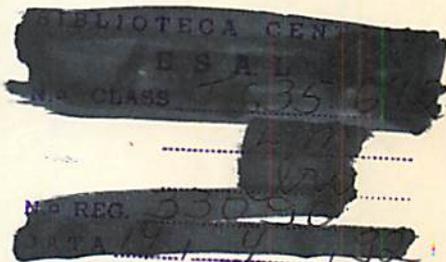




LUIZ CARLOS DE OLIVEIRA LIMA

BIOQUÍMICA DA PAREDE CELULAR DE TOMATE
(*Lycopersicon esculentum*, Mill), cv. SANTA CLARA: TRANS-
FORMAÇÕES E INTERAÇÃO COM O CÁLCIO DURANTE
A MATURAÇÃO



BIblioteca GEN
ESAL
CLASS 35
REC. 330910
1992

Dissertação apresentada à Escola Superior
de Agricultura de Lavras, como parte das
exigências do Curso de Mestrado em Ciên-
cias dos Alimentos para obtenção do
grau de "Mestre".



ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA DE LAVRAS
LAVRAS - MINAS GERAIS
1992

[REDACTED]

LUIZ CARLOS DE OLIVEIRA LIMA

BIOCHEMIA DA PAREDE CELULAR DE TOMATE
MUD. cv. SANTA CLARA - TRAV. 1
FORMAÇÕES E INTERAÇÃO COM O CÁLCIO DURANTE
A MATURAÇÃO

[REDACTED]

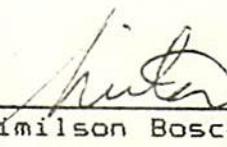
Trabalho apresentado à Faculdade de Ciências Exatas e Engenharia de Minas Gerais, Universidade Federal de Lavras, em 1992.



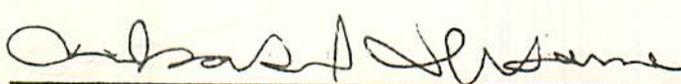
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA DE LAVRAS
LAVRAS - MINAS GERAIS
1992

BIOQUIMICA DA PAREDE CELULAR DE TOMATE (*Lycopersicon esculentum*,
Mill), cv. SANTA CLARA: TRANSFORMAÇÕES E INTERAÇÃO
COM O CALCIO DURANTE A MATURAÇÃO

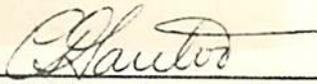
APROVADA



Prof. Dr. Adimilson Bosco Chitarra
Orientador



Prof. Dra. Maria Isabel F. Chitarra



Dr. Custódio Donizete dos Santos

STUDIOS DE PRÁCTICA DE LABORIO (EXPERIENCIAS ESCOLARES)

MATERIA: QUÍMICA GENERAL TRANSFORMACIÓN E INTERACCIÓN

CON EL PRODUCTO DURANTE EL LABORIO

Fecha:

Prof. Dr. Manuel José Gascón Chiriza
Orientador

Manuel José Gascón Chiriza
Prof. Dr. Manuel José Gascón Chiriza

Dr. Gascón Chiriza Manuel José

Dedico a
minha esposa e
filhos.

AGRADECIMENTOS

A Escola Superior de Agricultura de Lavras, especialmente ao Departamento de Ciências dos Alimentos (DCA), pela oportunidade oferecida para a realização deste curso.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pela concessão de bolsa de estudo.

Ao Professor Adimilson Bosco Chitarra, pelo constante apoio e orientação.

A Professora Maria Isabel F. Chitarra, pelas sugestões apresentadas ao trabalho.

Ao Professor Custódio Donizete dos Santos, pelo empréstimo de equipamentos e colaboração no decorrer do trabalho.

A Professora Vânia Déa de Carvalho, pela valiosa colaboração no decorrer do trabalho.

A todos os colegas, amigos e professores que direta ou indiretamente contribuíram para a concretização deste trabalho.

SUMARIO

1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISAO DE LITERATURA.....	03
2.1. Generalidades.....	03
2.2. Características físico-químicas e químicas.....	04
2.2.1. Textura.....	04
2.2.2. Acidez total titulável (ATT) e pH.....	06
2.2.3. Sólidos solúveis totais (SST) e relação SST/ATT...	07
2.2.4. Cor.....	08
2.3. Cálcio.....	09
2.4. Substâncias pécticas.....	11
2.5. Solubilização de poliuronídeos durante o amadurecimento..	12
2.6. Degradação enzimática da parede celular durante o amadurecimento do fruto.....	14
2.7. Pectinametilesterase (PME).....	15
2.8. Poligalacturonase (PG).....	15
2.9. Celulose.....	16
3. MATERIAL E METODOS.....	18
3.1. Material.....	18

3.2. Colheita e seleção do material.....	20
3.3. Homogeneização.....	20
3.4. Análises.....	21
3.4.1. Determinações, físicas e físico-químicas.....	21
3.4.1.1. Sólidos solúveis totais (SST).....	21
3.4.1.2. Acidez total titulável e pH.....	21
3.4.1.3. Sólidos solúveis totais/acidez total ti- tulável (SST/ATT).....	22
3.4.1.4. Avaliação da cor.....	22
3.4.1.5. Textura.....	22
3.5. Isolamento da parede celular.....	23
3.5.1. Isolamento de polissacarídeos pécnicos.....	23
3.5.2. Extração dos polissacarídeos pécnicos.....	24
3.5.3. Cromatografia de filtração em gel dos poliuro- nídeos de frutos do tomateiro.....	25
3.5.4. Obtenção e determinação de celulose.....	25
3.6. Extração e doseamento de pectina total e pectina solúvel.	28
3.7. Extração de enzimas.....	28
3.7.1. Doseamento da poligalacturonase (PG).....	29
3.7.2. Doseamento de pectinametilesterase (PME).....	29
3.8. Determinação de cálcio nos frutos.....	30
3.9. Delineamento experimental.....	30
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
4.1. Avaliações físicas, físico-químicas e químicas.....	31
4.1.1. Textura.....	31
4.1.2. Sólidos solúveis totais (SST).....	36
4.1.3. Acidez total titulável (ATT) e pH.....	38

4.1.4. Relação sólidos solúveis totais/acidez total titulável (SST/ATT).....	41
4.1.5. Avaliação da cor.....	43
4.2. Cálcio.....	45
4.3. Solubilização de poliuronídeos da parede celular durante amadurecimento do fruto.....	50
4.4. Substâncias pécticas.....	61
4.5. Pectinametilesterase (PME).....	63
4.6. Poligalacturonase (PG).....	68
4.7. Celulose.....	71
5. CONCLUSOES.....	74
6. SUGESTOES.....	76
7. RESUMO.....	77
8. SUMMARY.....	78
9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	79
APENDICE.....	95

LISTA DE QUADROS

QUADRO

- 01 - Características químicas e físicas do solo utilizado.
ESAL, Lavras MG, 1990..... 19

LISTA DE TABELAS

TABELAS

- 01 - Média de sólidos solúveis totais (SST); pectina total; atividade de PME e Celulose, de tomates cv "Santa Clara", desenvolvidos em solo com 5 níveis de gesso. ESAL/DCA, Lavras - MG, 1990..... 48
- 02 - Média de sólidos solúveis; relação sólidos solúveis/ acidez total titulável; acidez total titulável; pH; cálcio; pectina total; atividade PME e celulose de tomates cv "Santa Clara", em 4 estádios de maturação (VM = Verde maturo; Br - branca Kg; M - maduro; RR - vermelho maturo). ESAL/DCA - Lavras - MG, 1990..... 49

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 - Modelo de uma calibração de coluna de sephadex G-200 (72x1,8cm) para cromatografia de filtração em gel, com substâncias de peso moleculares diferentes com aplicação de 1ml de uma solução contendo 2mg/ml e colhidas as frações com 40gts com fluxo de 0,2ml/min. ESAL/DCA, Lavras - MG, 1990..... 26
- FIGURA 2 - Modelo de uma calibração de coluna de sephadex G-200 (72x1,8cm) para cromatografia de filtração em gel, com substâncias de pesos moleculares diferentes com aplicação de 1ml de uma solução contendo 2mg/ml, e colhidas as frações com 40gts com fluxo de 0,2ml/min. ESAL/DCA, Lavras - MG, 1990..... 27
- FIGURA 3 - Valores médios de textura (expressos em Newtons) dos frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM= verde maduro; BR= Breaker; M= maduro e RR= vermelho maduro) e submetidos à 5 níveis de gesso no solo (Kg/ha). ESAL/DCA, Lavras - MG, 1990..... 32

- FIGURA 4 - Equações e curvas de regressão para textura em tomate cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação (VM= verde maduro; BR= Breaker; M= maduro e RR= vermelho maduro) e submetidos à 5 níveis de gesso no solo (Kg/ha). ESAL/DCA, Lavras-MG - 1990..... 35
- FIGURA 5 - Valores médios de Sólidos Solúveis totais (SST) (expressos em Graus BRIX) de frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM= verde maduro, BR= breaker; M= maduro e RR= vermelho maduro) e submetidos à 5 níveis de gesso no solo (Kg/ha). ESAL/DCA, Lavras-MG - 1990..... 37
- FIGURA 6 - Valores médios de Acidez Total Titulável (ATT) de frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM = verde maduro; BR = breaker; M = maduro e RR = vermelho maduro), e submetidos à 5 níveis de gesso no solo (Kg/ha). ESAL/DCA, Lavras-MG - 1990..... 39
- FIGURA 7 - Valores médios de pH de frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM = verde maduro; BR = breaker; M = maduro e RR = vermelho maduro) e submetidos à 5 níveis de gesso no solo (Kg/ha). ESAL/DCA, Lavras-MG - 1990..... 40

FIGURA 8 - Valores médios da relação Sólidos Solúveis Totais (SST)/Acidez Total Titulável (ATT) de frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM = verde maduro; BR = breaker; M = maduro, e RR = vermelho maduro) e submetidos à 5 níveis de gesso no solo (Kg/ha). ESAL/DCA, Lavras-MG, 1990..... 42

FIGURA 9 - Médias de avaliação da cor de frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM = verde maduro; BR = breaker; M = maduro e RR = vermelho maduro), e submetidos em 5 níveis de gesso no solo Kg/ha. ESAL/DCA, Lavras - MG, 1990..... 44

FIGURA 10 - Teores médios de cálcio nos frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM = verde maduro; BR = breaker; M = maduro e RR = vermelho maduro) e submetidos à 5 níveis de gesso no solo Kg/ha. ESAL/DCA, Lavras - MG, 1990..... 47

FIGURA 11 - Perfil de degradação de Poliuronídeos da Parede Celular de frutos do tomateiro cv. Santa clara, obtidos através de Cromatografia de filtração em coluna de sephadex G-200 (72cm x 1,8cm) colhidos em 4 estádios de maturação: a - (VM) verde maduro; b - (BR) Breaker; c - (M) maduro; d - (RR) vermelho maduro. (____) ac. urônicos e (----) carboidratos totais. Tratamento: testemunha (0kg de gesso/ha). ESAL/DCA, Lavras - 1991..... 51

FIGURA 12 - Perfil de degradação de Poliuronídeos da Parede Celular de frutos do tomateiro cv. Santa Clara, obtidos através de Cromatografia de filtração em coluna de sephadex G-200 (72cm x 1,8cm) colhidos em 4 estádios de maturação: a - (VM) verde maduro; b - (BR) Breaker; c - (M) maduro e d - (RR) vermelho maduro. (____) ac. urônicos e (----) carboidratos totais. Tratamentos: 300kg de gesso - ESAL/DCA, Lavras - 1991..... 53

FIGURA 13 - Perfil de degradação de Poliuronídeos da Parede Celular de frutos do tomateiro cv. Santa Clara, obtidos através de Cromatografia de filtração em coluna de sephadex G-200 (72cm x 1,8cm) colhidos em 4 estádios de maturação: a - (VM) verde maturo; b - (BR) Breaker; c - (M) maduro e d - (RR) vermelho maduro. (____) ac. urônicos e (----) carboidratos totais. Tratamentos: 600kg de gesso - ESAL/DCA, Lavras - 1991..... 55

FIGURA 14 - Perfil de degradação de Poliuronídeos da Parede Celular de frutos do tomateiro cv. Santa clara obtidos através de Cromatografia de filtração em coluna de sephadex G-200 (72cm x 1,8cm) colhidos em 4 estádios de maturação: a - (VM) verde maturo; b - (BR) Breaker; c - (M) maduro e d - (RR) vermelho maduro. (____) ac. urônicos e (----) carboidratos totais. Tratamentos: 900kg de gesso - ESAL/DCA, Lavras - 1991..... 57

FIGURA 15 - Perfil de degradação de Poliuronídeos da Parede Celular de frutos do tomateiro cv. Santa Clara obtidos através de Cromatografia de filtração em coluna de sephadex G-200 (72cm x 1,8cm) colhidos em 4 estádios de maturação: a - (VM) verde maturo; b - (BR) Breaker; c - (M) maduro e d - (RR) vermelho maduro. (____) ac. urônicos e (----) carboidratos totais. Tratamentos: 1200kg de gesso - ESAL/DCA, Lavras - 1991..... 59

FIGURA 16 - Equações e Curvas de regressão para pectina solúvel de frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM = verde maturo; BR = breaker; M = maduro e RR = vermelho maduro), e submetidos à 5 níveis de gesso no solo Kg/ha. ESAL/DCA, Lavras, MG - 1990..... 63

FIGURA 17 - Valores médios de pectina total de frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM = verde maturo; BR = breaker; M = maduro e RR = vermelho maduro) e submetidos à 5 níveis de gesso no solo Kg/ha. ESAL/DCA, Lavras-MG, 1990.... 64

- FIGURA 18 - Valores médios de pectina solúvel de frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM = verde maduro; BR = breaker; M = maduro e RR = vermelho maduro), e submetidos à 5 níveis de gesso no solo Kg/ha. ESAL/DCA, Lavras-MG, 1990..... 65
- FIGURA 19 - Valores médios de atividade de pectinametilesterase (PME) de frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM = verde maduro; BR = breaker; M = maduro e RR = vermelho maduro) e submetidos à 5 níveis de gesso do solo Kg/ha. ESAL/DCA, Lavras - MG, 1990..... 66
- FIGURA 20 - Valores médios de atividade de poligalacturonase (PG) de frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM = verde maduro; BR = breaker; M = maduro e RR = vermelho maduro) e submetidos à 5 níveis de gesso no solo Kg/ha. ESAL/DCA, Lavras, MG - 1990..... 68
- FIGURA 21 - Equações e curvas de regressão para atividade poligalacturonase de frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM = verde maduro; BR = breaker; M = maduro e RR = vermelho maduro), e submetidos à 5 níveis de gesso no solo Kg/ha. ESAL/DCA, Lavras - MG, 1990..... 69

FIGURA 22 - Valores médios de celulose de frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM = verde maduro; BR = breaker; M = maduro e RR = vermelho maduro) e submetidos à 5 níveis de gesso no solo (Kg/ha). ESAL/DCA, Lavras - MG, 1990..... 72

1. INTRODUÇÃO

O tomate constitui uma das olerícolas de maior importância econômica no mundo. De origem das regiões andinas, a cultura é hoje difundida no mundo inteiro, e seu produto destinado à alimentação humana, quer seja "in natura" ou industrializado.

A textura é um dos importantes atributos da qualidade, e seu controle é um dos objetivos da indústria moderna de pós-colheita de frutos e hortaliças. Seus estudos estão relacionados aos constituintes das paredes celulares, dentre os quais destacam-se as substâncias pécticas, celulose, hemiceluloses, proteínas e fenólicos.

Durante o amadurecimento pós-colheita esses constituintes sofrem transformações, levando à perda da integridade da parede celular, e conseqüentemente da textura, ocasionando pouca ou nenhuma aceitação do produto pelo consumidor.

Apesar de grande número de pesquisas terem sido realizadas nos últimos anos baseando as explicações nas

modificações da parede celular e suas relações com a textura, nenhum estudo foi feito com relação a degradação de substâncias pécticas da parede celular em tomates pós-colheita, com aplicação de cálcio (gesso) na planta via solo.

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivos:

Geral:

- Caracterizar a maturação em diferentes estádios fisiológicos, verificando as mudanças físicas, físico-químicas e químicas que ocorrem durante a maturação de tomates.

Específicos:

- Verificar o comportamento da solubilização de substâncias pécticas (poliuronídeos) da parede celular, da atividade poligalacturonase (PG) e da atividade de pectinametilesterases (PME), em quatro diferentes estádios de maturação de tomates pós-colheita, submetidos à cinco tratamentos de gesso no solo: 0; 300; 600; 900 e 1200Kg/ha.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Generalidades

O tomateiro é uma planta indígena, originária dos Andes, classificada nos sub-gêneros *Ericopersicon* e *Eulycopersicon*, sendo, neste último, encontrada a maioria das variedades comercialmente importantes, pertencentes ao gênero *Lycopersicon esculentum*, Mill. PINTO & CASALI (1980).

Muitas pesquisas têm sido realizadas para se entender a estrutura e composição da parede celular. Seus mecanismos de transformações são de grande importância na fisiologia pós-colheita de frutos visando o retardamento do processo de amadurecimento, evitando-se o amolecimento dos tecidos, e consequentemente, a perda de qualidade.

A parede celular desenvolve frequentemente 10 (dez) vezes o seu comprimento, após a divisão final da sua célula meristemática mãe, sendo que algumas chegam a se alongar até 100 vezes. Entretanto, essas paredes continuam a ter praticamente a mesma espessura e força, sugerindo que, durante o crescimento há

síntese de novos polímeros e que são imediatamente incorporados à parede celular, MENEILL et alii (1984); ALBERSHEIM (1975).

Entre as várias mudanças fisiológicas que ocorrem durante a maturação de frutos do tomateiro, tem-se a perda de clorofila, síntese de pigmentos, solubilização de pectinas e alteração no metabolismo de ácidos orgânicos e monossacarídeos. Estas mudanças estão associadas com modificações na atividade de um número de enzimas diretamente envolvidas no amaciamento do fruto, GOODENOUGH et alii (1982).

Estes e um número de outros eventos são considerados como parte do processo de maturação e tendem a ocorrer paralelamente com o início da produção do etileno e do climatérico respiratório.

2.2. Características físico-químicas e químicas

2.2.1. Textura

As avaliações sensoriais são feitas pela associação dos sentidos: paladar, olfato e tato. A combinação das sensações ou a interação desses sentidos servem como medida da qualidade na mente do provador.

Muita atenção têm sido dada a este atributo de qualidade, e muitos instrumentos têm sido utilizados para se medir a firmeza de frutos baseados na compressão do fruto inteiro, na compressão de pontos da superfície ou por compressão da circunferência equatorial do fruto. HALL (1987), verificou

que seleção e uniformidade são parâmetros diretamente relacionados com a determinação da firmeza de várias cultivares de tomate em vários estádios de maturação.

A textura em frutos e hortaliças depende dos tecidos de suporte, responsáveis pela coesividade, tamanho, forma e turgidez das células que compõem a planta, PANTASTICO (1975).

No caso do tomate, a textura é influenciada pela espessura da casca, firmeza da polpa e também pela estrutura interna do fruto, ou seja a relação pericarpo/material placentar, MABBETT (1989).

Além da medida de compressão, utilizada para se avaliar a textura do fruto, avaliações bioquímicas também têm sido feitas para se alcançar esse objetivo. VAN BUREN (1979), atribuiu o amaciamento da polpa às alterações nas características dos polissacarídeos da parede celular, principalmente as substâncias pécticas.

HOBSON & DAVIES (1971) e MALIS ARAD et alii (1983), verificaram que a textura firme de frutos verdes está relacionada à polímeros de substâncias pécticas de alto peso molecular associadas a outros polissacarídeos, e que, durante o amadurecimento, essa complexa rede de polissacarídeos sofre hidrólise, provocando a perda de conexão entre as células e a consequente perda da firmeza dos frutos.

2.2.2. Acidez total titulável (ATT) e pH

Aos primeiros sinais de coloração amarela os frutos atingem a acidez máxima, a qual diminui progressivamente, à medida que o fruto avança para o seu completo amadurecimento HOBSON (1987).

Dentre os principais ácidos encontrados em tomates (cítrico, málico e glutâmico), DAVIES & MAW (1972), o mais abundante é o ácido cítrico, correspondendo a mais ou menos 90% do total da acidez, SIMANDLE et alii (1966). Estes ácidos estão concentrados na cavidade locular do fruto, HOBSON & HARMAN (1986).

Com o avanço da maturação, o ácido málico diminui enquanto o ácido cítrico aumenta até o estágio verde-amarelo (Breaker), e cai posteriormente até o completo amadurecimento sem grandes variações. Esta queda no teor de ácido cítrico com o avanço da maturação, é sugerida por vários autores através do processo catabólico do citrato via malato, CARANGAL et alii (1954); VILLARREAL et alii (1960); DAVIES (1966); MATTOO et alii (1975).

Para DENNISON et alii (1952); THOMPSON (1961), os ácidos aumentam até o estágio breaker (BR) e diminuem até completo amadurecimento dos frutos, estágio vermelho-maduro (RR), sendo que a cultivar, o local e a época de colheita, apresentam influência sob o teor de sólidos solúveis e acidez titulável. HOBSON & DAVIES (1971), reportam-se a uma série de autores que se ocuparam de problemas da acidez dos tomates em função de colheitas sucessivas e de acidez no decorrer das diferentes

estações. Estes autores correlacionam acidez da parede celular do fruto com o conteúdo locular, e concluíram que as mudanças na acidez tem sido atribuído também as transformações no ácido málico, ou em ambos málico e cítrico.

O pH é próximo da neutralidade após a formação do fruto, diminuindo durante o crescimento, até o estágio verde-maduro ("Breaker") e aumentando lentamente durante a maturação, AL-SHAIBANI & GREIG (1979). De forma semelhante à acidez total titulável e sólidos solúveis totais, o pH também sofre a influência marcante de fatores como cultivar, LOWER & THOMPSON (1986), época de colheita, Lambert et alii, citado por AL-SHAIBANI & GREIG (1979), e estágio de maturação, HANNA (1961). Para GRAFT & HEINZE (1954), a exposição à luz solar, temperatura e duração do armazenamento não apresentaram influência.

2.2.3. Sólidos solúveis totais (SST) e relação SST/ATT

Os sólidos solúveis em tomates armazenados aumentam lentamente por um período curto, porém, diminuem com a extensão do armazenamento. Os valores para frutos maduros variam entre 4,0 - 4,4% entre as cultivares estudadas, GRAFT & HEINZE (1954). Os valores obtidos por CARVALHO et alii (1984), com frutos da cv "Gigante Kadá" armazenados à temperatura média de 20-25°C para frutos maduros firme, foram de 4,48%.

Os sólidos solúveis e acidez são componentes físico-químico e químico importantes, devido a sua relação ser utilizada como critério para caracterizar o sabor e aroma do tomate, CHITARRA & CHITARRA (1976).

O "flavor" do tomate é influenciado pela interação de vários compostos químicos, os quais sofrem uma série sequencial de reações bioquímicas, até o amadurecimento, MABBETT (1989).

CARVALHO et alii (1984), observaram em frutos da cv "Gigante Kadá" amadurecidos na planta, um aumento da relação sólidos solúveis totais/acidez total titulável, até o completo amadurecimento do fruto. Já os frutos amadurecidos fora da planta, não apresentaram diferenças nesta relação nos diversos estádios.

Em seu trabalho com sete cultivares diferentes, CHITARRA & CHITARRA (1976), encontraram variação de 6,3 à 9,4 no final do amadurecimento, e consideram estes resultados como satisfatórios para apresentação de bom aroma e sabor.

2.2.4. Cor

Os principais atributos na aceitação do fruto de tomateiro são a coloração e as modificações de textura que ocorrem durante o amadurecimento. Estes parâmetros têm sido utilizados como um dos principais critérios de julgamento para identificação do amadurecimento de frutos e hortaliças CHITARRA & CHITARRA (1990). Com poucas exceções, os frutos climatéricos modificam rapidamente a cor quando amadurecem, sendo o desverdecimento o resultado da degradação da clorofila e

aparecimento de pigmentos como carotenóides e antocianinas, WILLS et alii (1981). O pigmento encontrado em tomates é o licopeno, carotenóide que apresenta uma coloração vermelha, HOBSON & DAVIES (1971). A coloração nos frutos ou produtos de tomate depende sobretudo da quantidade total de pigmentos presentes, bem como da proporção de licopeno: caroteno. A temperatura de armazenamento não possui efeito sobre a coloração, entretanto, temperaturas de armazenamento muito elevadas decrescem o conteúdo de licopeno em cerca de 11%, devido a formação de seus isômeros, provavelmente através da oxidação, THOMPSON (1961).

2.3. Cálcio

Na primeira metade do século, as pesquisas em nutrição vegetal tinham por objetivo otimizar o crescimento e produção. Recentemente, ênfase também tem sido dada relacionando o efeito da nutrição mineral na manutenção da qualidade pós-colheita. Nesse contexto, tem-se destacado a alta relação existente entre níveis de Ca^{+2} no fruto e retenção das suas qualidades, BRAMLAGE et alii (1980), não somente por causa de sua afinidade na prevenção de desordens fisiológicas mas também por causa de outros efeitos desejáveis. Dentre esses efeitos cita-se a redução da respiração e retardamento do amadurecimento de maçãs, SHARPLES & JOHNSON (1976), tomates, WILLS et alii (1977), WILLS & TIRMAZI (1979), pêssegos e tomates, BURNS & PRESSEY (1987), prolongamento da vida de armazenamento, aumento da firmeza, BANGERT et alii (1972); BRAMLAGE et alii (1974), e redução da podridão no armazenamento de tomates, VAN GOOR (1968).

DELONG (1936), foi o primeiro autor a constatar a relação entre cálcio e desordens fisiológicas, analisando tecidos de maçã com e sem "Bitter pit", observando relação inversa entre os teores de Ca^{+2} da casca e polpa e incidência de "pitting".

Muitas das desordens fisiológicas que afetam os frutos estão relacionadas ao baixo teor de cálcio dos seus tecidos. SHEAR (1975), citou mais de trinta desordens em frutos, resultantes da deficiência de cálcio. O cálcio em tomates tem sido extensivamente estudado para verificar sua influência na manutenção da firmeza e no retardo da podridão peduncular ("Blossom - end - rot"), EVANS & TROXLER (1953); CHARLES & JEFFREY (1983). Esta desordem fisiológica pode desenvolver-se durante a pré-maturação ou maturação, CHITARRA & CHITARRA (1990).

POOVAIAH (1985; 1986 e 1988), demonstrou o papel do Ca^{+2} na participação de vários processos bioquímicos, concluindo que o seu maior papel é no desenvolvimento celular e na manutenção e modulação de várias funções celulares. HEPPLER & WAYNE (1985), também verificaram a importância do cálcio na manutenção da integridade das membranas e parede celular.

As substâncias pécticas, são ligadas inter e intramolecularmente pelo cálcio, e são largamente responsáveis pela rigidez dos tecidos (GRANT et alii, 1973); aumentando a estabilidade do complexo e limitando sua vulnerabilidade ao ataque pela poligalacturonase (PG). Isto é visto pelas seguintes observações:

- O pectato de cálcio é resistente a degradação pela PG. (Weintraub & Ragatle, 1979; BATERMAN & MILLAR, 1966; WILLS & RIGNEY, 1979);

- As substâncias pécticas de tecidos deficientes em cálcio são mais facilmente liberadas pela PG, do que as de tecidos normais (Edgington et alii, 1961);

- O cálcio inibe o amaciamento de frutos na presença de PG. (Buescher et alii, 1979; WILLS & TIRMAZI, 1979);

- Os níveis de cálcio ligado à parede celular declinam antes ou no início do amadurecimento de tomates (Suwwan & Poovaiah, 1978; Poovaiah, 1979; RIGNEY & WILLÈ, 1981), autores citados por BUESCHER & HOBSON (1982).

2.4. Substâncias pécticas

As substâncias pécticas ou pectinas são um grupo de polissacarídeos heterogêneos encontrados na parede celular primária e lamela média de tecidos de plantas superiores, mas estão ausentes na parede celular secundária, AHMED & LABAVITCH (1980), onde predominam a fração celulósica e a lignina (um polímero de álcoois aromáticos), GOODMAN et alii (1986).

As substâncias pécticas são caracterizadas pelas suas propriedades de solubilidade e por um maior conteúdo de ácido galacturônico e resíduos de açúcares neutros predominando arabinose e galactose, MENEILL et alii (1984); ERICSON & ELBEIN (1980). São solúveis em água, agentes quelantes ou em ácidos diluídos, ERICSON & ELBEIN (1980).

Em vários frutos, a fração pectina solúvel aumenta durante o amadurecimento. Este aumento tem sido atribuído a hidrólise de pectina insolúvel (protopectina) pelas pectinases, PRESSEY et alii (1971), HOBSON (1965); KNEE (1973), STERLING (1959). Esta degradação é que promove a sua solubilização. O Ca^{+2} funciona como elemento estabilizador destas moléculas, evitando, portanto, sua degradação. Isto entretanto, só ocorre quando o grupo carboxílico do C_6 do ácido galacturônico não está metilado, permitindo, a formação de pectatos de cálcio insolúveis. O grau de metilação passa a ser, dessa forma, um importante parâmetro na verificação do grau de firmeza dos tecidos.

2.5. Solubilização de poliuronídeos durante o amadurecimento

O amadurecimento de frutos é acompanhado por um aumento na fração de pectina solúvel em água, representando a quebra de substâncias pécticas insolúveis ligadas à parede celular, PILNIK & VORAGEN (1970), bem como pela liberação de açúcares e ácidos urônicos, PILNIK & VORAGEM (1970), PATEE (1985). As estruturas rígidas e bem definidas da parede celular são modificadas com o avanço da maturação dos frutos, MELFORD & PRAKASH (1986). Estas mudanças ocorrem pela ação coordenada de enzimas hidrolíticas na parede celular junto com atividades bioquímicas e fisiológicas dentro da célula, o que converte o fruto do estágio não comestível para o comestível, GOODWIN & MERCER (1983).

A estrutura microscópica e a arquitetura molecular da parede celular mostram uma composição de fibras de celulose embebidas em matriz de substâncias pécticas, hemicelulose,

proteínas, ligninas, solutos de baixo peso molecular e água, LABAVITCH (1981).

O amadurecimento não só de tomates, mas da maioria dos frutos, é caracterizado por uma série de mudanças bioquímicas e fisiológicas coordenadas, que modificam a textura, cor e "flavor" final dos frutos. Os mecanismos bioquímicos das transformações que ocorrem na composição da parede celular e suas relações com a textura, segundo WALLNER & BLOOM (1970) e GROSS & WALLNER (1979) são explicados pela diminuição de polímeros de ácidos urônicos de alto peso molecular acompanhados pelo aumento de uronídeos solúveis de baixo peso molecular. Junto com esta solubilização, uma diminuição de resíduos de açúcares neutros não celulósicos também ocorre durante o amadurecimento de tomates, GROSS & WALLNER (1979); de peras, JERMYN, ISHERWOOD (1956) de maçãs, KNEE (1973); e de morangos, HUBER (1984).

Estudos com tomates mutantes sugerem a existência de estreita afinidade entre amaciamento (solubilização de poliuronídeos) e atividade da PG, TUKER & GRIERSON (1982). Contudo, a exata natureza da afinidade entre estes eventos não é clara, GROSS & WALLNER (1979), TIGCHELAAR et alii (1978).

Vários estudos sobre as mudanças da parede celular de tomates e outros frutos, durante amadurecimento, tem incluído determinações do tamanho molecular de várias frações contendo poliuronídeos através da cromatografia de filtração em gel, PRESSEY et alii (1971), GROSS & WALLNER (1979); AHMED & LABAVITCH (1980); PRESSEY & AVANTS (1982); HUBER (1983).

A grande maioria dos métodos clássicos disponíveis para o fracionamento e isolamento de vários constituintes da parede

celular de tecidos de plantas envolve sua homogeneização em água ou tampões, e isto resulta em uma perda de muitos poliuronídeos solúveis, RUSHING & HUBER (1984).

Tentativas têm sido feitas para inativar enzimas endógenas durante a preparação da parede celular, uma vez que enzimas hidrolíticas podem alterar significativamente a estrutura dos componentes da parede celular durante seu isolamento. A extração de polímeros pécticos, a partir de material insolúvel em acetona, em tampões aquosos preparados para eliminar a atividade de enzimas endógenas foi tentado por JARVIS (1982); SELVENDRAN (1975), HUBER (1983), usando uma mistura de fenol: ácido acético: água destilada 2:1:1 (p:v:v), com a finalidade de investigar mudanças no grau de polimerização de poliuronídeos durante o amadurecimento de tomates.

2.6. Degradação enzimática da parede celular durante o amadurecimento do fruto

Durante o amadurecimento de frutos, uma grande número de enzimas hidrolíticas de parede celular atuam principalmente no rompimento de ligações glicosídicas de polissacarídeos, PRESSEY & AVANTS (1982). A atividade enzimática e sua relação no amadurecimento e amaciamento dos tecidos de frutos tem sido bem demonstrado em mutantes de tomates, BUESCHER & TIGCHELLAR (1975), sendo que, a manutenção da firmeza por longos períodos, é ocasionada pela inibição enzimática no processo de amadurecimento, NG & TIGCHELAAR (1977).

Conforme, MELFORD & PRAKASH (1986), as enzimas capazes de degradar as pectinas são as endopoligalacturonases, exopoligalacturonases, pectinametilerases, Beta-galactosidases alfa-L arabinosidases, sendo que, para os frutos do tomate, as mais importantes são as pectinametilerases e poligalacturonases.

2.7. Pectinametilerase (PME)

A PME, cataliza a desesterificação dos resíduos de galacturonosil (presente no homogalacturonano-polímero de ácido galacturônico), no qual o grupo carboxílico encontra-se metilerificado, atuando nos finais redutores e no interior das cadeias pecticas com alto grau de esterificação, BRAVERMAN (1980). CHEFTEL & CHEFTELL (1976).

Por outro lado, o papel direto da PME no amaciamento do fruto e solubilização de pectina não é totalmente compreendido. Em sua revisão, Pressey, citado por BEN-ARIE & SONEGO (1980), sugeriu que o aumento da atividade de PME sozinha de fato levaria a um decréscimo de solubilização de pectina, devido a um aumento de grupos carboxílicos livres e uma maior interação com Ca^{+2} , na formação da pectatos insolúveis, impedindo a atividade da poligalacturonase.

2.8. Poligalacturonase (PG)

A PG é uma enzima que não se encontra presente em todos os frutos, sendo identificada em tomates, pêras, pêssegos e

abacaxi, entre outros. Cataliza a hidrólise das ligações alfa-1,4 entre os resíduos de ácido galacturônico no interior da cadeia de pectina. Principalmente em tomates e pêssegos, a atividade desta enzima é demonstrada como efetiva na solubilização das pectinas da parede celular.

Ao iniciar-se o amadurecimento, ocorre uma drástica elevação desta enzima, acompanhada pelo aumento de pectina solúvel em água, PRESSEY & AVANTS (1973); BRADY et alii (1982).

Esta enzima é classificada em dois grupos, com base na sua ação sobre o substrato, uma com típico rompimento das ligações glicosídicas aleatória chamada de endo-PG, e outra com rompimento terminal, exo-PG, descritas em detalhes por Rexova-Bencova & Marcovic, citado por KONNO et alii (1983).

Geralmente aceita-se que a endo-PG possui um papel crucial em converter protopectina da parede celular a formas solúveis, acompanhando o amadurecimento do fruto, LABAVITCH (1981). O estudo com mutantes tem proporcionado progressos na compreensão da atividade desta enzima, e a utilização de novas técnicas é de suma importância.

2.9. Celulose

Consideravelmente pouco se conhece a respeito do papel de outros polímeros no amaciamento de frutos, além de poliuronídeos. O metabolismo da celulose tem sido estudado em abacates, como um importante aspecto de amaciamento, onde é observado uma queda de teor durante seu amadurecimento, PESIS et alii (1978).

O exato envolvimento da celulose (e celulases) no amaciamento de frutos ainda permanece desconhecido, mas os seus teores são conhecidos em alguns frutos, tais como tomates e tâmaras, Hall (1987); Hobson e Hasegawa & Smolensky citados por HINTON & PRESSEY (1974). Em tomates, estes autores observaram que a atividade celulase aumenta com o avanço do amadurecimento do fruto.

A parede celular de frutos contém em torno de 20 a 30% de celulose e pequenas somas de resíduos de xilose e manose, os quais são característicos de polissacarídeos hemicelulósicos. Por outro lado, contém uma alta proporção de resíduos de ac. galacturônico, e açúcares neutros como galactose e arabinose, os quais são típicos de polissacarídeos pécticos, KNEE et alii (1973).

Um aumento na atividade de celulase durante o amadurecimento de frutos, sugere a sua atuação em conjunto com outras enzimas hidrolíticas, contribuem para o amaciamento de frutos durante o amadurecimento, PRESSEY & HINTON (1971).

WALLNER & BLOON (1977) trabalhando com degradação de parede celular de tomates "in vitro", consideraram a hidrólise da celulose em frutos, de limitada importância no amaciamento,

3. MATERIAL E METODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Olericultura da Escola Superior de Agricultura de Lavras - MG, situada a 21°14'06'' latitude Sul e 45°00'W.Gr., a 918m de altitude. O clima da região, segundo Koppen, é do tipo CWb com uma estação seca entre abril e setembro e uma chuvosa de outubro a março.

3.1. Material

Foram utilizados frutos de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill) cv "Santa Clara" cultivada em fileiras duplas, uma haste por planta, uma planta por cova e podadas após o quarto ramo floral.

As plantas foram cultivadas em Latossolo Vermelho Escuro distrófico (LEd), cujas características químicas e físicas encontram-se no Quadro 1.

Durante o primeiro mês de cultivo a irrigação por aspersão foi feita diariamente e no restante do ciclo, por infiltração, com frequência média de dois dias.

Os níveis de gesso (300, 600, 900, 1200kg/ha), apresentando 32,6% de CaO, foram fornecidos juntamente com 1kg de esterco/planta, no plantio das mudas.

QUADRO 1 - Características químicas e físicas do solo utilizado.
ESAL, Lavras MG, 1990.

CARACTERÍSTICAS	LEd
pH (em H ₂ O)	4,9
K (ppm)	63,0
P (ppm)	6,0
Ca (meg/100g)	2,5
Mg (meg/100g)	0,3
Cu (ppm)	4,3
S (ppm)	37,0
Fe (ppm)	43,5
Mn (ppm)	45,0
Zn (ppm)	1,8
Al (meg/100g)	0,1
V (%) umidade	45,0
m.o. (%)	3,0
Limo (%)	24,0
Argila (%)	54,0

Determinações realizadas no Departamento de Ciências do solo da ESAL, 1990.

3.2. Colheita e seleção do material

As colheitas foram realizadas em quatro épocas distintas, de acordo com o estágio de maturação alcançado. No laboratório foi feita nova seleção, selecionando-se aqueles frutos sem injúria mecânica, sem infecção aparente e com pedúnculo, uniformizando-os pelo tamanho e cor, HOBSON (1982).

Após a seleção, realizou-se uma lavagem com hipoclorito de sódio 1% e depois foram rinsados em água destilada e secos ao ar. Procedida a seleção, os frutos foram separados nas 4 repetições de 10 frutos como unidade experimental para cada tratamento. No estágio verde maduro (VM), metade destes frutos (5 frutos) foram armazenados em local com umidade relativa entre 80-85%, com um controle de temperatura $20^{\circ}\text{C} (\pm 3)$, para acompanhamento da maturação e avaliação de cor, segundo MUNSSELL BOOK OF COLOR (1976).

3.3. Homogeneização

Os demais frutos foram utilizados para as análises físicas de textura e análises de caracterização (avaliação físico-química e química). Para realização das análises de caracterização, o pericarpo dos frutos da respectiva e repetição foram cortados em cubos, misturados e uma amostra representativa foi triturada em liquidificador à temperatura de $20^{\circ}\text{C} (\pm 3)$ por 3 a 4 minutos. O restante da parcela em cubos foram acondicionadas em frascos porta amostra, congelada em nitrogênio líquido e armazenada em freezer (-25°C) até sua análise.

3.4. Análises

Todas as avaliações foram realizadas nos laboratórios da ESAL utilizando-se técnicas testadas e padronizadas nas condições laboratoriais existentes.

3.4.1. Determinações, físicas e físico-químicas

Estas foram realizadas nos frutos logo após a sua seleção, sendo que o material placentar e sementes foram desprezados, e as análises realizadas no pericarpo externo, após homogeneização.

3.4.1.1. Sólidos solúveis totais (SST)

Estes foram avaliados no extrato aquoso obtido do homogeneizado dos frutos, conforme recomendação da A.O.A.C. (1970). Foram determinados por refratometria, através de refratômetro tipo ABBE, e expressos em graus Brix.

3.4.1.2. Acidez total titulável e pH

Foram determinados no filtrado obtido da homogeneização dos frutos, segundo a técnica recomendada pelo INSTITUTO ADOLFO LUTZ (1977). Para a medição do pH utilizou-se potenciômetro Micronal modelo B-221. A acidez total titulável foi expressa em g de ácido cítrico/100g de tecido fresco.

3.4.1.3. Sólidos solúveis totais/acidez total titulável (SST/ATT)

Este índice foi determinado pelo quociente entre os dois constituintes.

3.4.1.4. Avaliação da cor

A seleção dos frutos quanto a cor foi feita visualmente de modo a obter-se um grupo homogêneo e classificado segundo MUNSELL BOOK OF COLOR (1976). Foram atribuídas notas de 0 (zero) à 4 (quatro) de acordo com cada etapa de maturação. O número de frutos de cada etapa de maturação foi multiplicado pela respectiva nota, determinando-se posteriormente o valor médio para cada tratamento e suas repetições.

NOTA	NUANÇAS DE COR	ETAPA DE MATURAÇÃO
0	G	frutos Verdes Maduros
1	GY	frutos Verdes Amarelados
2	Y	frutos Amarelados
3	YR	frutos Vermelho Amarelados
4	R	frutos Maduros Vermelhos

3.4.1.5. Textura

Foi determinada individualmente no fruto inteiro (íntegro), na região equatorial, retirando-se uma pequena porção

da casca e medindo-se a textura com auxílio de um Penetrômetro Magness Taylor, com "Pluger" de 5/16 polegadas de diâmetro. Os resultados obtidos em lb/pol², foram transformados em Newtons, multiplicando-se os mesmos pelo fator 4, 11.

3.5. Isolamento da parede celular

A parede celular do fruto foi isolada segundo método recomendado por GROSS (1986). O pericarpo dos frutos foi triturado em homogenizador de tecidos modelo TISSUMIZER, TEKMAR, com água destilada a 4°C. Este homogêneo foi filtrado em gaze dobrada e o resíduo congelado em nitrogênio líquido e liofilizado. O material liofilizado foi triturado em moinho de WILLIS e submetido a uma uniformização de partículas em peneiras granulométricas de 80 mesh. O material seco uniformizado foi acondicionado em frascos porta amostra e mantidos sob temperatura ambiente, até sua análise, conforme recomendação de HOEBLER et alii (1989).

3.5.1. Isolamento de polissacarídeos pécnicos

O isolamento dos polissacarídeos pécnicos foi feito segundo a técnica descrita por HUBER (1983). Cerca de 40g de pericarpo congelado em cubos foi triturado em homogeneizador de tecidos modelo TISSUMIZER TEKMAR, com 160ml de Acetona P.A. (mantida por 24hs em freezer a -25°C) por 2 minutos em banho de gelo (4°C). O homogeneizado foi filtrado a vácuo em papel de filtro Whatman 51, quantitativo, e lavado com 250ml de Acetona

80% (v/v) gelada. Em seguida, o resíduo foi lavado com 250ml de Acetona P.A. gelada e filtrado a vácuo.

O resíduo insolúvel em Acetona foi ressuspenso em uma mistura de fenol, ácido acético e água destilada 2:1:1 (p:v:v), à 4°C por 5 minutos, para inativação das enzimas endógenas. A esta mistura adicionou-se Acetona P.A. gelada (-25°C) para obter uma concentração final de 80%. Esta mistura foi filtrada a vácuo em papel de filtro Whatman nº 51 quantitativo.

O resíduo insolúvel em Acetona (pó de Acetona) foi transferido para uma placa de Petri, congelado com Nitrogênio líquido, e liofilizado.

Este material (pó de Acetona) insolúvel foi transferido para frascos porta amostra mantidos a temperatura ambiente até sua análise.

3.5.2. Extração dos polissacarídeos pécticos

A extração foi feita pela suspensão de 500mg de material obtido do isolamento dos polissacarídeos pécticos (pó de Acetona) em 30ml de tampão Acetato de Sódio - E.D.T.A. (50mM acetato, 40mM EDTA), pH 4,5, por 4hs com agitação magnética, em temperatura ambiente. O homogeneizado foi filtrado a vácuo, o resíduo descartado, e o filtrado foi submetido à cromatografia gélica pela técnica de HUBER (1983).

3.5.3. Cromatografia de filtração em gel dos poliuronídeos de frutos do tomateiro

A filtração em gel dos poliuronídeos foi realizada em coluna (72 x 1.8cm) de Sephadex G-200, equilibrada com tampão Acetato E.D.T.A. (50mM acetato de sódio. 3H₂O, 20mM E.D.T.A.) pH 6,0 contendo 10 mM de NaCl. A calibração da coluna foi efetuada com Azul de Dextran, peso molecular 70.000 e 40.000 Daltons e Glicose P.A., para açúcares totais e ac. galacturônico (Sigma) e pectina para poliuronídeos (Figuras 1 e 2). O volume vazio foi determinado com azul de Dextran, (PM = 2×10^6 Daltons).

Os Poliuronídeos recuperados do pó de Acetona pelo tampão Acetato - E.D.T.A. (Acetato 50mM, 40mM E.D.T.A.), pH 4,5, foram ajustados em volume para produzir um conteúdo de açúcar ácido de 1,5 mg/ml, liofilizados, e ressuspensos em 2ml do tampão de eluição.

Frações de 2ml foram coletadas em um coletor de frações modelo 2112 REDIRAC, LKB. Foram analisados, açúcares totais pelo método colorimétrico de Antrona, DISCHE (1962), e ácidos urônicos pelo método colorimétrico de BLUMENKRANTZ & ASBOE-HANSEN (1973).

3.5.4. Obtenção e determinação de celulose

O procedimento usado foi o método modificado de UPDEGRAFF (1969) pelo uso do ac. trifluoracético 2N, como ácido hidrolizante. As paredes celulares isoladas do fruto, liofilizadas, foram pesadas (5mg) em tubos de ensaio com tampa rosquiável e hidrolizadas com ácido trifluoracético (0,5ml) a

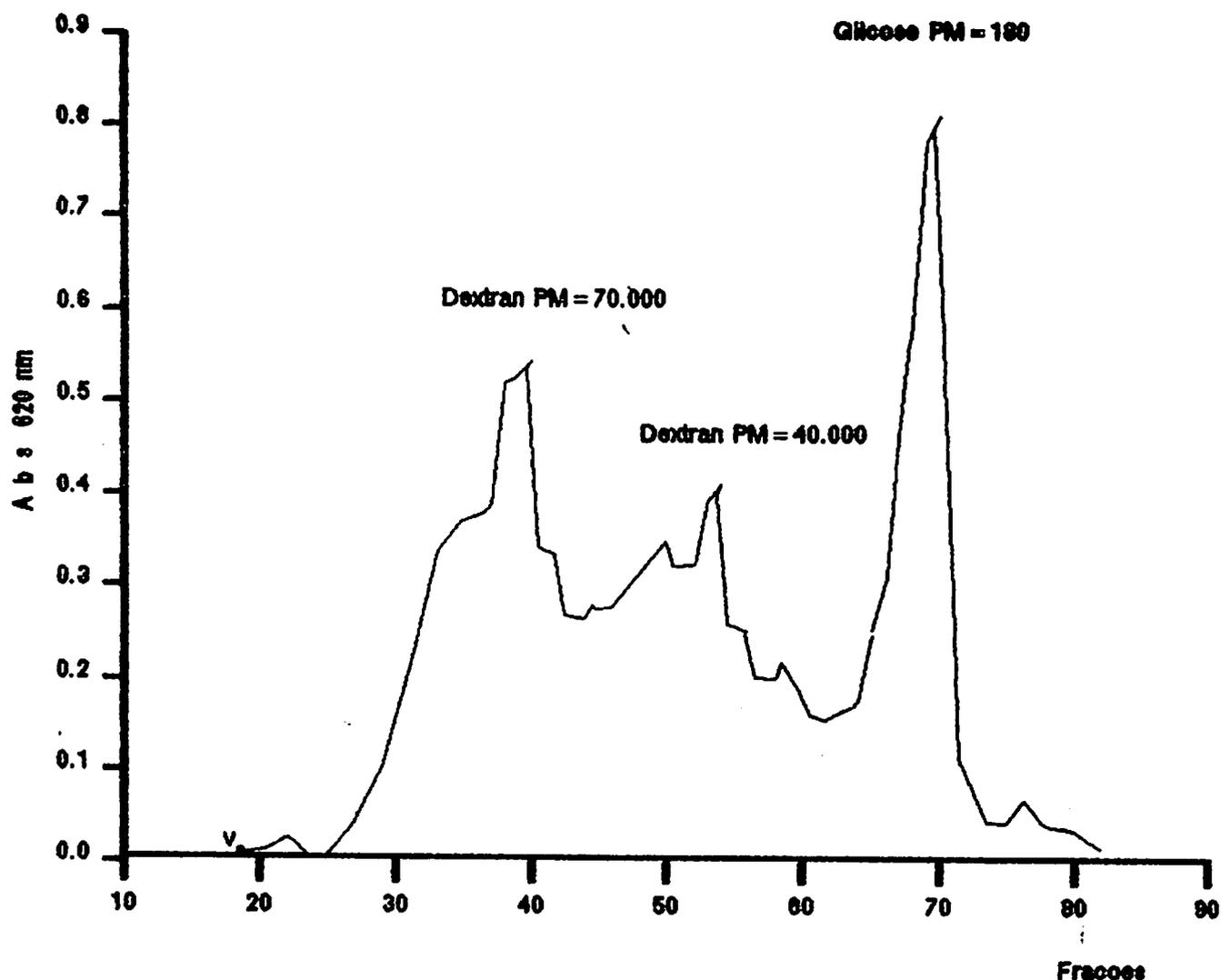


FIGURA 1 - Modelo de uma calibração de coluna de sephadex G-200 (72x1,8cm) para cromatografia de filtração em gel, com substâncias de peso moleculares diferentes com aplicação de 1ml de uma solução contendo 2mg/ml e colhidas as frações com 40gts com fluxo de 0,2ml/min. ESAL/DCA, Lavras - MG, 1990.

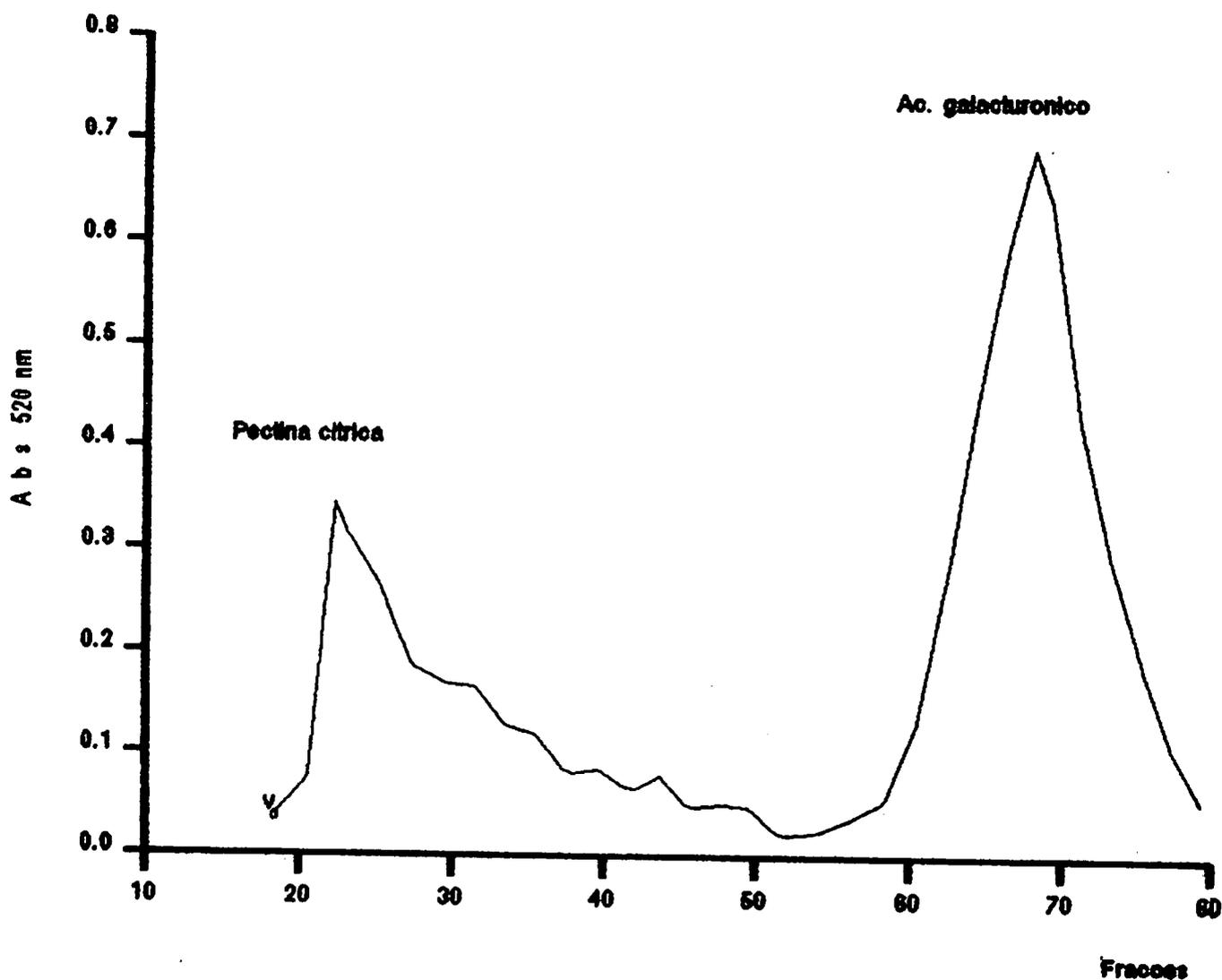


FIGURA 2 - Modelo de uma calibração de coluna de sephadex G-200 (72x1,8cm) para cromatografia de filtração em gel, com substâncias de pesos moleculares diferentes com aplicação de 1ml de uma solução contendo 2mg/ml, e colhidas as frações com 40gts com fluxo de 0,2ml/min. ESAL/DCA, Lavras - MG, 1990.

120°C por 1 hora em BLOCK-HEAT. Após Hidrólise as amostras foram resfriadas, centrifugadas a 5.000G por 15 minutos, e o ácido evaporado por fluxo de ar. O resíduo foi lavado 3 vezes com 1ml de água destilada e lavados após centrifugação. AHMED & LABAVITCH (1977), o resíduo obtido (fibras de celulose) foi solubilizado com ácido sulfúrico, d=1.84, 72% (v/v), por cerca de uma hora com agitação, até dissolução completa do resíduo.

O conteúdo de celulose das amostras foi determinado colorimetricamente pelo método de Antrona, de acordo com DISCHE (1962), utilizando Celulose Microcristalina (MERCK) como padrão.

3.6. Extração e doseamento de pectina total e pectina solúvel

As pectinas total e solúvel foram extraídas do extrato aquoso do pericarpo dos frutos, recém triturados, segundo a técnica descrita por McCREAD & McCOMB (1952) e doseadas conforme técnica desenvolvida por BITTER & MUIR (1962). Os resultados foram expressos em porcentagem de ácido galacturônico.

3.7. Extração de enzimas

Os extratos brutos das enzimas foram obtidos segundo os métodos descritos por PRESSEY & AVANTS (1973) e JEN & ROBINSON (1984).

3.7.1. Doseamento da poligalacturonase (PG)

O extrato bruto foi dessalinizado em coluna SEPHADEX G.25, eluído com tampão acetato de sódio 0.05M pH 5.0. Acido poligalacturônico foi usado como substrato a uma concentração de 0,25% (lavado com etanol P.A. 80%, antes do uso), dissolvido em tampão acetato de sódio 37,5mM, pH 5.0, PRESSEY & AVANTS (1973).

A atividade da enzima foi determinada pela incubação do extrato enzimático após dessalinização, com substrato, por 3 horas a 30°C. A reação foi interrompida pela colocação das amostras em banho fervente por 3 minutos. Os açúcares redutores liberados, após cessada a atividade enzimática, foram doseados pelo método de NELSON (1944), usando glicose anidra como padrão.

Uma unidade de atividade de PG foi definida como a quantidade de enzima capaz de catalizar a formação de 1 nanomol de açúcar redutor por minuto sob as condições de ensaio.

3.7.2. Doseamento de pectinametilesterase (PME)

A atividade da enzima PME foi medida usando uma modificação do método de Rouse & Atkins (1955), citado por JEN & ROBINSON (1984). Pectina cítrica 1% em NaCl 0,1M, ajustado a pH 7,0 foi usada como substrato em temperatura ambiente. A taxa de desmetilação da pectina foi medida a temperatura ambiente pela titulação com Hidróxido de sódio 0,025N usando um potenciômetro Micronal modelo 221.

Uma unidade de atividade de PME foi definida como a quantidade de enzima capaz de catalizar a desmetilação da pectina

correspondente ao consumo de 1 (um) nanomol de Hidróxido de sódio por 10 minutos, sob as condições de ensaio.

3.8. Determinação de cálcio nos frutos

O cálcio foi determinado por espectrofotometria de absorção atômica, com digestão ácida nitroperclórica, conforme metodologia preconizada por SARRUGE & HAAG (1974).

3.9. Delineamento experimental

O experimento constou de um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x4x5 da seguinte maneira: 4 estádios de maturação (VM - verde maturo; BR - Breaker; M - maduro; RR - vermelho maduro). Em 5 níveis de tratamento de calagem em que foi usado gesso, apresentando 32,6% de CaO, sendo os níveis: 0 (zero) controle, 300, 600, 900, 1200kg/ha.

1. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Avaliações físicas, físico-químicas e químicas

4.1.1. Textura

Dos atributos de qualidade, a textura se caracteriza como um dos mais importantes, constituindo, por isso, um dos desafios da Fisiologia Pós-colheita para manutenção da integridade dos frutos.

Os resultados obtidos mostram uma perda de firmeza dos tomates de modo inverso à aplicação de gesso (Ca^{+2}), para todos os níveis, durante os estádios de maturação (Figura 3).

O tratamento controle (0 Kg de gesso/ha), apresentou perda de firmeza mais intensa, em decorrência de uma metabolização mais acelerada da protopectina transformando-a em pectinas solúveis, devido a atividade de enzimas hidrolíticas da parede celular como PG. e PME.. A redução menos acentuada da firmeza nos demais tratamentos acredita-se que seja devido a manutenção da rigidez da parede celular do fruto, ocasionada pela

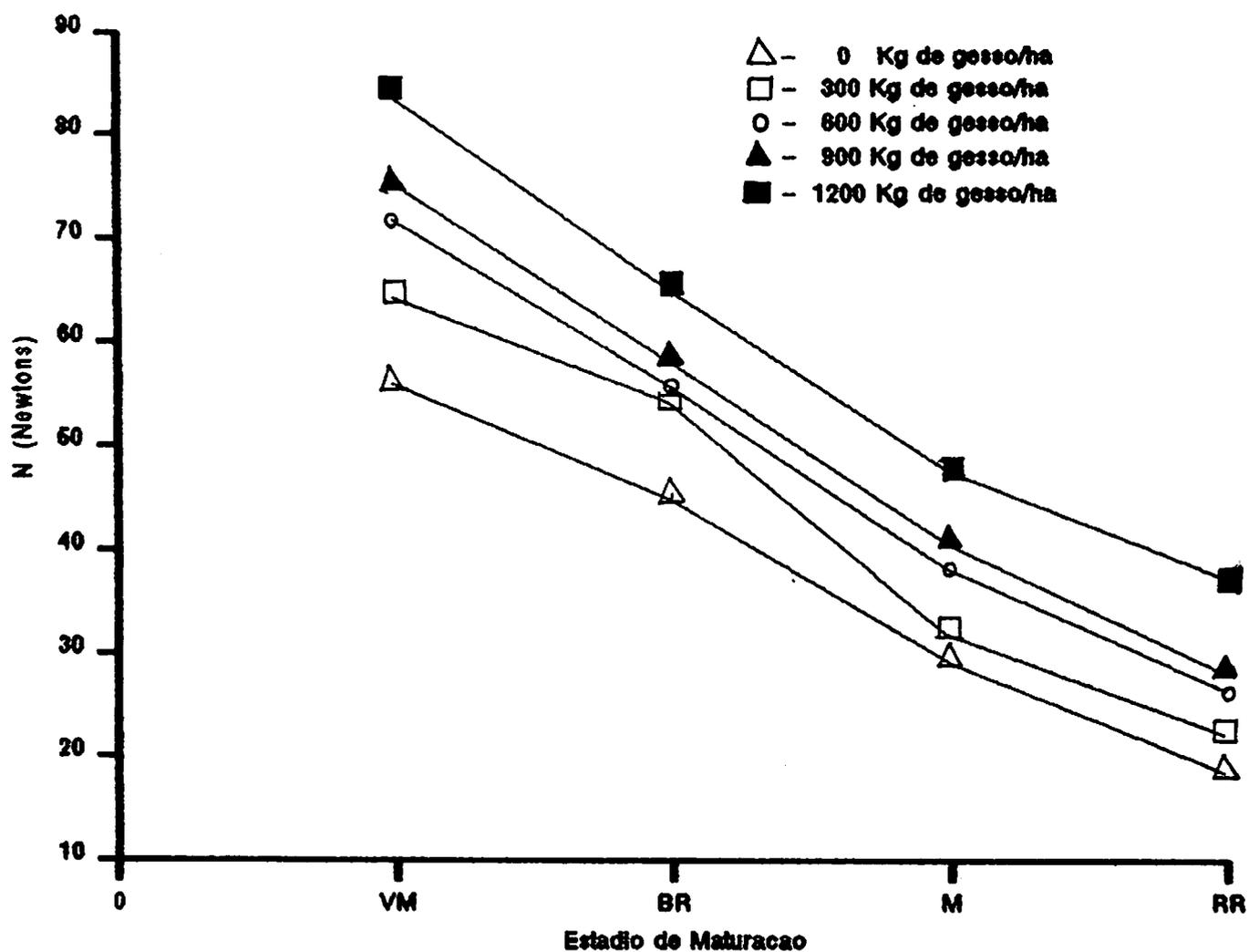


FIGURA 3 - Valores médios de textura (expressos em Newtons) dos frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM= verde maduro; BR= Breaker; M= maduro e RR= vermelho maduro) e submetidos à 5 níveis de gesso no solo (Kg/ha). ESAL/DCA, Lavras - MG, 1990.

presença do cálcio na formação de pectatos insolúveis. Em estádios mais adiantados de maturação estes cátions são complexados pelos ácidos orgânicos propiciando maior atividade da PG. e conseqüentemente, perda de firmeza dos frutos.

RIGNEY & WILLS (1981), trabalhando com cálcio como um fator regulador do início da maturação em tomates, concluíram que um aumento na concentração de cálcio na parede celular, antes do amadurecimento, aumenta a atividade de PME., inibindo a atividade PG., mantendo o fruto mais firme com o avanço da maturação.

Em estudos comparativos com diferentes soluções como Cloreto de Cálcio, Cloreto de Magnésio e Cloreto de Estrôncio aplicados após colheita em maçãs, a retenção de firmeza foi maior naqueles frutos em que foram usados 15 a 17% de Cloreto de Cálcio em comparação as outras soluções, tornando-se 25% mais firmes do que as dos frutos controles.

Através dos resultados obtidos no presente trabalho com relação a retenção de firmeza, pode ser observado que houve uma participação efetiva dos ions Ca^{+2} , na formação de pontes entre ácidos pécticos, tornando a parede celular menos susceptível à enzimas responsáveis pelo amaciamento.

EL-SAYED et alii (1966), também correlacionaram a firmeza de tomates com a natureza das substâncias pécticas associadas com o cálcio. Tratando diretamente os frutos com Cloreto de Cálcio, concluíram que os ions Ca^{+2} participavam na retenção da firmeza, pela formação de pectatos insolúveis.

BATERMAN & LUMSDEN (1965), e WATKINS et alii (1982), concluíram que as substâncias pécticas formam sais de pectatos com cátions multivalentes, particularmente com o cálcio,

retardando o amaciamento de frutos por impedir ação de PG., produzidas por fungos.

A correlação entre estádios de maturação do fruto à colheita x doses de gesso aplicado ao solo, demonstrou haver pelo teste ANAVA (Anexo 1), um aumento linear na textura dos frutos, exceto no estágio (M) no qual a interação não foi significativa. Observa-se que o aumento linear na textura foi mais acentuado em frutos colhidos no estágio VM, do que nos estádios BR e RR. Ressalta-se aqui a retirada da epiderme, (casca protetora do fruto) para evitar o efeito de plasticidade provocado pelo amaciamento da polpa (Figura 4).

Em outro trabalho em que se comparou firmeza de tomates mutantes e de amadurecimento normal, os autores observaram que a concentração de poligalacturonase é um dos principais fatores na manutenção da firmeza dos mutantes por tempo mais prolongado. Isto também foi observado neste trabalho com a atividade PG, item 4.6.. Observaram ainda que tomates mutantes apresentam um perfil de amadurecimento diferente, KOTCH & NEVINS (1990).

O trabalho de BUESCHER & HOBSON (1982), discute o papel do cálcio na regulação e degradação de tecidos de tomates, pela PG., citando a importância do cálcio, na manutenção da estrutura da parede celular. Os resultados aqui obtidos confirmam e indicam que a estabilização das substâncias pécticas pelo Ca^{+2} é de suma importância na manutenção da rigidez da parede celular, (item 4.3).

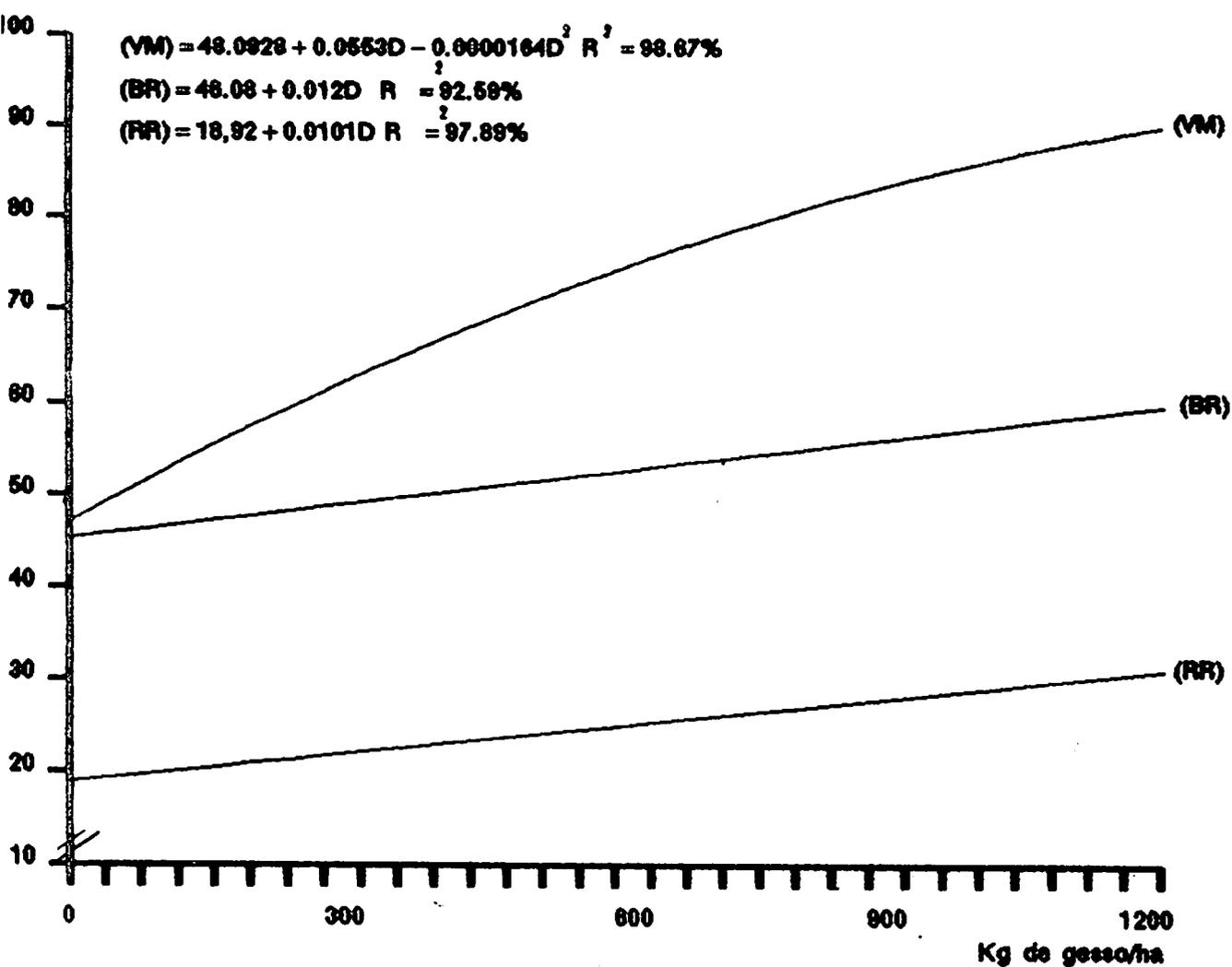


FIGURA 4 - Equações e curvas de regressão para textura em tomate cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação (VM= verde maturo; BR= Breaker; M= maduro e RR= vermelho maduro) e submetidos à 5 níveis de gesso no solo (Kg/ha). ESAL/DCA, Lavras-MG - 1990.

4.1.2. Sólidos solúveis totais (SST)

Os SST dos frutos que foram inicialmente da ordem de 3,3% no estágio VM, apresentaram tendências de aumento, atingindo valores máximos de 4,70 a 5,26% no 4^o estágio de maturação (RR), Tabelas 1 e 2, e Figura 5.

Os valores nos frutos maduros (RR) encontram-se acima dos limites de 4,0 a 4,4% observados por CHITARRA & CHITARRA (1976), em tomates produzidos no Sul de Minas Gerais. Isto pode ser devido a vários fatores que apresentam influência sobre os S.S.T. tais como a cultivar, o local e a época de colheita, ressaltando os tratamentos aos quais os frutos foram submetidos.

Pelos dados obtidos através da análise estatística observa-se que não houve interações entre os níveis de gesso aplicados ao solo e os estádios de maturação dos frutos à colheita, sendo os frutos do tratamento controle os de maior teor de S.S.T. (Tabelas 1 e 2).

Durante a maturação do fruto o estágio que apresentou maior teor de SST foi o 4^o (RR), onde o fruto apresentava-se, vermelho maduro.

CRAFT & HEINZE (1954), observaram um comportamento similar em tomates armazenados no estágio verde maduro (VM), mas, com uma queda no teor de SST no estágio muito maduro (RR), devido a processos de senescência (reações catabólicas). No presente trabalho até o último estágio de maturação analisado (4^o estágio - RR), observou-se um aumento no teor de SST isto é, mesmo o fruto estando completamente maduro foi observado um

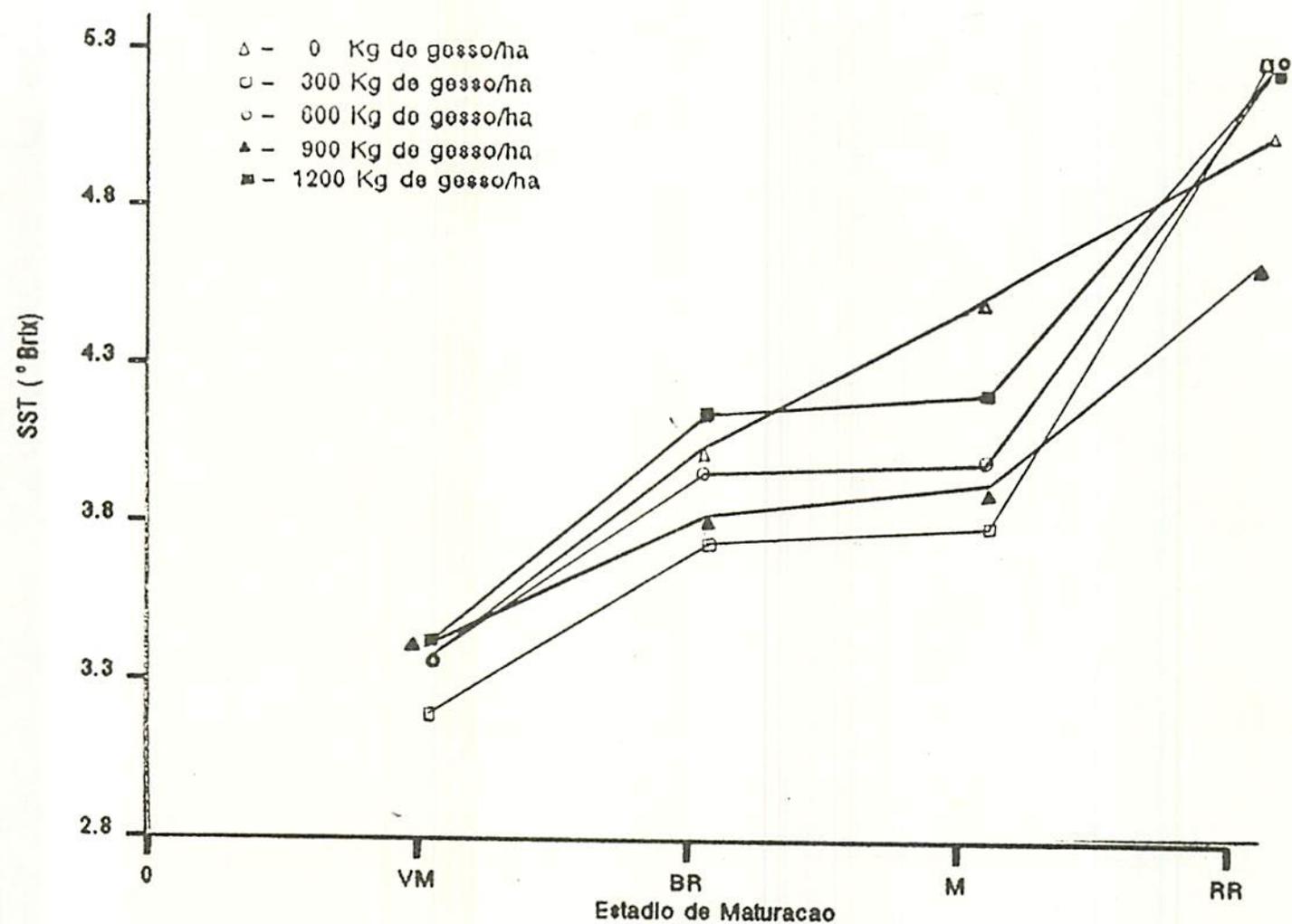


FIGURA 5 - Valores médios de Sólidos Solúveis totais (SST) (expressos em Graus BRIX) de frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM= verde maturo, BR= breaker; M= maduro e RR= vermelho maduro) e submetidos à 5 níveis de gesso no solo (Kg/ha). ESAL/DCA, Lavras-MG - 1990.

aumento neste teor. Acredita-se que seja devido a atividade PG, ainda existente neste estadio.

4.1.3. Acidez total titulável (ATT) e pH

Pelos valores apresentados pode-se observar que os frutos não apresentaram grandes variações na ATT durante a maturação, (Figura 6). Ressaltamos aqui que o Ca^{+2} não interferiu significativamente na variação de ATT.

Verifica-se que a acidez dos frutos apresentou um leve aumento a partir do 1^o estágio de maturação (VM), decrescendo posteriormente até o final do experimento, (Tabela 2).

Durante a maturação do tomate, a acidez máxima pode coincidir com os primeiros sinais de coloração amarela, WINDSOR et alii (1962), ou com o aparecimento da cor rosa, de acordo com Rosa, citado por HOBSON & DAVIES (1971). No presente trabalho, verificou-se que os frutos apresentaram coloração amarelo-rosa, coincidindo com o 2^o estágio de maturação (BR). DENNISON et alii (1952), também observaram uma diminuição da acidez até o completo amadurecimento dos frutos. SALUNKHE & DESAI (1984), também verificaram esse comportamento, concluindo que a queda é provocada pelo catabolismo do ácido cítrico em ácido málico (reações de descarboxilação e carboxilação).

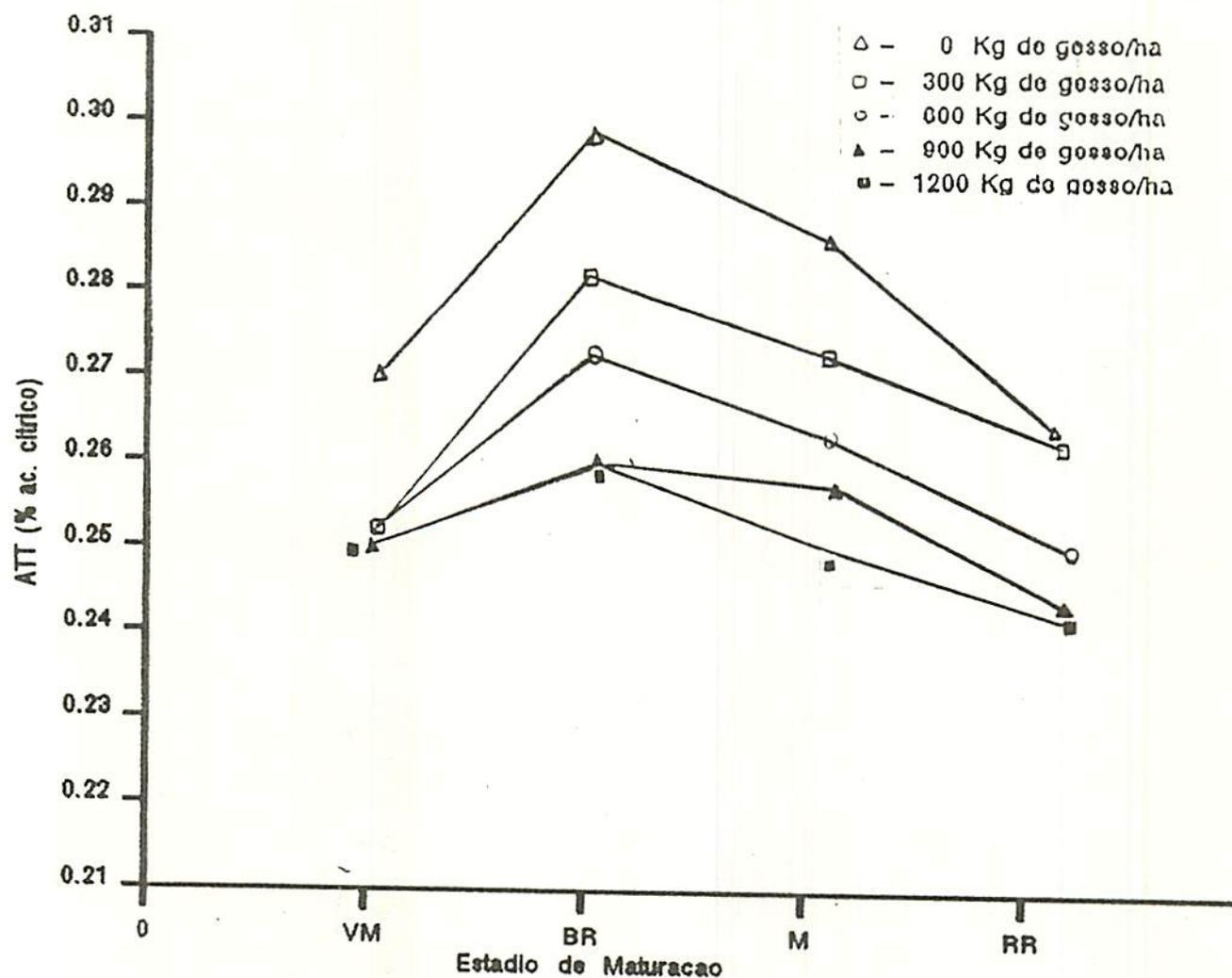


FIGURA 6 - Valores médios de Acidez Total Titulável (ATT) de frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM = verde maturo; BR = breaker; M = maduro e RR = vermelho maduro), e submetidos à 5 níveis de gesso no solo (Kg/ha). ESAL/DCA, Lavras-MG - 1990.

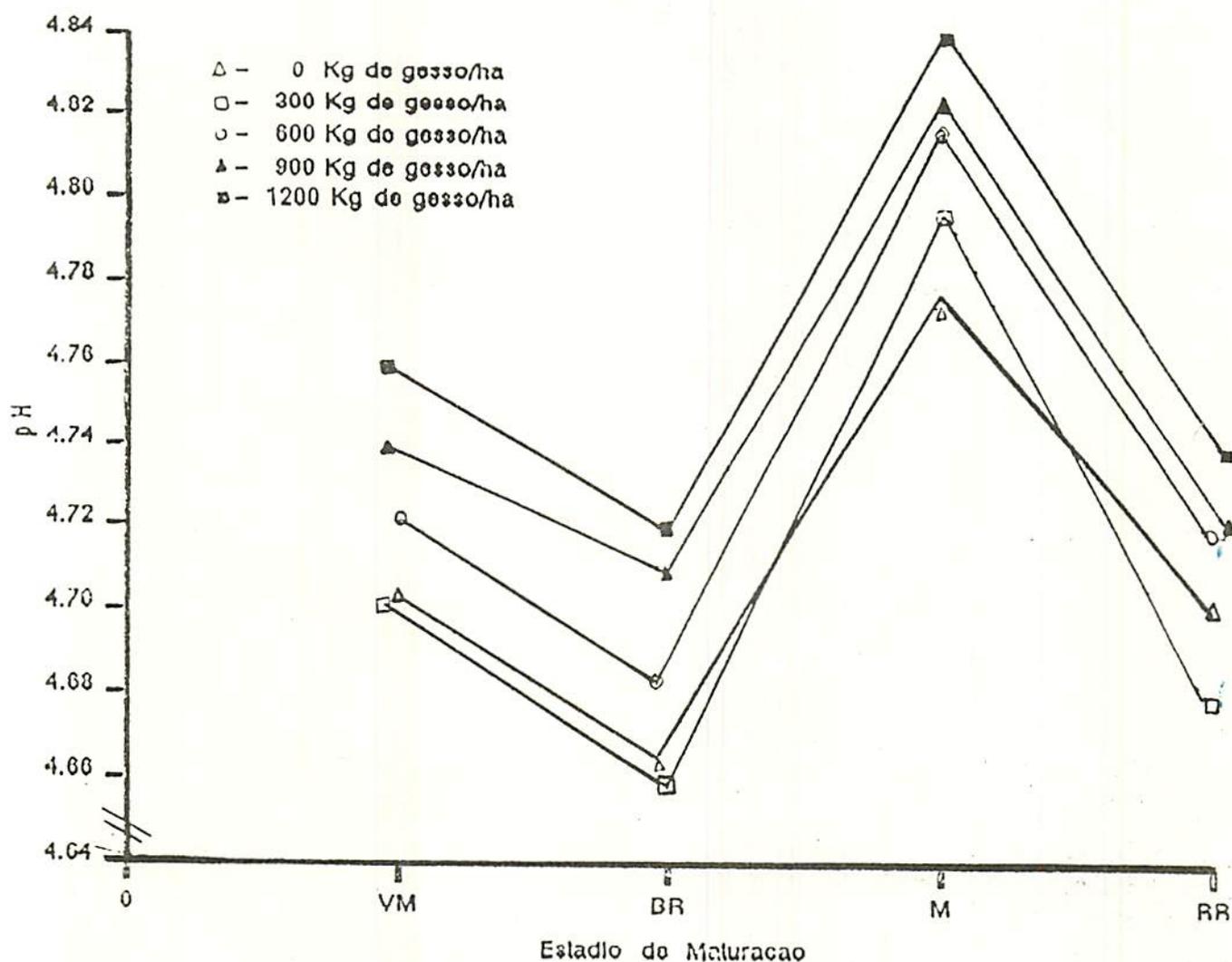


FIGURA 7 - Valores médios de pH de frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM = verde maturo; BR = breaker; M = maduro e RR = vermelho maduro) e submetidos à 5 níveis de gesso no solo (Kg/ha). ESAL/DCA, Lavras-MG - 1990.

CARVALHO et alii (1984), obtiveram em tomates na cv Gigante Kadá teores de acidez superiores aos observados, neste experimento. Esta diferença pode ser atribuída às práticas culturais, condições climáticas, cultivar, e épocas de colheita diferentes.

Para os valores de pH, não foi verificada interação entre doses de gesso e estágio de maturação. Na Tabela 2, são apresentados os dados em separado para estágios de maturação, comparados através do teste de Tuckey. A Figura 7 apresentada logo a seguir demonstra os valores médios de pH observados através dos estágios de maturação.

O estágio de maturação que apresentou maior valor de pH foi o 3^o (M), sendo observado após este (4^o estágio RR) um pequeno decréscimo no final do experimento. AL-SHAIBANI & CREIG (1979), observaram um aumento do pH durante a maturação de tomates, cujo aspecto não foi observado neste trabalho, apesar de que os dados obtidos se encontram próximos dos limites citados por KADER et alii (1978); KADER et alii (1977) e HAMNER & MAYNARD (1945) que obtiveram índices de pH entre 4,0 e 4,62.

4.1.4. Relação sólidos solúveis totais/acidez total titulável (SST/ATT)

A relação SST/ATT é importante na qualidade do tomate pois é um índice utilizado para caracterizar o sabor e aroma do fruto. No presente trabalho observou-se uma tendência de aumento gradual nos valores com o aumento da quantidade de gesso aplicada no solo. Entre os estágios de maturação foram observados maiores aumentos entre os estágios M para o RR (Figura 8).

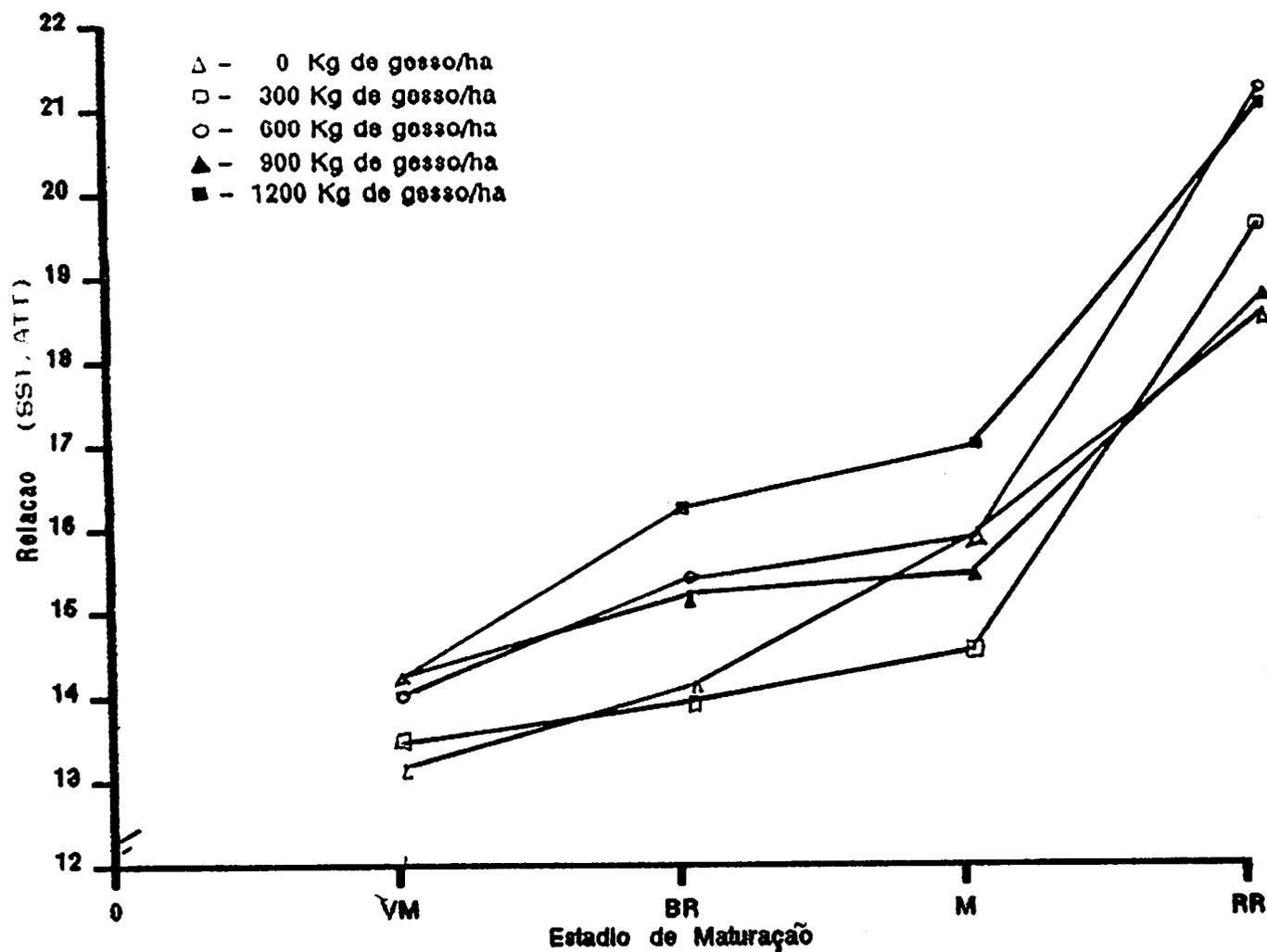


FIGURA 8 - Valores médios da relação Sólidos Solúveis Totais (SST)/Acidez Total Titulável (ATT) de frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM = verde maduro; BR = breaker; M = maduro, e RR = vermelho maduro) e submetidos à 5 níveis de gesso no solo (Kg/ha). ESAL/DCA, Lavras- MG, 1990.

Os valores obtidos para os frutos maduros no final do experimento foram superiores aos observados por CARVALHO et alii (1984), que encontraram valor de 13,4. A diferença de comportamento, pode ser atribuída aos teores mais elevados de Sólidos Solúveis Totais nos frutos (Tabela 2). Um fruto é considerado de excelente qualidade quando apresenta relação SST/ATT superior a 10, KADER et alii (1978).

4.1.5. Avaliação da cor

A cor, juntamente com a textura, são atributos importantes na aceitação do fruto. Suas modificações durante o amadurecimento tem sido empregadas como indicadores de qualidade, CHITARRA & CHITARRA (1990).

Neste trabalho, a avaliação de cor foi feita pelo estudo da interação ente níveis de gesso (tratamento) e dias pós-colheita. Os frutos submetidos aos tratamentos bem como o controle, alcançaram o completo desenvolvimento da coloração típica do fruto maduro (Figura 9).

Também pode ser observado que, com o aumento das doses de gesso (tratamentos), houve um retardamento do desenvolvimento da cor dos frutos durante a maturação. Acredita-se que isto tenha ocorrido visto ser a síntese dos carotenóides dependente do etileno produzido pelo fruto e do seu conteúdo de cálcio. Isto foi também observado por FERGUSON (1984), em frutos climatéricos, nos quais houve um retardamento do desenvolvimento da cor pela inibição da síntese de etileno provocada pelo cálcio.

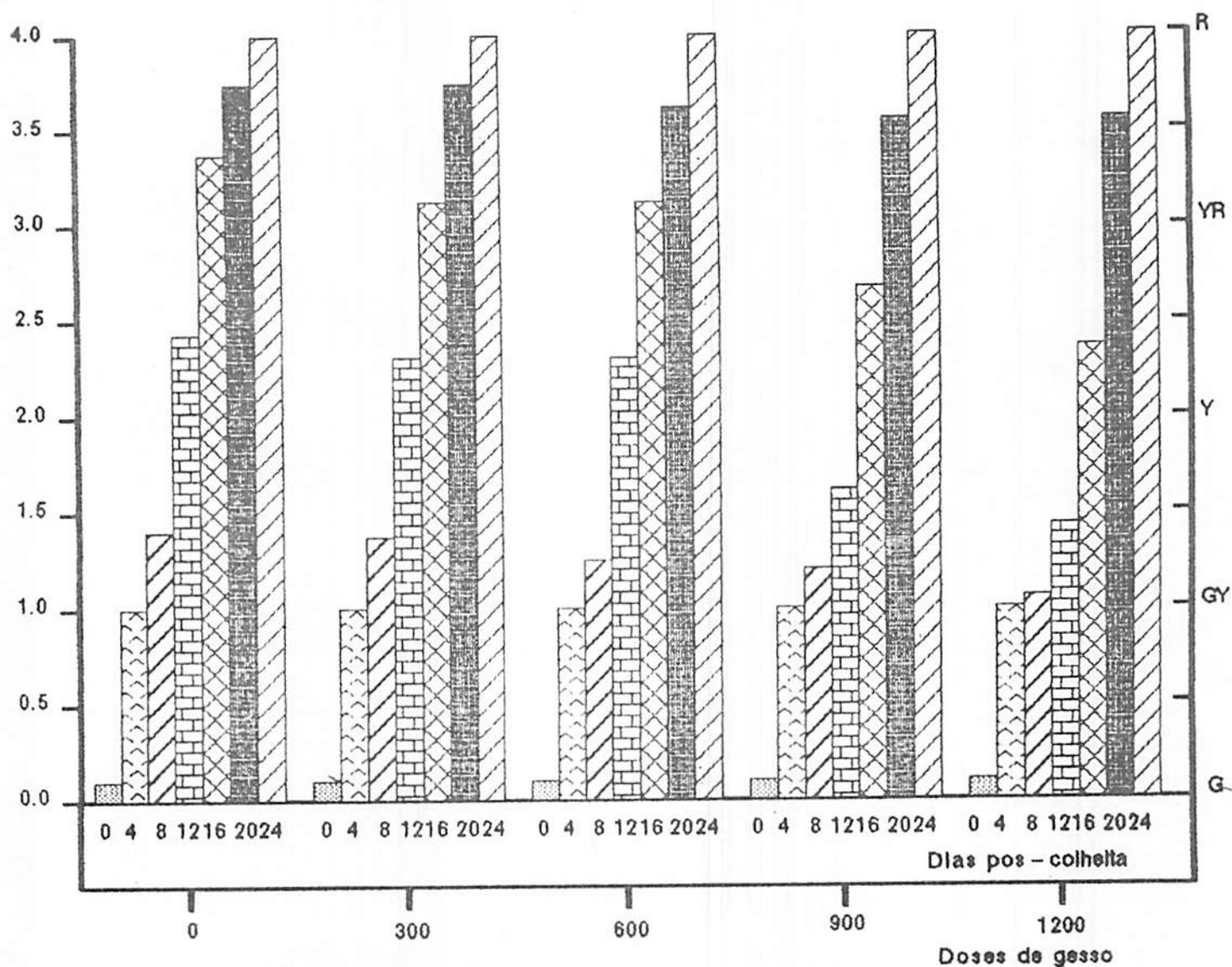


FIGURA 9 - Médias de avaliação da cor de frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM = verde maturo; BR = breaker; M = maduro e RR = vermelho maduro), e submetidos em 5 níveis de gesso no solo Kg/ha. ESAL/DCA, Lavras - MG, 1990.

Inúmeras técnicas para retardar o desenvolvimento de cor têm sido usadas, entre elas a Atmosfera Modificada e a Atmosfera Controlada. Estas técnicas inibem a síntese de carotenóides que é dependente do etileno produzido pelo fruto, devido a baixas concentrações de O_2 , reduzindo com isto, a produção de etileno e retardando o desenvolvimento da cor de tomates, JEFFREY et alii (1984).

4.2. Cálcio

O cálcio é um importante componente na manutenção da integridade da parede celular, e tratamentos com esse mineral têm sido realizados por muitos pesquisadores em uma série de frutos, para verificar seus efeitos na manutenção da textura pós-colheita.

GRANT & COL (1973), propuseram, através de ligações iônicas de pectáto de cálcio e complexos coordenados de cálcio (modelo de caixa de ovo), mecanismos para explicar a manutenção da firmeza.

Os resultados aqui obtidos com a aplicação do gesso indicam que as respostas quanto a absorção de cálcio, foram devidas provavelmente a disponibilidade inicial desse nutriente no solo (2,5 meq/100cc) e aos pequenos acréscimos promovidos pelos tratamentos, propiciando mudanças no desenvolvimento da cor, textura e na solubilização de poliuronídeos da parede celular (Tabela 2) item 4.3.. Além disso, deve-se considerar que a dissolução do sulfato de cálcio é tanto mais lenta quanto maior for a atividade do cálcio no solo, HIRA & SINGH (1980).

BURNS & PRESSEY (1987), trabalhando com os efeitos de ions cálcio na parede celular de tomates e pêssegos concluíram que a maior diferença no amaciamento da textura entre estes, está na diferença do conteúdo de cálcio da lamela média e que esta diferença resulta em uma maior ou menor retenção de pectina.

Os resultados obtidos se assemelham aos de BUESCHER & HOBSON (1982), observando que as substâncias pécticas servem como sítios ligantes para o cálcio, e que o complexo é resistente ao ataque pela PG. O cálcio é incorporado no complexo insolúvel resistindo assim à degradação.

SUWWAN & POOVAIAH (1978), estudando o conteúdo mineral de tomates concluíram que altos níveis de cálcio e a falta de atividade da PG., em tomates mutantes (rin) em estádios avançados de maturação, contribuem para fortalecer as paredes celulares quando comparados com tomates de amadurecimento normal, onde, durante a maturação o cálcio ligado é convertido em formas solúveis. Estes dados também foram observados neste trabalho (Figuras 3, 4 e 10, item 4.3. e 4.6.), e também por MINAMIDE et alii (1986).

Se o cálcio está diretamente envolvido no amaciamento de frutos é ainda matéria de debate, mas, através dos resultados obtidos observou-se que este mineral teve uma participação efetiva na manutenção da parede celular, mantendo os frutos mais firmes durante o amadurecimento.

Os teores de cálcio encontrados na planta foram considerados adequados para o tomateiro, pois situam-se acima dos valores encontrados por WARD (1973) e TAKAHASH (1989) que foram

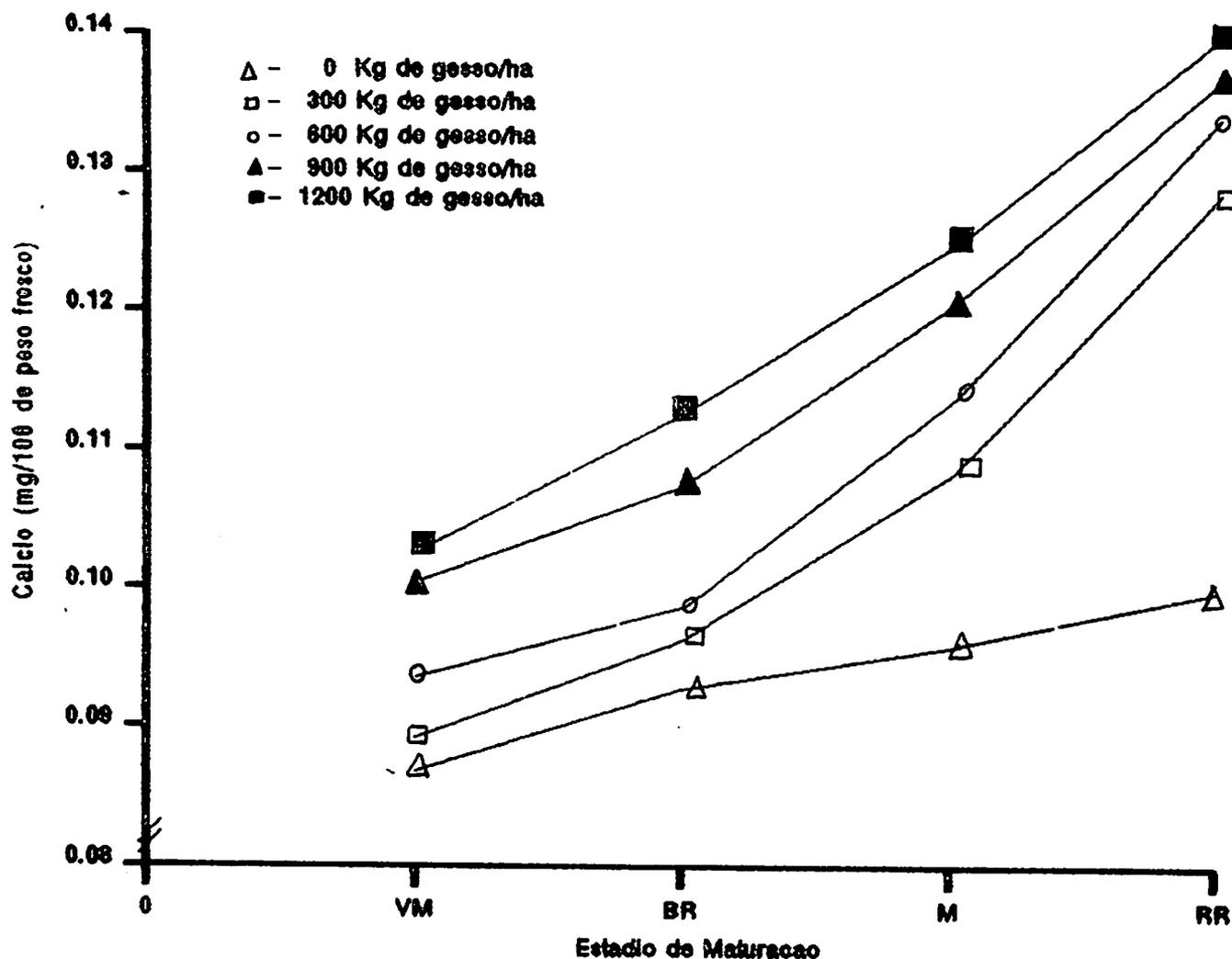


FIGURA 10 - Teores médios de cálcio nos frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM = verde maduro; BR = breaker; M = maduro e RR = vermelho maduro) e submetidos à 5 níveis de gesso no solo Kg/ha. ESAL/DCA, Lavras - MG, 1990.

TABELA 1 - Média de sólidos solúveis totais (SST); pectina total; atividade de PME e Celulose, de tomates cv "Santa Clara", desenvolvidos em solo com 5 níveis de gesso. ESAL/DCA, Lavras - MG, 1990.

Doses de gesso (Kg/ha)	SST (%)	Pectina total (mg de galacturônico/100g de peso fresco)	Atividade PME	Celulose (mg/100g peso seco)
0	4,206a	257,19b	16,40c	24,46a
300	3,987b	262,36ab	17,34bc	23,40b
600	3,902b	275,88ab	18,13bc	22,40c
900	3,831b	272,86ab	19,53b	21,32d
1200	4,156ab	277,19a	22,03a	20,72c

TABELA 2 - Média de sólidos solúveis; relação sólidos solúveis/acidez total titulável; acidez total titulável; pH; cálcio; pectina total; atividade PME e celulose de tomates cv "Santa Clara", em 4 estádios de maturação (VM = Verde maduro; Br - branca Kg; M - maduro; RR - vermelho maduro). ESAL/DCA - Lavras - MG, 1990.

Estádios de maturação	Verde maduro (VM)	Breaker (BR)	Maduro (M)	Vermelho maduro (RR)
Sólidos solúveis, totais %	3,35c	3,84b	4,06b	5,06a
SST/ATT	13,00c	13,95c	15,92b	20,01a
Acidez total titulável (% ácido cítrico)	0,260c	0,280a	0,270b	0,260c
pH	4,72b	4,69b	4,81a	4,71b
Cálcio (mg/100g)	0,094b	0,111b	0,112b	0,127a
Pectina total (mg de ác. galac./100g de peso fresco)	276,61b	299,78a	260,38b	238,34c
Pectinametilesterase (PME)	21,5b	24,75a	15,38c	13,12d
Celulose mg/100g peso seco	24,15b	25,49a	20,64c	19,56d

de 1,5 e 2,4%, respectivamente, com os quais, a produção de frutos ocorreu livre de podridão (blossom-end rot).

4.3. Solubilização de poliuronídeos da parede celular durante amadurecimento do fruto

A solubilização de pectina acompanhando o amadurecimento de frutos é atribuída a hidrólise das ligações glicosídicas presente na protopectina pela poligalacturonase, PRESSEY & AVANTS (1982).

A mudança mais visível que ocorre no amadurecimento de frutos relacionada à parede celular é o aumento na atividade PG., e a consequente solubilização dos poliuronídeos.

Observou-se marcada mudança na distribuição dos pesos moleculares dos poliuronídeos ocorridos durante o amadurecimento dos frutos submetidos aos tratamentos com gesso (Figuras 11 a 15).

As mudanças observadas neste trabalho através da cromatografia de filtração em gel foram primeiramente evidenciadas nos poliuronídeos isolados do tratamento testemunha. Os polímeros obtidos do estágio verde-maturo (VM), foram aparentemente de alto peso molecular e não fracionaram no Sephadex G-200, (limite de exclusão molecular 2.0×10^5). A partir do segundo estágio de maturação (BR) pôde ser observada uma mudança no perfil cromatográfico com o amadurecimento do fruto, a partir de 300Kg/ha de gesso. Esta mudança implicou em melhor manutenção da estrutura da parede celular devido à formação de pectatos insolúveis, e como consequência, uma menor

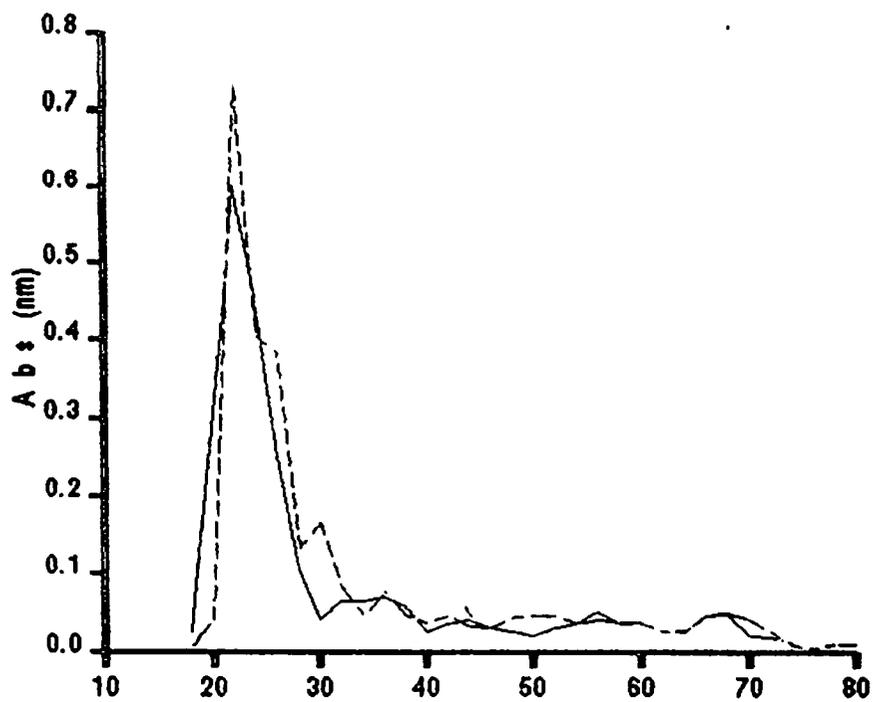


Figura 1a

Frações

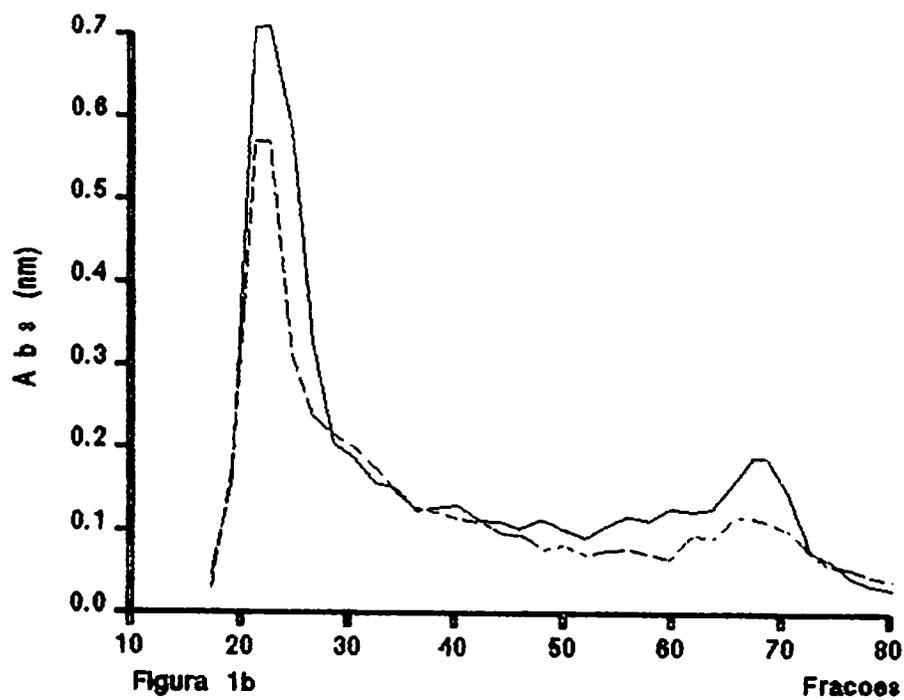


Figura 1b

Frações

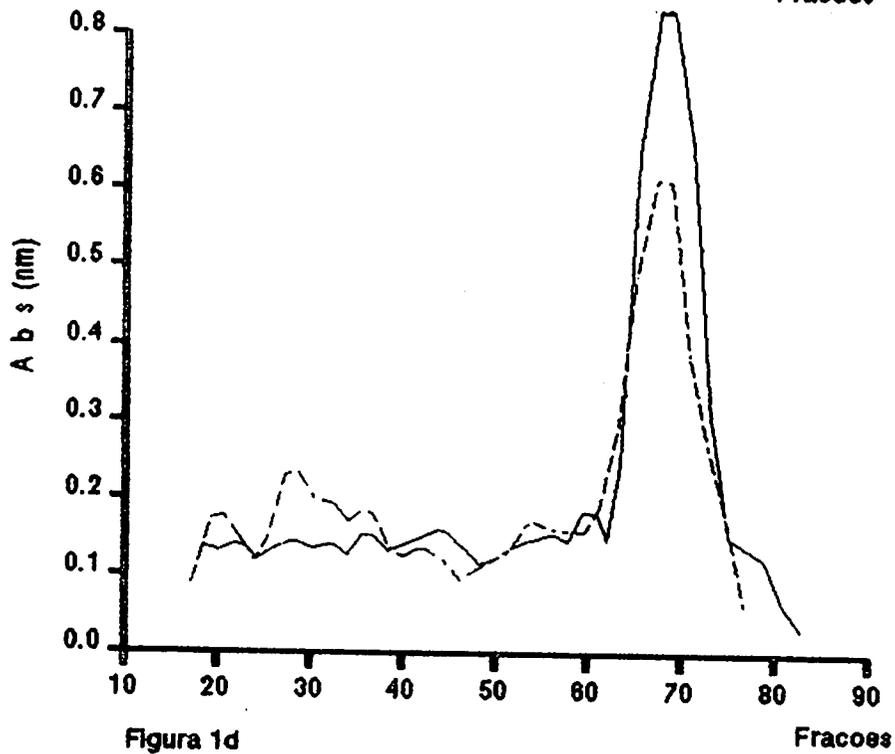
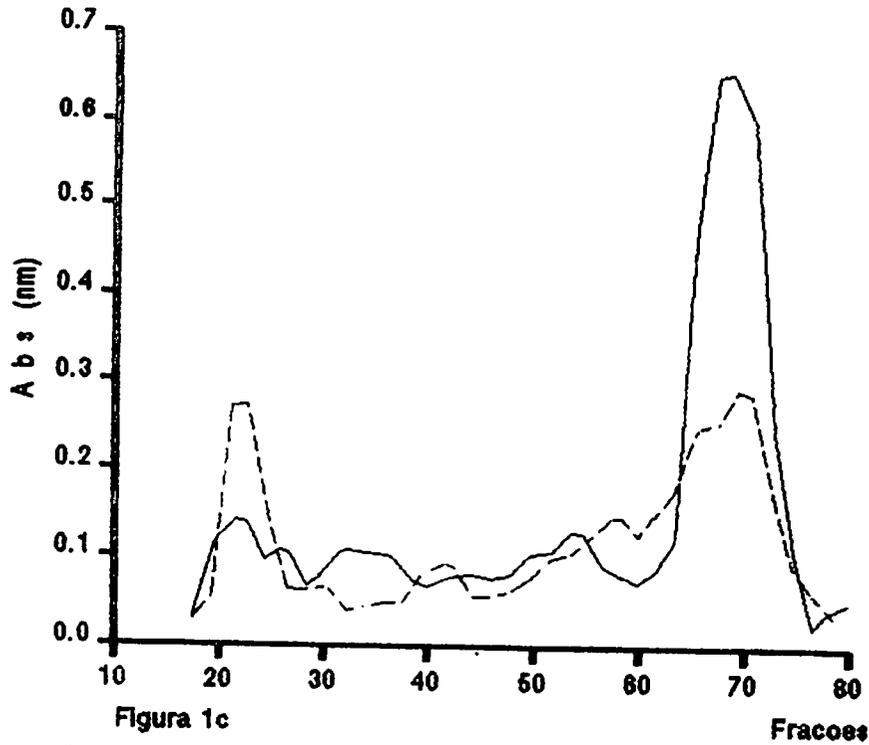
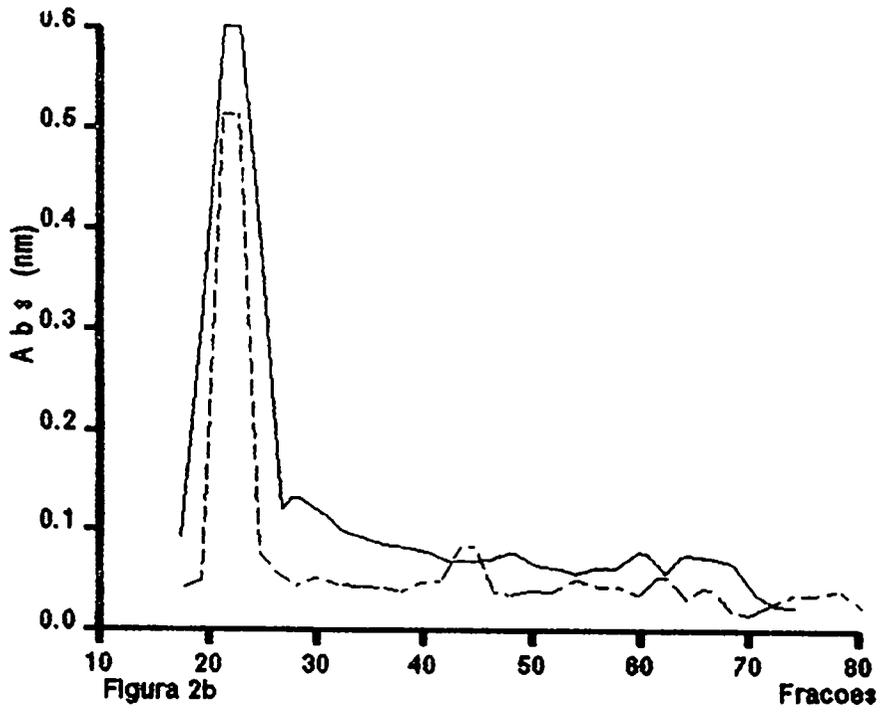
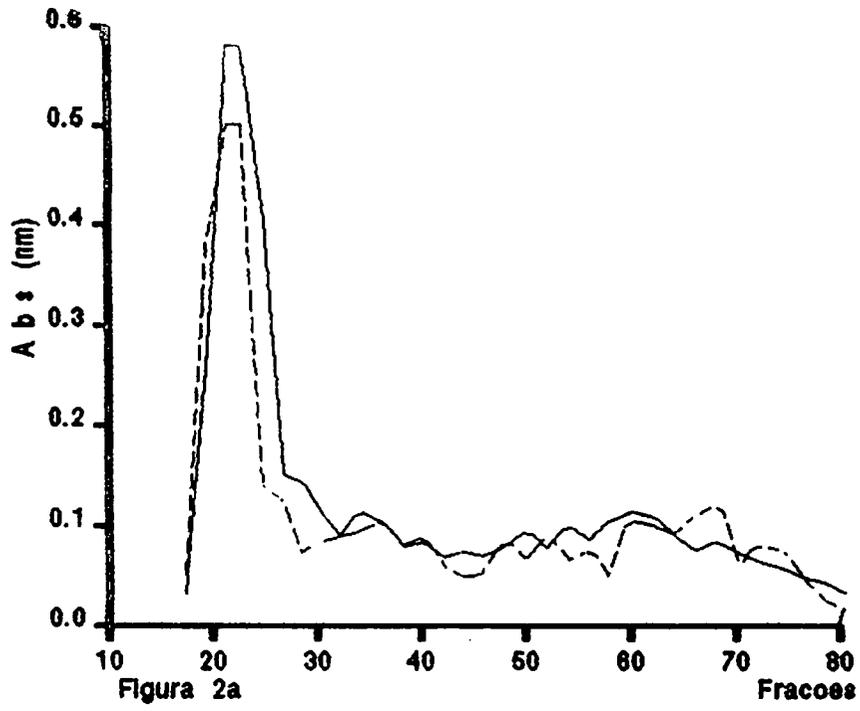


FIGURA 11 - Perfil de degradação de Poluronídeos da Parede Celular de frutos do tomateiro cv. Santa clara, obtidos através de Cromatografia de filtração em coluna de sephadex G-200 (72cm x 1,8cm) colhidos em 4 estádios de maturação: a - (VM) verde maduro; b - (BR) Breaker; c - (M) maduro; d - (RR) vermelho maduro. (—) ac. urônicos e (----) carboidratos totais. Tratamento: testemunha (0kg de gesso/ha). ESAL/DCA, Lavras - 1991.



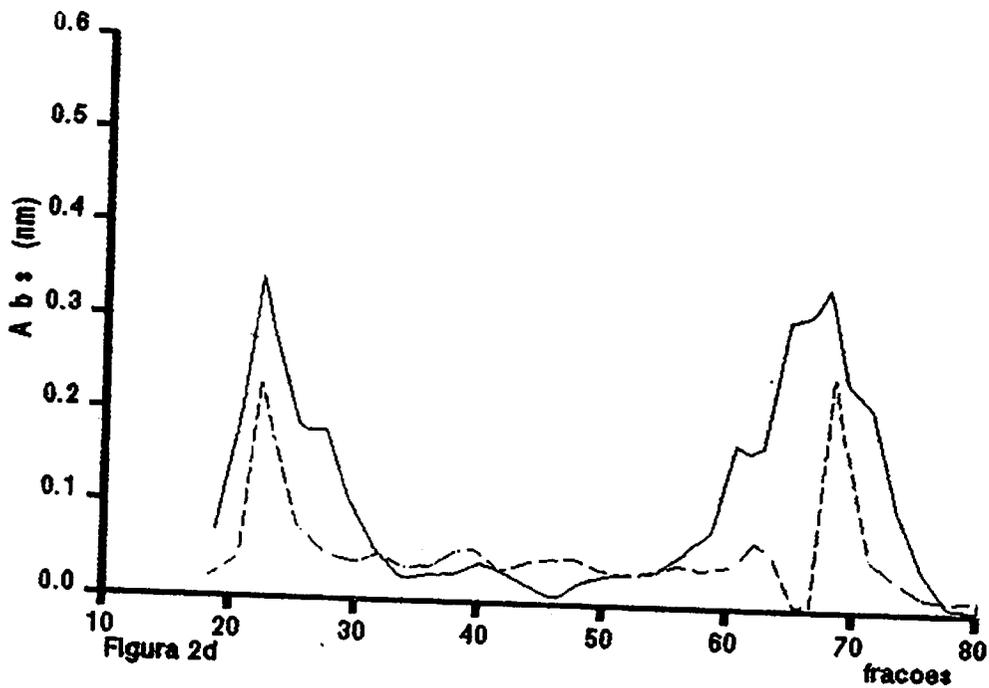
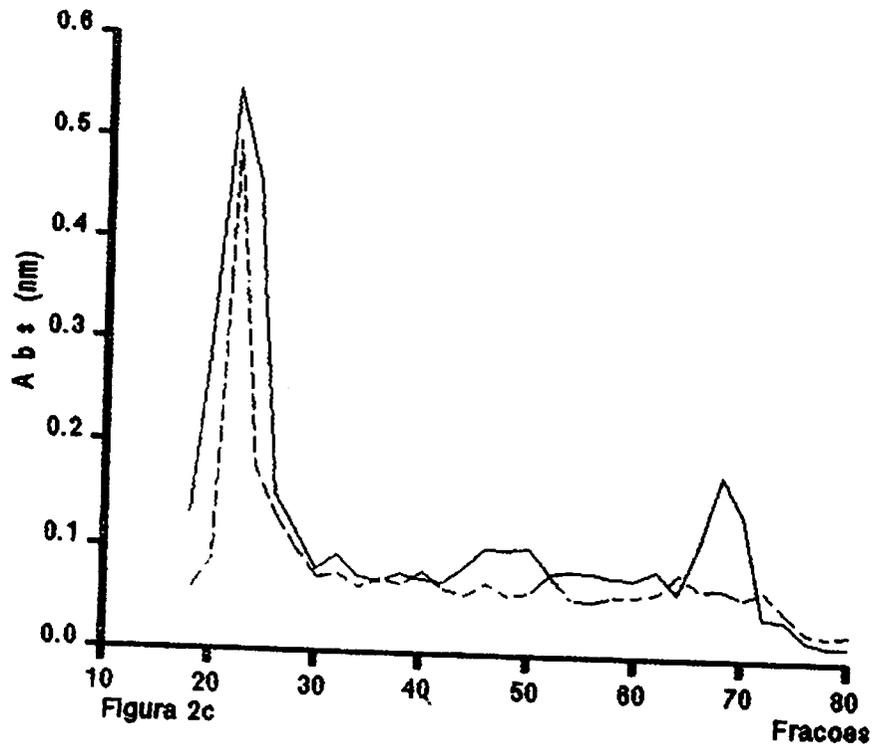
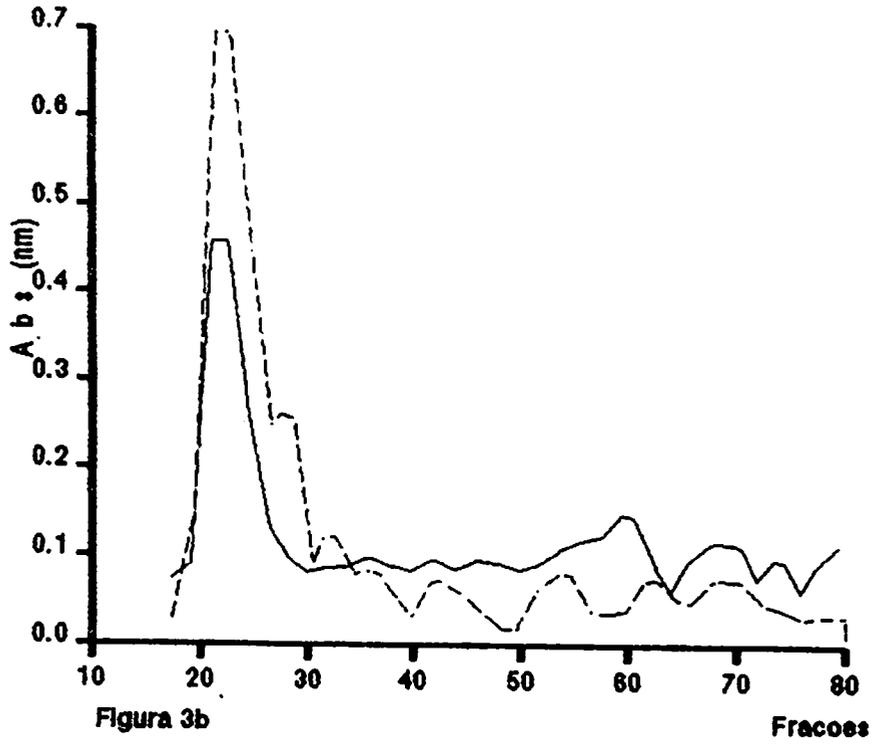
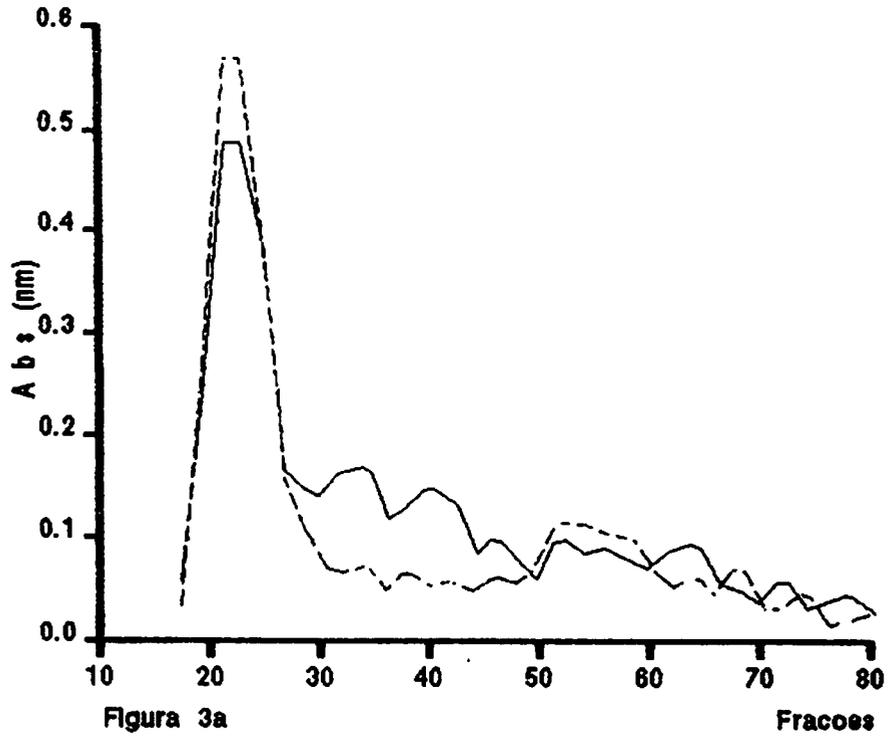


FIGURA 12 - Perfil de degradação de Poliuuronídeos da Parede Celular de frutos do tomateiro cv. Santa Clara, obtidos através de Cromatografia de filtração em coluna de sephadex G-200 (72cm x 1,8cm) colhidos em 4 estádios de maturação: a - (VM) verde maduro; b - (BR) Breaker; c - (M) maduro e d - (RR) vermelho maduro. (—) ac. urônicos e (----) carboidratos totais. Tratamentos: 300kg de gesso - ESAL/DCA, Lavras - 1991.



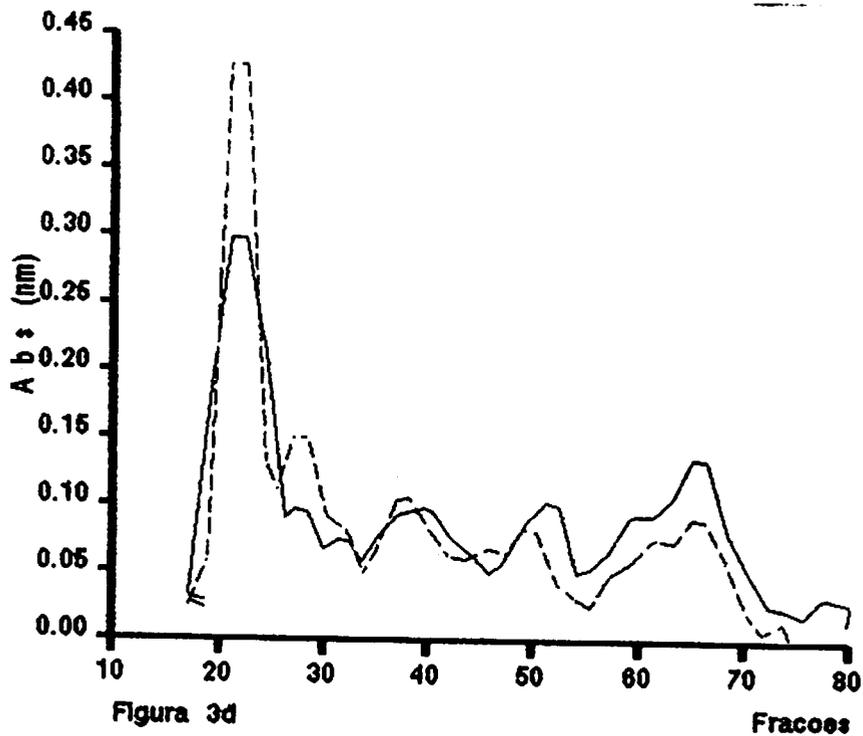
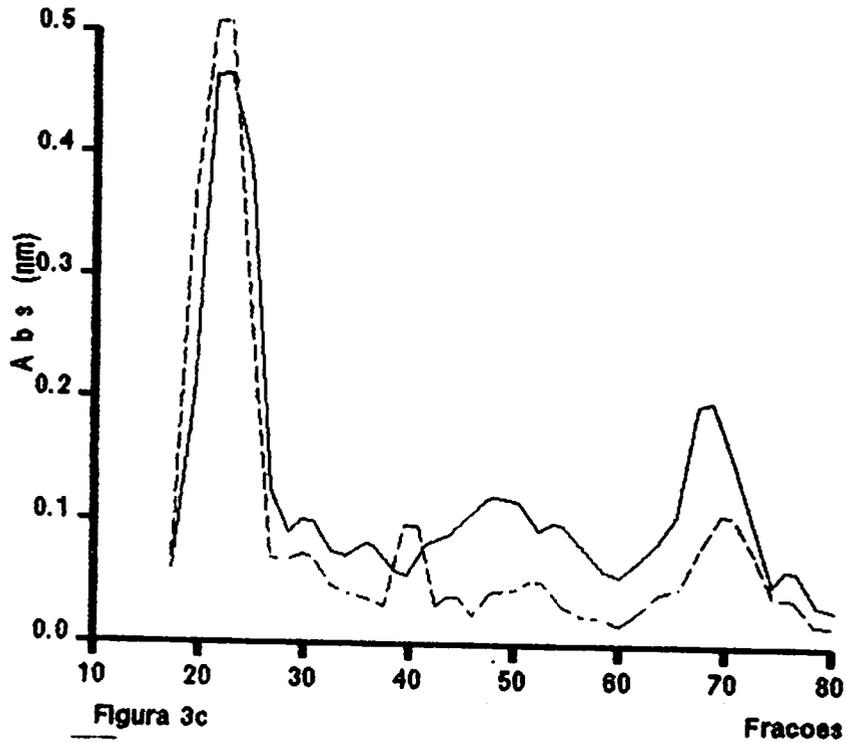
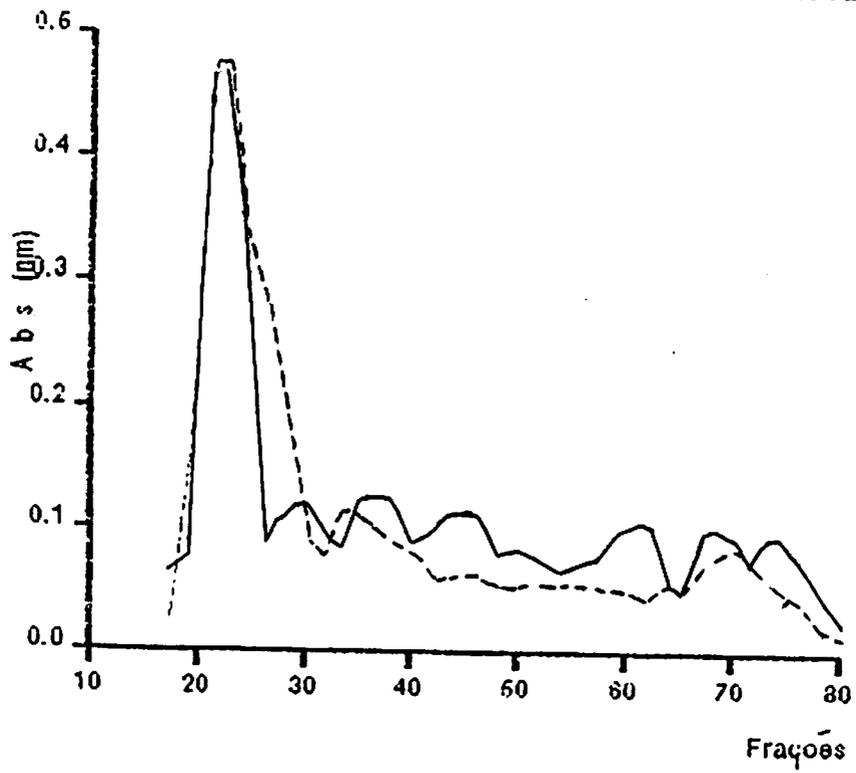
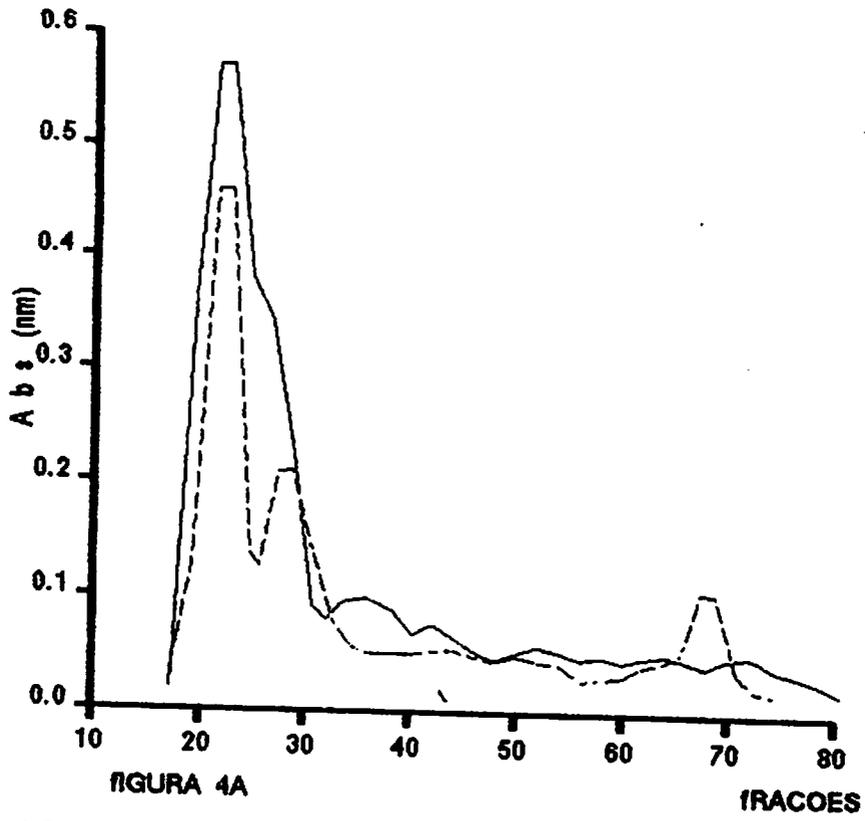


FIGURA 13 - Perfil de degradação de Poliuronídeos da Parede Celular de frutos do tomateiro cv. Santa Clara, obtidos através de Cromatografia de filtração em coluna de sephadex G-200 (72cm x 1,8cm) colhidos em 4 estádios de maturação: a - (VM) verde maturo; b - (BR) Breaker; c - (M) maduro e d - (RR) vermelho maduro. (—) ac. urônicos e (----) carboidratos totais. Tratamentos: 600kg de gesso - ESAL/DCA, Lavras - 1991.



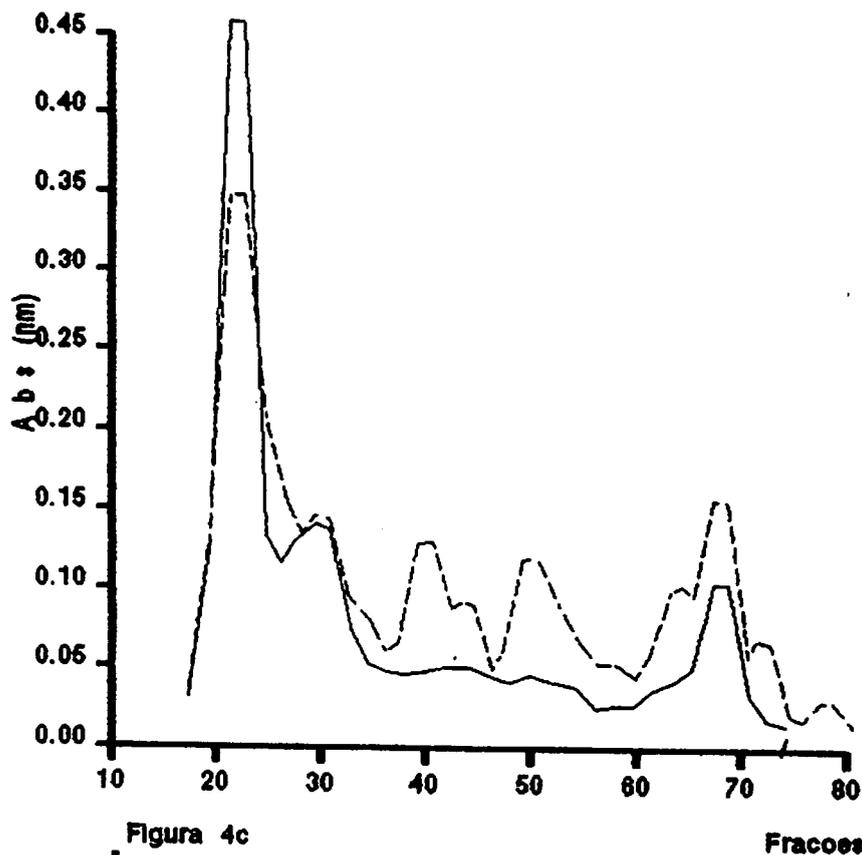


Figura 4c

Fracoes

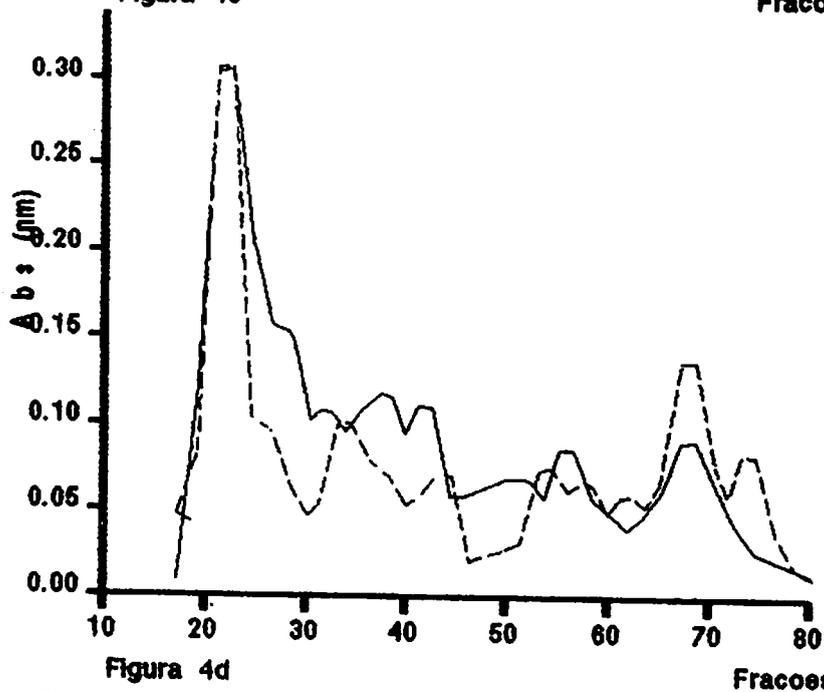
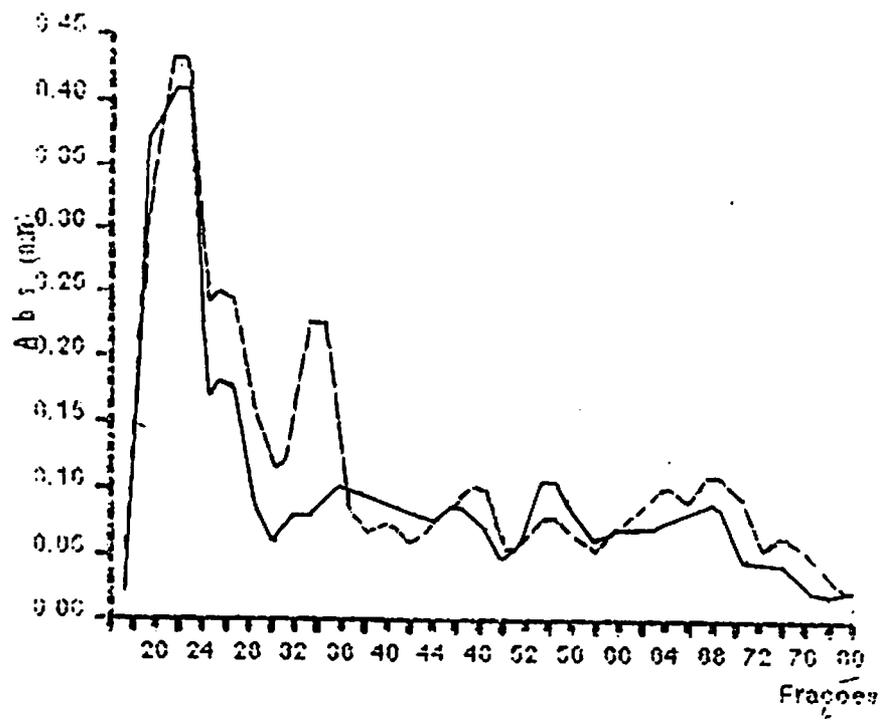
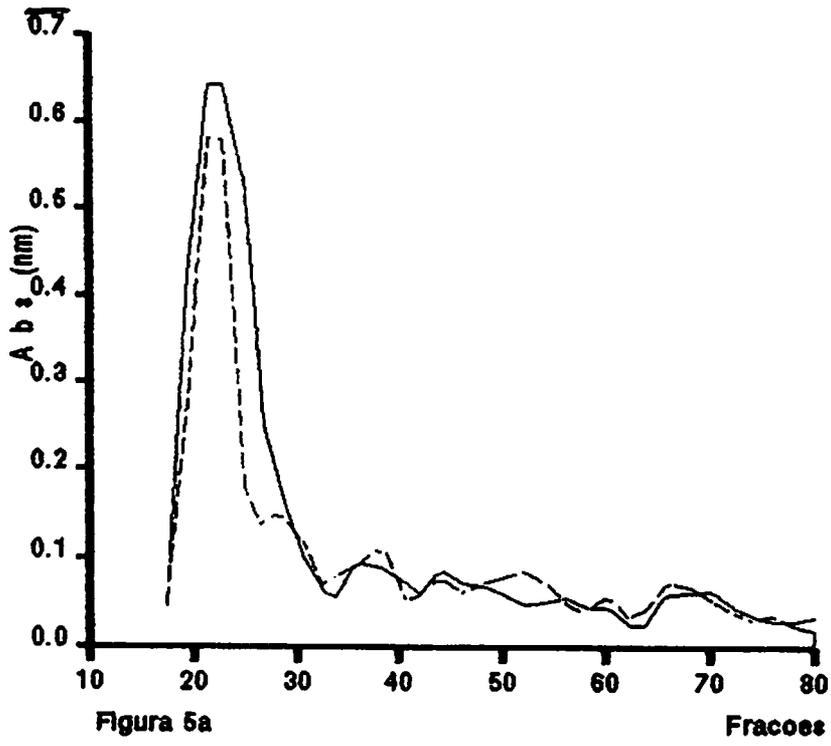


Figura 4d

Fracoes

FIGURA 14 - Perfil de degradação de Poluronídeos da Parede Celular de frutos do tomateiro cv. Santa clara obtidos através de Cromatografia de filtração em coluna de sephadex G-200 (72cm x 1,8cm) colhidos em 4 estádios de maturação: a - (VM) verde maturo; b - (BR) Breaker; c - (M) maduro e d - (RR) vermelho maduro. (—) ac. urônicos e (----) carboidratos totais. Tratamentos: 900kg de gesso - ESAL/DCA, Lavras - 1991.



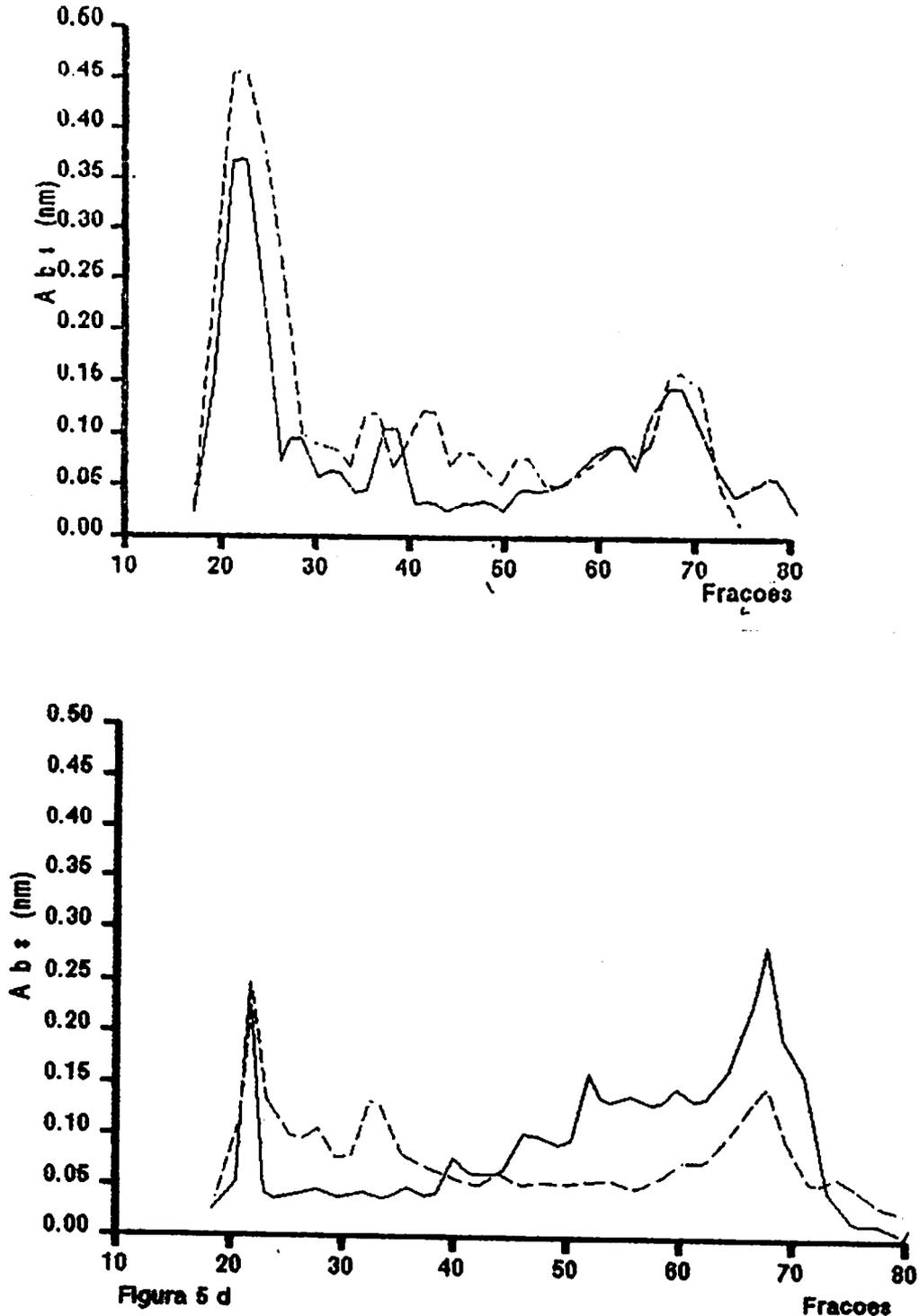


FIGURA 15 - Perfil de degradação de Poliuronídeos da Parede Celular de frutos do tomateiro cv. Santa Clara obtidos através de Cromatografia de filtração em coluna de sephadex G-200 (72cm x 1,8cm) colhidos em 4 estádios de maturação: a - (VM) verde maturo; b - (BR) Breaker; c - (M) maduro e d - (RR) vermelho maduro. (—) ac. urônicos e (----) carboidratos totais. Tratamentos: 1200kg de gesso - ESAL/DCA, Lavras - 1991.

atividade das poligalacturonase no rompimento das ligações alfa 1-4 da cadeia do polímero.

Os resultados obtidos para o grupo testemunha são concordantes aos de HUBER (1983); SEYMOUR & HARDLING (1987); PRESSEY & AVANTS (1982), e mostram, para os outros grupos, a influência da aplicação dos diferentes níveis de gesso (cálcio), via solo, na manutenção da estrutura da parede celular.

4.4. Substâncias pécticas

No presente trabalho observou-se uma diminuição de pectina total dos frutos em todos os tratamentos. A dose 1200Kg de gesso aplicada ao solo correspondeu ao maior nível de pectina total nos frutos, sendo que as doses 300; 600 e 900Kg de gesso apresentaram resultados semelhantes. A dose controle 0 (zero) Kg de gesso/ha, proporcionou frutos com a menor concentração de pectina total (Tabela 1), os teores de pectina total observados, encontram-se dentro dos valores citados por CHITARRA & CHITARRA (1976), para tomates maduros (entre 180,60 e 300,14mg de ácido galacturônico/100g de fruto fresco). Os resultados obtidos, no entanto, diferem dos de DALAL et alii (1965) em que os teores de pectina total decresceram desde a colheita em todos os estádios de maturação. Esses autores não utilizaram o gesso. Dessa forma, pode-se ressaltar o efeito dos tratamentos com cálcio via solo, para a manutenção do teor de pectina total dos frutos.

O estágio "Breaker" (BR) foi o estágio de maturação que apresentou o maior nível de pectina total, independente da concentração de gesso. Isto foi coincidente com uma maior

atividade enzimática de PME e a partir daí, um aumento de atividade PG.

Através dos resultados apresentados pela ANAVA, observou-se uma interação entre doses de gesso aplicadas ao solo e estágio de maturação dos frutos.

A interação no 1^o, 2^o e 3^o estádios de maturação (VM, BR e M) para a variação de pectina solúvel segue uma equação de 1^o grau, isto é, ao aumentar-se as doses de gesso, o nível de pectina solúvel decresce. Já no 4^o estágio de maturação (RR) a variação de pectina solúvel segue uma equação do 2^o grau, onde o teor decresce até a dose de 1200Kg de gesso/ha (Quadro 2 anexo), (Figura 16). Esta variação pode ser explicada considerando-se a relação inversa entre solubilidade do sulfato de cálcio e a atividade do próprio cálcio no solo (HIRA & SINGH, 1980).

Inúmeros autores têm observado, em vários frutos, este aumento da fração de pectina solúvel durante o amadurecimento, e o tem atribuído a hidrólise da pectina insolúvel (protopectina) pelas pectinases, HOBSON (1965), PRESSEY et alii (1971), GROSS & WALLNER (1979). Acredita-se que a hidrólise das substâncias pécnicas enfraqueça a complexa rede de polissacarídeos da parede celular, causando desse modo, a perda de conexão entre células e levando a uma perda de firmeza do fruto. Esta perda de firmeza, se dá pelo aumento da pectina solúvel, em função da solubilização da protopectina, devido a ação hidrolítica das enzimas pectolíticas.

Os percentuais de pectina solúvel em relação à pectina total, aumentaram durante a maturação dos frutos em todos os tratamentos, inversamente aos níveis de gesso aplicados no solo,

sendo que a partir do 3^o estágio de maturação (M) estes percentuais apresentaram um leve aumento, possivelmente como consequência da maior atividade metabólica (senescência) comprovando-se mais uma vez, a eficiência dos tratamentos na manutenção da firmeza dos frutos. Esses resultados são também concordantes com os obtidos por MALIS-ARAD et alii (1986), quando trabalharam com tomates mutantes (rin), encontrando um aumento de pectina solúvel durante os diferentes estádios de maturação.

As mudanças nas diferentes frações pécticas (total e solúvel) durante o amadurecimento são mostradas nas Figuras 17 e 18.

4.5. Pectinametilesterase (PME)

Pelos testes estatísticos observou-se atividade mais elevada de PME, nos frutos desenvolvidos com o maior nível de gesso no solo (1200Kg/ha). Analisando apenas os estádios de maturação, o 2^o estágio (BR), foi aquele que apresentou maior atividade de PME e com o avanço da maturação do fruto observou-se uma queda nesta atividade (Figura 19).

A maior atividade PME no 2^o estágio de maturação (BR), foi coincidente com a elevação da atividade da PG, onde pode-se observar os primeiros sinais de mudança de cor dos frutos.

A função da PME no processo de amaciamento de frutos é desmetilar o C₆ de cada subunidade de protpectina, possibilitando a atividade da PG, CHEFTEL & CHEFTELL (1976).

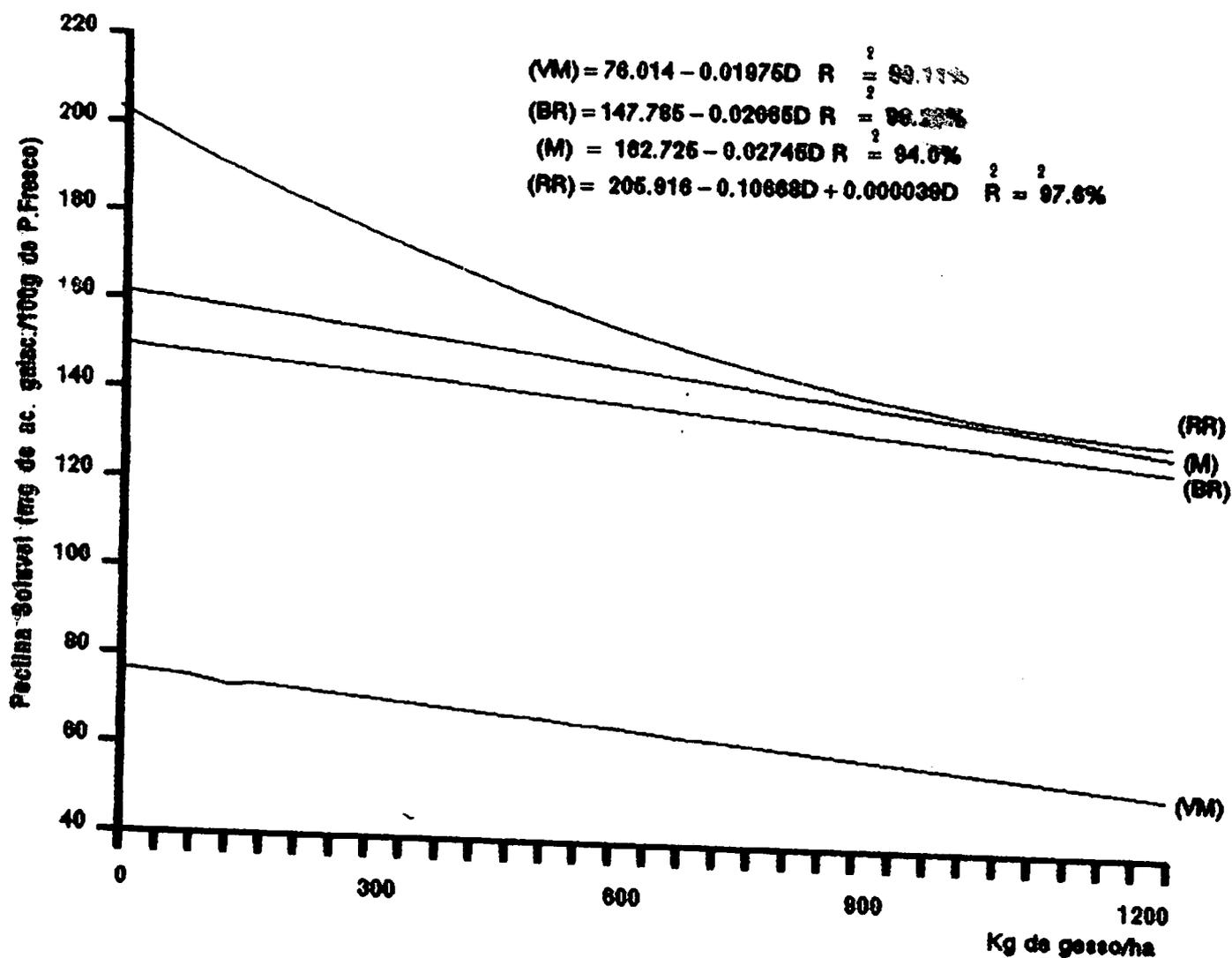


FIGURA 16 - Equações e Curvas de regressão para pectina solúvel de frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM = verde maduro; BR = breaker; M = maduro e RR = vermelho maduro), e submetidos à 5 níveis de gesso no solo Kg/ha. ESAL/DCA, Lavras, MG - 1990.

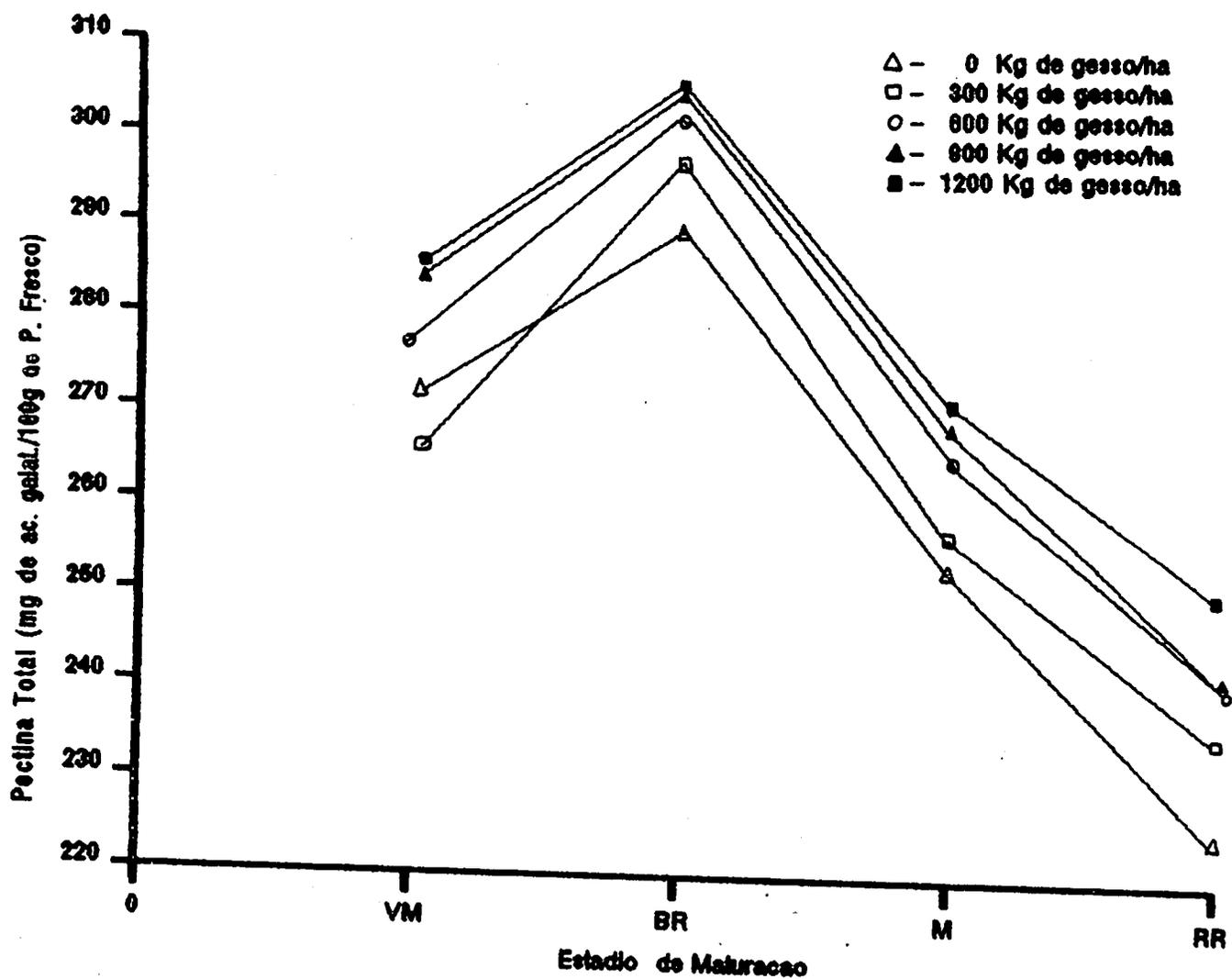


FIGURA 17 - Valores médios de pectina total de frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM = verde maturo; BR = breaker; M = maduro e RR = vermelho maduro) e submetidos à 5 níveis de gesso no solo Kg/ha. ESAL/DCA, Lavras - MG, 1990.

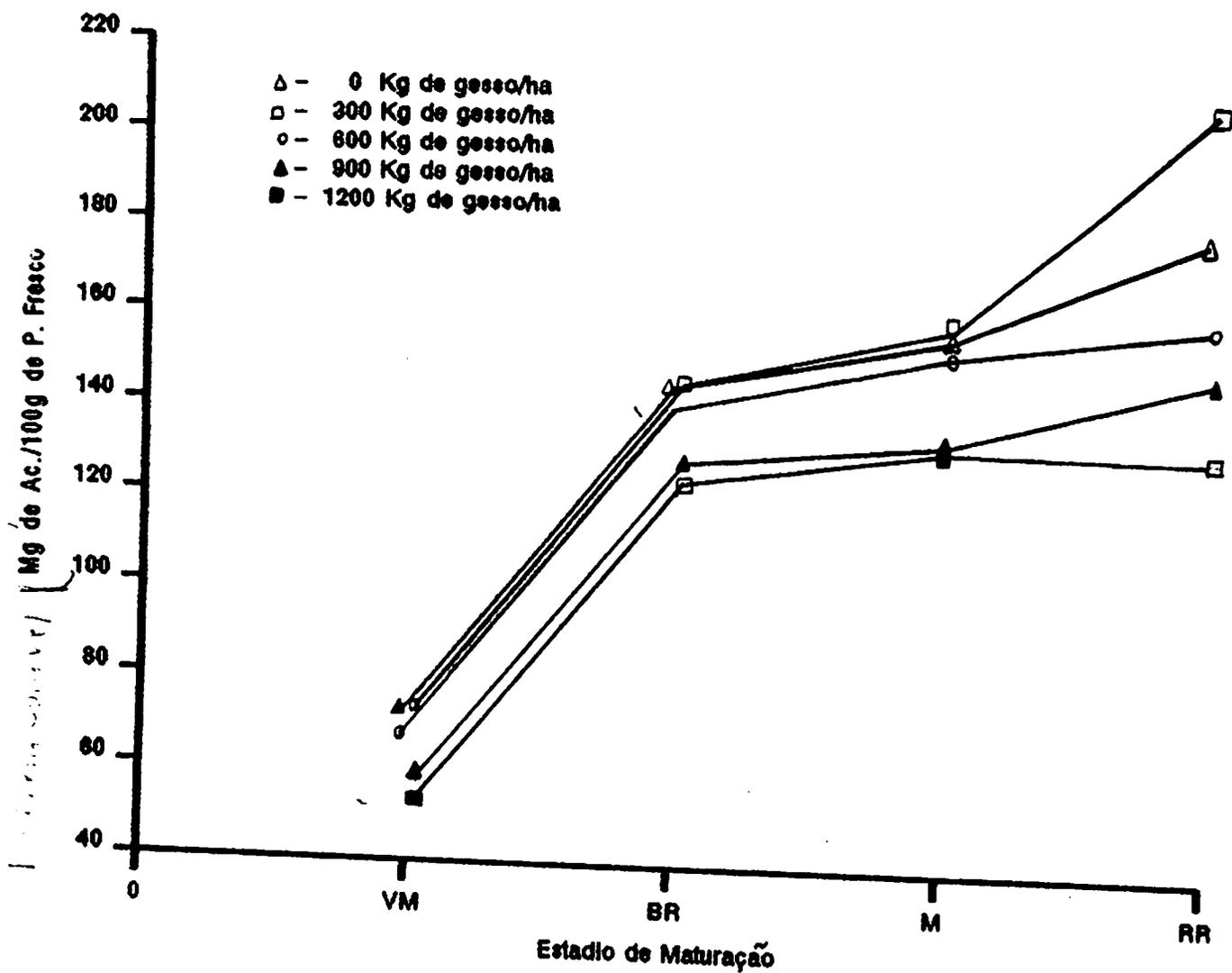


FIGURA 18 - Valores médios de pectina solúvel de frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM = verde maturo; BR = breaker; M = maduro e RR = vermelho maduro), e submetidos à 5 níveis de gesso no solo Kg/ha. ESAL/DCA, Lavras - MG, 1990.

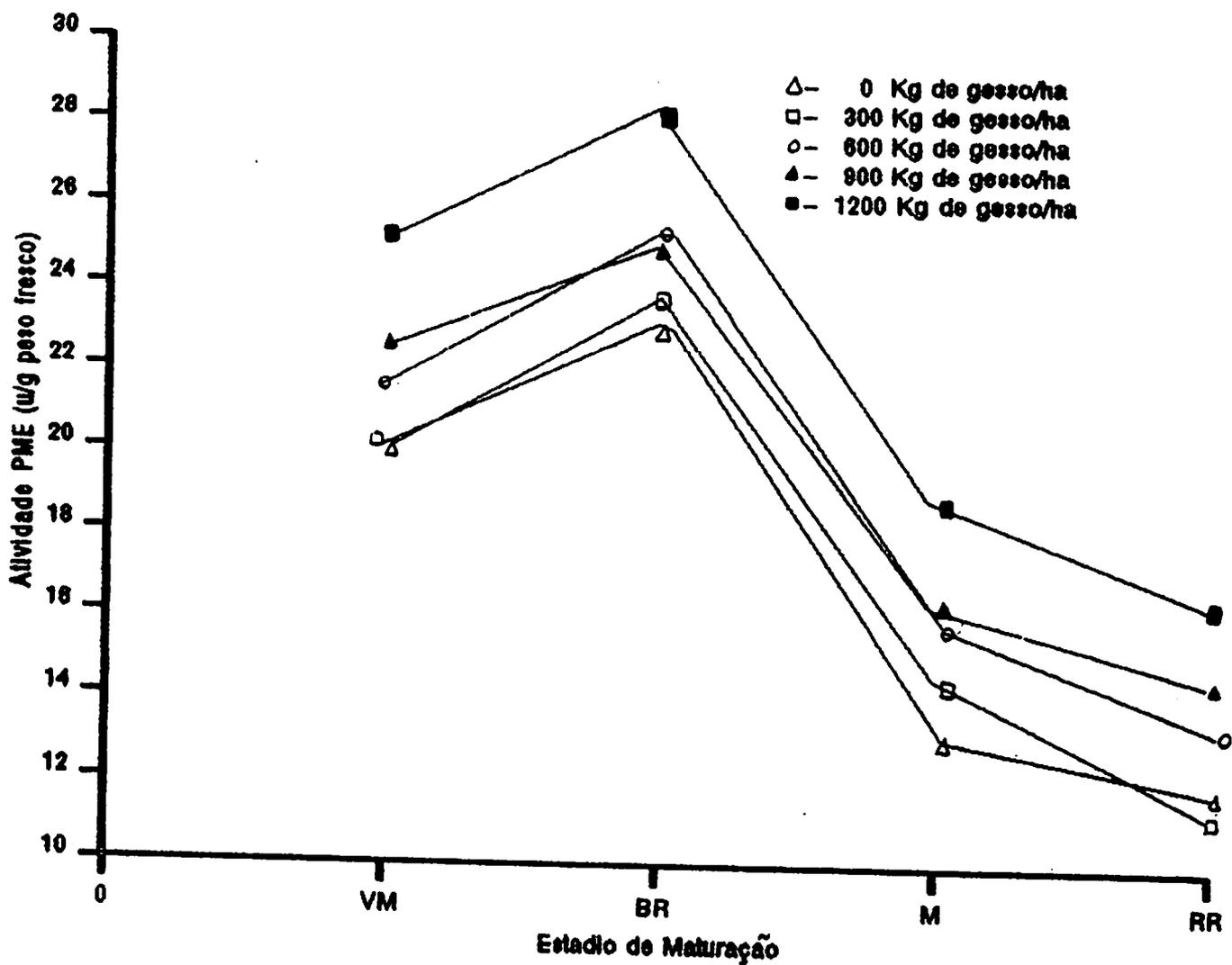


FIGURA 19 - Valores médios de atividade de pectinamylesterase (PME) de frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM = verde maturo; BR = breaker; M = maduro e RR = vermelho maduro) e submetidos à 5 níveis de gesso do solo Kg/ha. ESAL/DCA, Lavras - MG, 1990.

Em estudos "in vitro" dos efeitos do cálcio sobre as enzimas pécticas de tomate, foi observado que a PME apresentou sua atividade máxima na presença de cálcio, mas a atividade PG foi inibida por concentrações maiores que $10^{-7}M$ de cálcio, WILLS & RIGNEY (1979). Um aumento na concentração de cálcio na parede celular do fruto aumenta a atividade de PME, no fruto verde, visto que uma das ações da PME é a transformação das substâncias pécticas da parede celular para uma forma em que a PG passa atuar sobre o substrato, RIGNEY & WILLS (1981).

4.6. Poligalacturonase (PG)

O amadurecimento de frutos resulta de uma série de mudanças coordenadas bioquimicamente, as quais afetam sua cor, textura e "flavor". Estas mudanças estão associadas com alterações na atividade de grande número de enzimas.

A atividade de PG, aumentou a partir do 2^o estágio de maturação (BR). Segundo HOBSON (1965), esta atividade inicia-se com a elevação climatérica (Figura 20).

Através da análise estatística pôde-se observar que a atividade de PG nos estádios de maturação (BR; M; RR) variou segundo uma função linear, observando-se portanto correlação inversa entre os níveis de gesso no solo e atividade de PG (Figura 21, Quadro 3 anexo).

Os resultados obtidos estão em concordância com os encontrados por PRESSEY & AVANTS (1982); TUCKER & GRIERSON (1982).

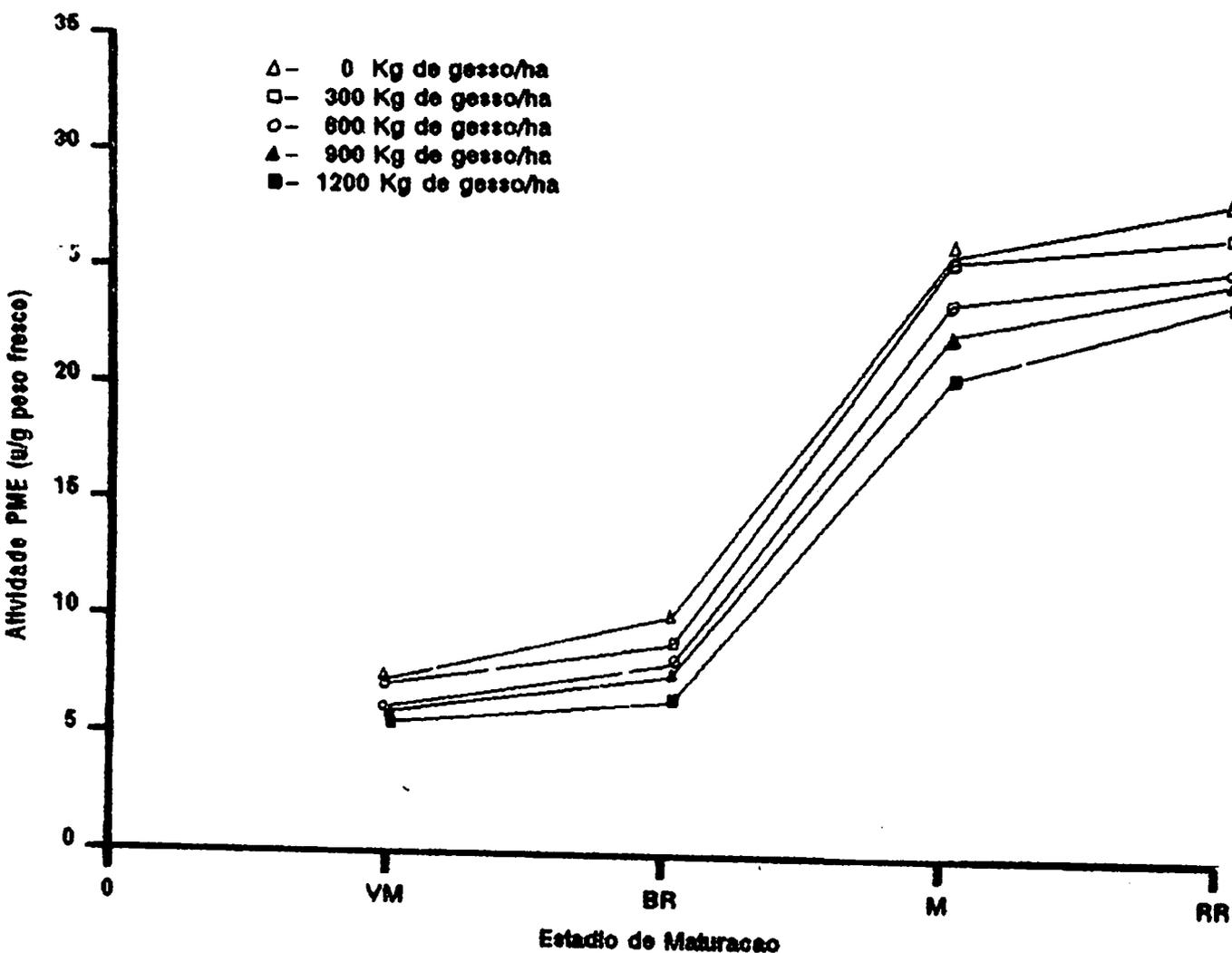


FIGURA 20 - Valores médios de atividade de poligalacturonase (PG) de frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM = verde maturo; BR = breaker; M = maduro e RR = vermelho maduro) e submetidos à 5 níveis de gesso no solo Kg/ha. ESAL/DCA, Lavras, MG - 1990.

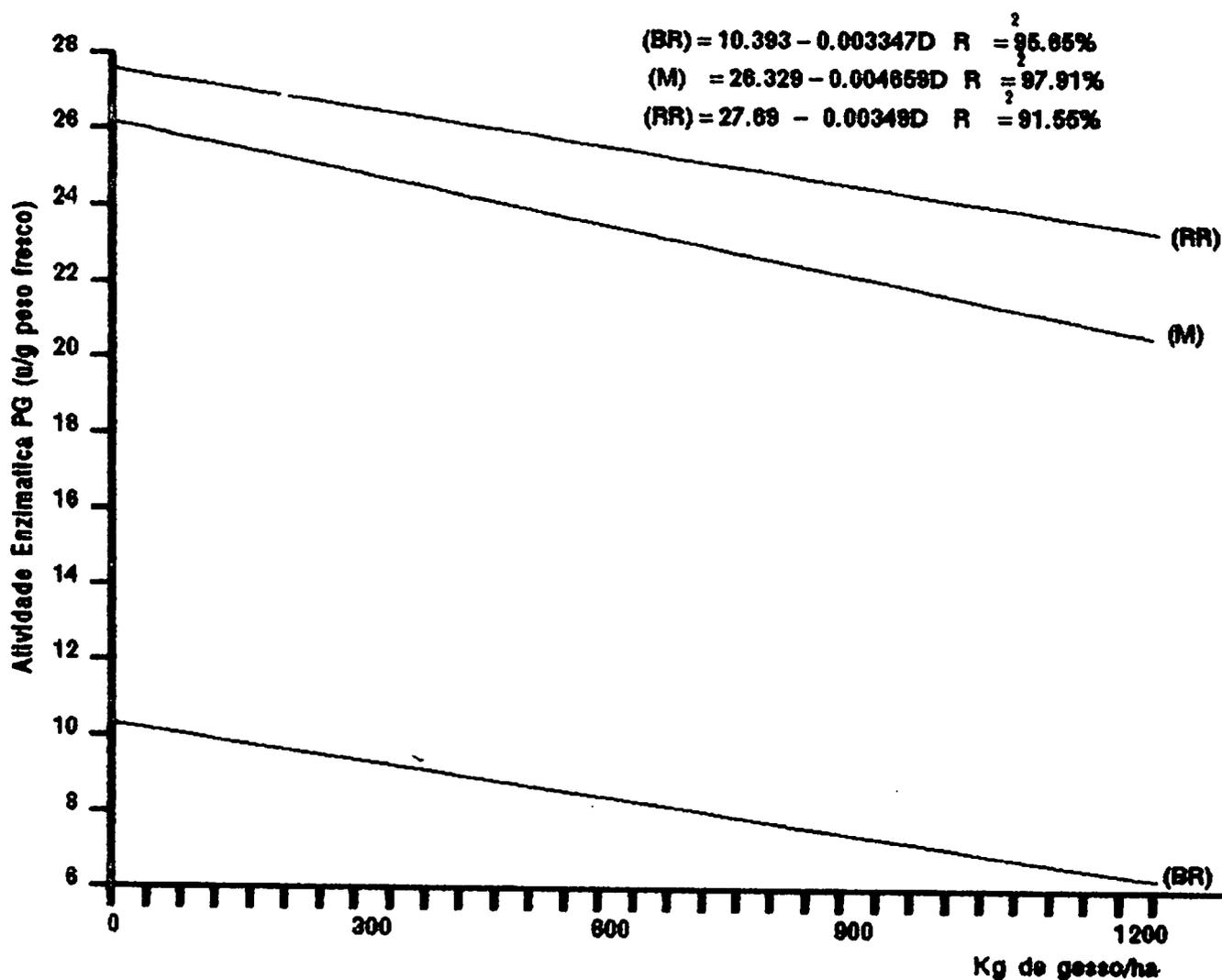


FIGURA 21 - Equações e curvas de regressão para atividade poligalacturonase de frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM = verde maduro; BR = breaker; M = maduro e RR = vermelho maduro), e submetidos à 5 níveis de gesso no solo Kg/ha. ESAL/DCA, Lavras - MG, 1990.

BUESCHER & HOBSON (1982), trabalhando com preparações de pericarpo de tomates concluíram que a ação da PG. sobre o poligalacturonato em preparações da lamela média celular e tecidos do pericarpo foi efetivamente inibida por ions Ca^{+2} .

A ausência de atividade da PG em frutos imaturos; seu aparecimento próximo do início do amadurecimento, e o aumento em sua atividade concomitante com a formação de pectina solúvel, sugerem que a mesma esteja implicada na solubilização da pectina.

Os resultados do presente experimento e os de outros autores (Weintraub & Ragatli, 1961); Baterman & Millar (1966); Wills & Rgney (1979) citados por BUESCHER & HOBSON (1982), são concordantes com o fato dos poliurômídeos da parede celular formarem sítios ligantes com o cálcio, e que o complexo resultante é resistente ao ataque pela PG.

4.7. Celulose

A principal característica das paredes celulares de todas as células é a rede de agregados organizados de moléculas de celulose, referidas como microfibrilas, embebidas em uma matriz de polissacarídeos não celulósicos e lignina, ESKIN (1979).

Observou-se através dos resultados obtidos, um aumento no teor de celulose a partir do 1^o estágio (VM) até o 2^o estágio (BR) de maturação coincidindo com o início de mudança de cor dos frutos (Tabela 2). A partir daí ocorreu uma queda no conteúdo de celulose com o avanço da maturação e de maneira inversa aos

tratamentos com o cálcio (Figura 22, Tabela 1). Deve-se ressaltar que os tratamentos via solo diferirem dos estudos dos autores citados.

JERMYN & ISHERWOOD (1956), encontraram também um decréscimo de celulose no amadurecimento de peras, e concluíram que a degradação de celulose é de limitada importância e não contribue grandemente para um dramático amaciamento destes frutos. Já em tomates, a celulose durante o amadurecimento apresenta um comportamento semelhante ao das peras.

DICKINSON & McCOLLUM (1964), observaram que durante o amadurecimento de tomates várias enzimas degradantes de polissacarídeos aumentavam de atividade incluindo as celulases, atuando sobre a celulose.

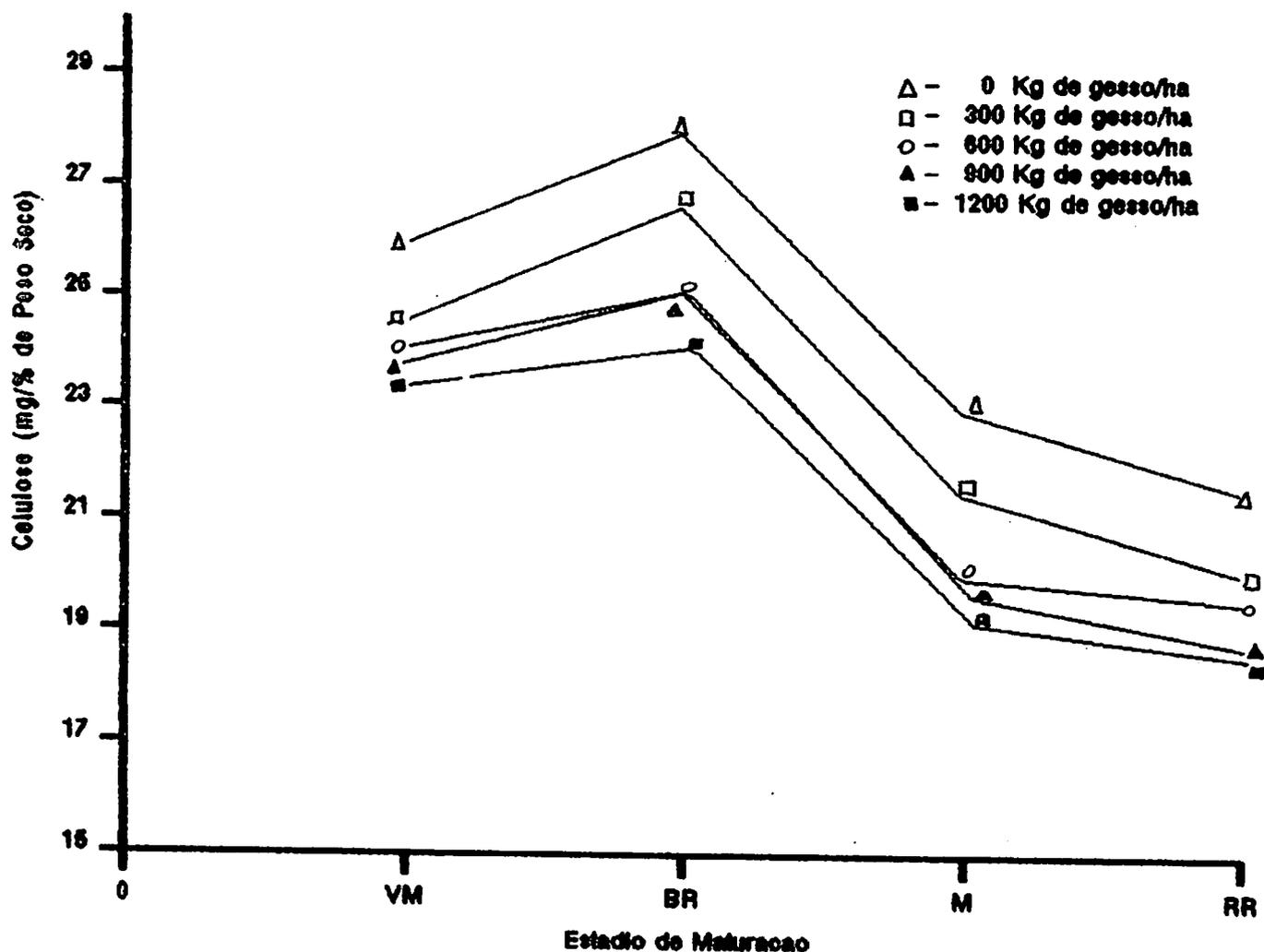


FIGURA 22 - Valores médios de celulose de frutos do tomateiro cv "Santa Clara", colhidos em 4 estádios de maturação, (VM = verde maturo; BR = breaker; M = maduro e RR = vermelho maduro) e submetidos à 5 níveis de gesso no solo (Kg/ha). ESAL/DCA, Lavras - MG, 1990.

5. CONCLUSÕES

A utilização dos tratamentos com aplicação de diferentes níveis de gesso ao solo, visando o aumento da vida pós-colheita de tomates, permitiu concluir que:

1 - Os tratamentos com gesso não tiveram nenhum efeito sobre os teores de sólidos solúveis totais, pH, acidez total titulável e cor dos frutos, sendo que os frutos de todos os tratamentos atingiram a coloração normal da cultivar.

2 - Os tomates da cv "Santa Clara", desenvolvidos em solo submetido a tratamentos com gesso, apresentaram-se mais firmes do que o tratamento controle, durante o período de 24 dias à $20^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.

3 - A eficácia dos tratamentos com Ca^{+2} foi essencial na redução da hidrólise de pectinas e na redução da atividade da poligalacturonase, na manutenção da firmeza dos frutos, durante o amadurecimento do fruto.

4 - Os tratamentos com Ca^{+2} sugerem uma participação marcante na formação de pectato de cálcio, insolúvel, mantendo a compartimentalização da estrutura da parede celular.

5 - Os tratamentos com Ca^{+2} , tiveram uma participação efetiva na prevenção de "blossom-end-rot", durante o experimento.

6 - Os perfis cromatográficos obtidos pela cromatografia de filtração gel demonstraram que o Ca^{+2} apresentou eficácia na formação de pectatos, impedindo atividade da poligalacturonase, na hidrólise das ligações glicosídicas alfa - 1,4.

3. SUGESTÕES

Considerando os resultados obtidos, sugere-se que estudos sejam feitos também a nível de parede celular com solução hidropônica, ou em vaso, para melhor conhecimento dos níveis de absorção de Ca^{+2} , degradação de poliuronídeos, degradação de celulose e atividade de hidrolases de parede celular, com a finalidade de esclarecer a concentração de cálcio que chega aos frutos.

Finalmente, sugere-se o acompanhamento do experimento com uma análise sensorial nos parâmetros de textura, cor e sabor, visando uma melhor caracterização dos atributos que dizem respeito aos consumidores.

7. RESUMO

Frutos da cultivar "Santa Clara" foram colhidos em 4 estádios de maturação, verde maturò (VM), Breaker (BR), Maduro (M) e Vermelho Maduro (RR), procedentes da horta experimental da ESAL, Lavras - MG. Estas plantas foram submetidas à 5 tratamentos do solo com gesso, 0 (zero), controle; 300; 600; 900; 1200 Kg/ha, aplicado junto a linha de plantio. Objetivou-se verificar o comportamento e modificações das substâncias pécticas da parede celular e sua relação com as enzimas pécticas (poligalacturonase, pectinametilesterase) no amadurecimento do fruto. Foram avaliados, desenvolvimento de cor, textura, acidez total titulável, pH, sólidos solúveis totais, cálcio, solubilização de poliuronídeos da parede celular, pectina, atividades de poligalacturonase, pectinametilesterase e celulose.

Os tratamentos com gesso retardaram o desenvolvimento de cor, melhoraram a conservação da pectina total, auxiliaram na manutenção da estrutura da parede celular, mantendo o fruto mais firme, em relação ao controle.

7. SUMMARY

"Santa clara" tomato cultivars were harvested at four ripen stages, matured-green (VM), breaker (BR), ripen (M), and red ripen (RR) from the horticultural experiment station of E.S.A.L., (Agricultural College of Lavras), MG. These plants were submitted to five soil liming with gypsum, 0; 300; 600; 900 and 1200 kg/ha, applied in the plant row. The objective of this study was to verify the pectic substance alterations of cell wall and its relationship with pectic enzymes (polygalacturonase, pectinamethylesterase) in the fruit ripening. It were evaluated fruit color development, texture, total acidity, pH, total soluble solids, calcium, polyuronides solubility, polygalacturonase and pectinmethylesterase activities and cellulose content. Gypsum treatment delayed the color development, improved pectin total storage, helped the cell wall structure maintenance, and kept the fruit in place in relation to control.

3. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

01. AHMED, A.E. & LABAVITCH, J.M. Cell Wall metabolism in ripening fruit. I Cell Wall changes in ripening "Bartlett" pears. *Plant Physiology*, California, 65(5): 100g 13, May 1980.
02. ----- & ----- . A simplified method for accurate determination of cell wall uronide content. *Journal of Food Biochemistry*, westport, 1:361-5, Jan. 1977.
03. ALBERSHEIM, P. The walls of growing plant cells. *Scientific American*, New York 232(4):80-95. 1975.
04. AL-SHAIBANI, ALI; M.H. & GREIG, J.K. Effects of stage of maturity, storage, and cultivar on some quality attributes of tomatoes. *Journal of the America Society for Horticultural Science*, Alexandria, 104(6):800-2, Nov. 1979.
05. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry*. 11.ed. Washington, 1970. 1015p.

06. BANGERT, F.; DIRLEY, D.R. & DEWEY, D.H. Effect of postharvest calcium treatments on international breakdown and respiration of apple fruits. *Journal American for Horticultural Science*, Mount, 97:679-682. Nov. 1972.
07. BATERMAN, D.F. & LUMSDEN, R.D. Relation of calcium content and nature of the pectic substances in bean hypocotyls of different ages to susceptibility to an isolate of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, St. Paul, 55:734-8, 1965.
08. BEN-ARIE, R. & SONEGO, L. Pectolitic enzyme activity involved in woolly breakdown of stored peaches. *Phytochemistry*, Oxford. 19:2553-5, Apr. 1980.
09. BITTER, V. & MUIR, H.M. A modified Uronic acid carbozole reaction. *Analytical Biochemistry*, New York, 34:330-4, 1962.
10. BLUMENKRANTZ, N. & ASBOE-HANSEN, G. New method for quantitative determination of uronic acids. *Analytical Biochemistry*, New York, 54:484-9, 1973.
11. BRADY, C.J.; MacALPINE, G.; McGLASSON, W.B. & UEDA, Y. Polygalacturonase in tomato fruits and the induction of ripening. *Australian Journal Plant Physiology*, Sidney, 9:171-8, Sept. 1982.

12. BRAMLAGE, W.J.; DRAKE, M.; & BRAKER, J.H. Relationships of calcium content to respiration and postharvest condition of apples. *Journal of American Society for Horticultural Science*, Alexandria 99:376-8, July 1974.
13. BRAMLAGE, W.Y.; PRAKE, M. & LORD, W.Y. The influence of mineral nutrition on the quality and storage performance of pome fruit grows in North American. *Acta Horticulturae*, The Hague, 92:29-39, 1980.
14. BRAVERMAN, J.B.S. *Bioquímica de Los Alimentos*. 9.ed. México, 1980. 167p.
15. BUESCHER, R.W. & HOBSON, G.E. Role of calcium and agents in regulating the degradation of tomato fruit tissue by poligalacturonase. *Journal of Food Biochemistry*, Westport, 6:147-160, July 1982.
16. BUESCHER, R.W. & TIGCHELAAR, E.C. Pectinesterase, poligalacturonase, Cx-cellulase activities and softening of the rin tomato mutant. *Hortscience*, Alexandria, 10:624-5, 1975.
17. BURNS, J.K. & PRESSEY, R. Ca^{2+} in cell walls of ripening tomato and Peach. *Journal American Society for Horticultural Science*, Alexandria, 112(5):783-7, May 1987.
18. CARANGAL Jr.; A.R.; ALBAN, E.K.; VERNER, J.E. & BURRELL, R.C. The influence of mineral nutrition on the organic acids of the tomato, *Lycopersicon esculentum*. *Plant Physiology*, Philadelphia, 29(4):355-64, July 1954.

19. CARVALHO, V.D. de; SOUZA, S.M.C. de; CHITARRA, M.I.F.; CARDOSO, D.A.M. & CHITARRA, A.B. Qualidade de tomates da cultivar Gigante Kada amadurecidos na planta e fora da planta. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 19(4):489-93, abr. 1984.
20. CHARLES, A.M. & JEFFREY, D.W. Effects of Calcium and magnesium lime sources on yield, fruit quality, and elemental uptake of tomato. *Journal of American Society for Horticultural Science*, Alexandria, 108(5):850-4, May 1983.
21. CHEFTEL, J. & CHEFTELL, H. *Introdução a la Bioquímica Y tecnología de los Alimentos*. Espanha, 1976. V.1. 220p.
22. CHITARRA, A.B. & CHITARRA, M.I.F. Composição química do tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill) em diferentes estádios de maturação. *Revista de Olericultura*, Campinas, 16:194-8, 1976.
23. -----; LABAVITCH, J.M. & KADER, A.A. Canning- Induced fruit softening and cell wall pectin solubilization in the "Patterson" Apricot. *Journal of Food Science*, Chicago, 54(4): Apr., 1984.
24. -----, M.I.F. & CHITARRA, A.B. *Pós-colheita de frutos e Hortalças, Fisiologia e manuseio*. Lavras, ESAL/FAEPE, 1990. 320p.

25. CRAFT, C.C. & HEINZE, P.H. Physiological Studies of mature-green tomatoes in Storage. Proceeding of the American Society For Horticultural Science, Ithaca, 64:343-50, Dec. 1954.
26. DALAL, K.B.; SALUNKHE, D.K.; BOE, A.A. & OLSON, L.E. Certain physiological and biochemical changes in the developing tomato fruit (*Lycopersicon esculentum* Mill). Journal of Food Science, Chicago, 30(3):504-8, May/June 1965.
27. DAVIES, J.N. Changes in the non-volatile organic acids of tomato fruit during ripening. Journal of the Science of Food and Agriculture, London, 17:396-400, Sept, 1966.
28. -----; & MAW, G.A. Metabolism of citric and malic acids during ripening of tomato fruit. Journal of the Science of Food and Agriculture, London, 23(8):969-76, Aug, 1972.
29. DELONG, W.A. Variations in the chief ash constituents of apples affected with blotchy cork. Plant Physiology, Texas, 2:453-6, 1936.
30. DENNISON, R.A.; HALL, C.B. & NETTLES, V.F. Influence of certain factors on tomato quality. Proceedings of the Florida State Horticultural Society, St Petesburg, 65:108-11, Nov. 1952.
31. DICKINSON, D.B. & McCOLLUM, J.P. Cellulase in tomato fruits Nature, London, 203:525, 1964.

32. DISCHE, Z. General color reactions. In: WHISTLER, R.L. & WOLFRAM, M.L.; ed. *Carbohydrate Chemistry*", New York, Academic, Press, 1962. v.1, p:477-512.
33. EL-SAYED, M.N.K.; ERICKSON, H.T. & TOMES, M.L. Pectic Substances in tomatoes as related to whole fruit firmness and inheritance. *Proceeding of the American Society for Horticultural Sciene, Beltswille*, 89:528-31, 1966.
34. ERICSON, M.C. & ELBEIN, A.D. Biosynthesis of cell wall polysaccharides and glycoproteins. In: STUMPF, P.K & CONN, E.E. *The Biochemistry of Plants*. New York, Academic Press, 1980. v.3, Cap.4, p.589-616.
35. ESKIN, N.A.M. *Plant pigments, flavors and textures; the chemistry and Biochemistry of select compounds*. New York, Academic Press, 1979. 219p.
36. EVANS, H.S. & TROXLER, R.V. Relation of calcium nutrition to the incidence of blossom-end-rot in tomatoes. *Journal of American Society for Horticultural Science*. Mount, 346-52, 1953.
37. FERGUSON, I.B. Ca^{+2} in plant senescence and fruit ripening. *Plant cell and Enviroment*, Oxford, (7): 477-89, 1984.
38. GOODENOUGH, P.W.; TUCKER, G.A.; GRIERSON, D. & THOMAS, T. Changes in color, polygalacturonase monossacharides and organic acids during storage of tomatoes. *Phytochemistry*, Oxford, 2(21): 281-4, Feb. 1982.

39. GOODMAN, R.N.; KIRALY, Z. & WOOD, K.R. Cell wall composition and metabolism. In: *Author the Biochemistry and Physiology of plant Disease*. Columbia, University of Missouri, 1986. p.105-49.
40. GOODWIN, T.W. & MERCER, E.I. *Introduction to plant Biochemistry*, 2.ed. Oxford, Pergamon Press, 1983. 677p.
41. GRANT, G.T.; MORRIS, E.R.; REES, D.A.; SMITH, J.C. & THOM, D. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: the egg-box model. *Federation of European Biochemical Societies (FEBS) Letters* New York, 32(1):195-198, 1973.
42. GROSS, K.C. Composition of ethanol-insoluble polysaccharides in water extracts of ripening tomatoes. *Phytochemistry*, Oxford, 2(25):373-6, Apr. 1986.
43. GROSS, K.C. & WALLNER, S.J. Degradation of cell wall, polysaccharides during tomato fruit ripening. *Plant Physiology*, California, 63: 117-120, Jan, 1979.
44. HALL, C.B. Firmness of tomato fruit tissues according to cultural and ripeness. *Journal American Society for Horticultural Science*, Alexandria 112(4):663-5, Aug. 1987.
45. HAMNER, K.C.; BERNSTEIN, C.L. & MAYNARD, L.A. Effects of environmental factors on the ascorbic acid content of tomatoes. *The Journal of Nutrition*, Philadelphia, 29(1): 85-79, Jan. 1945.

46. HANNA, G.C. Changes in pH and soluble solids of tomatoes during on storage of ripe fruit. Proceeding of the American for Horticultural Science, Beltsville, 78:459-63, Dec. 1961.
47. HEPPLER, P.K. & WAYNE, R.O. Calcium and plant development. Annual Review Plant Physiology, Palo Alto, 38:397-439, 1985.
48. HINTON, D.M. & PRESSEY, R. Cellulase activity in peaches during ripening. Journal of Food Science, Chicago 39:783-5, July/Aug. 1974.
49. HIRA, G.S. & SINGH, N.T. Irrigation Water requeriment for dissolution of gypsum in sodic. Soil Science Society of American Journal, Madison, 44(5):930-3. Sept/Oct. 1980.
50. HOBSON, G.E. The firmness of tomato fruit in relation to polygalacturonase activity. Journal of Horticultural Science, Ashford, 40:66-72, Aug. 1965.
51. ----- . Controlling the ripening of tomato fruit. Span, Foston, 25(1)-21-3, 1982.
52. ----- . Low-temperature injury and the storage of ripening tomatos. Journal of Horticultural Science, Ashford, 62(1):55-62, Jan. 1987.
53. HOBSON, G.E. & DAVIES, J.N. The tomato, In: HULME, A.C. The Biochemistry of Fruits and their Products. London, Academic Press, 1971. v.2, Cap.13, p.437-82.

54. HOBSON, G.E. & HARMAN, J.E. Tomato fruit development and the control of ripening. *Acta Horticulturae*, The Hague, 190:167-73 Dec. 1986.
55. HOEBLER, C.; BARRY, J.L.; DAVID, A. & DELORT-LAVAL, J. Rapid Acid hydrolysis of plant cell wall polysaccharides and simplified quantitative determination of their neutral monosaccharides by gas-liquid chromatography. *Journal Agriculture food Chemistry*, Washington 2(37):360-7, Mar./Apr. 1989.
56. HUBER, D.J. Polyuronide degradation and hemicelulose modifications in ripening tomato fruit. *Journal of American Society for Horticultural Science*, Alexandria 108(3):405-9, May. 1983.
57. -----: Strawberry fruit softening: the potential Roles of polyuronides and hemicelluloses. *Journal of Food Science*, Chicago, 49:1310-15, Sept./out. 1984.
58. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas, métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 2. ed. São Paulo, 1977 v.1, 371p.
59. JARVIS, M.C. The proportion of calcium-bound pectin in plant cell walls. *Planta*, New York 154:344-6, May. 1982.
60. JEFFERY, D.; SMITH, G; GOODNOUGH, P; PROSSER, I. & GRIERSON, D. Ethylene: independent and ethylene dependent biochemical changes in ripening tomatoes. *Plant Physiology*, Baltimore, 74(1):32-8, Jan. 1984.

61. JEN, J.J. & ROBINSON, M.L.P. Pectolytic enzymes in sweet Bell Peppers (*capsicum annum* L.) *Journal of Food Science*, Chicago, 49(4):1045-87, 1984.
62. JERMYN, M.A. & ISHERWOOD, F.A. Changes in the cell walls of pear during ripening. *Biochemistry Journal*, London, 64:123-32, 1956.
63. KADER, A.A.; MORRIS, L.L.; STEVENS, M.A. & ALBRIGHT. HOLTON, M. Composition and flavor quality of fresh market tomatoes as influenced by some postharvest handling procedures. *Journal of American Society for Horticultural Science*, Alexandria, 109(1):6-13, Jan. 1978.
64. -----; STEVENS, M.A.; ALBRIGHT. HOLTON, M.; MORRIS, L.L. & ALGAZI, M. Effect of fruit ripeness when picked on flavor and composition in fresh market tomatoes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, 102(6):724-31, Nov. 1977.
65. KNEE, M. Polysaccharide changes in cell walls of ripening apples. *Phytochemistry*, Elmsford, 12:(3)1543-49, July 1973.
66. KONNO, H; YAMASAKI, Y. & KATOH, K. Degradation of pectic polysaccharides extracted from suspension cultures of carrot by purified exo-polygalacturonase. *Plant Physiology*, Washington, 61:20-26, Dec. 1983.

67. KOTCK, J.L. & NEVIS, D.J. The tomato fruit cell Wall II. Polyuronide metabolism in a non softening tomato mutant. *Plant Physiology*, Washington, 92:542-7, 1990.
68. LABAVITCH, J.M. Cell wall turnover in plant development. *Annual Review Plant Physiology*, Baltimore, 32:385-406, 1981.
69. LOWER, R.L. & THOMPSON, A.E. Sampling variation of acidity and solids in tomatoes. *Proceeding of the American Society for Horticultural Science*, Beltsville, 89:512-52, Dec. 1966.
70. MABBETT, T.H. Control of texture in tomatoes nears reality...(A case study from the future). *Agriculture International*, London, 41(7):239-40, July 1989.
71. Mc CREAD, PM & Mc COMB, E.A. Extraction and determination of total pectin materials. *Analytical Chemistry*, Washington, 24(12):1586-8, Dec. 1952.
72. MALIS-ARAD, S.; DIDI, S.; MIZRAHI, Y. & KOPELIOVITCH, E. Pectic substances: changes in soft and firm tomato cultivars and in non-ripening mutants. *Journal of Horticultural Science*, Maldstone, 58(1):111-6, Jan. 1986.

73. MATOO, A.K.; MURATA, T.; PANTASTICO, Er.B.; CHACHIN, K.; OGATA, K. & PHAN, C.T. Chemical changes during ripening and Senescence. In: PANTASTICO, Er. B., ed. *Postharvest Physiology, Handling and Utilization of tropical and subtropical and vegetables*. Westport, AVI, 1975. cap.7, p.103- 27.
74. MELFORD, A.J. & PRAKASH, M.D. Postharvest changes in fruit cell wall. *Advances in Food Research*, New York, 30:139-180. 1986.
75. MENEILL, M.; DARVILL, A.G.; STEPHEN, C.F. & ALBERSHEIN, P. Structure and function of the primary cell wall of plants. *Annual Review Biochemistry*, Palo Alto, 53:625-63, 1984.
76. MINAMIDE, T. GOTO, M. & IWATA, T. Forms of calcium compounds and their chages after harvest in fruits and vegetables. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science Sakar*, 54(4);507-13, 1986.
77. MUNSELL, A.H. *MUNSELL BOOK of Color*, Baltimore, Macbeth Division of koll morgem corporation. 1976. (folhas soltas).
78. NELSON, N.A. A photometric adaptation of Somogyi method for the determination of glucose. *Journal of Biological Chemistry*, Baltimore, 135:136-75, 1944.

79. NG, T.J. & TIGCHELAAR, E.C. Action of the non-ripening (nor) mutant on fruit ripening of tomato. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, 112:(4):504-9, July 1977.
80. PANTASTICO, E.R.B. Structure of fruits and vegetables. In: *Author Postharvest, Handling and Utilization of Tropical and Subtropical Fruits and Vegetables*. Westport, AVI, 1975. Cap. 1, p.1-24.
81. PATEE, H.E. Evolution of quality of fruits and vegetables. Westport, AVI, 1985. 410p.
82. PESIS, E.; FUCHS, Y.; & ZAUBERMAN, G. Cellulase activity and fruit softening in avocado. *Plant physiology*. Washington, 61:416-19, 1978.
83. PILNIK, W. & VORAGEM, A.G.J. Pectic substances and other uronides. In HULME, A.C., ed. *The biochemistry of fruits and their products*. New York, Academic press. 1970. v.1, cap.3, p.53-87.
84. PINTO, C.M. & CASALI, V.W.D. Origem e botânica do tomateiro. *Informe Agropecuario*, Belo Horizonte, 6(66):8-9, Jun 1980.
85. POOVAIAH, B.W. Molecular and celular aspects of calcium action in plants. *Hortiscience*, Alexandria, 23(2):267- 71, Apr. 1988.

86. POOVAIAH, B.W. Role of calcium and Calmodulin in plant growth and development. *Hortscience*, Alexandria 20(3):347-352, June 1985.
87. POOVAIAH, B.W. Role of calcium in prolonging storage life of fruits and vegetables. *Food Technology*, Chicago, 40:86-9, 1986.
88. PRESSEY, R. & AVANTS, J.K. Separation and characterization the exopolygalacturonase e endopolygalacturonase from peaches. *Plant Physiology*, 52:252-6 1973.
89. PRESSEY, R. & AVANTS, J.K. Solubilization of cell walls by tomato polygalacturonases: effects of pectinesterases. *Journal of Food Biochemistry*, Westport, 1(6):57-74, Sept. 1982.
90. PRESSEY, R.; HINTON, D.M. & AVANTS, J.K. Development of polygalacturonase activity and solubilization of pectin in peaches during ripening. *Journal of Food Science*, Chicago, 36:()1070-3, Mar./Apr. 1971.
91. RIGNEY, C.J. & WILLS R.B.H. Calcium moviment, a regulating factor in the iniciation of tomato fruit ripening. *Hortscience*, Alexandria 16(4):55⁵⁰~~80~~-1, Aug. 1981.
- tomato fruit softening: the use of enzymaticaly active cell walls. *Plant Physiology*, 75(4):891-4. Aug. 1984.

93. SALUNKHE, D.K. & DESAI, B.B. Tomato. In: ---- Postharvest Biotechnology of Vegetables. Boca Raton CRC. Press, 1984. v.1, cap.4, p.55-82.
94. SARRUGE, J.R. & HAAG, H.P. Análise Química de plantas. Piracicaba, ESALQ. 56p. 1974.
95. SELVENDRAN, R.R. Analysis of cell wall material from plant tissues: extraction and purification. *Phytochemistry*, Oxford, 14:1011-17, 1975.
96. SEYMOUR, G.B. & HARDLING, S.E. Analysis of the molecularsize of tomato (*Lycopersicon esculentum*, Mill) fruit polyuronides by gel filtration and low-speed sedimentation equilibrium. *Biochemistry Journal*, London, 245:463-6. 1987.
97. SHARPLES, R.O. & JOHNSON, D.S. The influence of calcium on senescence changes in apple. *Proceedings of the Association of Applied Biologists*, Kent, 9:450-3. Oct. 1976.
98. SHEAR, C.B. Calcium related disorders of fruits andvegetables. *Hortscience*, Alexandria, 10(4):361-5, Aug.1975.
99. SIMANDLE, P.A., BROGDON, J.L.; SWEENEY, J.P.; MOBLEY, E.D. & DAVIES, D.W. Quality of six tomato varieties as affected by some compositional factors. *Proceedings of the American for Horticultural Science*, New York, 89:532-8, 1966.

100. STERLING, C. & KALB, J.A. Pectic changes in peach during ripening. *Botanical Gazette, Chicago*. 121(2):111-3, Dec. 1959.
101. SUWWAN, M.A. & POAVAIHAH, B.W. Association between elemental content and fruit ripening in ripe and normal tomatoes. *Plant Physiology, Washington*, 61:883. 5. 1978.
102. TAKAHASHI, H.W. Relação Ca: Mg: K no desenvolvimento, produção, composição mineral e distúrbios fisiológicos relacionados com o Ca^{+2} em tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill). Piracicabà, ESALQ, 1989. 167p. (tese doutorado).
103. THOMPSON, A.E. Comparison of fruit constituents of normal and high pigment tomatoes. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science, New York*, 78:464-73, 1961.
104. TIGCHELAAR, E.C.; McGLASSON, W.B. & BUESCHER, R.W. Genetic regulation of tomato fruit ripening. *Hortscience, Alexandria*, 13(5):508-13, Oct. 1978.

105. TUKER, G.A. & GRIERSON, D. Synthesis of polygalacturonase during tomato fruit ripening. *Planta*, 155(1):64-7. Jun. 1982.
106. UPDEGRAFF, D.M. Semi-micro determination of cellulose in biological materials. *Analytical Biochemistry*, New York, 32:420-4. 1969.
107. VAN BUREM, J.P. The chemistry of texture in fruits and vegetables. *Journal of texture Studies*, Westport, 10:1-23, Sept. 1979.
108. VAN GOOR, B.J. The role of calcium and cell permeability in the disease blossom-end-rot of tomatoes. *Physiology Plantarum*, Copenhagen, 21:1110-21, 1968.
109. VILLARREAL, F.; LUH, B.S. & LEONARD, S.J. Influence of ripeness level on organic acids in canned tomato Juice. *Food Technology*, Champaign, 14(3):176-9, Mar. 1960.
110. WALLNER, S.J. and BLOOM, H.L. Characteristics of tomato cell wall degradation in vitro, implications for the study of fruit-softening enzymes. *Plant Physiology*, Washington, 60:207-10, 1970.
111. WARD, G.M. Causes of blossom-end-rot tomatoes based on tissues analyses. *Canadian Journal Plant Science*, Ottawa, 53(1): 169-174 Jan. 1973.

112. WATKINS, C.B.; HARMAN, J.E.; FERRGUSON, I.B. & RED, M.S.
The action of lecithin and calcium dips in the control
of bitter pit in apple fruit. *Journal American Society
Horticultural Science*, Alexandria, 107:262-5, May 1982.
113. WILLS, R.B.H.; LEE, T.H.; GRAHAM, D.; McGLASSON, W.B. &
HALL, E.G. Temperature. In: *Author Postharvest Physiology
and handling of fruit and vegetables*. Australia, N.S.W.U.
Press. 1981. p.39-51.
114. WILLS, R.B.H. & RIGNEY, C.J. Effect of calcium on
activity of mitochondria and pectic enzymes isolated from
tomato fruit. *Journal Food Biochemistry*, Westport.
3:103-10, May 1979.
115. WILLS, R.B.H. & TIRMAZI, S.I.H. Effect of calcium and
other minerals on ripening of tomatoes. *Australian
Journal Plant Physiology*, Victoria, 6:221-7, Jun. 1979.
116. ----- & ----- & SCOTT, J.K. Use of calcium to relay
ripenning of tomatoes. *Hortscience*, Alexandria,
12(6):551-2, Dec. 1977.
117. WINSOR, G.W.; DAVIES, J.N. & MASSEY, D.M. Composition of
tomato fruit. III. Juices from whole and locules at
different stages of ripiness. *Journal of the Science of
Food and Agriculture*, London, 13:108-15, Feb. 1962.

APENDICE

QUADRO 1 - Resumo da análise de variância para a avaliação de textura de tomates (*L. esculentum* Mill cv "Santa Clara") colhidos em 4 estádios de maturação (VM, BR, M, RR) submetidos à 5 tratamentos com gesso (0; 300; 600; 900; 1200kg/ha). ESAL/DCA. Lavras - MG 1990.

FONTES DE VARIACÃO	GL	QM
Doses de gesso Estádio de maturação (B)	12	80.879**
Estádio (B)	3	6729.818**
A : B ₁	4	589.695*
Regressão Linear	1	2010.72**
Regressão Quadrática	1	316.82**
Regressão Cúbica	1	28.560ns
Desvio da Regressão	1	ns
A : B ₂	3	139.96*
Regressão Linear	1	518.40*
Regressão Quadrática	1	41.142ns
Regressão Cúbica	1	3.09x10 ⁻¹⁰ ns
Desvio da Regressão	1	ns
A : B ₃	3	51.607ns
A : B ₄	3	94.399*
Regressão Linear	1	369.664**
Regressão Quadrática	1	4.571ns
Regressão Cúbica	1	1.936ns
Desvio da Regressão	1	ns
CV(%)		10.88%

* significativo a 5%
 ** significativo a 1%
 não significativo

QUADRO 2 - Resumo da análise de variância para a avaliação de pectina solúvel de tomates (*L. esculentum* Mill cv "Santa Clara") colhida em 4 estágios de maturação (VM, BR, M, RR) submetidos à 5 tratamentos com gesso (0; 300; 600; 900; 1200 kg/ha). ESAL/DCA. Lavras - MG 1990.

FONTES DE VARIACÃO	GL	QM
Doses de gesso: Estádio de maturação	12	402.775**
Estádio (B)	3	37897.31**
A : B ₁	4	354.17**
Regressão Linear	1	1404.10**
Regressão Quadrática	1	5.239ns
Regressão Cúbica	1	0.1782ns
Desvio da Regressão	1	ns
A : B ₂	4	390.531**
Regressão Linear	1	1535.246**
Regressão Quadrática	1	10.004ns
Regressão Cúbica	1	0.5359ns
Desvio da Regressão	1	ns
A : B ₃	4	721.398**
Regressão Linear	1	2712.115**
Regressão Quadrática	1	0.1553ns
Regressão Cúbica	1	163.377**
Desvio da Regressão	1	ns
A : B ₄	4	3478.359**
Regressão Linear	1	12888.82**
Regressão Quadrática	1	691.33**
Regressão Cúbica	1	305.31**
Desvio da Regressão	1	ns
CV(%)		3.23

* significativo a 5%

** significativo a 1%

ns não significativo

200

QUADRO 3 - Resumo da análise de variância para a avaliação de atividade de poligalacturonase de tomates (*Lycopersicon esculentum* Mill cv "Santa Clara") colhidos em 4 estádios de maturação (VM, BR, M, RR) submetidos à 5 tratamentos com gesso (0; 300; 600; 900; 1200 kg/ha). ESAL/DCA. Lavras - MG, 1990.

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	QM
Doses de gesso Estádio de maturação(B)	12	2.954**
Estádio (B)	3	1963.992**
A : B ₁	4	1.383ns
A : B ₂	4	8.747*
Regressão Linear	1	33.470**
Regressão Quadrática	1	0.912ns
Regressão Cúbica	1	0.533ns
Desvio da Regressão	1	
A : B ₃	3	19.959*
Regressão Linear	1	78.176**
Regressão Quadrática	1	0.690ns
Regressão Cúbica	1	0.2706ns
Desvio da Regressão	1	ns
A : B ₄	3	11.979**
Regressão Linear	1	43.869*
Regressão Quadrática	1	2.086ns
Regressão Cúbica	1	0.9363ns
Desvio da Regressão	1	ns
CV(%)		4.85%

* significativo a 5%

** significativo a 1%

ns não significativo

