o produto entre nos mercados internacionais. O período de prateleira é considerado como uma das características de qualidade da uva de mesa, as uvas devem apresentar-se sem sinais de escurecimento e de desidratação dos bagos e do ráquis. Têm sido realizados alguns estudos sobre a possibilidade da embalagem em atmosfera modificada diminuir a perda de qualidade da uva (Artés-Hernández et al., 2006; Ngcobo et al., 2012, 2013; Lurie et al., 2006; Zoffoli, et al., 2009), no entanto, as condições de conservação da 'Crimson Seedless' não foram ainda testadas em Portugal.

Os objetivos deste estudo consistiram na caracterização detalhada dos atributos de qualidade da 'Crimson Seedless' e na compreensão da influência de dois tipos de embalagem comerciais, na evolução da qualidade desta cultivar, durante um período de conservação de 3 meses.

Material e Métodos

Este estudo foi realizado com uvas 'Crimson Seedless' produzidas na Herdade Vale da Rosa, em Ferreira do Alentejo, de acordo com as práticas culturais da empresa. A 'Crimson

Seedless' é uma cultivar vermelha tardia e as uvas foram colhidas no estado de maturação comercial, a 4 de setembro de 2013.

Características produtivas e análise de qualidade

Foi registado o peso dos cachos, o número de bagos por cacho, o comprimento do ráquis em 10 cachos distribuídos por 5 videiras. Calculou-se a produtividade por hectare, com base no peso dos cachos, e a eficiência produtiva, com base no diâmetro do tronco de cada planta, medido 20 cm acima do ponto de enxertia.

Foram seleccionados 10 bagos por cacho (3 na zona superior, 4 na zona média e 3 na zona inferior do cacho) e agrupados em conjuntos de 20 bagos (dois cachos). Fez-se o sumo de cada conjunto de 20 bagos para a análise do teor de sólidos solúveis e da acidez titulável.

O teor de sólidos solúveis, expresso em ° Brix, foi medido com um refratómetro digital (PR-32, Atago, Japan). A acidez titulável, expressa em g de ácido tartárico por litro de sumo, foi determinada por titulação potenciométrica com 0,1 N NaOH até atingir-se um valor de pH 8,1 na solução constituída por 5 ml de sumo diluído em 5 ml de água.

Foram medidos o comprimento longitudinal, transversal e o peso de 10 bagos por cacho. O comprimento foi medido com uma craveira digital (IP67, Mitutoyo Corp., Kawasaki, Japão) e o peso foi determinado numa balança digital com precisão de 0,002 kg (PM-15, Wunder, Trezzo Sull'Adda, Itália). Foi ainda calculada a forma dos bagos (diâmetro longitudinal/diâmetro transversal) para a qual valores perto de 1 demonstram que os bagos têm uma forma quase esférica, enquanto valores superiores a 1 indicam formas mais alongadas.

Para determinar a textura e a cor foi utilizada uma amostra de 4 bagos por cacho. A cor foi medida nas duas faces e posteriormente feita a média por bago. Para a textura utilizou-se um texturómetro (TA-XT Plus, Stable Microsystems Ltda, Reino Unido) e realizou-se um teste de compressão do bago inteiro, que mede a força necessária para deformar 25% do diâmetro transversal do bago, com velocidade de aproximação da sonda de 1 mm s⁻¹, de acordo com Rolle et al. (2012). Para a cor foi utilizado um colorímetro (Minolta CR-300, Osaka, Japão).

Os polifenóis totais e a malvidina foram quantificados de acordo com Di Stefano & Cravero (1991) e o trans-resveratrol e (+)-catequina foram quantificados na película dos bagos por HPLC (Beckman Coulter, EUA), de acordo com o protocolo de Burns (2002) com algumas modificações. As películas foram liofilizadas antes da extração e o trans-resveratrol foi quantificado utilizando um detector de fluorescência, operando a 298 nm de excitação e 385 nm de emissão, para a (+)-catequina utilizou-se um detector de fotodiodos a 280 nm.

Ensaio de conservação

Foram testados dois tipos de embalamento comerciais: caixa com bolsa de polietileno de alta densidade perfurado (5% da área com furos de 6 mm de diâmetro) envolvendo os cachos (bolsão) e película de polietileno de baixa densidade a cobrir o conjunto de 6 caixas. Em cada caixa foi colocada uma placa geradora de SO₂. Os testes de qualidade dos cachos foram efetuados, em quatro cachos por tratamento, no dia em que as uvas entraram na câmara (dia base), após a conservação, à saída da câmara e após 4 dias de prateleira (a 15°C, sem placa de SO₂), em 6 datas de observação correspondentes a 14, 28, 42, 66, 77 e 91 dias de conservação a 0°C e 90% de humidade relativa. Foram registadas as seguintes características: peso dos cachos, cor dos bagos segundo uma escala com 3 tonalidades (1 – rosa; 2 – vermelho; 3 – vermelho escuro); desgrana (percentagem do peso dos bagos soltos em relação ao peso inicial dos cachos), número de bagos podres, número de bagos desidratados, aspeto geral do cacho segundo uma escala com 5 níveis (1 – excelente, 2 – muito bom, 3 – bom, 4 – mau e 5 – péssimo) e cor do ráquis de acordo com uma escala com diferentes tonalidades (1 – verde, 2 – verde amarelado, 3 – castanho claro e 4 – castanho escuro).

Resultados e Discussão

Os resultados da caracterização da qualidade à colheita estão apresentados no quadro 1. A produção por planta foi de $35,7 \pm 4,3$ kg/videira. Os cachos apresentaram um índice de compacidade de $6,62 \pm 2,5$ bagos/cm de ráquis, peso médio de 759 ± 91 g e densidade de 275 ± 104 bagos/cacho.

Em relação às características dos bagos, o peso médio foi de $4,85 \pm 1,26$ g, os diâmetros transversais e longitudinais foram de $16,8 \pm 1,7$ e $23,0 \pm 2,4$ mm, respetivamente, a tonalidade atingiu valores de $16,7 \pm 13,2$ h° e a luminosidade de $29,6 \pm 3,0$. A firmeza do bago, foi de $14,8 \pm 6,0$ N, o TSS de $20,5 \pm 1,3$ °Brix, a acidez titulável foi de $4,4 \pm 0,4$ g de ácido tartárico/L. Foram analisados os polifenóis totais que atingiram valores médios de $1,18 \pm 0,07$ mg de ácido gálico/g de película e os teores de trans-resveratrol, catequinas e antocianinas foram de $0,64 \pm 0,17$, $0,007 \pm 0,003$, $0,20 \pm 0,03$ mg/g película, respetivamente.

Os resultados do ensaio de conservação estão descritos no quadro 2 e fig. 1. Em relação à perda de peso à saída da câmara, até aos 42 dias de conservação, variou entre 1,5% e 2% nos dois tratamentos, não se registando diferenças significativas. Aos 66 dias a perda de peso atingiu o valor mais elevado (3,7%) em bolsão comparando com a película (1,5%). Dos 66 aos 91 dias, a perda de peso nas uvas envolvidas com bolsão foi inferior às envolvidas com película ($P \leq 0,05$) (fig. 1 A). Após o período de conservação, seguido de 4 dias de prateleira, a tendência foi semelhante à verificada à saída da câmara, observando-se um incremento da perda de peso relativamente à perda registada à saída da câmara, em média de 1,75% nos cachos com bolsão e 2,5% nas caixas envolvidos com película (fig. 1 B).

Em ambas as modalidades, a intensidade da cor vermelha dos bagos aumentou ao longo do período de conservação. Não se observaram diferenças significativas na desgrana ao longo do tempo de conservação entre os dois tipos de embalagem, apresentando valores médios de 0,7% e 0,8% para cachos com bolsão e com película, aos 66 e 77 dias de conservação, respetivamente. A baixa percentagem de desgrana é uma das características desta cultivar.

Em relação à cor do ráquis, não se verificaram diferenças significativas entre os dois tipos de embalagem dos 14 aos 77 dias de conservação, e aos 91 dias de conservação verificou-se um aumento da desidratação e acastanhamento do ráquis nos cachos envolvidos com película, em relação aos cachos em bolsão (quadro 2). Valores semelhantes de desidratação e acastanhamento do ráquis de ‘Crimson Seedless’ foram observados aos 35 dias de conservação por Ngcobo et al. (2013).

Quanto ao aspeto geral dos cachos, observado à saída da câmara, manteve-se aproximadamente no nível excelente, durante 42 dias de conservação, para ambos os tratamentos. Decorridos mais 4 dias de prateleira (15°C), estas uvas apresentaram-se no nível bom, em ambos os tratamentos. Os cachos apresentaram uma boa capacidade de conservação até aos 77 dias, inclusive, verificando-se que os cachos envolvidos com bolsão apresentaram um aspeto geral significativamente superior em relação aos cachos com película, quer à saída da câmara quer após os 4 dias de prateleira. Aos 91 dias de conservação o aspeto geral dos cachos foi mau para o tratamento cachos com bolsão e péssimo para cachos envolvidos em película (quadro 2).

Conclusões

A cultivar Crimson apresenta cachos de tamanho médio, com bagos firmes e película resistente, calibre médio, TSS superior a 20%, e com baixa acidez. Comparativamente a outras cultivares tem uma elevada capacidade de conservação, o aspeto geral do cacho manteve-se próximo do nível excelente durante 42 dias de conservação com os dois tipos de embalagem. Aos 77 dias o aspeto geral dos cachos foi classificado como muito bom nos cachos com bolsão e bom nas caixas com película, enquanto no tempo máximo de conservação testado, 91 dias, o aspeto foi considerado mau e péssimo, para o bolsão e película, respetivamente.

Agradecimentos

Este trabalho está a ser realizado no âmbito do ProDeR (PRODUVA 23921/2/3/4 - Medida 4.1.Cooperação para a Inovação). A bolsa de doutoramento de Sara Domingos é financiada pela FCT (SFRH/ BD/69076/2010).

Referências

- Artés-Hernández F., Tomás Barberán F.A. & Artés F. 2006. Modified atmosphere packaging preserves quality of SO₂-free ‘Superior seedless’ table grapes. *Postharvest Biology and Technology* 39:149-156.
- Burns, J. 2002. Plant foods and herbal sources of resveratrol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 3337-3340.
- Di Stefano R. & Cravero M.C. 1991. Metodi per lo studio dei polifenoli dell’uva. *Rivista di Viticoltura e Enologia* 44 (2): 37-45.
- Lurie, S., Pesis, E., Gadiyeva, O., Feygenberg, O., Ben-Arie, R., Kaplunov, T., Zutahy, Y. & Lichter, A. 2006. Modified ethanol atmosphere to control decay of table grapes during storage. *Postharvest Biology and Technology* 42: 222–227.
- Ngcobo, M.E.K., Opara, U.L. & Thiart, G.D. 2012. Effects of packaging liners on coolingrate and quality attributes of table grape (cv Regal Seedless). *Packaging Technology and Science* 25: 73–84.
- Ngcobo, M.E.K, Mulugeta A. D., L Chen & Opara, U.L. 2013. Investigating the potential of a humidification system to control moisture loss and quality of ‘Crimson Seedless’ table grapes during cold storage. *Postharvest Biology and Technology* 86:201-211.
- Rolle, L., Siret, R., Segade, S.R.S., Gerbi, V. & Jourjon, F. 2012. Instrumental texture analysis parameters as markers of table-grape and winegrape quality: A review. *American Journal of Enology and Viticulture* 63:11-28
- Zoffoli, F.P., Latorre, B.A. & Naranjo, P., 2009. Preharvest applications of growth regulators and their effect on postharvest quality of table grapes during cold storage. *Postharvest Biology and Technology* 51: 183–192.

Quadro 1 – Produtividade e qualidade dos cachos e bagos à colheita da uva de mesa ‘Crimson Seedless’ (média \pm desvio-padrão).

Produtividade (n=5)	
Produção por planta (kg)	35,7 \pm 4,3
Eficiência produtiva (kg/cm ²)	1,01 \pm 0,12
Rendimento (t/ha)	41,2 \pm 5,0
Características do cacho (n=10)	
Peso dos cachos (g)	759 \pm 91
Nº de bagos total colheita	275 \pm 104
Comprimento do ráquis (cm)	39,6 \pm 5,7
Índice de compacidade	6,62 \pm 2,5
Características do bago (n=48)	
Diâmetro Transversal (mm)	16,8 \pm 1,7
Diâmetro Longitudinal (mm)	23,0 \pm 2,4
Forma	1,37 \pm 0,09
Peso do bago (g)	4,85 \pm 1,26
Tonalidade (Hue°)	16,7 \pm 13,2
L	29,6 \pm 3,0
Firmeza (N)	14,8 \pm 6,0
Composição do bago (n=5)	
TSS (° Brix)	20,5 \pm 1,3
Acidez titulável	4,4 \pm 0,4
Polifenóis totais (mg ác. gálico/g película)	1,18 \pm 0,07
Trans-resveratrol (mg/g película)	0,64 \pm 0,17
(+)-Catequina (mg/g película)	0,07 \pm 0,03
Antocianinas (mg malvidina/g película)	0,20 \pm 0,03

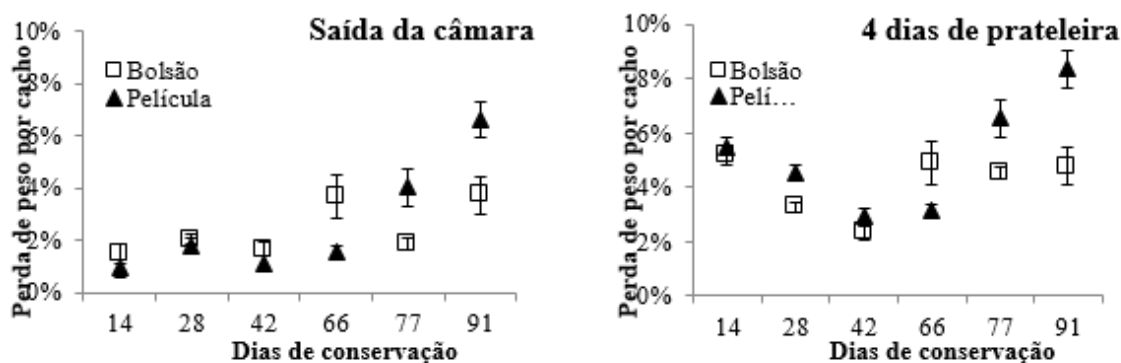


Figura 1 - Perda de peso (em %) após 14, 28, 42, 66, 77 e 91 dias de conservação, à saída da câmara de conservação (A) e após 4 dias de prateleira (15°C) (B) em cachos com dois tipos de embalagem, bolsão e película (n=4, média \pm erro-padrão).

Quadro 2 – Avaliação da cor do ráquis (1- verde, 2 – verde amarelado, 3 – castanho claro e 4 – castanho escuro) e do aspeto geral do cacho (1 – excelente, 2 – muito bom, 3 – bom, 4 – mau e 5 - péssimo) à colheita e após 14, 28, 42, 66, 77 e 91 dias de conservação, à saída da câmara de conservação e após 4 dias de prateleira (15°C) em cachos com dois tipos de embalagem, bolsão e película (n=4, média± desvio-padrão).

	Saída da câmara		4 dias de prateleira	
	Cor do ráquis (1 - 4)	Aspeto Geral (1- 5)	Cor do ráquis (1 - 4)	Aspeto Geral (1- 5)
Colheita				
Bolsão	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00
Película	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00
14 dias de conservação				
Bolsão	1,25 ± 0,50	1,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00
Película	1,25 ± 0,50	1,00 ± 0,00	2,25 ± 0,50	1,00 ± 0,00
28 dias de conservação				
Bolsão	2,25 ± 0,50	2,00 ± 0,00	2,25 ± 0,50	2,25 ± 0,50
Película	2,00 ± 0,00	2,25 ± 0,50	2,00 ± 0,00	3,00 ± 0,50
42 dias de conservação				
Bolsão	2,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	2,50 ± 0,58	3,00 ± 0,00
Película	2,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	2,25 ± 0,50	2,75 ± 0,00
66 dias de conservação				
Bolsão	3,25 ± 0,50	2,75 ± 0,50	3,75 ± 0,50	3,00 ± 0,00
Película	2,50 ± 0,58	2,25 ± 0,50	2,75 ± 0,50	3,00 ± 0,50
77 dias de conservação				
Bolsão	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,75 ± 0,50	3,00 ± 0,00
Película	2,25 ± 0,50	3,25 ± 0,50	3,50 ± 0,58	3,50 ± 0,00
91 dias de conservação				
Bolsão	3,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00
Película	4,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	5,00 ± 1,00

Utilização de películas edíveis no aumento da vida útil de maçã ‘Bravo de Esmolfe’ minimamente processada

A. Guerreiro¹, C. Gago¹, M.L. Faleiro², G. Miguel¹ & M.D. Antunes¹

¹Universidade do Algarve, Faculdade de Ciências e Tecnologia, IBB-CBV, Edif. 8, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal

²Universidade do Algarve, Faculdade de Ciências e Tecnologia, IBB-CBME, Edif. 8, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal

Resumo

Atualmente a procura de frutos minimamente processados, prontos a consumir, tem vindo a aumentar e urge encontrar formas que permitam aumentar o tempo de conservação e preservar a qualidade das frutas cortadas. As películas edíveis à base de polissacarídeos apresentam-se como uma alternativa viável para o aumento do período de conservação dos frutos minimamente processados, podendo incorporar compostos antibacterianos e/ou antioxidantes. O objetivo deste estudo foi testar a eficácia do mel de medronheiro incorporado numa película edível de pectina a 2%, sozinho ou combinado com os componentes de óleos essenciais, eugenol e citral, no aumento da vida de prateleira da maçã ‘Bravo de Esmolfe’ minimamente processada. Para este estudo utilizaram-se várias formulações de películas edíveis: 1) Controlo (lavagem com água potável); 2) Pectina 2%; 3) Pectina 2%+Mel de medronheiro 5%; 4) Pectina 2%+Mel de medronheiro 2,5%+Citral 0,15%; 5) Pectina 2%+Citral 0,15%+Eugenol 0,1%. As maçãs foram cortadas e imersas nestas soluções durante 2 minutos, e em seguida armazenadas a 4 °C. Após 0, 7 e 14 dias foram retiradas amostras e realizadas análises físico-químicas [Cor (CIE L * h ° C*), firmeza, °Brix, perda de peso, atividade antioxidante (TEAC)], evolução microbiana e painel de provadores. Os resultados mostraram que, a maçã ‘Bravo de Esmolfe’ minimamente processada se manteve em boas condições qualitativas até 7 dias de armazenamento a 4 °C quando tratada com as películas edíveis deste ensaio, apresentando aos 14 dias sinais de senescência. Das películas edíveis utilizadas, a que melhor preservou as características físico-químicas e sensoriais da maçã ‘Bravo de Esmolfe’ minimamente processada durante a sua vida de prateleira foi a Pectina 2%+Citral 0,15%+Eugenol 0,1%.

Palavras-chave: Pós-colheita, pectina, citral, eugenol, mel de medronheiro.

Abstract

The use of edible coatings for increasing the shelf-life of minimally processed ‘Bravo de Esmolfe’ apple

Today the demand for minimally processed fruits, ready to eat, has been increasing and is urgent to find ways to increase the shelf life and preserve the quality of fresh-cut fruits. The polysaccharide-based edible films present themselves as a viable alternative to increase the shelf life period of minimally processed fruits and can incorporate antibacterial compounds and/or antioxidants. The aim of this work was to study the effectiveness of strawberry tree honey incorporated into a 2% pectin edible coat alone or in combination with the essential oils components, eugenol and citral, to increase shelf life of fresh-cut apple ‘Bravo de Esmolfe’. For this study were used the following edible coat formulations: 1) Control (just washed with tap water); 2) 2% Pectin; 3) Pectin 2%+strawberry tree honey 5%; 4) Pectin 2%+ strawberry tree honey 2.5%+Citral 0.15%; 5) Pectin 2%+Citral 0.15%+Eugenol 0.1%. The apples were cut and immersed in these solutions for 2 minutes and then stored at 4°C. After 0, 7 and 14 days, samples were taken and physicochemical analyses [Color (CIE L*, h°, C*), firmness, Brix, weight loss,

antioxidant activity (TEAC)], microbial evolution and taste panel were performed. The results showed that the fresh cut 'Bravo de Esmolfe' apple was maintained in good qualitative conditions up to 7 days storage at 4 °C when treated with the edible coatings of this experiment, showing after 14 days signs of senescence. The edible coat that better preserved the physicochemical and sensory characteristics of fresh-cut apple 'Bravo Esmolfe' during shelf life was the pectin 2%+Citral 0.15%+Eugenol 0.1%.

Key-words: Postharvest, pectin, strawberry tree honey, eugenol, citral

Introdução

Os frutos minimamente processados são de importância crescente devido ao estilo de vida do consumidor, uma vez que são apresentados ao mesmo num estado que permite o seu consumo direto e imediato. No entanto, estes produtos são altamente perecíveis, dado que o corte induz uma série de respostas fisiológicas indutoras da senescência. A produção de etileno também aumenta como resposta ao corte. O maior obstáculo ao marketing comercial dos frutos minimamente processados é a sua vida útil limitada, devido ao amolecimento e escurecimento excessivos e rápidos da superfície de corte e ao desenvolvimento de patogénicos (Soliva-Fortuny & Martín-Belloso, 2003). Torna-se, por isso, necessário aperfeiçoar o conhecimento sobre estes processos prejudiciais, assim como os aspetos microbiológicos, nutritivos e sensoriais para melhorar a conservação dos frutos minimamente processados. A elevada perecibilidade destes produtos requer o estudo de técnicas (seguras para a saúde e o ambiente) que minimizem os processos que conduzem à senescência rápida, de modo a que os mesmos possam permanecer de boa qualidade por um período maior, sendo assim mais rentáveis para as empresas.

As coberturas edíveis compostas por polissacarídeos são apropriadas para aumentar a vida útil dos frutos minimamente processados, preservando a sua qualidade (Gonzalez-Aguilar et al., 2008). Alguns óleos essenciais e seus componentes provaram ter um efeito antimicrobiano contra os agentes patogénicos de origem alimentar e/ou têm propriedades antioxidantes e são geralmente reconhecidos como seguros (GRAS) (Antunes & Cavaco, 2010; Miguel, 2010).

O mel é também reconhecido como tendo propriedades anti-inflamatórias e antibacterianas, em particular o mel predominantemente de medronheiro.

O objetivo deste estudo foi testar o efeito do mel de medronheiro e os componentes de óleos essenciais, citral e eugenol, usados como aditivos a uma película edível à base de pectina na preservação da qualidade nutritiva e geral e na segurança alimentar da maçã 'Bravo de Esmolfe' minimamente processada.

Materiais e Métodos

Material vegetal e preparação das amostras

Para o estudo foram utilizadas amostras homogéneas de maçã 'Bravo de Esmolfe', em que os frutos foram inicialmente cortados em oito partes e depois mergulhados nas seguintes películas edíveis: 1) Controlo (só lavagem com água potável); 2) Pectina 2%; 3) Pectina 2%+Mel de medronheiro 5%; 4) Pectina 2%+Mel de medronheiro 2,5%+ Citral 0,15%+Eugenol 0,1%; 5) Pectina 2%+Citral 0,15%+Eugenol 0,1%, durante 2 minutos. Em seguida os frutos foram colocados em caixas e armazenados numa câmara de refrigeração a 4°C. Ao fim de 0, 7 e 14 dias as caixas foram retiradas das câmaras de frio, e foram determinadas as características físico-químicas dos frutos. Estes foram também avaliados em termos de carga microbiana e por painéis de provadores.

Cor, Firmeza e sólidos solúveis totais (°Brix)

A coloração da maçã cortada foi medida na polpa através de um colorímetro Minolta Meter CR-300 (CE Minolta, Japão), utilizando a escala CIELab (L*, a*, b*) havendo posteriormente a conversão para a coordenada angular (°h).

A firmeza do fruto foi determinada através de um penetrómetro Chatillon TCD200 e Digital Force Gauge DFIS 50, (Jonh Chatillon & Sons, Inc.U.S.A.), recorrendo a um êmbolo cilíndrico de 11 mm de diâmetro a uma profundidade de 7 mm. A firmeza foi determinada na polpa do fruto e os resultados foram expressos em Newton (N).

Para a determinação do °Brix recorreu-se à utilização do refractómetro digital PR1 ATAGO Co LTD (Japão), sendo a determinação feita no sumo da maçã.

Perda de peso e atividade antioxidante (TEAC)

A perda de peso mostra a percentagem de água perdida ao longo do tempo pelas amostras. Neste caso pesámos as mesmas amostras ao longo do tempo, sendo posteriormente calculada a perda de massa por diferença com a massa inicial e em percentagem da mesma massa inicial.

A atividade antioxidante foi quantificada no sumo extraído do fruto, e expressa em capacidade antioxidante em equivalentes de Trolox (TEAC), utilizando o método adaptado de Re et al. (1999).

Para esta análise iniciou-se a preparação da Solução de ABTS (2,2-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonicacid) oxidada com uma concentração de 7mM. A esta solução juntou-se persulfato de potássio de modo a obter uma concentração final de persulfato de potássio de 2,45mM. Deixou-se repousar no escuro, à temperatura ambiente, durante 12-16 horas. No momento da análise, diluiu-se a solução de ABTS, em etanol, de modo a ter uma leitura de absorvância entre 0,7 e 0,8 a 735nm, criando assim a solução de leitura.

O procedimento desta análise consiste na colocação de 990 µL de solução de leitura na cuvette e regista-se o valor da absorvância, de seguida adiciona-se 10 µL de solução padrão ou de amostra, agita-se, e regista-se o valor da absorvância decorridos 6 minutos.

A curva padrão é feita com o padrão Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico, solução “stock” de 2,5 mM), o qual foi armazenado a -20°C para a posterior preparação das diferentes concentrações. A gama de concentrações utilizadas para construir a reta de calibração foi a seguinte: 500, 1000, 1500, 2000 e 2500 µM, sendo os valores finais expressos em µM TE/100 g PF.

Carga Microbiana

Na aplicação da metodologia a seguir descrita, utilizou-se a referência normativa (NP-3788:2002 2013). Foram analisados os microrganismos aeróbios totais (bactérias mesófilas e psicrofílicas) e fungos e leveduras, em que o inóculo foi duplicado, colocado por incorporação em meio PCA (Plante Count Agar) (Biokar Diagnostics). No caso dos microrganismos psicrofílicos, as placas foram incubadas a 6 °C durante 72 horas e os mesófilos foram incubados a 30 °C durante 24 horas. Para a contagem dos fungos e leveduras fez-se a incorporação em meio Dicloran Rose Bengale Cloranfenicol (Biokar Diagnostics) e incubação a 30 °C durante 120 horas.

As análises microbiológicas foram expressas em unidades formadoras de colónias por grama (UFC/g).

Painel de Provadores

O painel de provadores foi formado por um grupo de 15 pessoas semi-treinadas, em que foram avaliados os parâmetros aparência, textura, aroma, acidez, doçura e sabor, numa escala de 1-Mau a 7-Excelente.

Resultados e discussão

Cor, Firmeza e sólidos solúveis totais (°Brix)

Para os parâmetros de cor, o valor L, que indica o escurecimento dos frutos, diminuiu ao longo do tempo de conservação, sendo mais acentuado no controle e tratamento de Pectina 2%+Mel 2,5%+Citral 0,15% e menor em Pectina 2%+Citral 0,15%+Eugenol 0,1% (Fig. 1A). O valor de hue (h°) também diminuiu ao longo do tempo em todos os tratamentos, com predominância no controle, confirmando um maior acastanhamento nestes frutos resultante da oxidação dos tecidos (Fig. 1B).

O escurecimento e perda de cor é comum em frutos cortados, devido aos danos provocados nos tecidos e o contacto com o oxigénio após o corte, e que por sua vez poderão vir a desencadear reações enzimáticas e não enzimáticas que contribuem para esta alteração na cor e escurecimento (Oms-Oliu et al., 2010; Chiumarelli & Hubinger, 2012).

Um aumento no escurecimento enzimático em pedaços de maçã minimamente processada durante a sua vida útil foi acompanhado por um aumento dos valores de a^* e b^* , e uma diminuição da luminosidade (L^*) e dos valores de ângulo hue (h°) (Fig. 1B) (Perez-Gago et al., 2006). De acordo com Zambrano-Zaragoza et al. (2014) e Jo et al. (2014), usando uma nanoemulsão à base de goma xantana, os valores de L^* e a^* diminuíram consideravelmente no controle por comparação com as maçãs cobertas com películas edíveis, tal como no presente ensaio.

Os valores de firmeza diminuíram significativamente no controle e nos tratamentos com películas edíveis dos 7 para os 14 dias (Fig. 1C). A perda de firmeza, um dos parâmetros mais importantes na qualidade da fruta durante o armazenamento pós-colheita é geralmente causada pela hidrólise do amido em açúcar e pela degradação da pectina da parede da célula. Durante o armazenamento pós-colheita, os processos metabólicos continuam como resultado de amadurecimento e senescência, através da conversão de amido e de ácidos orgânicos em açúcares, para serem utilizados nos processos metabólicos (Duan et al., 2011).

De acordo com Oms-Oliu et al. (2008), a firmeza do melão minimamente processado foi melhor conservada com a utilização de películas edíveis. No entanto, Olivas et al. (2007) relataram que o efeito do cálcio na preservação da firmeza da maçã cortada é mais eficaz do que as coberturas edíveis, uma vez que a perda de firmeza pode ser atribuída à degradação da parede celular.

No presente trabalho, as películas reduziram a perda de firmeza e aos 7 dias de armazenamento verificaram-se diferenças entre elas, sendo a Pectina 2%+Citral0,15+Eugenol 0,1 a que tinha melhor firmeza, diminuindo esta com o aumento da concentração de mel.

Em relação ao teor de sólidos solúveis totais (°Brix), os valores mantiveram-se estáveis ao longo do tempo com uma ligeira variação entre 15,5 e 16,5 °Brix (Fig. 1D). Como as maçãs usadas para corte já estavam maduras, estes resultados eram os que se esperavam exceto para os tratamentos com mel. Neste caso seria de esperar que os frutos com películas formuladas com mel apresentassem valores mais elevados de °Brix, no entanto, tal não se verificou, mostrando que a quantidade de mel aplicada não afetou significativamente as características organoléticas do fruto.

De acordo com (Duan et al., 2011), películas edíveis à base de alginato de sódio e quitosano não afetaram significativamente o °Brix em mirtilos. Estes resultados diferem dos de Velickova et al. (2013) e Gol et al., (2013) que mostraram uma diminuição no teor de sólidos solúveis totais em morangos no final do armazenamento, atribuída a um estado avançado de senescência.

Perda de peso e Atividade antioxidante (TEAC)

As amostras perderam peso ao longo do tempo, principalmente dos 7 para os 14 dias de armazenamento onde apresentam diferenças entre tratamentos (Fig. 2A). É interessante verificar que o controle apresenta valores mais baixos que os tratamentos com películas e o

tratamento com maior concentração de mel os valores mais altos. A maior perda de peso foi, no máximo, de 1,5%, considerado baixo, uma vez que os valores aceitáveis podem ir até 4%. Han et al. (2004), utilizando películas à base de quitosano verificaram que, por comparação com o controle, framboesas com tratamento sofreram menor perda de peso, o mesmo se verificando no estudo de Krüger et al. (2011). Por outro lado, no estudo de Giovanelli et al. (2014) foram obtidos valores similares entre películas e controle no armazenamento de framboesas.

Rojas-Graü et al. (2007) constataram que películas edíveis à base de alginato aplicadas em maçãs cortadas foram eficazes no controle da perda de massa. A perda de peso durante o armazenamento a baixa temperatura também foi observada para medronho, morangos e framboesas (Shin et al., 2008; Krüger et al., 2011; Guerreiro et al., 2013). A migração de água do fruto para o meio ambiente é a principal causa de perda de peso dos frutos durante o armazenamento (Duan et al., 2011). Os resultados não são consistentes com estudos anteriores que mostraram uma redução na perda de peso devido aos efeitos da composição de revestimentos, os quais serviram como barreira semi-permeável a oxigênio, dióxido de carbono e humidade, reduzindo, assim, a respiração, a perda de água e as reações de oxidação (Gol et al., 2013; Valero et al., 2013).

No entanto, as diferenças na capacidade de reduzir a perda de peso, são atribuídas à permeabilidade ao vapor de água que é menor nos polissacarídeos utilizados na formulação do revestimento comestível (Vargas et al., 2008). De acordo com Garcia-Viguera et al. (1998), Abreu et al. (2003) e Serrano et al. (2008), a adição de glicerol como agente plastificante para o revestimento deu bons resultados em termos de redução da perda de peso em tomate, maçã e morango, respetivamente.

A atividade antioxidante aumentou significativamente nos primeiros 7 dias nos tratamentos que continham citral 0,15% (Fig. 2B). No entanto, ao fim de 14 dias de armazenamento, os valores obtidos são similares em todos os tratamentos. De acordo com o estudo de Robles-Sánchez et al. (2013), a atividade antioxidante em manga cortada é superior em frutos com películas edíveis por comparação com o controle.

Carga Microbiana

A determinação da carga microbiana é uma das análises mais importantes, em frutos minimamente processados, prontos a consumir. Neste ensaio apenas foi determinada aos 0 e 14 dias. No caso de fungos e leveduras verificou-se um ligeiro aumento em todos os tratamentos, à exceção da Pectina 2%+Citral 0.15%+Eugenol 0.1%, em que ao fim de 14 dias de armazenamento não apresentou crescimento de fungos e leveduras, realçando a eficiência desta película (Fig. 2C).

No caso das bactérias aeróbias mesófilas, os tratamentos não tiveram qualquer efeito na redução microbiana por comparação com o controle (Fig. 2D). No entanto, os valores são estáveis ao longo do tempo e estão muito abaixo do limite permitido em segurança alimentar (Jacxsens et al., 2003).

Foram analisados os microrganismos psicotróficos, mas não se verificou o seu crescimento ao longo do tempo de armazenamento.

De um modo geral, no crescimento microbiano observou-se que os valores obtidos são muito baixos, garantindo a segurança da maçã minimamente processada nas condições deste ensaio.

Painel de Provadores

O painel de provadores é muito importante quando se usam películas edíveis pois estas podem alterar as características organolépticas do produto, sendo este depois rejeitado pelo consumidor. Foi feita a avaliação da aparência, aroma, textura, doçura, acidez e sabor numa escala de 1-mau a 7-excelente. Aos 14 dias apenas se avaliou a aparência do fruto por limitação de quantidade do produto para análise.

É notório o decréscimo na avaliação da aparência da maçã minimamente processada do controlo por comparação com os outros tratamentos, 3,6 e 1,8 aos 7 e 14 dias, respetivamente (Tabela 1). Aos 7 dias de armazenamento os valores mais altos nos parâmetros qualitativos avaliados do painel de provadores foram, de uma maneira geral no tratamento Pectina 2%+Citral 0,15%+Eugenol 0,1%. Aos 14 dias a aparência das maçãs minimamente processada estava abaixo do valor médio 4 mostrando que os frutos já tinham ultrapassado a sua vida útil.

Conclusões

No presente estudo, podemos concluir que a conservação da maçã ‘Bravo de Esmolfe’ minimamente processada, até aos 7 dias, não evidenciou os efeitos da senescência, mantendo uma aparência apelativa nos frutos tratados com películas edíveis. O armazenamento destes frutos durante 14 dias revelou-se excessivo, apresentando os frutos sinais de senescência. Tal também foi comprovado através das análises físico-químicas do fruto. Analisando as melhores propriedades em todos os parâmetros qualitativos avaliados, verificou-se que, das películas edíveis utilizadas, a que melhor preservou as características físico-químicas e sensoriais da maçã ‘Bravo de Esmolfe’ minimamente processada durante a sua vida de prateleira foi a Pectina 2%+Eugenol 0,1%+Citral 0,15%.

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia através do projeto PTDC/AGR-ALI/121085/2010 - INNCOAT- Inovação em filmes edíveis para melhorar a conservação de pequenos frutos e frutos minimamente processados.

Referências

- Abreu, M., Beirão-da-Costa, S., Gonçalves, E. M., Beirão-da-Costa, M. L., & Moldão-Martins, M. 2003. Use of mild heat pre-treatments for quality retention of fresh-cut “Rocha” pear. *Postharvest Biology and Technology* 30(2): 153–160. doi:10.1016/S0925-5214(03)00105-4
- Antunes, M. D. C., & Cavaco, A. M. 2010. The use of essential oils for postharvest decay control. A review. *Flavour and Fragrance Journal*, 25(5): 351–366. doi:10.1002/ffj.1986
- Chiumarelli, M., & Hubinger, M. D. 2012. Stability, solubility, mechanical and barrier properties of cassava starch - Carnauba wax edible coatings to preserve fresh-cut apples. *Food Hydrocolloids*, 28(1): 59–67.
- Duan, J., Wu, R., Strik, B. C., & Zhao, Y. 2011. Effect of edible coatings on the quality of fresh blueberries (Duke and Elliott) under commercial storage conditions. *Postharvest Biology and Technology*, 59(1): 71–79. doi:10.1016/j.postharvbio.2010.08.006
- Garcia-Viguera, C., Zafrilla, P., Artes, F., Romero, F., Abellan, P., & Tomas-Barberan, F. A. 1998. Colour and anthocyanin stability of red raspberry jam. *Journal of the Science of Food Agriculture* 78(4): 565–573.
- Giovanelli, G., Limbo, S., & Buratti, S. 2014. Effects of new packaging solutions on physico-chemical, nutritional and aromatic characteristics of red raspberries (*Rubus idaeus* L.) in postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology*, 98: 72–81.
- Gol, N. B., Patel, P. R., & Rao, T. V. R. 2013. Improvement of quality and shelf-life of strawberries with edible coatings enriched with chitosan. *Postharvest Biology and Technology*, 85: 185–195. doi:10.1016/j.postharvbio.2013.06.008
- Gonzalez-Aguilar, G. a., Celis, J., Sotelo-Mundo, R. R., de la Rosa, L. a., Rodrigo-Garcia, J., & Alvarez-Parrilla, E. 2008. Physiological and biochemical changes of different fresh-

- cut mango cultivars stored at 5°C. *International Journal of Food Science & Technology*, 43(1): 91–101. doi:10.1111/j.1365-2621.2006.01394.x
- Guerreiro, A., & Gago, C. 2013. The effect of temperature and film covers on the storage ability of *Arbutus unedo* L. fresh fruit. *Scientia Horticulturae*, 159: 96–102.
- Han, C., Zhao, Y., Leonard, S. ., & Traber, M. 2004. Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria × ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*). *Postharvest Biology and Technology*, 33(1): 67–78. doi:10.1016/j.postharvbio.2004.01.008
- Jacxsens L., Devlieghere F., Ragaert P., Vanneste E., Debevere J. R. 2003. Relation between microbiological quality, metabolite production and sensory quality of equilibrium modified atmosphere packaged fresh-cut produce. *International Journal of Food Microbiology* 83: 263–280.
- Jo, W.-S., Song, H.-Y., Song, N.-B., Lee, J.-H., Min, S. C., & Song, K. Bin. 2014. Quality and microbial safety of “Fuji” apples coated with carnauba-shellac wax containing lemongrass oil. *LWT - Food Science and Technology*, 55(2): 490–497.
- Krüger, E., Dietrich, H., Schöpplein, E., Rasim, S., & Kürbel, P. 2011. Cultivar, storage conditions and ripening effects on physical and chemical qualities of red raspberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 60(1): 31–37.
- Miguel, M. 2010. Antioxidant activity of medicinal and aromatic plants. A review. *Flavour and Fragrance Journal* 25: 291–312. doi:10.1002/ffj
- NP-3788:2002. (n.d.). *Microbiologia Alimentar. Regras Gerais Para a Contagem de Microrganismos a 30 °C.*, (IPQ, Portugal. Retrieved from <https://bibliotecadigital.ipb.pt/handle/10198/3158>
- Olivas, G. I., Mattinson, D. S., & Barbosa-Cánovas, G. V. 2007. Alginate coatings for preservation of minimally processed “Gala” apples. *Postharvest Biology and Technology*, 45(1): 89–96. doi:10.1016/j.postharvbio.2006.11.018
- Oms-Oliu, G., Rojas-Graü, M. A., González, L. A., Varela, P., Soliva-Fortuny, R., Hernando, M. I. H. & Martín-Belloso, O. 2010. Recent approaches using chemical treatments to preserve quality of fresh-cut fruit: A review. *Postharvest Biology and Technology*, 57(3): 139–148.
- Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. 2008. Using polysaccharide-based edible coatings to enhance quality and antioxidant properties of fresh-cut melon. *LWT - Food Science and Technology*, 41(10): 1862–1870.
- Perez-Gago, M. B., Serra, M., & Río, M. A. Del. 2006. Color change of fresh-cut apples coated with whey protein concentrate-based edible coatings. *Postharvest Biology and Technology*, 39(1): 84–92. doi:10.1016/j.postharvbio.2005.08.002
- Re, R., Pellegrini, N., & Proteggente, A. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26(98), 1231–1237.
- Robles-Sánchez, R. M., Rojas-Graü, M. A., Odriozola-Serrano, I., González-Aguilar, G., & Martín-Belloso, O. 2013. Influence of alginate-based edible coating as carrier of antibrowning agents on bioactive compounds and antioxidant activity in fresh-cut Kent mangoes. *LWT - Food Science and Technology*, 50(1): 240–246.
- Rojas-Graü, M. a., Raybaudi-Massilia, R. M., Soliva-Fortuny, R. C., Avena-Bustillos, R. J., McHugh, T. H., & Martín-Belloso, O. 2007. Apple puree-alginate edible coating as carrier of antimicrobial agents to prolong shelf-life of fresh-cut apples. *Postharvest Biology and Technology*, 45(2): 254–264.

- Serrano, M., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Valverde, J. M., Zapata, P. J., Castillo, S., & Valero, D. 2008. The addition of essential oils to MAP as a tool to maintain the overall quality of fruits. *Trends in Food Science & Technology*, 19: 464–471.
- Shin, Y., Ryu, J.-A., Liu, R. H., Nock, J. F., & Watkins, C. B. 2008. Harvest maturity, storage temperature and relative humidity affect fruit quality, antioxidant contents and activity, and inhibition of cell proliferation of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 49(2): 201–209. doi:10.1016/j.postharvbio.2008.02.008
- Soliva-Fortuny, R. C., & Martín-Belloso, O. 2003. New advances in extending the shelf-life of fresh-cut fruits: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 14: 341–353.
- Valero, D., Díaz-Mula, H. M., Zapata, P. J., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Castillo, S., & Serrano, M. 2013. Effects of alginate edible coating on preserving fruit quality in four plum cultivars during postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology*, 77: 1–6. doi:10.1016/j.postharvbio.2012.10.011
- Vargas, M., Pastor, C., Chiralt, A., McClements, D. J., & González-Martínez, C. 2008. Recent advances in edible coatings for fresh and minimally processed fruits. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(6): 496–511.
- Velickova, E., Winkelhausen, E., Kuzmanova, S., Alves, V. D., & Moldão-Martins, M. 2013. Impact of chitosan-beeswax edible coatings on the quality of fresh strawberries (*Fragaria ananassa* cv Camarosa) under commercial storage conditions. *LWT - Food Science and Technology*, 52(2): 80–92. doi:10.1016/j.lwt.2013.02.004
- Zambrano-Zaragoza, M. L., Mercado-Silva, E., Del Real L., a., Gutiérrez-Cortez, E., Cornejo-Villegas, M. a., & Quintanar-Guerrero, D. 2014. The effect of nano-coatings with α -tocopherol and xanthan gum on shelf-life and browning index of fresh-cut “Red Delicious” apples. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 22: 188–196.

Quadros e figuras

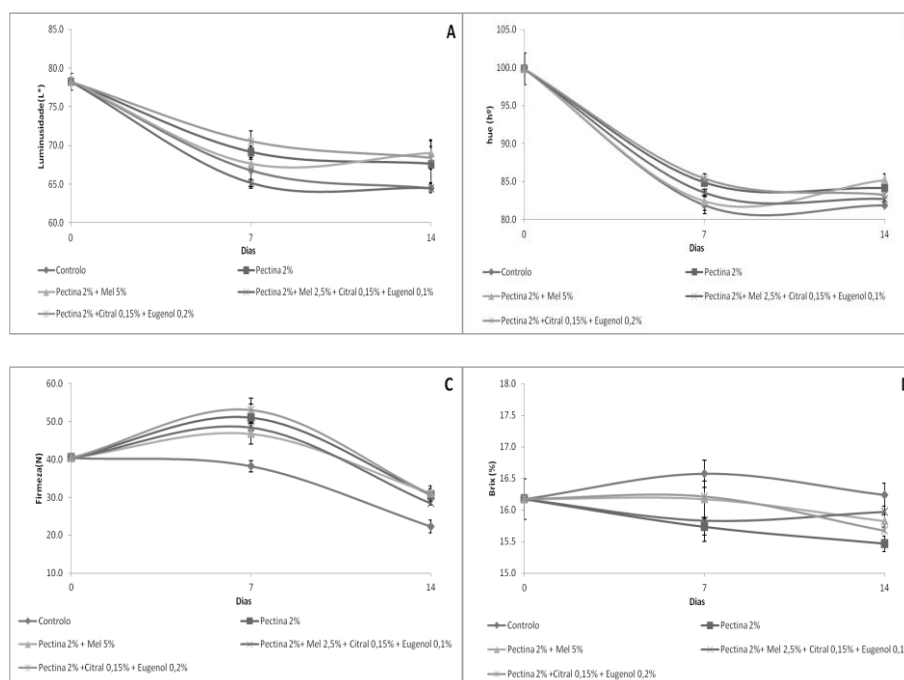


Figura 1 – Cor (L^* e h°) Firmeza (N) e $^{\circ}$ Brix (%) registados em maçã ‘Bravo de Esmolfe’ minimamente processada durante 14 dias a 4 °C. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

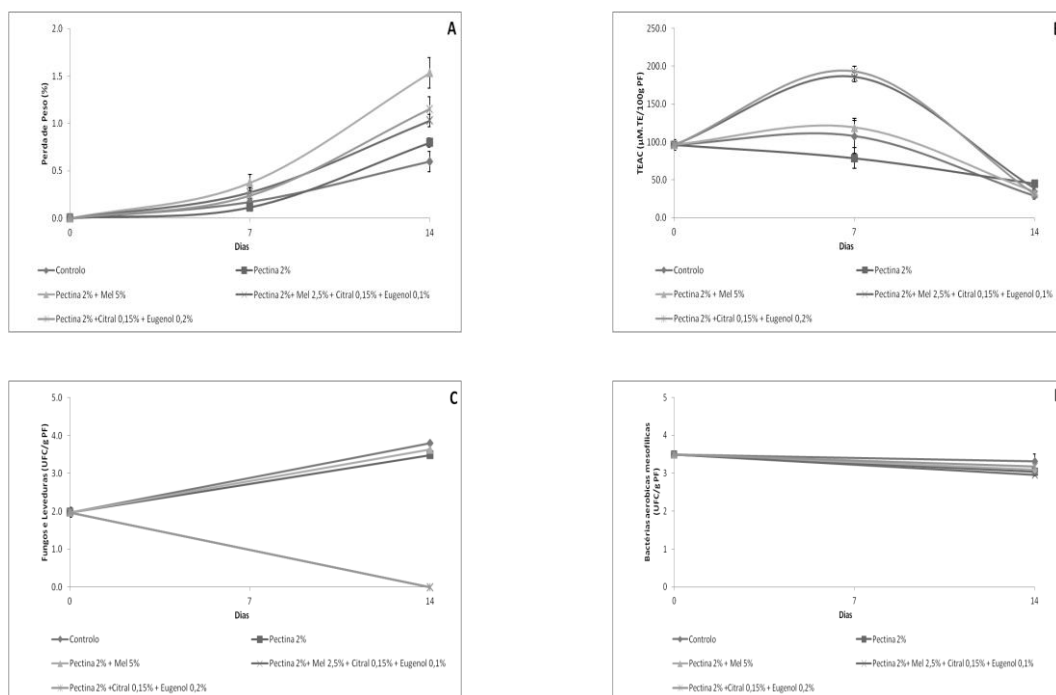


Figura 2 - Perda de peso (%), atividade antioxidante (TEAC), Fungos e Leveduras (UFC/g) e bactérias aeróbicas mesofílicas (UFC/g) registados em maçã ‘Bravo de Esmolfe’ minimamente processada durante 14 dias a 4 °C. Os valores representam a média \pm erro padrão de 3 repetições.

Tabela 1 - Painel de provadores efetuado em maçã ‘Bravo de Esmolfe’ minimamente processada durante 14 dias a 4 °C. Os valores representam a média \pm erro padrão de 15 repetições.

Tratamentos	Dias	Aparência	Aroma	Textura	Doçura	Acidez	Sabor
Controlo	0	5,4	5,7	5,6	5,9	5,8	5,9
	7	3,6	4,3	4,1	4,3	4,7	4,1
	14	1,8	-	-	-	-	-
Pectina 2%	0	5,4	5,7	5,6	5,9	5,8	5,9
	7	4,0	4,5	4,5	4,8	5,0	4,8
	14	3,3	-	-	-	-	-
Pectina 2% + Mel 5%	0	5,4	5,7	5,6	5,9	5,8	5,9
	7	4,3	4,5	4,5	5,0	4,8	5,0
	14	2,5	-	-	-	-	-
Pectina + Mel 2,5% + Citral 0,15% + Eugenol 0,1%	0	5,4	5,7	5,6	5,9	5,8	5,9
	7	3,8	4,3	5,5	4,8	4,3	4,5
	14	3,0	-	-	-	-	-
Pectina 2% + Citral 0,15% + Eugenol 0,1%	0	5,4	5,7	5,6	5,9	5,8	5,9
	7	4,0	4,3	5,0	5,0	5,3	5,3
	14	3,3	-	-	-	-	-

Associação UC InProPlant: micropropagação e certificação de genótipos de espécies fruteiras

Ana Alves¹, Elsa Baltazar^{2,3}, Sofia Vaz², António Portugal^{3,4}, Sandra Correia³, Helena Freitas³ e Jorge Canhoto^{1,3}

¹ Associação UC InProPlant, Paço das Escolas, Praça da Porta Férrea, 3000-351 Coimbra (Portugal) ana2alves@hotmail.com

² InProPlant Lda, Rua Principal s/n, Casa Nova, 3220-405 Semide, Coimbra (Portugal) e.c.s.baltazar@gmail.com; sofia.vaz@inproplant.pt

³ CEF, Centro de Ecologia Funcional, Departamento de Ciências da Vida, Universidade de Coimbra Calçada Martim de Freitas, 3000-456 Coimbra (Portugal) sandraimc@ci.uc.pt; hfreitas@ci.uc.pt; jorgecan@ci.uc.pt

⁴ Fitolab, Instituto Pedro Nunes, Rua Pedro Nunes, 3030-199 Coimbra (Portugal) aportugal@ci.uc.pt

Resumo

A UC InProPlant (http://www.uc.pt/iii/uc_inproplant) é uma parceria científico-tecnológica entre a Universidade de Coimbra, através do Laboratório de Biotecnologia Vegetal do CEF e a empresa InProPlant, Lda (Investigação e Propagação de Plantas). Esta empresa foi fundada em 2012 por um grupo de viveiristas de Coimbra, região onde se situam cerca de 80% dos viveiristas de fruteiras em Portugal. A empresa tem como objetivo principal a micropropagação em larga escala de fruteiras selecionadas pela sua produtividade e qualidade fitossanitária. A Associação UC InProPlant está implantada no pólo II da UC, numa área que inclui estufas, campos experimentais e um laboratório de Biotecnologia Vegetal totalmente equipado para as diferentes fases de propagação *in vitro*. Conta ainda com o apoio do FitoLab, um laboratório de fitossanidade situado no Instituto Pedro Nunes. O mercado português de fruteiras está completamente dependente da importação de materiais de propagação de alta qualidade, muitas vezes pouco adaptados às nossas condições ambientais, limitando assim o lucro dos produtores. Deste modo, os genótipos portugueses de interesse são relegados para segundo plano, perdendo-se material vegetal de elevado potencial. Esta situação cria distorções no mercado português que está, assim, totalmente dependente da investigação e aplicações tecnológicas de outros países. Com o objetivo de reduzir esta dependência é necessário selecionar e propagar genótipos portugueses adaptados às nossas condições edafo-climáticas e certificá-los de acordo com os guias europeus da CPVO (Community Plant Variety Office). Desde o início da sua atividade, a Associação tem desenvolvido protocolos de micropropagação de várias espécies cultivadas no nosso país como o medronheiro (*Arbutus unedo*), a alfarrobeira (*Ceratonia siliqua*), o limoeiro (*Citrus limon*) e o castanheiro (*Castanea sativa*). Estão ainda a ser testadas outras espécies, como a oliveira (*Olea europaea*), macieiras (*Malus domestica*), pereiras (*Pyrus communis*) e a amoreira (*Morus nigra*). Espécies subtropicais como o kiwi (*Actinidia deliciosa*) estão também a ser testadas. Neste âmbito, a Associação estabeleceu algumas parcerias com produtores com vista à análise do potencial de produção do tamarilho (*Cyphomandra betacea*) em diferentes zonas do país. Num futuro próximo serão feitos testes semelhantes com a feijoa (*Feijoa sellowiana*), outra espécie fruteira subtropical de elevado potencial de exploração no nosso país. Os resultados obtidos mostram que a micropropagação pode ser uma técnica competitiva para a produção em larga escala devido à elevada qualidade fitossanitária das plantas e à possibilidade de propagação durante todo o ano. Ensaio com o objetivo de reduzir os custos da micropropagação e ulterior aclimatização de forma a tornar estes protocolos ainda mais competitivos estão em curso.

Palavras-chave: Aclimatização, biotecnologia, mercado de fruteiras, produção, qualidade fitossanitária.

Abstract

UC InProPlant: micropropagation and certification of fruit tree genotypes

UC InProPlant is a partnership between the Laboratory of Plant Biotechnology of the University of Coimbra (UC) and InProPlant (*In Vitro* Propagation of Plant), a private company founded in 2012 by a group of nurserymen and based in the city of Coimbra, a county that accounts for about 80% of the fruit tree nurseries in Portugal. The main goal of InProPlant is the large scale micropropagation of selected fruit trees based on their production and phytosanitary quality. UC InProPlant is located at Pólo II of the UC, an area that includes greenhouses, experimental clonal orchards and a Laboratory of Plant Biotechnology ready to support all the *in vitro* propagation steps. FitoLab, a Phytopathology Laboratory based in the Instituto Pedro Nunes is also involved in this partnership. The Portuguese market of fruit trees is largely dependent on the importation of good quality propagation materials, which are often poorly adapted to our environmental conditions thus confining the profits of plant producers. To reduce this dependence it is necessary to select and propagate more productive genotypes in our climatic conditions and certify them according to the CPVO (Community of Plant Variety Office) European guidelines. Since the beginning of its activity, UC InProPlant has developed protocols for the micropropagation of several species cultivated in our country such as strawberry tree (*Arbutus unedo*), carob (*Ceratonia siliqua*), lemon (*Citrus limon*) and chestnut (*Castanea sativa*). Other species like olive (*Olea europaea*), apple (*Malus domestica*), pear (*Pyrus communis*), black mulberry (*Morus nigra*) and a subtropical species such as the kiwi (*Actinidia deliciosa*) have been tested. In this context, UC InProPlant has established some partnerships with local producers in order to perform field trials to evaluate production potential of some species, such as tamarillo (*Cyphomandra betacea*). In the future the same tests will be applied to other subtropical fruit tree with high potential in our country, like feijoa (*Feijoa sellowiana*). The result so far obtained show that micropropagation can be a competitive technique for large scale propagation due to the superior quality of the plants. Efforts are being made to reduce production costs in order to make micropropagation protocols more competitive.

Keywords: Acclimatization, biotechnology, fruit tree market, phytosanitary quality, production

Associação UC InProPlant e as suas missões

A Associação UC InProPlant – Investigação, Desenvolvimento Tecnológico e Internacionalização é uma entidade privada, sem fins lucrativos, criada com o intuito de dar resposta aos problemas existentes na fruticultura nacional. Trata-se de uma parceria inovadora entre a Universidade de Coimbra, através do Centro de Ecologia Funcional do Departamento de Ciências da Vida e a empresa InProPlant, que reúne, por um lado a valência de investigadores da área da biotecnologia e biologia das plantas da UC e, por outro, os conhecimentos técnicos de um conjunto de viveiristas da região Centro. É um projeto que aposta na transferência de conhecimento efetivo para os viveiristas, garantindo a introdução no mercado de genótipos certificados, de proveniência conhecida e com elevada qualidade fitossanitária. É missão da Associação UC InProPlant o exercício de atividades de investigação e desenvolvimento experimental, ensaio, formação, transferência de tecnologia e conhecimento, e consultoria nos domínios do sector agro-frutícola e agro-florestal, biologia e ecologia, fitossanidade, bioenergia, ambiente, biotecnologia, desenvolvimento sustentável e rural, promoção e sensibilização para a dinamização do setor agro e defesa do ambiente bem como quaisquer outros setores relacionados com estes.

A parceria estabelecida, UC-INPROPLANT, visa o estabelecimento de uma unidade biotecnológica de micropropagação e condução de ensaios em condições controladas, para o estabelecimento de protocolos que permitam o desenvolvimento, caracterização e propagação de genótipos/variedades nacionais como o medronheiro (*Arbutus unedo*), a alfarrobeira (*Ceratonia siliqua*), o limoeiro (*Citrus limon*) e o castanheiro (*Castanea sativa*), entre outras, à escala comercial e com uma elevada qualidade fitossanitária e produtividade. São objetivos específicos desta Associação: i) o estabelecimento de uma unidade biotecnológica de micropropagação e condução de ensaios em condições controladas (esta unidade já se encontra instalada e em funcionamento – fig. 1); ii) a seleção e caracterização de variedades ou genótipos nacionais com boa produtividade com vista à sua certificação e registo no catálogo nacional de variedades; iii) adaptação e desenvolvimento de técnicas de micropropagação e aclimatização para genótipos nacionais de interesse, em larga escala e livres de doenças; iv) avaliação da resistência/tolerância das variedades a múltiplas doenças ou pragas através da condução de ensaios em condições controladas; e v) divulgação dos resultados e aconselhamento técnico-científico a viveiristas e produtores de frutícolas.

A necessidade da fundação da UC InProPlant

Atualmente, a propagação de plantas em viveiros é feita essencialmente por técnicas de macropropagação convencionais como a enxertia, a estacaria ou sementeira. Relativamente à enxertia existem problemas associados à qualidade fitossanitária do material propagado aos quais acrescem problemas de sazonalidade e ciclo vegetativo das plantas. Para além disso, muito do material atualmente propagado tem origem noutros países, podendo ser uma fonte de doenças e pragas, dado o fraco controlo desses materiais e a facilidade com que entram nos circuitos de mercado. A propagação a partir de sementes é muitas vezes mais eficaz e economicamente competitiva, mas coloca outros problemas. A fraca capacidade germinativa de algumas espécies e a perda de viabilidade seminal, devido à sua recalcitrância, é uma condicionante importante. Também importante é a grande diversidade genética das plantas produzidas por semente, o que se reflete de forma negativa na produção, pois a uniformidade genética do material a propagar não é assegurada. Esta situação é frustrante para os produtores pois limita a produção refletindo-se nos preços praticados aos consumidores que são indiretamente afetados. Além disso, a variabilidade genética reduz diretamente a produção e aumenta os custos relacionados com a colheita, pois a altura desta não é uniforme para as diferentes plantas. Para além das limitações já referidas, importa salientar o facto de o mercado ser cada vez mais competitivo, e os clientes exigirem, cada vez mais, variedades (nacionais) com elevado potencial produtivo, adaptabilidade edafo-climática e com elevadas garantias de sanidade. Grande parte destes problemas pode ser ultrapassada utilizando protocolos de propagação de plantas *in vitro* (micropropagação) (fig. 1B a E). Para além de permitir taxas de propagação bastante elevadas e em qualquer altura do ano, estas técnicas asseguram uma melhor qualidade fitossanitária do material produzido, uma vez que as plantas são propagadas em condições assépticas, estando livres de microrganismos ou de infeções virais.

A solução providenciada pela UC InProPlant

Ao longo dos anos o Laboratório de Biotecnologia Vegetal do Centro de Ecologia Funcional da UC tem estudado vários aspetos da micropropagação de plantas tendo desenvolvido protocolos para a propagação de um número considerável de espécies.

A micropropagação consiste na multiplicação de plantas em condições laboratoriais (*in vitro*) a partir de material vegetal colocado em cultura (designado explante) em condições assépticas e em meios de cultura adequados.

Trata-se de uma extensão das técnicas de clonagem praticadas desde há milhares de anos e que se baseiam no potencial que as plantas apresentam de se propagar de forma assexuada (vegetativamente). A novidade das técnicas de clonagem *in vitro* reside no facto das dimensões

do material a propagar serem diminutas, o que permite acomodar as diferentes fases da propagação em unidades de dimensão restrita e no facto da propagação poder ser feita em condições assépticas, evitando a contaminação por agentes patogénicos, garantindo uma elevada qualidade fitossanitária do material propagado. Existem atualmente vários métodos de micropropagação: 1) proliferação de meristemas (fig.1C a E), 2) organogénese e 3) embriogénese somática. Qualquer destes métodos apresenta um grande potencial de propagação e a sua escolha depende dos objetivos a atingir e das plantas a propagar. A proliferação é o método de eleição escolhido para muitas espécies, entre elas muitas árvores e arbustos, pois tem a vantagem de os meristemas a utilizar já existirem no material de origem.

Com base neste procedimento, unidades de investigação e empresas do sector agro-florestal de diferentes países utilizam esta tecnologia com diferentes objetivos que vão desde estudos de ciência fundamental até à conservação de espécies ameaçadas e à propagação de plantas selecionadas.

As plantas clonadas *in vitro* podem ser caracterizadas utilizando marcadores moleculares de forma a assegurar a origem do material e a sua proteção em termos de propriedade intelectual.

Com a incorporação da biotecnologia no sistema de clonagem, pretende-se aumentar a taxa de propagação para satisfazer os mercados e incrementar a qualidade fitossanitária das plantas comercializadas, fazendo o despiste de doenças de origem fúngica e viral. Nesta vertente, a Associação conta com a colaboração do laboratório FitoLab, Laboratório de Fitossanidade do IPN (Instituto Pedro Nunes), já reconhecido pelas entidades competentes (DGAV) para a deteção de algumas doenças.

Numa região em que se situam muitos viveiros de citrinos, pomóideas e prunóideas, resinosas e oliveiras, com grande impacte económico a nível local e regional e responsáveis pela produção e comercialização duma parte significativa deste tipo de árvores a nível nacional, é imperativo que o material vegetal que sai destes viveiros reúna as condições fitossanitárias definidas pela legislação. Por esse motivo, o FitoLab é de grande importância para este sector de atividade.

Sabendo que, em muitos casos, os serviços estatais que garantem estas certificações, não têm dado resposta em tempo útil, este laboratório de investigação e de prestação de serviços do IPN tornou-se essencial e uma mais-valia para as associações de viveiristas. É um laboratório de fitossanidade independente, com supervisão de docentes/investigadores ligados à Universidade de Coimbra e a unidades I&DT, reunindo competências, conhecimentos e capacidade de resposta, garantido qualidade e celeridade nos processos e um serviço de consultadoria competente.

A Associação do FitoLab ao projeto UC InProPlant, por subcontratação dos seus serviços permitirá certificar em termos fitossanitários o material micropropagado em diferentes fases do processo, bem como avaliar em ensaios a resistência/suscetibilidade de várias variedades e génotipos a diferentes organismos fitopatogénicos.

Em diversos países existe já a aplicação destes procedimentos a um nível industrial e competitivo, permitindo a obtenção de plantas em elevado número num curto espaço de tempo, com elevada qualidade produtiva e fitossanitária. Em Portugal, no entanto, não existe ainda a aplicação deste conhecimento a uma escala industrial, apesar de o *know-how* existir e ser aplicado a um nível de investigação.

A InProPlant, enquanto promotora deste projeto, pretende adquirir o conhecimento e as capacidades para aplicar estes procedimentos a uma escala empresarial, colmatando assim a lacuna atualmente existente no nosso país e assumindo um carácter pioneiro e inovador neste sector. A Universidade de Coimbra, por sua vez, permite a junção e transferência de conhecimentos entre as partes envolvidas, através da evolução do conhecimento científico para uma escala de investigação científica a nível industrial.

A unidade biotecnológica e os resultados desta Associação estão a ser implementados numa zona onde a atividade económica relacionada com a propagação de plantas é importante,

e onde existe muito trabalho de base feito no que diz respeito à seleção das plantas com as características mais interessantes pois cerca de 80% dos viveiristas nacionais encontram-se instalados nesta região, segundo o Instituto Nacional de Estatística. Por outro lado, a UC tem formado ao longo dos anos muitos investigadores com conhecimentos e competências científicas nesta área que integram o projeto.

Algumas das espécies alvo com que a Associação trabalha têm uma larga tradição no mercado, como os citrinos, castanheiros, oliveiras. Já outras são objeto de procura mais recente, como é o caso do medronheiro e do tamarilho.

Resultados alcançados e perspetivas futuras da UC InProPlant

O corpo técnico da InProPlant tem desenvolvido um trabalho de identificação de material vegetal de diferentes espécies fruteiras que pode ser explorado em termos do desenvolvimento de novos cultivares mais adaptados e mais interessantes para a produção e para os consumidores. Deste modo, para além da otimização e implementação de protocolos de clonagem de espécies fruteiras, pretende-se também proceder à seleção e caracterização de genótipos ou variedades nacionais com boa produtividade e com vista à sua certificação e registo no catálogo nacional de variedades. Este registo das variedades nacionais é de crucial importância para a sua produção e entrada no mercado, tornando ainda os produtores nacionais mais competitivos relativamente aos produtores estrangeiros, e evitando a importação de plantas. Por outro lado, as plantas poderão chegar também a outros mercados onde a procura é atualmente muito forte, caso dos mercados africanos de língua oficial portuguesa.

Ainda relevante é a possível inscrição de material vegetal no catálogo europeu de variedades (CPVO – *Community Plant Variety Office*) com vista à sua comercialização noutros países, que permitirá aumentar as margens de lucro e evitar a saída de divisas.

A micropropagação é uma poderosa ferramenta para a multiplicação de genótipos selecionados, pois permite manter as características genótípicas de material superior. Em Portugal, a tradição de melhoramento de espécies fruteiras é limitada, o mesmo se podendo dizer da certificação de materiais de base para propagação e comercialização. De facto, a consulta dos catálogos de variedades mostra a existência de um elevado número de variedades de espécies de cereais, e espécies hortícolas, mas um reduzido número de espécies fruteiras. Esta lacuna, que está certamente relacionada com o facto dos programas de certificação e melhoramento de espécies lenhosas serem mais complexos e requererem mais tempo do que os de espécies anuais. No entanto, tal situação não deve servir de desculpa para que não se possa valorizar o rico património genético que temos em algumas espécies fruteiras, em particular naquelas que são típicas do nosso país, como o medronheiro, mas também daquelas que, por serem cultivadas em Portugal há muito tempo, apresentam já genótipos adaptados às nossas condições ambientais, como é o caso dos citrinos. O registo de genótipos de interesse é um passo essencial para tornar a fileira dos viveiros mais competitiva a nível internacional e para a redução com os custos de importação de material de outros locais com as consequências negativas que esta situação implica. Neste contexto, a aposta que esta Associação faz na certificação de genótipos utilizando as normas internacionais da CPVO é um objetivo que merece ser destacado e que deve servir de base para futuros programas de certificação de variedades de outras espécies fruteiras.

Desde o início da sua atividade, a Associação tem desenvolvido protocolos de micropropagação de várias espécies cultivadas e de interesse económico no nosso país, das quais se destacam o medronheiro (*Arbutus unedo*), a alfarrobeira (*Ceratonia siliqua*), o limoeiro (*Citrus limon*) e o castanheiro (*Castanea sativa*). Estão ainda a ser testadas outras espécies, como a oliveira (*Olea europaea*), macieiras (*Malus domestica*), pereiras (*Pyrus communis*) e a amoreira (*Morus nigra*) de forma a estabelecer protocolos de propagação em larga escala mais competitivos. Espécies subtropicais como o kiwi (*Actinidia deliciosa*) estão também a ser

testadas, dada sua importância no mercado das fruteiras, para que possa haver uma vasta produção desta fruteira, assegurando a sua fitossanidade.

Neste âmbito, a Associação estabeleceu algumas parcerias com produtores com vista à análise do potencial de produção do tamarilho (*Cyphomandra betacea*) em diferentes zonas do país.

Num futuro próximo serão feitos testes semelhantes com a feijoa (*Feijoa sellowiana*), outra espécie fruteira subtropical de elevado potencial de exploração no nosso país.

Os resultados até agora obtidos mostram que a micropropagação pode ser uma técnica competitiva para a produção em larga escala devido à elevada qualidade fitossanitária das plantas e à possibilidade de propagação durante todo o ano. Ensaaios com o objetivo de reduzir os custos da micropropagação e ulterior aclimatização (fig. 1F e G) de forma a tornar estes protocolos ainda mais competitivos estão em curso.

Agradecimentos

Este projeto foi financiado pelo Instituto de Emprego e Formação Profissional através do financiamento de dois estágios profissionais (Ana Alves e Elsa Baltazar), pelo programa Mais Centro - Aquisição de equipamento para infraestrutura científica da Associação UC InProPlant (Candidatura: ICT_2013_05_006_5325 ID: 64759) e pelo projeto PRODER enquadrado no Subprograma 4, Medida 4.1 Cooperação para a inovação. Nº 49589 – Seleção e caracterização de novos genótipos de limoeiro e alfarrobeira.

Referências

Associação UC InProPlant. Universidade de Coimbra. 2014. www.uc.pt/iii/uc_inproplant
Community of Plant Variety Office (CPVO). 2014. www.cpvo.europa.eu
Instituto Nacional de Estatística (INE). 2014. www.ine.pt

Quadros e figuras



Figura 11 - Micropropagação e aclimatização de genótipos selecionados pela UC InProPlant. A – Câmara de crescimento do laboratório de Biotecnologia Vegetal, onde plantas crescem sob condições controladas; B – Sala de manipulação asséptica, onde as plantas são multiplicadas ou selecionadas para o enraizamento; C a E – Propagação de rebentos de linhas clonais a partir da cultura de segmentos nodais em meio de cultura favorável ao crescimento de cada genótipo; F – Aclimatização de amoreiras previamente enraizadas e G – Estufas para o posterior crescimento de plantas aclimatizadas.

Contributo para a caracterização de uma variedade de pêra tida como Portuguesa (*Pyrus communis* L.)

Helena Trindade¹, Susana C. Lucas², Justina Franco³, Augusto V. Assunção⁴ & A. Cristina Figueiredo¹

¹Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências de Lisboa, DBV, IBB, Centro de Biotecnologia Vegetal, C2, Piso 1, Campo Grande, 1749-016 Lisboa, Portugal. htrindade@fc.ul.pt, acsf@fc.ul.pt

²Quinta da Ferradura EN 232 km 83.9 6200-801 Vale Formoso, Covilhã. susanalucas1@gmail.com

³Departamento de Ciências Agronómicas, Escola Superior Agrária de Coimbra, Bencanta, 3045-601, Coimbra. jfranco@esac.pt

⁴Divisão de Apoio ao Setor Agroalimentar, Direção Regional de Agricultura e Pescas do Norte, Quinta de S. José, S. Pedro de Merelim, 4700-859 Braga. augusto.assuncao@drapn.mamaot.pt

Resumo

A pereira (*Pyrus communis* L.) é a terceira espécie de fruteira mais plantada em Portugal, após as laranjeiras e macieiras. A produção nacional de pêras é dominada (95%) pela variedade Rocha, apesar da existência de numerosas variedades locais e algumas estrangeiras, cuja expressão no mercado permanece muito baixa. No contexto da valorização da diversidade de germoplasma, é de salientar uma variedade de pereira, resultado de uma semente do acaso (designada de Tavares ou pT) originária de uma quinta em Tábua, Portugal. Como parte de um estudo global desta variedade, foram realizadas análises comparativas de parâmetros morfológicos e dos voláteis dos frutos de pT e dos de pêra Rocha. Com um calibre médio de 60 e 70 mm, o fruto verde, matizado raiado de vermelho na face voltada para o sol, apresentou 18-20 °Brix, uma firmeza de 2 a 3 kg/0,5 cm² e acidez de 2-3 g de ácido málico/L. O perfil volátil revelou semelhanças entre os frutos pT e Rocha, tendo como componentes dominantes, acetato de hexilo, acetato de butilo, *trans*, *trans*- α -farneseno e ácido palmítico, encontrando-se as principais diferenças nos compostos minoritários (<5%). Para a caracterização molecular utilizaram-se marcadores de ISSR, tendo sido seleccionadas 18 variedades de *P. communis* nas Quintas do Vidago e Sergude (INIAV), e duas outras espécies de *Pyrus*, *P. calleryana* e *P. serulata*. Dos 24 *primers* de ISSR inicialmente testados, foram seleccionados 17 que geraram 231 bandas, das quais 220 eram bandas polimórficas, correspondendo a 95,2% de polimorfismo. Os ISSR revelaram ser marcadores moleculares adequados, permitindo discriminar as diferentes variedades de pereira, evidenciando que esta semente do acaso é distinta da cultivar Rocha e Williams incluídas na análise. A avaliação do perfil volátil e outros parâmetros das diversas variedades de frutos serão também fundamentais, por serem determinantes na sua qualidade.

Palavras-chave: Rosaceae, ISSR, variedade, marcadores moleculares, voláteis

Abstract

Contribution to the characterization of a putative Portuguese pear cultivar (*Pyrus communis* L.).

Pear (*Pyrus communis* L.) represents in area the third fruit species planted in Portugal, just after orange and apple trees. Portuguese pear production is dominated by 'Rocha' cultivar (95%) despite the existence of numerous local and foreign varieties, whose market expression remains very low. Considering the valorization of germplasm diversity a new pear variety, resulting from a chance seedling (and designated as "Tavares" or pT) originally collected from a farm in Tábua, Portugal deserves some attention. As part of a wider study of this cultivar, comparative analyses of morphological parameters and volatiles of pT and "Rocha" cultivar were performed. With an average pyriform diameter/length of 60/70 mm, the fruit showed yellow, green variegated colour with reddish blush at the side facing the sun, with 18-20 °Brix, a firmness from 2 to 3 kg/0.5 cm² and an acidity of 2-3g of malic acid /L. Hexyl acetate, butyl acetate, *trans*,*trans*- α -farnesene and palmitic acid dominated the volatiles of the pear under study, which were similar to those from Rocha pear, and the main differences were found in

the minor compounds (<5%). The molecular characterization was performed with ISSR markers, by comparison with 18 varieties of *P. communis* collected at Quintas do Vidago and Sergude (INIAV) and included other two *Pyrus* species, *P. calleryana* and *P. serulata*. Twenty-four ISSR primers were tested initially and 17 were chosen yielding 231 bands with 220 polymorphic, which corresponds to 95.2% polymorphism. ISSR were considered adequate molecular markers for this analysis because they allowed discriminating different pear varieties. This analysis revealed also this chance seedling pear to be distinctive from Rocha and Williams cultivars. The evaluation of the volatile profile and other fruit parameters will be of major importance due to their relevance on fruit quality.

Keywords: Rosaceae, ISSR, cultivar, molecular markers, volatiles

Introdução

A pereira (*Pyrus communis* L.) é uma das espécies frutícolas mais importantes, não só no nosso país mas também a nível mundial. A pêra é um fruto com elevada concentração de antioxidantes (compostos fenólicos e vitamina C) que é apreciado não apenas pelo seu valor alimentar, mas também do ponto de vista medicinal, pelo uso da infusão como diurético e uricolítico (Feijão, 1979; Tecedeiro, 1996).

De todas as variedades em produção em Portugal, a pêra Rocha é a variedade por excelência, tendo o registo de Denominação de Origem Protegida (DOP). No entanto, a inovação varietal assume uma grande importância para o desenvolvimento de uma fruticultura competitiva. O número de variedades regionais de pereira existentes em Portugal é muito elevado, tendo sido feito um esforço importante na caracterização dessas variedades (AGRO 158, 2006; Godinho e Lampreia, 2006), resultando na elaboração de fichas pela Direcção Geral de Protecção de Culturas (DGPC). Algumas destas variedades foram recolhidas e encontram-se plantadas, sob a forma de enxerto, em colecções, das quais se destacam a colecção existente nas Quintas de Sergude (Felgueiras) e do Vidago.

A qualidade do fruto é determinada por várias características, incluindo o aspecto, sabor, textura e a aspereza. Os componentes voláteis determinam o odor e sabor do fruto e são extremamente importantes para a qualidade da pêra e sua aceitação pelo consumidor. Esta componente aromática foi já estudada em mais de 50 variedades de pêras, permitindo a identificação de mais de 300 constituintes, dos quais sobressaem os álcoois (alifáticos e aromáticos), os aldeídos (alifáticos e aromáticos), as cetonas, ésteres (C₁-C₁₀; C₁₂-C₁₄), hidrocarbonetos, terpenos, ácidos, compostos com enxofre, entre outros. Os ésteres alifáticos são os componentes dominantes na componente aromática da pêra, no entanto a comparação de resultados entre diferentes cultivares tem sido dificultada pelo processo analítico utilizado, o qual pode ter influência na determinação dos voláteis (Rapparini e Predieri, 2003).

A avaliação da diversidade genética presente em colecções de germoplasma pode ser realizada através de marcadores moleculares tais como os *Inter-Simple Sequence Repeat* (ISSR). Estes marcadores baseiam-se na reacção de polimerase em cadeia, PCR (*Polymerase Chain Reaction*) e têm sido utilizados para a discriminação de cultivares em muitas fruteiras incluindo as pereiras (Monte Corvo et al, 2001). Os ISSR consistem numa técnica baseada nos microssatélites e são muito úteis para estudos de genoma (Zietkiewicz et al, 1994).

Reconhecida a importância da pereira em Portugal, pretendeu-se com este trabalho iniciar a caracterização molecular, morfológica e da componente volátil, de uma variedade proveniente de uma “semente do acaso” originária de uma quinta em Tábua (concelho de Oliveira do Hospital), entre 1999 e 2000. Numa avaliação preliminar, esta variedade apresentou-se muito promissora em termos de valor organoléptico e poder de conservação pós-colheita, sendo necessário fazer a avaliação da mesma recorrendo a marcadores moleculares, numa análise comparativa com outras variedades locais.

Material e Métodos

Caracterização dos frutos

Para caracterizar os frutos mediu-se o calibre médio (mm) na zona do diâmetro equatorial. A dureza (kg/0,5 cm²) da polpa foi medida com um penetrómetro digital (T.R. Italy) munido com a ponteira de 8 mm, fazendo 4 medições por frutos, uma em cada quadrante, dado o

reduzido número de frutos que constituíam a amostra. O teor de sólidos solúveis (°Brix) foi medido colocando algumas gotas de sumo num refractómetro digital (Atago). A acidez titulável (g/L de ácido málico) foi medida de acordo com a NP/EN 12147.

Análise de voláteis dos frutos

Os frutos da pêra em estudo (pT) foram colhidos, em quatro anos consecutivos (2010 a 2013), num total de nove amostras, e analisados após serem mantidos a 6°C em atmosfera normal durante 4 meses. Os frutos de pêra Rocha (pR) foram obtidos comercialmente, ou do produtor (2010 e 2011, respectivamente), num total de quatro amostras. Os voláteis foram isolados por hidrodestilação e analisados por Cromatografia Gasosa e Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massa de acordo como detalhado em Mendes et al (2013).

Amplificação com ISSR

Para o estudo com marcadores moleculares, foram recolhidas amostras de 18 variedades de *Pyrus communis* e amostras de *P. calleryana* e *P. serulata*, das Quintas de Sergude (Felgueiras) e Vidago, bem como exemplares de duas árvores existentes na Quinta em Tábua, perfazendo um total de 22 indivíduos (Quadro 1). Em cada local, foram recolhidas folhas jovens de um exemplar único, que foram armazenadas no laboratório a -20°C até processamento das amostras.

O DNA total foi extraído de cerca de 1,5 g de folhas, pelo método descrito por Doyle and Doyle (1987) modificado por Trindade et al (2008). O DNA foi resuspenso em tampão TE, diluído a 10 ng mL⁻¹ no mesmo tampão e armazenado a 4°C.

As amplificações com ISSR foram realizadas num volume de 25 µL contendo 10 ng de DNA, 1×PCR buffer, 1 µg µL⁻¹ BSA, 1,5 mM MgCl₂, 200 mM dNTPs, 1mM de primer e 0,8U Taq DNA polimerase (Promega). Foram escolhidos 17 primers dos 24 inicialmente testados, tendo sido optimizadas as condições de ciclagem do PCR. A selecção dos primers teve como base o elevado polimorfismo e a boa reprodutibilidade nos fragmentos gerados. O programa base de amplificação consistiu numa desnaturaçao inicial de 5 min a 95°C, seguido de 40 ciclos de 1 min a 95°C, 45 s à temperatura de *annealing* seguido de 2 min a 72°C, terminando numa extensão de 7 min a 72°C. A temperatura de *annealing* foi de 52°C (primers 807, 857, 895, 899 e 900), 54°C (primers 840, 846, 880, 892), 55°C (841, 862, 866,) ou de 58°C (826, 834). Para os primers 812, 823, 825, 827, 835, 858, 868, 901, 903, 904 considerando o programa de PCR base, optou-se por um programa com *touchdown*, com 12 ciclos iniciais a uma temperatura de *annealing* de 57°C, seguido de decréscimo de 0,5°C/ciclo até 52°C. As amplificações foram realizadas num BioRad T100. As reacções de PCR foram realizadas pelo menos duas vezes para cada primer de ISSR. Os produtos de PCR foram separados num gel de agarose a 2%, utilizando tampão 1× TAE (Tris–Acetato) e corados com Green Safe (NZytech). A imagem foi capturada num sistema Gene Flash e os géis tratados com o software Gene Tools (Syngene, UK) considerando-se apenas os fragmentos com tamanho compreendido entre 300 bp–2.8 kb. A similaridade genética foi estimada utilizando-se o coeficiente de Dice, e a análise de Cluster gerou um dendrograma construído considerando o UPGMA e utilizando o software NTSYS (Rohlf, 1992).

Resultados e Discussão

Caracterização dos frutos

A pêra Tavares tem forma piriforme típica, mais ou menos alongada, com um pedúnculo curto e carnudo. O fruto, verde, matizado raiado de vermelho na face voltada para o sol, apresentou um calibre médio de 60 e 70 mm (Figura 1, Quadro 2). Em regra, não se observou a rugosidade típica de muitas pêras, designada por carepa. A polpa apresentou-se branca, doce, não ácida, sumarenta e de óptimo paladar (Figura 1, Quadro 2). Com base na comparação dos diferentes parâmetros verificou-se que a pêra Tavares difere das cultivares descritas na literatura, e inicialmente referenciadas como potenciais cultivares (Quadro 2).

Análise de voláteis dos frutos

Tendo em conta a importância económica da pêra Rocha (pR) em Portugal, os frutos desta variedade foram utilizados na análise comparativa da componente volátil isolada dos frutos da pêra Tavares (pT). Os frutos pT e pR foram analisados 4 meses após a colheita e armazenamento em ambiente controlado. O rendimento foi, nos dois casos, <0,05% (v/p.f.).

A análise comparativa do perfil de compostos voláteis dos frutos pT e pR mostrou, de entre os 78 identificados em pR e 91 em pT, a dominância do mesmo tipo de compostos (Quadro 3). Entre os compostos dominantes (Quadro 3), destacaram-se o acetato de hexilo, o *n*-hexanol, o acetato de butilo, o *trans,trans*- α -farneseno e o ácido palmítico. Os ésteres e compostos terpénicos revelaram-se assim maioritários, em ambos os cultivares, ainda que se verifiquem diferenças importantes, em termos de compostos minoritários. Estas diferenças podem determinar a desigualdade aromática dos dois cultivares.

Análise de ISSR

A análise de ISSR baseou-se em 17 *primers*, 807, 857, 840, 846, 880, 826, 834, 812, 823, 825, 827, 835, 858, 868, 901, 903, 904, seleccionados de um conjunto de 24 testados inicialmente. Estes *primers* geraram 231 bandas, das quais 220 eram bandas polimórficas, correspondendo a 95,2% de polimorfismo. Os *primers* 841, 862, 866, 892, 895, 899 e 900 foram excluídos da análise por não ter havido amplificação ou esta ser muito fraca. A interpretação do dendrograma resultante da análise molecular (Figura 2) revelou que os acessos da cultivar Williams se agrupam próximos na análise de Cluster (*cf.* caixa na Fig. 2), enquanto a cultivar Rocha parece ter maior variabilidade genética, evidenciado pelo acesso PcRo16 se agrupar mais afastado dos acessos PcRo1 e PcRoC (todos pertencentes à cultivar Rocha) no dendrograma. Considerando as duas espécies de *Pyrus* incluídas na análise, *P. serulata* revelou ser geneticamente mais distante dos restantes indivíduos, formando um grupo à parte, enquanto *P. callieriana* agrupou com os restantes e separado de *P. serulata*. A pereira designada de Tavares e identificada como PcpT na análise molecular, revelou ser distinta de todas as variedades analisadas. Os dois exemplares de pereira existentes na Quinta em Tábua (PcpT e PcI2), apesar de terem frutos semelhantes no que concerne ao sabor (M. Vicente, comun. pessoal) são geneticamente distintos um do outro, agrupando próximos no dendrograma (*cf.* assinalado na Fig.2).

A utilização de marcadores de ISSR na identificação de cultivares de pereira tinha já sido realizada previamente por Monte-Corvo *et al* (2001), que através da utilização de 8 *primers* de ISSR concluíram sobre o poder discriminatório destes marcadores. Na presente análise foram utilizados 17 *primers* de ISSR, o que confere um grande suporte à análise.

Conclusões

A cultivar de pereira estudada no presente trabalho revelou ser distinta dos outros acessos testados, nomeadamente das cultivares Rocha e Williams, que são as pêras com maior relevância no mercado nacional. As boas propriedades organolépticas do fruto permitem considerar esta variedade como muito interessante para introdução no mercado. A caracterização do fruto e dos estados fenológicos, ainda incompleta, será fundamental para uma correcta classificação da variedade. Por outro lado, a qualidade aromática superior dos frutos é uma característica extremamente importante, sendo necessária a avaliação aprofundada deste parâmetros em fruto fresco e após conservação em diferentes condições.

Agradecimentos:

Eng. Rui Sousa (INRB), Eng. Arminda Lopes (ESAV), Sr Fernando Tavares (Picos de Couto), Dr Mário Vicente (Picos de Couto). Parcialmente suportado pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT) no âmbito do PEst-OE/EQB/LA0023/2011 e por Picos de Couto.

Referências

- AGRO 158. 2006. Pomóideas regionais. Fichas Varietais. Conservação dos recursos genéticos de pomóideas regionais. Projecto AGRO 158. Viseu.
- AGRO 740 2008. Valorização de variedades regionais através de modo de produção biológico, Projecto AGRO 740, ESAC/DRAPC, Coimbra, Portugal.
- ANP 2009. Caderno de especificações de pêra Rocha D.O.P. Associação Nacional de Produtores de Pêra Rocha.

- Borges, P.A.T.C. 1999. Pesquisa bibliográfica sobre variedades regionais de pomóideas. Relatório final de Estágio em Engenharia Agrícola. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real.
- Doyle, J.J. & Doyle, J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull* 19:11–15
- Feijão, R.D'O. 1979. Medicina pelas plantas. 7ª Ed. Livraria Progresso Editora, Lisboa
- Godinho, C. & Lampreia, F. 2006. IV. Pereira- *Pyrus communis* L. p IV-1 e IV-84. In: Caracterização das variedades regionais Portuguesas. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Direcção Regional da Protecção das Culturas (DGPC).
- Lucas, S.C. 2013. *Pyrus communis*: caracterização de cultivar, avaliação dos voláteis do fruto e optimização das condições de micropropagação. Tese de Mestrado em Produção de Plantas Medicinais para fins Industriais, Escola Superior Agrária de Santarém.
- Mendes, M.D.; Figueiredo, A.C.; Oliveira, M.M. & Trindade, H. 2013. Essential oil production in shoot cultures versus field-grown plants of *Thymus caespititius* *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 113: 341–351.
- Monte Corvo, L., Goulão, L. & Oliveira, C. 2001. ISSR analysis of cultivars of pear and suitability of molecular markers for clone discrimination. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 126: 517-522
- NP EN 12147 (1999). Norma Portuguesa: Sumos de frutos e de produtos hortícolas: Determinação da acidez titulável
- Rapparini, F. & Predieri, S. 2003. Pear fruit volatiles p. 237-324. In: J. Janick (ed.), *Horticultural Reviews*, Vol. 28. John Wiley & Sons.
- Rohlf, F. 1992. NTSYS-pc. Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Applied Biostatistics Inc., New York.
- Tecedeiro, L.A.V. 1996. Plantas Medicinais do Ribatejo. Garrido Artes Gráficas, Alpiarça
- Trindade, H., Costa, M., Lima, A.S., Pedro, L.G., Figueiredo, A.C. & Barroso, J.G., 2008. Genetic diversity and chemical polymorphism of *Thymus caespititius* from Pico, São Jorge and Terceira islands (Azores). *Biochem. Syst. Ecol.* 36, 790–797.
- Vaysse, P.; Scandella, D.; Masseron, A.; Mathieu, V.; Trillot M. & Marion, M. (2000) Reconnaître les variétés de pommes et de poires. Ctifl - Centre Technique Interprofessionnel des fruits et légumes, France.
- Zietkiewicz, E., A. Rafalski, and D. Labuda. 1994. Genomic fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics* 20: 176-183.

Quaros e figuras

Quadro 1- Local de colheita e designação dos exemplares utilizados na análise molecular

Local de Recolha	Designação
Quinta de Sergude- Felgueiras	
Williams Rouge- Planta 1	PcWilR1
Rocha- Planta 1	PcRo1
Precoce Moretini	PcPrMoSe
São Bartolomeu	PcSBar
Amêndoa	PcAm
Bela de Junho	PcBeJun
<hr/>	
Quinta do Vidago	
Rocha Carvalhais	PcRoC
Rocha 16	PcRo16
Amêndoa de Silgueiros 92	PcAmSil
OHF (porta-enxerto)	PcOHF
Williams 52	PcWil52
Williams 109	PcWil109
Marmela 13	PcMar13
Marmela 89	PcMar89
Rabiça 37	PcRab
Carapinha 115	PcCar
Torrão de Açúcar	PcToAç
Precoce Moretini 9	PcPrMoVi
<i>Pyrus calleryana</i> 19	Pcaller
<i>Pyrus serulata</i> 24	Pserul
<hr/>	
Quinta em Tábua	
Pereira Tavares	PcpT
Pereira 2	PcI2



Figura 1. Aspecto dos frutos da cultivar em estudo (Barra = 1cm).

Quadro 2. Parâmetros de caracterização comparativos entre dados existentes na literatura para alguns cultivares e a pêra Tavares (adaptado de Lucas, 2013).

Frutos Parâmetro	Pêra				
	Marmela	S. Bartolomeu	Rocha	Williams's	Tavares
Pedúnculo (cm)	3	4	3		2
Forma	Arredondada	Oblonga Piriforme Obovada	Variável. Dominantes as formas redonda ovada, redonda piriforme, piriforme ovada e oblonga piriforme	Piriforme, as regular, simétrica com pedúnculo carnudo	Oblonga Piriforme Obovada
Polpa (Textura)	Granitada	Granitada	Granitada	Macia	Macia
Dureza (Kg/0,5cm ²)	3,5	4,2	5,6 a 6,5	1,5 a 2,5	2,2 a 3,1
Índice Refractométrico (IR) (°Brix)	13	14	11 a 13	11 a 15	18 a 20
Acidez (Ácido málico) (g/l)	2	5	2 a 3	2 a 4	2 a 3
Calibre médio (↔ ↓) (mm)	83 e 75	54 e 74	60 e 65	65 a 70	60 e 70
Peso (g)	246	95	130		138
Matéria seca (%)	17	19			22
Referência	AGRO 740 (2008), Borges (1999)	AGRO 740 (2008), Borges (1999)	ANP (2009), Borges (1999)	Vaysse et al. (2000)	

Quadro 3. Composição química percentual média dos voláteis maioritários ($\geq 3\%$) isolados por hidrodestilação, das diferentes amostras de frutos de pêra Tavares e Rocha.

Componentes	RI	Pêra	
		Rocha	Tavares
Álcool isopentílico	836	1,6	8,8
Acetato de butilo	854	15,7	5,1
<i>n</i> -Hexanol	882	10,7	9,5
Acetato de hexilo	995	22,0	10,6
<i>n</i> -Nonanal	1073	4,1	0,2
(2 <i>trans</i> , 4 <i>cis</i>)-Decadienoato de etilo	1450	3,3	0,1
<i>trans,trans</i> - α -Farneseno	1500	8,5	8,4
δ -Cadineno	1505	0,5	3,2
<i>n</i> -Hexadecanol	1821	5,6	0,5
Acido palmítico	1908	3,6	7,9
2-Etilo hexil salicilato	1974	1,3	3,8
Acido linoleico	2125	0,7	4,0
<i>n</i> -Docosanol	2498	4,9	1,2
<i>n</i> -Nonacosano	2900		5,3

IR: Índices de retenção relativos a uma série de *n*-alcanos C₈-C₂₉, numa coluna DB-1.

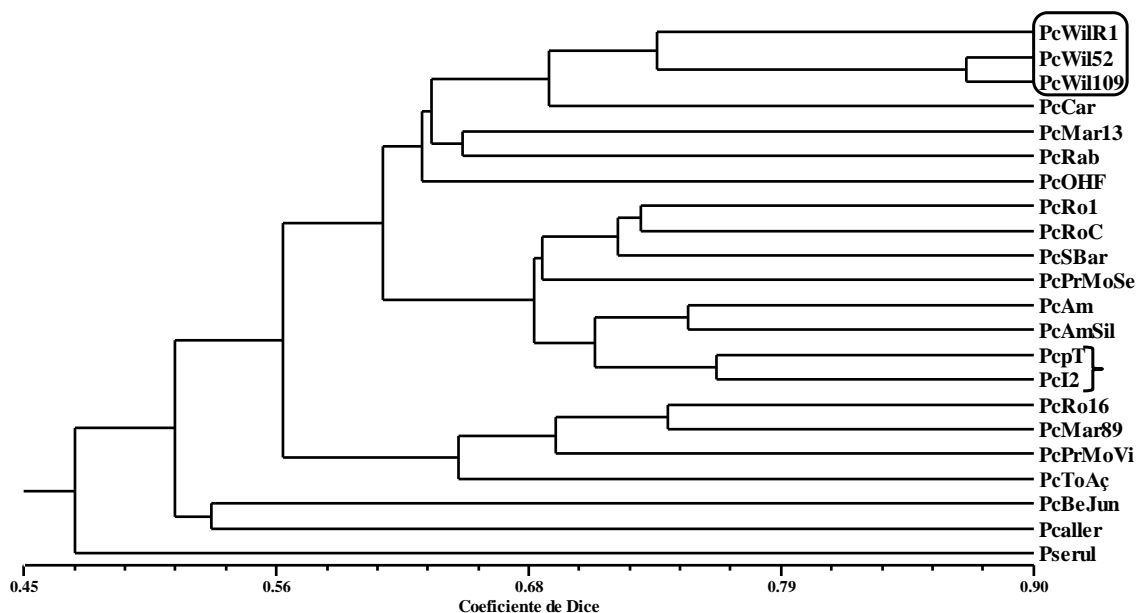


Figura 2. Dendrograma baseado no UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Average*) revelando a similaridade genética (coeficiente de Dice) entre 20 exemplares de *Pyrus communis* e dois outros de *P. serulata* e *P. calleryana*, obtida através da análise de ISSR. As designações utilizadas no dendrograma estão de acordo com a Tabela 1

Composição da semente e caracterização do óleo de semente de maracujá, *Passiflora edulis Sims edulis*, proveniente de Portugal

Ana Alves¹, Maria de Fátima Lopes-da-Silva¹, Susana Casal², José Alberto Pereira¹

¹Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5301-855 Bragança, Portugal

²REQUIMTE, Laboratório de Bromatologia e Hidrologia, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Rua de Jorge Viterbo Ferreira 228, 4050-313 Porto, Portugal

Resumo

O maracujazeiro, *Passiflora edulis Sims edulis*, é uma espécie exótica presente em Portugal continental e ilhas, onde assume alguma expressão comercial. O fruto é usualmente consumido na forma de sumo, sendo as sementes um subproduto não valorizado. Neste trabalho pretendeu-se avaliar, de forma exploratória, a composição de sementes de maracujá-roxo produzido em Portugal, bem como do seu óleo, com vista à sua futura valorização. Avaliou-se a composição elementar das sementes e no óleo procedeu-se à caracterização do perfil em ácidos gordos, composição em esteróis, teor em vitamina E (tocoferóis e tocotrienóis); à avaliação da atividade antioxidante através da capacidade redutora total, efeito bloqueador de radicais DPPH[•] e ABTS^{•+}; e avaliação da estabilidade oxidativa pelo método Rancimat.

As sementes de maracujá-roxo eram constituídas essencialmente por glúcidos (cerca de 60%) e gordura (entre 21,57 e 25,63%), e o seu óleo maioritariamente por ácidos gordos polinsaturados. O ácido gordo maioritário foi o linoleico (C18:2) (entre 75,18±0,18 e 82,07±1,20%); seguido do oleico (C18:1) (entre 7,62±1,06 e 12,94±0,18%) e palmítico (C16:0) (entre 7,77±0,57 e 8,78±0,06%). Apresenta uma quantidade considerável de: vitamina E (entre 104,48±7,45 e 138,57±5,74 mg/100 g de óleo), sendo na sua maioria δ-tocotrienol e γ-tocotrienol; e esteróis (entre 374,55±23,81 e 636,32±44,32 mg/100 g de óleo), sendo o β-sitosterol o mais abundante. Apresentou baixa capacidade redutora total (entre 23,20±1,92 e 38,74±0,85 mg CAE/kg), mas um efeito bloqueador de radicais de DPPH[•] considerável e efeito bloqueador de radicais ABTS^{•+} elevado. A estabilidade oxidativa do óleo foi baixa (de 0,54 a 1,07 h) o que, possivelmente, estará relacionado com a elevada quantidade de ácidos gordos polinsaturados. Assim, o óleo destas sementes produzidas em Portugal pode ter diferentes utilizações, desde a indústria alimentar até a aplicações na saúde.

Palavras-chave: maracujá-roxo, composição, atividade antioxidante, estabilidade oxidativa

Abstract

Composition of seed and characterization of *Passiflora edulis Sims edulis* seed oil, from Portugal

The passion fruit, *Passiflora edulis Sims edulis*, is an exotic species present in Portugal, including in its islands, where it assumes some commercial importance. This fruit is usually consumed as juice, being seeds a by-product. In this sense, the present work was intended to evaluate in an exploratory way, the composition of purple passion fruit seeds produced in Portugal, as well as its oil, in view to its possible future use. Thus, the overall composition of the seed (moisture, protein, fat, ash, carbohydrate and energy value) was measured, and in extracted oil was carried out: the characterization in terms of its fatty acid profile, composition sterol content and vitamin E (tocopherols and tocotrienols); the evaluation of antioxidant activity by assessing the total reducing capacity, blocking effect of DPPH[•] and ABTS^{•+} radicals; and evaluation of oxidative stability by Rancimat method.

The seeds of purple passion fruit consisted mostly of carbohydrates (from $60,12 \pm 1,06$ and $60,23 \pm 0,33\%$) and fat (from $21,57 \pm 4,70$ and $25,63 \pm 1,80\%$). The extracted oil was composed mainly of polyunsaturated fatty acids. The majority fatty acids were linoleic (C18:2) (from $75,18 \pm 0,18$ and $82,07 \pm 1,20\%$), oleic (C18:1) (between $7,62 \pm 1,06$ and $12,94 \pm 0,18\%$) and palmitic (C16:0) (between $7,77 \pm 0,57$ and $8,78 \pm 0,06\%$). This oil still has a considerable quantity: vitamin E (from $104,48 \pm 7,45$ and $138,57 \pm 5,74$ mg/100 g oil) and mostly δ -tocotrienol and γ -tocotrienol; sterols (from $374,55 \pm 23,81$ and $636,32 \pm 44,32$ mg/100 g oil) and β -sitosterol the most abundant. The total reducing capacity of the oil was relatively low (between $23,20 \pm 1,92$ and $38,74 \pm 0,85$ mg CAE/kg). However it had a considerable blocking effect of DPPH[•] radicals and a high blocking effect of radical ABTS^{•+}. The oxidative stability of the oil was low (0,54 to 1,07 h) which possibly is related to the high amount of polyunsaturated fatty acids. Thus, the oil of these seeds produced in Portugal may have different uses, from the food industry to health applications.

Keywords: passion fruit, composition, antioxidant activity, oxidative stability

Introdução

O maracujá é um fruto exótico que em Portugal Continental pode ser encontrado em alguns jardins ou pequenas parcelas, e nas Ilhas, em produções, sendo a variedade predominante a do maracujá-roxo (*Passiflora edulis* Sims *edulis*). Contudo, o mercado é dominado por frutos importados.

Este fruto é geralmente consumido *in natura*, e usado na indústria alimentar na confeção de sumos, refrigerantes, gelados, doces, licores, entre outros, onde apenas é utilizada a polpa, sendo as cascas e as sementes, que representam cerca de 50 e 13% do peso do fruto, normalmente descartadas. Neste sentido, é do máximo interesse encontrar vias alternativas de exploração destes subprodutos.

Diversos autores demonstraram que as sementes de maracujá-amarelo (*P. edulis* Sims *flavicarpa*), maracujá-roxo (*P. edulis* Sims *edulis*) e híbridos de maracujá (Kawanda e ‘Tainung no. 1’) são ricas em fibras, predominando as insolúveis, minerais, lípidos, proteínas e compostos antioxidantes (Chau & Huang, 2004). Por outro lado, têm uma quantidade de óleo considerável, entre 18,5 e 30,39% (Nyanzi et al., 2005; Piombo et al., 2006; Giuffré, 2007; Liu et al., 2008; Malacrida & Jorge, 2009). Neste sentido, o objetivo do presente estudo foi avaliar, de forma exploratória, a composição de sementes de maracujá-roxo produzidos no norte de Portugal, bem como do seu óleo. Para além do rendimento em óleo, foi avaliada a composição das sementes, a composição e bioatividade do óleo e sua estabilidade oxidativa.

Material e Métodos

Amostras. As amostras de maracujá foram colhidas em 2011, na zona de Barcelos e Porto, em pomares de pequena dimensão, não comerciais e de idade semelhante (4 anos). Separaram-se as sementes da polpa, e foram lavadas, desidratadas e armazenadas. Imediatamente antes de cada análise, foi triturada uma quantidade de sementes suficiente para a determinação do parâmetro a avaliar.

Composição centesimal das sementes. A humidade foi avaliada pelo método gravimétrico (AOAC, 1995). As cinzas por incineração completa a 550 ± 15 °C (AOAC, 2000). O teor de proteína bruta segundo o método Kjeldahl (AOAC, 2000). O teor de gordura total foi determinado em Soxhlet usando como solvente éter de petróleo (AOAC, 2000). O teor de hidratos de carbono foi determinado por diferença. O valor energético foi calculado usando os fatores de Atwater através da seguinte equação: Valor Energético (kcal/100 g) = $4 \times (\text{Hidratos de Carbono} (\%) + \text{Proteína} (\%)) + 9 \times (\text{Gordura} (\%))$. Todas as avaliações foram feitas em triplicado.

Composição do óleo das sementes. O perfil em ácidos gordos foi avaliado por cromatografia gasosa (GC) com detetor de ionização em chama (FID). A gordura foi previamente extraída na presença de 0,01% do antioxidante butil-hidroxi-tolueno (BHT) para preservação das amostras. Procedeu-se a uma transesterificação alcalina a frio (ISO 5509:2000) e extração com *n*-heptano (anexo II do Regulamento (CEE) nº 2568/91 da Comissão Europeia de 11 de Julho de 1991. Os resultados foram expressos em percentagem relativa de cada ácido gordo, calculado pela normalização interna da área do pico cromatográfico (ISO 5508:1990).

As mesmas extrações de gordura foram utilizadas para avaliar o teor de vitamina E, por determinação da composição em tocoferóis e tocotrienóis, por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC), segundo a norma internacional ISO 9936:2006, com algumas modificações, descritas por Amaral et al. (2005). Todo o procedimento descrito foi realizado no escuro, com tubos revestidos de folha de alumínio. Os resultados foram expressos em mg/100 g de óleo.

A determinação dos esteróis foi efetuada por cromatografia gasosa e detecção por ionização em chama (GC/FID), após saponificação, separação em cromatografia em camada fina e sililação, segundo a NP EN ISO 12228:2001. O teor em esteróis foi expresso em mg/100 g de óleo.

Atividade antioxidante do óleo das sementes. A capacidade redutora total do óleo foi determinada pelo método descrito por Capannesi et al. (2000), com algumas modificações. Os resultados foram expressos em mg CAE/kg de óleo.

Determinação do efeito bloqueador dos radicais livres DPPH[•]: efectuada de acordo com Malheiro et al. (2012).

O efeito bloqueador do radical ABTS (ABTS^{•+}) foi determinado com base na capacidade de uma amostra em inibir o radical ABTS (ABTS^{•+}) em comparação com um padrão de referência antioxidante (Trolox). A reação química do ABTS com persulfato de potássio (K₂S₂O₈), permite a formação dos radicais ABTS^{•+}. O ABTS (7mM) foi enriquecido com K₂S₂O₈ (140mM), deixando-se repousar no escuro à temperatura ambiente entre 12 a 16 horas. A solução foi preparada com etanol até à obtenção de uma absorvância ($\lambda=734\text{nm}$) de $0,70\pm0,02$. A reação realizou-se diretamente na cuvete de quartzo, com a adição de 2mL de ABTS^{•+} (Branco) e de 100 μ L de amostra de óleo. Os valores de absorvância são inversamente proporcionais à quantidade de antioxidantes presentes na amostra. Os resultados foram expressos em % inibição pela seguinte fórmula: % Inibição ABTS^{•+} = [(Abranco - Aamostra)/Abranco] x 100, em que Abranco é a absorvância a 734 nm da solução de ABTS^{•+} e Aamostra é a absorvância a 734 nm da solução de ABTS^{•+} 5 min. após a adição de 1 mL da solução da amostra.

Avaliação da estabilidade oxidativa do óleo. Foi realizada pelo método de condutividade (*Rancimat 743*, Methrom Ltd., Suíça). O fluxo de ar (filtrado, limpo e seco) era de 20 L/h e a toma de amostra de 3 g óleo era aquecida a $120\pm1,6^\circ\text{C}$.

Resultados e Discussão

Composição centesimal das sementes

A fração maioritária das sementes de maracujá são os hidratos de carbono, que corresponde a 60,23 e 60,12% nas sementes de maracujá de Barcelos e Porto, respetivamente. Os valores obtidos são superiores aos registados nas sementes de maracujá-roxo, onde se obtiveram valores de 13,19% (Jorge et al., 2009). O elevado teor obtido neste estudo pode estar relacionado com o facto de se incluir as fibras na estimativa do teor de hidratos de carbono, enquanto os outros estudos consideram somente hidratos de carbono, excluindo as fibras.

A gordura representa a segunda fração das sementes, com as do Porto (25,63%) a revelaram um teor ligeiramente superior às de Barcelos (21,57%), sendo muito similares aos teores referidos na bibliografia (entre 18,5 e 28,12%) (Nyanzi et al., 2005; Giuffré, 2007; Jorge et al., 2009). Em terceiro lugar surgem as proteínas, com 13,22% na amostra de Barcelos e 10,41% na amostra do Porto, coincidente com os 12,57 g/100 g observados por Jorge et al.

(2009). A humidade foi de 3,85 e 2,52%, respectivamente, na amostra de Barcelos e Porto. Os valores médios de teor em cinzas foram de 1,12 e 1,31% para Barcelos e Porto, respetivamente, vindo ao encontro dos valores referidos por Jorge et al. (2009) para a mesma variedade (1,47%). O valor energético das sementes de Barcelos foi de 303,90 kcal/100 g de peso fresco, o valor das sementes do Porto foi de 512,85 kcal/100 g de peso fresco, o que estará sobretudo relacionado com o facto de as sementes do Porto apresentarem maior teor de gordura em relação às sementes de Barcelos.

Composição em ácidos gordos do óleo das sementes

O ácido gordo maioritário no óleo de sementes de maracujá das amostras estudadas é o ácido linoleico (C18:2), com valores médios de 82,07 e 75,18% (Porto e Barcelos, respetivamente) (quadro 1), valores semelhantes aos reportados na bibliografia.

O segundo ácido gordo presente em termos quantitativos foi diferente, de acordo com a proveniência, sendo na amostra de Barcelos o ácido palmítico (C16:0) juntamente com o ácido oleico (C18:1), obtendo-se percentagens médias de 7,77 e 7,62%, respetivamente, e na amostra do Porto o ácido oleico (C18:1), com uma média de 12,94%, seguindo-se o ácido palmítico (C16:0) com 8,79%. Esta diferença pode dever-se às diferenças genéticas, climáticas, geográficas e grau de maturação do fruto. O ácido esteárico (C18:0) foi o quarto em termos de importância, mas já em quantidades residuais, com valores de 1,12% (Barcelos) e 1,79% (Porto).

Os restantes ácidos gordos detetados não variaram consoante as amostras e não ultrapassaram 1%, à exceção do ácido pentadecenoico (C15:1) e do ácido heneicosanoico (C21:0), que não foram detetados no óleo de sementes do Porto.

O óleo de maracujá-roxo é predominantemente constituído por ácidos gordos polinsaturados (AGP). Esta composição sugere possíveis problemas com a estabilidade oxidativa destes óleos, uma vez que os ácidos gordos insaturados são os principais alvos de agentes oxidantes. Quanto aos ácidos gordos monoinsaturados (AGM), a fração foi menor sendo de 7,93% na amostra de Barcelos e 13,23% na amostra do Porto. Os ácidos gordos saturados (AGS) foram de 9,30% (Barcelos) e de 11,02% (Porto). Foram também detetados vestígios de isómeros *trans* em ambas as amostras sendo o valor de 0,05% para a amostra de Barcelos e 0,07% para a amostra do Porto. De uma forma geral os resultados obtidos confirmam o observado por outros autores (Nyanzi et al., 2005; Piombo et al., 2006; Giuffré, 2007; Ferreira et al., 2011; Pardaui et al., 2011).

Composição em tocoferóis e tocotrienóis do óleo das sementes

Em ambos os óleos foram identificados três tocoferóis (α -, γ - e δ - tocoferol) e dois tocotrienóis (γ - e δ -tocotrienol) (quadro 2). É de notar que o δ -tocotrienol foi o isómero observado em maior quantidade, seguido do γ -tocotrienol. A vitamina E total mostrou estar em maior concentração no óleo de Barcelos, 138,57 mg/100 g de óleo comparativamente ao óleo procedente do Porto (104,48 mg/100 g de óleo).

Composição em esteróis do óleo das sementes

O β -sitosterol foi o esteroide presente em maior quantidade, seguido de um outro maioritário, um esteroide não identificado, e depois do campesterol (quadro 3). O óleo de Barcelos apresentou maior quantidade de esteróis totais (636,32 mg/100 g de óleo) relativamente ao do Porto (374,55 mg/100 g de óleo). Os resultados obtidos são em parte concordantes aos apresentados por Giuffré (2007) em que principais esteróis encontrados foram β -sitosterol (42,51%), estigmasterol (30,87%) e campesterol (11,14%).

Atividade antioxidante do óleo das sementes

Capacidade redutora total do óleo. O óleo de sementes do Porto mostrou ter maior capacidade redutora total relativamente ao óleo das sementes de Barcelos sendo, respetivamente, de 38,74 e de 23,20 mg CAE/kg de óleo (fig. 1). Mas a capacidade redutora dos extratos de

sementes e polpas podem variar mesmo dentro da mesma espécie. Algumas diferenças podem estar relacionadas com diversos fatores como a variedade, grau de maturação, época do ano, modo de cultivo, tipo de solo, clima, fatores genéticos e o modo de processamento industrial (Martínez et al., 2012).

Efeito bloqueador de radicais livres DPPH e ABTS do óleo. Para a mesma concentração de óleo testada, o óleo proveniente de sementes do Porto apresentou 44,1%, de inibição do radical DPPH[•], sendo superior à percentagem de inibição do óleo de Barcelos (29,94%) (fig. 2). Os resultados indicam que o óleo de maracujá-roxo tem uma capacidade para inibir os radicais livres de DPPH intermédia, não chegando a atingir os 50%, o que está de acordo com o observado por Ferreira et al. (2011), que obtiveram valores de EC50 cerca de três vezes superiores nos óleos extraídos em Soxhlet quando comparados com os obtidos no mercado, o que provavelmente estará relacionado com as condições de extração.

Também para a capacidade de inibição do radical ABTS^{•+} se verificou comportamento idêntico no que respeita à proveniência das amostras, contudo com valores de inibição muito superiores (fig. 2). Assim, o óleo de sementes provenientes do Porto apresentou maior percentagem de inibição (96,59%) que o de Barcelos (83,51%).

Estabilidade oxidativa do óleo

Observou-se que o óleo obtido de sementes provenientes do Porto (1,02h) apresentou um período de indução superior ao de Barcelos (0,54h), o que indica uma maior estabilidade e está de acordo com os resultados obtidos para a capacidade antioxidante. A possível maior presença, neste óleo, de compostos com esta atividade aumenta ligeiramente a sua proteção contra processos de auto-oxidação dos seus lípidos. Parte destes resultados poderão estar correlacionados com o teor em fenóis totais (capacidade redutora total), elevando assim a estabilidade oxidativa em óleos de sementes provenientes do Porto, e com o teor em AGP, superior no óleo de Barcelos. Valores superiores foram obtidos por outros autores o que estará relacionado com a composição do óleo e também diferentes condições experimentais às usadas no presente trabalho (Giuffré, 2007; Pardaul et al., 2011).

Conclusões

O estudo de sementes de maracujá-roxo proveniente de Portugal mostra que estas sementes são essencialmente constituídas por hidratos de carbono e gordura. A fração lipídica representa cerca de 23% da semente e apresenta uma percentagem elevada de ácidos gordos polinsaturados. O ácido linoleico (C18:2), o ácido oleico (C18:1) e o ácido palmítico (C16:0) prevalecem; é uma boa fonte de um ácido gordo essencial. O óleo apresenta uma razoável quantidade em esteróis e vitamina E, assim como atividade anti-radicalar. Assim, o óleo das sementes de maracujá-roxo provenientes de Portugal pode ter diferentes finalidades, desde a indústria alimentar até a aplicações na saúde.

Referências

- Amaral, J. S., Casal, S., Oliveira, M. B., Seabra, R. M. (2005) Development and evaluation of a normal phase liquid chromatographic method for the determination of tocopherols and tocotrienols in walnuts. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 28: 785–795.
- AOAC (1995). *Official Methods of Analysis*, 16th ed.; Association of Official Analytical Chemists: Arlington, VA.
- AOAC (2000). *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 17th ed.; Horwitz, W., Ed.; AOAC: Arlington, VA, Vol. II (1-3).
- Capannesi, C., Palchetti, I., Mascini, M. (2000). Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils, *Food Chemistry*, 71: 553-562.

- Chau, C. F., Huang, Y. L. (2004). Characterization of passion fruit seed fibres - a potential fibre source. *Food Chemistry*, 85: 189-194.
- Ferreira, B. S., Almeida, C. G., Faza, L. P., Almeida, A., Diniz, C. G., Silva, V. L., Grazul, R. M., Hyaric, M. (2011). Comparative properties of amazonian oils obtained by different extraction methods. *Molecules*, 16: 5874-5885.
- Giuffré, A. M. (2007). Chemical composition of purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims *edulis*) seed oil, *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, 84: 87-93.
- ISO 5508 (1990). Animal and vegetable fats and oils. Analysis by gas chromatography of methyl esters of fatty acids.
- ISO 5509 (2000). Animal and vegetable fats and oils – Preparation of methyl esters of fatty acids.
- ISO 9936 (2006). Animal and vegetable fats and oils – Determination of tocopherol and tocotrienol contents by high-performance liquid chromatography.
- Jorge, N., Malacrida, C. R., Angelo, P. M., Andreo, D. (2009). Composição centesimal e atividade antioxidante do extrato de sementes de maracujá (*Passiflora edulis*) em óleo de soja. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 39: 380-385.
- Liu, S., Yang, F., Li, J., Zhang, C., Ji, H., Hong, P. (2008). Physical and chemical analysis of *Passiflora* seeds and seed oil from China. *International Journal of Food Sciences Nutrition*, 59: 706-715.
- Malacrida, C. R., Jorge, N. (2012) Yellow Passion Fruit Seed Oil (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*): Physical and Chemical Characteristics. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55: 127-134.
- Malheiro, R., Casal, S., Lamas, H., Bento, A., Pereira, J.A. (2012). Can tea extracts protect extra virgin olive oil from oxidation during microwave heating? *Food Research International*, 48: 148–154.
- Martínez, R., Torres, P., Meneses, M. A., Figueroa, J. G., Pérez-Álvarez, J. A., Viuda-Martos, M. (2012). Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. *Food Chemistry*, 135: 1520-6.
- Nyanzi, S. A., Carstensen, B., Schwack W. (2005). A comparative study of fatty acid profiles of *Passiflora* seed oils from Uganda. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 82: 41-44.
- NP EN ISO 12228:2001 – Óleos e gorduras de origem animal e vegetal – Determinação dos teores totais e individuais de esteróis. Método por cromatografia gasosa; termo de homologação nº92/2001, de 29-03-2001; Instituto Português da Qualidade.
- Pardaul, J. J. R., Souza L. K. C., Molfetta F. A., Zamian J. R., Filho G. N. R., da Costa C. E. F. (2011). Determination of the oxidative stability by DSC of vegetable oils from the Amazonian area. *Bioresource Technology*, 102: 5873 – 5877.
- Piombo, G., Barouh, N., Barea, B., Boulanger, R., Brat, P., Pina, M., Villeneuve, P. (2006). Characterization of the seed oils from kiwi (*Actinidia chinensis*), passion fruit (*Passiflora edulis*) and guava (*Psidium guajava*). *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 13: 195-199.
- Regulamento (CEE) Nº 2568/91 da Comissão de 11 de Julho de 1991, relativo às características dos azeites e dos óleos de bagaço de azeitona, bem como aos métodos de análise relacionados.

Quadros e figuras

Quadro 1 - Composição em ácidos gordos (%) obtidos dos óleos das sementes de maracujá-roxo de Barcelos e do Porto (média \pm desvio padrão).

Nome comum	Ácido gordo	Barcelos	Porto	Valor de <i>p</i>
Ác. Palmítico	C16:0	7,77 \pm 0,57	8,78 \pm 0,06	0,008**
Ác. Oleico	C18:1c	7,62 \pm 1,06 ^a	12,94 \pm 0,18 ^b	<0,001*
Ác. Linoleico <i>cis</i>	C18:2cc	82,07 \pm 1,20 ^a	75,18 \pm 0,18 ^b	<0,001**
Total	AGS	9,30 \pm 0,11 ^a	11,02 \pm 0,02 ^b	0,004**
	AGM	7,93 \pm 0,19 ^a	13,23 \pm 0,04 ^b	<0,001*
	AGP	82,76 \pm 0,04 ^b	75,74 \pm 0,07 ^a	<0,001**
	<i>Trans</i>	0,05 \pm 0,02 ^a	0,07 \pm 0,02 ^b	<0,001*

a-c Os valores médios apresentados em cada linha, com letras diferentes diferem significativamente, $p < 0,05$.

*Os valores de *p* foram obtidos a partir da análise *one-way* ANOVA após se terem verificado os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ($p < 0,05$) foi aplicado o teste post-hoc de Tukey ($p > 0,05$ pelo teste de Levene). **Os valores de *p* foram obtidos a partir da análise *one-way* Welch ANOVA, uma vez que não se verificou uma homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ($p < 0,05$) foi aplicado o teste de Dunnett T3's ($p < 0,05$ pelo teste de Levene).

Quadro 2 - Teor de tocoferóis, tocotrienóis e de vitamina E total (mg/100g de óleo) do óleo das sementes de maracujá de Barcelos e do Porto (média \pm desvio padrão).

Tocoferóis/Tocotrienóis	Barcelos	Porto
α -Tocoferol	2,81 \pm 0,18	2,74 \pm 0,09
γ -Tocoferol	6,50 \pm 0,28	11,20 \pm 0,83
δ -Tocoferol	6,86 \pm 0,24	9,93 \pm 0,65
γ -Tocotrienol	33,85 \pm 1,38	28,90 \pm 2,09
δ -Tocotrienol	88,56 \pm 3,94	51,71 \pm 3,95
Vitamina E total	138,57 \pm 5,74	104,48 \pm 7,45

Quadro 3 - Teor total e individual dos principais esteróis (mg/100g de óleo) do óleo das sementes de maracujá-roxo estudadas (média \pm desvio padrão).

Esteróis principais	Barcelos	Porto
Campesterol	10,26 \pm 0,57	6,56 \pm 0,26
Não identificado	28,60 \pm 2,11	22,32 \pm 0,24
β -Sistosterol	47,50 \pm 3,26	55,62 \pm 2,64
Total de esteróis	636,32 \pm 44,32	374,55 \pm 23,81

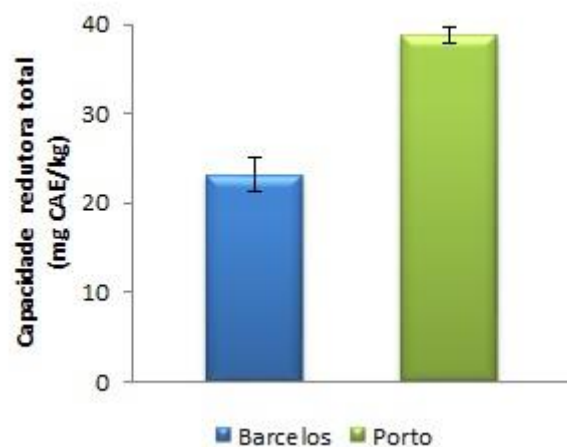


Figura 1 – Capacidade redutora total dos óleos das sementes de maracujá-roxo provenientes de Barcelos e do Porto.

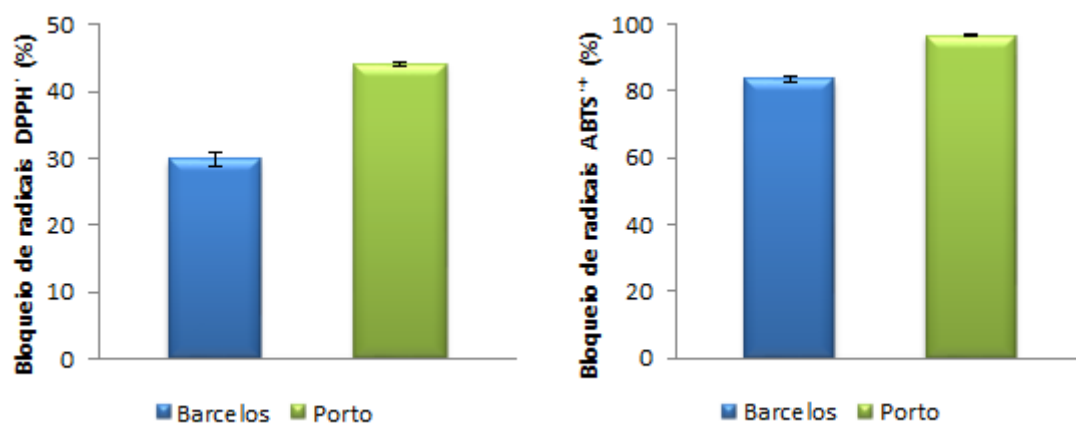


Figura 2 – Efeito bloqueador de radicais DPPH• e de radicais ABTS•+ dos óleos das sementes de maracujá-roxo provenientes de Barcelos e do Porto.

Biotecnologia do medronheiro (*Arbutus unedo* L.): ensaios de cultura *in vitro* e hibridação

João Martins¹ & Jorge Canhoto^{1,2}

¹CEF, Centro de Ecologia Funcional, Departamento de Ciências da Vida, Universidade de Coimbra, Calçada Martim de Freitas, 3000-456 Coimbra, joao.martins@uc.pt

²Associação UC InProPlant – Investigação, Desenvolvimento Tecnológico e Internacionalização, Paço das Escolas, Praça da Porta Férrea, 3004-531 Coimbra, jorgecan@ci.uc.pt

Resumo

O medronheiro (*Arbutus unedo*, Ericaceae) é um arbusto ou pequena árvore que cresce em redor da bacia mediterrânica e em alguns locais da costa atlântica europeia. Em Portugal ocorre de forma espontânea em diferentes zonas de Norte a Sul do país. É uma planta bem adaptada a condições de stresse e tem uma grande capacidade de regeneração após fogos florestais, o que torna a espécie interessante para programas de reflorestação. Pela sua capacidade de colonizar solos marginais e devido aos reconhecidos problemas de fitossanidade de outras espécies em Portugal, o medronheiro apresenta-se como uma alternativa interessante para produtores, pelo seu potencial como fruteira e ornamental. O fruto do medronheiro (medronho) é uma baga esférica comestível, de cor vermelha, com um baixo teor em lípidos e proteínas, mas altos teores de hidratos de carbono e ainda antioxidantes. Devido a estas características o medronheiro apresenta grande potencial como espécie fruteira, e a quase totalidade da produção atual destina-se exclusivamente à obtenção de aguardente, um produto muito valorizado. De forma a tornar a espécie mais interessante e competitiva, e disponibilizar material de qualidade aos produtores tem vindo a ser desenvolvido um intenso programa de propagação e melhoramento do medronheiro.

Foram selecionados vários genótipos com base na produção de frutos e desenvolveram-se protocolos de multiplicação por proliferação de meristemas, organogénese e embriogénese somática, que estão a ser aplicados na multiplicação desta espécie. Com o objetivo de obter novos genótipos, procedeu-se ao cruzamento de árvores fenotipicamente interessantes e levaram-se a cabo alguns ensaios de poliploidização. Atualmente, graças aos protocolos de multiplicação existentes, é possível obter um grande número de plantas clonadas, de genótipos selecionados e com características interessantes. Estas plantas garantem geralmente uma produção mais homogénea e de melhor qualidade, o que pode permitir um aumento substancial dos benefícios por parte dos produtores. A oferta de material vegetal deste tipo é crescente, e, num futuro próximo, estarão disponíveis genótipos cada vez mais tolerantes a condições de stresse e por isso com melhores características do ponto de vista produtivo.

Palavras-chave: embriogénese somática, micropropagação, organogénese, poliploidia

Abstract

Strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) biotechnology: *in vitro* culture and hybridization

Strawberry tree (*Arbutus unedo*, Ericaceae) is a bush or small tree growing around the Mediterranean basin and in Ireland and Portugal. In our country the species can be seen all over the country but reaches higher densities both in Algarve and the centre region. It is well adapted to stress conditions and shows a great regenerative aptitude following forest fires making it an interesting species for reforestation programs. Owing to its ability to thrive in poor marginal soils and to the phytosanitary problems that other species are suffering, strawberry tree is nowadays seen as an interesting alternative for farmers due to its potential for fruit production as well as ornamental. The fruits of *A. unedo* are edible round berries, red when mature, with a

low content in lipids and proteins and considerable amounts of carbohydrates and antioxidant compounds such as phenolics. Fruits are mainly used for the production of a very alcoholic spirit called *medronheira* but attempts are being made to make this species a fruit tree for fresh fruit consumption. During the last years a considerable effort has been carried out in order to convert strawberry tree into a species more interesting for fruit production through the selection and propagation of selected trees by *in vitro* culture methods, through hybridization assays and by polyploidization experiments.

Selected trees were propagated through different *in vitro* culture techniques such as axillary shoot proliferation, organogenesis and somatic embryogenesis. Controlled *in vitro* and field pollinations were used to understand the pollination process and to obtain hybrids between selected trees. Polyploidization assays were also carried out. Plantlets from these crosses have been obtained following seed germination and will be transferred to the field for phenotype evaluation. Genotypes selected for productivity and stress tolerance arising from these crosses will be propagated by the *in vitro* culture techniques already optimized and will be available for the farmers whose profits might increase due to the improved quality of the propagated materials.

Keywords: micropropagation, organogenesis, polyploidy, somatic embryogenesis

Introdução

Portugal é um país onde a floresta desempenha um papel de grande relevo na economia do país e na configuração ecológica do território. Nos últimos anos tem-se assistido com preocupação ao acentuar de problemas que afectam a floresta. Para além dos recorrentes fogos florestais, o aparecimento de pragas como o nemátode-do-pinheiro e de outras que afectam o eucalipto colocam sob ameaça a produção e o equilíbrio dos ecossistemas florestais. Uma das espécies que pode ajudar a solucionar alguns dos problemas que se têm manifestado é o medronheiro. Trata-se de uma espécie que cresce espontaneamente em diferentes locais do nosso território, em particular na região do Algarve e na região centro (Godinho-Ferreira et al., 2005). Existem várias espécies do género *Arbutus*, mas *A. unedo* é a espécie mais comum na bacia do mediterrâneo, ocorrendo também em países da costa atlântica europeia como Portugal e a Irlanda (Piotto et al., 2001). As características do medronheiro fazem dele uma espécie bastante importante sob o ponto de vista ecológico, fundamentalmente na estabilização de solos, tornando-os menos susceptíveis à erosão, na sua grande capacidade de regeneração após fogos e na contribuição para a manutenção da biodiversidade, servindo de alimento a diversos animais (Piotto et al., 2001). No contexto global em que a quantidade de solo disponível para a agricultura tem vindo a diminuir, a possibilidade desta espécie colonizar solos marginais é também uma característica interessante. A capacidade de regeneração após fogos torna a espécie interessante para programas de reflorestação, especialmente em países do Sul da Europa como Portugal, Espanha, Itália e Grécia, onde os fogos florestais são comuns (Neppi, 2001; Gomes, 2011).

Os medronhos são comestíveis e apresentam um teor em lípidos e proteínas reduzido, mas elevados teores de hidratos de carbono (Barros et al., 2010). As quantidades de vitamina C são também bastante significativas e o β -caroteno está igualmente presente na sua composição, ainda que em quantidades reduzidas. Os frutos são também uma fonte de antioxidantes, possuindo compostos fenólicos (taninos, substâncias derivadas do ácido gálico, antocianinas e outros flavonóides), vitaminas C e E e ainda carotenóides (Barros et al., 2010; Mendes et al., 2011). Os frutos são essencialmente utilizados para a produção de uma aguardente muito popular em algumas regiões do país. São também utilizados na confecção de produtos tradicionais como compota e geleia.

Apesar das várias aplicações desta espécie, os frutos são habitualmente colhidos pelas populações locais em plantas a crescer de forma espontânea na natureza, havendo muito poucos

cultivares estabelecidos. O medronheiro é mesmo considerado como “Neglected or Underutilized Crop” pela Global Facilitation Unit for Underutilized Species (www.cropsforthefuture.org), que considera o potencial da espécie em determinadas áreas (por exemplo farmacêutica e cosmética) como muito relevante. Recentemente, vários proprietários e associações florestais têm demonstrado grande interesse na espécie, quer para a produção de frutos quer como ornamental. A selecção de plantas com características interessantes, baseada na produção de frutos e outras características importantes, apresenta-se por isso como muito relevante em termos económicos.

Tendo em conta este quadro geral, o nosso laboratório tem realizado uma intensa investigação no medronheiro com dois objectivos principais: 1) desenvolver e otimizar protocolos de micropropagação em larga escala de árvores seleccionadas e 2) obter novos genótipos de medronheiro que possam ulteriormente ser produzidos em larga escala e distribuídos aos agricultores de forma a aumentar a produção. Para atingir o primeiro objectivo têm sido utilizados protocolos de micropropagação por proliferação de meristemas (Gomes e Canhoto, 2009; Gomes et al., 2010), organogénese (Martins, 2012) e embriogénese somática (Gomes et al., 2009). Para atingir o segundo objectivo têm sido realizados ensaios de polinização artificial *in vitro* e em condições de campo com o objectivo de obter plantas com novas características. Ensaios de poliploidização têm também sido conduzidos (Antunes, 2010; Martins, 2012).

Multiplicação *in vitro*

Para a multiplicação *in vitro* de medronheiro têm sido utilizadas várias técnicas de micropropagação. Têm também sido testados diferentes tipos de explantes como embriões zigóticos, folhas jovens, pecíolos e hipocótilos.

Os resultados obtidos mostram que é possível a propagação através das seguintes técnicas: proliferação de meristemas, organogénese e embriogénese somática.

No que diz respeito à proliferação de meristemas, esta tem sido conseguida pela cultura de segmentos nodais e ápices de plantas micropropagadas. As culturas são realizadas num meio MS (Murashige e Skoog, 1962) modificado suplementado com benziladenina (BA) ou combinações de BA e NAA. Ensaios com tidiazurão, outra citocinina, têm também sido realizados. Ensaios realizados em meio líquido revelaram que estas condições são muito eficazes na proliferação de meristemas axilares, com um máximo de 6 rebentos por explante num dos genótipos testados. O enraizamento dos rebentos caulinares obtidos é conseguido após tratamento com ácido-3-indol butírico (IBA, 1 mg/l) seguido de transferência para meio sem reguladores de crescimento. Este protocolo tem sido utilizado para propagar diferentes genótipos em larga escala à semelhança do verificado por Mereti et al. (2002). Para além disso, segmentos foliares dos rebentos caulinares propagados por proliferação de meristemas têm sido utilizados para a indução de embriogénese somática.

Folhas jovens de rebentos caulinares em condições de micropropagação têm sido utilizadas para a indução de embriogénese somática. As folhas são removidas dos rebentos caulinares e transferidas para meios de indução de embriogénese somática. Os meios são compostos pelos nutrientes do meio MS modificado e contendo combinações de BA e de NAA (ácido 1-naftaleno acético). Antes da colocação em cultura as folhas são feridas com o objectivo de induzir stresse e aumentar a exposição dos tecidos aos reguladores de crescimento. Os resultados mostram que as melhores taxas de indução são obtidas em meios com 8,8 μM BA e 26,8 μM NAA. Nestas condições, dependendo do genótipo, taxas de indução superiores a 50% podem ser obtidas. Os embriões somáticos são formados após desdiferenciação celular e formação de um calo à semelhança do verificado por El-Sayed et al. (2010). Os embriões são morfológicamente semelhantes aos embriões zigóticos embora com dimensões superiores e passam pelas mesmas fases de desenvolvimento (globular, cordiforme, torpedo e cotiledonar). Anomalias morfológicas nos embriões são comuns, tais como alterações no número de

cotilédones, cotilédones fundidos e inibição do meristema apical da raiz. No entanto, a presença de algumas anomalias não é impeditiva da conversão dos embriões em plantas. Os embriões somáticos formam-se de forma assíncrona e num mesmo explante podem ser observados embriões somáticos em diferentes fases de desenvolvimento. Esta situação dificulta a conversão pelo que métodos que permitam uma sincronização no desenvolvimento embrionário necessitam de ser desenvolvidos.

A regeneração de plantas por organogénese foi inicialmente observada na base de segmentos nodais em ensaios de multiplicação. Na base destes segmentos nodais formam-se pequenos calos e meristemas adventícios a partir dos quais se originam novos rebentos caulinares. Esta situação verifica-se quer em meio líquido quer em meio sólido. À semelhança dos rebentos obtidos por proliferação de meristemas axilares, os meristemas adventícios originam rebentos caulinares que enraízam nas mesmas condições que foram descritas anteriormente.

Ensaio de hibridação

Numa primeira fase foram realizados ensaios com o objectivo de determinar o grau de compatibilidade entre o pólen e o pistilo de diferentes árvores, flores da mesma árvore e parte masculina e feminina de uma mesma flor. Estes ensaios foram realizados *in vitro* em condições controladas e *ex vitro* em condições de campo. Anteras próximas da maturação foram recolhidas de diferentes árvores e colocadas no laboratório, numa caixa de Petri à temperatura ambiente. O pólen libertado foi utilizado nos ensaios de polinização. Nos ensaios de polinização *in vitro*, flores fechadas de medronheiro foram recolhidas e, após remoção das restantes peças florais, os carpelos colocados em caixas de Petri com um meio gelificado que servia de suporte e que permitia manter um elevado grau de humidade. O pólen foi colocado no estigma com o auxílio de um pincel e o crescimento do tubo polínico no estilete observado por microscopia de fluorescência utilizando o fluorocromo azul de anilina para visualizar os tubos polínicos em crescimento. Ensaios semelhantes foram realizados no campo. Neste caso, as flores polinizadas artificialmente foram envolvidas por um saco poroso e marcadas para ulterior recolha dos frutos.

Os ensaios realizados mostraram que a polinização pode ocorrer dentro da mesma flôr, entre flores da mesma árvore e entre flores de diferentes árvores (alopolinização) não se verificando diferenças no crescimento do tubo polínico nos diferentes casos. Dados preliminares mostram que os frutos resultantes das polinizações artificiais possuem menos sementes que os frutos obtidos em condições normais. Sementes resultantes das polinizações cruzadas foram isoladas e colocadas a germinar. As plântulas obtidas foram transferidas para vasos. Estas plantas serão ulteriormente transferidas para condições de campo para análise fenotípica.

Os ensaios de poliploidização até agora realizados (Antunes, 2010, Martins, 2012) permitiram a obtenção de plantas tetraplóides e mixoplóides. No entanto, o número de tetraplóides obtidos foi muito reduzido (3 plantas). Para além disso, estas plantas apresentam um crescimento muito lento e reduzida capacidade proliferativa tendo todas as plantas morrido antes da transferência para solo. Verificou-se ainda que os mixoplóides obtidos têm tendência a reverter ao estado diplóide o que mostra a instabilidade das células tetraplóides.

Conclusões e perspectivas futuras

Os resultados obtidos mostram que o medronheiro tem uma elevada capacidade de resposta *in vitro* tendo sido possível regenerar plantas através de todas as técnicas de micropropagação testadas. Importa agora analisar a uniformidade genética das plantas obtidas por embriogénese somática e organogénese pois a passagem por uma fase de calo pode levar ao aparecimento de variação somaclonal. É necessário também modificar o protocolo de regeneração por embriogénese somática com o objectivo de aumentar a sincronização do desenvolvimento embrionário e as taxas de conversão. No que se refere à indução de

organogénese, é importante testar outros expantes, em particular as folhas para aumentar a eficiência do processo.

Os ensaios de polinização mostram que não parecem existir barreiras de incompatibilidade entre o pólen e a parte feminina de diferentes árvores abrindo assim a possibilidade de realização de hibridações em larga escala com o objectivo de produzir novas combinações genéticas interessantes do ponto de vista comercial. O facto dos frutos resultantes de polinizações cruzadas terem um menor número de sementes significa que a técnica de polinização não é a mais adequada, podendo optimizar-se em ensaios futuros. Finalmente importa optimizar as condições de obtenção de tetraplóides e criar as condições para a sua viabilidade e durante o processo de propagação *in vitro*.

Agradecimentos:

trabalho financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia, contrato PTDC/AGR-FOR/3746/2012 e pelo Projecto PRODER N° 43750 enquadrado no Subprograma 4, Medida 4.1 Cooperação para a inovação – O medronheiro – conversão de uma da planta silvestre numa espécie fruteira sustentável.

Referências

- Antunes, P. 2010. Indução de plantas tetraplóides através de tratamento com agentes c-mitóticos no tamarilho (*Cyphomandra betacea*) e no medronheiro (*Arbutus unedo*). Tese de mestrado. Universidade de Coimbra.
- Godinho-Ferreira, P.G., Azevedo, A.M., Rego, F. 2005. Carta da tipologia florestal de Portugal Continental. Silva Lusitana 13: 1-34.
- Gomes, F. 2011. Strategies for the improvement of *Arbutus unedo* L. (strawberry tree): *in vitro* propagation, mycorrhization and diversity analysis. Tese de doutoramento, Universidade de Coimbra, Coimbra.
- Gomes F., Canhoto J.M. 2009. Micropropagation of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) from adult plants. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant 45:72-82.
- Gomes, F., Lopes, M.L., Santos, T. *et al.* 2009. Micropropagation of selected trees of *Arbutus unedo* L. through axillary shoot proliferation and somatic embryogenesis. Acta Horticulturae 839:111–116.
- Gomes, F., Simões, M., Lopes, M.L. 2010. Effect of plant growth regulators and genotype on the micropropagation of adult trees of *Arbutus unedo* L. (strawberry tree). New Biotechnol 27:882-892.
- Martins, J.F. 2012. Estudos de cultura *in vitro* em medronheiro (*Arbutus unedo* L.) aplicados ao seu melhoramento. Tese de mestrado, Universidade de Coimbra, Coimbra.
- Mereti, M., Grigoriadou, K., Nanos, G.D. 2002. Micropropagation of the strawberry tree, *Arbutus unedo* L. Sci Hortic 93:143–148.
- Mohamed El-Sayed, E.-M., Dewir, Y.H., Omar, A.M.K. 2010. *In vitro* propagation of adult strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) through adventitious shoots and somatic embryogenesis. Propagation of Ornamental Plants 10:93-98
- Murashige, T., Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. Physiol Plant 15:473–497.
- Neppi, M. 2001. Alberi ed arbusti della flora mellifera della regione mediterranea. In: Piotta B., Noi A. (eds) Propagazione per seme di alberi e arbusti della flora mediterranea, Dipartimento Prevenzione e Risanamento Ambientali. Manuale ANPA, Agenz. Naz. per la Protezione dell' Ambiente, pp. 44–49.

Piotto, B., Piccini, C., Arcadu,, P. 2001. La ripresa della vegetazione dopo gli incendi nella regione mediterrânea. In: Piotto B., Noi A. (eds) Propagazione per seme di alberi e arbusti della flora mediterranea, Dipartimento Prevenzione e Risanamento Ambientali. Manuale ANPA, Agenz. Naz. per la Protezi. dell'Ambiente, pp. 32–38.

Atividade antioxidante de polpa de maracujá, *Passiflora edulis* Sims *edulis*: comparação entre polpa fresca e comercial embalada

Ana Alves¹, Maria de Fátima Lopes-da-Silva¹, José Alberto Pereira¹

¹Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5301-855 Bragança, Portugal

Resumo

O maracujá (*Passiflora edulis* Sims *edulis*), para além de possuir excelentes propriedades organoléticas, é rico em minerais, vitaminas e compostos fenólicos, constituindo uma fonte natural de antioxidantes, os quais têm sido associados à prevenção de patologias como o cancro, doenças cardiovasculares e outras doenças graves. Embora seja um fruto que pode ser produzido em Portugal, os frutos frescos encontrados no mercado são importados e, para além do seu custo elevado, muitas vezes apresentam-se já deteriorados, tornando-se indesejáveis e inseguros para consumo. Em alternativa, existem no mercado outras formas para consumo, tais como, as polpas congeladas e as polpas de conserva, enlatadas.

Neste sentido, e com o objetivo de proceder à comparação entre amostras frescas e conservadas, realizou-se um estudo comparativo entre polpas e sementes comerciais de maracujá, em conserva, e as polpas e sementes frescas de maracujá fresco provenientes do Norte de Portugal, designadamente ao nível do pH, sólidos solúveis totais (SST), humidade e atividade antioxidante. A atividade antioxidante avaliou-se através da capacidade redutora total, do efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH[•] e do poder redutor, em extractos obtidos utilizando metanol como solvente de extração.

Ficou evidenciado que as polpas enlatadas apresentam características diferentes da polpa fresca. Para além disso, existe uma grande variedade de polpas enlatadas no mercado, não só pela diversidade de ingredientes utilizados, mas também pelas diferenças entre si nos mesmos parâmetros.

A polpa *in natura* apresenta uma atividade antioxidante consideravelmente mais elevada do que as polpas enlatadas. Contudo, uma das polpas comerciais estudadas aproximou-se bastante da polpa fresca em relação à capacidade redutora total e à capacidade bloqueadora de radicais livres, mostrando ser possível haver enlatados com propriedades bioativas muito próximas às dos frutos frescos, constituindo uma alternativa.

As sementes das polpas enlatadas apresentaram menor atividade antioxidante, nos três métodos ensaiados, do que as sementes frescas. No entanto, as diferenças não foram tão grandes quanto na polpa.

Palavras-chave: maracujá-roxo, polpa, conserva, bioatividade

Abstract

Antioxidant activity of passion fruit pulp, *Passiflora edulis* Sims *edulis*: comparison between fresh pulp and commercial canned pulp

Regular intake of antioxidants, especially phenolic compounds, through the consumption of fruits and vegetables, has been associated with the prevention of certain types of pathologies, such as cancer, cardiovascular disease and other serious illnesses.

Passion fruit, *Passiflora edulis* Sims *edulis*, is rich in minerals, vitamins and phenolic compounds by providing a natural source of antioxidants, in addition to having excellent organoleptic properties. Although being a fruit that can be produced in Portugal, fresh fruits found on the market are imported, and in addition to its high price, it is often present decayed,

making it undesirable and unsafe for consumption. There are other alternative ways for consumption available on the market, such as frozen pulps and preserved pulps, canned.

In this sense, with the aim of making a comparison between fresh and stored samples, a comparative study of commercial canned pulps and seeds and fresh pulps and seeds of passion fruits from the North of Portugal, was carried out, namely the level of pH, total soluble solids (TSS), moisture and antioxidant activity. Antioxidant activity was evaluated by the total reducing capacity, blocking effect of DPPH[•] free radicals and reducing power, in extracts obtained using methanol as the extraction solvent.

It was demonstrated that the canned pulps have different characteristics from fresh pulp. In addition, there are a great variety of canned pulps on the market, not only by the diversity of ingredients used, but also by the differences between them in the same parameters.

The *in natura* pulp presents a considerably higher antioxidant activity than the canned pulps. However, one of the commercial canned pulps, displayed closed results to those of fresh fruit, relating to total reducing capacity and ability to blocking free radicals, showing to be possible canned pulps with bioactive properties very close to those of fresh fruits, comprising an alternative.

The seeds of canned pulps had lower antioxidant activity than fresh seeds in the three tested methods. However, the differences were not as great as in the pulp.

Keywords: Passion fruit, pulp, canned pulp, bioactivity

Introdução

O consumo de frutas e legumes na dieta humana tem sido associado à prevenção de certo tipo de doenças, como o cancro, doenças cardiovasculares e outras doenças graves, devido à presença de substâncias antioxidantes, em especial dos compostos fenólicos (Steinmetz e Potter, 1996).

O maracujá, para além de possuir excelentes propriedades organoléticas, é rico em minerais, vitaminas e compostos fenólicos, tornando este fruto uma boa fonte natural de antioxidantes (Casimir et al., 1981; Dhawan et al., 2004).

Embora este fruto se consiga produzir sazonalmente em certas regiões de Portugal, os frutos encontrados no mercado são importados e, para além do seu custo elevado, muitas vezes os frutos chegam já deteriorados, não próprios para consumo. Alternativas como o congelamento, a desidratação e a conservação, implicam processos que podem, de certa forma, ser prejudiciais no que toca a manter a qualidade do produto fresco (Schmidt et al., 2005; Rickman et al., 2007). A acidificação de frutas congeladas, o branqueamento e a esterilizações são especialmente prejudiciais para compostos bioativos sensíveis como os compostos fenólicos, a vitamina C e a tiamina, fazendo com que haja alteração ou redução desses compostos (Hamama & Nawar, 1991; Seybold et al., 2004; Rickman et al. 2007; Campbell & Padilla-Zakour, 2013).

Neste trabalho, levou-se a cabo um estudo comparativo entre polpas e sementes comerciais de maracujá e as polpas e sementes frescas de maracujá provenientes do norte de Portugal, designadamente ao nível da respetiva atividade antioxidante, pH, sólidos solúveis totais e humidade, apreciando o possível efeito do processamento industrial na polpa e sementes de maracujá.

Material e Métodos

Amostras. Foram adquiridas várias latas de cinco marcas comerciais distintas, identificadas como amostra 1, 2, 3, 4, e 5, todas provenientes da Tailândia e com a seguinte composição: : amostra 1-polpa de maracujá (89,5%) e açúcar; amostra 2 -polpa de maracujá, açúcar, água e goma guar; amostra 3 - polpa de maracujá, água, açúcar e espessante E-415 (goma xantana); amostra 4 - polpa de maracujá e açúcar; amostra 5 - polpa de maracujá, água,

açúcar e espessante E-415 (goma xantana). Em laboratório, as sementes foram separadas da respetiva polpa, exceto na amostra 2 que não apresentava sementes, retirada uma sub-amostra de polpa para avaliação do pH e do teor de sólidos solúveis totais, congeladas e liofilizadas. Para comparação com maracujá fresco, foram obtidos maracujás na região do Porto, em que a semente foi separada do sumo, e para ambas as matrizes se procedeu da mesma forma que nos de conserva.

Imediatamente antes da utilização, as amostras foram liofilizadas e posteriormente trituradas de modo a reduzi-las a um pó fino.

Caracterização das amostras. O teor de humidade foi determinado a partir do rendimento de liofilização, opH por potenciometria, e o teor de sólidos solúveis totais (SST), expresso em °Brix, foi determinado por refratometria, num refratómetro de Abbe. Todos os parâmetros foram avaliados em triplicado.

Preparação dos extratos e extração metanólica. A extração das amostras decorreu de acordo com a metodologia descrita por Oliveira et al. (2009), usando o metanol como solvente de extração.

O rendimento de extração foi calculado de acordo com: $\text{rendimento (\%)} = [(Pf - Pi) / \text{toma de amostra}] \times 100$, sendo Pf o peso final do balão volumétrico com o extrato após ter sido levado à secura e Pi o peso do balão.

Atividade antioxidante. A capacidade redutora total foi determinada pelo método descrito por Capannesi et al. (2000), com algumas modificações. Os resultados foram expressos em mg CAE/kg de óleo. O poder redutor foi determinado de acordo com o procedimento descrito por Berker et al. (2007). A determinação do efeito bloqueador dos radicais livres 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH[•]) foi efetuada segundo Malheiro et al. (2012).

Análise estatística. Recorreu-se à análise de variâncias *one-way* ANOVA, seguida do teste *post-hoc* HSD de Tukey quando os pressupostos da normalidade e homogeneidade de variâncias se verificaram, ou com correção de Welch, no caso do requisito da homogeneidade de variâncias não ser cumprido, como descrito por Maroco (2003). Nesta situação, quando se observou um efeito significativo ($p < 0,05$) foi aplicado o teste de Dunnett T3's.

Resultados e Discussão

Caracterização das polpas e sementes comerciais

Nos parâmetros avaliados – humidade, teor de SST e pH das polpas – foram observadas diferenças significativas entre as diversas amostras ($p < 0,001$) (quadro 1). O teor de humidade variou significativamente, sendo mínimo nas sementes controlo (2,52%), e máximo na amostra 5 ($15,74 \pm 0,02\%$). O grau de maturação dos frutos à colheita, o modo de produção e a variedade do maracujá podem ter influência na quantidade de água que a semente apresenta. Alguns autores, obtiveram resultados superiores às sementes controlo deste estudo, mas idênticos a algumas das amostras comerciais, sobretudo às que obtiveram valores mais elevados, variando de 7,38 a 10,80% (Ferrari et al., 2004; Kobori & Jorge, 2005; Giuffré, 2007; Liu et al., 2008; Malacrida & Jorge, 2012). As variações observadas na polpa não foram tão assinaláveis como as da semente (quadro 1), estando de acordo com o observado na bibliografia (Jiménez et al., 2011). As restantes polpas, apesar de quase todas mencionarem a adição de água no rótulo (exceto a amostra 1), apresentaram valores que variaram entre 68,71 e 78,00%. Para tal também poderá ter contribuído o facto de as polpas comerciais terem sofrido a adição de outros ingredientes, em proporções não identificadas, que, globalmente, reduzem o conteúdo aquoso das polpas. Assim sendo, a amostra 4 terá incorporado, possivelmente, menos açúcar que a amostra 1, a que também não foi adicionada água.

No teor em SST, a polpa controlo apresentou teor médio mais baixo, 14,37 °Brix, comparativamente às polpas comerciais, que variaram entre 14,93 °Brix (amostra 4) e 32,90 °Brix (amostra 2), o que pode estar relacionado com o grau de maturação dos frutos processados (Jiménez et al., 2011) ou modo de produção (Amaro & Monteiro, 2001; Janzantti et al., 2012;

Macoris et al., 2011), mas sobretudo com a adição de açúcar e espessante como declarado no rótulo.

Também o valor de pH do controlo (2,61), foi mais baixo que o das polpas comerciais, onde variou entre 3,20 (amostra 4) e 3,76 (amostra 5), o que poderá estar relacionado com o grau de maturação provavelmente superior dos frutos usados na conserva. A adição de água, referida em alguns dos rótulos, pode também ter ocasionado a subida de pH, havendo outros fatores (modo de produção, variedade, o genótipo e época do ano) que podem também influenciar o valor de pH das polpas.

Atividade antioxidante

Rendimento de extração e capacidade redutora total. Foram observadas diferenças significativas no rendimento de extração das várias sementes (controlo e comerciais) ($p < 0,001$), que variaram entre 3,90 (sementes da amostra 3) e 5,42% (sementes da amostra 5). O rendimento de extrato das sementes controlo encontrou-se neste intervalo (4,68%) (quadro 2).

A capacidade redutora total dos extratos destas sementes mostrou ter diferenças significativas entre si ($p < 0,001$). As sementes controlo foram as que apresentaram maior capacidade redutora total com 64,01 mg GAE/g de extrato, seguindo-se as sementes da amostra 4, com um teor médio de 58,63 mg GAE/g de extrato. Os teores médios dos outros extratos (amostras 3, 5 e 1) não diferiram muito entre si (44,76; 43,58 e 42,24 mg GAE/g de extrato, respetivamente).

Também nas polpas, tanto no rendimento como na capacidade redutora total, as diferenças entre amostras foram significativas ($p < 0,001$). O maior rendimento foi obtido na extração da polpa da amostra 3 (83,98%), e o menor, o da amostra 4 (72,38%).

O facto de as amostras das polpas exibirem um rendimento de extrato muito elevado, pode estar relacionado com a elevada quantidade de açúcares solúveis presentes nas polpas, que será ainda maior nas polpas em conserva, uma vez que lhes é adicionado açúcar. A adição de espessantes nas polpas da amostra 2, 3 e 5, ajudou também ao aumento do rendimento.

As polpas comerciais apresentaram capacidade redutora total entre 7,03 e 1,26 mg GAE/g extrato, o que foi muito inferior ao teor médio da amostra controlo (13,68 mg GAE/g extrato) (quadro 2). Para além disso, nas polpas constata-se que apesar do rendimento de extração ser muito menor na polpa controlo (não processada), a capacidade redutora total é muitíssimo superior à das polpas comerciais. A explicação para tal deve prender-se com o facto de o processamento térmico afetar os compostos com propriedades antioxidantes das polpas comerciais, alterando ou reduzindo esses compostos (Rickman et al., 2007) enquanto na polpa fresca (controlo) os extratos serão mais ricos nestes compostos.

Efeito bloqueador dos radicais livres 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH*). O efeito bloqueador de radicais livres de DPPH dos extratos das sementes das várias amostras aumentou com a concentração de extrato, mostrando a sua atividade biológica. Em todas as concentrações, os extratos das sementes enlatadas apresentaram inibições mais baixas do que a polpa controlo (quadro 3).

Quanto aos EC_{50} obtidos, foram observadas diferenças significativas ($p < 0,001$) entre as amostras de sementes (quadro 3), com as sementes controlo a apresentarem um valor de EC_{50} inferior às comerciais, indicando que as sementes contidas nas polpas enlatadas têm menor efeito bloqueador que as sementes *in natura*.

Também nas polpas, a polpa controlo foi a que apresentou maior inibição, sendo a polpa 4 a mais semelhante, enquanto as restantes apresentaram percentagens de inibição muito baixas (fig. 1). Este fato é bem visível pelo valor de EC_{25} , inferior na polpa controlo, seguida da 4 e só depois vêm as restantes.

Poder Redutor. O poder redutor do extrato das sementes controlo foi superior aos restantes extratos, também aqui a amostra 4 foi a que mais se aproximou com o controlo. Este aspeto é corroborado pelo valor de EC_{50} , significativamente inferior no controlo em comparação com as amostras de polpa enlatada (quadro 3). Quanto às polpas, verificou-se que

as amostras 1, 2, 3 e 5 apresentaram um poder redutor semelhante, não se detetando grandes variações entre elas. O extrato da polpa da amostra 4, foi o mais próximo do extrato da polpa controle.

Conclusões

Este estudo mostrou que as sementes de maracujá das polpas comerciais estudadas, apesar de processadas, apresentam ainda uma fração considerável de compostos antioxidantes apesar de menor que as sementes frescas. A polpa enlatada indicou ser bastante diferente da polpa fresca tanto em relação aos SST e pH, como em relação aos compostos antioxidantes, não sendo observada, em geral, uma atividade antioxidante relevante. No entanto, uma das polpas industriais (amostra 4) foi mais próxima da polpa controle, sendo pois possível que algumas das polpas enlatadas mantenham um elevado nível de antioxidantes, tornando-se por isso uma alternativa ao seu consumo.

Existe uma diversidade enorme de polpas no mercado, atestável pelos diferentes ingredientes e suas proporções (quando descritos), mas também pelas diferenças de SST, pH e atividade antioxidante. Nesse sentido, as diferenças podem estar relacionadas não só com o tipo de processamento e ingredientes, como também com a variedade, modo de cultivo, maturação dos frutos, região de cultivo, solo e clima.

No futuro, seria importante realizar um estudo idêntico, mas com maracujás colhidos no mesmo grau de maturação e mesmas condições ambientais de produção e processados para conservação em condições conhecidas, de modo a poder-se comparar de uma forma mais precisa estes parâmetros sendo também necessária a otimização do processo industrial para melhor preservar as propriedades bioativas do maracujá.

Referências

- Amaro, A. P., Monteiro, M. (2001). Rendimento de extração da polpa de características físico-químicas do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis*F. *flavicarpa*) produzido por cultivo orgânico e convencional em relação à cor da casca. Brazilian Journal of Food and Nutrition, 12: 171-184.
- Berker, K., Güçlü, K., Tor, I., Apak, R. (2007). Comparative evaluation of Fe (III) reducing power-based antioxidant capacity assays in the presence of phenanthroline, batho-phenanthroline, tripyridyltriazine (FRAP) and ferricyanide reagents. Talanta, 72: 1157-1165.
- Capannesi, C., Palchetti, I., Mascini, M. (2000). Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils, Food Chemistry, 71: 553-562.
- Campbell, O. E., Padilla-Zakour, O. I. (2013). Phenolic and carotenoid composition of canned peaches (*Prunuspersica*) and apricots (*Prunusarmeniaca*) as affected by variety and peeling. Food Research International, 54: 448-455.
- Casimir, D., Keffor, J., Whittfield, F. (1981).Tecnology and flavor, chemistry of passion fruit juices and concentrates. Advances in Food Research, 27: 243-295.
- Dhawan, K., Dhawan, S., Sharma, A. (2004). Passiflora: A review update. Journal of Ethnopharmacology, 94: 1-23.
- Ferrari, R. A., Colussi, F., Ayub, R. A. (2004). Characterization of by-products of passion fruit industrialization utilization of seeds. Revista Brasileira de Fruticultura, 26: 101-2.
- Giuffré, A. M. (2007). Chemical composition of purple passion fruit (*Passiflora edulis*Sims var. *edulis*) seed oil, La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse, 84: 87-93.
- Hamama, A.A., e Nawar, W. W. (1991). Thermal decomposition of some phenolic antioxidants. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 39: 1063–1069.

- Janzantti, N. S., Macoris, M. S., Garruti, D. S., Monteiro, M. (2012). Influence of the cultivation system in the aroma of the volátil compounds and total antioxidante activity of passion fruit. *FoodScience and Technology*, 46: 511-518.
- Jiménez, A. M., Sierra, C. A., Rodríguez-Pulido, F. J., González-Miret, M. L., Heredia, F. J., Osorio, C. (2011). Physicochemical characterisation of gulupa (*Passiflora edulis* Sims. *F. edulis*) fruit from Colombia during the ripening. *Food Research International*, 44: 1912–1918.
- Kobori, C. N., Jorge, N. (2005). Caracterização dos óleos de algumas sementes de frutas como aproveitamento de resíduos industriais. *Ciência e Agrotecnologia*, 29: 1008-1014.
- Liu, S., Yang, F., Li, J., Zhang C., Ji, H., Hong P. (2008). Physical and chemical analysis of *Passiflora* seeds and seed oil from China. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 58: 706-715.
- Macoris, M. S., Janzantti, N. S., Garruti, D. S., Monteiro, M. (2011). Volatile compounds from organic and conventional passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) pulp. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 31: 430-435 111
- Malacrida, C. R., Jorge, N. (2012) Yellow Passion Fruit Seed Oil (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*): Physical and Chemical Characteristics. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55: 127-134.
- Malheiro, R., Casal, S., Lamas, H., Bento, A., Pereira, J.A. (2012). Can tea extracts protect extra virgin olive oil from oxidation during microwave heating? *Food Research International*, 48: 148–154.
- Maroco, J. (2003). *Análise Estatística, com utilização do SPSS*. Edições Sílabo, Lisboa, Portugal.
- Oliveira, I., Coelho, V., Baltasar, R., Pereira, J. A., Baptista, P. (2009). Scavenging capacity of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaves on free radicals. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 1507-1511.
- Rickman, J. C., Bruhn, C. M., & Barrett, D.M. (2007). Review: Nutritional comparison of fresh, frozen, and canned fruits and vegetables. Part 1. Vitamins C and B and phenolic compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87: 930–944.
- Seybold, C., Fröhlich, K., Bitsch, R., Otto, K., & Böhm, V. (2004). Changes in Contents of Carotenoids and Vitamin E during Tomato Processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7005–7010.
- Schmidt, B. M., Erdman Jr., J. W., Lila, M. A. (2005). Effects of food processing on Blueberry antiproliferation and antioxidant activity. *Journal of Food Science*, 70, 389-394.
- Steinmetz, K. A.; Potter, J. D. (1996). Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review. *Journal of the American Dietetic Association*, 96: 1027-1039.

Quadros e figuras

Quadro 1 - Humidade (%) das sementes e das polpas controlo e comerciais, teor de sólidos solúveis totais (°Brix) e pH das polpas controlo e comerciais (média ± desvio padrão).

Amostra	Sementes	Polpa		
	Humidade (%)	Humidade (%)	SST (°Brix)	pH
Controlo	2,52±0,03 ^a	83,56±0,58 ^d	14,37±0,06 ^a	2,61±0,01 ^a
1	9,37±0,23 ^c	78,00±0,20 ^c	20,20±0,36 ^c	3,44±0,01 ^d
2	n.c.	72,40±0,04 ^b	32,90±0,00 ^f	3,34±0,00 ^c
3	8,50±0,41 ^b	77,01±0,24 ^c	21,07±0,06 ^d	3,45±0,00 ^d
4	5,32±0,43 ^e	83,77±0,02 ^d	14,93±0,06 ^b	3,20±0,00 ^b
5	15,74±0,02 ^d	68,71±0,80 ^a	30,80±0,00 ^e	3,76±0,00 ^e
Valor de <i>p</i>	<0,001*	<0,001**	<0,001**	<0,001*

n.c. não continha.

a-f Os valores médios apresentados em cada coluna, com letras diferentes diferem significativamente, $p < 0,05$.

*Os valores de *p* foram obtidos a partir da análise *one-way* ANOVA após se terem verificado os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ($p < 0,05$) foi aplicado o teste post-hoc de Tukey ($p > 0,05$ pelo teste de Levene).

**Os valores de *p* foram obtidos a partir da análise *one-way* Welch ANOVA, uma vez que não se verificou uma homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ($p < 0,05$) foi aplicado o teste de Dunnett T3's ($p < 0,05$ pelo teste de Levene).

Quadro 2 - Rendimento de extração (%) e valores da capacidade redutora total (mg GAE/g de extrato) das sementes e polpas controlo e comerciais (média±desvio padrão).

Amostras	Sementes	Polpa		
	Rendim. (%)	Capacidade redutora total (mg GAE/g extrato)	Rendim. (%)	Capacidade redutora total (mg GAE/g extrato)
Controlo	4,68±0,29 ^c	64,01±3,13 ^d	44,63±2,88 ^a	13,68±0,67 ^f
1	4,34±0,19 ^b	42,24±0,81 ^a	83,45±1,18 ^d	2,50±0,02 ^d
2	n.c.	n.c.	78,85±1,15 ^c	1,26±0,03 ^a
3	3,90±0,16 ^a	44,76±1,25 ^b	83,98±0,27 ^d	1,89±0,01 ^c
4	4,29±0,34 ^b	58,63±1,41 ^c	72,38±1,93 ^b	7,03±0,05 ^e
5	5,42±0,13 ^d	43,58±1,34 ^{a,b}	78,65±1,44 ^c	1,37±0,02 ^b
Valor de <i>p</i>	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001**

n.c. não continha.

a-e Os valores médios apresentados em cada coluna, com letras diferentes diferem significativamente, $p < 0,05$.

*Os valores de *p* foram obtidos a partir da análise *one-way* ANOVA após se terem verificado os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ($p < 0,05$) foi aplicado o teste post-hoc de Tukey ($p > 0,05$ pelo teste de Levene).

**Os valores de *p* foram obtidos a partir da análise *one-way* Welch ANOVA, uma vez que não se verificou uma homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo ($p < 0,05$) foi aplicado o teste de Dunnett T3's ($p < 0,05$ pelo teste de Levene).

Quadro 3 - Valores de EC₅₀ (mg de extrato/mL) do efeito bloqueador sobre os radicais livres de DPPH e do poder redutor em extratos das sementes de maracujá e valores de EC₂₅ (mg de extrato/mL) do efeito bloqueador sobre os radicais livres de DPPH e do poder redutor em extratos das polpas de maracujá (média±desvio padrão).

Amostras	Sementes		Polpa	
	DPPH (EC ₅₀ ¹)	Poder redutor (EC ₅₀ ²)	DPPH (EC ₂₅ ³)	Poder redutor (EC ₂₅ ⁴)
Controlo	0,41±0,03 ^a	1,03±0,06 ^a	5,28±0,22 ^a	2,25±0,11 ^a
1	1,30±0,03 ^b	1,98±0,02 ^c	24,27±0,47 ^c	17,92±1,00 ^c
2	n.c.	n.c.	49,54±0,64 ^f	34,57±1,42 ^f
3	1,33±0,03 ^b	2,31±0,02 ^e	27,01±1,36 ^d	19,96±0,29 ^d
4	2,19±0,04 ^d	1,76±0,07 ^b	6,59±0,12 ^b	3,17±0,24 ^b
5	1,77±0,07 ^c	2,17±0,07 ^d	31,48±0,41 ^e	23,82±0,43 ^e
Valor de <i>p</i>	<0,001**	<0,001**	<0,001**	<0,001**

¹ EC₅₀ (mg/mL): concentração efetiva a 50% de inibição de radicais de DPPH.

² EC₅₀ (mg/mL): concentração efetiva a 0,5 de absorvância.

³ EC₂₅ (mg/mL): concentração efetiva a 25% de inibição de radicais de DPPH.

⁴ EC₂₅ (mg/mL): concentração efetiva a 0,25 de absorvância.

n.c. não continha.

a-f Os valores médios apresentados em cada coluna, com letras diferentes diferem significativamente, *p*<0,05.

*Os valores de *p* foram calculados a partir da Análise ANOVA *one-way* após se ter verificado os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo (*p*<0,05) foi aplicado o teste post-hoc de Tukey (*p*>0,05 pelo teste de Levene).

**Os valores de *p* foram calculados a partir da Análise *one-way* Welch, uma vez que não se verificou a homogeneidade de variâncias. Quando se observou um efeito significativo (*p*<0,05) foi aplicado o teste de Dunnett T3's (*p*>0,05 pelo teste de Levene).

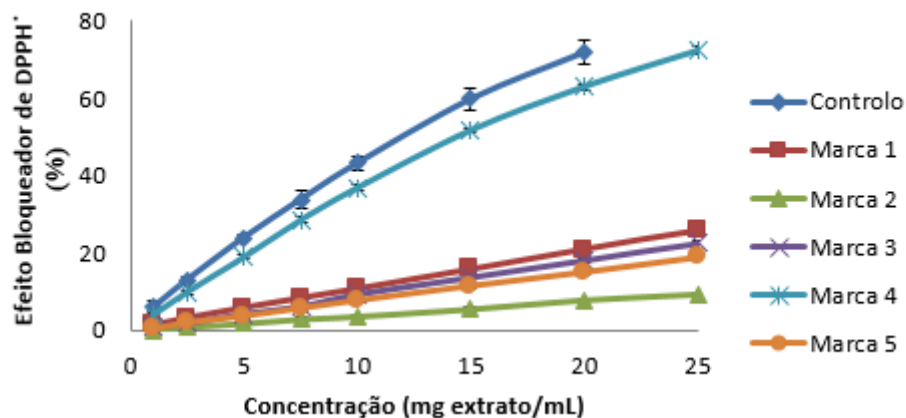


Figura 1 - Efeito bloqueador de radicais DPPH* obtidos para diferentes concentrações de extratos preparados a partir das diferentes amostras de polpa de maracujá (média ± desvio padrão).

Avaliação do conteúdo fenólico e atividade antioxidante de suplementos alimentares baseados em frutas e frutos vermelhos

Maria Cunha¹, Nelson machado¹, Irene Gouvinhas¹, Raúl Dominguez-Perles¹, Ana Barros¹

¹ Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Centro de Investigação e Tecnologias Agroambientais e Biológicas (CITAB), Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal

Resumo

O consumo de frutos tem sido encorajado por ser uma boa fonte de vitaminas, proteínas, minerais e compostos fenólicos. Além disso, está associado a inúmeros benefícios para a saúde, uma vez que estes podem prevenir doenças cardiovasculares, diabetes e outras doenças crónicas. Devido ao estilo de vida atual e à diminuição do consumo de frutas e vegetais, hoje em dia tem-se verificado um aumento do consumo de suplementos alimentares de forma a complementar a dieta, tornando-a mais completa e equilibrada. Neste sentido, duas gamas de suplementos alimentares foram estudadas e o seu conteúdo fitoquímico comparado com o das frutas e frutos vermelhos utilizados na sua elaboração, proporcionando uma importante informação sobre as características destes produtos e dos respetivos procedimentos tecnológicos utilizados na sua elaboração.

Com esse propósito, foi no presente trabalho realizada a determinação da atividade da enzima fenilalanina amónia liase, do conteúdo em fenóis totais, flavonóides, assim como da atividade antioxidante (ABTS) de suplementos alimentares baseados em frutas e frutos vermelhos, e das frutas frescas que compõem cada um dos suplementos. Adicionalmente foram analisadas misturas dos frutos contidos nos mesmos. O trabalho desenvolvido permitiu concluir que os suplementos baseados em frutos vermelhos apresentam os valores mais elevados em todos os parâmetros, desviando-se inclusivamente da mistura contendo os mesmos frutos declarados na sua composição.

A valorização destes suplementos alimentares pode ser importante, visto que ao apresentarem um conteúdo relevante de compostos fenólicos e poder antioxidante podem contribuir beneficemente para a saúde. Desta forma, o presente trabalho permitirá avaliar a contribuição da composição fitoquímica dos constituintes na produção de novos nutracêuticos com valor acrescentado. Contudo, é de ter especial atenção que um consumo excessivo de compostos antioxidantes, como os presentes nestes suplementos, pode levar a que os mesmos atuem como pró-oxidantes, sendo portanto recomendável um consumo cauteloso dos mesmos.

Palavras-chave: Suplementos alimentares; compostos fenólicos; atividade antioxidante; frutas; frutos vermelhos.

Abstract

The consumption of vegetables and fruits has been encouraged since they represent an important source of vitamins, proteins, minerals, and bioactive compounds. Hence, they have been associated with numerous health benefits, contributing to reduce the prevalence of several chronic and disabling diseases, namely cardiovascular and metabolic disorders.

Given the reduction of the slowfood intake, an increase in the consumption of the dietary supplements has been observed nowadays, in order to fulfil the dietary intake of nutrients and bioactive phytochemicals, contributing to a more balanced diet. On this matter, this study was based on the analysis of two types of dietary supplements based on either fruits or soft fruits, so as their individual components, possibly retrieving valuable information about the potential of these products, so as on the impact of the technological procedures involved in their manufacture.

In the present work, the activity of phenylalanine ammonia lyase (PAL), and the content in total phenols and flavonoids, as well as the antioxidant activity of extracts from fruits, vegetables, and dietary supplements have been assessed.

The results obtained showed that the content of phenolic compounds and activity of phenylalanine ammonia lyase, as well as the antioxidant capacity, were higher in soft fruits based supplements, these parameters' values diverging also from those observed for the mixture of fruits stated in the supplement's composition.

Thus, it can be concluded that since they present high content in bioactive phenolic and a strong antioxidant power, these supplements might display important health benefits. Moreover, this study might contribute to assess the contribution of the phytochemical composition of fresh fruits in terms of final content in bioactive compounds of new added-value nutraceuticals. Finally, though the daily consumption of these two supplements could be advantageous, since the mixtures displayed synergistic effects between the compounds, an excessive intake of antioxidant phytochemicals can lead these to act as pro-oxidants, and therefore, caution has to be made in which respects to the consumption of these supplements.

Keywords: Dietary Supplements; Phenolic compounds; Antioxidant activity; Fruits; Soft fruits.

Introdução

Nas últimas décadas, tem sido dada cada vez maior relevância à prática de exercício físico moderado, concomitantemente a uma dieta equilibrada, como contribuintes valiosos para a saúde humana e o bem-estar. Neste sentido, a comunidade científica, apoia firmemente que a inclusão na dieta de alguns alimentos de origem vegetal, tais como frutas, legumes, e seus derivados, como o vinho, proporciona benefícios para a saúde, ao reduzir a incidência e prevalência de doenças degenerativas cardiovasculares, neuro-degenerativas, doenças metabólicas e vários tipos de cancro.

Apesar disto, as condições de vida atuais levaram a uma redução da ingestão deste tipo de alimentos, em detrimento de refeições rápidas de baixo valor nutricional, e consequentemente à perda dos benefícios para a saúde associados ao consumo de frutas e legumes. Assim, devido à não inclusão de uma quantidade adequada de frutas e vegetais frescos na dieta normal, surgiram suplementos alimentares com o intuito de fornecer ao organismo nutrientes (vitaminas, minerais, ácidos gordos, fibras e entre outros) e não-nutrientes (fitoquímicos bioativos) necessários para um correto funcionamento do organismo (Braun *et al.*, 2009). Para além de constituírem uma importante fonte de vitaminas e minerais, as frutas e legumes são alimentos ricos em flavonóides, e outros compostos bioativos, incluindo ácidos hidroxibenzóicos e hidroxicinâmicos, estilbenos, glucosinolatos e isotiocianatos, que após a ingestão são absorvidos no trato intestinal exercendo diversas funções biológicas.

Os compostos fenólicos são metabolitos secundários de plantas e esta designação engloba um grupo bastante diversificado de compostos fitoquímicos derivados de fenilalanina e tirosina constituindo a maior família de compostos antioxidantes presentes na dieta. A atividade enzimática da fenilalanina amónia-liase (PAL) é a principal responsável pelo metabolismo de fenóis ocorrendo esta reação pela via metabólica do ácido chiquímico.

Até à data, os compostos fenólicos têm sido apontados como responsáveis por uma série de atividades biológicas de extratos de plantas *in vitro* e *in vivo*, sendo o seu conteúdo nas plantas presentes na alimentação influenciado por uma multiplicidade de fatores, tais como a genética da planta, condições agroclimáticas, maturação na colheita, e fatores pós-colheita tais como as condições de processamento e armazenamento (Nackz *et al.*, 2006).

Perante o cenário apontado, os suplementos alimentares à base de frutas e legumes poderão ser os mais relevantes, entre os disponíveis no mercado, no que diz respeito ao fornecimento destes compostos bioativos. Após extensa pesquisa bibliográfica, verificou-se que

não existem estudos disponíveis sobre a composição fitoquímica de suplementos alimentares baseados em frutícolas, e sobre a sua comparação com o conteúdo de compostos bioativos nos alimentos utilizados na sua elaboração. Assim, este trabalho assenta no estudo da composição fitoquímica de duas gamas de suplementos alimentares baseadas em frutas e frutos vermelhos, bem como na comparação da sua composição fitoquímica com a dos frutícolas utilizados na sua preparação.

Material e Métodos

Suplementos e constituintes individuais

Para este estudo foram utilizadas duas gamas de suplementos alimentares fornecidos por uma multinacional italiana (juice plus +® Fruit blend e Red Fruit blend; NSA, Collierville, Tenn., USA) e todos os seus constituintes individuais, os quais foram obtidos numa superfície comercial (Vila Real, Portugal). As frutas foram trituradas em pedaços pequenos, congeladas em azoto líquido e liofilizadas.

Caraterização química

A enzima fenilalanina amónia liase (PAL) foi extraída e quantificada segundo o método descrito por Tovar *et al.*, 2002. A atividade enzimática é expressa em μmol ácido cinâmico $\text{h}^{-1} \text{g}^{-1}$ de amostra seca ($\mu\text{mol cal.h}^{-1}.\text{g}^{-1} \text{ms}$) e as amostras foram analisadas em triplicado.

Para a extração dos compostos fenólicos, a 0,50 g de amostra foram adicionados 5,0 ml de metanol/ água (70:30 v/v). Posteriormente, as amostras foram agitadas ininterruptamente a 22° C durante 30 min. Após agitação, foram centrifugadas a 5000 rpm durante 5 min. para a separação do sobrenadante dos resíduos sólidos, sendo o sobrenadante filtrado usando filtros de 0,45 mm. Os extratos foram armazenados, a 4°C para posterior utilização.

A atividade antioxidante das amostras foi determinada usando método de descoloração do radical ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (3 - etilbenzotiazolino-6-sulfónico), modificado por Barros *et al.* (2011). A atividade antioxidante dos extratos é calculada como capacidade antioxidante equivalente trolox (TEAC) e os resultados são expressos em mmol de trolox por kg de amostra seca ($\text{mmol TE Kg}^{-1} \text{ms}$). A determinação da atividade antioxidante foi realizada em triplicado para cada amostra.

O teor de fenóis totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu modificado por Barros *et al.* (2012). A quantificação foi realizada em triplicado, sendo os resultados expressos em miligramas de ácido gálico por g de amostra seca ($\text{mg AG g}^{-1} \text{ms}$).

O teor em flavonóides foi determinado pelo método colorimétrico descrito por Zhishen *et al.* (1999). As amostras foram analisadas em triplicado, sendo os resultados expressos em miligramas de catequina por g de amostra seca (mg CE g^{-1}).

Análise Estatística Multivariada (PLS)

As análises estatísticas multivariadas foram levadas a cabo com recurso ao programa OriginPro 9.1, da OriginLab Corporation. Estas análises efetuaram-se com recurso ao método de Regressão Parcial em Mínimos Quadrados (do inglês "*Partial Least Squares, PLS*"). Em todos os casos foram extraídos três fatores, que permitiram explicar mais de 95,0 % da variância entre as amostras. Adicionalmente foram levadas a cabo análises classificatórias (*clusters*) utilizando os fatores extraídos.

Resultados e discussão

Frutas

A atividade antioxidante, o conteúdo em fenóis totais, flavonóides e a atividade da PAL foram determinados para o suplemento de frutas, e para os seus constituintes individuais, bem como para a mistura desses mesmos constituintes (Tabela 1).

O conteúdo em fenóis totais variou entre 2.66 ± 0.15 mg AG g⁻¹ para o ananás e 188.47 ± 0.42 mg AG g⁻¹ para a acerola, tendo o teste de Tuckey mostrado que neste parâmetro a acerola é significativamente diferente das restantes amostras. Adicionalmente, também se verifica que o ananás, a maçã, a papaia, a laranja e a tâmara são semelhantes, no que respeita ao conteúdo fenólico, estando estes resultados de acordo com a literatura (Dragovic-uzelac, 2009). No estudo mencionado, foi observado um decréscimo do conteúdo em fenólicos entre o mirtilo, laranja e maçã, não estando contudo, o valor obtido para o pêssego (506 ± 32 mg AG g⁻¹) de acordo com o presente estudo. Este resultado pode dever-se à variação do teor em compostos fenólicos com a cultivar (Drogoudi, 2008), fatores ambientais e pós-colheita, incluindo a maturação dos frutos, a exposição à luz, o processamento e ao armazenamento.

Relativamente à atividade antioxidante, a acerola distingue-se mais uma vez, apresentando a atividade mais elevada (1095.01 ± 38.11 mmol trolox Kg⁻¹) e o ananás com a atividade mais baixa (2.82 ± 0.15 mmol trolox Kg⁻¹). Estes resultados são concordantes com os verificados para o conteúdo fenólico total, sendo demonstrado pelo teste de Tukey, que a acerola é mais uma vez significativamente diferente das restantes amostras. Por sua vez, verificou-se que os valores de atividade antioxidante obtidos para o ananás, a maçã a papaia e a tâmara são semelhantes (Tabela 1). Estes resultados estão de acordo com estudos prévios (Pellegrini *et al.*, 2003), onde se verificou uma ordem crescente de atividade antioxidante na maçã, ameixa e laranja, sendo adicionalmente suportados por um outro trabalho (Chen *et al.* em 2014) envolvendo a maçã, laranja, pêssego e ameixa, tendo esta última apresentado o valor mais alto de atividade antioxidante, enquanto o menor valor foi verificado para a maçã.

Os resultados procedentes destas quantificações foram analisados com recurso a estatística multivariada, utilizando os quatro parâmetros avaliados como variáveis dependentes. Esta análise permite explicar os resultados obtidos, uma vez que a acerola é o fruto que mais se discrimina das restantes amostras, encontrando-se isolado num quadrante, onde constitui sozinha um cluster (Figura 1-a). Este fruto separa-se dos restantes devido à alta atividade antioxidante e atividade da PAL, para além do elevado conteúdo em fenóis totais (Fator 1). Adicionalmente, a tâmara, a maçã, a papaia, a laranja, e o ananás integram um único cluster, onde se encontra também o suplemento. Este facto revela as semelhanças de entre estes frutos e o suplemento, no que diz respeito ao conteúdo em flavonóides e fenóis totais, bem como à sua atividade antioxidante. Estes resultados são expectáveis, já que o teste de Pearson indica a existência de uma forte correlação entre o conteúdo em fenóis totais e atividade antioxidante, bem como entre o conteúdo em fenóis totais e enzima PAL (Tabela 3).

A quantificação do conteúdo em flavonóides também foi avaliada neste estudo. A ameixa apresentou o maior conteúdo em flavonóides (16.06 ± 0.02 mg CE g⁻¹), sendo significativamente diferente dos restantes frutos (Tabela 1), enquanto o ananás apresentou o conteúdo mais baixo (0.58 ± 0.02 mg CE g⁻¹). Adicionalmente, o ananás, a papaia e a laranja, que integram o mesmo cluster (Fig. 1-a) são semelhantes também no que diz respeito a este parâmetro. Este parâmetro é preponderante no Fator 3, contribuindo também para a separação da acerola (Fig. 1-a).

Relativamente à atividade da PAL, os valores variam entre 19.99 ± 0.60 (μmol cal.h⁻¹.g⁻¹) para a tâmara e 75.62 ± 0.57 (μmol cal.h⁻¹.g⁻¹) para a acerola. No presente estudo esta atividade foi positivamente correlacionada com o conteúdo em fenóis totais presentes nos frutos (Tabela 3). Contudo, no suplemento bem como na mistura de frutos não se verifica essa correlação. Se no caso do suplemento este facto pode ser explicado pela possível existência de outros elementos na sua composição, que não sejam provenientes dos frutos, já no caso da mistura este resultado pode ser entendido à luz de diversos fatores que influenciam esta atividade, tais como, o estado e desenvolvimento da planta, diferenciação de tecidos e células, bem como condições de stress, e cultivares (Lange *et al.*, 1995).

Frutos vermelhos

Relativamente ao conteúdo em fenóis totais e atividade antioxidante, os resultados dos frutos vermelhos, mostram que o sabugueiro é o que possui os valores mais elevados para ambos os parâmetros (Tabela 2). Enquanto os valores mais baixos se verificam para a romã, no caso da atividade antioxidante, e para o arando, relativamente ao conteúdo em fenóis totais. Estes resultados são expectáveis, uma vez que é conhecido que o conteúdo fenólico é mais abundante em frutos com forte coloração, especialmente frutos de baga (Konic - Ristić *et al.*, 2011). Adicionalmente, os resultados do presente trabalho estão em concordância com os resultados de um estudo anterior, em que a amora apresentou a maior quantidade de fenóis totais ($850,52 \pm 4,77$ mg AG/100g), seguido do mirtilo ($621,92 \pm 15,51$ mg AG/100g) e framboesa ($357 \pm 7,06$ mg AG/100g) (Souza *et al.*, 2014).

A análise estatística multivariada, mostra que o sabugueiro é o fruto que mais se diferencia das restantes amostras, devido à alta atividade enzimática da PAL (preponderante no Fator 3), e ao seu forte conteúdo em fenóis totais e flavonóides (Fator 1). Adicionalmente, a framboesa, uva, mirtilo, groselha e arando possuem características químicas semelhantes, o que se verifica ao serem incluídas num único cluster (Fig.1-b). Estes agrupamento é devido não só à fraca atividade da enzima PAL e atividade antioxidante, mas também ao fraco conteúdo em fenóis totais e flavonóides. O que se verifica nas correlações observadas pelo teste de Pearson, que demonstra que a PAL se correlaciona com o conteúdo em fenóis totais e flavonóides, e ainda que a atividade antioxidante se correlaciona com o conteúdo em fenóis totais (Tabela 3).

Quando comparamos os frutos vermelhos e a mistura com o respetivo suplemento verifica-se que este apresenta os valores mais díspares na maioria dos parâmetros químicos, com a exceção da atividade da PAL, em que apresenta um valor inferior ao dos restantes dos frutos. Neste caso, este suplemento é significativamente diferente, pelo teste de Tukey, dos restantes frutos e também da sua mistura, em todos os parâmetros analisados. Estes resultados são refletidos na projeção dos dois fatores com maior peso (Factor 1 e Factor 3, que representam 97,45% da variância, Figura 1-b), em que se verifica que o suplemento forma singularmente um *cluster*, encontrando-se isolado num dos quadrantes. Em contraste, verifica-se que no caso da mistura, a sua constituição faz com que se situe próximo da romã e cássis, e no mesmo *cluster* onde se encontram adicionalmente a framboesa, mirtilo, uva e arando (Fig. 1-b). Esta disparidade entre mistura e suplemento pode ser entendida à luz de três premissas: (I) os frutos utilizados na elaboração dos suplementos podem apresentar características diferentes dos frutos presentemente utilizados, (II) as proporções dos frutos nos suplementos podem ser variáveis – note-se que no caso da mistura foram utilizadas proporções iguais de cada fruto, (III) os frutos representam 70 % da constituição suplemento, e outros componentes utilizados na elaboração destes suplementos podem originar o desvio verificado para o suplemento, relativamente aos frutos.

Conclusão

A análise realizada aos constituintes individuais dos suplementos permitiu verificar que a acerola e o sabugueiro são os frutos que mais se destacam na maioria dos parâmetros químicos estudados, o que está em linha com estudos anteriores que relacionam estes compostos com benefícios para a saúde. Todavia, a análise dos suplementos alimentares permitiu-nos verificar que estes, principalmente o de frutos vermelhos, não são comparáveis com misturas dos frutos. Atendendo a que estes suplementos contêm outros componentes além dos frutos, pode ser apontado que outros constituintes podem também contribuir para a atividade antioxidante dos mesmos.

Contudo, é de salientar que não deve ser desvalorizado o seu consumo uma vez que seu conteúdo fenólico é notável. Deve, todavia, ser salientado que o seu consumo deve ser em proporções adequadas, devido à potencial ação pro-oxidante dos compostos fenólicos na sua constituição, se consumidos em grande excesso.

Agradecimentos

Este trabalho foi suportado pelo Projecto INNOFOOD - *INNnovation in the FOOD sector through the valorization of food and agro-food by-products* - NORTE-07-0124-FEDER-0000029, financiado pelo Programa Operacional Regional do Norte de Portugal (ON.2 - O Novo Norte) no âmbito do Quadro de Referência Estratégico Nacional (QREN), através do Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER), bem como através de fundos nacionais (PIDDAC), através da Fundação para a Ciência e Português Tecnologia (FCT/MEC).

Referências

- Barros, A.I.; Freire, I., Gonçalves, B.; Bacelar, E.; Gomes, S.; Lopes, J.; Guedes-Pinto, H.; Martins-Lopes, P. Evaluation of chemical and phenotypic changes in Blanqueta, ‘Cobrançosa’ and ‘Galega’ during olive fruits ripening. *Cyta-J Food* (2013) 11: 136–141.
- Barros, AI; Nunes, F.M.; Gonçalves, B.; Bennett, R.N.; Silva, A.P. Effect of cooking on total vitamin C contents and antioxidant activity of sweet chestnuts (*Castanea sativa* Mill.). *Food Chem* (2011) 128: 165– 172.
- Braun, H.; Koehler, K.; Geyer, H.; Kleinert, J.; Mester, J.; Schänzer, W.; Dietary supplement use among elite young German athletes. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* (2009) 19, 97– 109.
- Chen, G.; Chen,S.; Zhao, Y.; Luo,C.; Li, J.; Gao, Y. Total phenolic contents of 33 fruits and their antioxidante capacities before and after in vitro digestion. *Ind Crop prod* (2014) 57: 150- 157.
- Dragovic-Uzelac. Polyphenols and Antioxidant Capacity in Fruits and Vegetables Common in the Croatian Diet. *Agric conspec sci* (2009) 3.
- Drogoudi, P.D. Peel and flesh antioxidant content and harvest quality characteristics of seven apple cultivars. *Sci Hortic-Amsterdam* (2008) 115: 149- 153.
- Jaffery, E.H.; Brown, A.F.; Kurilich, A.C.; Keek, A.S.; Matusheski, N.; Klein, B.P.. Variation in content of bioactive components in broccoli. *J Food Compos Anal* (2003) 16: 323–330.
- Lange, BM; Lapierre, C; Sandermann, H. Jr. Elicitor-induced spruce stress lignin (structural similarity to early developmental lignins). *Plant Physiol.* (1995) 108: 1277- 1287.
- Naczk, M.; Shahidi, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *J Pharmaceut Biomed* (2006) 41: 1523– 1542.
- Pellegrini, N.; Serafini, M.; Colombi, B.; Del Rio, D.; Salvatore, S.; Bianchi, M.; Brighenti, F..Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *A.S.N.S.* (2003) 133: 2812– 2819.
- Souza, V.R; Pereira, P.A.; Silva, T.L.; Lima, L.C.; Pio, R.; Queiroz, F. Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. *Food Chem* (2014) 156: 362– 368.
- Tovar, M. J., Romero, M. P., Girona, M. J., & Motilva, M. J. (2002). L-Phenylalanine ammonia-lyase activity and concentration of phenolics in developing olive (*Olea europaea*, L. cv. Arbequina) fruit grown under different irrigation regimes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 892–898.

Zhishen, J.; Mengcheng, T.; Jiamming, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem* (1999) 64: 555- 559.

Quadros e figuras

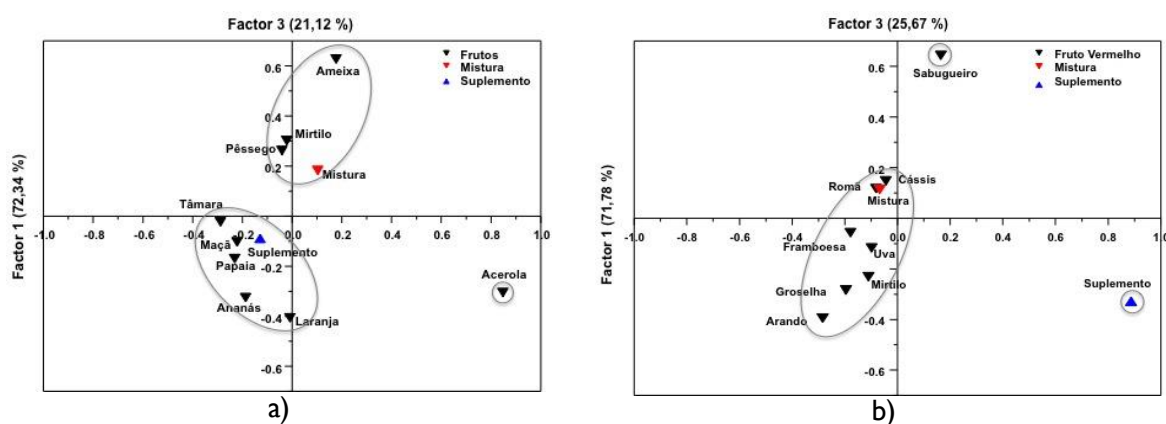


Figura 1. Projecção dos Fatores 1 e Fator 3, resultantes da análise PLS; a) para os frutos, b) para os frutos vermelhos.

Tabela 1. Quantificação dos parâmetros químicos para as frutas, respetiva mistura e suplemento.

Amostras	Atividade Antioxidante	Fenóis Totais	Flavonóides	PAL
Acerola	1095.01(38.11)e ¹	188.47(0.42)g	5.93(0.03)d	75.62(0.57)h
Ameixa	164.85(3.42)b	51.08(0.60)d	16.06(0.02)g	39.75(0.31)f
Ananás	2.82(0.15)a	2.66(0.15)a	0.58(0.02)a	33.17(1.77)c
Laranja	169.30(7.82)bc	5.53(0.07)ab	1.26(0.01)b	46.86(0.27)g
Maça	3.03(0.34)a	3.43(0.18)a	2.24(0.04)c	26.92(0.87)b
Mirtilo	202.03(2.97)bc	62.49(2.83)e	7.51(0.12)e	25.54(1.29)b
Papaia	32.84(1.38)a	3.61(0.17)a	0.88(0.01)ab	26.68(0.19)cd
Pêssego	198.98(9.86)bc	10.95(0.20)bc	7.32(0.24)e	33.09(0.37)c
Tâmara	25.92(1.45)a	2.73(0.00)a	1.33(0.03)b	19.99(0.60)a
Mistura	254.71(6.33)d	71.34(5.88)f	8.10(0.47)f	35.64(0.70)e
Suplemento	204.08(14.38)c	12,28(0.38)c	1.36(0.05)b	30.73(0.52)c

¹Os resultados são expressos em média \pm DP (n 3) por coluna seguidos por diferentes letras minúsculas significativamente diferentes em $P < 0,001$ (***) de acordo com o teste múltiplo de Tukey. Letras iguais na mesma coluna indicam valores que não são significativamente diferentes.

Tabela 2. Quantificação dos parâmetros químicos para as frutas vermelhas, respetiva mistura e suplemento.

Amostras	Atividade antioxidante	Fenóis totais	Flavonóides	PAL
Amora	210.49(16.82)ab1	76.63(0.57)cd	8.17(0.33)ab	78.13(6.90)e
Arando	109.58(5.85)a	21.55(2.09)a	2.69(0.08)a	19.88(0.80)a
Cássis	554.22(8.05)e	56.46(0.70)bc	9.71(0.63)ab	59.25(2.55)d
Framboesa	299.90(14.20)bc	34.33(0.22)ab	4.79(0.08)a	46.81(0.90)bc
Groselha	377.26(10.87)cd	34.56(1.50)ab	6.04(0.43)ab	23.88(0.50)a
Mirtilo	202.03(2.97)ab	62.49(2.83)c	7.51(0.12)ab	25.54(1.29)a
Romã	93.48(1.20)a	65.19(4.98)c	4.08(0.34)b	57.35(4.11)d
Sabugueiro	442.07(25.20)de	92.90(0.72)d	18.56(1.10)b	110.54(2.06)f
Uva	139.14(10.27)a	61.90(3.43)c	8.19(0.77)ab	39.69(2.58)b
Mistura	167.30(2.44)a	62.43(2.78)c	7.72(0.46)ab	61.06(3.43)d
Suplemento	3235.8(133.68)f	149.89(6.65)e	117.19(7.65)c	55.07(1.08)cd

¹Os resultados são expressos em média \pm DP (n 3) por coluna seguidos por diferentes letras minúsculas significativamente diferentes em $P < 0,001$ (***) de acordo com o teste múltiplo de Tukey. Letras iguais na mesma coluna indicam valores que não são significativamente diferentes.

Tabela 3. Correlação dos diferentes parâmetros nas frutas e frutas vermelhas, misturas e suplementos.

	Compostos fenólicos	ABTS	PAL
Frutos Vermelhos	Fenóis totais	0.172	0.810***
	Flavonóides	0.590***	0.792***
Suplemento Frutos Vermelhos	Fenóis totais	1.000***	0.780
	Flavonóides	0.489	0.927
Mistura Frutos Vermelhos	Fenóis totais	-0.500	-0.803
	Flavonóides	-0.999*	-0.899
Frutos	Fenóis totais	0.958***	0.824***
	Flavonóides	0.239	0.206
Suplemento de Frutos	Fenóis totais	-0.543	-0.302
	Flavonóides	-0.556	-0.287
Mistura de Frutos	Fenóis totais	0.500	0.758
	Flavonóides	0.232	-0.103

Caracterização físico-química e atividade antioxidante da casca de diferentes cultivares de romã produzidas em Espanha

Luana Fernandes¹, José Alberto Pereira¹, Isabel López-Cortés², Domingo M. Salazar², & Elsa Ramalhosa¹

¹ CIMO-Instituto Politécnico de Bragança, Escola Superior Agrária, Campus de St^a Apolónia, Apartado 1172, 5301-855 Bragança, Portugal, luana.f.1987@gmail.com, jpereira@ipb.pt, elsa@ipb.pt

² Universidade Politécnica de Valência, Camino de Vera s/n, 46022 Valência, Espanha, islocor@esp.upv.es, dsalazar@prv.upv.es

Resumo

A casca de romã é um subproduto importante da indústria de bebidas elaboradas à base deste fruto. Até ao momento, geralmente a casca não é utilizada para outros fins, sendo desperdiçada. Nesse sentido, de forma a valorizar este subproduto, o presente estudo teve como objetivo proceder à determinação da presença de taninos hidrolisáveis, flavonóides e atividade antioxidante da casca de nove cultivares produzidas em Espanha.

Os resultados demonstraram que as cultivares estudadas apresentaram diferenças nas percentagens de casca (36,2 a 57,7% para a Parfianka e Cis 127, respetivamente), bem como na sua cor. A cultivar White foi aquela que apresentou os valores mais baixos de luminosidade (L^*) e das coordenadas a^* (verde-vermelho⁺) e b^* (azul-amarelo⁺). Em relação à atividade antioxidante, a cultivar Valenciana destacou-se face às restantes, apresentando os valores mais elevados de flavonóides (546 mg QE g⁻¹ extrato), taninos hidrolisáveis (2109 mg TAE g⁻¹ extrato), Capacidade Redutora Total (1510 mg GAE g⁻¹ extrato), Efeito Bloqueador dos Radicais Livres de DPPH (menor valor de EC₅₀ e igual a 6,93 mg L⁻¹) e Poder Redutor (menor valor de EC₅₀ e igual a 41,8 mg L⁻¹), sendo a casca com a maior quantidade em compostos bioativos. Além disso, outras cultivares, tais como a Cis 127, Mollar de Elche e Wonderful 1, apresentaram características importantes, como sejam, elevado teor em flavonóides, taninos e Capacidade Redutora Total. Pelo contrário, de um modo geral, a casca da cultivar Katirbasi foi a que apresentou os valores inferiores nessas propriedades.

Em suma, o presente trabalho demonstrou que as cascas de cultivares de romã podem ser reutilizadas e os seus extratos incorporados em outros produtos alimentares, tendo em conta os compostos detetados que são referidos na literatura como tendo efeitos positivos na saúde humana.

Palavras-chave: *Punica granatum* L., Cor, Taninos, Flavonóides.

Abstract

Pomegranate skin is a significant byproduct of pomegranate based beverage industry. So far, pomegranate skin is generally not used for other purposes, being wasted. Accordingly, in order to valorize this byproduct, the present study aimed to determine the presence of hydrolysable tannins and flavonoids, as well as the antioxidant activity of skin of nine cultivars grown in Spain.

The results showed that the nine cultivars had different skin percentages (36.2 to 57.7% for Parfianka and Cis 127, respectively), as well as color. White cultivar presented the lowest values of luminosity (L^*) and a^* (green-red⁺) and b^* (blue-yellow⁺) coordinates. Regarding antioxidant activity, the Valenciana cultivar stood out over the others, with the highest contents of flavonoids (546 mg QE g⁻¹ extract), hydrolyzable tannins (2109 mg TAE g⁻¹ extract), Total Reducing Capacity (1510 mg GAE g⁻¹ extract), blocking effect of DPPH free radical (the lowest EC₅₀ value, equal to 6.93 mg L⁻¹) and Reducing Power (the lowest EC₅₀ value, equal to 41.8 mg

L⁻¹). So, it was the skin with the highest amount of bioactive compounds. In addition, other cultivars, such as Cis 127, Mollar de Elche and Wonderful 1, showed important characteristics such as high content of flavonoids, tannins and Total Reducing Capacity. On contrary in general the skin of Katirbasi cultivar showed the lowest values in these properties.

In summary, the present study showed that the skins of these nine pomegranate cultivars can be reused and their extracts incorporated into other food products, taking into account the detected compounds that are referred in the literature as having positive effects on human health.

Keywords: *Punica granatum* L., Color, Hydrolysable tannins, Flavonoids, Antioxidant activity

Introdução

Espanha é o maior produtor europeu de romã, estando a sua produção localizada principalmente nas províncias da Comunidade Valenciana. A casca representa cerca de 50% do peso do fruto e é referida por vários autores como sendo uma boa fonte de compostos fenólicos, tais como flavonóides (antocianinas e catequinas) e taninos hidrolisáveis (punicalina, punicalagina, ácido gálico e ácido elágico) (Caliskan et al. 2012; Fawole et al. 2012; Ismail et al. 2012).

Nos últimos anos tem havido uma preocupação acrescida, por parte dos consumidores, em adquirir produtos ricos em compostos com propriedades antioxidantes, benéficos para a saúde. A casca de romã pode originar extratos ricos em compostos bioativos acima descritos que possam ser incorporados em alimentos e desse modo enquadrar-se nas exigências dos consumidores. Para além disso, a casca é um subproduto existente em grande quantidade que é desperdiçado da indústria de bebidas elaboradas à base de romã, que de um modo geral, não é utilizada para outros fins. Até ao momento, há pouca informação disponível sobre a bioatividade de cascas de romãs cultivadas em Espanha, tendo a maioria dos estudos incidido em sumos das três principais cultivares, nomeadamente: Mollar de Elche, Valenciana e Wonderful (Mena et al. 2011). Nesse sentido, e de forma a contribuir para a valorização deste subproduto, o presente estudo teve como objetivo principal determinar a presença de taninos hidrolisáveis e de flavonóides, bem como a atividade antioxidante da casca de nove cultivares produzidas em Espanha.

Material e Métodos

Amostragem

As romãs estudadas neste trabalho foram colhidas em Valência, Espanha, tendo sido selecionadas nove cultivares, nomeadamente: Mollar de Elche, Valenciana, White, CG8, Cis 127, Parfianka, Katirbasi, Wonderful 1 e Wonderful 2 (fig. 1). Após a colheita, os frutos foram transportados para o laboratório sob refrigeração. À sua chegada, foram lavados com água ultra-pura (sistema Milli-Q) e as cascas foram separadas dos restantes constituintes da romã.

Características físicas

Nas nove cultivares de romã foram avaliados os seguintes parâmetros: massa do fruto, massas e percentagens da casca, e cor. A cor da casca foi avaliada com um colorímetro Minolta CR-400, no modo CIELab, avaliando-se as coordenadas L^* , a^* , b^* .

Preparação dos extratos

Os extratos preparados a partir da casca de romã foram obtidos seguindo a metodologia descrita por Bchir et al. (2012). Aproximadamente 1 g de casca triturada foi misturada com 20 mL de solução de metanol: água (4:1, v/v) à temperatura ambiente, durante 5 h, sob agitação (IKA, RCT Modelo B). Em seguida, os extratos foram filtrados, congelados, liofilizados e re-

dissolvidos a 50 mg mL⁻¹ aquando da avaliação das propriedades químicas a seguir descritas. Todas as extrações foram realizadas em triplicado.

Flavonóides

O teor em flavonóides totais foi determinado segundo o método descrito por Viuda-Martos et al. (2011), com ligeiras alterações. Aos extratos de casca de romã foram adicionados 0,3 mL de NaNO₂ (5%, m/v) e, após 5 min, 0,3 mL de AlCl₃ (10%, m/v). Após 6 minutos, adicionaram-se 2 mL de NaOH (1M). A absorvância foi lida a 510 nm e os flavonóides totais foram quantificados usando uma curva padrão de quercetina (10-160 µg mL⁻¹). Os resultados foram expressos em mg equivalentes de quercetina por g de extrato de casca (mg QE g⁻¹ de extrato).

Taninos Hidrolisáveis

O teor em taninos hidrolisáveis foi determinado pelo método descrito por Elfalleh et al. (2012). A 1 mL da solução de extrato das cascas de romã, adicionaram-se 5 mL de 2,5% KIO₃ e misturou-se a solução no vórtex durante 10 segundos. Mediu-se a absorvância das soluções a 550 nm, tendo o branco sido preparado com uma solução metanol:água (4:1,v/v), igual à usada na preparação dos extratos. Diferentes concentrações de soluções de ácido tânico (0,025 a 0,8 g L⁻¹) foram utilizadas para a curva de calibração. Os resultados foram expressos em mg equivalentes de ácido tânico por g de extrato (mg TAE g⁻¹ extrato).

Atividade antioxidante

Capacidade Redutora Total:

A Capacidade Redutora Total (CRT) da casca de romãs foi determinada pelo método de Folin-Ciocalteu. A 100 µL das soluções de extratos com diferentes concentrações, foram adicionados 7,90 mL de água desionizada e 500 µL de reagente de Folin-Ciocalteu. Após 3 a 8 minutos foi adicionado 1,5 mL de uma solução saturada de carbonato de sódio. Aguardaram-se 2 horas e fez-se a leitura da absorvância a 765 nm. A curva de calibração foi preparada com ácido gálico. Os resultados foram expressos em mg equivalentes de ácido gálico por g extrato (mg GAE g⁻¹ extrato).

Efeito Bloqueador dos Radicais Livres de DPPH

A 300 µL de soluções de diferentes concentrações de extratos de casca foi adicionada 2,7 mL de solução metanólica de DPPH. Depois de 1 hora, no escuro, à temperatura ambiente, a absorvância foi lida a 517 nm. A atividade antioxidante foi expressa pela percentagem de Efeito Bloqueador dos Radicais Livres de DPPH de acordo com a Equação 1. O branco foi feito com metanol.

$$100 \quad (1) \quad \text{Efeito Bloqueador dos Radicais Livres de DPPH}(\%) = \frac{A_{DPPH} - A_{amostra}}{A_{DPPH}} \times$$

, sendo A_{DPPH} a absorvância da solução metanólica de DPPH (sem amostra) e A_{amostra} a absorvância da solução com amostra.

Poder Redutor:

A 1,0 mL de soluções de extrato de casca de romã a diferentes concentrações, foram adicionados 2,5 mL de solução tampão fosfato 0,2 M (pH 6,6) e 2,5 mL de K₃[Fe(CN)₆] 1% (m/v). Após agitação, a mistura foi incubada a 50 °C durante 20 minutos e posteriormente foram adicionados 2,5 mL de ácido tricloroacético a 10% (m/v). 2,5 mL da mistura foram transferidos para outro tubo de ensaio, aos quais foram adicionados 2,5 mL de água destilada e 0,5 mL de FeCl₃ a 0,1% (m/v). A absorvância foi lida a 700 nm.

Análise estatística

A análise estatística dos resultados foi realizada no software SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL), versão 18.0. A normalidade e a homogeneidade da variância foram verificadas pelos testes Shapiro-Wilk e Levene, respetivamente. Uma vez que se observou homogeneidade de variâncias e de modo a avaliar a existência de diferenças significativas entre os extratos preparados a partir de cascas de diferentes cultivares de romã aplicou-se a One-Way ANOVA. Aquando da existência de diferenças significativas aplicou-se o teste post-hoc de Tukey HSD para determinar as cultivares diferentes entre si.

Resultados e Discussão

Características físicas

Verificou-se que as nove cultivares estudadas apresentaram diferenças nas percentagens de casca, variando entre 36,18 a 57,74% para a Parfianka e Cis 127, respetivamente (quadro 1). Quanto à cor também se verificaram diferenças significativas entre as cascas das cultivares. O parâmetro L^* (luminosidade) apresentou os valores mais elevados nas cultivares Mollar de Elche e Valenciana. Este facto era esperado, uma vez que foram as que apresentaram a casca mais clara (fig. 1). Pelo contrário, as cultivares White, Parfianka e CG8 foram aquelas que apresentaram os menores valores de L^* , sendo as cultivares mais escuras. Quanto aos parâmetros a^* (verde-vermelho⁺) e b^* (azul-amarelo⁺), a cultivar White foi a que apresentou os menores valores para ambos os componentes. Segundo o parâmetro a^* , as cultivares Cis 127 e Valenciana foram as mais avermelhadas, enquanto pelo parâmetro b^* , a Mollar de Elche e a Valenciana foram as mais amareladas.

Flavonóides e taninos hidrolisáveis

As cascas das nove cultivares apresentaram diferenças significativas no teor de flavonóides e taninos hidrolisáveis, tendo a cultivar Valenciana se destacado com os maiores valores em flavonóides (546 mg QE g⁻¹ extrato) e taninos (2109 mg TAE g⁻¹ extrato). No entanto, a Mollar de Elche e a Cis 127 também apresentaram valores elevados desses compostos bioativos. Pelo contrário, as cascas das cultivares Katirbasi e Parfianka foram as que apresentaram os menores valores de flavonóides e taninos, respetivamente.

Atividade antioxidante

Capacidade Redutora Total:

A CRT nas cascas de romã variou entre 243,7 e 1509,9 mg GAE g⁻¹ de extrato (quadro 2). Nesse sentido, as cascas das romãs apresentaram valores muito distintos entre cultivares, tendo a cultivar Valenciana sido aquela que apresentou os maiores valores de CRT. Refira-se que esta cultivar foi a que apresentou os maiores valores de flavonóides e taninos hidrolisáveis, classes incluídas nos compostos fenólicos (Balasundram et al. 2006).

Efeito Bloqueador dos Radicais Livres de DPPH:

O Efeito Bloqueador dos Radicais Livres de DPPH apresentou diferenças significativas entre as cascas das diferentes cultivares, tendo o valor de EC₅₀ variado entre 6,93 e 58,72 mg L⁻¹, para a Valenciana e Katirbasi, respetivamente (quadro 2). Nesse sentido, a cultivar Valenciana, seguida da Cis 127, apresentaram o maior potencial antioxidante, uma vez que os valores de EC₅₀ foram os mais baixos. Ao comparar estes resultados com os de Elfalleh et al. (2012), os quais testaram diferentes solventes de extração, valores semelhantes ao nosso limite inferior foram obtidos, nomeadamente iguais a 3,88 e 11,48 mg L⁻¹ para metanol e água, respetivamente.

Poder Redutor:

Também no Poder Redutor, as cascas de romã apresentaram diferenças significativas entre cultivares. As cultivares Valenciana, Cis 127, Mollar de Elche e Wonderful 1 foram as que apresentaram os menores valores de EC₅₀ em comparação com as restantes cultivares. Assim, a Valenciana, Cis 127, Mollar de Elche e Wonderful 1 foram as que apresentaram maior atividade antioxidante.

Conclusões

Em suma, a cultivar Valenciana foi a que apresentou a casca com maior potencial antioxidante, resultado dos maiores teores de flavonóides, taninos hidrolisáveis, Capacidade Redutora Total, Efeito Bloqueador de Radicais Livres de DPPH e Poder Redutor. No entanto, cascas de outras cultivares mostraram também ter potencial antioxidante, nomeadamente a Cis 127, Wonderful 1 e Mollar de Elche. Nesse sentido, o presente trabalho demonstrou que as cascas de cultivares de romã podem ser reutilizadas e os seus extratos incorporados em outros produtos alimentares, tendo em conta os compostos detetados, os quais que são referidos na literatura como tendo efeitos positivos na saúde humana.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao POCTEP - Programa Cooperação Transfronteiriça Espanha-Portugal pelo apoio financeiro através do Projeto "RED/AGROTEC - Red transfronteriza España Portugal de experimentación y transferencia para el desarrollo del sector agropecuario y agroindustrial".

Referências

- Balasundram, N., Sundram, K. & Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry* 99:191-203.
- Bchir, B., Besbes, S., Karoui, R., Attia, H., Paquot, M. & Blecker, C. 2012. Effect of air-drying conditions on physico-chemical properties of osmotically pre-treated pomegranate seeds. *Food and Bioprocess Technology* 5:1840–1852.
- Caliskan, O. & Bayait, S. 2012. Phytochemical and antioxidant attributes of autochthonous Turkish pomegranates. *Scientia Horticulturae* 147:81-88.
- Elfalleh, W., Hannachi, H., Tlili, N., Yahia, Y., Nasri, N. & Ferchichi, A. 2012. Total phenolic contents and antioxidant activities of pomegranate peel, seed, leaf and flower. *Journal of Medicinal Plants Research* 6:4724-4730.
- Fawole, O.A., Makunga, N.P. & Opara, L. 2012. Antibacterial, Antioxidant and Tyrosinase-inhibition activities of pomegranate fruit skin methanolic extract. *BMC Complementary & Alternative Medicine* 12:2-12.
- Ismail, T., Sestili, P. & Akhtar, S. 2012. Pomegranate skin and fruit extracts: A review of potencial anti-inflammatory and anti-infective effects. *Journal of Ethnopharmacology* 143:397-405.
- Mena, P., García-Viguera, C., Navarro-Rico, J., Moreno, D.A., Bartual, J., Saura, D. & Martí, N. 2011. Phytochemical characterisation for industrial use of pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars grown in Spain. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 91:1893-1906.
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., Sendra, E., Sayas-Barberá, E. & Pérez-Álvarez, J.A. 2011. Antioxidant properties of pomegranate (*Punica granatum* L.) bagasses obtained as co-product in the juice extraction. *Food Research International* 44:1217–1223.

Quadro 1 – Características físicas das nove cultivares de romã estudadas no presente trabalho

Cultivares	Massa do fruto (g)	Massa da casca (g)	% casca	Cor da casca		
				<i>L</i> *	<i>a</i> *	<i>b</i> *
Mollar de Elche	478,64±13,54 ^a	197,59±11,79 ^a	41,33±3,28 ^{a,b}	62,59±10,35 ^a	23,89±14,66 ^a	34,08±4,61 ^a
Valenciana	438,05±49,49 ^{a,b}	178,36±18,47 ^{a,b}	40,75±0,44 ^{a,b}	48,69±7,61 ^b	43,23±6,22 ^{b,c}	26,93±2,90 ^b
White	175,95±28,81 ^c	78,27±16,32 ^c	44,54±7,27 ^{a,b,c}	28,12±1,62 ^c	13,90±6,83 ^d	3,20±2,01 ^c
CG8	335,72±8,50 ^{a,b}	161,79±25,58 ^{a,b}	48,11±6,63 ^{b,c}	34,05±4,24 ^{d,e}	34,09±4,77 ^{a,e}	13,00±3,19 ^d
Cis 127	324,62±50,43 ^{a,b}	186,06±22,01 ^{a,b}	57,74±5,80 ^c	46,80±6,47 ^b	45,16±6,25 ^b	26,00±2,74 ^b
Katirbasi	275,10±32,68 ^{b,c}	118,79±10,48 ^{b,c}	43,30±2,01 ^{a,b,c}	36,21±5,12 ^{e,f}	41,24±4,01 ^c	17,38±3,75 ^e
Parfianka	412,46±84,63 ^{a,b}	148,25±22,54 ^{a,b,c}	36,18±1,77 ^a	33,67±2,43 ^d	35,26±5,17 ^{e,f}	13,63±3,62 ^d
Wonderful 1	368,55±25,00 ^b	168,89±29,21 ^{a,b}	45,61±4,94 ^{a,b,c}	40,20±6,74 ^g	38,45±5,60 ^f	17,53±5,38 ^e
Wonderful 2	415,17±39,36 ^{a,b}	180,32±48,62 ^{a,b}	42,95±8,16 ^{a,b}	37,13±3,97 ^f	36,62±6,69 ^f	14,11±3,75 ^d

Os valores na mesma coluna com diferentes letras são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$). (média ± desvio-padrão, $n=4$).

Quadro 2 - Flavonóides, taninos hidrolisáveis e atividade antioxidante da casca de nove cultivares de romã cultivadas em Espanha.

Cultivares	Flavonóides (mg QE g ⁻¹ extrato)	Taninos hidrolisáveis (mg TAE g ⁻¹ extrato)	CRT (mg GAE g ⁻¹ extrato)	EC ₅₀ DPPH* (mg L ⁻¹)	
				¹⁾	EC ₅₀ Poder Redutor** (mg L ⁻¹)
Mollar de Elche	303±48 ^a	727±163 ^{a,b}	570,5±18,3 ^{b,d}	17,85±7,99 ^a	59,80±2,35
Valenciana	546±78 ^b	2109±230 ^c	1509,9±305,7 ^c	6,93±0,19 ^a	41,77±11,45
White	228±26 ^c	383±82 ^{d,e}	471,3±35,8 ^{a,d,e}	13,21±0,33 ^a	205,72±276,77
CG8	137±8 ^d	265±42 ^d	243,7±8,7 ^d	29,85±1,14 ^b	334,50±201,15
Cis 127	325±16 ^a	893±136 ^b	976,5±154,0 ^f	12,43±0,82 ^a	57,71±1,29
Katirbasi	102±12 ^d	259±56 ^d	257,9±23,1 ^d	58,72±16,58 ^d	317,41±106,11
Parfianka	150±17 ^d	184±62 ^d	336,0±87,6 ^{a,d,e}	50,56±0,87 ^c	202,27±58,79
Wonderful1	230±24 ^c	541±87 ^{a,e}	741,7±105,3 ^{b,f}	16,97±0,45 ^a	59,59±0,03
Wonderful 2	161±19 ^d	357±47 ^{d,e}	324,6±31,0 ^{d,e}	30,90±2,93 ^b	280,60±134,71

Os valores na mesma coluna com letras diferentes são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$). (média ± desvio-padrão, $n=3$). QE - equivalentes de quercetina. TAE - equivalentes de ácido tânico. GAE – equivalentes de ácido gálico. *EC₅₀ DPPH - Concentração de extrato que origina um Efeito Bloqueador do Radical Livre de DPPH igual a 50%. **EC₅₀ Poder Redutor - Concentração de extrato necessária para se obter uma absorvância de 0,5 no ensaio do Poder Redutor.

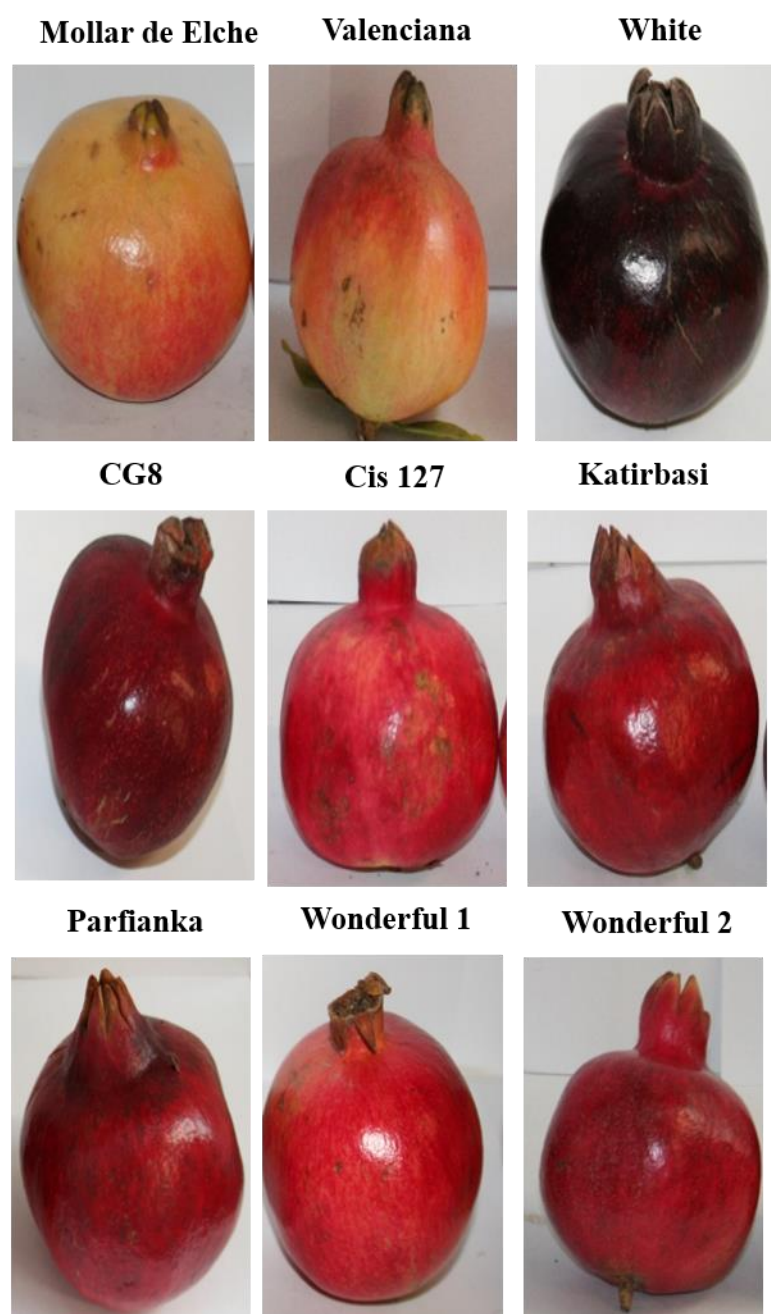


Figura 1 - Cultivares de romã estudadas no presente trabalho.

Caracterização molecular de variedades regionais de macieira do Norte de Portugal

Patrícia Corredeira¹, Valdemar Carnide^{1,2}, Vanessa Ferreira², Olinda Pinto-Carnide², Cláudia Dias¹, Raúl Rodrigues³, Augusto Assunção⁴ & Isaura Castro^{1,2}

¹ Departamento de Genética e Biotecnologia, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 5000-801 Vila Real (patricia.corredeira@gmail.com; claudiafbdias@gmail.com)

² Instituto de Biotecnologia e Bioengenharia, Centro de Genómica e Biotecnologia, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, (IBB/CGB-UTAD), 5000-801 Vila Real (vcarnide@utad.pt; vanessa.cm.ferreira29@gmail.com; olindac@utad.pt; icaastro@utad.pt)

³ Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Escola Superior Agrária de Ponte de Lima, Instituto Politécnico de Viana do Castelo (ESAPL/IPVC), 4990-706 Refóios (raulrodrigues@esa.ipvc.pt)

⁴ Divisão de Apoio ao Setor Agroalimentar, Direção Regional de Agricultura e Pescas do Norte, Quinta de S. José, S. Pedro de Merelim, 4700-859 Braga (augusto.assuncao@drapn.mamaot.pt)

Resumo

As variedades regionais, nomeadamente de macieira, constituem um material privilegiado pois, por seleção natural, foram gradualmente adaptando-se a diferentes habitats. As suas peculiaridades morfológicas, organoléticas e sensoriais permitem facilmente distingui-las das variedades comerciais, sendo assim uma mais-valia para os agricultores e para os consumidores.

Muitas destas variedades estão praticamente no esquecimento, têm uma deficiente caracterização e estão fora dos circuitos de comercialização. Urge inverter esta situação, congregando esforços na identificação, caracterização e conservação das diferentes variedades e na avaliação da variabilidade genética, essenciais para o melhoramento e manutenção de cultivares únicas.

Os métodos convencionais para caracterização e avaliação da variabilidade genética baseiam-se em características morfológicas, fisiológicas e agronómicas, muitas vezes pouco adequadas e insuficientes, por estarem relacionadas com o desenvolvimento das plantas, com o ambiente e com as práticas culturais, como os porta-enxertos ou o tipo de poda, entre outras. Os marcadores moleculares permitem a caracterização genética e a comparação de material existente em coleções sem a influência ambiental. Os marcadores de ADN são mais abundantes que os marcadores morfológicos e bioquímicos e permitem a avaliação de todo o genoma.

Neste trabalho procedeu-se à caracterização de 45 variedades regionais de macieira provenientes de diferentes concelhos do Norte do país através do marcador molecular inter-microsatélite (ISSR), com um total de oito *primers* ISSR. Os dados obtidos permitiram concluir sobre a grande variabilidade genética do material estudado. O dendrograma obtido a partir da matriz de presença/ausência dos fragmentos amplificados permitiu dividir as variedades regionais em dois grupos principais. Este estudo será útil na gestão de coleções das coleções de germoplasma e na seleção de material de macieira regional como uma mais-valia para os agricultores e consumidores.

Palavras-chave: *Malus*, variedades regionais, marcadores moleculares, sinónimos/homonímias, ISSR

Abstract

Molecular characterization of apple regional varieties in the North of Portugal

The regional varieties, namely of apple, correspond to a privileged material as, by natural selection, were gradually adapting to different habitats. As proof of this is its persistence even when left to the most complete abandonment. Their morphological, organoleptic and

sensory peculiarities allow to easily distinguishing them from commercial varieties being an advantage for farmers and consumers.

Many of these varieties are notoriously shadowed, are not well characterized and are out of the market circuits. This must be reverted, in an effort for identification, characterization and conservation of all varieties and its genetic variability, as the essence for improvement. The traditional methods for evaluation and characterization of the genetic variability are based on agronomic, morphological and physiological characteristics, often not adequate for being bound to the plant development itself, such as environment and cultural practices, like grafting or pruning style. The molecular markers allow for the genetic characterization and germplasm comparison without the influence of the environment or cultural practices. The DNA markers are far more abundant than biological and morphological markers and lead to allow the evaluation of the entire genome.

In this study, the characterization of 45 regional varieties of apple tree, from various municipalities in the north of the country, was performed through inter simple sequence repeat (ISSR) markers, with a total of eight ISSR *primers*.

The data obtained allow concluding about the high genetic variability of the studied material. The dendrogram from the matrix of presence / absence of amplified fragments allowed dividing the samples into two main groups. This study will be useful in the management of germplasm collections and in the selection of regional apple material as an added value for farmers and consumers.

Keywords: *Malus*, regional varieties, molecular markers, synonymies/homonyms, ISSR

Introdução

A macieira pertence à espécie *Malus domestica*, sendo também conhecida como *M. pumila*. É uma espécie monóica com flores hermafroditas normalmente diplóide ($2n = 34$ cromossomas). Existem também algumas variedades triplóides ($2n = 3x = 51$ cromossomas), como por exemplo as variedades “Booskop”, “Janagold”, “Gravensteiner”, entre outras (Pereira-Lorenzo et al., 2009).

Em Portugal, as variedades regionais protegidas são aquelas que apresentam um elevado valor comercial, particularmente “Bravo de Esmolfe” e “Riscadinha de Palmela”, ambas dispersas por todo o país e cultivadas sob a designação de “Denominação de Origem Protegida” (DOP).

Diversas variedades regionais de macieira conhecidas no início do século vinte foram sendo desvalorizadas pelos fruticultores em detrimento de outras mais produtivas, geralmente importadas, devido a condicionalismos técnicos, políticos e socioeconómicos. As perspetivas para a preservação de variedades regionais de árvores de fruto são agora melhores devido à crescente preocupação com as questões ambientais, e ainda devido à acentuada procura de produtos diferenciados, que possam ser uma alternativa à massificação e que permitam a criação de nichos de mercado. Desta forma, uma identificação, caracterização e conservação adequada destas variedades é essencial para os programas de melhoramento, não só no que diz respeito ao desenvolvimento de novos cultivares com características atrativas, mas também para a preservação da diversidade genética de características únicas e particulares presentes nestas variedades regionais. Relativamente ao germoplasma de variedades regionais portuguesas de macieira, existem vários casos de sinónimas e homónimas por esclarecer. Os métodos convencionais utilizados para a caracterização e avaliação da afinidade genética entre estas variedades baseados em características morfológicas, fisiológicas e agrónomicas, embora essenciais, apresentam várias limitações, uma vez que são dependentes, entre outros fatores, do estado de desenvolvimento da planta e das práticas agrícolas. As técnicas moleculares têm complementado esta caracterização e colmatado algumas das suas limitações, sendo vários os estudos que recorrem aos marcadores moleculares para a caracterização de variedades de macieira (Goulão et al., 2001; Adebayo et al., 2009; Smolik & Krzysztozek, 2010; Pathak &

Dhawan, 2011; Potts et al., 2011; Zhang et al., 2011; Foroni et al., 2012; Urrestarazu et al., 2012).

Este trabalho teve como principal objetivo o estudo de 45 variedades regionais de macieira, com recurso ao marcador molecular ISSR, para avaliação da variabilidade e similaridade genéticas entre as variedades.

Material e Métodos

Um total de 45 variedades regionais de macieira do Norte de Portugal colhidas na coleção de campo existente na Quinta de Sergude-Felgueiras (amostras designadas com F), pertencente ao Ministério da Agricultura e Pescas do Norte e na Escola Superior Agrária de Ponte de Lima do Instituto Politécnico de Viana do Castelo (amostras designadas com ESAPL) (quadro 1) foi analisado através da amplificação de oito *primers* ISSR (UBC 810, UBC 845, UBC 848, UBC 873, UBC 880, UBC 889, UBC 890, UBC 891).

A extração de ADN foi efetuada a partir do lenho de árvores adultas com recurso a um kit comercial (NucleoSpin Plant II Kit – Macherey-Nagel). A concentração do DNA foi determinada por espectrofotometria (Nanodrop® ND-1000, ThermoFisher Scientific), e a qualidade do mesmo avaliada por eletroforese em gel de agarose a 1,0%.

A amplificação do ADN foi realizada com a técnica PCR (Polymerase Chain Reaction) tendo sido as misturas da reação de PCR preparadas para um volume final de 20,0 µL, com 1,5 µL de DNA à concentração de 10ng/µL, 7,0 µL de H₂O, 1,5 µL de *primer* à concentração de 5µM e 10,0 µL de Taq master mix (Qiagen). O programa de amplificação utilizado foi o seguinte: 5 min a 94°C, seguido de 45 ciclos de 30 s a 94°C, 45 s a 52°C e 2 min a 72°C e com uma extensão final de 5 min a 72°C.

A leitura dos produtos PCR-ISSR foi registada como presença (1) ou ausência (0) de banda com base no perfil do marcador de peso molecular “GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder”. Estes dados foram reunidos numa matriz binária, posteriormente importada para o programa informático NTSYS-pc 2.02g (Rohlf, 2005) para a análise de agrupamento. A matriz de similaridade genética entre genótipos foi calculada de acordo com o índice de similaridade “*simple matching*” (SM) (Sneath & Sokal, 1973) e um dendrograma construído usando o método UPGMA (*Unweighted Pair Group Method Arithmetic Average*).

Resultados e Discussão

No total, foram amplificadas 182 bandas PCR-ISSR, das quais 177 polimórficas, nas 45 variedades de macieira analisadas. As bandas amplificadas apresentaram tamanhos que variaram entre 280 e 2900 pares de bases.

O número de bandas obtidas por *primer* esteve compreendido entre 11 e 31, com uma média de 22,8 bandas por *primer*. O *primer* UBC 845 apresentou o menor número de bandas amplificadas e o *primer* UBC 891 apresentou o maior número (quadro 2).

Todos os *primers* testados permitiram a amplificação de um grande número de marcadores, com uma percentagem média de polimorfismo de 97,3%. Em cinco dos *primers* amplificados (UBC 810, UBC 848, UBC 873, UBC 890, UBC 891) a percentagem de polimorfismo foi de 100% (quadro 2). Foram observadas 19 bandas únicas, em maior número na amplificação com o *primer* UBC890.

Através da análise do dendrograma foi possível agrupar as variedades em 2 *clusters* principais, com um nível de semelhança de 0,70. O *cluster* I contendo 38 variedades e 0,73 de similaridade e o *cluster* II incluindo as restantes 7 variedades com uma similaridade de 0,74. O *cluster* I pode ser subdividido em 2 subgrupos: I.1 com 18 variedades (0,75 de similaridade) e I.2 com 20 variedades (0,78 de similaridade) (fig. 1).

As variedades “Três ao Prato”(23F) e “Pipo de Basto”(24F) e as variedades “Moleirinha”(18ESAPL) e “Camoesa Fina”(19ESAPL) apresentaram similaridade entre si, embora estejam documentadas como variedades distintas (www.drapc.min-agricultura.pt). “Moleirinha” (7F) e “Moleirinha” (18ESAPL) que apresentam a mesma designação mas

diferentes locais de colheita, foram agrupadas no mesmo *cluster* principal (I) (fig. 1). As variedades “Pé de Cera”(13F) e “Pé de Cera”(3ESAPL), assim como “Maçã de S. João”(11F) e “S. João”(21ESAPL) provenientes de diferentes locais de recolha, foram agrupadas em *clusters* diferentes, denunciando uma grande variabilidade intravarietal ou eventual erro de identificação (fig. 1).

As quatro amostras analisadas com a designação “Espriega” agruparam-se todas no subgrupo I.1. No subgrupo I.2 agruparam-se as amostras “Pardo Lindo”(26F), “Pardo Lindo”(20ESAPL) e ainda “Camoesa Fina ou Pêro de Alenquer”(38F) e “Camoesa Fina”(19ESAPL). As duas amostras “Camoesa Rosa” estudadas (18F e 28F) posicionaram-se em diferentes subgrupos, denunciando eventual erro de identificação ou possivelmente um grande polimorfismo existente dentro desta variedade (fig. 1). De notar que estas duas variedades em caracterização morfológica já tinham mostrado apresentar algumas diferenças.

No grupo dos pêros, o “Pêro de Coura ou Pé Torto”(12F) e o “Pêro Limão”(15F), agruparam-se no *cluster* II enquanto que o “Pêro da Lixa ou Lixa”(34F) se agrupou no *cluster* I (fig. 1), revelando uma grande variabilidade entre si, apesar da forma igual dos frutos.

Barracosa et al. (2008) avaliaram a diversidade genética de 13 variedades regionais de macieira incluindo as variedades “Bravo de Esmolfe”, “Camoesa Rosa”, “Pipo de Basto” e “Pardo Lindo”, com o marcador molecular RAPD, e estas quatro variedades agruparam-se no mesmo *cluster*. No presente estudo as mesmas variedades agruparam também no mesmo *cluster*, embora “Bravo de Esmolfe”(22F), “Camoesa Rosa”(18F), “Pipo de Basto”(24F) se encontrem no subgrupo I.1 e “Pardo Lindo”(26F) e “Camoesa Rosa”(28F) no subgrupo I.2

Foroni et al. (2012), analisaram variedades de macieira dos Açores para detetar casos de homonímia e sinonímia, recorrendo a 12 *loci* SSR. As 200 variedades analisadas repartiram-se em treze grupos e foram identificadas 58 sinonímias e 32 homonímias. De acordo com estes autores, “Maçã Vermelha Riscada 2”, “Maçã Malápio” e “Malápio” são sinonímia de “Pêro Malápio” e “Maçã S. João 1” e “Maçã S. João 2” são sinonímia da variedade “Maçã São Miguel”. “Pé de Coura ou Pé Torto”, “Pêro Mulato” e “Malápio da Serra” estão também identificadas como sinonímias, assim como “Marmela”, “Comendador”, “Três ao prato (Covilhã)”, “Pássaros” e “Três ao Prato (Gerês)” (www.drapc.min-agricultura.pt).

Conclusões

Muitas variedades regionais estão praticamente no esquecimento, têm uma deficiente caracterização e estão fora dos circuitos de comercialização. É importante a sua correta identificação, caracterização e conservação, essenciais para o melhoramento e para uma futura exploração pelos fruticultores, com todas as suas potencialidades no âmbito das preocupações ambientais e na procura de produtos diferenciados.

O marcador molecular ISSR revelou ser um bom marcador para identificação e análise da variabilidade genética de variedades regionais de *Malus domestica* Borkh.

Os dados obtidos permitiram concluir sobre a grande variabilidade genética do material estudado, tendo sido detetados eventuais casos de erros de identificação, homonímias e variação clonal. De forma a confirmar estes resultados, este estudo irá ser alargado a outros marcadores moleculares e a outras variedades regionais de macieira.

Referências

- Adebayo, O.L., Bola, O., Opeyemi, W., Gloria, M. & Temitope, O.O. 2009. Phylogenetic and genomic relationships in the genus *Malus* based on RAPDs. *Afr. J. Biotechnol.* 8:3387-3391.
- Barracosa, P., Almeida, S. & Lopes, A. 2008. Análise da diversidade genética com marcadores RAPD em variedades regionais de macieira (*Malus x domestica* Borkh.) *In* Variedades Regionais e Agricultura Biológica-Desafios para Peras e Maçãs Portuguesas Simões, O., Lopes, A., Ferreira, J. (Coords). ESAC, DRAPC 188 p.

- Foroni, I., Baptista, C., Monteiro, L., Lopes, M.S., Mendonça, D., Melo, M., Carvalho, C., Monjardino, P., Lopes, D.J.H. & Câmara Machado, A. 2012. The use of microsatellites to analyze relationships and to decipher homonyms and synonyms in Azorean apples (*Malus × domestica* Borkh.). *Plant Syst. Evol.* 298:1297-1313.
- Goulão, L. & Oliveira, C. 2001. Molecular characterisation of cultivars of apple (*Malus × domestica* Borkh.) using microsatellite (SSR and ISSR) markers. *Euphytica*. 122:81-89.
- Pathak, H. & Dhawan, V. 2011. ISSR assay for ascertaining genetic fidelity of micropropagated plants of apple rootstock Merton 793. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 48:137-143.
- Pereira-Lorenzo, S., Ramos-Cabrer, A.M. & Fischer, M. 2009. Breeding Apple (*Malus × Domestica* Borkh). p. 33-81. In: S.M. Jain and P.M. Priyadarshan (eds.), *Breeding Plantation Tree Crops: Temperate Species*. Springer.
- Potts, S.M., Han, Y., Khan, M.A., Kushad, M.M., Rayburn, A.L. & Korban, S.S. 2011. Genetic diversity and characterization of a core collection of *Malus* germplasm using Simple Sequence Repeats (SSRs). *Plant Mol. Biol. Report.* 30:827-837.
- Rohlf, F.J., 2005. NTSYSpc: Numerical Taxonomy System, ver. 2.20. Exeter Publishing, Ltd., Setauket, New York.
- Smolik, M. & Krzysztoszek, O. 2010. Evaluation of genetic variability in chosen apple (*Malus × domestica* Borkh.) cultivars by ISSR-PCR analysis. *Russ. J. Genet.* 46:819-827.
- Sneath, P.H.A. & Sokal, R.R. 1973. *Numerical taxonomy: the principles and practice of numerical classification*. San Francisco: Freeman. 573 p.
- Urrestarazu, J., Miranda, C., Santesteban, L.G. & Royo, J.B. 2012. Genetic diversity and structure of local apple cultivars from Northeastern Spain assessed by microsatellite markers. *Tree Genet. Genom.* 8:1163-1180.
- Zhang, Q., Li, J., Zhao, Y., Korban, S.S. & Han, Y. 2011. Evaluation of genetic diversity in Chinese wild apple species along with apple cultivars using SSR markers. *Plant Mol. Biol. Report.* 30:539-546.

Quadro 1 - Código, designação, localidade de origem e coleção de germoplasma do material vegetal estudado.

Código	Designação	Origem(*)	Coleção(**)
1F	Espriega Pé de boi	-	Qta de Sergude
2F	Capela Sra. das Neves	Gerês	Qta de Sergude
3F	Riscadinha da Feira	Sta. Maria da Feira	Qta de Sergude
4F	Verdeal (ou maçã de embarque)	-	Qta de Sergude
5F	Espriega verde	-	Qta de Sergude
6F	Repinau	Baião	Qta de Sergude
7F	Moleirinha	-	Qta de Sergude
8F	Refoios	Ponte de Lima	Qta de Sergude
9F	Espriega Parda	-	Qta de Sergude
10F	S. Miguel	Sta. Marinha do Zêzere	Qta de Sergude
11F	Maçã de S. João	-	Qta de Sergude
12F	Pêro de Coura ou Pé Torto	-	Qta de Sergude
13F	Pé de Cera	-	Qta de Sergude
14F	Pink Lady rosa	-	Qta de Sergude
15F	Pêro Limão	-	Qta de Sergude
16F	Gigante do Douro ou Reineta de Inglaterra	-	Qta de Sergude
17F	Riscadinha das Malhas	-	Qta de Sergude
18F	Camosa Rosa (diferente)	-	Qta de Sergude
19F	Espriega ou Sepriega do Jardim	Sergude	Qta de Sergude
20F	Camosa D. Ester	Arouca	Qta de Sergude
21F	Marmela	-	Qta de Sergude
22F	Bravo de Esmolfe	Sergude	Qta de Sergude
23F	Três ao Prato	-	Qta de Sergude
24F	Pipo de Basto	-	Qta de Sergude
25F	Focinho de Burro	-	Qta de Sergude
26F	Pardo Lindo	-	Qta de Sergude
27F	Maçã de Vinho	Arcos de Valdevez	Qta de Sergude
28F	Camosa Rosa	-	Qta de Sergude
29F	Arouca	-	Qta de Sergude
30F	Verdinho de Vila Real	-	Qta de Sergude
31F	Malápico	-	Qta de Sergude
32F	Reineta Espanhola	-	Qta de Sergude
33F	D. Manuel	-	Qta de Sergude
34F	Pêro da Lixa ou Lixa	-	Qta de Sergude
35F	Baionesa Cebolera	-	Qta de Sergude
36F	Belle de Boscoup	-	Qta de Sergude
37F	Pardo de Sovinha ou Olho de Perdiz	-	Qta de Sergude
38F	Camosa Fina ou Pêro de Alenquer	-	Qta de Sergude
39F	Martingil	-	Qta de Sergude
40F	Porta da Loja	Braga	Qta de Sergude
3 ESAPL	Pé-de-Cera	-	ESAPL
18 ESAPL	Moleirinha	-	ESAPL
19 ESAPL	Camosa Fina	-	ESAPL
20 ESAPL	Pardo Lindo	-	ESAPL
21 ESAPL	S. João	-	ESAPL

(*) Localidade, quando conhecida, onde as amostras foram originalmente colhidas para inserir na coleção de germoplasma. (**) Qta de Sergude, coleção presente em Sergude, Felgueiras, pertencente ao Ministério da Agricultura e Pescas do Norte; ESAPL, coleção da Escola Superior Agrária de Ponte de Lima do Instituto Politécnico de Viana do Castelo.

Quadro 2 - Tamanho dos produtos de PCR-ISSR amplificados, número de bandas total (BT), polimórficas (BP), monomórficas (BM) e únicas (BU) e percentagem de polimorfismo (%P) para as 45 variedades regionais de macieira em estudo.

Primer	Tamanho (bp)	BT	BP	BU	% P
UBC 810	300-2900	29	29	2	100
UBC 845	330-1750	11	9	2	81,8
UBC 848	560-2500	24	24	4	100
UBC 873	290-2100	22	22	2	100
UBC 880	280-1300	20	19	1	95,0
UBC 889	400-1800	21	19	2	90,5
UBC 890	350-1900	24	24	5	100
UBC 891	310-1230	31	31	1	100
Total		182	177	19	
Média		22,8	22,1	2,4	97,3

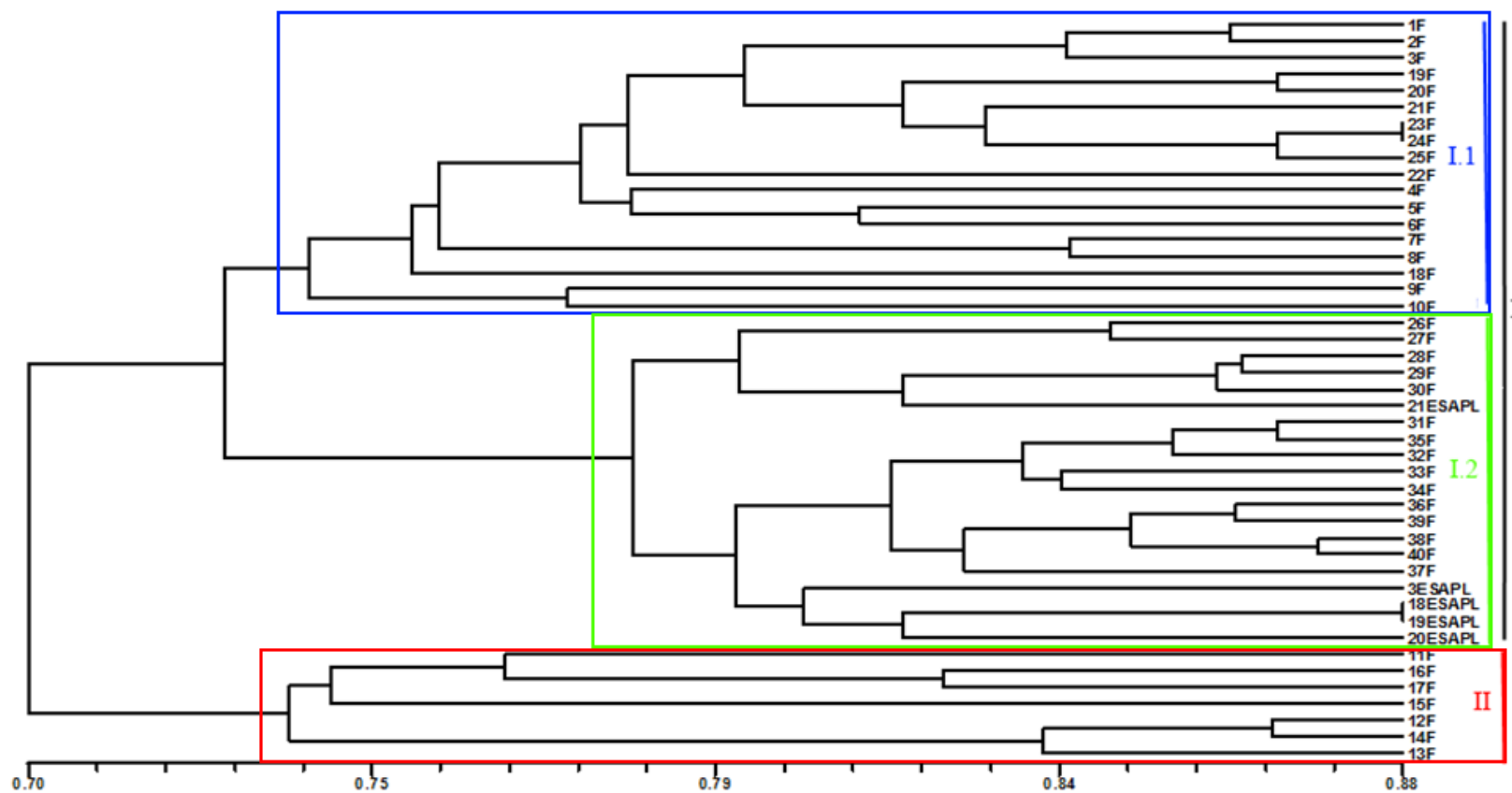


Figura 1 - Dendrograma com as relações filogenéticas entre as 45 variedades regionais de macieira em estudo, com base no marcador ISSR, aplicando o método UPGMA e o coeficiente SM (*simple matching*).

Estudo da diversidade genética de variedades regionais de macieira do Algarve (“Pêro de Monchique”)

Cláudia Dias¹, Valdemar Carnide^{1,2}, Olinda Pinto-Carnide², Vanessa Ferreira², Patrícia Corredeira¹, António Marreiros³, Margarida Costa³ & Isaura Castro^{1,2}

¹ Departamento de Genética e Biotecnologia, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, 5001-801 Vila Real (claudiafbdias@gmail.com; patricia.corredeira@gmail.com)

² Instituto de Biotecnologia e Bioengenharia, Centro de Genómica e Biotecnologia, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, (IBB/CGB-UTAD), 5001-801 Vila Real (vcarnide@utad.pt; olindac@utad.pt; vanessa.cm.ferreira29@gmail.com; icastr@utad.pt)

³ Direção de Serviços de Desenvolvimento Agroalimentar e Rural, Direção Regional de Agricultura e Pescas do Algarve, Apartado 282, Patação, 8001-904 Faro (marreiro@drapalg.min-agricultura.pt; margaridajcosta@drapalg.min-agricultura.pt)

Resumo

A macieira (*Malus x domestica* Borkh.) é uma das fruteiras com maior interesse económico a nível mundial. Por seleção natural as variedades regionais de macieira foram-se adaptando a ambientes com características específicas e, algumas delas, apresentam características organolépticas particulares, originando assim produtos com tipicidade. Reveste-se da maior importância a conservação destas variedades dado o seu potencial interesse, quer como variedades para produção quer para programas de melhoramento genético, sendo por isso necessária a sua correta identificação e caracterização. Os marcadores moleculares podem complementar a caracterização morfológica e colmatar a sua limitação de forte dependência ambiental. Os marcadores moleculares *Inter-Simple Sequence Repeats* (ISSRs) são uma técnica baseada na variação nas regiões entre microssatélites. Este método tem um grande número de aplicações nomeadamente no estabelecimento de relações genéticas entre populações, *fingerprinting* genético, deteção de variabilidade clonal, identificação de cultivares, análise filogenética, etc.

O presente trabalho constitui uma primeira abordagem molecular realizada num conjunto de macieiras com origem em alguns concelhos algarvios (principalmente em Monchique) e instaladas no Centro de Experimentação Agrária de Tavira. Oito *primers* ISSR foram amplificados em 22 variedades regionais com o objetivo principal de avaliar a sua identidade, nomeadamente a existência de duplicações, sinonímias, homonímias ou possíveis erros de identificação. Resultados preliminares indicam uma grande similaridade entre as variedades ‘Maça Ácida’ e ‘Pedregal’. As cinco amostras analisadas com designação ‘Malápio’ agruparam-se em *clusters* diferentes: ‘Malápio Bico de Parda’ e ‘Malápio do Norte’ *versus* ‘Malápio’, ‘Malápio de Pé Curto’ e ‘Malápio Pé de Porco’. Outros marcadores moleculares serão utilizados no futuro para confirmação e identificação destas e de outras variedades regionais de macieira.

Palavras-chave: *Malus*, coleções de germoplasma, marcadores moleculares, sinonímias/homonímias, ISSR

Abstract

Study of the genetic diversity of apple regional varieties from Algarve (“Pêro de Monchique”).

Apple (*Malus x domestica* Borkh.) is one of the fruit crops with greater economic interest worldwide. By natural selection, regional varieties of apple were themselves adapted to environments with specific characteristics, and some of them have particular sensorial characteristics, thus creating products with typicality. Is of utmost importance the conservation

of these varieties for their potential interest, either as varieties for production or for breeding programs and for that it is necessary their correct identification and characterization. Molecular markers can complement morphological characterization and remedy their limitation of strong environmental dependence. Molecular markers Inter-Simple Sequence Repeats (ISSRs) is a technique based on variation between microsatellite regions. This method has a number of applications including establishment of genetic relationships between populations, genetic fingerprinting detection of clonal variability, cultivar identification, phylogenetic analysis, etc.

This work constitutes a first molecular approach performed on a set of apple varieties from some Algarve municipalities (mainly in Monchique) and installed at the Center for Agricultural Experimentation of Tavira. Eight ISSR primers were amplified in 22 regional varieties with the main objective of assessing their identity, namely the existence of duplications, synonyms, homonyms or possible misidentifications. Preliminary results indicate a strong similarity between the varieties 'Maçã Ácida' and 'Pedregal'. The five samples with designation 'Malápíio' grouped in different clusters: 'Malápíio Bico de Pardal' and 'Malápíio do Norte' versus 'Malápíio', 'Malápíio de Pé Curto' and 'Malápíio Pé de Porco'. Other molecular markers will be used in the future for confirmation and identification of these and other regional varieties of apple.

Keywords: *Malus x domestica*; germplasm collections; molecular markers; synonyms/homonyms; ISSR

Introdução

A macieira (*Malus x domestica* Borkh.) da família Rosaceae, sub-família Maloideae (maioritariamente diploide, $2n=34$) é uma das árvores de fruto mais generalizadas e populares a nível mundial, sendo uma das mais importantes em zonas temperadas (Janick et al., 1996) e a mais importante cultura da família Rosaceae do mundo (Urrestarazu et al., 2012). Segundo Hokanson et al. (2001) a macieira domesticada é um híbrido complexo de várias espécies do género *Malus*. Janick et al. (1996) sugerem que a Ásia Central constitui a área com maior diversidade genética afirmando-se como o centro de origem da macieira cultivada. A macieira tem sido uma importante cultura desde há muito tempo, com referências que remontam à época romana (Adebayo et al., 2009). De 1804 a 1904 mais de 7000 variedades de maçãs foram descritas na literatura. No entanto, atualmente, apesar da grande distribuição geográfica, a produção mundial é baseada, na maioria das vezes, num número limitado de cultivares, contribuindo para a erosão genética da macieira domesticada (Hokanson et al., 2001). A intensificação da agricultura em todo o mundo, e em particular na Europa, ao substituir os sistemas agrícolas de subsistência, de enorme diversidade, por sistemas monoculturais intensivos, conduziu à erosão do património genético, particularmente no domínio das árvores de frutos (Fonseca, 2008).

A preocupação com a qualidade dos alimentos e a preservação do meio ambiente têm vindo a assumir uma importância crescente ao nível da opinião pública, o que se traduz num aumento da procura de alimentos provenientes da agricultura biológica. As variedades regionais de macieira constituem um material privilegiado para a produção em agricultura biológica pois, por seleção natural, foram lenta e gradualmente adaptando-se às condições edafoclimáticas prevalentes nas suas regiões de origem, podendo apresentar maior resistência às principais pragas e doenças que afetam estas culturas (Lopes et al., 2008). Adicionalmente, algumas variedades regionais apresentam características organoléticas particulares, porventura mais valorizadas pelo consumidor, assim como maior teor em determinados componentes comprovadamente benéficos para a saúde Humana na sua constituição (Guiné et al., 2008). Por estas razões, reveste-se da maior importância o estudo e conservação das variedades regionais ainda existentes no país, em grande número e diversidade.

Os marcadores moleculares *Inter Simple Sequence Repeats* (ISSRs) são uma técnica baseada na PCR, que envolve a amplificação de segmentos de ADN entre duas regiões repetitivas de microssatélites idênticas orientadas em direções opostas (Reddy et al., 2002). A amplificação de ISSRs não exige conhecimento prévio do genoma a analisar e tem a vantagem de permitir analisar múltiplos *loci* numa única reação (Goulão & Oliveira, 2001). Adicionalmente, os ISSRs são simples e rápidos de executar, altamente discriminativos, fiáveis e interessantes em termos de custo (Pathak & Dhawan, 2012), sendo uma ferramenta muito útil em estudos de diversidade genética e análise filogenética.

O presente trabalho, constitui uma primeira abordagem molecular com o objetivo de avaliar a variabilidade e as relações genéticas entre acessos de variedades de macieira provenientes da região do Algarve e identificar eventuais sinonímias, homonímias e possíveis erros de identificação ou duplicações.

Material e Métodos

Neste estudo foram analisadas 22 variedades regionais de macieira provenientes da região do Algarve (principalmente em Monchique), cedidas pela DRAPAlgarve (Direção Regional de Agricultura e Pescas do Algarve) e instaladas na coleção do Centro de Experimentação Agrária de Tavira.

O ADN genómico foi extraído de varas, utilizando o kit comercial NucleoSpin® Plant II (Macherey-Nagel), de acordo com as indicações do fabricante. A quantificação e avaliação da qualidade do ADN extraído foram realizadas por espectrofotometria no NanoDrop 1000 (Thermo Scientific) e por eletroforese em gel de agarose a 1%. O ADN foi diluído, quando necessário, para uma concentração final de 10 ng μL^{-1} .

A amplificação de ADN foi realizada através da técnica PCR, utilizando 8 *primers* ISSR. A mistura da reação de PCR para 20 μL continha 7 μL de água destilada, 1,5 μL de *primer* (5 μM), 10 μL de Taq PCR Master Mix (Qiagen) e 1,5 μL de ADN. Os ciclos de amplificação de PCR-ISSR realizaram-se num termociclador T100 Thermal Cycler (Bio-Rad), com a seguinte programação: etapa para desnaturação inicial de 94°C durante 5 min, seguida de 45 ciclos de 94°C/30s, 52°C/45s, 72°C/2min e, por fim, uma extensão final de 72°C durante 5 min. Os fragmentos de ADN obtidos após a amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose a 1,5% usando tampão TBE 1x e corados por brometo de etídio. A visualização e captação da imagem do gel foram realizadas com o sistema de captação Gel Doc XR (Bio-Rad). O tamanho dos fragmentos foi estimado por comparação com o marcador de peso molecular GeneRuler™ 100 bp Plus DNA Ladder (ThermoFisher).

Para a análise da similaridade genética, as bandas amplificadas por PCR foram assinaladas como presente (1) ou ausente (0), para cada amostra, e os dados introduzidos numa matriz de dados binários. A matriz de similaridade genética entre genótipos foi calculada de acordo com o coeficiente de similaridade “*Simple Matching*” (SM) (Sneath & Sokal, 1973) e um dendrograma foi construído usando o método UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average*), utilizando o programa informático NTSYS-pc (versão 2.20) (Rohlf, 2005).

Resultados e Discussão

Neste trabalho foram utilizados oito *primers* ISSR para analisar a diversidade genética de 22 variedades regionais de macieira, provenientes da região do Algarve.

Dos 153 fragmentos amplificados, 128 (83,66%) revelaram-se polimórficos, o que aponta para uma grande diversidade genética. Adicionalmente, 9 dos fragmentos detetados eram únicos. As bandas amplificadas apresentaram tamanhos que variaram entre 250 e 2500 pares de bases (quadro 1). O número total de bandas obtido por *primer* variou entre 12 e 24, com uma média de 19 por *primer*. O *primer* UBC 810 foi o mais informativo, com o maior número total de bandas amplificadas (24), o número mais elevado de bandas polimórficas (23)

e a maior percentagem de polimorfismo (95,83%). Por outro lado, o *primer* UBC845 revelou-se o menos informativo, com apenas 12 bandas amplificadas, 8 das quais polimórficas, o que se traduziu na menor percentagem de polimorfismo (66,67%) (quadro 1).

O nível de polimorfismo detetado neste trabalho, 83,66%, é sensivelmente idêntico ao de outros estudos realizados com marcadores ISSR em macieira. Goulão & Oliveira (2001) analisaram 41 variedades de macieira utilizando sete *primers* ISSR, obtendo um valor médio de polimorfismo de 89,1%. No entanto, o número total de bandas obtidas por estes autores foi claramente superior ao do presente estudo (252), com uma média de 36 bandas por *primer*. Existem, contudo, outros estudos com estes marcadores ISSR em macieira com número de fragmentos analisados bastante inferior, cerca de 8,9 por *primer* (Pathak & Dhawan, 2012) e cerca de 11 bandas por *primer* (Smolik & Krzysztozek, 2010). Estes últimos autores obtiveram um nível de polimorfismo de apenas 69,5%, embora tal resultado possa ser explicado pela presença de variedades híbridas obtidas de cruzamentos entre variedades também presentes no conjunto estudado.

O dendrograma, construído pelo método *clustering* UPGMA e o coeficiente de similaridade *Simple Matching*, ilustra as relações filogenéticas entre as variedades estudadas (figura 1). A sua análise revela que o nível de semelhança entre as variedades variou de 0,67 a 0,98. O dendrograma agrupou as 22 variedades em dois grandes grupos (*clusters*) principais, com um nível de semelhança de 0,70. O *cluster* I com 16 variedades e aproximadamente 0,73 de similaridade e o *cluster* II com 5 variedades e 0,71 de similaridade. O *cluster* I foi ainda subdividido em 2 subgrupos: I.1 com 11 variedades (0,73 de similaridade) e I.2 com 5 variedades (0,80 de similaridade).

Embora o fundo genético observado possa parecer limitado, convém salientar que o material estudado é proveniente de uma área geográfica limitada. Estes resultados estão de acordo com os de Goulão & Oliveira (2001) que obtiveram um nível de semelhança entre variedades que variou entre 0,71 e 0,92, num estudo efetuado também com marcadores ISSR em variedades maioritariamente comerciais. Por outro lado, num estudo de Farrokhi et al. (2011) utilizando 16 marcadores SSR para avaliar as relações filogenéticas de 44 variedades de macieira provenientes do Irão, o nível de semelhança observado entre as variedades variou entre 0,19 e 0,79, o que indica um elevado nível de variação genética, provavelmente devido ao importante papel da Pérsia na domesticação da macieira ao longo da história.

O dendrograma obtido revelou uma divisão das cinco amostras estudadas com designação “Malápí” por dois *clusters* principais: “Malápí Bico de Parda” e “Malápí do Norte” no *cluster* I e “Malápí”, “Malápí Pé de Porco” e “Malápí de Pé Curto” no *cluster* II. Também as três variedades com designação “Pêro” se posicionaram em *clusters* diferentes, as variedades “Pêro de Mesa” e “Pêro da Avó” embora posicionadas no *cluster* I apresentaram alguma dissemelhança e a variedade “Pêro Tomate” foi agrupada no *cluster* II. Pelo contrário, as variedades “Maça Ácida” e “Pedregal” apresentaram grande nível de semelhança (0,98) podendo tratar-se de um caso de sinonímia. Por outro lado, a variedade “D. Emília” revelou ser bastante diferente das restantes variedades estudadas, com um nível de semelhança de apenas 0,67.

Sinonímias e homonímias são um importante problema na macieira, existindo ainda muito trabalho a desenvolver no sentido de caracterizar e identificar corretamente as variedades de macieira portuguesas. As variedades com designação “Malápí” são as que apresentam um maior número de homonímias descritas na literatura. Dados da DRAPC (Direção Regional de Agricultura e Pescas do Centro) (www.drapc.min-agricultura.pt) indicam atualmente a identificação de 17 homonímias envolvendo a designação “Malápí”. Recentemente, Foroni et al. (2012) analisaram 200 amostras de variedades de macieira provenientes do arquipélago dos Açores e identificaram 60 casos de sinonímias e 32 casos de homonímias.

Conclusões

Os resultados deste estudo revelam a existência de uma grande diversidade genética entre as variedades regionais algarvias de macieira, verificada pelo elevado nível de polimorfismo apresentado. A necessidade de uma correta identificação das variedades regionais de macieira é reforçada pelo presente estudo: foi identificado um possível caso de sinonímia entre as variedades “Maçã Ácida” e “Pedregal” e possivelmente vários casos de sinonímias/homonímias envolvendo a designação “Malápio”.

Os marcadores moleculares ISSR revelaram ser úteis no estabelecimento de relações filogenéticas, na análise de diversidade genética e na identificação de variedades regionais de macieira. Outros marcadores moleculares, nomeadamente microssatélites, serão utilizados no futuro no estudo destas e de outras variedades regionais de macieira de diferentes coleções dispersas pelo país.

Referências

- Adebayo, O.L., Bola, O., Opeyemi, W., Gloria, M. & Temitope, O.O. 2009. Phylogenetic and genomic relationships in the genus *Malus* based on RAPDs. *African J. Biotechnol.* 8:3387–3391.
- Farrokhi, J., Darvishzadeh, R., Naseri, L., Azar, M.M. & Maleki, H.H. 2011. Evaluation of genetic diversity among Iranian apple (*Malus × domestica* Borkh.) cultivars and landraces using simple sequence repeat markers. *Aust. J. Crop Sci.* 5: 815–821.
- Fonseca, C. 2008. Variedades regionais de macieiras em Trás-os-Montes e Alto Douro. pp. 20–30. In: Simões, O., Lopes, A., Ferreira, J. (eds.), *Variedades Regionais E Agricultura Biológica, Desafios Para Peras E Maças Portuguesas*. ESAC/DRAPC.
- Foroni, I., Baptista, C., Monteiro, L., Lopes, M.S., Mendonça, D., Melo, M., Carvalho, C., Monjardino, P., Lopes, D.J.H. & Câmara Machado, A. 2012. The use of microsatellites to analyze relationships and to decipher homonyms and synonyms in Azorean apples (*Malus × domestica* Borkh.). *Plant Syst. Evol.* 298: 1297–1313.
- Goulão, L. & Oliveira, C. 2001. Molecular characterisation of cultivars of apple (*Malus × domestica* Borkh.) using microsatellite (SSR and ISSR) markers. *Euphytica* 122: 81–89.
- Guiné, R., Correia, A.C., Jordão, A., Ferreira, D., Sousa, R., Alves, A., Andrade, S., Teixeira, L., Figueiredo, C., Fonseca, S. & Soares, S. 2008. Avaliação nutricional e sensorial de variedades regionais de pomóideas em modo de produção convencional e biológico. pp. 134–147. In: Simões, O., Lopes, A. & Ferreira, J. (eds.), *Variedades Regionais E Agricultura Biológica, Desafios Para Peras E Maças Portuguesas*. ESAC/DRAPC.
- Hokanson, S.C., Lamboy, W.F., Szewc-McFadden, A.K. & McFerson, J.R. 2001. Microsatellite (SSR) variation in a collection of *Malus* (apple) species and hybrids. *Euphytica* 118: 281–294.
- Janick, J., Cummins, J., Brown, S. & Hemmat, M. 1996. Apples. pp. 1–77. In: Janick, J., Moore, J. (eds.), *Fruit Breeding, Tree and Tropical Fruits*. John Wiley and Sons, New York, NY.
- Lopes, A., Pinto, H., Almeida, S. & Salazar, M. 2008. Comportamento de variedades regionais de macieira, em modo de produção biológico. pp. 95–106. In: Simões, O., Lopes, A. & Ferreira, J. (eds.), *Variedades Regionais E Agricultura Biológica, Desafios Para Peras E Maças Portuguesas*. ESAC/DRAPC.
- Pathak, H. & Dhawan, V. 2012. ISSR assay for ascertaining genetic fidelity of micropropagated plants of apple rootstock Merton 793. *Vitr. Cell. Dev. Biol. - Plant* 48: 137–143.
- Reddy, M., Sarla, N. & Siddiq, E. 2002. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica* 128: 9–17.

- Rohlf, F.J. 2005. NTSYS-pc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.20. Exeter Publishing Ltd., Setauket, New York.
- Smolik, M. & Krzysztozek, O. 2010. Evaluation of genetic variability in choosen apple (*Malus × domestica* Borkh.) cultivars by ISSR-PCR analysis. *Russ. J. Genet.* 46: 819–827.
- Sneath, P.H.A. & Sokal, R.R. 1973. Numerical Taxonomy: The Principles and Practice of Numerical Classification, A Series of books in biology. Freeman, London.
- Urrestarazu, J., Miranda, C., Santesteban, L.G. & Royo, J.B. 2012. Genetic diversity and structure of local apple cultivars from Northeastern Spain assessed by microsatellite markers. *Tree Genet. Genomes* 8: 1163–1180.
- DRAP Centro (Direção Regional de Agricultura e Pescas do Centro). 2014. www.drapc.min-agricultura.pt

Quadro 1 – Tamanho dos produtos de PCR-ISSR amplificados, número de bandas total (BT), polimórficas (BP), monomórficas (BM) e únicas (BU) e percentagem de polimorfismo (% P) para as 22 variedades regionais de macieira do Algarve estudadas

Primer	Tamanho (bp)	BT	BP	BM	BU	% P
UBC 810	2000 – 300	24	23	1	0	95,83
UBC 845	1750 – 325	12	8	4	1	66,67
UBC 848	2500 – 250	19	17	2	0	89,47
UBC 873	2375 – 600	22	21	1	4	95,45
UBC 880	1400 – 290	17	12	5	2	70,59
UBC 889	1875 – 400	19	16	3	0	84,21
UBC 890	1560 – 300	21	17	4	1	80,95
UBC 891	1550 – 290	19	14	5	1	73,68
Total		153	128	25	9	-----
Média		19,13	16	3,13	1,13	83,66

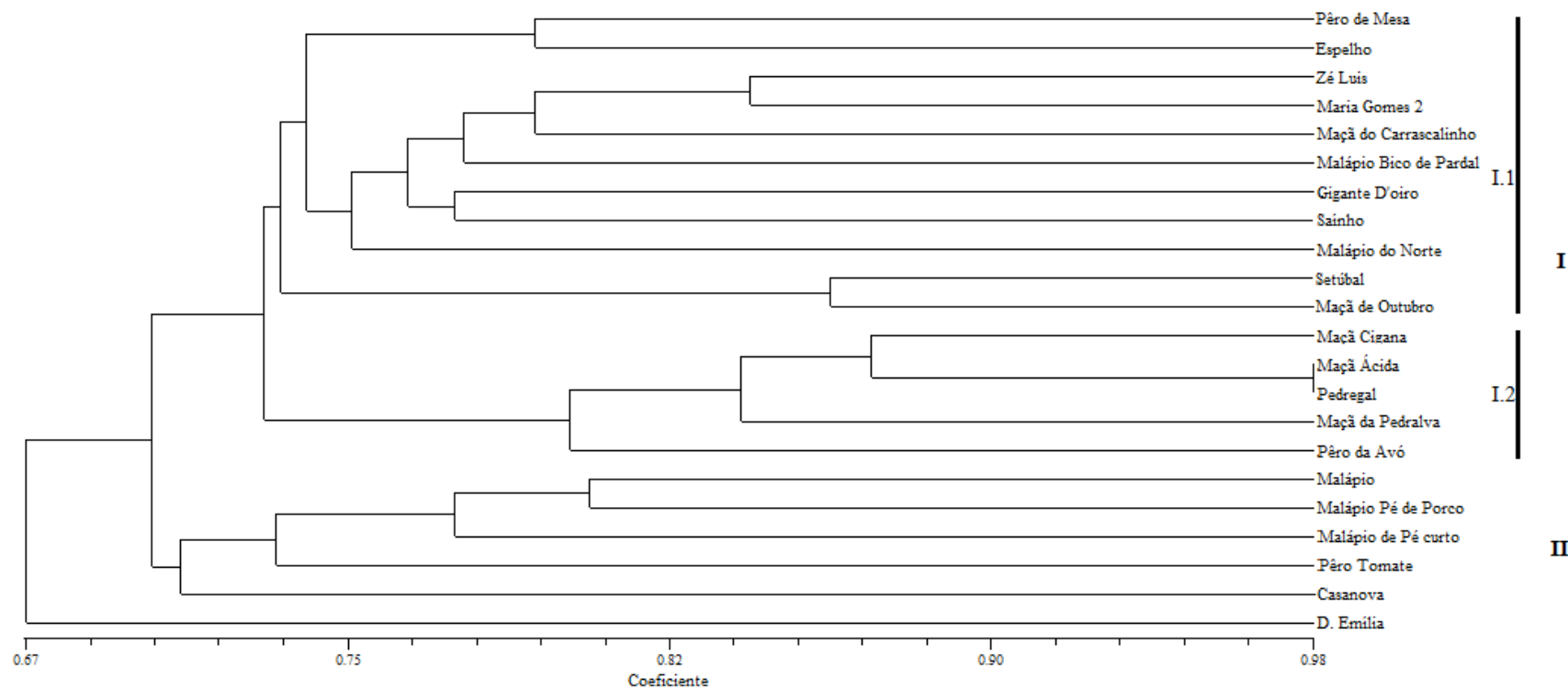


Figura 1 – Dendrograma representando as relações filogenéticas entre 22 variedades regionais de macieira do Algarve, construído a partir de 153 fragmentos amplificados com 8 *primers* ISSR, aplicando o método UPGMA e o coeficiente *Simple Matching*.

Utilização da biotecnologia vegetal para a propagação e melhoramento do tamarilho (*Cyphomandra betacea*)

Sandra Correia¹, Ana Alves², Sofia Vaz² & Jorge Canhoto^{1,2}

¹CEF, Centro de Ecologia Funcional, Departamento de Ciências da Vida, Universidade de Coimbra, Calçada Martim de Freitas, 3000-456 Coimbra, sandraimc@ci.uc.pt, jorgecan@bot.uc.pt

²Associação UC InProPlant – Investigação, Desenvolvimento Tecnológico e Internacionalização, Paço das Escolas, Praça da Porta Férrea, 3004-531 Coimbra, ana2alves@hotmail.com, inproplantlipp@hotmail.com

Resumo

O tamarilho (*Cyphomandra betacea* syn. *Solanum betaceum*) é uma árvore da família Solanaceae que produz frutos comestíveis com elevado valor nutricional, baixo teor calórico e ricos em compostos com atividade antioxidante. Trata-se de uma espécie originária da América do Sul, actualmente cultivada em países como os EUA (Califórnia), Colômbia e Nova Zelândia. Em Portugal, a utilização do tamarilho como espécie fruteira está muito aquém das suas potencialidades apesar de já terem sido feitas algumas tentativas de exploração comercial dado os elevados preços que atinge no mercado. É uma espécie muito popular nas ilhas dos Açores e Madeira que recentemente tem despertado o interesse de alguns produtores do continente. No nosso laboratório, o tamarilho é estudado desde há muitos anos tendo sido estabelecidos protocolos eficazes para o estabelecimento e clonagem de genótipos de interesse através de técnicas de cultura *in vitro*, como a cultura de meristemas, a organogénese e a embriogénese somática. Para além disso, têm sido realizados ensaios fisiológicos e moleculares com o objectivo de compreender estes processos de morfogénese. A aplicação destas linhas de investigação permitiu estabelecer diversas linhas de clones provenientes de plantas adultas, da germinação de sementes de diferentes cultivares e de plantas tetraplóides, cujo comportamento no campo está em avaliação. A embriogénese somática em tamarilho é um sistema particularmente eficiente que permite obter um elevado número de plantas através da indução de embriões somáticos. Diferentes abordagens têm sido conduzidas no sentido de otimizar a aplicação desta ferramenta biotecnológica através da manipulação das condições de maturação dos embriões e do desenvolvimento de condições de cultura de células embriogénicas para propagação em larga escala. O conjunto de tecnologias desenvolvidas tem como objectivo a produção e disponibilização de cultivares mais produtivos e adaptados às condições edafo-climáticas do nosso país, com vista à exploração de uma nova espécie fruteira.

Palavras-chave: clonagem, cultura em meio líquido, embriogénese somática, maturação, micropropagação, testes no campo

Abstract

Biotechnological tools for tamarillo (*Cyphomandra betacea*) propagation and breeding

Tamarillo (*Cyphomandra betacea* syn. *Solanum betaceum*) is a tree of the Solanaceae family producing edible fruits with high nutritional value, poor in calories and rich in antioxidant compounds. Originated from South America, tamarillo has spread all over the world. Nowadays, the main producers are USA (California), Colombia and New Zealand. In Portugal, the potential of tamarillo is under exploited, being used mainly as an ornamental plant, though some have attempted its commercial exploitation given the high prices that the fruits reach in the markets. It is mainly grown in the islands of Madeira and Azores, but it has already attracted the interest of some producers in the continent. Our group has been working with this

species for many years establishing *in vitro* protocols of propagation such as axillary shoot proliferation, organogenesis and somatic embryogenesis. Moreover, physiological and molecular approaches were used to characterize these *in vitro* morphogenic processes. Through these technologies we have been able to establish *in vitro* several lines of clones from adult plants, from seedlings of different cultivars and from tetraploid plants, whose performance in the field is being evaluated. Somatic embryogenesis has proven to be particularly effective allowing the propagation of a high number of plants. Different approaches have been performed in order to optimize the application of this biotechnological tool, particularly the manipulation of culture conditions for somatic embryo maturation and the development of culture conditions allowing the proliferation of embryogenic cells in liquid media. The set of technologies already developed aims to provide a useful set of tools that could enable the production and availability of new and more productive cultivars adapted to specific soil and climatic conditions in our country, opening the way for a more effective implementation of tamarillo as a fruit tree.

Keywords: cloning, field tests, liquid culture medium, maturation, micropropagation, somatic embryogenesis

Introdução

O tamarillo, *Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendt. (syn. *Solanum betaceum*) pertence à família Solanaceae, sendo também conhecido como tomate-arbóreo ou tomate-maracujá. A designação tamarillo surgiu em 1967, na Nova Zelândia, após um rápido aumento de produção e consumo deste fruto que resultou na necessidade de um nome comercialmente apelativo que não fosse confundido com o conhecido tomateiro (*Solanum lycopersicum*), próximo filogeneticamente do tamarillo (Morton, 1987). Com origem na América do Sul, mais especificamente na região andina do Perú, Chile, Equador e Bolívia (Meadows, 2002), a cultura do tamarillo expandiu-se para a América Central e, mais tarde, para as ilhas dos Açores e da Madeira e para o sul da Europa. No final do Século XIX chegou à Austrália e à Nova Zelândia. Actualmente é produzido a uma escala comercial nos EUA (Califórnia), Equador, Colômbia, Austrália e Nova Zelândia (Meadows, 2002).

Trata-se de uma árvore de pequeno porte (2-4 m de altura), com folhas decíduas que atingem dimensões consideráveis (10 – 30 cm de comprimento) quando completamente desenvolvidas, um pouco à semelhança da planta-do-tabaco (fig.1A). As flores desenvolvem-se em pequenos grupos na extremidade dos ramos e surgem maioritariamente durante o Verão, mas podem surgir em outras alturas do ano. A polinização é principalmente autogâmica, explicando assim a reduzida diversidade genética encontrada em populações naturais (Lewis & Considine, 1999). Os frutos têm forma oval (fig. 1B), surgindo normalmente em grupos de 3 - 12 unidades, cada um com 5-10 cm de comprimento e 3-5 cm de largura, e atingem a maturidade entre Outubro e Abril. O epicarpo pode ser vermelho-escuro, cor-de-laranja ou amarelado, ou ainda apresentar uma mistura destas três cores. A cor da polpa também pode variar entre vermelho alaranjado e amarelo. Os frutos são comestíveis com polpa consistente e sumarenta e com um sabor agridoce. As sementes, planas e arredondadas, também são comestíveis mas são maiores e mais duras do que as do tomate.

Esta espécie é habitualmente cultivada devido aos seus frutos que, quando maduros, podem ser diversas aplicações, desde saladas a produtos industriais transformados, como sumos ou compotas. Em termos de valor nutritivo, os frutos do tamarillo possuem um teor relativamente elevado de proteínas, vitaminas, minerais e um teor baixo de hidratos de carbono (McCane & Widdowson, 1992). Nos últimos anos foram realizados vários estudos com o objectivo de avaliar o teor e tipo de antocianinas e carotenóides nos frutos do tamarillo (De Rosso & Mercadante, 2007; Hurtado et al., 2009; Kou et al., 2008). Os resultados mostraram que alguns destes compostos poderão ter propriedades biológicas, terapêuticas, antioxidantes e profilácticas importantes, fazendo do tamarillo um valioso recurso alimentar cujo consumo pode contribuir para uma dieta mais equilibrada.

O tamarilho tem origem num clima subtropical e, no seu habitat original, desenvolve-se em altitudes entre os 700 e os 2000 m. Em climas mais frios, comporta-se melhor em altitudes mais baixas, em zonas onde a temperatura se mantém acima dos 10 °C. É bastante tolerante a pragas embora possa ser ocasionalmente atacado por afídeos e moscas da fruta. Os fungos são os principais agentes causadores de doenças no tamarilho, provocando problemas de desfoliação. Tal como outros membros da família das Solanáceas, o tamarilho é susceptível aos nemátodes e a alguns vírus (Eagles et al., 1994), como o vírus do mosaico do tamarilho (TaMV).

Propagação do tamarilho

Métodos convencionais de propagação

A propagação do tamarilho pode ser obtida através de sementes ou de estacas (Prohens & Nuez, 2001), ou por enxertia em plantas de *Solanum mauritianum* (Slack, 1976). As sementes produzem árvores erectas com ramos mais altos, enquanto as estacas desenvolvem normalmente plantas mais pequenas com ramos suspensos que necessitam de suporte artificial (Slack, 1976). É recomendada a realização de uma poda anual para remover os ramos mais antigos que já deram fruto para estimular a nova rebentação. A poda facilita a colheita e, se realizada na altura adequada, prolonga o período de produção de frutos. Em plantas derivadas de sementes, a produção de frutos começa após cerca de 18 meses ao passo que as plantas obtidas de estacas atingem a maturidade mais cedo. Uma árvore em boas condições ambientais produz cerca de 15-20 kg de frutos por ano durante cerca de 10 anos (Duarte & Alvarado, 1997).

Apesar de as sementes germinarem facilmente, não garantem uniformidade genética e, consequentemente, a propagação de genótipos seleccionados. Para atingir este objectivo, devem ser utilizados métodos de reprodução assexuada. A reduzida taxa de sucesso da hibridação interespecífica (Pringle & Murray, 1991), em conjunto com os respectivos problemas fitossanitários (Barghchi, 1998), tornaram inadequada a utilização de técnicas convencionais para a obtenção de novos cultivares de tamarilho. Deste modo, os métodos da biotecnologia surgem como alternativas úteis para o melhoramento desta espécie.

Métodos de cultura in vitro

Têm sido publicados diversos ensaios que descrevem a micropropagação do tamarilho através da proliferação de rebentos axilares, organogénese e embriogénese somática (revisto por Correia & Canhoto, 2012). A micropropagação do tamarilho através da proliferação de rebentos axilares foi o primeiro método aplicado (Cohen & Elliot, 1979). Seguiu-se a regeneração por organogénese em explantes foliares (Obando et al., 1992) e a partir de protoplastos (Guimarães et al., 1996). Em 1988, no laboratório de Biotecnologia Vegetal da Universidade de Coimbra obteve-se, pela primeira vez, sucesso na indução de embriogénese somática em embriões zigóticos maduros e hipocótilos de tamarilho (Guimarães et al., 1988). Estudos ulteriores permitiram a clonagem de plantas adultas por embriogénese somática bem como o estabelecimento de linhais clonais com diferentes características e, ainda, de plantas tetraplóides (figs. 1C a 1F), cuja performance no campo está em avaliação. A obtenção de plantas tetraplóides, conseguida através da exposição de segmentos nodais a um agente c-mitótico, seguida da regeneração da planta *in vitro* (Antunes, 2010) é uma importante ferramenta biotecnológica para o melhoramento desta espécie.

Da indução de embriogénese somática à cultura em campo

A embriogénese somática em tamarilho é um sistema particularmente eficiente, que permite obter um elevado número de plantas através da indução e desenvolvimento de embriões somáticos. No nosso laboratório (Canhoto et al., 2005; Correia et al., 2011, 2012; Guimarães et al., 1996, 1988; Lopes et al., 2000) têm sido analisados diferentes aspectos relacionados com a indução de embriogénese somática e o desenvolvimento de embriões somáticos no tamarilho. A formação de embriões somáticos pode seguir duas vias distintas. A indução de embriogénese

somática é obtida num meio de cultura rico em auxinas, no qual a inclusão de níveis elevados de sacarose aumenta significativamente a eficácia da indução de embriogénese somática (Guimarães et al., 1996). Os embriões zigóticos maduros de tamarilho foram um dos primeiros explantes testados para a indução de embriogénese somática, revelando que é possível induzir dois tipos de diferenciação de embriões somáticos consoante a auxina utilizada: ácido 1-naftalenoacético (NAA), picloram ou ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D). Na presença de NAA, os embriões zigóticos diferenciam-se em embriões somáticos após a formação de um calo reduzido. Por outro lado, com a utilização de 2,4-D ou picloram, os embriões zigóticos ou os segmentos foliares jovens produzem um tecido embriogénico que pode ser mantido por subculturas sucessivas no mesmo meio contendo auxinas (Lopes et al., 2000). Depois de transferidas para um meio sem auxinas, as massas pró-embriogénicas desenvolvem-se em embriões e, posteriormente, em plântulas.

O desenvolvimento de embriões somáticos no tamarilho é um processo assíncrono durante o qual a maioria dos embriões somáticos passa por diferentes fases morfológicas, semelhantes às que ocorrem durante a embriogénese zigótica (globular, cordiforme, torpedo e cotiledonar). A subcultura de embriões somáticos no mesmo meio isento de auxinas durante um período adicional de 4-5 semanas dá origem a plântulas normais. Foram frequentemente observadas anomalias morfológicas, tais como cotilédones fundidos, alterações no número de cotilédones e germinação precoce, especialmente com a utilização de baixos níveis de sacarose. Mais recentemente foram realizados ensaios que permitiram aumentar a taxa de conversão de embriões somáticos e o número de plantas obtidas (Correia et al., 2012). Os dados obtidos demonstraram que a manipulação das condições de iluminação e a inclusão de ácido abscísico (ABA) no meio antes da germinação aumenta o número de embriões somáticos morfolologicamente normais produzidos. As análises histoquímicas e bioquímicas revelaram que as células cotiledonares dos embriões somáticos apresentam níveis reduzidos de compostos de reserva, nomeadamente lípidos, quando comparadas com as dos embriões zigóticos. Em alguns casos, a conversão dos embriões ocorreu através do desenvolvimento do rebento sem o desenvolvimento concomitante da raiz. No entanto, é frequente o aparecimento de raízes adventícias na base destes rebentos, tornando possível a obtenção de plantas (Canhoto et al., 2005; Correia et al., 2012).

Após a formação de raízes, as plântulas passam por uma etapa de aclimatização na estufa. Trabalhos anteriores registaram o desenvolvimento de plântulas com anomalias morfológicas nas fases iniciais do desenvolvimento vegetal que, no decorrer do crescimento, recuperaram o fenótipo normal (Canhoto et al., 2005).

Vários explantes de tamarilho têm o potencial de iniciar culturas embriogénicas, incluindo embriões zigóticos maduros, folhas jovens, cotilédones e hipocótilos. A recalcitrância de explantes derivados de árvores adultas para a indução de embriogénese somática tem sido observada frequentemente em muitas espécies, particularmente em árvores (Bonga et al., 2010) e em algumas solanáceas (Seguí-Simarro et al., 2011), limitando, assim, a clonagem de árvores seleccionadas. Um método alternativo para clonar plantas de tamarilho adultas por embriogénese somática é o estabelecimento *in vitro* destas plantas através da proliferação de rebentos axilares, seguido da indução de embriogénese em segmentos foliares das plantas estabelecidas (Correia et al., 2011). No entanto, uma abordagem mais directa seria útil para reduzir os custos e a duração do processo. Para atingir este objectivo, foram realizados ensaios com segmentos internodais do caule. A capacidade dos diferentes genótipos para sofrer embriogénese somática também está a ser analisada, sendo que os resultados preliminares demonstram que alguns cultivares são mais susceptíveis do que outros para a formação de embriões somáticos.

Plantas de tamarilho propagadas *in vitro* encontram-se actualmente em ensaios de campo. Os resultados preliminares mostram que após três meses em condições de campo as plantas atingem entre 1 – 1,5 m e produzem flores.

Conclusão e perspectivas futuras

Os resultados até agora obtidos com o tamarilho demonstraram que a clonagem a partir de explantes juvenis é fácil de obter mediante diferentes técnicas de cultura *in vitro* como a proliferação de rebentos axilares, organogénese e embriogénese somática. No entanto, a clonagem a partir de plantas adultas tem-se revelado mais problemática devido à reduzida resposta dos explantes analisados. A clonagem de árvores adultas tem sido conseguida através da proliferação de rebentos axilares e embriogénese somática após o estabelecimento *in vitro* de plântulas derivadas de árvores adultas. Ensaio com o objectivo de clonar directamente as árvores seleccionadas estão em curso tendo-se obtido alguns resultados interessantes com a cultura de tecidos medulares do caule. Muito do trabalho que sido realizado no tamarilho está relacionado com a indução de embriogénese somática. No entanto, deve dar-se mais atenção à sincronização de culturas embriogénicas, tornando-a mais adequada para estudos moleculares e ensaios de conversão de embriões em plântulas. Isto evitaria a germinação precoce, aumentando, assim, as taxas de micropropagação.

Vários estudos demonstraram que determinadas cultivares do tamarilho são especialmente interessantes devido ao seu teor elevado em alguns compostos químicos, tais como compostos fenólicos e carotenóides. Além disso, os consumidores estão cada vez mais conscientes das vantagens deste tipo de alimentos. Deste modo, é de prever que o interesse no tamarilho aumente nos próximos anos, especialmente na Europa e nos Estados Unidos, onde este fruto ainda é considerado exótico.

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado por uma bolsa (SFRH/BPD/91461/2012) de pós-doutoramento (Sandra Correia) da FCT (Fundação Portuguesa para a Ciência e Tecnologia), pelo programa Mais Centro - Acção de apoio a sistemas de infraestruturas científicas e tecnológicas e pelo Instituto de Emprego e Formação Profissional através do financiamento de um estágio (Ana Alves)

Referências

- Antunes, P. 2010. Indução de plantas tetraplóides através de tratamento com agentes c-mitóticos no tamarilho (*Cyphomandra betacea*) e no medronheiro (*Arbutus unedo*). Tese de mestrado. Universidade de Coimbra.
- Barghi, M. 1998. *In vitro* regeneration, plant improvement and virus elimination of tamarillo [*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendt]. In: Davey, M.R., Alderson, P.G., Lowe, K.C., Power, J.B. (Eds.), Tree Biotechnology – Towards the Millennium. Nottingham University Press, Nottingham, p. 173–185.
- Bonga, J.M., Klimasewska, K. & von Aderkas, P. 2010. Recalcitrance in clonal propagation, in particular of conifers. Plant Cell Tissue Organ Cult. 100:241–254.
- Canhoto, J.M., Lopes, M.L. & Cruz, G.S. 2005. Protocol for somatic embryogenesis: tamarillo (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendt.). In: Jain, S.M., Gupta, P.K. (Eds.), Protocol for Somatic Embryogenesis in Woody Plants. Springer, Dordrecht, p. 379–389.
- Cohen, D. & Elliot, D. 1979. Micropropagation methods for blueberries and tamarillos. Comb. Proc. Int. Plant Prop. Soc. 29:177–179.
- Correia, S.I. & Canhoto, J.M. 2012. Biotechnology of tamarillo (*Cyphomandra betacea*): From *in vitro* cloning to genetic transformation. Scientia Horticulturae 148:161–168.
- Correia, S.I., Cunha, A.E., Salgueiro, L. & Canhoto, J.M. 2012. Somatic embryogenesis in tamarillo (*Cyphomandra betacea*): approaches to increase efficiency of embryo formation and plant development. Plant Cell Tissue Organ Cult. 109:143–152.

- Correia, S.I., Lopes, L. & Canhoto, J.M. 2011. Somatic embryogenesis induction system for cloning an adult *Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendt (tamarillo). *Trees* 25:1009–1020.
- De Rosso, V.V. & Mercadante, A.Z. 2007. HPLC-PDA-MS/MS of anthocyanins and carotenoids from dovyalis and tamarillo fruits. *J. Agric. Food Chem.* 55, 9135–9141.
- Duarte, O. & Alvarado, E. 1997. Tratamientos para mejorar la propagación del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* Sendt.) por semillas y estacas. *Proc. Interamer. Soc. Trop. Hort.* 41:248–251.
- Eagles, R.M., Gardner, R.C. & Forster, R.L. 1994. Incidence and distribution of six viruses infecting tamarillo (*Cyphomandra betacea*) in New Zealand. *N. Z. J. Crop Hort. Sci.* 22:453–458.
- Guimarães, M.L., Cruz, G.S. & Montezuma-de-Carvalho, J.M. 1988. Somatic embryo- genesis and plant regeneration in *Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendt. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 15:161–167.
- Guimarães, M.L., Tomé, M.C. & Cruz, G.S. 1996. *Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendt. (tamarillo). In: Bajaj, Y.P.S. (Ed.), *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, vol. 35, *Trees IV*. Springer Verlag, Berlin, p. 120–137.
- Hurtado, N.H., Morales, A.L., González-Miret, M.L., et al. 2009. Colour, pH stability and antioxidant activity of anthocyanin rutinosides isolated from tamarillo fruit (*Solanum betaceum* Cav.). *Food Chem.* 117:88–93.
- Kou, M., Yen, J., Hong, J. & Wang, C., 2008. *Cyphomandra betacea* Sendt. phenolics protect LDL from oxidation and PC12 cells from oxidative stress. *LWT – Food Sci. Technol.* 42:458–463.
- Lewis, D.H. & Considine, J.A., 1999. Pollination and fruit set in the tamarillo (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendt.) 1. Floral biology. *N. Z. J. Crop Hort. Sci.* 27:101–112.
- Lopes, M.L., Ferreira, M.R., Carloto, J.M., Cruz, G.S. & Canhoto, J.M. 2000. Somatic embryogenesis induction in tamarillo (*Cyphomandra betacea*). In: Jain, S.M., Gupta, P.K., Newton, R.J. (Eds.), *Somatic Embryogenesis in Woody Plants*, vol. 6. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, p. 433–455.
- McCane, J. & Widdowson, D.A. 1992. Fruit and nut. In: *To the Composition of Foods*, 5th ed. Holland, Unwin & Buss, London, p. 74–77.
- Meadows, L.R. 2002 Growing tamarillo relatives. In: *The New Zealand Home Garden*. www.naturalhub.com.
- Morton, J.F. 1987. Tree Tomato. In: J.F. Morton (Ed.) *Fruits of Warm Climates*. Miami, FL, p. 437–440.
- Obando, M., Goreux, A. & Jordan, M. 1992. Regeneration *in vitro* de *Cyphomandra betacea* (tamarillo), una especie frutal andina. *Ciencia Investigacion Agraria* 19:125–130.
- Pringle, G.J. & Murray, B.G. 1991. Reproductive biology of the tamarillo, *Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendt. (Solanaceae), and some wild relatives. *N. Z. J. Crop Hort. Sci.* 19:263–273.
- Prohens, J. & Nuez, F. 2001. The tamarillo (*Cyphomandra betacea*): a review of a promising small fruit crop. *Small Fruits Rev.* 1:43–68.
- Seguí-Simarro, J.M., Corral-Martínez, P., Parra-Veja, V. & González-García, B. 2011. Androgenesis in recalcitrant solanaceous crops. *Plant Cell Rep.* 30:765–778.
- Slack, J.M. 1976. Growing tamarillos. *Agric. Gaz.* 86:2–4.

Quadros e figuras



Figura 1 – Micropropagação de tamarilho. A – Árvore de tamarilho localizada no Jardim Botânico da Universidade de Coimbra; B – Frutos de tamarilho vermelho; C – Propagação de rebentos de linhas clonais a partir da cultura de segmentos nodais em meio com citocininas; D – Enraizamento de rebentos em meio base sem reguladores de crescimento; E e F – Desenvolvimento em estufa de plantas de tamarilho micropropagadas e aclimatadas.

Patrocinadores



Bayer CropScience

