

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Agronomia



Tese

**Caracterização fenológica, físico-química e fitoquímica de
cultivares de marmeleiro**

Roberta Manica-Berto

Pelotas, 2009

ROBERTA MANICA-BERTO

**CARACTERIZAÇÃO FENOLÓGICA, FÍSICO-QUÍMICA E FITOQUÍMICA DE
CULTIVARES DE MARMELEIRO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Pelotas, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para a obtenção do Título de Doutor em Ciências (área do conhecimento: Fruticultura de Clima Temperado).

Orientador: Dr. Andrea De Rossi Rufato
Co-Orientadores: Dr. Jose Carlos Fachinello
Dr. Jorge Adolfo Silva
Dr. Leo Rufato

Pelotas, 2009

Dados de catalogação na fonte:
(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

M278c Manica-Berto, Roberta

Caracterização fenológica, físico-química e fitoquímica de cultivares de marmeleiro / Roberta Manica-Berto ; orientador Andrea de Rossi Rufato; co-orientador Jose Carlos Fachinello, Jorge Adolfo Silva e Leo Rufato. - Pelotas, 2009.-70f. ; il..-Tese (Doutorado) –Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel . Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2009.

1.Fenologia 2.Escala BBCH 3.Capacidade antioxidante
4.Fenóis 5. Carotenóides I Rufato, Andrea de Rossi(orientador) II .Título.

CDD 634

Banca examinadora:

Andrea De Rossi Rufato
(Orientador)

Josiane Freitas Chim, Dra.

Luciano Lucchetta, Dr.

Luciano Piccolotto, Dr.

Márcia Wulff Schuch, Dra.

À minha família

DEDICO

Agradecimentos

À Deus, fonte de iluminação, que nos dá forças, para vencer os obstáculos;

À toda minha família, pelo apoio e incentivo, sem os quais o trabalho seria muito mais difícil;

De maneira especial ao meu esposo Vanderlei, pela compreensão e amor;

Aos docentes pela amizade e conhecimentos;

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia pela oportunidade de realizar o curso de doutorado;

À CAPES pela bolsa de estudo;

A todos os colegas e amigos conquistados durante a realização do curso, pelos momentos de trabalho, estudo e de diversão compartilhados.

Agradeço

Resumo

MANICA-BERTO, Roberta. **Caracterização Fenológica, Físico-química e Fitoquímica de Cultivares de Marmeleiro**, 2009. 70f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-graduação em Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O marmeleiro apresenta alta variabilidade genética, quanto ao vigor da planta, produtividade, florescimento e qualidade de fruto. Tendo em vista a necessidade de caracterizar diferenças entre cultivares, considerando as características fenológicas da planta, a composição físico-química e fitoquímica dos frutos na forma *in natura*, esse trabalho teve como objetivo descrever as fases fenológicas do marmeleiro e avaliar 21 cultivares de marmelo quanto às propriedades físico-químicas e fitoquímicas. A escala fenológica estabelecida, de acordo com a escala BBCH, para as 21 cultivares de *C. oblonga* contém oito estádios de desenvolvimento. Os estádios principais observados foram: 0 – Desenvolvimento da gema; 1 – Desenvolvimento das folhas; 3 – Desenvolvimento dos brotos; 5 – Emergência da inflorescência; 6 – Florescimento; 7 – Desenvolvimento dos frutos; 8 – Maturação dos frutos; 9 – Senescência. As cultivares Champion, Kiakomi e Portugal apresentam perfil físico-químico diferenciado das demais. Enquanto que as cultivares Zuquerinetta, D'Angers, Alongado, Alaranjado, Bereckzy, Smyrna, Mendonza Inta-37 apresentam um perfil fitoquímico muito semelhante. Os teores de carotenóides e fenóis são maiores na casca do que na polpa, resultando numa maior capacidade antioxidante da casca.

Palavras Chave: Fenologia. Escala BBCH. Capacidade Antioxidante. Fenóis. Carotenóides.

Abstract

MANICA-BERTO, Roberta. **Characterization Phenological, Physical-chemical and Phytochemistry of Quince**, 2009. 70f. Thesis (Doctor) – Programa de Pós-graduação em Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Quince shows high genetic variability regarding plant vigor, productivity, flowering, fruit quality. In order to characterize the differences among cultivars, considering the phenological characteristics of the tree, the physicochemical and phytochemical compounds of in natura fruits, this study aimed to describe the phenological stages of the quince and evaluate 21 quince cultivars regards to physicochemical and phytochemical properties. The established phenological scale according BBCH scale for the twenty one cultivars of *C. oblonga* contains eight stages of development. The stages observed were: 0 - bud development; 1 - Development of the leaves, 3 - Development of shoots, 5 - Emergence of the inflorescence, 6 - Flowering; 7 – Development of fruits; 8 - ripening of fruits, 9 - Senescence. The cultivars Champion, Kiakami and Portugal show a different physical-chemical profile whether compared to the others. While the cultivars Zuquerinetta, D'Angers, Prolonged, Orange, Bereckzy, Smyrna, Mendoza Inta-37 have a very similar phytochemical profile. Carotenoid and phenol contents are higher in the peel than the pulp, resulting in a higher antioxidant capacity of the shell.

Key words: Phenology. BBCH Scale. Antioxidant capacity. Phenols. Carotenoids.

Lista de Figuras

Figura 1	Principais estádios fenológicos do marmeleiro segundo a escala BBCH. FAEM/UFPel, Capão do Leão, 2009.....	26
Figura 2	Escala cronológica de desenvolvimento fenológico das 21 cultivares estudadas. FAEM/UFPel, Capão do Leão, 2009.....	33
Figura 3	Valores de Luminosidade (L^* : 0 = preto, 100 = branco) (A) e coordenada de cromaticidade a^* (+a = vermelho, -a = verde) (B) referentes à coloração da epiderme de 21 cultivares de marmeleiro. FAEM/UFPel, Capão do Leão-RS, 2009.....	42
Figura 4	Valores da coordenada de cromaticidade b^* (+b = amarelo, -b = azul) (A) e do ângulo Hue (0° = vermelho, 90° = amarelo, 180° = verde, 360° = azul) (B) referentes à coloração da epiderme de 21 cultivares de marmeleiro. FAEM/UFPel, Capão do Leão-RS, 2009.....	43
Figura 5	Valores de firmeza de polpa (N) referentes à coloração da epiderme de 21 cultivares de marmeleiro. FAEM/UFPel, Capão do Leão-RS, 2009.....	44
Figura 6	Valores de sólidos solúveis ($^\circ$ Brix) referentes a 21 cultivares de marmeleiro. FAEM/UFPel, Capão do Leão-RS, 2009.....	45
Figura 7	Valores de acidez titulável (% de ácido málico) (A) e índice de maturação (SS/AT) (B) referentes à 21 cultivares de marmeleiro. FAEM/UFPel, Capão do Leão-RS, 2009.....	46
Figura 8	Dispersão gráfica de 21 cultivares de marmeleiro, utilizando-se dois primeiros componentes principais (CP1 e CP2) para variáveis físico-químicas. FAEM/UFPel, Capão do Leão-RS, 2009.....	47

Figura 9	Teor de carotenóides totais (μg de β -caroteno g^{-1} de amostra) na casca de 21 cultivares de marmeleiro. FAEM/UFPeI, Capão do Leão-RS, 2009.....	48
Figura 10	Cromatograma típico da separação de carotenóides (1- Luteína + Zeaxantina; 2- β -criptoxantina; 3- Licopeno; 4- β -caroteno) na casca da cultivar CTS 207 via HPLC, com coluna de fase reversa C18 e detector UV a 480nm, tendo como fase móvel um gradiente com metanol, acetonitrila e acetato de etila. FAEM/UFPeI, Capão do Leão-RS, 2009.....	49
Figura 11	Cromatograma típico da separação de tocoferóis (1- δ -; 2- γ -; e 3- α -tocopherol) na casca da cultivar CTS 207 via HPLC com coluna de fase reversa e detector de fluorescência, 290 nm de excitação e 330 nm de emissão, usando como fase móvel, um gradiente com metanol, acetonitrila e isopropanol. FAEM/UFPeI, Capão do Leão-RS, 2009.....	50
Figura 12	Teor de fenóis totais (mg EAG 100g^{-1} de amostra) na casca (A) e na polpa (B) de 21 cultivares de marmeleiro. FAEM/UFPeI, Capão do Leão-RS, 2009.....	52
Figura 13	Capacidade antioxidante após 30 minutos de reação expressa em equivalente ao Trolox (g TEAC 100g^{-1}) na casca (A) e na polpa (B) de 21 cultivares de marmeleiro. FAEM/UFPeI, Capão do Leão-RS, 2009.....	53
Figura 14	Dispersão gráfica de 21 cultivares de marmeleiro, utilizando-se dois primeiros componentes principais (CP1 e CP2) para variáveis fitoquímicas. FAEM/UFPeI, Capão do Leão-RS, 2009.....	54

Lista de Tabelas

Tabela 1	Programa do gradiente de eluição dos solventes para separação de carotenóides em marmelos (<i>Cydonia oblonga</i> Miller).....	39
Tabela 2	Programa do gradiente de eluição dos solventes na separação de tocoferóis em marmelos (<i>Cydonia oblonga</i> Miller).....	40
Tabela 3	Coeficientes de correlação de Pearson entre fenóis totais e a capacidade antioxidante em 30 minutos expressa em equivalente ao Trolox (g TEAC 100 g ⁻¹) de 21 cultivares de marmeleiro. FAEM/UFPel, Capão do Leão-RS, 2009.....	53

Sumário

1 Introdução.....	13
2 Capítulo I - Fases fenológicas do marmeleiro (<i>Cydonia oblonga</i> Miller).....	18
2.1 Introdução.....	18
2.2 Materiais e métodos.....	19
2.3 Resultados e discussão.....	20
2.3.1 Características da escala.....	20
2.3.2 Descrição dos estádios fenológicos para o marmeleiro.....	21
2.3.3 Duração dos estádios fenológicos para o marmeleiro.....	27
2.4 Conclusões.....	34
3 Capítulo II - Caracterização físico-química, fitoquímica e multivariada de cultivares de marmeleiro.....	35
3.1 Introdução.....	35
3.2 Materiais e métodos.....	36
3.3 Resultados e discussão.....	41
3.4 Conclusões.....	55
6 Conclusões.....	56
7 Referências.....	57

1 INTRODUÇÃO

O marmeleiro (*Cydonia oblonga* Miller, *Cydonia maliformis* Miller, *Cydonia vulgaris* Pers., *Pyrus cydonia* L.) é uma espécie nativa do Sudoeste da Europa e da Ásia Menor (WESTWOOD, 1982). Pertence à família *Rosaceae*, subfamília *Maloideae*, tribo *Pyreae* e subtribo *Pyrinae*, da mesma forma que outras espécies frutíferas de importância comercial como a macieira (*Malus pumila* Mill.), a pereira (*Pyrus communis* L.) e a nespereira [*Eriobotrya japonica* (Thumb.) Lindl.] (POTTER et al., 2007; USDA, 2009.).

A subfamília *Maloideae* tem como número de cromossomos base 17, enquanto que outras subfamílias da *Rosaceae* têm números cromossômicos básicos de 7, 8 ou 9, sugerindo uma possível origem de anfidiplóidia da *Maloideae* de duas formas primitivas da *Rosaceae* (LAYNE; QAMME, 1975). Recentes análises de sequências de DNA confirmam uma origem da poliploidia da *Maloideae*, através de aneuploidia de um ancestral com um número de cromossomos de 9 (EVANS; CAMPBELL, 2002).

A planta, caracteriza como arbustiva ou subarbórea com ramos penugentos, com folhas ovais e alternas, igualmente penugentas na face inferior, podendo alcançar oito metros de altura e quatro metros de largura (SAMPAIO, 1947; GHOLGHOLAB, 1961). As grandes flores brancas ou rosadas aparecem isoladamente sobre curtos pedúnculos. Os frutos, marmelos, são pomos amarelos de 10 a 12 cm de diâmetro, cobertos de penugem e com formato de pêra (GHOLGHOLAB, 1961). A espécie difundiu-se progressivamente até a Europa Central e Países Mediterrânicos (VOLÁK; STODOLA, 1990).

Apesar de perdida a sua antiga reputação, o marmeleiro continua a ser cultivado por toda a Europa, sendo os seus frutos utilizados na preparação de doces, compotas, geléias e xaropes e em fitoterapia (VOLÁK; STODOLA, 1990). O marmelo é conhecido como sendo adstringente, emoliente e antidiarreico, apresentando propriedades antioxidantes que são atribuídas à presença de taninos, mucilagens e pectinas (YILDIRIM; OKTAY; BILALOGLU, 2001).

A diminuição da oferta dessa matéria-prima e sua consequente valorização vêm sendo sentidas pelas fábricas de doces, que a têm importado sob a forma de polpa, principalmente da Argentina, ou a têm substituído pela mistura de outras frutas. Assim, atualmente os frutos podem ser comercializados a preços atraentes devido à baixa oferta no mercado nacional (PIO et al., 2005).

Esse fato fez com que surgisse, novamente, estímulo gradual para a produção comercial de marmelo. Pode-se dizer que a cultura do marmeleiro se encontra, hoje, em fase de transição, ou seja, existe uma forte tendência em sair do ponto de estagnação, com a implantação de novos e mais produtivos marmeleirais.

A produção de marmelo (*C. oblonga*) em 2009 foi de 497 mil toneladas, ocupando uma área de 68 mil hectares. A China é o maior produtor (105 mil toneladas), seguido pela Turquia (96,3 mil toneladas) e Uzbequistão (60 mil toneladas), que juntos concentram 52,5% da oferta mundial (FAO, 2009). Em contrapartida, a produção de marmelo brasileira apresenta níveis tão reduzidos que não chegam a provocar impacto no abastecimento do seu próprio mercado nacional. Com isso, o mercado brasileiro torna-se bastante dependente de importações dessa fruta, que chegaram a 79 toneladas em 2008. Quanto à distribuição por Estados, Minas Gerais é o principal produtor de frutos de marmelo, com 57% da produção nacional, cultivando uma área de 122 hectares, seguido pelo Rio Grande do Sul, com 19% da área nacional (MAPA, 2009).

Entre os fatores que contribuíram para o declínio da cultura no Rio Grande do Sul e no Brasil, podem ser citados os problemas fitossanitários, principalmente a entomosporiose ou requeima (*Entomosporium mespili* DC. Sacc.), que impedem o desenvolvimento normal da planta e a produção de frutos de alta qualidade, a multiplicação de plantas pouco produtivas, a falta de incentivos, o desinteresse do mercado consumidor e a importação de polpa de outros países (ABRAHÃO; SOUZA; ALVARENGA, 1995; SIMONETTO; GRELLMANN, 2003).

Frente a esses entraves, a separação ou o agrupamento das espécies por meio de características fenológicas, anatômicas ou moleculares apresenta grande importância na indicação da adaptabilidade das mesmas aos diferentes ambientes. O estudo da sequência de todos os eventos periódicos envolvidos no ciclo de vida da planta é chamado de fenologia (VOLPE, 1992; VILLALPANDO; RUÍZ, 1993; SCHWARTZ, 1999). E, o intervalo entre duas fases distintas é caracterizado estágio fenológico. Diversos indicadores fenológicos são usados para monitorar e avaliar o desenvolvimento da planta. Os mais significativos para as espécies frutíferas são a floração e maturação do fruto. O intervalo entre a floração e o *fruit set* é considerado um dos estágios fenológicos mais importantes (VILLALPANDO; RUÍZ, 1993).

Até finais da década de 90, poucos estudos existiam relativamente a espécie *C. oblonga* e referiam-se apenas a sua composição em compostos voláteis, terpenicos não voláteis e polissacarídeos (SCHREYEN et al., 1979; TSUNEYA et al., 1980, 1983; ISHIHARA et al., 1983, 1986; UMANO et al., 1986; WINTERHALTER; SCHREIER, 1988a,b; WINTERHALTER; HERDERICH; SCHREIER, 1990; WINTERHALTER; HARMSSEN; TRANI, 1991; WINTERHALTER; LUTZ; SCHREIER, 1991; GULDNER; WINTERHALTER, 1991; LUTZ.; WINTERHALTER; SCHREIER, 1991; LUTZ; WINTERHALTER, 1992, 1993; DE TOMMASI et al., 1996a,b). Contudo, a partir de 1998, um grupo de investigadores Portugueses estabeleceram o perfil em compostos fenólicos, ácidos orgânicos e aminoácidos livres deste fruto e dos seus derivados (ANDRADE et al., 1998, 1999; FERRERES et al., 2003; SILVA et al., 2000a,b,c, 2001, 2002a,b, 2003, 2004a,b,c, 2005a,b, 2006).

Oliveira et al. (2007) identificaram diversos compostos fenólicos em folha de marmelo, incluindo ácidos 3-O-, 4-O-, 5-O cafeoilquínicos, ácido 3,5-O-dicafeoilquínico, a quercetina-3-O-galactósido, quercetina-3-O-rutinosídeo, caempferol-3-O-glucósido e caempferol-3-O-rutinosídeo. O teor de fenólicos totais nas folhas de marmelo variou de 4,9 a 16,5 g kg⁻¹ de matéria seca. Em outro estudo do mesmo grupo, a composição de ácidos orgânicos na folha de marmelo foi investigada e detectaram como principais componentes acídicos, o ácido quínico (72,2%) e o ácido cítrico (13,6%). No entanto, eles encontraram maiores concentrações de compostos fenólicos totais em folhas de marmeleiro do que nas polpas, cascas e sementes (OLIVEIRA et al., 2008). Costa et al. (2009) estudaram

extratos metanólicos a partir de folha de marmeleiro e relataram que o ácido 5-O-cafeoilquínico foi o composto fenólico predominante.

Os perfis fenólicos de extratos metanólicos de casca, semente e polpa de marmeleiro foram relatados por MAGALHÃES et al. (2009) em que o teor de fenóis totais foi 0,4, 6,3 e 2,5 g kg⁻¹, respectivamente. ALESIANI et al. (2010) isolaram 59 fitoquímicos de cascas de marmeleiro, incluindo cinco que até então não tinham sido detectados. O número de compostos fenólicos pode ser considerado como marcadores químicos de diferentes partes de marmelo.

Tsuneya et al. (1983) relataram aproximadamente 120 compostos voláteis, incluindo hidrocarbonetos, ésteres, alcoóis, aldeídos, cetonas e lactonas de frutos de marmeleiro. Tateo e Bononi (2010) analisaram os compostos voláteis de frutos inteiros de marmeleiro, utilizando uma extração de fase sólida de headspace e identificados mais de 40 compostos. As amostras de frutos foram coletadas em outubro e novembro, e não houve um padrão crescente de sesquiterpenos para esse período. Não ocorreu alteração na percentagem relativa de isômeros *theaspirane* com a maturação. Silva et al. (2002a) analisaram os compostos fenólicos de diferentes partes do fruto de marmelo (casca e polpa), oriundos de sete diferentes lugares geográficos de Portugal. Ocorreram variações significativas nos teores de compostos fenólicos totais de casca e polpa, os teores mínimos foram observados para os frutos colhidos em Bragança (243,5 mg kg⁻¹ para casca e 11,7 mg kg⁻¹ para polpa) e os máximos foram obtidos para frutos colhidos na área de Pinhel com 1.738,6 mg kg⁻¹ para casca e 268,3 mg kg⁻¹ para polpa. A média $\pm$ desvio padrão dos teores de compostos fenólicos totais para casca e polpa foram 975,2 $\pm$ 536,1 mg kg⁻¹ e 130,1 $\pm$ 77,6 mg kg⁻¹, respectivamente. Como os teores de compostos fenólicos totais da casca e da polpa são diferentes, a presença de características de compostos da casca nos produtos comerciais obtidos a partir da polpa de marmelo, pode ser usada como uma forma para detectar possíveis adulterações nesses produtos.

O teor de água e de lipídios de sementes de marmelo foi investigado por Nogala-Kalucka et al. (2010), que obtiveram 15,61% para o teor de água e 25,27% como teor lipídico. Os compostos lipossolúveis bioativos das sementes, incluindo tocoferóis, fitoesteróis e ácidos fenólicos foram relatados por esses autores. Os tocoferóis consistiram de α -tocoferol (16,03 mg 100g⁻¹ de semente seca), β -tocoferol

(0,15), γ -tocoferol (0,32) e tocoferol total de 16,49 mg 100g⁻¹ de semente seca. O α -tocoferol representou a maior atividade para a vitamina E. Enquanto que os fitoesteróis detectados foram o campesterol (0,32 mg g⁻¹ de gordura), estigmasterol (0,20 mg g⁻¹), sitosterol (2,60 mg g⁻¹), avanasterol (0,44 mg g⁻¹) e fitoesteróis totais (3,56 mg g⁻¹ de gordura). Os fitoesteróis, especialmente o β -sitosterol reduz os níveis do colesterol LDL e sua contribuição nas sementes de marmelo foi de 73%.

O fruto do marmeleiro (*C. oblonga*) possui a maior quantidade de derivados do ácido hidroxicinâmico (30,9 mg g⁻¹) em comparação com marmelo japonês (6,9 mg g⁻¹) e com maçã (12,2 mg g⁻¹) (HAMAUZU et al., 2006). O teor fenólico total de extratos metanólicos foi mais elevado em folha (27,96 g kg⁻¹ seco) seguido por casca (7,41 g kg⁻¹), polpa (1,17 g kg⁻¹) e sementes (0,52 g kg⁻¹), como relatado por CARVALHO et al. (2010).

No entanto, não há estudos que caracterizam diferenças entre cultivares, considerando a fenologia, a composição físico-química e características fitoquímicas dos frutos na forma *in natura*. Nesse contexto, foram avaliadas 21 cultivares de marmelo quanto as propriedades fenológicas, físico-químicas e fitoquímicas.

2 CAPÍTULO I - Fases fenológicas do marmeleiro (*Cydonia oblonga* Miller)

2.1 Introdução

A caracterização dos estádios fenológicos, tais como data de superação de dormência, florescimento e maturação dos frutos são essenciais na escolha da cultivar. As épocas de floração e maturação podem variar, conforme o ano e o local (HUMMER et al., 2007). Assim, antes de definir a cultivar, é importante a realização de estudos fenológicos da cultura para tornar disponíveis informações que determinam quais cultivares são mais adaptadas às condições edafoclimáticas locais (SILVA et al., 2006), e quais são os períodos de concentração da produção.

A escolha das cultivares, em razão das fenofases, proporciona o escalonamento da produção; o aumento do período de oferta de frutos ao mercado; e a adaptação das tecnologias disponíveis àquela cultivar e região. Uma vez que o número das práticas de manejo, como poda, aplicação de fitorreguladores, fertilizantes, herbicidas, fungicidas, inseticidas, raleio, contam com o reconhecimento de determinados estádios fenológicos (SALINERO; VELA; SAINZ, 2009).

Apesar da evidente importância destas considerações, até o início da década de 1990, não havia uma codificação homogênea para descrever os estádios de desenvolvimento das culturas agrícolas e de plantas daninhas. Os métodos utilizados anteriormente eram formados por uma combinação de letras e números (FLECKINGER, 1948), sem coincidência entre gêneros diferentes para o mesmo desenvolvimento das fases, tornando-se difícil uma generalização.

Tornou-se necessário, então, estabelecer um sistema numérico que permite a padronização na descrição de estádios de desenvolvimento homólogos para culturas diferentes, utilizando os mesmos códigos. O primeiro código decimal foi publicado por Zadoks; Chang; Konzak (1974) e posteriormente, obteve-se um incremento, com a escala BBCH (Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt and Chemical Industry-BBCH) (BLEIHOLDER et al., 1989).

A escala BBCH (BLEIHOLDER et al., 1989; LANCASHIRE et al., 1991; HACK et al., 1992) é um sistema de codificação uniforme que permite uma descrição fenológica de estádios de crescimento similares para várias espécies de plantas, tanto culturas agrícolas, quanto plantas daninhas. Cada estágio é caracterizado por um número decimal, ou seja, um código de dois dígitos, em que o primeiro dígito (0-9) corresponde a uma fase de crescimento principal e o segundo dígito (0-9) um estágio secundário. O estudo da caracterização dos estádios fenológicos vem sendo detalhado, em plantas daninhas (LANCASHIRE et al., 1991; BLEIHOLDER et al., 1997; SANZ-CORTÉS et al., 2002), na horticultura (JEFFERIES; LAWSON, 1991), e mais recentemente na fruticultura, como em caqui (GARCÍA-CARBONELL et al., 2002), damasqueiro (PÉREZ-PASTOR et al., 2004), cherimoeira (CAUTÍN; AGUSTÍ, 2005), goiabeira (SALAZAR et al., 2006), quivazeiro (SALINERO et al., 2009), todos descritos de acordo com a escala BBCH.

Nesse contexto, objetivou-se estudar e/ou caracterizar as fases fenológicas do marmeleiro, segundo a escala BBCH, usando dados de vinte e uma cultivares e dois anos de estudo para assegurar a precisão das observações.

2.2 Materiais e métodos

Os dados foram coletados de plantas adultas (6 anos) de *Cydonia oblonga* (Miller), cultivares Constantinopla, Zuquerinetta, D'Angers, Alongado, Bereckzy, Du Lot, Smyrna, Meliforme, Champion, Pineapple, Lajeado, Mendonza Inta-37, Alaranjado, De Vranja, Apple, Portugal, De Patras, BA 29, Kiakami, CTS 207 e Radaelli, presentes no Banco de Germoplasma (BAG). O BAG pertence ao Centro Agropecuário da Palma (CAP), da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Município de Capão do Leão - RS (latitude de 31° 48' Sul, longitude de 52° 30'W e

altitude de 60m). O clima da região caracteriza-se como temperado úmido com verões quentes, conforme a classificação de Köppen, do tipo “Cfa”. A região possui temperatura e precipitação médias anuais de 17,9°C e 1.500 mm, respectivamente.

A área experimental foi constituída por 80 plantas, sendo que do total de quatro de cada cultivar, foram sorteadas três plantas por cultivar e em cada planta, marcados aleatoriamente quatro ramos (produtivos) seguindo a orientação norte, sul, leste, oeste. A fenologia foi acompanhada durante dois ciclos vegeto-produtivos (2008 e 2009) e os estádios fenológicos foram avaliados de uma a duas vezes por semana. A escala fenológica foi construída por meio de observações realizadas nas plantas e cada fase foi fotografada, possibilitando assim a comparação entre anos e cultivares em estudo. Também, foi determinado a duração de cada fase fenológica ao longo dos dois ciclos vegeto-produtivos, com o objetivo de elaborar uma escala cronológica para obter o ciclo produtivo de cada cultivar.

2.3 Resultados e discussão

2.3.1 Características da escala

Para o marmeleiro, segundo a escala BBCH, foram usados oito dos dez estádios principais, começando com o desenvolvimento de gema (estádio 0) e terminando na senescência (estádio 9). Os três principais estádios são atribuídos ao crescimento vegetativo, que descrevem o desenvolvimento de gemas (estádio 0), desenvolvimento foliar (estádio 1) e de brotos (ramos) (estádio 3). A escala completa-se com os estádios de floração (estádio 6), crescimento (estádio 7) e maturação dos frutos (estádio 8).

As fases secundárias também foram numeradas de 0 a 9, relacionando a valores ordinais ou percentuais de crescimento. Desse modo, o valor 1 que acompanha o estágio principal de crescimento 6 (florescimento) representa 10% das flores abertas, assim, a identificação foi 61. Da mesma forma, o valor 5 do estágio principal 7 (crescimento do fruto) representa frutos com 50% do tamanho final, e foi definido, portanto, como 75. Os valores das fases secundárias indicam fases

qualitativamente diferentes dentro de um determinado estágio fenológico principal, por exemplo, dentro da floração, o código 60 corresponde o início de flores abertas, enquanto que o código 67, a maioria das pétalas caídas.

2.3.2 Descrição dos estádios fenológicos para o marmeleiro

As avaliações do experimento iniciaram-se quando as gemas foliares estavam fechadas, cobertas por escamas de coloração castanho escuras, esbranquiçadas e felpudas, estendendo-se até a senescência, em que todas as folhas estavam caídas. A caracterização dos estádios fenológicos seguiu o padrão estabelecido por Meier et al. (1994), utilizando a escala BBCH, que já consta com a descrição para a macieira e a pereira. Assim, foram determinados os estádios fenológicos do marmeleiro (apresentados abaixo) para a região de Pelotas-RS.

• Estádio principal de crescimento 0: Desenvolvimento da gema

00: Dormência: as gemas estão completamente fechadas e cobertas por escamas de coloração castanho escuras, esbranquiçadas e felpudas (Fig. 1).

01: Início da expansão das gemas ou inchamento: gemas visivelmente inchadas; as escamas que formam a gema começam a se alongar e a se separar. (Fig. 1).

03: Fim da expansão das gemas.

07: Início da extremidade da primeira folha verde visível (Fig. 1).

09: Extremidade da folha verde cerca de 5 mm acima das escamas da gema.

• Estádio principal de crescimento 1: Desenvolvimento das folhas

10: Extremidade da folha verde com mais de 10 mm acima das escamas da gema; primeiras folhas separadas.

11: Primeiras folhas abertas (Fig. 1).

15: Mais folhas abertas, mas ainda não totalmente expandidas (Fig. 1).

19: Primeiras folhas totalmente expandidas (Fig. 1).

• Estádio principal de crescimento 3: Desenvolvimento dos brotos

31: O eixo de desenvolvimento dos brotos está visível.

35: Brotos com 50% do tamanho final (Fig. 1).

39: Brotos com 90% do tamanho final (Fig. 1).

● **Estádio principal de crescimento 5: Emergência da inflorescência**

51: Início da expansão das gemas de inflorescência; as escamas das gemas começam a se alongar e a se separar.

52: Fim da expansão das gemas.

53: Abertura da gema: extremidade da folha verde que envolve a flor está visível.

54: Extremidade da folha verde cerca de 5 mm acima das escamas da gema; primeiras folhas estão separadas.

55: Botão de flor visível (ainda fechado).

56: Botão de flor verde (ainda fechado) (Fig. 1).

57: Botão de flor rosa escuro: sépalas levemente abertas; pétalas se alongando; primeiras pétalas brancas visíveis (Fig. 1).

59: A maior parte das flores com pétalas brancas, formando uma esfera oca (balão) (Fig. 1).

● **Estádio principal de crescimento 6: Florescimento**

60: Primeiras flores abertas (Fig. 1).

61: Início da floração: com 10% das flores abertas.

65: Plena Floração: com pelo menos 50% das flores abertas, primeiras pétalas caindo (Fig. 1).

67: Queda das flores: maioria das pétalas caídas.

69: Fim do Florescimento: todas as pétalas caídas (Fig. 1).

● **Estádio principal de crescimento 7: Desenvolvimento do fruto**

71: Fruto com tamanho de até 10 mm.

72: Fruto com tamanho de até 20 mm (Fig. 1).

75: Fruto com aproximadamente metade do tamanho final (Fig. 1).

76: Fruto com aproximadamente 60% do tamanho final.

77: Fruto com aproximadamente 70% do tamanho final.

78: Fruto com aproximadamente 80% do tamanho final.

79: Fruto com aproximadamente 90% do tamanho final.

• **Estádio principal de crescimento 8: Maturação do fruto**

81: Início da coloração do fruto, primeiros sinais de mudança de coloração.

85: Aumento da intensidade da coloração; coloração específica da cultivar (amarelo) e queda de pêlos (Fig. 1).

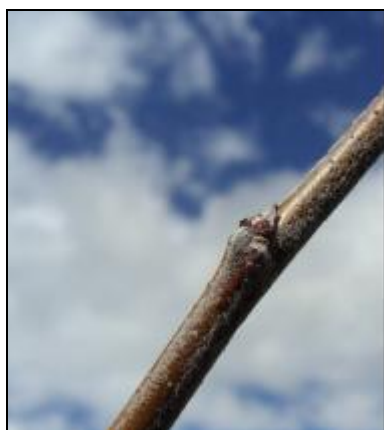
87: Fruto maduro para a colheita (Fig. 1).

• **Estádio principal de crescimento 9: Senescência, início de dormência**

91: Completo desenvolvimento de brotos; gema terminal desenvolvida; folhas totalmente verdes.

93: Início da queda das folhas.

97: Todas as folhas caídas (Fig. 1).



00



01



07



11



15



19



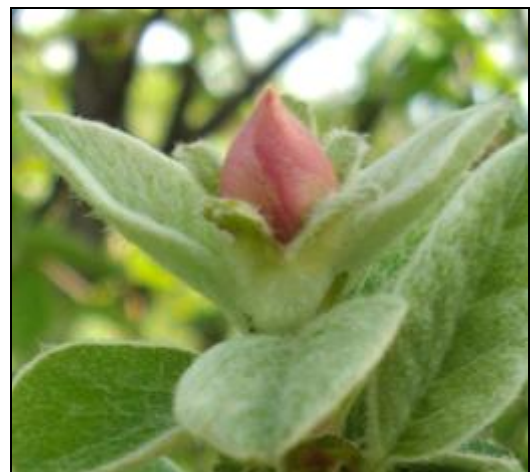
35



39



56



57



59



60



65



69



72



75



85



87



97

Figura 1 – Principais estádios fenológicos do marmeleiro segundo a escala BBCH.
FAEM/UFPeI, Capão do Leão, 2009.

2.3.3 Duração dos estádios fenológicos para o marmeleiro

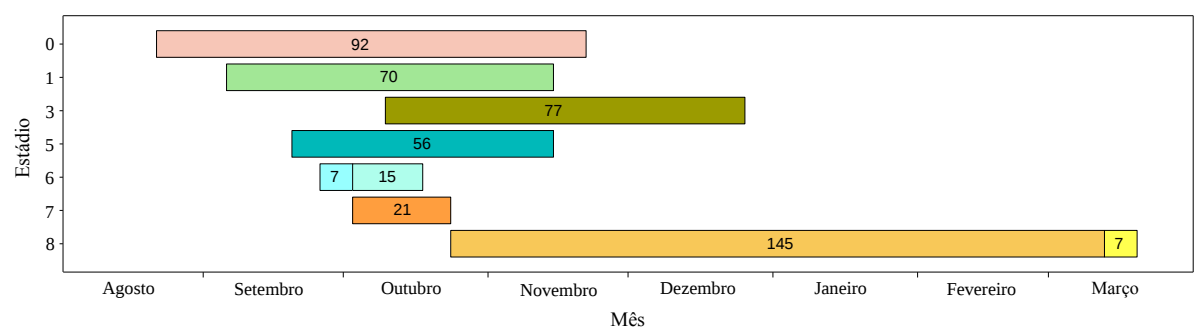
Baseado nos estádios fenológicos do marmeleiro descritos para a região de Pelotas / RS, foi traçado uma escala cronológica de desenvolvimento da planta para cada uma das cultivares estudadas. Esta escala descreve o tempo decorrido entre o início do desenvolvimento das gemas e a colheita do fruto maduro no ponto de consumo.

De acordo com a Fig. 2, as cultivares CTS 207 e Smyrna apresentaram o menor período vegetativo de 35 e 48 dias, respectivamente. Já as cultivares Bereckzy e Kiakami levaram respectivamente 69 e 76 dias para completar o mesmo período. As demais cultivares levaram entre 83 a 98 dias para atingir o fim desse período.

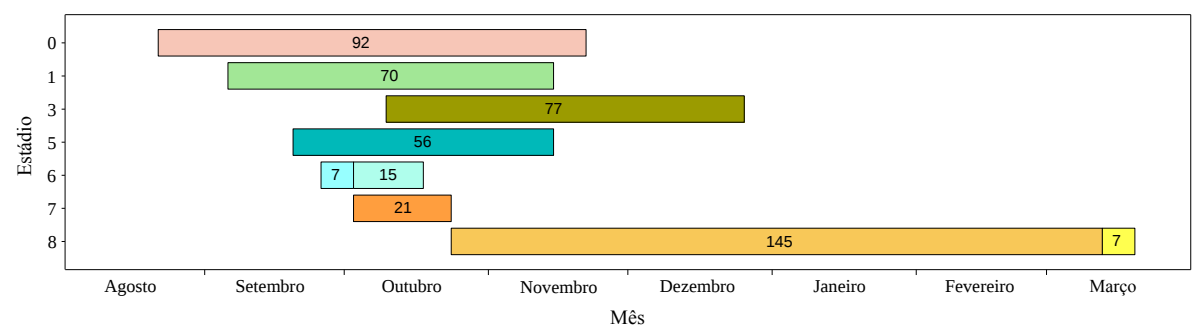
Por meio do estudo das fases fenológicas das 21 cultivares verificou-se a existência de diferenças no ciclo de produção, o que possibilitou a observação de três grupos. O primeiro grupo, mais precoce, foi formado pelas cultivares BA 29, Kiakami e CTS 207 com ciclo entre 210 e 213 dias contados a partir do início do desenvolvimento das gemas até a colheita dos frutos. As cultivares Constantinopla, Zuquerinetta, Pineapple, Lajeado, Mendonza Inta-37, Alaranjado, De Vranja, formaram um segundo grupo, apresentando um ciclo intermediário com 215 e 216 dias. Já as cultivares Apple, Portugal, De Patras, Radaelli, D'Angers, Alongado, Bereckzy, Du Lot, Smyrna, Meliforme e Champion mais tardias, uma vez que o ciclo foi concluído com 220 e 221 dias, após o início do desenvolvimento das gemas.

Com a descrição temporal do desenvolvimento das cultivares pode-se planejar melhor a escolha das cultivares a serem plantadas no pomar, tendo como intuito obter uma melhor distribuição da colheita ao longo da safra. Dessa maneira, a safra pode começar mais cedo e terminar mais tarde, aumentando o período de comercialização, e procurando obter melhores preços no mercado.

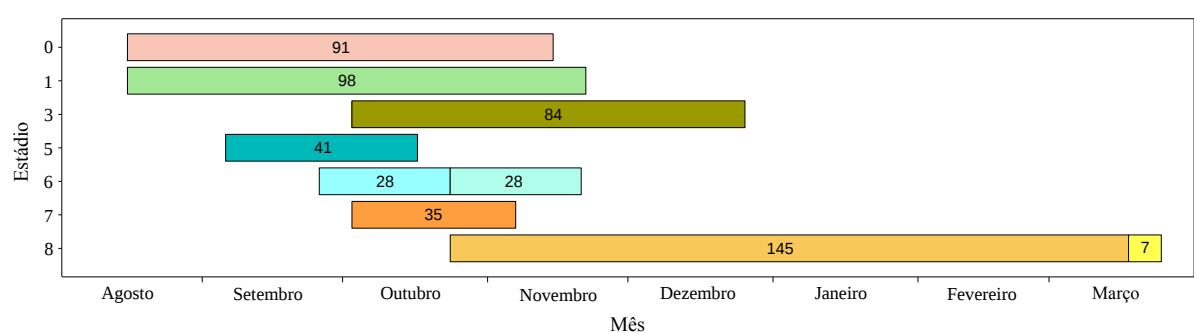
Cultivar Constantinopla - ciclo 215 dias



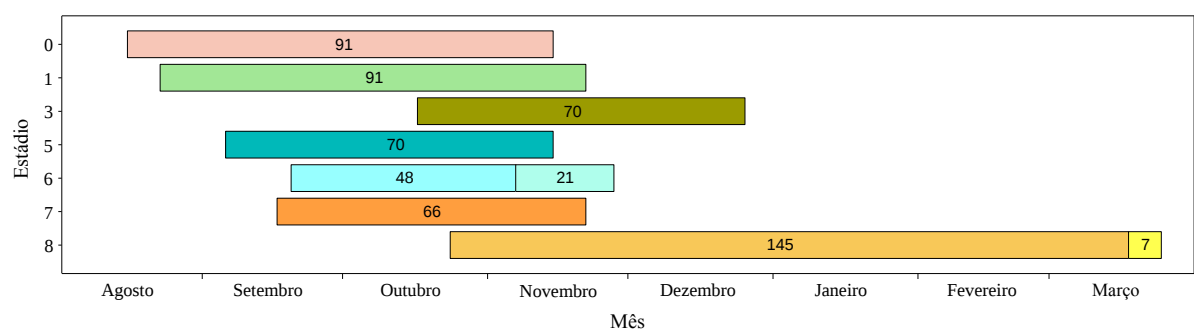
Cultivar Zuquerinetta - ciclo 215



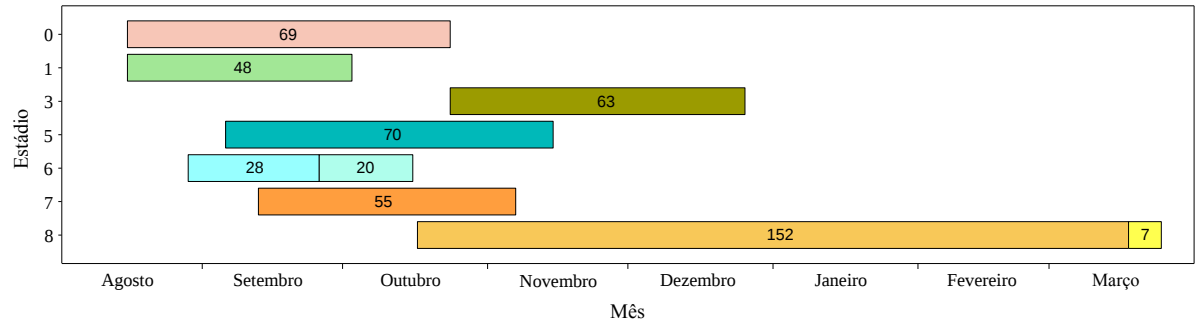
Cultivar D'Angers - ciclo 221 dias



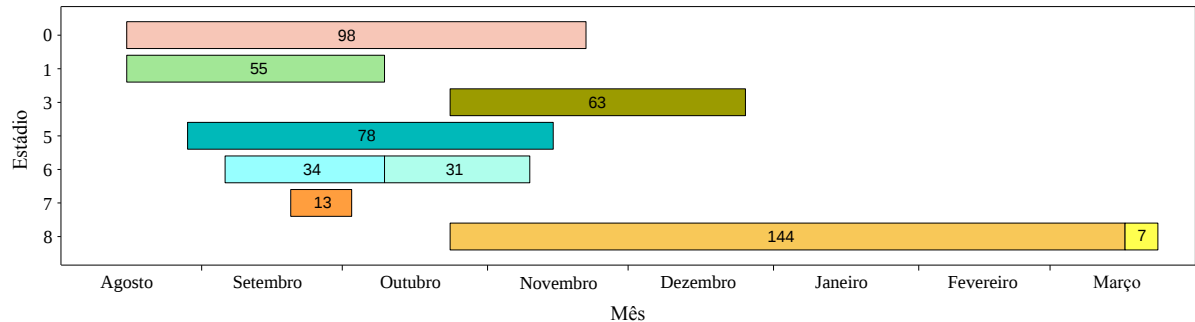
Cultivar Alongado - ciclo 221 dias



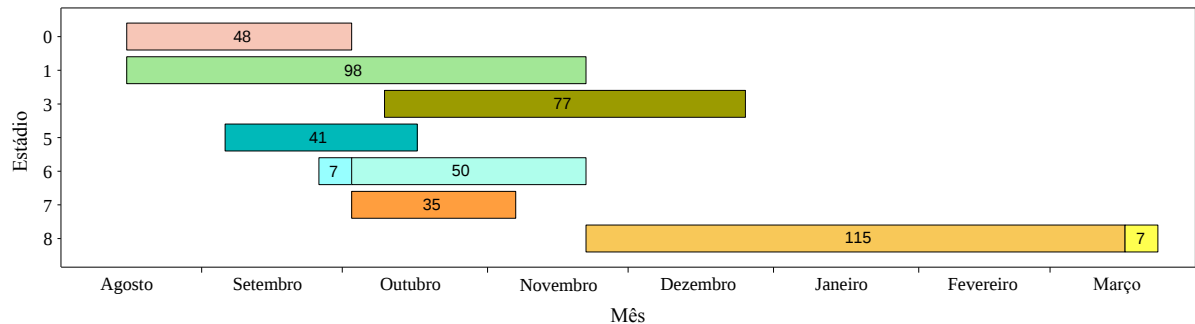
Cultivar Bereckzy - ciclo 221 dias



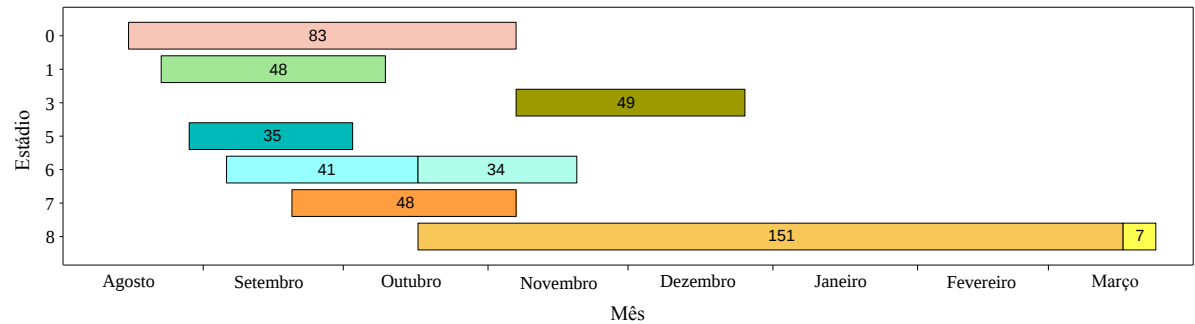
Cultivar Du Lot - ciclo 220 dias



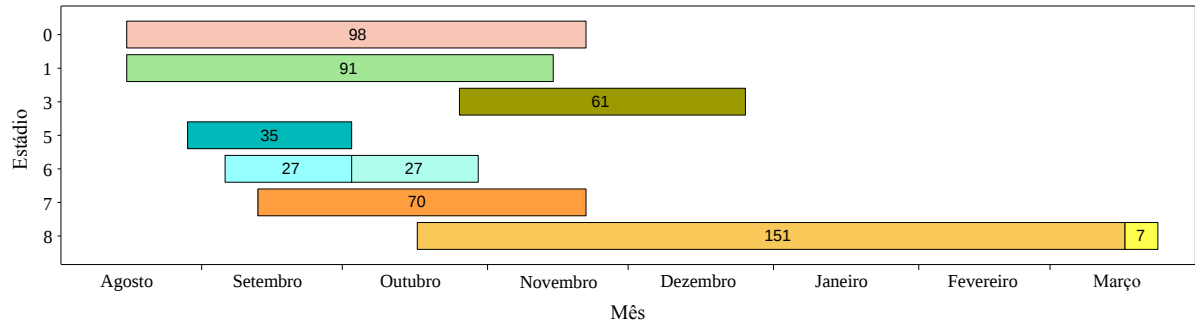
Cultivar Smyrna - ciclo 220 dias



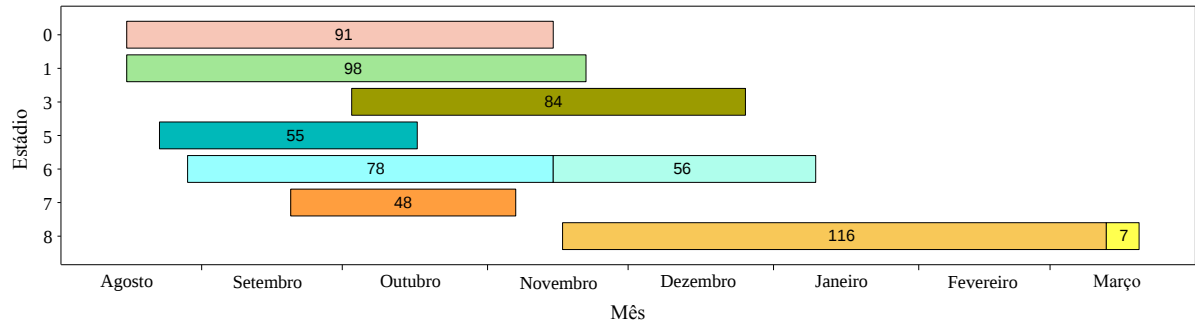
Cultivar Meliforme - ciclo 220 dias



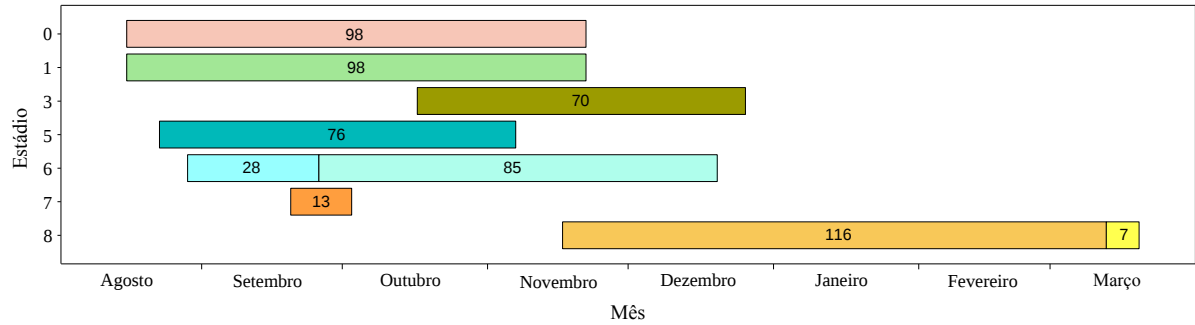
Cultivar Champion - ciclo 220 dias



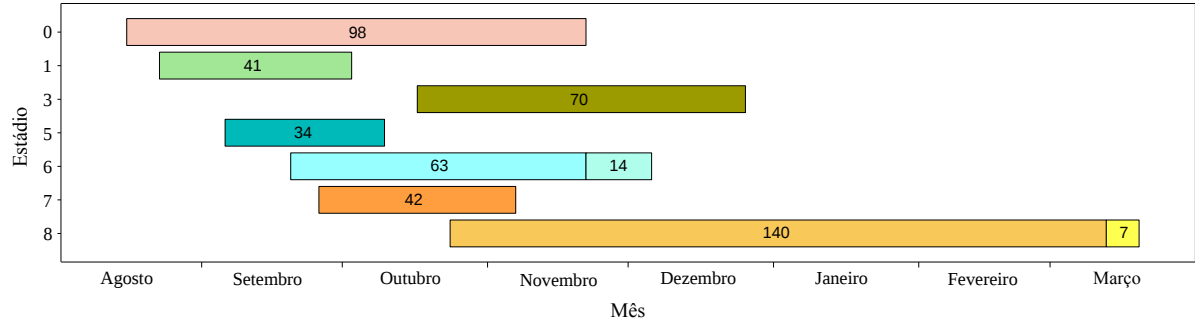
Cultivar Pineapple - ciclo 216 dias



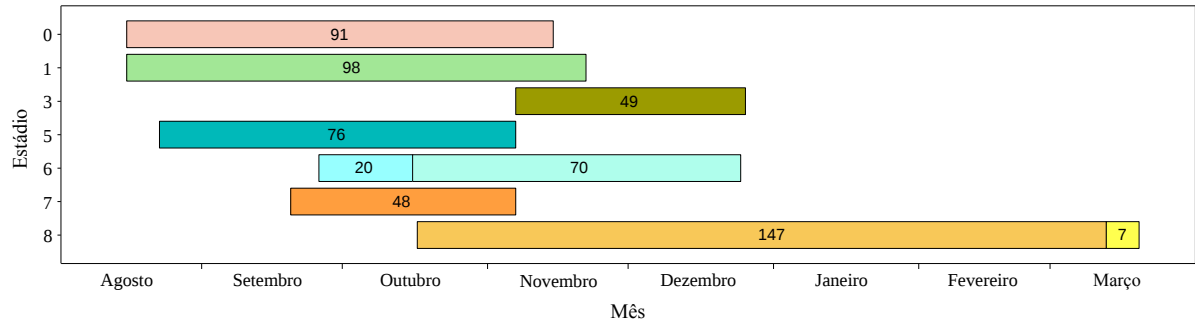
Cultivar Lajeado - ciclo 216 dias



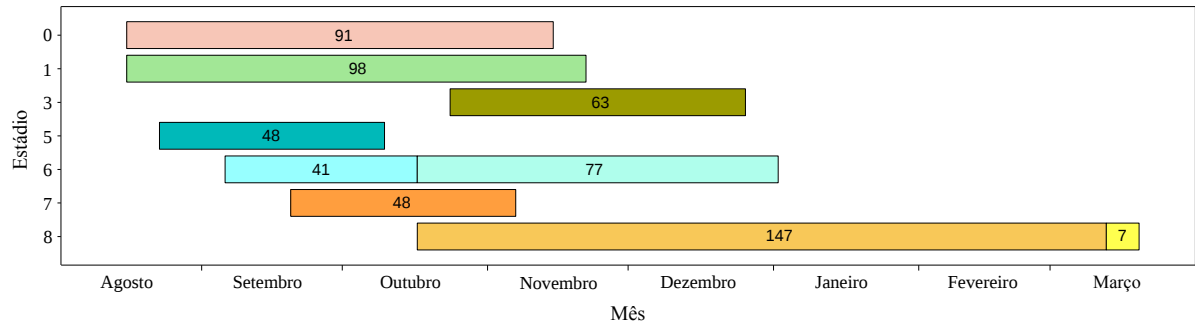
Cultivar Mendonza Inta-37 - ciclo 216 dias



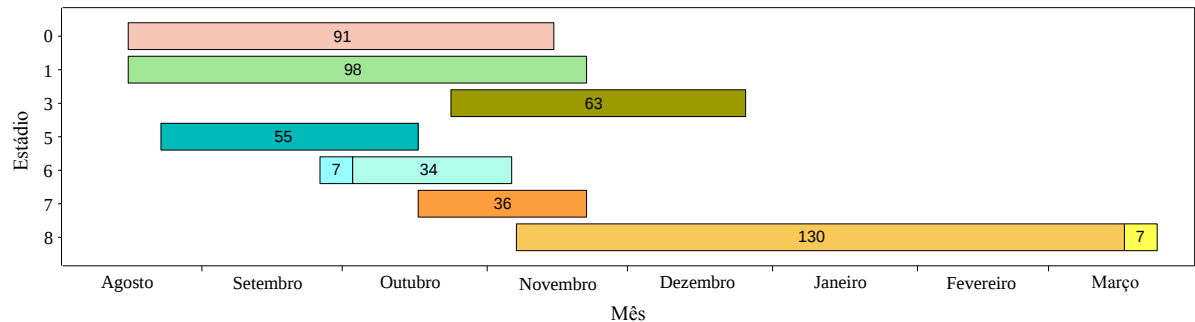
Cultivar Alaranjado - ciclo 216 dias



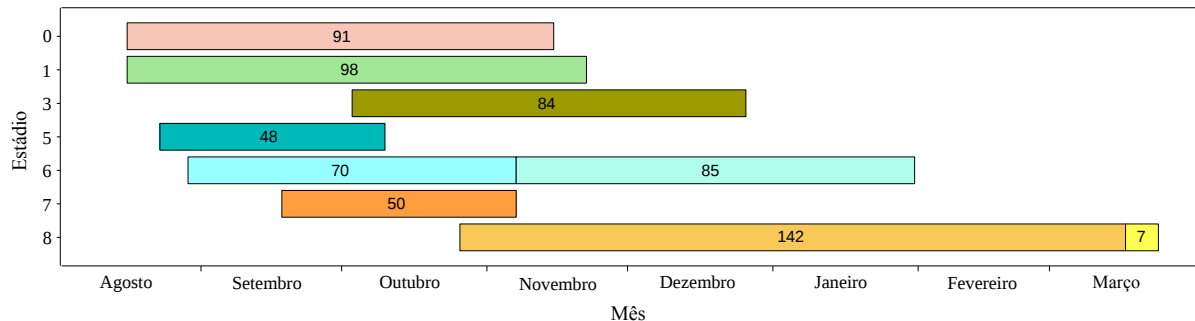
Cultivar De Vranja - ciclo 216 dias



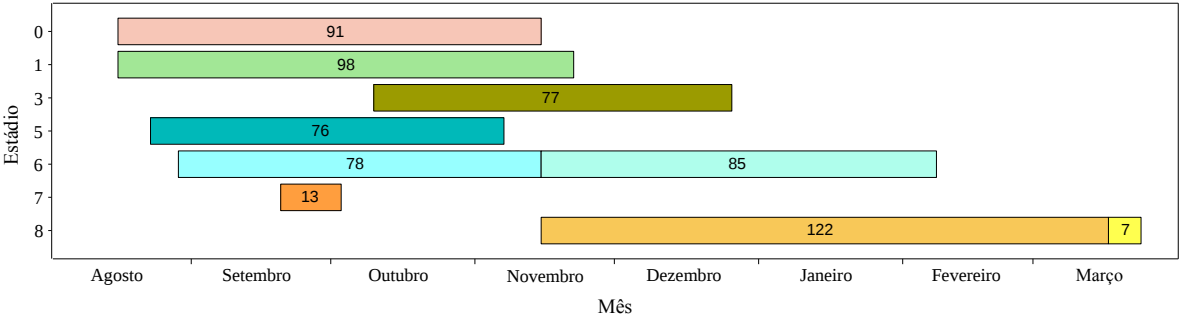
Cultivar Apple - ciclo 220 dias



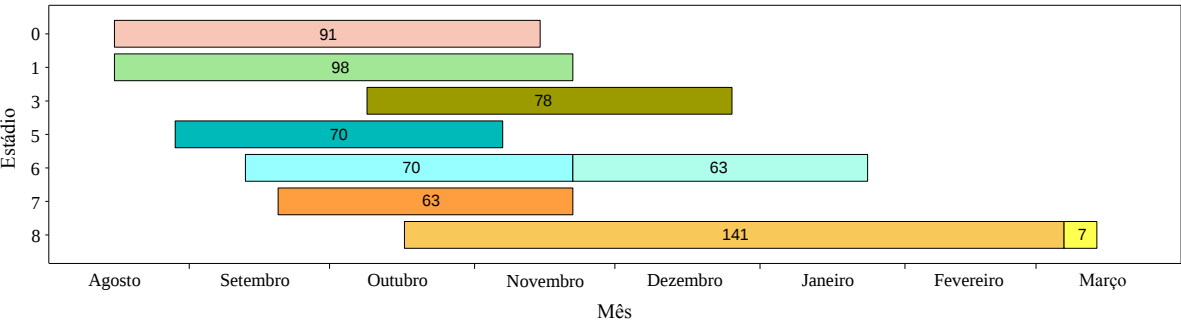
Cultivar Portugal - ciclo 220 dias



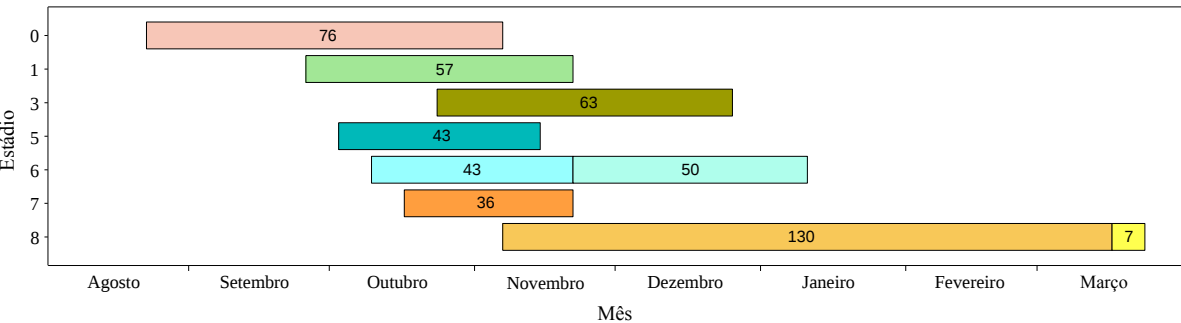
Cultivar De Patras - ciclo 220 dias



Cultivar BA 29 - ciclo 210 dias



Cultivar Kiakami - ciclo 213 dias



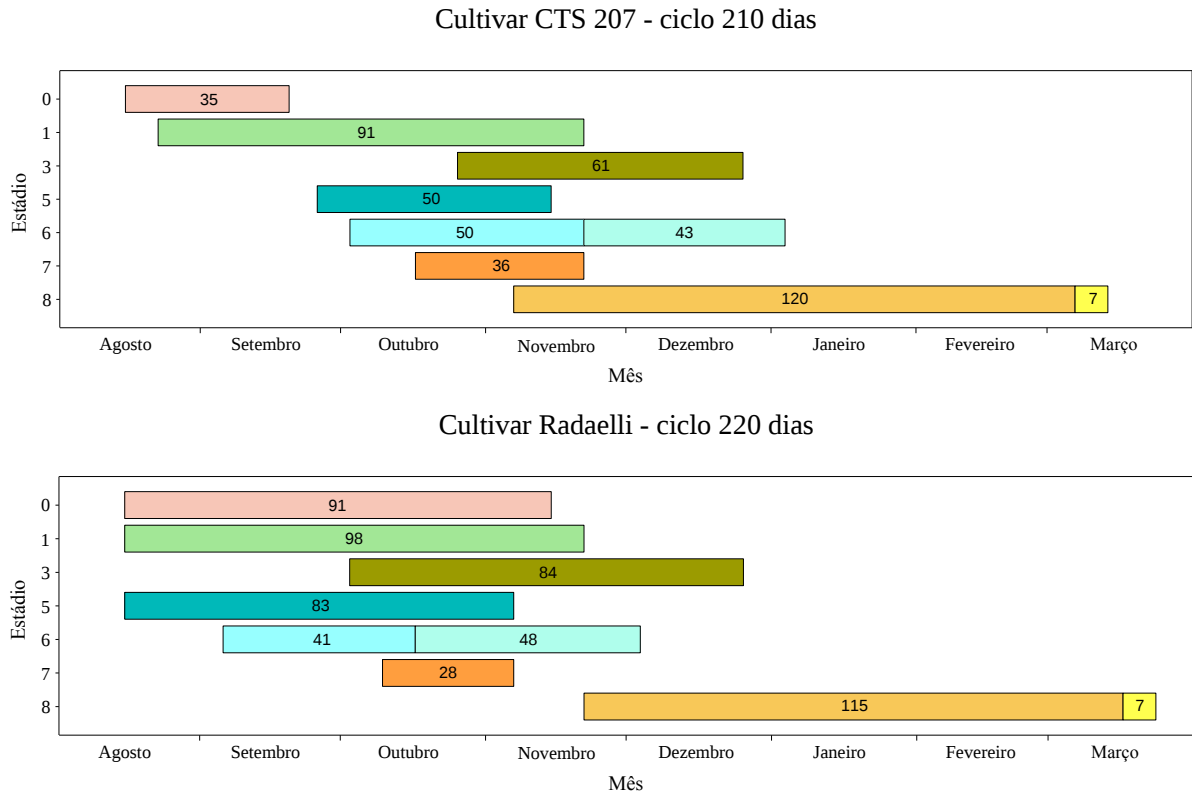


Figura 2 – Escala cronológica de desenvolvimento fenológico das 21 cultivares estudadas. FAEM/UFPEL, Capão do Leão, 2009.

2.4 Conclusões

A escala fenológica estabelecida para as 21 cultivares de *C. oblonga* contém oito estádios principais de desenvolvimento. Os estágios observados foram: 0 – Desenvolvimento da gema; 1 – Desenvolvimento das folhas; 3 – Desenvolvimento dos brotos; 5 – Emergência da inflorescência; 6 – Florescimento; 7 – Desenvolvimento dos frutos; 8 – Maturação dos frutos; 9 – Senescência, de acordo com a escala BBCH.

3 CAPÍTULO II - Caracterização físico-química, fitoquímica e multivariada de cultivares de marmeleiro

3.1 Introdução

O marmeleiro apresenta alta variabilidade genética, conforme já verificado por Scaramuzzi (1957), que caracterizou a existência de 30 cultivares diferentes na Europa, 19 nos EUA e 86 na antiga URS. O mesmo autor salienta que a classificação botânica torna-se difícil pela quantidade de sinônimos, polimorfismo de frutos e folhas e, sobretudo, pela existência de muitas plantas propagadas por sementes. Nuzzo; Dichio; Xiloyannis (1999), estudaram 22 cultivares italianas e encontraram grande variabilidade quanto ao vigor da planta, produtividade, florescimento, tamanho e peso de fruto. Da mesma forma, outros autores também relataram o problema da variabilidade genética dessa espécie (SHAO; LU, 1995; ERCISLI; GULERYUZ; ESITKEN, 1999; YARLGAC, 2001; SRIVASTAVA et al., 2005). Mais recentemente, Rodríguez-Guisado et al. (2009), avaliaram cinco clones de marmeleiro pertencentes ao Banco de Germoplasma da Espanha, selecionando o material quanto às características morfológicas, químicas e sensoriais.

Apesar do fruto do marmeleiro não ser muito apreciado para consumo *in natura* devido à dureza da polpa, acidez e adstringência, sua planta é o porta-enxerto mais importante na cultura da pereira. Os marmeleiros são amplamente adotados como porta-enxertos clonais para variedades de pereira européia (*Pyrus communis* L.) (WERTHEIM, 2002) e mais de 90% dos pomares de pêra, na Itália, encontram-se enxertados sobre marmelos (SANSAVINI; MUSACCHI, 2002). Os marmeleiros clonais permitem o controle do tamanho da planta, resultando na redução do vigor

(LOCKARD; SCHNEIDER, 1981), possibilitando assim, o plantio em alta densidade. Ocorre, ainda, uma demanda na utilização do marmelo, seja para marmeladas, compotas ou geléias, em função do fruto apresentar altos rendimentos no processamento (SILVA et al., 2002b, 2004a,b, 2005b, 2006).

Estudos como os de Silva et al. (2006) e Oliveira et al. (2007), mostram que o marmelo é um fruto que concentra uma grande diversidade de fitoquímicos que são considerados potentes agentes antioxidantes. Particularmente, a casca, tem teores elevados de polifenóis e carotenóides, que contribuem com a coloração amarelada do fruto maduro. Em estudos recentes, o foco sobre a atividade antioxidante em marmelo, relacionando a capacidade de inativação dos radicais livres com a atividade anti-proliferativa vem sendo atribuída ao grupo dos ésteres fenólicos, triterpenos, esteróides (ALESIANI et al., 2010). Porém, o teor desses compostos varia extremamente entre partes do fruto, como casca, polpa ou semente (MAGALHÃES et al., 2009).

A literatura relaciona os produtos resultantes do processamento do marmelo com as características físico-químicas (SILVA et al., 2006), e/ou a utilização de extratos a partir de folhas, casca, polpa e sementes do fruto com as propriedades fitoquímicas (COSTA et al., 2009; MAGALHÃES et al., 2009; ALESIANI et al., 2010). No entanto, não há estudos que caracterizam diferenças entre cultivares, considerando a composição físico-química e características fitoquímicas dos frutos na forma *in natura*. Nesse contexto, o objetivo foi avaliar 21 cultivares de marmelo quanto às propriedades físico-químicas e fitoquímicas dos seus frutos.

3.2 Materiais e métodos

Os marmelos (*Cydonia oblonga* (Miller)) utilizados foram das cultivares: Constantinopla, Zuquerinetta, D'Angers, Alongado, Bereckzy, Du Lot, Smyrna, Meliforme, Champion, Pineapple, Lajeado, Mendonza Inta-37, Alaranjado, De Vranja, Apple, Portugal, De Patras, BA 29, Kiakami, CTS 207 e Radaelli, oriundos de plantas presentes no Banco de Germoplasma (BAG). O BAG pertence ao Centro Agropecuário da Palma (CAP), da Universidade Federal de Pelotas (UFPeL), Município de Capão do Leão - RS (latitude de 31° 48' Sul, longitude de 52° 30'W e

altitude de 60m). O clima da região caracteriza-se como temperado úmido com verões quentes, conforme a classificação de Köppen, do tipo “Cfa”. A região possui temperatura e precipitação médias anuais de 17,9°C e 1.500 mm, respectivamente.

Os frutos foram colhidos manualmente e aleatoriamente em diversas posições e quadrantes nas plantas durante a safra de 2008/2009, de acordo com o ponto de colheita (estádio 87) determinado visualmente para cada cultivar utilizando a escala BBCH (MEIER et al., 1994). O experimento foi conduzido no Laboratório de Metabolismo Secundário e de Cromatografia do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel na Universidade Federal de Pelotas.

Os padrões cromatográficos para a determinação de carotenóides foram: β -cryptoxantina, licopeno, luteína e zeaxantina, obtidos da Chromadex (Irvine, USA); e o β -caroteno obtido da Fluka (Saint Louse, USA), todos com 97% de pureza. Para a determinação de tocoferóis foram: α -, δ - e γ - tocoferol, obtidos da Sigma Aldrich (Steinheim, Germany) com 90-99% de pureza. Os reagentes para as demais análises foram de grau p.a.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, as unidades experimentais foram compostas por 3 plantas por tratamento, de cada qual avaliaram-se 20 frutos. As variáveis independentes foram as cultivares, com 21 níveis (Constantinopla, Zuquerinetta, D’Angers, Alongado, Bereckzy, Du Lot, Smyrna, Meliforme, Champion, Pineapple, Lajeado, Mendonza Inta-37, Alaranjado, De Vranja, Apple, Portugal, De Patras, BA 29, Kiakami, CTS 207 e Radaelli) e partes do fruto, com dois níveis (casca e polpa). As variáveis físico-químicas dependentes foram:

a) cor da epiderme, mensurada com colorímetro eletrônico, marca Minolta 300, com iluminante D65 e abertura de 8 mm, L^* , a^* e b^* (CIE-Lab). Foram realizadas duas leituras em faces opostas de cada fruto, utilizando-se 20 frutos por planta de cada cultivar. A partir das leituras foram calculados os valores da tonalidade da cor (ângulo Hue), expressa em graus, pela fórmula $h^\circ = \tan^{-1} b^*/a^*$;

b) firmeza da polpa, com penetrômetro manual, munido de ponteira de 8 mm de diâmetro. Em cada marmelo íntegro foram realizadas duas leituras na seção equatorial em faces diametralmente opostos após remoção da epiderme. Os resultados foram expressos em Newtons (N);

c) sólidos solúveis (SS), diretamente no suco dos frutos, usando-se um refratômetro digital com compensação automática de temperatura. Os resultados foram expressos em °Brix;

d) acidez titulável (AT), através da diluição de 10 mL de suco de 5 frutos homogeneizados em 90 mL de água destilada e posterior titulação com solução de NaOH 0,1N. Utilizou-se pHmetro digital Handylab 1 (Schott®), até pH 8,10 (ponto de viragem), sendo os resultados expressos em % ácido málico;

e) índice de maturação (relação SS/AT), obtida através do quociente entre as duas variáveis;

As variáveis fitoquímicas, avaliadas na casca e na polpa, foram:

f) carotenóides totais, pelo método descrito por Rodriguez-Amaya (1999). A absorbância foi determinada a 450 nm e os resultados expressos em micrograma de β -caroteno por grama de amostra;

g) carotenóides individuais, a extração seguiu a mesma metodologia descrita para a extração de carotenóides totais, segundo o método de Rodriguez-Amaya (1999); no entanto, nesta determinação foi realizada uma saponificação no extrato etéreo, segundo Zambiasi (1997). Após a amostra foi centrifugada, retirada o sobrenadante e deste removido uma alíquota de 20 μ L e injetada em cromatógrafo HPLC (líquido de alta eficiência).

O cromatógrafo consistiu no sistema HPLC-Shimadzu, com injetor automático, detector UV-visível, coluna de fase reversa RP-18 CLC-ODS (5 μ m, 4,6 mm x 150 mm) com fase estacionária octadecil e uma coluna de guarda CLC-GODS (4), com fase estacionária de superfície octadecil. A fase móvel consistiu em um gradiente de eluição (tab. 1) com metanol, acetonitrila e acetato de etila, em um fluxo de 1 mL.min⁻¹, a um comprimento de onda de 450 nm, durante 40 minutos. Os picos foram identificados por comparação com os tempos de retenção dos padrões e quantificados através de curvas de calibração de padrão externo de β -criptoxantina, licopeno, luteína e β -caroteno e os resultados foram expressos em micrograma por 100 g⁻¹ de amostra;

Tabela 1 - Programa do gradiente de eluição dos solventes para separação de carotenóides em marmelos (*Cydonia oblonga* Miller)

Tempo (minutos)	Fase móvel	Fase móvel (%)
0	A	30
	B	70
	C	0
10	A	10
	B	80
	C	10
35	A	5
	B	80
	C	15
40	A	30
	B	70
	C	0

h) tocoferol (vitamina E), a extração de tocoferóis foi realizada segundo método descrito por Rodriguez-Amaya (1999), a qual é similar a extração dos carotenóides. Após a extração da fase etérea, esta foi separada e centrifugada a 9000 rpm por 10 minutos (microcentrifugue NT800 Nova Técnica - São Paulo, Brasil) e o sobrenadante transferido a um vial de 1,5 mL para a injeção de uma alíquota no cromatógrafo (HPLC).

A análise por cromatografia líquida de alta eficiência consistiu no sistema HPLC-Shimadzu, equipado com injetor automático e detector de fluorescência, com comprimentos de onda de excitação e de emissão, 290 e 330 nm, respectivamente. A separação foi desenvolvida em coluna de fase reversa RP-18 (5µm, 4,6 mm x 150 mm) com fase estacionária octadecil, operando a temperatura de 25°C com fluxo de 1,0 mL min⁻¹. A separação foi efetuada utilizando um sistema de eluição por gradiente, utilizando como fases móveis o metanol, acetonitrila e isopropanol (tab. 2), seguindo a metodologia adaptada de Zambiasi (1997).

Tabela 2 - Programa do gradiente de eluição dos solventes na separação de tocoferóis em marmelos (*Cydonia oblonga* Miller)

Tempo (minutos)	Fase móvel	(%) Fase móvel
0	A	40
0	B	50
0	C	10
10	B	30
10	A	65
10	C	5
12	B	50
12	A	40
12	C	10
15	B	50
15	A	40
15	C	10

Para a quantificação de α -, δ - e γ -tocoferol utilizou-se uma curva de padrão externo, preparada com os padrões cromatográficos correspondentes. A quantificação de β -tocoferol foi realizada baseada na curva de calibração do δ -tocoferol, porque estes dois compostos não são separados no processo cromatográfico, e, portanto, são quantificados conjuntamente. Os resultados foram expressos em micrograma por 100 g^{-1} de amostra. O conteúdo total de tocoferóis no marmelo foi expresso em $\text{mg } 100\text{ g}^{-1}$ de amostra, sendo determinado pela soma dos tocoferóis individuais;

i) compostos fenólicos totais, quantificados de acordo com o método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965). A absorbância foi determinada a 725 nm. Foi utilizado o ácido gálico para a obtenção da curva padrão, e os resultados foram expressos em miligramas equivalentes a ácido gálico (mg EAG) por 100 g de amostra;

j) capacidade antioxidante, determinada através do método do sequestro de radicais livres do DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) segundo Brand-Williams; Cuvelier; Berset (1995). As leituras foram realizadas a 517 nm após 30 minutos de reação a 23°C . Foi preparada uma curva padrão com Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-

tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) e os resultados foram representados em TEAC, ou seja, capacidade antioxidante equivalente de Trolox ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ de peso da matéria fresca).

Os dados foram analisados quanto à sua homocedasticidade e, posteriormente, submetidos à análise de variância ($P \leq 0,05$). Os efeitos de cultivar e partes do fruto (casca e polpa) foram avaliados pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Os valores dos intervalos de confiança de 95% foram plotados nos gráficos e mostram as diferenças significativas entre as médias dos tratamentos (SigmaPlot® 9.0). A presença de correlações entre as variáveis dependentes do estudo foi analisada através do coeficiente de correlação de Pearson. A Análise de Componentes Principais (ACP) foi agrupada em função do comportamento dos tratamentos (SAS INSTITUTE, 2002).

3.3 Resultados e discussão

De acordo com os resultados obtidos para as variáveis físico-químicas (Fig. 3, 4, 5, 6 e 7), pode-se verificar que o genótipo (cultivar) afetou significativamente a coloração, a firmeza da polpa, os SS, a AT e a relação SS/AT. Desse modo, a hipótese do trabalho foi aceita, ou seja, as 21 cultivares em estudo diferem quanto aos parâmetros físico-químicos avaliados no fruto *in natura*, embora o comportamento dos dados mostre que as cultivares sejam muito semelhantes (Fig. 8).

A cor da epiderme é, entre os parâmetros físico-químicos, um parâmetro crítico de qualidade, e a sua determinação torna-se útil para correlacionar com a concentração de pigmentos presentes no fruto. Métodos de quantificação de antocianinas totais e índices de cor vêm sendo estabelecidos e utilizados em aplicações de controle industrial (NGO; WROLSTAD; ZHAO, 2007). Desse modo, pode-se observar (Fig. 3 - A e 3 - A) que as cultivares Champion, Alongado e Bereckzy caracterizaram os menores valores para L (63,40; 64,61; 64,64; respectivamente) e positivos para b^* , o que significa que a epiderme desses frutos apresentou um tom de amarelo mais escuro. Essa coloração é favorável

comercialmente, por ser uma tonalidade que se busca nas cultivares de marmelo, considerando que os consumidores preferem frutas bem amareladas.

Com relação aos valores do ângulo Hue (Fig. 4 - B), todas as cultivares obtiveram valores próximos ao amarelo ($h=90^\circ$), o que era esperado. As cultivares Alongado, Smyrna, Meliforme, Champion e Pineapple têm um comportamento muito semelhante, ou seja, valores de Hue mais distantes de 90° (Fig. 3 - B) e a^* com menores valores (Fig. 3 - B), o que mostra uma cor de fundo esverdeada, caracterizando assim o amarelo-esverdeado.

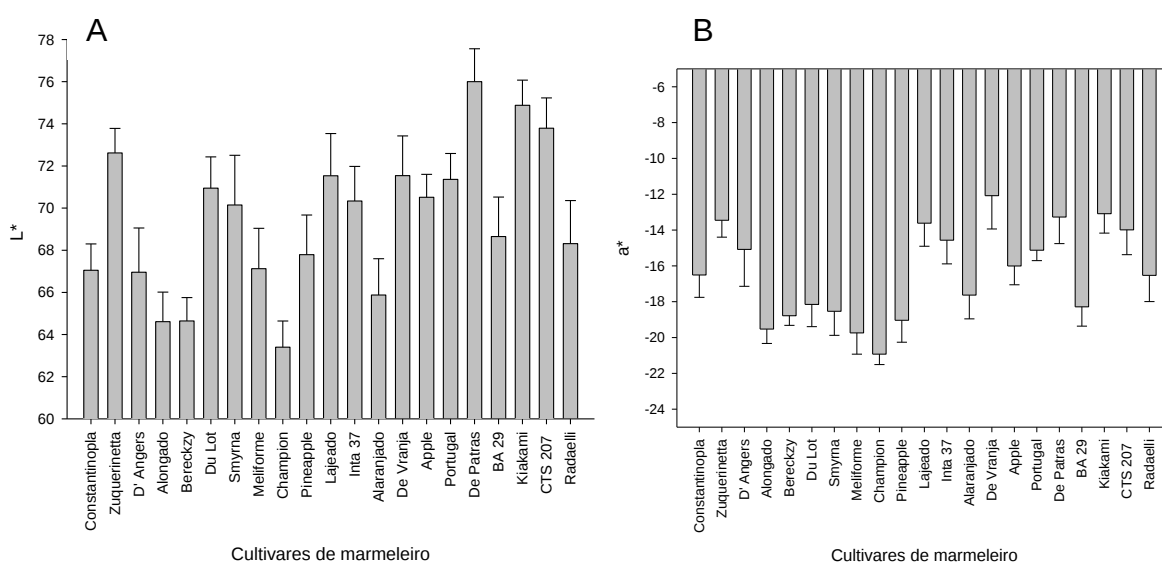


Figura 3 - Valores de Luminosidade (L^* : 0 = preto, 100 = branco) (A) e coordenada de cromaticidade a^* (+a = vermelho, -a = verde) (B) referentes à coloração da epiderme de 21 cultivares de marmeleiro. FAEM/UFPeI, Capão do Leão-RS, 2009.

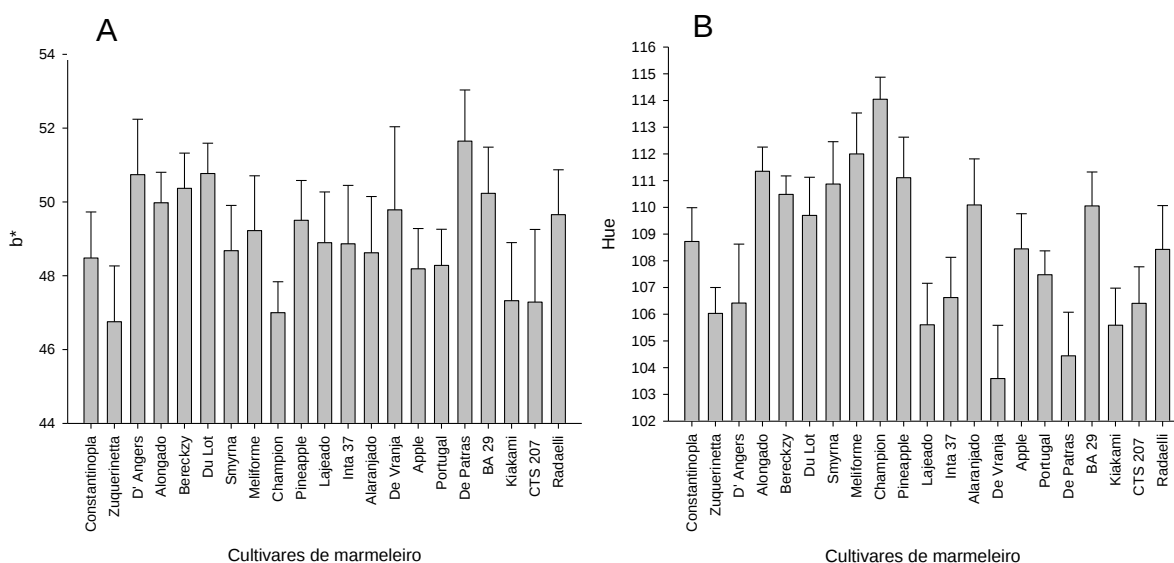


Figura 4 - Valores da coordenada de cromaticidade b^* ($+b$ = amarelo, $-b$ = azul) (A) e do ângulo Hue (0° = vermelho, 90° = amarelo, 180° = verde, 360° = azul) (B) referentes à coloração da epiderme de 21 cultivares de marmeleiro. FAEM/UFPEI, Capão do Leão-RS, 2009.

Quanto à variável firmeza de polpa (Fig. 5), os maiores valores foram das cultivares Champion, CTS 207, Apple e Portugal, variando de 93,13 a 106,38 N e os menores em Du Lot (54,41 N) e De Vranja (68,71 N). Esses valores estão bem acima dos encontrados por Ercisli; Guleryuz; Esitken (1999), que comparou cultivares nativas da Turquia (11,86 a 13,82 N). Por outro lado, Yarlgaç (2001), caracterizou a firmeza de polpa de marmelos em outra região da Turquia e obteve valores variando de 41,16 a 51,94 N), valores esses bem próximos aos encontrados para Du Lot e De Vranja. Já, Rodríguez-Guisado et al. (2009), obteve para o clone MEMB5 uma firmeza de polpa de 91,24 N, valor esse bem superior aos trabalhos citados anteriormente. Segundo Paiva; Fioravanço; Manica (1995) a firmeza dos frutos é influenciada por vários fatores, entre eles, as condições climáticas durante o período de colheita e a variabilidade genética.

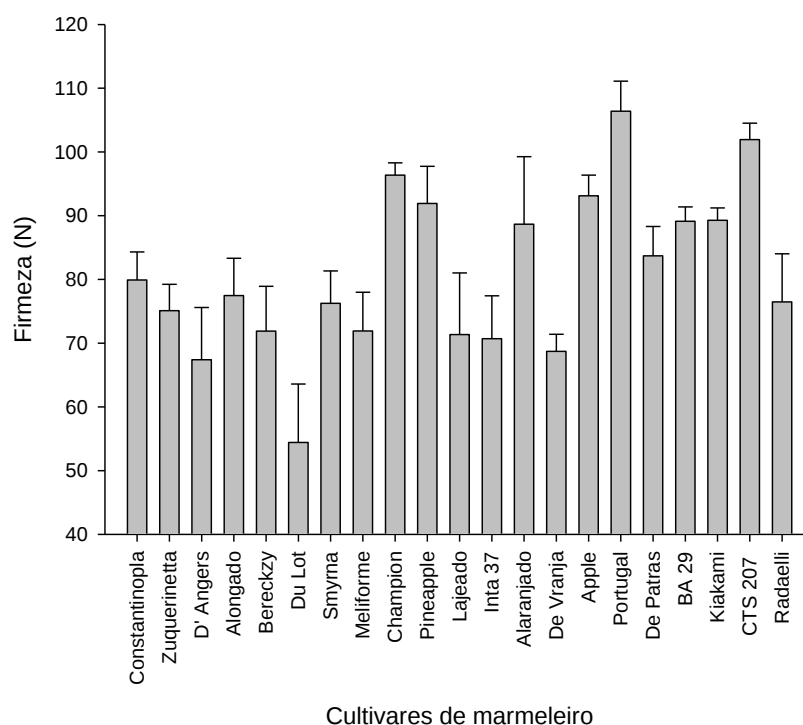


Figura 5 - Valores de firmeza de polpa (N) referentes à coloração da epiderme de 21 cultivares de marmeleiro. FAEM/UFPel, Capão do Leão-RS, 2009.

A avaliação do teor de sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix) também estabeleceu diferenças significativas entre as cultivares (Fig. 6). Enquanto que 'Smyrna' apresentou o menor teor de SS (9,83 $^{\circ}$ Brix), resultados superiores foram encontrados para 'D'Angers' (12,4 $^{\circ}$ Brix) e 'Champion' (12 $^{\circ}$ Brix). Velickovic; Jelacic; Radivojevic (2001) avaliaram características pomológicas, tecnológicas e medicinais nas cultivares Yugoslavian Vranjska e Leskovacka e obtiveram 12,56 $^{\circ}$ Brix e 13,16 $^{\circ}$ Brix, respectivamente. Do mesmo modo, Ercisli; Guleryuz; Esitken (1999) e Rodríguez-Guisado et al. (2009) constataram variação entre os clones estudados e as maiores variações foram encontradas por Yarlgaç (2001), trabalhando com 19 cultivares turquesas, seus teores de SS variaram de 9,95 $^{\circ}$ Brix a 17,8 $^{\circ}$ Brix.

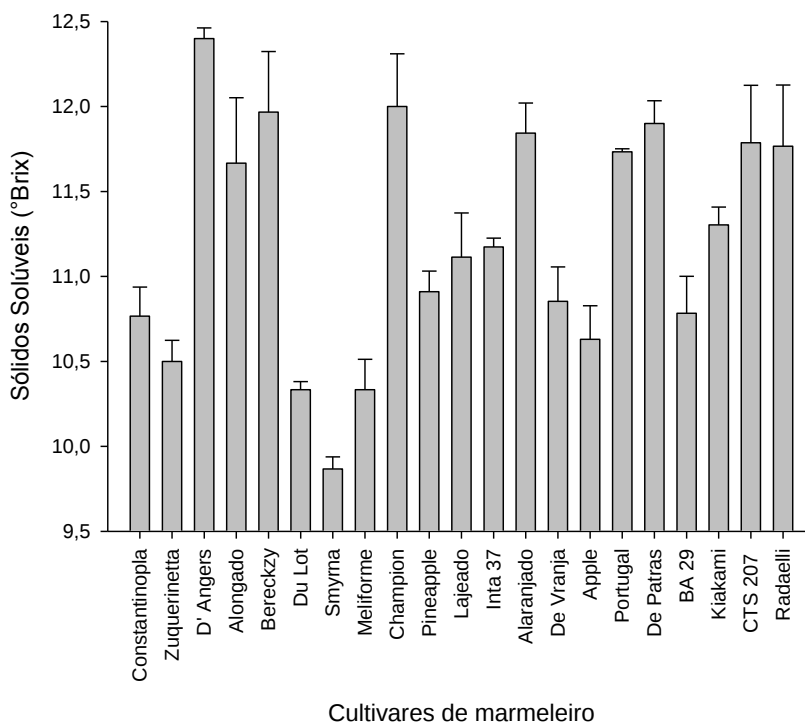


Figura 6 - Valores de sólidos solúveis (°Brix) referentes a 21 cultivares de marmeleiro. FAEM/UFPel, Capão do Leão-RS, 2009.

O teor de acidez no marmelo é representado principalmente pela presença do ácido málico, que é o ácido orgânico majoritário nesses frutos, conforme quantificado por Rodríguez-Guisado et al. (2009) utilizando cromatografia líquida de alta eficiência. Esse mesmo autor detectou a maior concentração de acidez (0,80% de ácido málico) no clone MEMB2, valor esse similar aos encontrados para De Vranja, Apple e Zuquerinetta (0,74; 0,81; 0,82% de ácido málico, respectivamente) e bem inferior em relação à De Patras (1,53% de ácido málico) (Fig. 7 - A).

Os valores de acidez titulável das cultivares De Vranja, Apple e Zuquerinetta foram responsáveis pelo maior índice de maturação (Fig. 7 – B) atribuído as mesmas (14,64; 13,13; 12,78, respectivamente), valores esses bem inferiores aos encontrados por Rodríguez-Guisado et al. (2009).

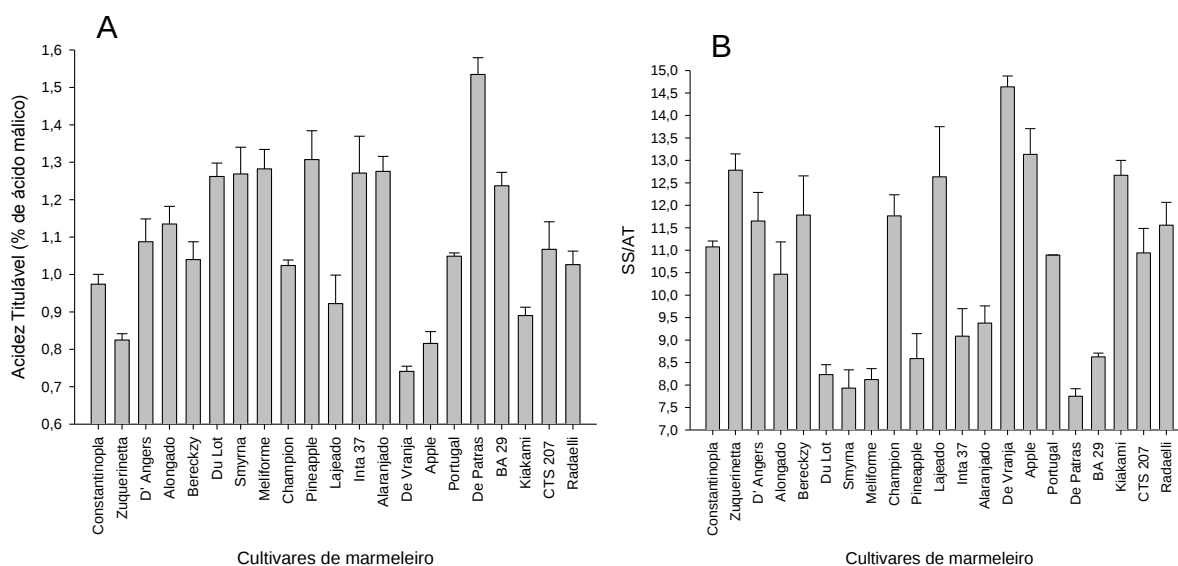


Figura 7 - Valores de acidez titulável (% de ácido málico) (A) e índice de maturação (SS/AT) (B) referentes à 21 cultivares de marmeleiro. FAEM/UFPEL, Capão do Leão-RS, 2009.

A dispersão gráfica para as características físico-químicas (Fig. 8), utilizando-se dois primeiros componentes principais, mostrou que eles explicaram 93% da variabilidade total, CP1 (70%) e CP2 (23%). A firmeza da polpa respondeu a 99% da resposta do CP1 e enquanto que o parâmetro L, da coloração, respondeu a 92% para o CP2. Isso indica que as demais variáveis físico-químicas não influenciaram na caracterização dessas cultivares. Para estas variáveis não foi possível realizar o agrupamento, mas pode-se afirmar pelo gráfico, que as cultivares Champion, Kiakami, Portugal, Du Lot apresentam características físico-químicas diferenciadas das demais.

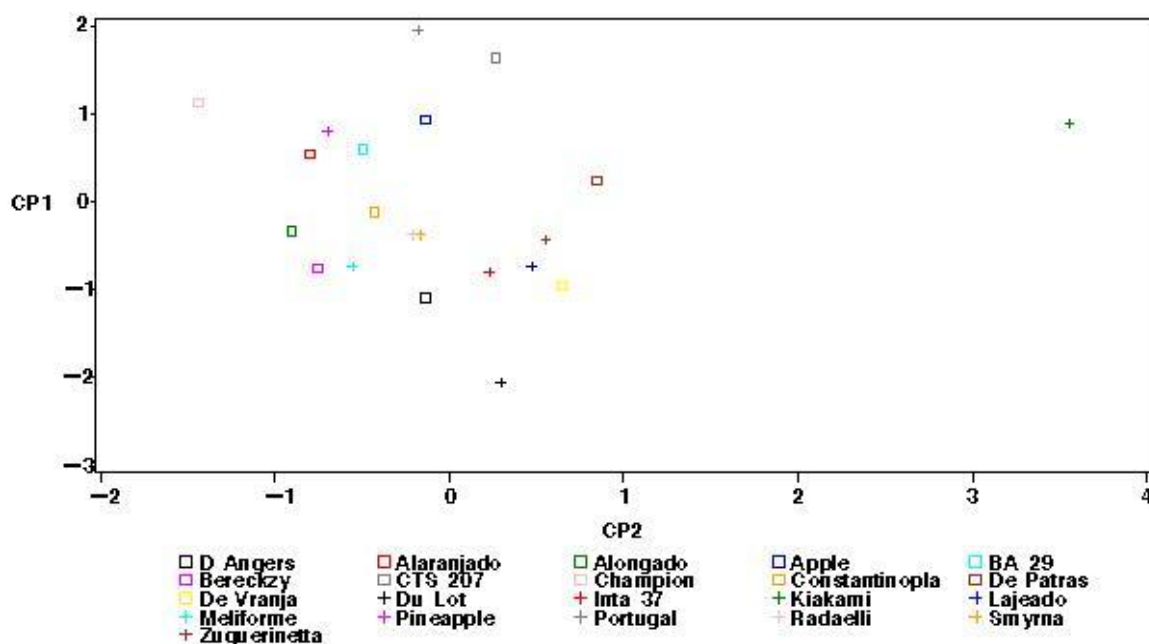


Figura 8 - Dispersão gráfica de 21 cultivares de marmeleiro, utilizando-se dois primeiros componentes principais (CP1 e CP2) para variáveis físico-químicas. FAEM/UFPel, Capão do Leão-RS, 2009.

No que concerne aos carotenóides, compostos fenólicos e capacidade antioxidante, também houve efeito da cultivar (Fig. 9, 12 e 13) e distribuição distinta dos mesmos entre casca e polpa.

Quanto aos carotenóides totais, a polpa do fruto não apresentou concentrações possíveis de serem detectadas pelo espectrofotômetro. Esse comportamento é coerente com o fato de que os carotenóides são sintetizados junto aos plastídeos, majoritariamente localizados em células da epiderme, no caso de marmelo e demais rosáceas.

A casca, por outro lado, possibilitou a diferenciação desse composto entre as cultivares (Fig. 9). A maior presença de carotenóides na casca dos frutos tem sido documentada em rosáceas (REMORINI et al., 2008), pois da mesma maneira que os compostos fenólicos, os carotenóides possuem ação fitoprotetora. Os maiores valores de β -caroteno foram encontrados na casca de Constantinopla, Apple, Mendonza Inta-37 (11,97; 11,79 e 11,1 μg de β -caroteno g^{-1} de amostra respectivamente), enquanto que as cultivares Radaelli, Pineapple, Alaranjado (2,11; 2,16 e 2,23 μg de β -caroteno g^{-1} de amostra respectivamente) representaram as menores concentrações.

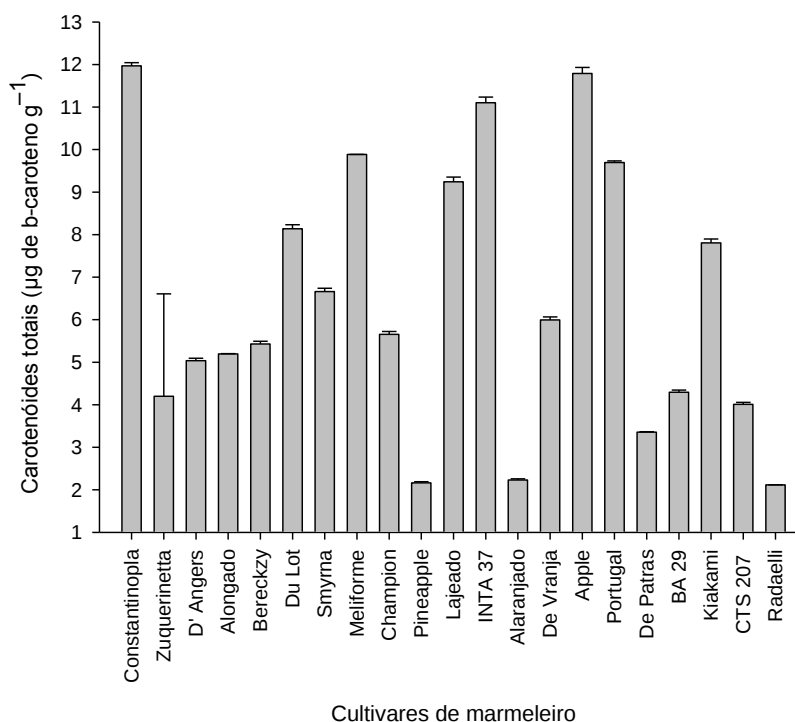


Figura 9 – Teor de carotenóides totais (µg de β-caroteno g⁻¹ de amostra) na casca de 21 cultivares de marmeleiro. FAEM/UFPel, Capão do Leão-RS, 2009.

Para os carotenóides individuais não foi possível quantificar os picos das referidas amostras de marmelo, mesmo sendo possível a visualização dos mesmos no cromatograma (Fig. 10). A quantidade desses compostos na amostra está abaixo do limite de detecção do equipamento ou, provavelmente, esses carotenóides não são os compostos majoritários em marmelo.

Na separação cromatográfica dos carotenóides observou-se a presença de outros picos (Fig. 10). Foi possível identificar quatro picos, através da utilização de padrões cromatográficos, incluindo o β-caroteno, Licopeno, β-criptoxantina e Luteína+Zeaxantina. Não foi possível a separação dos isômeros geométricos de carotenóides apolares, Luteína e Zeaxantina, os quais não apresentaram boa resolução em colunas monoméricas C₁₈, concordando com citações da literatura que enfatizam a necessidade de colunas C₃₀ (poliméricas) para que haja separação destes compostos. Alesiani et al. (2010) detectaram a presença de outros carotenóides, por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa, que até então a sua identificação não era conhecida em marmelos.

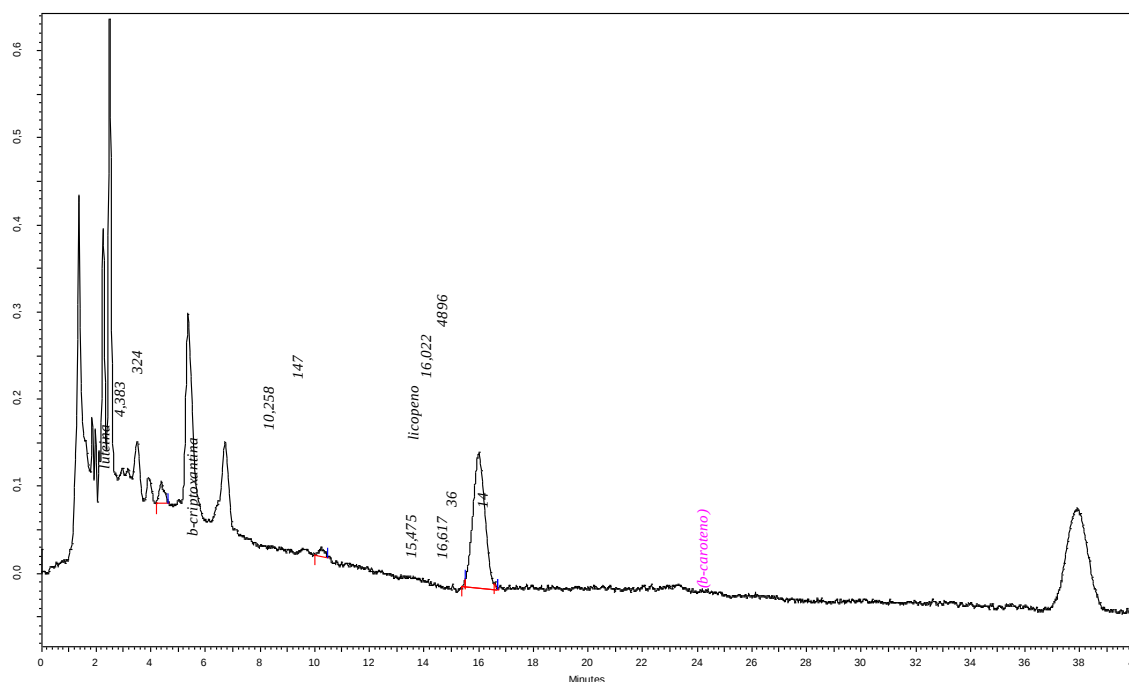


Figura 10 - Cromatograma típico da separação de carotenóides (1- Luteína + Zeaxantina; 2- β -criptoxantina; 3- Licopeno; 4- β -caroteno) na casca da cultivar CTS 207 via HPLC, com coluna de fase reversa C_{18} e detector UV a 480nm, tendo como fase móvel um gradiente com metanol, acetonitrila e acetato de etila. FAEM/UFPel, Capão do Leão-RS, 2009.

Na separação cromatográfica correspondente aos componentes dos tocoferóis foram observados três picos distintos (Fig. 11). Pela comparação com os padrões, identificou-se o δ -, γ - e α -tocoferol, correspondentes aos picos 1, 2 e 3 respectivamente. No entanto, nas condições realizadas neste estudo (coluna de fase reversa) o β -tocoferol não se separou de seu isômero, o γ -tocoferol, e portanto, o pico 2 corresponde ao conteúdo do (γ + β)-tocoferol. Observa-se ainda que o método foi satisfatório para a separação e identificação dos três picos, correspondentes aos tocoferóis presentes na amostra, apresentado picos assimétricos e sem interferentes que poderiam falsear o resultado. Mesmo assim, não foi possível quantificar os resultados das amostras pela capacidade de detecção que o equipamento apresenta e são escassos na literatura os teores de tocoferóis encontrados em frutas (KIM; GIRAUD; DRISKELL, 2007).

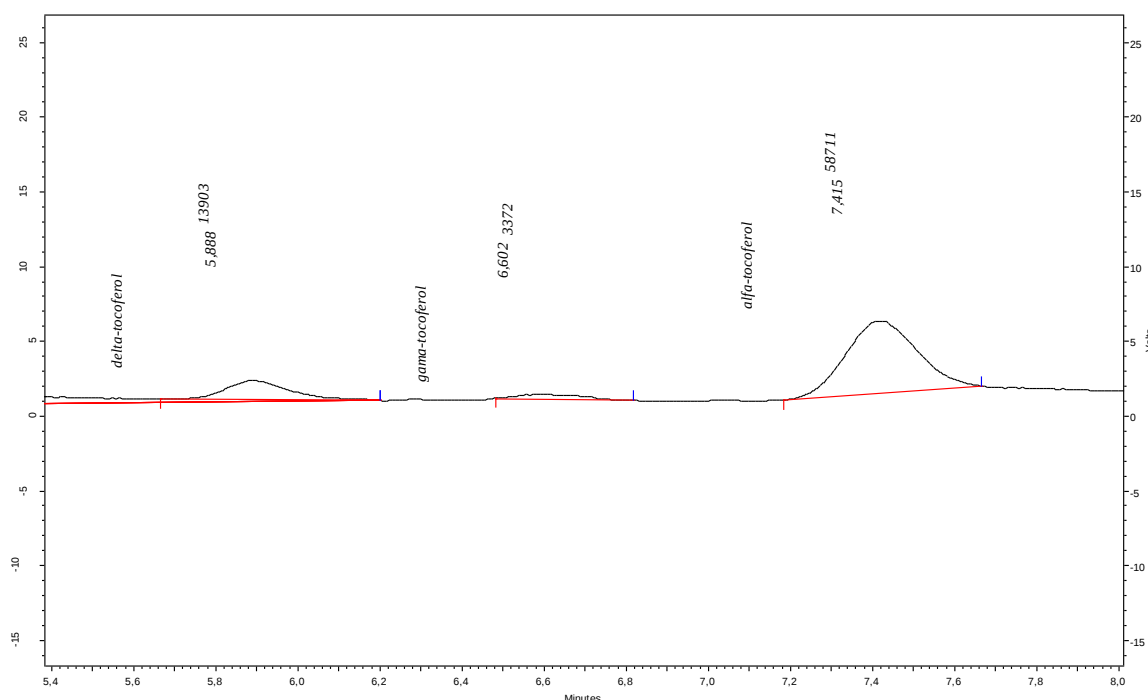


Figura 11 - Cromatograma típico da separação de tocoferóis (1- δ -; 2- γ -; e 3- α - tocoferol) na casca da cultivar CTS 207 via HPLC com coluna de fase reversa e detector de fluorescência, 290 nm de excitação e 330 nm de emissão, usando como fase móvel, um gradiente com metanol, acetonitrila e isopropanol. FAEM/UFPel, Capão do Leão-RS, 2009.

Quanto à variável fenóis totais, a casca também contém teores superiores à polpa (Fig. 12). Tomas-Barberan et al. (2001) detectaram teores superiores de fenóis, antocianinas e flavonóis na casca de nectarinas, de pêssegos e de ameixas em relação à polpa. Kondo et al. (2002) também relataram uma concentração mais elevada de polifenóis na casca em diferentes cultivares de maçã. Alesiani et al. (2010) apontaram a presença de diferentes compostos fenólicos na casca de marmelo, e Magalhães et al. (2009) testaram a comparação entre casca, polpa e semente, ambos os autores comprovaram a atividade antioxidante e anti-proliferativa do marmelo.

Os compostos fenólicos constituem-se em moléculas do metabolismo secundário de vegetais que tendem a serem sintetizados como forma de proteção frente a estresses bióticos (ataque de patógenos) e abióticos (radiação ultravioleta, seca, estresse salino) (SIMÕES et al., 2007). Pelo fato de a casca dos frutos ser o

tecido mais exposto à radiação solar, diferenças de temperatura, ação do vento, ao ataque de pragas e doenças, é possível que desenvolva uma atividade biológica de biossíntese desses compostos com maior intensidade, o que explica os maiores teores detectados.

A síntese desses compostos foi afetada pela característica genotípica. Cultivares como Meliforme, Lajeado e CTS 207 apresentaram um comportamento muito semelhante, ou seja, maiores teores tanto na casca, quanto na polpa. Autores, como Vizzotto (2007), Tavarini et al. (2008) e Veberic et al. (2010) também verificaram que o genótipo tem grande efeito sobre a síntese dos compostos fenólicos.

Os teores de fenóis totais observados na casca (113,12 a 428,16 mg EAG 100 g⁻¹, para Constantinopla e Meliforme, respectivamente) e na polpa (79,72 a 243,54 mg EAG 100 g⁻¹, Zuquerinetta e CTS 207, respectivamente) situam-se como valores intermediários se comparados com outros frutos como abacaxi, com 21,7 mg 100 g⁻¹; graviola, com 84,3 mg 100 g⁻¹; maracujá, com 20,2 mg 100 g⁻¹; acerola, com 580,1mg 100 g⁻¹; e manga, com 544 mg 100g⁻¹ (KUSKOSKI et al., 2005). Esses resultados indicam que o marmelo *in natura* é uma boa fonte de compostos fenólicos o que pode contribuir para uma boa capacidade antioxidante. Porém, é conhecido também, que elevados teores de compostos fenólicos constituem em agravante do ponto de vista do processamento, pois torna o produto mais sensível ao escurecimento enzimático, caso tenha elevadas atividades peroxidase e/ou polifenoloxidase (DEGL'INNOCENTI et al., 2005).

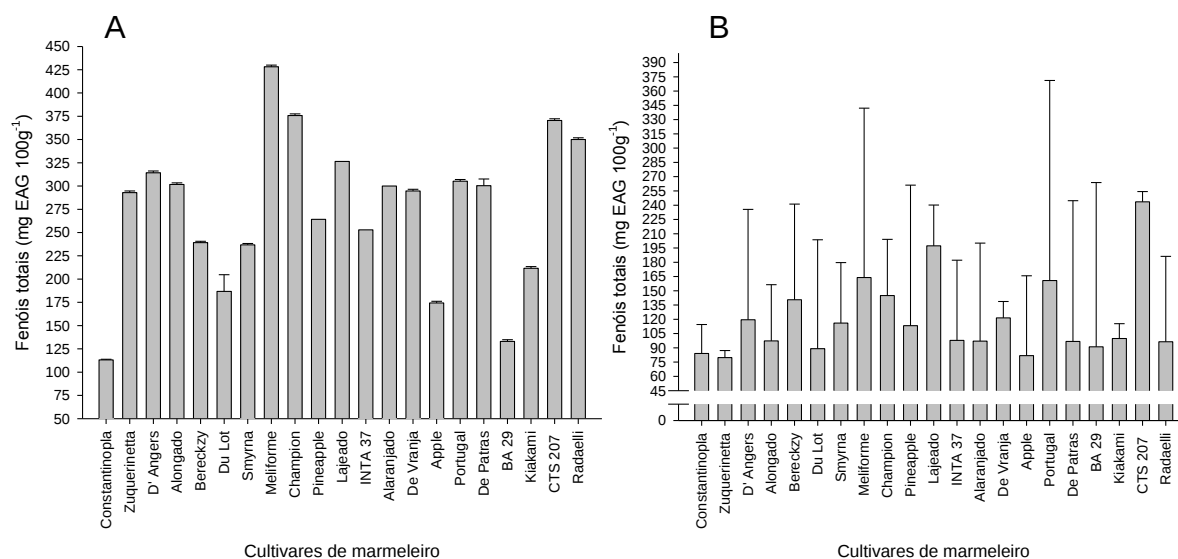


Figura 12 – Teor de fenóis totais (mg EAG 100g⁻¹ de amostra) na casca (A) e na polpa (B) de 21 cultivares de marmeleiro. FAEM/UFPel, Capão do Leão-RS, 2009.

A capacidade antioxidante das 21 cultivares de marmeleiro foi resultante da ação de carotenóides, compostos fenólicos, tocoferol e outros compostos, e apresentou grande variação média entre casca e polpa (35,4 e 8,8 g TEAC 100 g⁻¹, respectivamente) (Fig. 13). Como a casca apresenta maiores teores de carotenóides, fenóis totais, era esperada que a capacidade antioxidante também pudesse ser maior. O fato de existir uma grande variação entre cultivares, pode ser devido a variações qualitativas dentro de cada grupo, ou seja, que o perfil de compostos fenólicos, principalmente, seja distinto entre as frações estudadas. No entanto, essa hipótese não foi testada nesse trabalho.

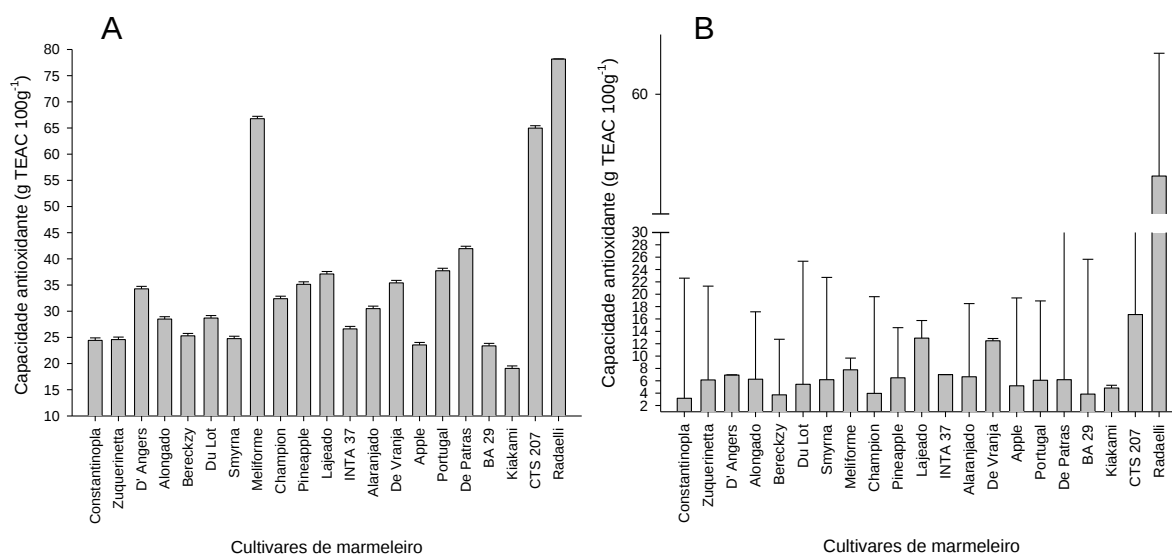


Figura 13 – Capacidade antioxidante após 30 minutos de reação expressa em equivalente ao Trolox (g TEAC 100 g⁻¹) na casca (A) e na polpa (B) de 21 cultivares de marmeleiro. FAEM/UFPel, Capão do Leão-RS, 2009.

O fato de se tratarem de frutos relativamente ricos em compostos fenólicos e apresentarem elevada atividade antioxidante concorda com a maioria dos trabalhos (SILVA et al., 2004b; HEREDIA; CISNEROS-ZEVALLOS, 2009), segundo os quais há tendência de correlação positiva entre essas variáveis. Os frutos analisados neste experimento demonstraram correlação direta (tab. 3) entre o conteúdo total de compostos fenólicos e a atividade antioxidante. Contudo, para se estabelecer uma relação direta de cada grupo ou composto fenólico, será necessário um estudo específico com os compostos isolados. Isso indica que os compostos fenólicos são contribuintes na atividade antioxidante dos frutos analisados.

Tabela 3 - Coeficientes de correlação de Pearson entre fenóis totais e a capacidade antioxidante em 30 minutos expressa em equivalente ao Trolox (g TEAC 100 g⁻¹) de 21 cultivares de marmeleiro. FAEM/UFPel, Capão do Leão-RS, 2009

	TEAC
Fenóis Totais	0,59*

* p ≤ 0,005.

A dispersão gráfica para as características fitoquímicas (Fig. 14), utilizando-se dois primeiros componentes principais, mostrou que eles explicaram 99% da

variação, CP1 (97%) e CP2 (2%). Os compostos fenólicos totais responderam a 99% da resposta do CP1 e enquanto que a capacidade antioxidante respondeu a 98% para o CP2, isso indica que os carotenóides totais não influenciaram na caracterização dessas cultivares. Silva et al. (2005b), com o auxílio da ferramenta de componentes principais concluíram que os perfis fenólicos formados foram responsáveis pelas diferenças entre as partes do fruto de marmeleiro, casca e polpa. Pelo gráfico pode-se afirmar que as cultivares Zuquerinetta, D'Angers, Alongado, Alaranjado, Bereckzy, Smyrna, Mendonza Inta-37 apresentam um perfil fitoquímico muito semelhante para essas variáveis. Enquanto que as cultivares CTS 207, Radaelli, Champion, Constantinopla se distanciam acentuadamente, em relação as demais.

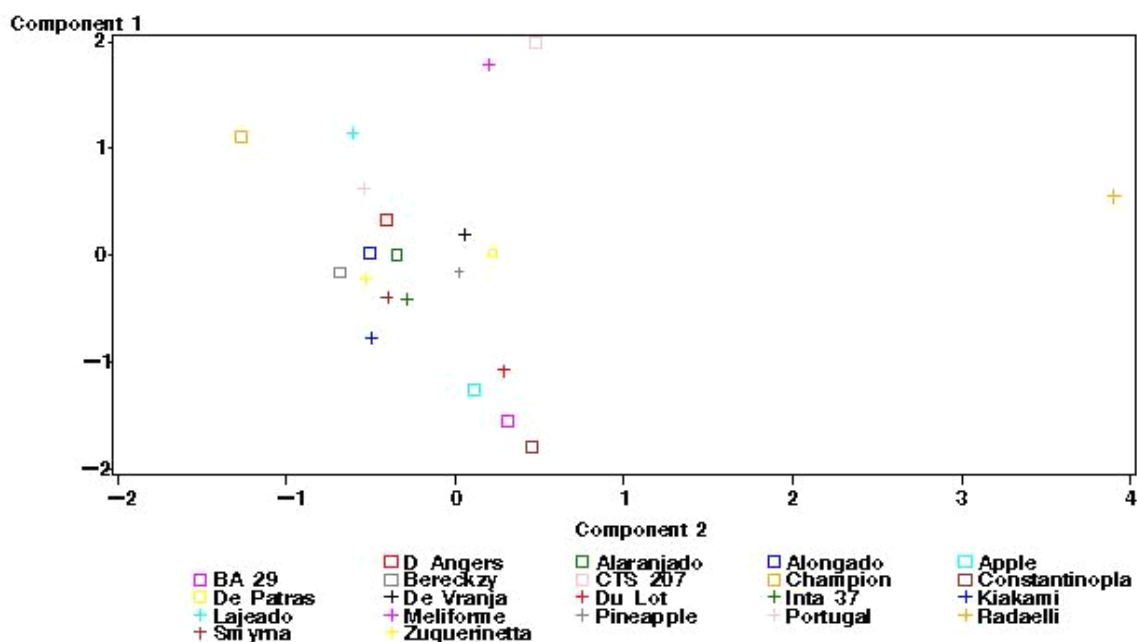


Figura 14 - Dispersão gráfica de 21 cultivares de marmeleiro, utilizando-se dois primeiros componentes principais (CP1 e CP2) para variáveis fitoquímicas. FAEM/UFPEL, Capão do Leão-RS, 2009.

3.4 Conclusões

As cultivares Champion, Kiakami, Portugal e Du Lot apresentam características físico-químicas diferenciadas das demais;

Os teores de carotenóides e fenóis são maiores na casca do que na polpa, resultando numa maior capacidade antioxidante da casca;

Os compostos fenólicos são contribuintes na atividade antioxidante dos marmelos por apresentar correlação direta com a capacidade antioxidante;

As cultivares Zuquerinetta, D'Angers, Alongado, Alaranjado, Bereckzy, Smyrna, Mendonza Inta-37 apresentam características fitoquímicas muito semelhantes;

A cultivar Meliforme apresentou os maiores valores para fenóis totais e consequentemente maior capacidade antioxidante.

4 CONCLUSÕES

A escala fenológica estabelecida para as vinte e uma cultivares de *C. oblonga* contém oito estádios de desenvolvimento. Os estágios observados foram: 0 – Desenvolvimento da gema; 1 – Desenvolvimento das folhas; 3 – Desenvolvimento dos brotos; 5 – Emergência da inflorescência; 6 – Florescimento; 7 – Desenvolvimento dos frutos; 8 – Maturação dos frutos; 9 – Senescência, de acordo com a escala BBCH;

As cultivares Champion, Kiakomi, Portugal e Du Lot apresentam perfil físico-químico diferenciado das demais;

As cultivares Zuquerinetta, D'Angers, Alongado, Alaranjado, Bereckzy, Smyrna, Mendonza Inta-37 apresentam um perfil fitoquímico muito semelhante.

5 REFERÊNCIAS

ABRAHÃO, E.; SOUZA, M. de; ALVARENGA, A. A. **A cultura do marmeleiro em Minas Gerais: situação atual e perspectivas**. Belo Horizonte: EPAMIG, 1995. 24 p. (Boletim técnico, 47).

ALESIANI, D.; CANINI, A.; D'ABROSCA, B.; DELLAGRECA, M.; FIORENTINO, A.; MASTELLONE, C.; MONACO, P.; PACIFICO, S. Antioxidant and antiproliferative activities of phytochemicals from Quince (*Cydonia vulgaris*) peels. **Food Chemistry**, v.118, p.199-207, 2010.

ANDRADE, P. B.; CARVALHO, A. R. F.; SEABRA, R. M.; FERREIRA, M. A. A previous study of phenolic profiles of quince, pear, and apple purees by HPLC diode array detection for the evaluation of quince puree genuineness. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 46, p. 968-972, 1998.

ANDRADE, P. B.; SILVA, B. M.; CARVALHO, A. R. F.; SEABRA, R. M.; FERREIRA, M. A. Development of an HPLC / diode-array detector method for simultaneous determination of sodium benzoate and phenolic compounds in quince jam. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, v.22, p.1069-1075, 1999.

BLEIHOLDER, H.; BUHR, L.; FELLER, C.; HACK, H.; HESS, M.; KLOSE, R.; LANCASHIREP, MEIER, U.; STRAUSS, R.; VAN DEN BOOM, T.; WEBER, E. BBCH-Monograph: **Growth stages of plants**; Entwicklungsstadien von Pflanzen;

Estadios de las plantas; Stades de development des plantes. Blackwell Wissenschafts-Verlag Berlin-Wien. 1997.

BLEIHOLDER, H.; VAN DEN BOOM, I.; LANGELIIDDEKE, P.; STAUSS, R. Einheitliche Codiertng der phanologischen Stadien bei Kultur-und Sehadpflanzen. **Cesunde Pflanzen**, v.41, p.381-384, 1989.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel – Wissenschaft und Technologie**, v.28, p.25-30, 1995.

CARVALHO, M.; SILVA, B. M.; SILVA, R.; VALENTÃO, P.; ANDRADE, P. B.; BASTOS, M. L. First report on *Cydonia oblonga* Miller anticancer potential: Differential antiproliferative effect against human kidney and colon cancer cells. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.58, p.3366-3370, 2010.

CAUTÍN, R.; AGUSTÍ, M. Phenological growth stages of the cherimoya tree (*Annona cherimola* Mill.). **Scientia Horticulturae**, v.105, p.491-497, 2005.

COSTA, R. M.; MAGALHÃES, A. S.; PEREIRA, J. A.; ANDRADE, P. B.; VALENTÃO, P.; CARVALHO, M.; SILVA, B. M. Evaluation of free radical-scavenging and antihemolytic activities of quince (*Cydonia oblonga*) leaf: A comparative study with green tea (*Camellia sinensis*). **Food and Chemical Toxicology**, v.47, p.860-865, 2009.

DEGL'INNOCENTI, E.; GUIDI, L.; PARDOSSI, A.; TOGNONI, F. Biochemical study of leaf browning in minimally processed leaves of lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *acephala*). **Journal of Food Science**, v.53, p. 9980-9984, 2005.

DE TOMMASI, N.; DE SIMONE, F.; PIZZA, C.; MAHMOOD, N. New tetracyclic sesterterpenes from *Cydonia vulgaris*. **Journal of Natural Products**, v.59, p.267-270, 1996a.

DE TOMMASI, N.; PIACENTE, S.; DE SIMONE, F.; PIZZA, C. Constituents of *Cydonia vulgaris*: isolation and structure elucidation of four new flavonol glycosides and nine new α -ionol-derived glycosides. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.44, p.1676-1681, 1996b.

ERCISLI, S.; GULERYUZ, M.; ESITKEN, A. A study on the fruit properties of native quince cultivars in Oltu. **Anadolu**, v.9, p.32-40, 1999.

EVANS, R. C.; CAMPBELL, C. S. The origin of the apple subfamily (*Maloideae*; *Rosaceae*) is clarified by DNA sequence data from duplicated GBSSI genes. **American Journal of Botany**, v.89, p.1478-1484, 2002.

FERRERES, F.; SILVA, B. M.; ANDRADE, P. B.; SEABRA, R. M.; FERREIRA, M. A. Approach to the study of C-glycosyl flavones by Ion Trap HPLC -PAD-ESI/MS/MS: application to seeds of quince (*Cydonia oblonga*). **Phytochemical Analysis**, v.14, p.352-359, 2003.

FLECKINGER, J. Les stades vegetatifs des arbres fruitiers em rapport avec les traitements. **Pomologie Francaise**. Supplement, p. 81-93, 1948.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO. **Base de dados estatísticos** – Faostat Agriculture. Disponível em: <<http://www.fao.org.br>> Acesso em: 09 nov. 2009.

GARCÍA-CARBONELL, S.; YAGUE, B.; BLEIHOLDER, H.; HACK, H.; MEIER, U.; AGUSTI, M. Phenological growth stages of the persimmon tree (*Diospyros kaki*). **Annals of Applied Science**, v.141, p.73-76, 2002.

GHOLGHOLAB, H. **Ghiah (in Farsi)**. Tehran: Tehran University Press, p. 107. (1961).

GULDNER, A.; WINTERHALTER, P. Structures of two ionone glycosides from quince fruit (*Cydonia oblonga* Mill.). **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.39, p.2142-2146, 1991.

HACK, H.; BLEIHOLDER, H.; BUHR, L.; MEIER, U.; SCHNOCK-FRICKE, U.; WEBER, E.; WITZENBERGER, A. Einheitliche Codierung der phänologischen Entwicklungsstadien mono- und dikotyler pflanzen – Erweiterte BBCH-Skala, Allgemein. **Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes**, v.44, p.265–270, 1992.

HAMAUZU, Y.; INNO, T.; KUME, C.; IRIE, M.; HIRAMATSU, K. Antioxidant and antiulcerative properties of phenolics from Chinese quince, quince and apple fruits. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.54, p.765-772, 2006.

HEREDIA, J. B.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. The effects of exogenous ethylene and methyl jasmonate on the accumulation of phenolic antioxidants in selected whole and wounded fresh produce. **Food Chemistry**, v.115, p.1500-1508, 2009.

HUMMER, K.; ZEE, F.; STRAUSS, A.; KEITH, L.; NISHIJIMA, W. Evergreen production of Southern highbush blueberries in Hawaii. **Journal of the American Pomological Society**, v.61, p.188-195, 2007.

ISHIHARA, M.; TSUNEYA, T.; SHIOTA, H.; SHIGA, M. Identification of new constituents of quince fruit flavour (*Cydonia oblonga* Mill. = *C. vulgaris* Pers.). **Journal of Organic Chemistry**, v.51, p.491- 495, 1986.

ISHIHARA, M.; TSUNEYA, T.; SHIOTA, H.; SHIGA, M.; YOKOYAMA, Y. The absolute configurations of marmelo lactones. **Agricultural and Biological Chemistry**, v.47, p.2121-2122, 1983.

JEFFRIES, R. A.; LAWSON, H. M. A key for the stages of development of potato (*Solanum tuberosum*). **Annals of Applied Biology**, v.119, p.387-399, 1991.

KIM, Y., GIRAUD, D. W., DRISKELL, J. A. Tocopherol and carotenoid contents of selected Korean fruits and vegetables. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.20, p.458-465, 2007.

KONDO, S.; TSUDA, K.; MUTO, N.; UEDA, J. Antioxidative activity of apples skin or flesh extracts associated with fruit development on selected apple cultivars. **Scientia Horticulturae**, v.96, p.177-185, 2002.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, G. A.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante em pulpa de frutos. **Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, p.726-732, 2005.

LANCASHIRE, P. D.; BLEIHOLDER, H.; VAN DEN BOOM, T; LANGELFLDDEKE, P.; STRAUSS, R.; WEBER, E.; WITZENBERGER, A. A uniform decimal code for growth stages of crops and weeds. **Annals of Applied Biology**, v.119, p.561-601, 1991.

LAYNE, R.E.C.; QAMME, H.A. Pears. In: JANICK, J.; MOORE, J. N. (Eds.), **Advances in Fruit Breeding**. West Lafayette: Indiana Purdue University Press. 1975.

LOCKARD, R. G.; SCHNEIDER, G. W. Stock and scion growth relationships and the dwarfing mechanism in apple. **Horticultural Reviews**, v.3, p.315-375, 1981.

LUTZ, A.; WINTERHALTER, P. Isolation of additional carotenoid metabolites from quince fruit (*Cydonia oblonga* Mill.). **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.40, p.1116-1120, 1992.

LUTZ, A.; WINTERHALTER, P. Absciscic alcohol glucoside in quince. **Phytochemistry**, v.32, p.56-60, 1993.

LUTZ, A.; WINTERHALTER, P.; SCHREIER, P. Isolation of a glucosidic precursor of isomeric marmelo oxides from quince fruit. **Tetrahedron Letters**, v.32, p.5943-5944, 1991.

MAGALHÃES, A. S.; SILVA, B. M.; PEREIRA, J. A.; ANDRADE, P. B.; VALENTÃO, P.; CARVALHO, M. Protective effect of quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit against oxidative hemolysis of human erythrocytes. **Food and Chemical Toxicology**, v.47, p.1372–1377, 2009.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Dados Estatísticos**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>> Acesso em: 09 nov. 2009.

MEIER, U.; GRAF, H.; HACK, H.; HESS, M.; KENNEL, W.; KLOSE, R.; MAPPES, D.; SEIPP, D.; STAUSS, R.; STREIF, J.; VAN DEN BOOM, T. Phänologische Entwicklungsstadien des Kernobstes (*Malus domestica* Borkh. und *Pyrus communis* L.), des Steinobstes (Prunus-Arten), der Johannisbeere (Ribes-Arten) und der Erdbeere (*Fragaria x ananassa* Duch.). **Nachrichtenblatt Deutscher Pflanzenschutzdienst**, v.46, p.141-153, 1994.

NGO, T.; WROLSTAD, R. E.; ZHAO, Y. Color quality of Oregon strawberries-impact of genotype, composition, and processing. **Journal of Food Science**, v.72, p.25-32, 2007.

NOGALA-KALUCKA, M.; RUDZINSKA, M.; ZADERNOWSKI, R.; SIGER, A.; KRZYZOSTANIAK, I. Phytochemical content and antioxidant properties of seeds of unconventional oil plants. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.87, p.1481-1487, 2010.

NUZZO, V.; DICHIO, B.; XILOYANNIS, C. Il cotogno da frutto. **Informatore Agrario**, v.55, p.67-72, 1999.

OLIVEIRA, A. P.; PEREIRA, J. A.; ANDRADE, P. B.; VALENTÃO, P.; SEABRA, R. M.; SILVA, B. M. Phenolic profile of *Cydonia oblonga* Miller leaves. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.55, p.7926-7930, 2007.

OLIVEIRA, A. P.; PEREIRA, J. A.; ANDRADE, P.B.; VALENTAO, P.; SEABRA, R. M.; SILVA, B. M. Organic acids composition of *Cydonia oblonga* Miller leaf. **Food Chemistry**, v.111, p.393-399, 2008.

PAIVA, M. C.; FIORAVANÇO, J. C.; MANICA, I. Características físicas dos frutos de quatro cultivares e duas seleções de goiaba no 5º ano de produção em Porto Leucena-RS. **Ciência Rural**, v.25, p.209-213, 1995.

PÉREZ-PASTOR, A.; RUÍZ-SÁNCHEZ, M^a C.; DOMINGO, R.; TORRECILLAS, A. Growth and phenological stages of 'Búlida' apricot trees in south-east Spain. **Agronomie**, v.24 p.93-100, 2004.

PIO, R.; DALL'ORTO, F. A. C; ALVARENGA; Â. A.; ABRAHÃO, E.; BUENO, S. C. S.; MAIA M. L. **A Cultura do Marmeleiro**. Manual técnico sobre o cultivo de marmelos. Piracicaba: Série Produtor Rural, 2005. 44p.

POTTER, D.; ERIKSSON, T.; EVANS, R. C.; OH, S.; SMEDMARK, J. E. E.; MORGAN, D. R.; KERR, M.; ROBERTSON, K. R.; ARSENAULT, M.; DICKINSON, T. A.; CAMPBELL, C. S. Phylogeny and classification of *Rosaceae*. **Plant Systematics and Evolution**, v.266, p.5-43, 2007.

REMORINI, D.; TAVARINI, S.; DEGL'INNOCENTI, E.; LORETI, F.; MASSAI, R.; GUIDI, L. Effect of rootstocks and harvesting time on the nutritional quality of peel and flesh of peach fruits. **Food Chemistry**, v.110, p.361-367, 2008.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoids analysis in foods**. Washington: ILSI Press, 1999. 64p.

RODRÍGUEZ-GUISADO, I.; HERNÁNDEZ, F. C. A.; MELGAREJO, P.; LEGUA, P.; MARTÍNEZ, R.; MARTÍNEZ, J. J. Chemical, morphological and organoleptical characterisation of five Spanish quince tree clones (*Cydonia oblonga* Miller).

Scientia Horticulturae, v.122, p.491-496, 2009.

SALAZAR, D. M.; MELGAREJO, P.; MARTÍNEZ, R.; MARTÍNEZ, J. J., HERNÁNDEZ, F., BURGUERA, M. Phenological growth stages of the guava tree (*Psidium guava* L.). **Scientia Horticulturae**, v.108, p.157-161, 2006.

SALINERO, M. C.; VELA, P.; SAINZ, M. J. Phenological growth stages of kiwifruit (*Actinidia deliciosa* 'Hayward'). **Scientia Horticulturae**, v.121, p.27-31, 2009.

SAMPAIO, G. **Flora Portuguesa**. Imprensa Moderna, Lda, Porto, Portugal, 1947.

SANSAVINI, S.; MUSACCHI, S. Orchard pear design and HDP management: a review. **Acta Horticulturae**, v.596, p.589-601, 2002.

SANZ-CORTÉS, F.; MARTÍNÉZ-CALVO, J.; BADENES, M. L.; BLEIHOLDER, H.; HACK, H.; LLÁCER, C.; MEIER, U. Phenological growth stages of olive trees (*Olea europaea*). **Annals of Applied Biology**, v.140, p.151-157, 2002.

SAS INSTITUTE. 2002. SAS user's guide: statistics, version 9.1. Cary: SAS Institute.

SCARAMUZZI, F. Contributo allo Studio delle cultivar di cotogno da frutto. **Rivista di Ortoflorofrutticoltura Italiana**, v.41, p.575-615, 1957.

SCHREYEN, L.; DIRINCK, P.; SANDRA, P.; SCHAMP, N. Flavor analysis of quince. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.27, p.872-876, 1979.

SCHWARTZ, M. D. Advancing to full bloom: planning phenological research for the 21st century. **International Journal of Biometeorology**, v.42, p.113-118, 1999.

SHAO, Z. X.; LU, B. Resources of Chinese quince in Yunnan province. **Journal of Fruit Science**, v.12, p.155-156, 1995.

SILVA, B. M.; ANDRADE, P. B.; FERRERES, F.; DOMINGUES, A. L.; SEABRA, R. M.; FERREIRA, M. A. Phenolic profile of quince fruit (*Cydonia oblonga* Miller) (pulp and peel). **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.50, p.4615-4618, 2002a.

SILVA, B. M.; ANDRADE, P. B.; FERRERES, F.; SEABRA, R. M.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; FERREIRA, M. A. Composition of quince (*Cydonia oblonga* Miller) seeds: phenolics, organic acids and free amino acids. **Natural Product Research**, v.19, p.275-281, 2005a.

SILVA, B. M.; ANDRADE, P. B.; GONÇALVES, A. C.; SEABRA, R. M.; OLIVEIRA, M. B.; FERREIRA, M. A. Influence of jam processing upon the contents of phenolics, organic acids and free amino acids in quince fruit (*Cydonia oblonga* Miller). **European Food Research and Technology**, v.218, p.385-389, 2004a.

SILVA, B. M.; ANDRADE, P. B.; MARTINS, R. C.; SEABRA, R. M.; FERREIRA, M. A. Principal component analysis as tool of characterization of quince (*Cydonia oblonga* Miller) jam. **Food Chemistry**, v.94, p.504–512, 2006.

SILVA, B. M.; ANDRADE, P. B.; MARTINS, R. C.; VALENTÃO, P.; FERRERES, F.; SEABRA, R. M.; FERREIRA, M. A. Quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit characterization using Principal Component Analysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.111-122, 2005b.

SILVA, B. M.; ANDRADE, P. B.; MENDES, G. C.; SEABRA, R. M.; FERREIRA, M. A. Study of the organic acids composition of quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit and jam. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.2313-2317, 2002b.

SILVA, B. M.; ANDRADE, P. B.; MENDES, G. C.; VALENTÃO, P.; SEABRA, R. M.; FERREIRA, M. A. Analysis of phenolic compounds in the evaluation of commercial

quince jam authenticity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.2853-2857, 2000a.

SILVA, B. M.; ANDRADE, P. B.; SEABRA, R. M.; FERREIRA, M. A. Determination of selected phenolic compounds in quince jams by solid-phase extraction and HPLC. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, v.24, p.2861-2872, 2001.

SILVA, B. M.; ANDRADE, P. B.; SEABRA, R. M.; OLIVEIRA, M. B.; FERREIRA, M. A. Marcadores químicos de genuinidade de derivados de frutos: perfil de compostos fenólicos. **Revista Portuguesa de Farmácia**, v.40, p.25-35, 2000b.

SILVA, B. M.; ANDRADE, P. B.; VALENTÃO, P.; FERRERES, F.; SEABRA, R. M.; FERREIRA, M. A. Quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit (pulp, peel, and seed) and jam: antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p.4705-4712, 2004b.

SILVA, B. M.; ANDRADE, P. B.; VALENTÃO, P.; MENDES, G. C.; SEABRA, R. M.; FERREIRA, M. A. Phenolic profile in the evaluation of commercial quince jellies authenticity. **Food Chemistry**, v.71, p.281-285, 2000c.

SILVA, B. M.; CASAL, S.; ANDRADE, P. B.; SEABRA, R. M.; OLIVEIRA, M. B.; FERREIRA, M. A. Development and evaluation of a GC/FID method for the analysis of free amino acids in quince fruit and jam. **Analytical Sciences**, v.19, p.1285-1290, 2003.

SILVA, B. M.; CASAL, S.; ANDRADE, P. B.; SEABRA, R. M.; OLIVEIRA, M. B.; FERREIRA, M. A. Free amino acid composition of quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit (pulp and peel) and jam. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p.1201-1206, 2004c.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P. DE; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **FARMACOGNOSIA: da planta ao**

medicamento. 6.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 1104p. 2007.

SIMONETTO, P. R.; GRELLMANN, E. O. **Marmelo: uma alternativa importante no cultivo de frutas**. Porto Alegre: FEPAGRO, 2003. 10 p. (Circular técnica, 23).

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. JR. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p.144-158, 1965.

SRIVASTAVA, K. K.; JABEEN, A.; DAS, B.; SHARMA, A. K. Genetic variability of quince (*Cydonia oblonga*) in Kashmir valley. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v.75, p.766-768, 2005.

TATEO, F.; BONONI, M. Headspace-SPME analysis of volatiles from quince whole fruit. **Journal of Essential Oil Research**, v.22, p.416-418, 2010.

TAVARINI, S.; DEGL'INNOCENTI, E.; REMORINI, D.; MASSAI, R.; GUIDI L. Preliminary characterisation of peach cultivars for their antioxidant capacity. **International Journal of Food Science and Technology**, v.43, p.810-815, 2008.

TOMAS-BARBERAN, F. A.; GIL, M. I.; CREMIN, P.; WATERHOUSE, A. L.; HESS-PIERCE, B.; KADER, A. A. HPLC–DAD–ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches and plums. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.4748-4760, 2001.

TSUNEYA, T.; ISHIHARA, M.; SHIOTA, H.; SHIGA, M. Isolation and identification of novel terpene lactones from quince fruit (*Cydonia oblonga* Mill., Marmelo). **Agricultural and Biological Chemistry**, v.44, p.957-958, 1980.

TSUNEYA, T.; ISHIHARA, M.; SHIOTA, H.; SHIGA, M. Volatile components of quince fruit (*Cydonia oblonga* Mill.). **Agricultural and Biological Chemistry**, v.47, p.2495-2502, 1983.

UMANO, K.; SHOJI, A.; HAGI Y.; SHIBAMOTO, T. Volatile constituents of peel of quince fruit, *Cydonia oblonga* Miller. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.34, p.593-596, 1986.

USDA. **Germplasm Resources Information Network - (GRIN) Online Database**. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland. Disponível em: <http://www.arsgrin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?12779>> Acesso em: 09 nov. 2009.

VEBERIC, R.; JURHAR, J.; MIKULIC-PETKOVSEK, M.; STAMPAR, F.; SCHMITZER, V. Comparative study of primary and secondary metabolites in eleven cultivars of persimmon fruit (*Diospyros kaki* L.). **Food Chemistry**, v.119, p.477-483, 2010.

VELICKOVIC, M.; JELACIC, S.; RADIVOJEVIC, D. Pomological, technological and medicinal properties of quinces Vranjska and Leskovacka. **Jugoslevensko—Vocarstvo**, v.34, p.125-129, 2001.

VILLALPANDO, J.; RUÍZ, A. **Observaciones Agrometeorológicas y su uso em la Agricultura**. Editorial Lumusa, México, 1993. 133 p.

VIZZOTTO, M.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; BYRNE, D.; RAMMING, D. W.; OKIE, W. R. Large variation found in the phytochemical and antioxidant activity of peach and plum germplasm. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.132, p.1-7, 2007.

VOLÁK, J.; STODOLA, J. **Plantas Medicinais**. Editorial Inquérito, Portugal, 1990.

VOLPE, C.A. Citrus Phenology. **Proceedings of the Second International Seminar on Citrus Physiology**, p.103-122, 1992.

WERTHEIM, S. J. Rootstocks for European pear: a review. **Acta Horticulturae**, v.596, p.299-309, 2002.

WESTWOOD, M. N. **Fruticultura de las zonas templadas**. Madrid: Mundi-Prensa, 1982. 461p.

WINTERHALTER, P.; HARMSSEN, S.; TRANI, F. A C₁₃-norisoprenoid gentiobiose from quince fruit. **Phytochemistry**, v.30, p.3021-3025, 1991.

WINTERHALTER, P.; HERDERICH, M.; SCHREIER, P. 4-hydroxy-7,8-dihydro- β -ionone and isomeric megastigma-6,8-dien-4-ones: new C₁₃ norisoprenoids in quince (*Cydonia oblonga* Mill.) fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.38, p.796-799, 1990.

WINTERHALTER, P.; LUTZ, A.; SCHREIER, P. Isolation of a glucosidic precursor of isomeric marmelo lactones from quince fruit. **Tetrahedron Letters**, v.30, p.3669-3670, 1991.

WINTERHALTER, P.; SCHREIER, P. 4-hydroxy-7,8-dihydro- β -ionol: natural precursor of theaspiranes in quince fruit (*Cydonia oblonga*, Mill.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.36, p.560- 562, 1988a.

WINTERHALTER, P.; SCHREIER, P. Free and bound C₁₃ norisoprenoids in quince (*Cydonia oblonga* Mill.) fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.36, p.1251-1256, 1988b.

YARLGAC, T. Morphological characteristics of wild quince forms grown in Gevas district (van). **Ondokuz Mays Universitesi, Ziraat Fakultesi Dergisi**, v.16, p.43-49, 2001.

YILDIRIM, A.; OKTAY, M.; BILALOGLU, V. The antioxidant activity of the leaves of *Cydonia vulgaris*. **Turkish Journal of Medical Sciences**, v.31, p.23-27, 2001.

ZADOKS, J. C.; CHANG, T.; KONZAK, C. F. A decimal code for the growth stages of cereals. **Weed Research**, v.14, p.415-421, 1974.

ZAMBIAZI, Rui Carlos. **The role of endogenous lipid components on vegetable oil stability**. 1997. 304f. Tese. Foods and Nutritional Sciences Interdepartmental Program. University of Manitoba Winnipeg, Manitoba, Canada.