

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA-UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS-CAV
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
MESTRADO EM PRODUÇÃO VEGETAL**

AQUIDAUANA MIQUELOTO

**ATRIBUTOS MINERAIS E ASPECTOS FISIOLÓGICOS
RELACIONADOS COM A OCORRÊNCIA DE “BITTER PIT” EM
MAÇÃS**

LAGES – SC

2011

AQUIDAUANA MIQUELOTO

**ATRIBUTOS MINERAIS E ASPECTOS FISIOLÓGICOS
RELACIONADOS COM A OCORRÊNCIA DE “BITTER PIT” EM
MAÇÃS**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências
Agroveterinárias da Universidade do Estado de
Santa Catarina, como requisito parcial para
obtenção do título de Mestre em Produção
Vegetal.

Orientador: PhD. Cassandro Vidal
Talamini do Amarante

Co-orientadores: Dr. Cristiano André
Steffens

PhD. Paulo Roberto
Ernani

LAGES – SC

2011

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária
Renata Weingärtner Rosa – CRB 228/14ª Região
(Biblioteca Setorial do CAV/UDESC)

Miqueloto, Aquidauana.
Atributos minerais e aspectos fisiológicos relacionados
com a ocorrência de “bitter pit” em maçãs / Aquidauana
Miqueloto. – Lages, 2010.
56 p.

Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências
Agroveterinárias / UDESC.

1.Maçã, 2.Funcionalidade do xilema, 3.Teores minerais
4. “bitter pit”, 5.Qualidade dos frutos I. Título.

CDD – 634.11

AQUIDAUANA MIQUELOTO

**ATRIBUTOS MINERAIS E ASPECTOS FISIOLÓGICOS
RELACIONADOS COM A OCORRÊNCIA DE “BITTER PIT” EM
MAÇÃS**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal do Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina

Aprovado em:

Pela Banca Examinadora:

Homologada em:

Por:

PhD. Cassandro Vidal Talamini do
Amarante
Orientador - CAV/UEDESC

Dr. Leo Rufato
Coordenador Técnico do Mestrado em
Produção Vegetal

Dr. Cristiano André Steffens
CAV/UEDESC

Dr. Luciano Colpo Gatiboni
Coordenador do Programa de Pós-
graduação em Ciências Agrárias

PhD. Paulo Roberto Ernani
CAV/UEDESC

Dr. Cleimon Eduardo do Amaral Dias
Diretor Geral do Centro de Ciências
Agroveterinárias

Dr. Luiz Carlos Argenta
Epagri, Estação Experimental de
Caçador

Lages-SC, 02 de fevereiro de 2011

AGRADECIMENTOS

A Deus por todas as bênçãos e proteção que concedeu em minha vida, por em muitos momentos aflitos proporcionar-me sabedoria para solucionar as dificuldades e problemas encontradas nessa caminhada.

Aos meus familiares, em especial minha mãe Zanete Helt Miqueloto, ao meu pai Neri Luiz Miqueloto e ao meu irmão Tiago Miqueloto agradeço a dedicação, o carinho e ao mais sublime sentimento o amor que me engrandeceu e me tornou uma pessoa mais justa e centrada nos meus objetivos.

Ao professor Cassandro Vidal Talamini do Amarante, pessoa iluminada, por ter me propiciado a realização deste projeto, pelos ensinamentos e orientações os quais foram de grande importância para a minha formação.

Ao professor Cristiano André Steffens pela disponibilidade que sempre manifestou recebendo minhas idéias e o estímulo que me permitiu vencer as inseguranças deste processo.

Ao professor Paulo Roberto Ernani, por sempre estar disposto nos auxiliar na condução do projeto.

Ao Sr. Adilson Pereira, por disponibilizar o pomar para a colheita de frutos utilizados neste trabalho de pesquisa.

À UDESC, pela concessão do bolsa PROMOP.

A toda equipe do Laboratório de Fisiologia e Pós-Colheita, pelo auxílio na execução do projeto e pelos ensinamentos compartilhados durante esse período.

Ao meu namorado Odimar Zanuzo Zanardi agradeço pelo seu amor e pela sua cumplicidade e eu dedico a ele a minha eterna gratidão por me fazer uma pessoa melhor.

Enfim, a todos que de alguma forma estiveram presentes e participaram desta etapa, e que me incentivaram nesta caminhada.

RESUMO

MIQUELOTO, Aquidauana. **ATRIBUTOS MINERAIS E ASPECTOS FISIOLÓGICOS RELACIONADOS COM A OCORRÊNCIA DE “BITTER PIT” EM MAÇÃS**. 2011. 56 p. Mestrado (Dissertação em Produção Vegetal – Área: Biologia e Tecnologia Pós-Colheita) – Universidade do Estado de Santa Catarina. Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, Lages, 2011.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a funcionalidade do xilema, a qualidade dos frutos e atributos minerais associados à ocorrência de “bitter pit” em maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’. Foram realizados dois experimentos. O primeiro experimento teve como objetivo verificar a relação entre a funcionalidade do xilema e a deficiência de Ca com a ocorrência de “bitter pit” em maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’. Foram utilizados frutos provenientes de um pomar em São Joaquim-SC, colhidos semanalmente até 131 dias após a plena floração (DAPF) e, após este período, quinzenalmente até a colheita comercial (188 DAPF). Os frutos foram avaliados quanto à massa fresca, funcionalidade do xilema no sistema cortical primário e secundário (segundo a técnica de infusão do pedúnculo dos frutos em fucsina ácida a 1%), análise mineral (teores de Ca, Mg, K e N) e incidência e severidade de “bitter pit”. O segundo experimento teve como objetivo avaliar a qualidade de frutos pós-colheita e identificar os atributos físico-químicos (qualidade) e atributos minerais capazes de discriminar frutos com e sem “bitter pit” em maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’. Foram utilizados frutos provenientes de um pomar em São Joaquim-SC, colhidos na maturação comercial e armazenados por quatro meses em atmosfera do ar a 1°C e UR 90-95%. Após o armazenamento os frutos foram avaliados quanto às taxas respiratória e de produção de etileno, sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), pH, coloração da epiderme (ângulo ‘hue’; h°), porcentagem de cor vermelha (PCV), firmeza de polpa, atributos de textura (força para a penetração da casca e da polpa), análise mineral e incidência e severidade de “bitter pit”. A cultivar Catarina apresentou uma elevada perda na funcionalidade do xilema (número de vasos corticais primários e secundários) no período dos 40 aos 188 DAPF, resultando no menor aporte de Ca aos frutos e maior incidência de “bitter pit” em comparação à ‘Fuji’. Após quatro meses de armazenamento refrigerado, maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ com “bitter pit” apresentaram elevadas taxas respiratória e de produção de etileno, alta AT e baixos valores de firmeza de polpa, atributos de textura, PCV e pH, em

relação aos frutos sem “bitter pit”. Quanto aos atributos minerais, frutos com a desordem exibiram menores teores de Ca e elevados valores nas relações K/Ca, N/Ca, (K+Mg)/Ca e (K+Mg+N)/Ca nos tecidos da casca e polpa da região pistilar do fruto, em relação aos frutos sem “bitter pit”. A força para a penetração da polpa e a relação K/Ca na polpa em maçãs ‘Fuji’, e a AT e a relação K/Ca na casca em maçãs ‘Catarina’, foram os atributos que melhor discriminaram frutos com e sem “bitter pit”.

Palavras-chave: *Malus domestica*. Sistema vascular. Distúrbio fisiológico. Pré-colheita. Pós-colheita. Teores minerais. Qualidade.

ABSTRACT

MIQUELOTO, Aquidauana. **ATTRIBUTES MINERAL AND PHYSIOLOGICAL ASPECTS RELATED TO THE OCCURRENCE OF “BITTER PIT” IN APPLES.** 2011. 56p. Master (Dissertation in Vegetable Production - Area: Biology and Post-Harvest) - University of Santa Catarina State. Graduate Program in Vegetable Production, Lages, 2011.

The aim of this study was to evaluate xylem functionality, fruit quality and mineral attributes associated with the occurrence of bitter pit in 'Fuji' and 'Catarina' apples. Two experiments were carried out. The first experiment aimed to investigate the relationship between the loss of xylem functionality and calcium deficiency, with the occurrence of bitter pit in 'Fuji' and 'Catarina' apples. Fruits from an orchard in São Joaquim were harvested weekly until 131 days after full bloom (DAFB) and after this period, fortnightly until commercial harvest (188 DAFB). Fruits were evaluated for fresh weight, functionality of xylem in primary and secondary cortical system (by using a dye infusion technique, with acid fuchsin 1%), mineral analysis (Ca, Mg, K and N) and incidence and severity of bitter pit. The second experiment aimed to evaluate the postharvest quality of fruits, as well as to identify the best physico-chemical and mineral attributes able to discriminate between fruits with and without bitter pit in 'Fuji' and 'Catarina' apples. Fruits were harvested at commercial maturity from an orchard in São Joaquim and then cold stored for four months in refrigerated air at 1°C and 90-95% RH. After removal from cold storage fruits were assessed in terms of respiration and ethylene production rates, soluble solids content (SSC), titratable acidity (TA), pH, skin color (hue angle; h°), percentage of skin red color (PSRC), flesh firmness, texture attributes (strength to penetrate the skin and pulp), mineral analysis and incidence and severity of bitter pit. 'Catarina' apples showed a major loss in functionality of the xylem (number of primary and secondary cortical vessels) between 40 and 188 DAFB, resulting in lower intake of calcium to fruit and higher incidence of bitter pit in comparison to 'Fuji' apples. After four months of cold storage, 'Fuji' and 'Catarina' apples with bitter pit showed higher respiration and ethylene production rates, higher TA, and low values of flesh firmness, texture attributes, PSRC and pH in comparison to fruit without bitter pit. Regarding the minerals attributes, fruit with the disorder showed lower Ca and higher values for K/Ca, N/Ca, (K+Mg)/Ca and (Mg+K+N)/Ca in the skin and flesh tissues of the distal end of the fruit compared to those

without bitter pit. The attributes that best discriminated between fruits with and without bitter pit were the force for flesh penetration and the K/Ca ratio in the pulp in 'Fuji' apples, and TA and the K/Ca ratio in the skin tissue in 'Catarina' apples.

Key-words: *Malus domestica*. Vascular system. Physiological disorders. Preharvest. Postharvest. Mineral contents. Quality.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Respiração e produção de etileno, teores de sólidos solúveis (SS), pH e acidez titulável (AT) em maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ sem e com “bitter pit”, armazenadas em atmosfera do ar a 1°C e UR 90-95%, por 4 meses..... 42
- Tabela 2 - Ângulo ‘hue’ (h°) da região sombreada e região exposta a luz, porcentagem de cor vermelha (PCV) e firmeza de polpa, forças para a penetração na casca e polpa em maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ sem e com “bitter pit”, armazenadas em atmosfera do ar a 1°C e UR 90-95%, por 4 meses..... 43
- Tabela 3 - Concentrações de Ca, Mg, K e N (mg kg^{-1} de massa fresca) e valores das relações Mg/Ca, K/Ca, N/Ca, (K+Mg)/Ca e (K+Mg+N)/Ca na casca e polpa em maçãs ‘Fuji’, em frutos sem e com incidência de “bitter pit”, armazenadas por 4 meses em atmosfera do ar 1°C e UR 90-95%..... 45
- Tabela 4 - Concentrações de Ca, Mg, K e N (mg kg^{-1} de massa fresca) e valores das relações Mg/Ca, K/Ca, N/Ca, (K+Mg)/Ca e (K+Mg+N)/Ca na casca e polpa em maçãs ‘Catarina’, em frutos sem e com incidência de “bitter pit”, armazenados por 4 meses em atmosfera do ar 1°C e UR 90-95%..... 46
- Tabela 5 - Coeficiente canônico padronizado (CCP), correlação canônica (r) e coeficiente da taxa de discriminação paralela (TDP) para a função canônica discriminante 1 (FCD_1), referente aos atributos fisiológicos e fisicoquímicos (respiração, produção de etileno, acidez titulável, porcentagem de cor vermelha, firmeza de polpa, forças para a penetração na casca e polpa), em maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ armazenadas por 4 meses em atmosfera do ar 1°C e UR 90-95%..... 49
- Tabela 6 - Coeficiente canônico padronizado (CCP), correlação canônica (r) e coeficiente da taxa de discriminação paralela (TDP) para a função canônica discriminante 1 (FCD_1), referente aos atributos minerais (Ca, Mg/Ca, K/Ca e N/Ca) na casca e polpa em maçãs ‘Fuji’ armazenadas por 4 meses em atmosfera do ar 1°C e UR 90-95%..... 49
- Tabela 7 - Coeficiente canônico padronizado (CCP), correlação canônica (r) e coeficiente da taxa de discriminação paralela (TDP) para a função canônica discriminante 1 (FCD_1), referente aos atributos minerais (Ca, Mg/Ca, K/Ca e N/Ca) na casca e polpa em maçãs ‘Catarina’ armazenadas por 4 meses em atmosfera do ar (1°C e UR 90-95%)..... 50

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Infiltração do corante em maçãs ‘Fuji’ (A) e ‘Catarina’ (B) aos 47 dias após a plena floração..... 24
- Figura 2 - Massa fresca de frutos de maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ durante a estação de crescimento (40 a 188 DAPF). Todos os pontos representam as médias dos 20 frutos coletados. Barras verticais indicam o erro padrão da média..... 25
- Figura 3 - Secção transversal (região mediana) de maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ imersas em corante aos 40, 68, 96 e 188 dias após a plena floração (DAPF). Quanto maior a coloração vermelha nos vasos corticais secundários (a), corticais primários (b) e carpelares (c) maior a funcionalidade do xilema nos sistemas vasculares para as duas cultivares..... 26
- Figura 4 - Coloração do córtex ($L \times h^\circ$), indicando funcionalidade do xilema no sistema cortical secundário em maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ durante a estação de crescimento (61 a 188 DAPF). Aumento nos valores do $L \times h^\circ$ indica redução na coloração dos vasos do xilema no sistema cortical secundário e perda na funcionalidade do xilema. Todos os pontos representam as médias dos 20 frutos coletados..... 27
- Figura 5 - Número de vasos corticais primários coloridos nas regiões proximal, mediana e distal de maçãs ‘Fuji’ (A) e ‘Catarina’ (B). O número médio de vasos corados para cada período foi obtido dos 20 frutos coletados para cada cultivar..... 28
- Figura 6- Valores das relações $(K+Mg+N)/Ca$, $(Mg+K)/Ca$, K/Ca , Mg/Ca e Ca ($mg.kg^{-1}$) na seção distal de maçãs ‘Fuji’ (lado A) e ‘Catarina’ (lado B) durante o desenvolvimento dos frutos. Barras verticais representam o erro-padrão da média para os valores de atributos nutricionais..... 31
- Figura 7 - Incidência de “bitter pit” em maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ colhidas aos 188 dias após a plena floração. Barras verticais representam o erro-padrão da média..... 32
- Figura 8 - Severidade de “bitter pit” em maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ colhidas aos 188 dias após a plena floração em função dos valores da relação $(K+Mg+N)/Ca$ nos frutos. Barras verticais representam o erro-padrão da média..... 32
- Figura 9 - Incidência de “bitter pit” em maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ armazenadas em atmosfera do ar ($1^\circ C$ e UR 90-95%) por 4 meses. Barras verticais representam o erro-padrão da média..... 46
- Figura 10 - Severidade de “bitter pit” em maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ armazenadas em

atmosfera do ar (1°C e UR 90-95%) por um período de 4 meses. Barras verticais representam o erro-padrão da média..... 46

LISTA DE ABREVIÇÕES

°Brix	grau Brix
°C	grau Celsius
AR	atmosfera refrigerada
AT	acidez titulável
Ca	Cálcio
CCP	coeficiente canônico padronizado
CV	coeficiente variação
DAPF	dias após a plena floração
g	Gramma
h	Hora
h°	ângulo 'hue'
PCV	porcentagem de cor vermelha
K	Potássio
kg	quilograma
N	normalidade
N	Newton
N ₂	gás nitrogênio
mm	Milímetro
r	correlação canônica
s	segundo
µL	microlitro
NaOH	hidróxido de sódio
pH	potencial de hidrogênio

P	probabilidade
R ²	coeficiente de determinação
SS	sólidos solúveis
TDP	taxa de discriminação paralela
UR	umidade relativa do ar
S	Sul
W	Oeste
m	Metro
EM	East malling
Cmol _c	centimol de carga
dm ³	desímetro cúbico
mg	miligramas
CAV	Centro de Ciências Agroveterinárias
UDESC	Universidade do Estado de Santa Catarina
SC	Santa Catarina
ACD	análise canônica discriminante
C ₂ H ₄	Etileno
CO ₂	dióxido de carbono
min	minuto
L	'lightness' (brilho)

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	16
1 FUNCIONALIDADE DO XILEMA E SUA RELAÇÃO COM OS TEORES DE CÁLCIO E A OCORRÊNCIA DE “BITTER PIT” EM MAÇÃS ‘FUJI’ E ‘CATARINA’.....	20
1.1 RESUMO.....	20
1.2 ABSTRACT.....	20
1.3 INTRODUÇÃO.....	21
1.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	23
1.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
1.6 CONCLUSÃO.....	33
2 ATRIBUTOS MINERAIS E DE QUALIDADE RELACIONADOS COM A OCORRÊNCIA DE “BITTER PIT” EM MAÇÃS.....	34
2.1 RESUMO.....	34
2.2 ABSTRACT.....	34
2.3 INTRODUÇÃO.....	35
2.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	37
2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
2.6 CONCLUSÃO.....	49
3 CONCLUSÕES GERAIS.....	50
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	51
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores de frutos do mundo, com destaque para as frutíferas de clima temperado. Atualmente, o país ocupa a terceira posição no ranque mundial dos maiores produtores de frutas, depois da China e Índia, com uma área de 2.260 milhões de hectares e uma produção de 43.112 milhões de toneladas (IBRAF, 2010).

A região Sul é o principal pólo de produção de frutíferas de clima temperado, com destaque para a macieira [*Malus domestica* (Borkhausen, 1803)]. Esta região é responsável por 99,6% da produção nacional de maçãs, sendo o estado de Santa Catarina o maior produtor (51% da produção), seguidos pelo Rio Grande do Sul (46% da produção) e Paraná (2,6% da produção) (IBGE, 2009). Nestes estados, entre as cultivares tardias destacam-se, as macieiras ‘Fuji’ que tem baixa suscetibilidade ao “bitter pit” e a ‘Catarina’ que tem baixa suscetibilidade a sarna, mas altamente suscetível ao “bitter pit”. Contudo, apesar da elevada produção, nesta região, as perdas pós-colheita são acentuadas devido aos danos mecânico, temperatura, senescência, incidência de patógenos e distúrbios fisiológicos.

Dentre os distúrbios fisiológicos, destaca-se o “bitter pit”. Segundo Basso (2002), o “bitter pit” é responsável por perdas pós-colheita de até 30% da produção. Este distúrbio ocorre principalmente no período de frigoconservação, e o seu principal sintoma é o colapso da parede celular, evoluindo para a desagregação da membrana e morte celular (FULLER, 1980).

Os principais fatores responsáveis pela ocorrência de “bitter pit” são a baixa produção de frutos, plantas excessivamente vigorosas, deficiência hídrica, excesso de nitrogênio (N), potássio (K) e magnésio (Mg) e a deficiência de cálcio (Ca) (SAURE, 2005). Dentre estes, a deficiência de Ca é o principal fator associado à incidência de “bitter pit”, onde frutos com baixos níveis de Ca normalmente apresentam elevada severidade de “bitter pit” (AMARANTE et al., 2006).

O Ca é um elemento mineral que desempenha um importante papel na membrana plasmática e parede celular dos frutos (POOVAIAH, 1986). O Ca se liga aos fosfolípidos e proteínas de membrana (KENDAL, 2004), preservando a integridade e retardando a senescência da mesma. Este nutriente, uma vez presente na parede celular, é responsável pela manutenção da integridade da parede celular, através de ligações entre grupos carboxílicos de poligalaturonatos, presentes principalmente na lamela média e

parede celular primária (JARVIS et al., 2003; LASHBROOK, 2005).

A Ca, assim como os demais solutos inorgânicos e a água, é absorvido via sistema radicular na zona pilífera e suberizada, e conduzidos via apoplasto e simplasto ao xilema (TAIZ & ZEIGER, 2006). Os vasos do xilema difundem-se por toda a planta, e no fruto se interiorizam via pedúnculo, percorrendo toda a região carpelar e córtex do mesmo. O xilema é um tecido morto, responsável principalmente pelo transporte de Ca, um elemento imóvel, que apresenta um declínio na sua concentração, durante o crescimento do fruto. Já o floema é responsável pela condução dos elementos minerais K, Mg e N, que continuam sendo transportados via este sistema de condução durante toda a estação de crescimento do fruto, uma vez que este vaso mantém-se funcional por ser um tecido vivo e estar em um processo contínuo de síntese de parede celular (TROMP, 1972). Contudo, segundo Lang e Ryan (1994), durante o desenvolvimento dos frutos há um colapso do tecido condutor, atribuído à falência dos vasos do xilema, resultando numa redução na taxa de influxo para o fruto. Assim, a perda na funcionalidade do xilema reduziria o aporte de Ca para o fruto, aumentando a predisposição ao “bitter pit”.

Segundo Dražeta et al. (2004), o maior aporte de Ca para o fruto ocorre no período entre 40 e 60 dias após a plena floração (DAPF), momento em que o fruto está em constante divisão celular e apresenta maior fluxo transpiratório em relação à parte vegetativa. Após este período, o maior transporte de Ca ocorre para o suprimento da parte vegetativa da planta, em função da maior relação folha/fruto e maior transpiração foliar. Também, durante a estação de crescimento, o fruto apresenta perda na funcionalidade do xilema, em função da alongação das células do parênquima, uma expansão das células que causam a compressão dos vasos do xilema, promovendo a desagregação e o colapso desses vasos. No entanto, o floema continua funcional e transporta Mg, K e N para o interior do fruto. Assim, há menor aporte de Ca e maior transporte de K, Mg e N para os frutos. O Mg e o K competem pelos sítios de ligação com Ca na membrana plasmática, mas não desempenham a mesma função (FREITAS et al., 2010), promovendo assim a ocorrência de “bitter pit”. Dražeta et al. (2004), em trabalho realizado com maçãs ‘Granny Smith’ (baixa suscetibilidade) e ‘Braeburn’ (alta suscetibilidade ao “bitter pit”), observaram que a perda na funcionalidade do xilema ocorre primeiramente na região pistilar (distal), provocando um menor aporte de Ca total nessa porção do fruto, fato este que pode explicar a maior ocorrência do “bitter pit” nessa

região do fruto. Contudo, existem relatos de que a ocorrência de “bitter pit” pode estar relacionada com a homeostase do cálcio. Park et al. (2005) verificaram que tomates transformados geneticamente apresentaram um aumento na expressão de uma proteína transportadora do tipo antiporte $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ (CAX1) no tonoplasto, que não só aumentou a quantidade total de Ca^{2+} nos frutos, principalmente acumulados no vacúolo e na parede celular, mas também um aumento de 60-90% na incidência de podridão estilar. Neste caso, o importante não é o nível total de Ca, mas onde este elemento está localizado no tecido (HO & WHITE, 2005). Estudos recentes também evidenciam a necessidade do Ca disponível no apoplasto e acessível à membrana plasmática para a estabilização adequada da membrana e/ou respostas de sinalização no metabolismo celular (MANGANARIS et al., 2007). Assim, a perda na funcionalidade do xilema e a homeostase do Ca, podem afetar no balanço e nas quantidades de minerais no fruto e, conseqüentemente na qualidade do mesmo (DRAŽETA et al., 2004).

A deficiência de Ca pode ocasionar deterioração e alteração na arquitetura das membranas, resultando em mudanças na fluidez e permeabilidade das mesmas (SESTARI, 2006), com efeito na taxa respiratória dos frutos. Além disto, a falta de Ca pode alterar um conjunto de atividades fisiológicas, especificamente associadas com as funções de membranas, como por exemplo, o transporte ativo de determinados íons para o interior da célula (SESTARI, 2006). Delian et al. (2001) relataram que frutos com “bitter pit” tiveram um maior extravazamento de íons e aumento na condutividade elétrica em relação a frutos sadios.

Frutos com “bitter pit” podem apresentar uma redução na firmeza polpa, decorrente dos baixos teores de Ca e alta atividade das enzimas pectina metil esterases, que causam uma desmetilação de uma fração das pectinas e, normalmente, favorece a ação de enzimas poligalacturonases (endo-PGs) (MASSIOT et al., 1994). Frutos com a presença do distúrbio podem apresentar maior acidez no apoplasto, decorrente do aumento da concentração hidrogeniônica, proveniente das bombas de prótons. Assim, frutos com “bitter pit” tendem a apresentar alterações fisiológicas, nos atributos físico-químicos e nos teores minerais principalmente na região distal.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a relação entre a funcionalidade do xilema, a deficiência de Ca e as relações minerais com a ocorrência de “bitter pit”, bem como avaliar e identificar os atributos fisiológicos (respiração e etileno), físico-químicos e minerais relacionados com a ocorrência pós-colheita de “bitter pit” em maçãs

‘Fuji’ e ‘Catarina’.

1 FUNCIONALIDADE DO XILEMA NOS FRUTOS E SUA RELAÇÃO COM OS TEORES DE CÁLCIO E A OCORRÊNCIA DE “BITTER PIT” EM MAÇÃS ‘FUJI’ E ‘CATARINA’

1.1 RESUMO

Com o desenvolvimento do fruto de macieiras, o xilema reduz a sua funcionalidade, diminuindo o aporte de Ca e assim aumentando a predisposição ao “bitter pit”. O objetivo deste trabalho foi avaliar a relação entre a funcionalidade do xilema, a deficiência de Ca e as relações minerais, com a ocorrência de “bitter pit” em maçãs ‘Fuji’ (pouco suscetível ao “bitter pit”) e ‘Catarina’ (muito suscetível ao “bitter pit”). Os frutos das duas cultivares foram colhidos semanalmente até 131 dias após a plena floração (DAPF) e, após este período, as coletas foram realizadas em intervalos de 15 dias até a colheita comercial (188 DAPF). Os frutos foram avaliados quanto à massa fresca, funcionalidade do xilema no sistema cortical primário e secundário, segundo a técnica de infusão do pedúnculo dos frutos em fucsina ácida a 1%, e análise mineral (teores de Ca, Mg, K e N). Em quatro amostras de 150 frutos de cada cultivar, colhidos na maturação comercial (188 DAPF), foram avaliadas a incidência (%) e severidade (número de manchas/fruto) de “bitter pit”, por meio da análise visual. A cultivar Catarina apresentou menor número de vasos de xilema nos sistemas corticais primários e secundários corados (menor funcionalidade do xilema), menores teores de Ca (25 mg kg^{-1}) e maiores valores das relações K/Ca (70), Mg/Ca (1,4) e (Mg+K)/Ca (70), (K+Mg+N)/Ca (98) na seção distal em relação à ‘Fuji’. Em virtude disto, maçãs ‘Catarina’ apresentaram uma maior incidência e severidade de “bitter pit” na maturação comercial quando comparada com maçãs ‘Fuji’. O maior comprometimento na funcionalidade do xilema, durante o desenvolvimento dos frutos, em maçãs ‘Catarina’ parece explicar o baixo conteúdo de Ca e a maior predisposição à ocorrência de “bitter pit”, comparativamente a maçãs ‘Fuji’.

Palavras - chave: *Malus domestica*, fruto, distúrbio fisiológico, sistema vascular, deficiência de cálcio.

1.2 ABSTRACT

The xylem in apple fruit becomes dysfunctional with the fruit development,

resulting in a reduction of calcium uptake in the fruit and predisposing the occurrence of bitter pit. The aim of this study was to evaluate the relationship between the functionality of xylem, calcium deficiency and mineral relation, with the occurrence of “bitter pit” in 'Fuji' (low susceptibility to bitter pit) and 'Catarina' (high susceptibility to bitter pit) apples. The experiment was conducted with 'Fuji' and 'Catarina' apples harvested weekly until 131 days after full bloom (DAFB), and thereafter fortnightly until harvest (up to 188 DAFB). Fruits were evaluated for fresh weight, functionality of the xylem (by using a dye infusion technique, with acid fuchsin 1%, to stain the vasculature along the path of dye movement) in the primary and secondary cortical systems, and mineral analysis (Ca, Mg, K and N). The incidence (%) and severity (number of spots / fruit) of bitter pit was assessed visually in four samples of 150 fruits of both cultivars, harvested at commercial maturity (188 DAFB). 'Catarina' apples showed fewer vessels stained in the primary and secondary (minor feature of the xylem) cortical system, lower Ca content (25 mg kg^{-1}) and higher values of K/Ca (70), Mg/Ca (1,4), (Mg+K)/Ca (70), and (K+Mg+N)/Ca (98) ratios in the distal section when compared to 'Fuji' apples. Because of this, fruits of 'Catarina' apples had a higher incidence and severity of bitter pit at commercial maturity when compared to Fuji apples. The greater impairment in xylem functionality during fruit development in 'Catarina' apples seems to explain the lower Ca content and higher predisposition to the occurrence of bitter pit, compared to 'Fuji' apples.

Key-words: *Malus domestica*, fruit, physiological disorders, vascular bundles, Ca deficiency.

1.3 INTRODUÇÃO

A cultura da macieira é de grande importância para o panorama econômico na região Sul do Brasil. No entanto, ocorrem perdas de frutos em pós-colheita, ocasionadas, principalmente, por distúrbios fisiológicos, como o “bitter pit”.

O “bitter pit” é um distúrbio cujas causas fisiológicas que promovem o seu desenvolvimento são pouco conhecidas. Este distúrbio está diretamente relacionado com o baixo teor de Ca e os altos teores de K, Mg e N no fruto (FERGUSON & WATKINS, 1989).

Os tecidos vasculares são os responsáveis pelo transporte de nutrientes que são

destinados ao crescimento dos frutos (LANG, 1990). Estes tecidos são compostos por feixes vasculares que estão organizados em dois sistemas, conhecidos como vasos corticais e carpelares, que recebem suas respectivas denominações de acordo com sua posição e função que exercem no interior dos frutos (DRAŽETA et al., 2004). O sistema vascular cortical apresenta dez feixes primários que circundam o carpelo do fruto e que se ramificam em direção à epiderme, formando um sistema vascular cortical secundário. O sistema vascular carpelar é composto por dez feixes ventrais e cinco feixes dorsais que emergem da região peduncular do fruto e percorrem a região carpelar em anastomose e se encerram na região pistilar do mesmo (DRAŽETA et al., 2004).

Os feixes vasculares são constituídos por dois tecidos de condução, o floema e o xilema. O floema é um tecido vivo responsável pelo transporte de água, solutos orgânicos e inorgânicos (TAIZ & ZEIGER, 2006). Já o xilema é um tecido morto, que transporta água e solutos inorgânicos (elementos minerais), dentre eles o Ca, um elemento que, em deficiência no fruto, pode ocasionar diversos distúrbios fisiológicos como “bitter pit” e podridão estilar (SAURE, 2005).

O Ca é translocado ao fruto exclusivamente via xilema, através de uma série de reações de troca ao longo de sítios carregados negativamente nas paredes dos vasos, na presença de cátions divalentes, além da quelação do íon Ca nas paredes do xilema (HANGER, 1979). No entanto, este elemento é transportado em quantidades ínfimas via floema (NAIFF, 2007).

A quantidade de Ca no fruto está diretamente relacionada com a taxa de transpiração do fruto e com a funcionalidade do xilema vascular (DICHIO et al., 2003). O tecido vascular do xilema perde a funcionalidade com o crescimento e desenvolvimento dos frutos em algumas espécies frutíferas (DRAŽETA et al., 2001). Findlay et al. (1987) relataram que bagas de uvas em crescimento apresentaram uma redução na funcionalidade do xilema. Segundo Lang e Ryan (1994), esta perda pode estar relacionada com o processo de alongação das células do parênquima e compressão dos vasos do xilema sem, no entanto, alterar a funcionalidade dos vasos do floema. Em maçã, também tem sido observado uma desagregação progressiva dos vasos do xilema, com o crescimento do fruto, provocando uma redução na taxa de fluxo de água e Ca, que podem comprometer a qualidade do fruto (DRAŽETA et al., 2004).

O Ca contribui para a estruturação e funcionalidade da membrana, através da ligação a fosfolípídeos e monogalactosildiácilglicerois na superfície da mesma (FREITAS et al., 2010). No entanto, a perda da funcionalidade do xilema reduz a taxa de

acúmulo de Ca no fruto, provocando uma desestruturação das membranas celulares, podendo ocasionar o “bitter pit”.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a relação entre a funcionalidade do xilema e a deficiência de Ca e as relações minerais com a ocorrência de “bitter pit” em maçãs ‘Fuji’ (pouco suscetível ao “bitter pit”) e ‘Catarina’ (muito suscetível ao “bitter pit”).

1.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em um pomar comercial no município de São Joaquim-SC (situado 28° 11’ 19,66” S de latitude, 49° 59’ 42,60” W de longitude e 1.219m de altitude), durante o ciclo produtivo 2009/2010. Foram utilizadas macieiras ‘Fuji’ e ‘Catarina’, com 13 anos de idade, sobre porta-enxerto Marubakaido com filtro EM-9, conduzidas com líder central, em sistema de média densidade, com espaçamento de 2,0m x 6,0m. Os teores minerais de Ca, Mg, K quantificados no solo do pomar foram de 11 cmol_c/dm³, 5 cmol_c/dm³ e 200 mg/kg, respectivamente.

Os frutos foram colhidos no pomar no início da manhã (momento em que a transpiração é mínima e o potencial hídrico da planta similar ao potencial hídrico do solo), sendo acondicionados no interior de sacos de polietileno com água destilada, para evitar a embolia do xilema, e conduzidos ao laboratório de Fisiologia Vegetal do CAV/UEDESC em Lages, SC. A colheita foi realizada semanalmente até 131 dias após a plena floração (DAPF). Após este período, as coletas foram realizadas em intervalos de 15 dias até a colheita (188 DAPF). No laboratório, os frutos foram avaliados quanto à massa fresca, funcionalidade do xilema, análise mineral e incidência e severidade de “bitter pit”.

A funcionalidade do xilema foi avaliada segundo metodologia descrita por Dražeta et al. (2004). A base do pedúnculo de cada fruto foi seccionada (aproximadamente 1mm), seguido pela imersão imediata do pedúnculo em uma solução de corante (fucsina ácida a 1%) (Figura 1). O corante foi infiltrado nos frutos durante aproximadamente 8h, em condições normais de transpiração (temperatura 25±2°C e UR 70±10%), com a utilização de um ventilador para remover os efeitos da camada limítrofe de ar. Os frutos infiltrados foram cortados transversalmente, obtendo três seções de 10 mm de espessura a partir do cálice, sendo a distal (região pistilar), mediana (região equatorial) e proximal (região de inserção do pedúnculo). Em seguida, cada região foi avaliada quanto o número e intensidade de coloração dos feixes no sistema vascular cortical primário e secundário. Para a determinação do número de vasos do xilema funcionais no sistema cortical

primário utilizou-se o método de contagem, por meio de análise visual. Para a determinação da intensidade de coloração dos vasos do xilema, no sistema vascular secundário, foram quantificados os valores de brilho (L) e ângulo 'hue (h°)' do córtex, com um colorímetro Minolta, modelo CR 400. Através do produto $L \times h^\circ$ foi possível quantificar a intensidade de coloração vermelha do córtex, como resultado do transporte via xilema do corante vermelho (fucsina). Altos valores de $L \times h^\circ$ indicam maior brilho (maior intensidade de coloração branca) e menor coloração vermelha no córtex, indicando assim menor funcionalidade do xilema no sistema vascular secundário.

Os teores de Ca, Mg, K e N foram determinados na seção distal dos frutos, aos 40, 68, 96, 131, 173 e 188 DAPF.

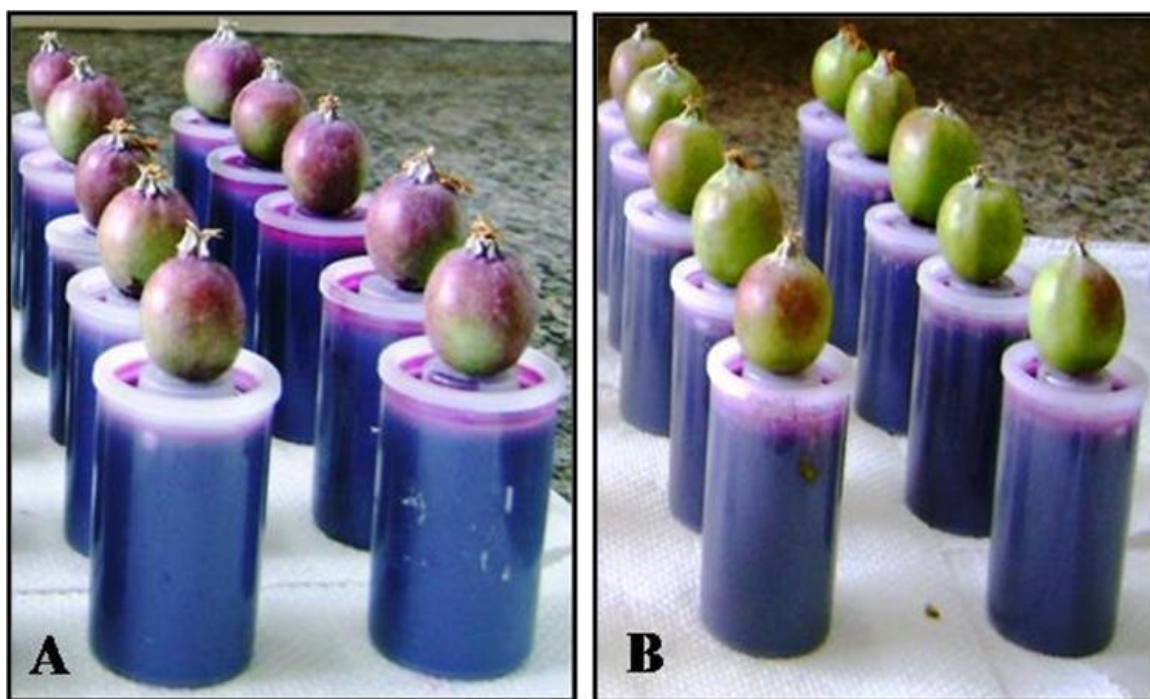


Figura 1- Infiltração do corante em maçãs 'Fuji' (A) e 'Catarina' (B) aos 47 dias após a plena floração.

Para análise mineral, a seção distal do fruto foi processada em uma multiprocessadora (modelo RI 6720), coletando-se o suco. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas em um mixer (modelo Braun Multiquick MR40). Pesou-se 5g da amostra em cadinho de porcelana M-2 e introduziu-se em uma mufla a 600°C por 4h. Posteriormente, adicionou-se 15 mL de uma solução de ácido clorídrico (1,8 N), formando o extrato original. Para a determinação do teor de Ca, retirou-se uma alíquota de 5 mL do extrato original e adicionou-se 5 mL de óxido de lantânio, efetuando a leitura do teor mineral no equipamento de absorção atômica (modelo A analyst 100). Para a determinação de Mg total, retirou-se 2 mL do extrato

original e adicionou-se 10 mL de água destilada. Desta solução, pipetou-se 5 mL e procedeu-se a metodologia descrita para a determinação de Ca. Para a determinação de K, retirou-se 1 mL do extrato original e adicionou-se 7 mL de água destilada e realizou-se a leitura em fotômetro de chama (Digimed DM-61). O N foi determinado pelo método semi-micro Kjeldahl, como descrito por Tedesco et al. (1995).

Em quatro amostras de 150 de frutos de ambas as cultivares, colhidos na maturação comercial (188 DAPF), foi avaliada a incidência (%) e severidade (número de manchas/fruto) de “bitter pit”, determinada por meio da utilização de uma escala, variando de 0 a 6 (0 - ausência de manchas, 1 - uma mancha, 2 - duas manchas, 3 - três manchas, 4 - quatro manchas, 5 - cinco manchas e 6 - presença de 6 ou mais manchas), por meio da análise visual.

Os dados foram submetidos à análise de variância com o programa SAS (SAS INSTITUTE, 2002). Os dados de massa fresca, funcionalidade do xilema e teores minerais ao longo do desenvolvimento dos frutos foram submetidos às análises de regressão linear e não linear.

1.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A massa fresca de maçãs ‘Catarina’ e ‘Fuji’ aumentaram exponencialmente no período de 40 a 188 DAPF (Figura 2). Contudo, observou-se que na maturação comercial (188 DAPF), maçãs ‘Catarina’ obtiveram maior massa fresca (160g) em comparação a ‘Fuji’ (150g).

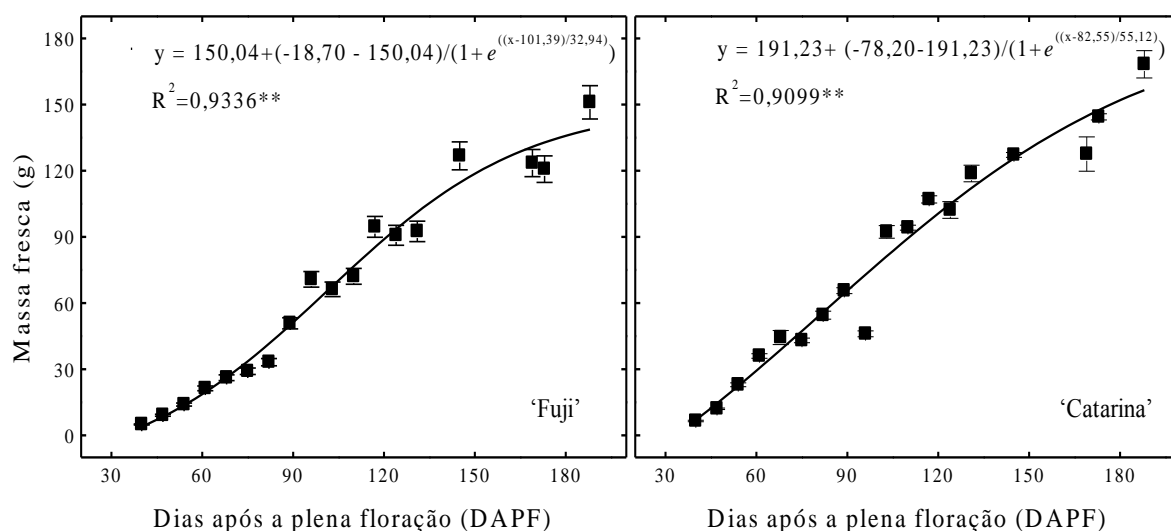


Figura 2 - Massa fresca de frutos de maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ durante a estação de crescimento dos frutos (40 a 188 DAPF). Cada ponto representa a média dos 20 frutos coletados. Barras verticais indicam o erro padrão da média.

Em ambas as cultivares, os vasos corticais primários e secundários apresentaram menor perda na funcionalidade ao longo do desenvolvimento quando comparados aos vasos carpelares (Figura 3). Dražeta et al. (2004) mencionam que os vasos carpelares são responsáveis pela nutrição das sementes, que, presumivelmente, requerem uma menor quantidade de nutrientes em relação à polpa. Além disso, as estruturas reprodutivas determinam a funcionalidade dos vasos carpelares, ou seja, em caso de aborto dos óvulos (órgãos que originam as sementes), haverá uma degeneração dos vasos carpelares e, conseqüentemente, uma maior perda na sua funcionalidade (MacARTHUR & WETMORE, 1941).

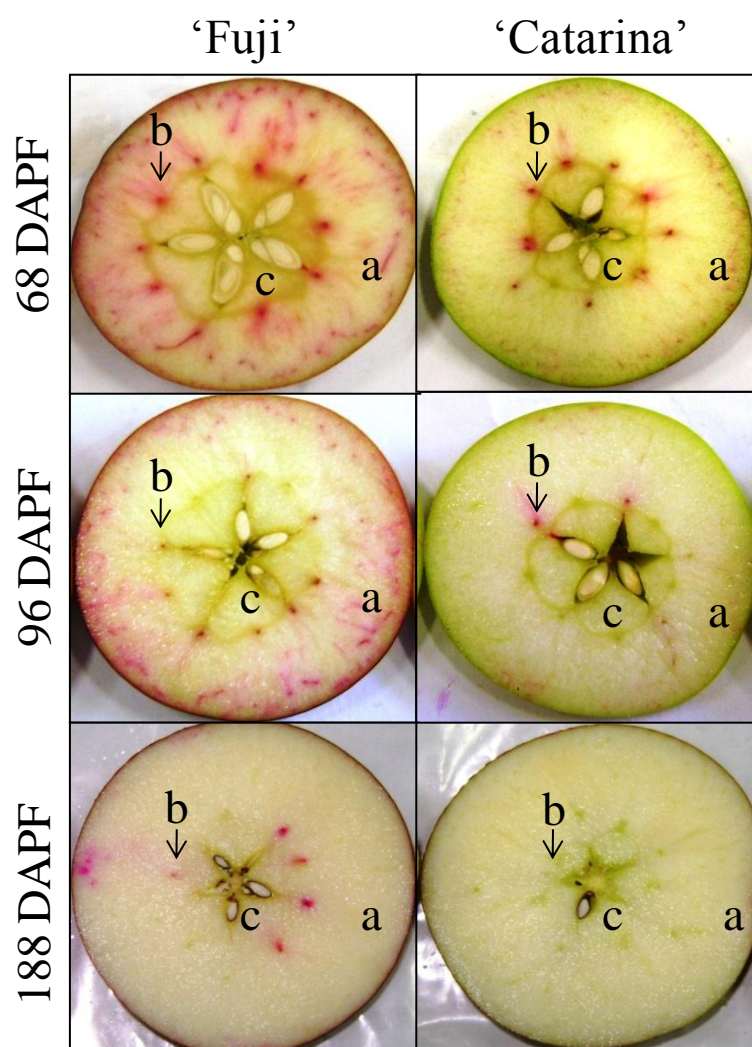


Figura 3 - Secção transversal (região mediana) de maçãs 'Fuji' e 'Catarina' imersas em corante aos 68, 96 e 188 dias após a plena floração (DAPF). Quanto maior coloração vermelha nos vasos corticais secundários (a), corticais primários (b) e carpelares (c) maior funcionalidade do xilema nos sistemas vasculares para as duas cultivares.

Maçãs ‘Fuji’ apresentaram um aumento no valor do atributo de cor $L \times h^\circ$ dos 61 aos 188 DAPF, enquanto que em maçãs ‘Catarina’ este aumento ocorreu dos 61 aos 80 DAPF, seguidos de uma estabilização até os 188 DAPF. O aumento observado nos valores de $L \times h^\circ$ ao longo do desenvolvimento se deve a uma redução na coloração dos vasos do sistema cortical secundário e uma perda na funcionalidade do xilema para ambas as cultivares (Figura 4). Contudo, maçãs ‘Catarina’ exibiram uma maior perda na funcionalidade do xilema quando comparada com a ‘Fuji’, em função do maior valor quantificado do $L \times h^\circ$, durante a estação de crescimento (61 aos 188 DAPF) dos frutos. Maçãs ‘Catarina’ tiveram a perda máxima na funcionalidade do xilema do sistema cortical secundário a partir dos 80 DAPF, enquanto maçãs ‘Fuji’ apresentaram uma perda gradual na funcionalidade destes vasos até os 188 DAPF (Figura 3 e 4). Esta perda mais acentuada na funcionalidade do xilema em maçãs ‘Catarina’ pode ter ocorrido em função desta cultivar apresentar maior tamanho de fruto, maior alongação celular, promovendo uma compressão dos vasos do xilema, provocando o colapso e perda da funcionalidade. Dražeta et al. (2004) também constataram uma perda na coloração inicial dos vasos corticais secundários, seguido pelos vasos corticais primários durante o desenvolvimento de maçãs ‘Granny Smith’ e ‘Braeburn’.

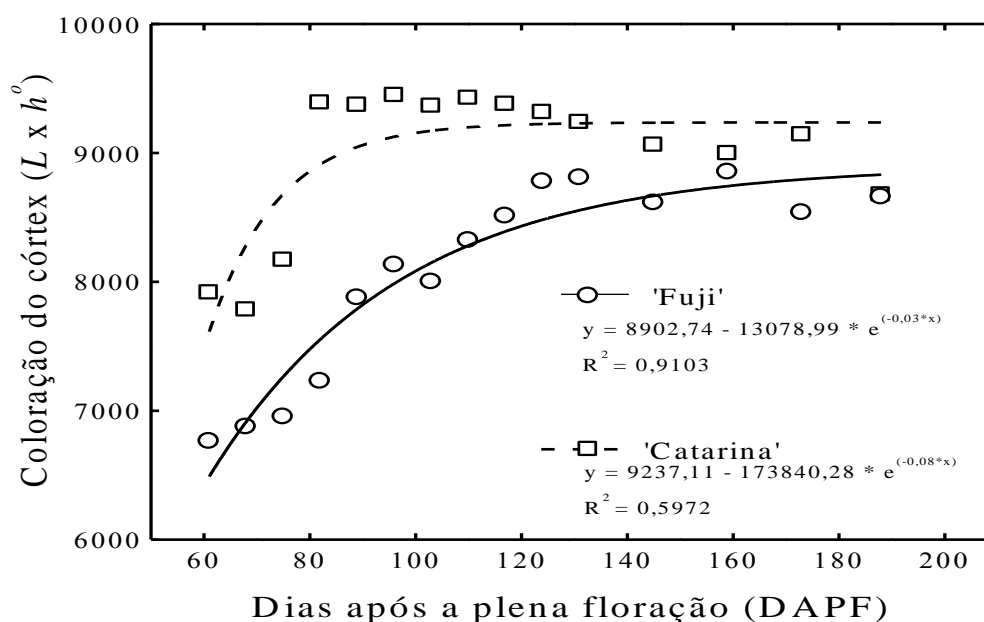


Figura 4- Coloração do córtex ($L \times h^\circ$), indicando funcionalidade do xilema no sistema cortical secundário em maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ durante a estação de crescimento (61 a 188 DAPF). Aumento nos valores do $L \times h^\circ$ indica redução na coloração dos vasos do xilema no sistema cortical secundário e perda na funcionalidade do xilema. Cada ponto representa a média dos 20 frutos coletados.

Observou-se em maçãs ‘Catarina’ e ‘Fuji’ uma redução no número de vasos corticais primários corados, nas três seções avaliadas (proximal, mediana e distal), durante o período de 40 a 188 DAP (Figura 5). Contudo, em maçãs ‘Catarina’ observou-se uma drástica redução no número de vasos corados do início até o final do período de avaliação, enquanto que na ‘Fuji’ isto só ocorreu após 80 DAP (Figura 5). Na colheita comercial (188 DAPF), maçãs ‘Fuji’ ainda apresentavam um número reduzido de vasos corados, nas três seções avaliadas, indicando pequena funcionalidade do xilema, enquanto em maçãs ‘Catarina’, somente a seção proximal apresentou poucos vasos funcionais, com perda máxima da funcionalidade do xilema nas seções mediana e distal (Figura 5). Estes resultados são similares aos relatados por Dražeta et al. (2004), em trabalho realizado com maçãs ‘Braeburn’ (altamente suscetível ao “bitter pit”) e ‘Granny Smith’ (com menor suscetibilidade ao “bitter pit”) na Nova Zelândia. Segundo Dražeta et al. (2001), a redução na funcionalidade do xilema pode estar relacionada com o dano ocasionado às paredes dos vasos em função do crescimento do fruto, uma vez, que os mesmos apresentam baixa elasticidade. Assim, o crescimento acentuado do fruto, no início da expansão celular, é provavelmente o principal fator para a perda da funcionalidade do xilema (DRAŽETA et al., 2004), como foi observado, principalmente em maçãs ‘Catarina’.

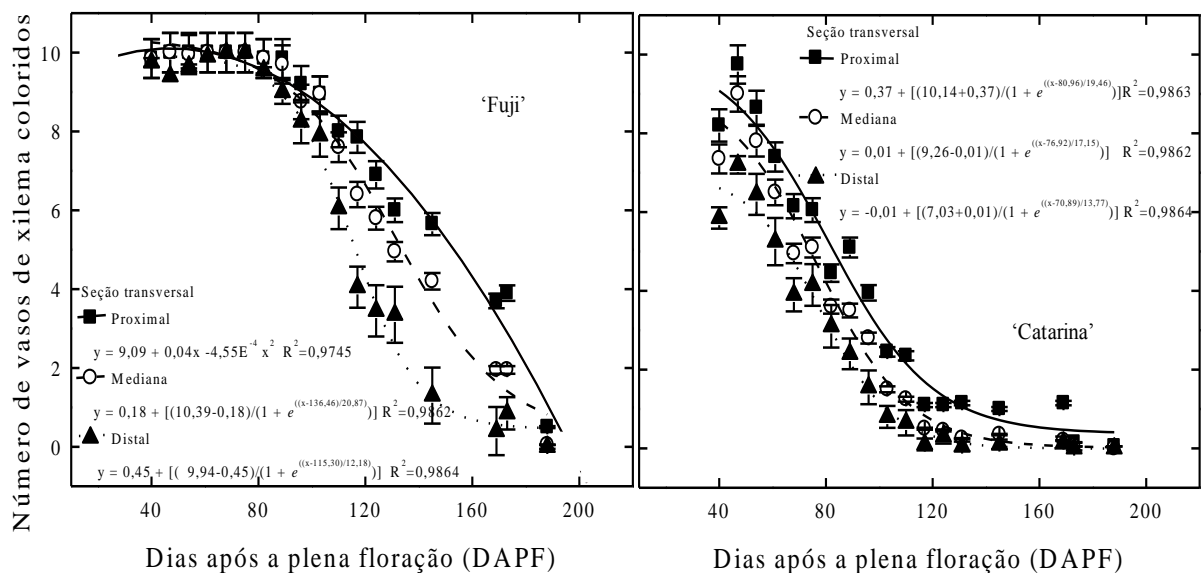


Figura 5 - Número de vasos corticais primários coloridos nas regiões proximal, mediana e distal de maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’. O número médio de vasos corados para cada período foi obtido dos 20 frutos coletados para cada cultivar. Barras verticais representam o erro padrão da média

Verificou-se, em ambas as cultivares, uma redução no número de vasos corados da região distal para a proximal (Figura 5). No entanto, o número de vasos corados do xilema,

principalmente na porção distal de frutos da cultivar ‘Catarina’ foi menor que os observados em maçãs ‘Fuji’ (Figura 5). Este comportamento parece explicar a maior suscetibilidade ao ‘bitter pit’ em maçãs ‘Catarina’ do que em ‘Fuji’.

Maçãs ‘Catarina’ e ‘Fuji’ exibiram um decréscimo linear no teor de Ca e Mg na seção distal, entre 40 e 188 DAPF (Figura 6). Os teores de K em ambas as cultivares tiveram um comportamento de forma quadrática onde houve uma redução, 40 aos 140 DAPF, seguidos de um aumento, 141 DAPF à 188 DAPF. No entanto, ao final dos 188 DAPF, maçãs ‘Catarina’ apresentaram um menor teor de Ca (25 mg.kg^{-1}) em relação à ‘Fuji’ (35 mg.kg^{-1}) (Figura 6). Esta maior limitação do Ca é um indicativo de que a cultivar ‘Catarina’ tende a apresentar uma maior propensão a ocorrência de “bitter pit”, principalmente na região distal do fruto. Ferguson e Watkins (1989) afirmam que os teores de Ca na região distal dos frutos são inferiores à região proximal, fato este que pode favorecer a ocorrência de “bitter pit” nesta região. Esta redução no teor de Ca pode estar relacionada com a diminuição da funcionalidade do xilema, principalmente na região distal, em função da expansão do fruto, que promove um colapso nas paredes dos vasos, reduzindo o aporte de Ca. Logo, a redução na absorção e no transporte de Ca no interior dos frutos pode ocasionar uma distribuição desuniforme deste elemento, favorecendo a ocorrência do “bitter pit” (DRAŽETA et al., 2004).

Os valores das relações K/Ca, (Mg+K)/Ca e (K+Mg+N)/Ca mantiveram-se estáveis dos 40 aos 173 DAPF, seguidos de um aumento até os 188 DAPF, em ambas as cultivares (Figuras 6). Porém, os valores da relação Mg/Ca em maçãs ‘Fuji’ apresentaram um comportamento ascendente durante o período de 40 a 160 DAPF, seguido de um decréscimo dos 161 a 188 DAPF. Contudo, o valor da relação Mg/Ca nesta cultivar ao final dos 188 DAPF foi superior ao valor inicial (40 DAPF) (Figura 6). Os elevados valores das relações K/Ca, (Mg+K)/Ca e (K+Mg+N)/Ca no período de 173 a 188 DAPF podem ser explicado em função dos altos teores de K e do declínio nos teores de Ca (Figura 6). Além disso, houve uma redução nos teores de Mg (Figura 6) e N neste período, porém de menor magnitude em relação à redução nos teores de Ca, promovendo um aumento nos valores das relações minerais.

Maçãs ‘Catarina’ apresentaram maiores valores das relações K/Ca, Mg/Ca, (Mg+K)/Ca e (K+Mg+N)/Ca em relação à ‘Fuji’ aos 188 DAPF (Figura 6). Isto, aliado aos baixos teores de Ca, parece explicar a maior predisposição à ocorrência de “bitter pit” em maçãs ‘Catarina’ (Figuras 6). Esta cultivar, por apresentar uma elevada perda na funcionalidade do xilema, reduz o aporte de Ca para o fruto. No entanto, a funcionalidade do floema mantém-se inalterada, pois é constituído de células vivas, que continuam se

diferenciando e transportando K, Mg e N durante todo o período de desenvolvimento do fruto, garantindo elevados teores desses minerais em detrimento ao Ca (Dražeta et al., 2004). Desta forma, K e Mg competem pelos sítios de ligação do Ca na membrana plasmática, não desempenhando a mesma função na estruturação e integridade de membrana (FREITAS et al., 2010), ocasionando o colapso e a morte celular, que pode resultar no aparecimento do “bitter pit”.

Aos 188 DAPF maçãs ‘Catarina’ apresentaram maior incidência de “bitter pit” em relação a maçãs ‘Fuji’ (Figura 7). A severidade de “bitter pit” (número de manchas/fruto) foi diretamente proporcional à relação $(K+Mg+N)/Ca$ nos frutos para ambas as cultivares (Figura 8). Contudo, maçãs ‘Catarina’, por apresentarem maiores valores desta relação mineral em relação a maçãs ‘Fuji’, tiveram maior severidade de “bitter pit” (Figura 8). Também, a alta incidência e severidade de “bitter pit” em maçãs ‘Catarina’ aos 188 DAPF pode estar relacionada com os reduzidos teores de Ca, principalmente na seção distal, em função da perda significativa da funcionalidade do xilema (Figuras 5 e 6). Amarante et al. (2006) também verificaram um aumento significativo na severidade de “bitter pit” em decorrência da redução dos teores de Ca total na casca e na polpa e elevados valores da relação Mg/Ca , $(K+Mg)/Ca$ e $(K+Mg+N)/Ca$ na casca em maçãs ‘Catarina’.

Os dados obtidos mostram que maçãs ‘Catarina’ apresentam uma drástica perda na funcionalidade, um menor teor de Ca (principalmente na seção distal), e maiores valores nas relações minerais K/Ca , Mg/Ca , $(Mg+K)/Ca$ e $(K+Mg+N)/Ca$, que podem explicar a alta incidência e severidade de “bitter pit” nesta cultivar em relação a ‘Fuji’.

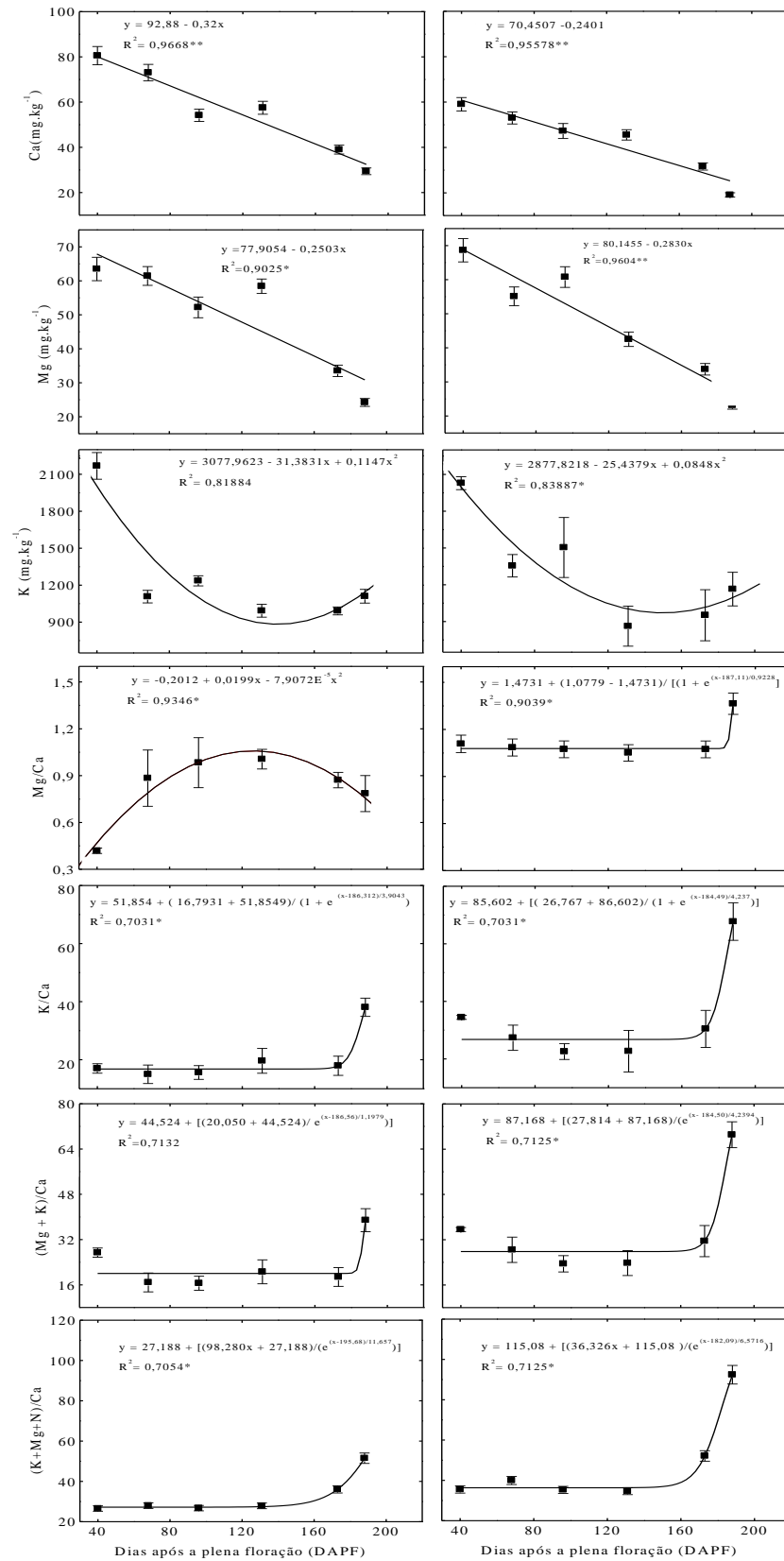


Figura 6- Valores das relações (K+Mg+N)/Ca, (Mg+K)/Ca, K/Ca, Mg/Ca, K (mg.kg⁻¹), Mg(mg.kg⁻¹) e Ca (mg.kg⁻¹) na seção distal de maçãs ‘Fuji’ (lado A) e ‘Catarina’ (lado B) durante o desenvolvimento dos frutos. Barras verticais representam o erro padrão da média para os valores de atributos minerais.

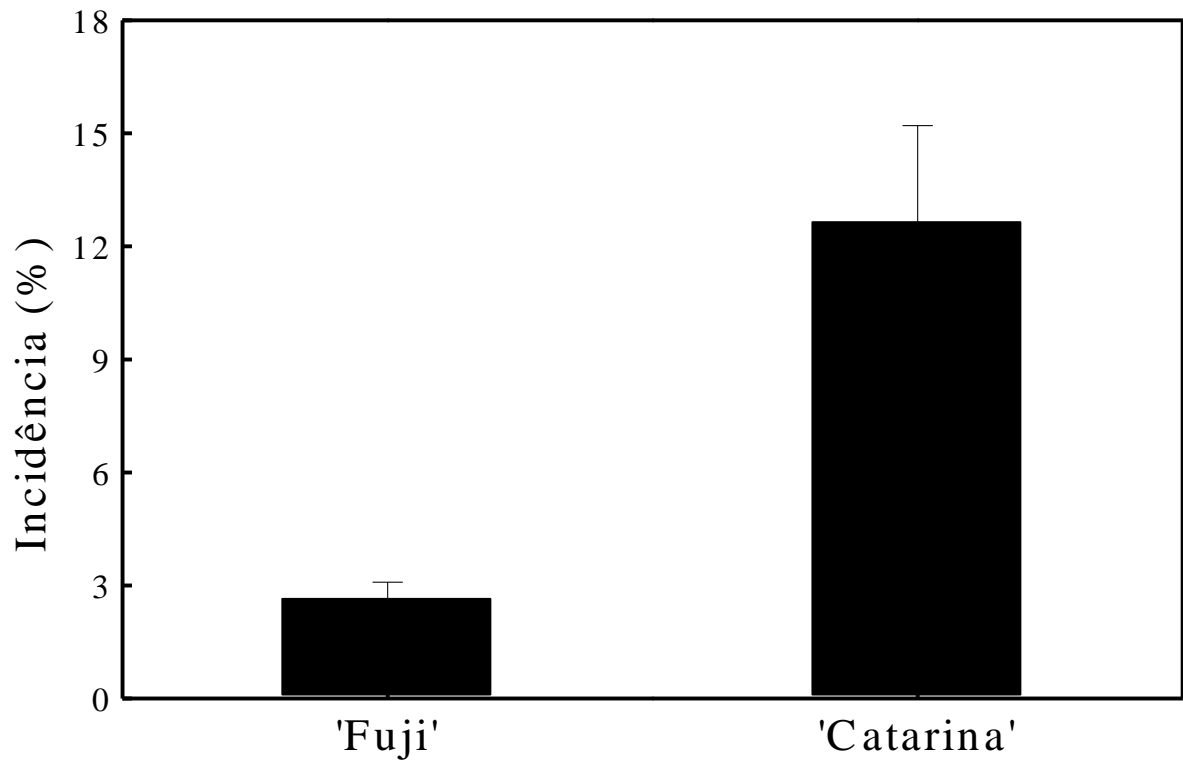


Figura 7 - Incidência de “bitter pit” em maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ colhidas aos 188 dias após a plena floração. Barras verticais representam o erro padrão da média.

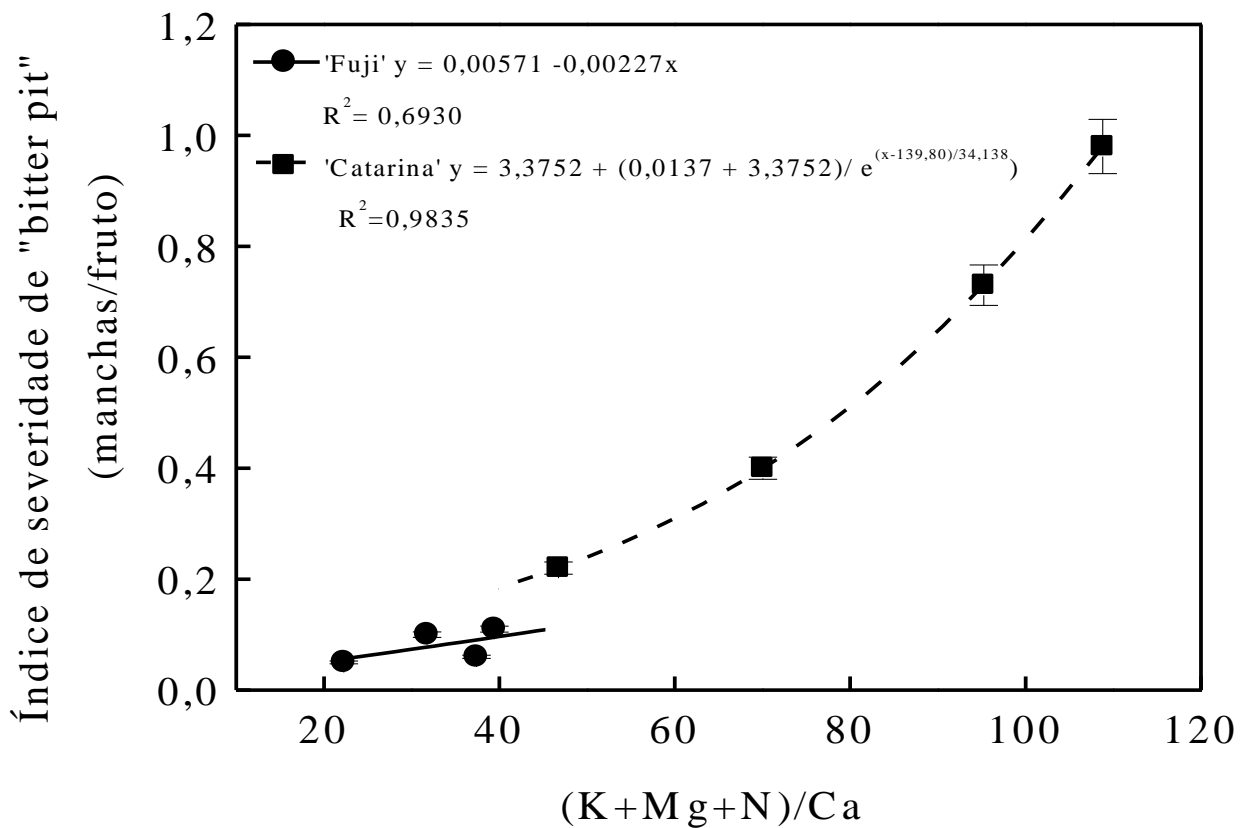


Figura 8– Severidade de “bitter pit” em maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ colhidas aos 188 dias após a plena floração em função dos valores da relação (K+Mg+N)/Ca nos frutos. Barras verticais representam o erro padrão da média.

1.6 CONCLUSÕES

1. O distúrbio fisiológico “bitter pit” em maçãs está relacionado com a perda na funcionalidade do xilema, o que resulta em baixos teores de Ca e elevados valores nas relações K/Ca, Mg/Ca, (Mg+K)/Ca e (K+Mg+N)/Ca, principalmente na região distal do fruto.
2. A cultivar Catarina apresentou uma queda acentuada no número de vasos corticais primários e secundários coloridos, demonstrando que há uma elevada perda na funcionalidade do xilema, resultando no menor aporte de Ca aos frutos. Em razão disto, a cultivar Catarina apresentou uma maior suscetibilidade ao “bitter pit” do que a cultivar Fuji.

2. ATRIBUTOS MINERAIS E DE QUALIDADE RELACIONADOS COM A OCORRÊNCIA DE “BITTER PIT” EM MAÇÃS.

2.1 RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar e identificar os atributos fisiológicos, físico-químicos e minerais relacionados com a ocorrência pós-colheita de “bitter pit” em maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ que são cultivares com baixa e alta suscetibilidade ao “bitter pit”, respectivamente. Os frutos foram colhidos na maturação comercial e armazenados em atmosfera do ar a 1°C e UR 90-95%, por um período de quatro meses. Após o período de armazenamento, os frutos de cada cultivar foram divididos em dois lotes, de acordo com a presença ou ausência de “bitter pit”. Avaliaram-se as taxas respiratória e de produção de etileno, acidez titulável (AT), pH, sólidos solúveis (SS), firmeza de polpa, atributos de textura (forças para a penetração da casca e da polpa), porcentagem de cor vermelha (PCV), cor da epiderme (ângulo h°) e teores minerais (Ca, Mg, K e N) nos tecidos da casca e polpa. Os frutos de ambas as cultivares também foram avaliados quanto à incidência (%) e severidade (número de manchas/fruto) de “bitter pit”. Maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ com “bitter pit” apresentaram maiores taxas de produção de etileno (2,40 e 3,41 $\mu\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$), de respiração (146,59 e 113,08 $\text{nmol de CO}_2\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$), de AT (0,31 e 0,32%) e menores valores de pH (3,66 e 3,74), firmeza de polpa (86,98 e 85,6N), textura da casca (13,67 e 13,61N) e da polpa (3,56 e 3,66N) e PCV (53,42 e 57,49%) em relação aos frutos sem “bitter pit”. Frutos com “bitter pit” exibiram menores teores de Ca e maiores valores nas relações K/Ca, N/Ca, (K+Mg)/Ca e (K+Mg+N)/Ca nos tecidos da casca e polpa, na região pistilar do fruto, em relação aos frutos sem “bitter pit”, especialmente em maçãs ‘Catarina’ que apresentaram maior incidência (14%) e severidade (0,7%) de “bitter pit”. Na análise canônica discriminante (ACD), os atributos que melhor discriminaram frutos com “bitter pit” foram a força para a penetração na polpa e a relação K/Ca na polpa em maçãs ‘Fuji’, e a AT e a relação K/Ca na casca em maçãs ‘Catarina’.

Palavras-chave: *Malus domestica*, fruto, atributos físico-químicos, teores minerais, análise canônica discriminante.

2.2 ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate and identify the physiological, physico-chemical and mineral attributes associated with the occurrence of bitter pit in 'Fuji' and 'Catarina',

corresponding to cultivars with low and high susceptibility to bitter pit, respectively. The fruits were harvested at commercial maturity and stored in air atmosphere at 1 ° C and 90-95% RH for a period of four months. After the storage period, fruits of each cultivar were divided into two lots, according to the presence or absence of bitter pit. Fruits of each lot were evaluated in terms of respiration and ethylene production rates, titratable acidity (TA), pH, soluble solids content (SSC), flesh firmness, texture attributes (forces to penetrate the skin and pulp), percentage of skin red color (PSRC), skin color (hue angle; h°) and mineral contents (Ca, Mg, K and N) in the tissues of the skin and pulp. Fruits of both cultivars were also evaluated for the incidence (%) and severity (number of spots / fruit) of bitter pit. 'Fuji' and 'Catarina' apples with bitter pit showed higher rates of ethylene production (2.40 and 3.41 $\mu\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$), respiration rate (146.59 and 113.08 $\text{nmol de CO}_2\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$), AT (0.31 and 0.32%), and lower values of pH (3.66 and 3.74), flesh firmness (86.98 and 85.6N), skin texture (13.67 and 13.61N) and pulp texture (3,56 and 3,66) and PSRC (53.42 and 57.49%) compared to fruit without bitter pit. Fruits with bitter pit exhibited lower Ca content and higher K/Ca, N/Ca, (K+Mg)/Ca and (Mg+K+N)/Ca ratios in the skin and flesh tissues of the blossom end of the fruit compared to fruit without bitter pit, especially in 'Catarina' apples that had the highest incidence (14%) and severity (0.7%) of bitter pit. The canonical discriminant analysis (CDA) showed that the best attributes to discriminated between fruits with and without bitter pit were the force to penetrate the flesh and K/Ca ratio in the pulp in 'Fuji', and AT and K/Ca ratio in the skin of 'Catarina' apples.

Key-words: *Malus domestica*, fruit, physico-chemical attributes, mineral content, canonical discriminant analysis.

2.3 INTRODUÇÃO

A maçã (*Malus domestica*, Bork.) é um fruto de clima temperado mais produzido na região Sul do Brasil, com uma produção anual de aproximadamente 1.300.000 mil toneladas (IBGE, 2009). Com o intuito de ofertar maçãs durante todo o ano, prolongar a conservação e manter a qualidade do fruto, cerca de 99% da produção total é destinada ao armazenamento (ABPM, 2004).

Contudo, durante o armazenamento, as perdas pós-colheitas são elevadas e os principais fatores envolvidos são as doenças (podridões) (BLUM et al., 2004), os danos mecânicos e os distúrbios fisiológicos (BRACKMAN et al., 2010).

Segundo Brackman et al. (2010), em maçãs ‘Fuji’, as perdas pós-colheita podem atingir até 20% da produção, em razão de distúrbios fisiológicos. Dentre os inúmeros distúrbios fisiológicos detectados em frutos, o “bitter pit” merece destaque, pois é uma desordem fisiológica que pode ocasionar perdas de até 30% da produção (BASSO, 2002) e se desenvolve principalmente durante a frigoconservação dos frutos (AMARANTE et al., 2010). O “bitter pit” se caracteriza por manchas escuras na polpa, que com o tempo desidratam e formam depressões na epiderme do fruto (AMARANTE et al., 2006).

A ocorrência de “bitter pit” em maçãs esta relacionada com fatores presentes no pomar, como raleio excessivo de frutos (baixa carga de frutos), porta-enxertos vigorosos, planta excessivamente vigorosa, excesso de N e deficiência hídrica (SAURE, 2005). Contudo, Ferguson e Watkins (1989) relataram que os baixos teores de Ca e elevados teores de Mg, K e N nos frutos, são os principais fatores que predisõem a ocorrência de “bitter pit” em maçãs.

Segundo Amarante et al. (2009), os baixos teores de Ca no fruto, prejudicam a permeabilidade seletiva das membranas celulares, resultando em injúria e morte celular dos tecidos, vindo a ocasionar o “bitter pit”. Assim, o Ca desempenha um importante papel para os tecidos do fruto, garantindo a estruturação e funcionalidade da membrana, através da ligação de fosfolípeos e de monogalactosildiácilglicerois a superfície da mesma (FREITAS et al., 2010). Além disso, o Ca é um constituinte indispensável da parede celular e, quando presente em altos teores, retarda o processo de amadurecimento e senescência dos frutos por meio da diminuição da síntese de etileno e atividade respiratória e retardo na perda de AT durante o seu armazenamento (POOVAIAH, 1986; FRANCO et al, 2008). Recanses et al. (2004) relataram que maçãs ‘Golden Smoothie’ com altos teores de Ca apresentaram um retardo na maturação e menores taxas respiratórias e de produção de etileno, já que este elemento mineral reduz endogenamente o catabolismo dos substratos, limitando sua difusão do vacúolo para o citoplasma.

Contudo, a maioria dos distúrbios fisiológicos que ocorrem nos frutos está relacionado com os aspectos nutricionais, principalmente com baixos teores de Ca, como o colapso interno em manga (OLIVEIRA, 2005), amolecimento da polpa em mamão (OLIVEIRA, 2005) e o “bitter pit” em maçãs (FERGUSON & WATKINS, 1989). Estes distúrbios fisiológicos promovem alterações na qualidade dos frutos (OLIVEIRA, 2005). Segundo Iuchi et al. (2001), o “bitter pit” ocasiona danos e alterações do metabolismo normal aos frutos, que promovem modificações no sabor e na aparência da polpa que acarretam na redução do valor comercial e na qualidade do fruto.

Desta forma, frutos com esta desordem, podem não somente apresentar modificações nos aspectos visuais, mas pode apresentar alterações metabólicas, como maiores taxas respiratórias (FREITAS et al., 2010), e nos atributos físico-químicos, elevada AT e reduzida firmeza de polpa (FREITAS et al, 2010), sejam estas decorrentes a manifestação do distúrbio, em consequência dos baixos teores de Ca, e que podem acarretar em uma redução ainda maior na qualidade do fruto e na vida pós-colheita do mesmo.

Então, faz-se necessário identificar quais atributos de qualidade e minerais sofrem alterações, em frutos com “bitter pit”, para que então se busque métodos alternativos para minimizar a ocorrência deste distúrbio e as perdas de qualidade em pós-colheita.

O objetivo deste trabalho foi avaliar e identificar os atributos fisiológicos (respiração e etileno), físico-químicos e minerais relacionados com a ocorrência pós-colheita de “bitter pit” em maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’.

2.4 MATERIAL E MÉTODOS

Os frutos foram colhidos em um pomar comercial localizado no município de São Joaquim-SC (latitude 28° 11' 19,66" S, longitude 49° 59' 42,60" W e altitude de 1.219m), no ciclo produtivo 2009/10. Foram utilizadas macieiras das cultivares Fuji e Catarina, com 13 anos de idade, sobre porta-enxerto ‘Marubakaido’ com filtro EM-9, conduzidas com líder central, em sistema de média densidade, com espaçamento de 2,0m x 6,0m.

Os frutos foram colhidos aos 188 dias após a plena floração (maturação comercial) e transportados para o Laboratório de Fisiologia e Tecnologia e Pós-Colheita do Centro de Ciências Agroveterinária-CAV/UEDESC. No laboratório, os frutos de cada cultivar foram selecionados, eliminando-se aqueles com defeitos ou com dano mecânico, procedendo-se, em seguida, a homogeneização das unidades experimentais. Em seguida, os frutos de ambas as cultivares foram armazenados em atmosfera do ar (AR) a 1°C e UR 90-95%, por um período de 120 dias.

Antes do armazenamento, foi realizada a análise inicial de seis amostras de 10 frutos para determinar as características de qualidade inicial. Maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ apresentaram, respectivamente, quanto a coloração da epiderme (ângulo ‘hue’; h°) na região mais exposta a luz, valores de 26,50 e 27,61, e na região sombreada, valores de 89,35 e 87,74, valores de sólidos solúveis (SS) de 13,58 e 13,55 °Brix, acidez titulável (AT) de 0,43 e 0,45%, força para a penetração da casca de 15,9N e 15,2N, e força para a penetração da polpa de 4,4N e 4,2N.

Após o período de armazenamento, os frutos de cada cultivar foram divididos em dois lotes, de acordo com a presença (com uma ou mais manchas/fruto) ou ausência de “bitter pit”. Cada lote foi constituído por seis repetições, sendo cada unidade experimental constituída de 10 frutos. Os frutos foram avaliados quanto taxas respiratórias e de produção de etileno, AT, SS, pH, firmeza de polpa, atributos de textura (forças para a penetração da casca e da polpa), porcentagem de cor vermelha (PCV), cor da epiderme (h°) e teores minerais (Ca, Mg, K e N nos tecidos da casca e polpa, na região distal do fruto).

As taxas respiratória e de produção de etileno foram quantificadas, colocando-se sete frutos de cada amostra em um recipiente hermético, com o volume de 2.300 mL. A taxa respiratória foi obtida pela diferença de concentração de CO_2 no interior do recipiente, imediatamente após o seu fechamento e depois de uma hora. Alíquotas de gás (1 mL) foram retiradas dos recipientes através de um septo de borracha e injetadas em um cromatógrafo à gás (Varian[®], modelo CP-3800, Palo Alto - CA, EUA), equipado com uma coluna Porapak N[®] de 3m de comprimento (80-100 mesh), metanador e detector de ionização de chama. As temperaturas da coluna, detector, metanador e injetor foram de 45°C, 120°C, 300°C e 110°C, respectivamente. Os fluxos de nitrogênio, hidrogênio e ar sintético foram de 70, 30 e 300 mL min^{-1} , respectivamente. Os valores da atividade respiratória (nmol de CO_2 kg^{-1} s^{-1}) e da taxa de produção de etileno (μL de C_2H_4 kg^{-1} s^{-1}) foram calculados através da fórmula descrita por Banks et al. (1995).

Os valores de AT (%) foram obtidos por meio de uma amostra de 10 mL de suco dos frutos, obtidos por meio de uma centrífuga modelo RI 6720. Esta amostra foi diluída em 90 mL de água destilada e titulada com solução de NaOH 0,1 N até pH 8,1.

Os teores de SS (°Brix) foram determinados com o uso de um refratômetro digital modelo Atago, utilizando-se o suco extraído dos 10 frutos utilizados para AT.

A firmeza de polpa (N) foi determinada com o auxílio de um penetrômetro manual, equipado com ponteira de 12 mm de diâmetro, na região equatorial dos frutos, em dois lados opostos, após remoção de uma pequena porção da epiderme.

Os atributos de textura foram analisados com um texturômetro eletrônico TAXT-plus[®] (Stable Micro Systems Ltd., Reino Unido), em termos de forças necessárias para a penetração da epiderme e da polpa. Para a quantificação da força necessária para o rompimento da epiderme e para a penetração na polpa, foi utilizada ponteira modelo PS2, com 2 mm de diâmetro, a qual foi introduzida na polpa a uma profundidade de 10 mm com velocidades pré-teste, teste e pós-teste de 30, 5 e 30 mm s^{-1} , respectivamente.

A PCV foi determinada por meio da análise subjetiva, atribuindo-se valores de 0-100%, de acordo com a superfície dos frutos com coloração vermelha.

A determinação de h° da epiderme foi efetuada com um colorímetro Minolta, modelo CR 400, sendo as leituras realizadas em dois lados do fruto. O h° define a coloração básica, sendo que 0° = vermelho, 90° = amarelo e 180° = verde.

A incidência de “bitter pit” foi determinada pela contagem de frutos que apresentavam a presença do distúrbio, e os resultados expressos em percentagem (%). A severidade de “bitter pit” (manchas/fruto) foi determinada por meio da utilização de uma escala, variando de 0 a 6 (0 - ausência de manchas, 1 - uma mancha, 2 - duas manchas, 3 - três manchas, 4 - quatro manchas, 5 - cinco manchas e 6 - presença de 6 ou mais manchas).

Para análise mineral, os frutos foram cortados transversalmente, sendo utilizada apenas a região distal, da qual foram retiradas a casca e 5 mm da polpa logo abaixo da mesma. Em seguida, os tecidos da casca e da polpa foram submetidos ao processamento em uma multiprocessadora (modelo RI 6720) e homogeneizados em um mixer (modelo Braun Multiquick MR40). Após, pesou-se 5g da amostra em cadinho de porcelana M-2 e introduziu-se em uma mufla a 600°C por 4h. Posteriormente, adicionou-se 15 mL de uma solução de ácido clorídrico (1,8 N), formando o extrato original.

Para a determinação de Ca total, retirou-se uma alíquota de 5 mL do extrato original e se adicionou 5mL de lantânio, efetuando a leitura do teor mineral no equipamento de absorção atômica (modelo A analyst 100).

Para a determinação de Mg total, retirou-se 2 mL do extrato original e se adicionou 10 mL de água destilada. Desta solução se pipetou 5 mL e se procedeu a quantificação conforme descrito para a determinação de Ca.

Para a determinação de K, retirou-se 1 mL do extrato original e se adicionou 7 mL de água destilada e se realizou a leitura em fotômetro de chama (Digimed DM-61).

O N foi determinado pelo método semimicro Kjeldahl, como descrito por Tedesco et al. (1995).

Para a avaliação de incidência e severidade de “bitter pit” em ambas as cultivares, durante o armazenamento refrigerado, foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, com seis repetições, sendo cada unidade experimental composta de 100 frutos. Para as demais análises físico-químicas e minerais, a amostra foi constituída de 10 frutos. Os dados foram submetidos à análise da variância (ANOVA) e à análise canônica discriminante (ACD) com a utilização do programa SAS (SAS Institute, 2002). A ACD foi utilizada para

identificar os principais atributos fisiológicos, físico-químicos e minerais capazes de discriminar frutos com e sem “bitter pit”.

2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ com “bitter pit” apresentaram maiores taxas de produção de etileno e de respiração em relação aos frutos sem “bitter pit” (Tabela 1). Esta maior produção de etileno em frutos com “bitter pit” pode estar relacionado, com o estresse gerado por este distúrbio aos tecidos, proporcionando uma elevação na síntese ou ativação da 1-aminociclopropano-1-carboxílico sintase (ACC sintase) e 1-aminociclopropano-1-carboxílico oxidase (ACC oxidase) e, conseqüentemente, uma elevação na produção de etileno (KERBAUY, 2008). Cooper e Bangerth (1976) observaram que a taxa respiratória tende a aumentar em frutos com “bitter pit”, em função dos menores teores de Ca presentes nos frutos. Os baixos teores de Ca na parede celular aumentam a atividade das enzimas responsáveis pela redução na firmeza dos frutos, como as poligalacturonases (PG) (HUBER et al., 2001). Com a degradação da parede celular, pode ocorrer aumento na atividade respiratória, por meio da desestruturação celular, provocando uma solubilização de várias substâncias que servem de substrato para enzimas no processo respiratório (BANGERTH, 1974). Além disso, frutos com “bitter pit” podem apresentar um aumento da permeabilidade de membranas e, com isto, maior aporte de substratos para os centros catalíticos no citoplasma, aumentando a respiração (COOPER & BANGERTH, 1976).

Os níveis de SS, não diferiram entre frutos com e sem “bitter pit”, em ambas as cultivares (Tabela 1). Esses resultados são similares aos encontrados por Freitas et al. (2010) em maçãs ‘Granny Smith’ com a presença desta desordem.

Em ambas as cultivares, os frutos com “bitter pit” apresentaram menor pH e maior AT em relação aos frutos sem “bitter pit” (Tabela 1). Esta maior AT em frutos com “bitter pit” é resultado dos maiores teores de ácido málico (FREITAS et al., 2010). As bombas de prótons, que são complexos protéicos associados membrana do vacúolo, são responsáveis pela geração de um gradiente eletroquímico que potencializa a absorção de importantes íons, como o Ca (OLIVEIRA, 2005) e ácido málico. Os principais complexos protéicos que compõem esses sistemas são a H^+ -ATPase na plasmalema e tonoplasto, e a H^+ -pirofosfatase e as bombas trocadoras de cátions- H^+ (CAXs) no tonoplasto (FREITAS et al., 2010). Frutos com “bitter pit” tendem a apresentar maior expressão destas proteínas na membrana do tonoplasto. A H^+ -ATPase e a H^+ -pirofosfatase acumulam hidrogênio e ácido málico no vacúolo e reduzem o

seu pH, enquanto as CAXs retiram o Ca do citossol e transportam para o interior do vacúolo, e ao mesmo tempo, retiram hidrogênios do interior desta unidade de armazenamento e conduzem para o citossol. Na membrana plasmática da célula, as bombas de prótons retiram os hidrogênios livre do citossol, para o apoplasto, aumentando a concentração H^+ no exterior da célula, reduzindo o pH e aumentando a acidez dos frutos (FREITAS et al., 2010).

Tabela 1 - Respiração e produção de etileno, teores de sólidos solúveis (SS), pH e acidez titulável (AT) em maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ sem e com “bitter pit”, armazenadas em atmosfera do ar a 1°C e UR 90-95%, por 4 meses.

Fruto	Respiração ($nmol\ CO_2\ kg^{-1}\ s^{-1}$)	Produção de etileno ($\mu l\ kg^{-1}\ h^{-1}$)	SS (°Brix)	pH	AT (%)
‘Fuji’					
Sem	119,07	0,87	13,83	3,80	0,25
Com	146,59	2,40	13,18	3,66	0,31
Probabilidade	0,0110	0,0282	ns	0,041	0,0113
C.V. (%)	15,04	78,38	5,59	2,35	16,04
‘Catarina’					
Sem	70,60	0,83	14,63	3,89	0,29
Com	113,08	3,41	14,21	3,74	0,32
Probabilidade	0,0499	0,0061	ns	0,0032	<0,0001
C.V. (%)	42,29	86,35	6,74	2,72	6,48

ns: não significativo ($p>0,05$)

Nas duas cultivares, frutos com “bitter pit” apresentaram menor firmeza de polpa e menor textura (forças para a penetração da casca e polpa) em relação aos frutos sem “bitter pit” (Tabela 2). Isto se deve ao fato de que frutos com “bitter pit” tendem a apresentar baixa integridade de membrana plasmática e alta perda de água, o que resulta na redução da pressão de turgor da célula (FREITAS et al., 2010), ocasionando a perda de firmeza e textura. Além disso, frutos com “bitter pit” tendem a apresentar maiores teores de N total e baixos teores de Ca total no tecido da polpa (Tabelas 3 e 4). Segundo Qiu et al. (1995), há uma forte relação entre os elevados teores de N e a perda na firmeza, porque acredita-se que o excesso de N, de uma forma indireta, influencia na capacidade do tecido mesocárpico em acumular Ca. Como o Ca atua diretamente na organização da estrutura da parede celular, quando em baixa concentração no tecido, ocasiona uma redução na firmeza de polpa (OLIVEIRA, 2005), porque restringe a formação de ligações entre as pectinas da parede celular na lamela média, reduzindo a sua estabilidade (POOVAIAH, 1986).

A reduzida firmeza de polpa em frutos com “bitter pit” pode ainda estar relacionada com o menor pH destes. Huber et al. (2001), em trabalho realizado com tomate, relataram que

durante o amadurecimento dos frutos havia uma maior expressão e atividades das enzimas poligalacturonases, que estariam relacionada com o baixo pH (3,0-4,5) do fruto, gerando condições propícias para atuação desta enzima, reduzindo a firmeza de polpa.

Tabela 2 – Ângulo ‘hue’ (h°) da região sombreada e região exposta a luz, porcentagem de cor vermelha (PCV), firmeza de polpa, forças para a penetração na casca e polpa em maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ sem e com “bitter pit”, armazenadas em atmosfera do ar a 1°C e UR 90-95%, por 4 meses.

Fruto	h°		PCV (%)	Firmeza (N)	Força para a penetração na casca (N)	Força para a penetração na polpa (N)
	Região sombreada	Região exposta a luz				
‘Fuji’						
Sem	56,77	30,91	73,93	92,38	14,92	4,03
Com	50,87	26,40	53,42	86,98	13,67	3,56
Probabilidade	ns	0,0120	<0,0001	0,0021	0,0271	0,0006
C.V. (%)	18,58	11,30	27,36	7,29	6,85	7,35
‘Catarina’						
Sem	69,13	33,39	68,39	89,7	14,46	3,98
Com	55,92	28,62	57,49	85,6	13,61	3,66
Probabilidade	0,0060	0,0018	<0,0001	0,0342	0,0083	0,0485
C.V. (%)	14,93	10,05	51,28	23,26	4,42	7,45

ns: não significativo ($p>0,05$)

Em maçãs ‘Fuji’, a coloração da epiderme na região sombreada, determinada pelo h° , não diferiu entre os frutos com e sem “bitter pit” (Tabela 2). Entretanto, na ‘Catarina’, frutos com a presença do distúrbio apresentaram menor h° na região sombreada, em comparação aos frutos sem o distúrbio fisiológico. Já o h° na região mais vermelha (mais exposto a radiação solar) e a PCV foram menores nos frutos com “bitter pit”, em maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ (Tabela 2). A menor PCV em maçãs com “bitter pit” pode estar relacionada com a sua posição na planta, ou seja, frutos que manifestaram “bitter pit” durante o armazenamento poderiam estar em uma condição de maior sombreamento na planta, o que reduziria a incidência de luz e, conseqüentemente, menor síntese de pigmentos antocianicos. O sombreamento dos frutos também reduz o aquecimento, minimizando o fluxo transpiratório, havendo um menor aporte de Ca para o mesmo, predispondo a maior ocorrência do distúrbio. Temperatura, sombreamento e alta umidade relativa podem influenciar na composição mineral do fruto e, conseqüentemente, na suscetibilidade a distúrbios fisiológicos, principalmente aqueles relacionados ao Ca (IUCHI et al., 2001).

No tecido da casca da região pistilar, frutos com “bitter pit” apresentaram menores teores de Ca, e maiores teores de K e dos valores das relações Mg/Ca, K/Ca, N/Ca,

(K+Mg)/Ca e (K+Mg+N)/Ca em comparação aos frutos sem “bitter pit”, em ambas as cultivares (Tabelas 3 e 4). Os teores de N e Mg na casca não diferiram entre estes dois grupos de frutos em ambas as cultivares (Tabelas 3 e 4).

Quanto ao tecido da polpa, frutos com “bitter pit” também apresentaram baixos teores de Ca e elevados valores de N e das relações K/Ca, N/Ca, (K+Mg)/Ca e (K+Mg+N)/Ca, em maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ (Tabelas 3 e 4). Para os demais atributos minerais da polpa não foram constatadas diferença significativa entre frutos com e sem a presença do distúrbio fisiológico (Tabelas 3 e 4). Segundo Ferguson & Watkins (1989), a ocorrência de “bitter pit” está relacionada aos baixos teores de Ca e elevados valores nas relações K/Ca, N/Ca, (K+Mg)/Ca e (K+Mg+N)/Ca. A membrana plasmática das células é constituída por uma bicamada de fosfolípidos. É no ânion fosfato da cadeia fosfolípídica que o Ca estabelece ligações iônicas, garantindo a manutenção da integridade da membrana plasmática (FREITAS et al., 2010). Contudo, frutos com “bitter pit”, em decorrência dos altos teores de K e Mg, e baixos teores de Ca, os elementos K e Mg tendem a ocupar o sítio de ligação do Ca na membrana plasmática, não desempenhando a mesma função de integridade, ocasionando assim o colapso da membrana e morte celular, provocando o aparecimento dos sintomas de “bitter pit” (FREITAS et al., 2010).

Tabela 3 - Concentrações de Ca, Mg, K e N (mg kg^{-1} de massa fresca) e valores das relações Mg/Ca, K/Ca, N/Ca, (K+Mg)/Ca e (K+Mg+N)/Ca na casca e polpa em maçãs 'Fuji', em frutos sem e com incidência de "bitter pit", armazenadas por 4 meses em atmosfera do ar a 1°C e UR 90-95%.

Atributo mineral	Sem "bitter pit"	Com "bitter pit"	Probabilidade	C.V. (%)
Casca				
Ca	119	80	0,0024	29,21
Mg	119	108	ns	17,11
K	1301	1672	0,0308	21,81
N	713	787	ns	14,93
Mg/Ca	0,9	1,3	0,0029	22,53
K/Ca	10,9	21,8	0,0076	40,58
N/Ca	6,0	10,1	0,0031	35,66
(K+Mg)/Ca	11,9	23,2	0,0066	38,49
(K+Mg+N)/Ca	17,9	33,3	0,0036	33,05
Polpa				
Ca	38	26	0,0279	29,80
Mg	19	19	ns	19,16
K	782	1041	0,0034	19,32
N	193	271	0,0167	26,03
Mg/Ca	0,5	0,8	ns	32,30
K/Ca	21,6	40,0	0,0014	38,46
N/Ca	5,2	10,5	0,0051	46,31
(K+Mg)/Ca	22,2	40,8	0,0015	38,19
(K+Mg+N)/Ca	27,5	51,3	0,0011	38,56

ns: não significativo ($p > 0,05$)

Tabela 4 - Concentrações de Ca, Mg, K e N (mg kg^{-1} de massa fresca) e valores das relações Mg/Ca, K/Ca, N/Ca, (K+Mg)/Ca e (K+Mg+N)/Ca na casca e polpa em maçãs ‘Catarina’, em frutos sem e com incidência de “bitter pit”, armazenados por 4 meses em atmosfera do ar a 1°C e UR 90-95%.

Atributo mineral	Sem “bitter pit”	Com “bitter pit”	Probabilidade	C.V. (%)
		Casca		
Ca	95	43	<0,0001	41,31
Mg	133	129	ns	12,53
K	1501	2037	0,0076	21,80
N	972	1068	ns	21,50
Mg/Ca	1,4	3,2	0,0014	50,45
K/Ca	15,7	48,6	<0,0001	50,95
N/Ca	10,1	25,5	<0,0001	50,25
(K+Mg)/Ca	17,0	51,8	<0,0001	55,27
(K+Mg+N)/Ca	27,2	77,4	<0,0001	53,10
		Polpa		
Ca	22	15	0,0037	25,50
Mg	22	20	ns	8,42
K	1156	1275	ns	12,27
N	261	349	0,0476	25,87
Mg/Ca	1,0	1,4	0,0136	22,99
K/Ca	52,8	85,8	0,0020	32,16
N/Ca	11,9	23,4	0,0006	40,59
(K+Mg)/Ca	53,9	87,2	0,0020	34,46
(K+Mg+N)/Ca	65,7	110,5	0,0011	52,29

ns: não significativo ($p > 0,05$)

Maçãs ‘Catarina’ com e sem “bitter pit” exibiram menores teores de Ca na casca e polpa em relação às maçãs ‘Fuji’, com e sem a desordem (Tabelas 3 e 4). Este resultado pode estar relacionado à maior perda na funcionalidade do xilema em maçãs ‘Catarina’, quando comparada a ‘Fuji’. Maçãs ‘Catarina’ tendem a ter maior tamanho de fruto, conseqüentemente, maior alongação celular das células do parênquima que podem promover uma ruptura das paredes do vaso do xilema, principal vaso condutor do nutriente Ca, ocasionando uma redução no conteúdo de Ca no fruto (dados apresentados no Capítulo I).

Maçãs ‘Catarina’ tiveram maior incidência e severidade de “bitter pit”, após quatro meses de armazenamento, quando comparadas com maçãs ‘Fuji’ (Figuras 9 e 10). A alta incidência e severidade de “bitter pit” em maçãs ‘Catarina’ pode estar relacionado aos reduzidos teores de Ca, e os elevados valores de K, Mg e N nos tecidos da casca e polpa, na seção distal do fruto, em relação a ‘Fuji’ (Tabelas 3 e 4). Maçãs ‘Catarina’ tendem a apresentar menores teores de Ca na seção distal em relação a ‘Fuji’, devido a perda total na

funcionalidade do xilema nesta região, o que reduz o aporte deste mineral para o fruto, enquanto que na ‘Fuji’ alguns vasos do xilema ainda mantem-se funcionais (dados apresentados no Capítulo I). Dražeta et al. (2004) também relataram que em maçãs ‘Braeburn’ (que apresentam alta suscetibilidade ao “bitter pit”) houve drástica redução no teor de Ca na região pistilar em função da perda da funcionalidade do xilema, quando comparada à ‘Granny Smith’ (que apresenta moderada suscetibilidade ao “bitter pit”). Já a funcionalidade do floema mantem-se inalterada, então este tecido continua se diferenciando e transportando K, Mg e N durante todo o período de desenvolvimento do fruto, garantindo elevados teores desses minerais ao fruto (DRAŽETA et al., 2004). Assim, os elementos K e Mg competem pelos sítios de ligação do Ca na membrana plasmática, não desempenhando a mesma função na estruturação e integridade de membrana, vindo a ocasionar o “bitter pit” (FREITAS et al., 2010).

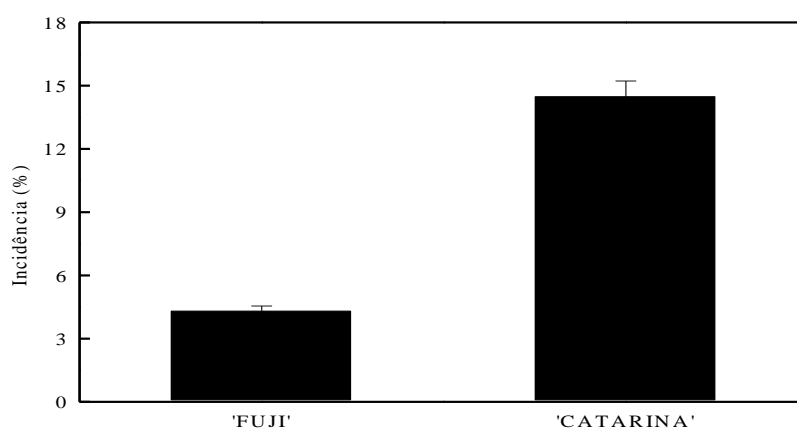


Figura 9 - Incidência de “bitter pit” em maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ armazenadas em atmosfera do ar (1°C e UR 90-95%) por quatro meses. Barras verticais representam o erro-padrão da média.

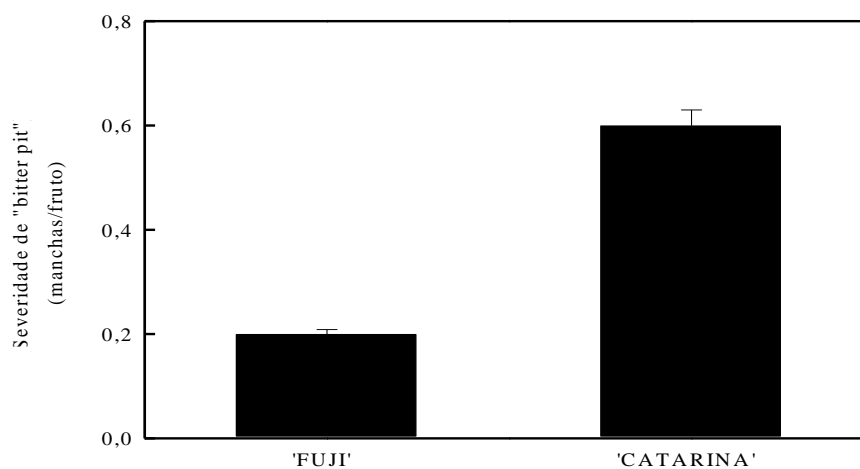


Figura 10 - Severidade de “bitter pit” em maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ armazenadas em atmosfera do ar (1°C e UR 90-95%) por um período de quatro meses. Barras verticais representam o erro-padrão da média.

Como houve diferenças nos atributos fisiológicos (respiração e produção de etileno), físico-químicos (AT, firmeza, PCV e atributos de textura) e nos teores minerais dos frutos sem e com “bitter pit”, estes foram submetidos a ACD. O parâmetro utilizado para discriminar frutos sem e com “bitter pit” para os atributos fisiológicos, físico-químicos e minerais, foi o coeficiente da taxa de discriminação paralela (TDP), conforme sugestão de Amarante et al. (2006). O coeficiente da TDP foi obtido por meio do produto entre os coeficientes de correlação canônica (r) e os coeficientes canônicos padronizados (CCP) (Tabelas 5, 6 e 7).

O teste estatístico multivariado Wilk's Lambda mostrou diferenças significativas entre frutos sem e com “bitter pit” em maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’, para os atributos fisiológicos e físico-químicos ($p=0,0218$ para ‘Fuji’ e $p=0,050$ para ‘Catarina’) e minerais ($p=0,0117$ para ‘Fuji’ e $p=0,0087$ para ‘Catarina’) na FCD_1 (dados não apresentados).

Em maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’, a FCD_1 apresentou correlação canônica de 0,9869 e 0,9925, respectivamente, para os atributos fisiológicos e físico-químicos, e de 0,9517 e 0,9939, respectivamente, para os atributos minerais (dados não apresentados). Estes elevados valores da correlação canônica para as duas cultivares, indica que há uma elevada associação entre os atributos fisiológicos, físico-químicos e minerais e a ocorrência de “bitter pit”.

Na análise univariada, apesar dos atributos fisiológicos (respiração e produção de etileno), físico-químicos (AT, PCV, firmeza de polpa e forças para a penetração da casca e da polpa), terem diferido em frutos sem e com “bitter pit”, a ACD demonstrou que dentre estes atributos, a penetração da polpa em maçãs ‘Fuji’, e AT em maçãs ‘Catarina’, apresentaram a maior TDP, indicando com isto, que são os melhores atributos para discriminar frutos sem e com “bitter pit” (Tabela 5).

Quanto aos atributos minerais nos tecidos da casca e polpa na porção distal dos frutos, a relação K/Ca na polpa em maçãs ‘Fuji’, e a relação K/Ca na casca em maçãs ‘Catarina’, promoveram maior separação entre frutos sem e com “bitter pit” (Tabelas 6 e 7). Já o Ca, na casca e polpa, para ambas as cultivares, exibiu uma baixa correlação canônica e baixa TDP, demonstrando com isto, que apesar de ser o elemento mineral que está mais relacionado com a ocorrência de “bitter pit”, não é o melhor atributo para discriminar frutos com a presença desta desordem. Resultados semelhantes foram reportados por Benavides et al. (2002) e Amarante et al. (2006, 2009 e 2010), os quais verificaram que o Ca isoladamente não é o melhor parâmetro de discriminação de frutos com e sem “bitter pit”.

Tabela 5 - Coeficiente canônico padronizado (CCP), correlação canônica (r) e coeficiente da taxa de discriminação paralela (TDP) para a função canônica discriminante 1 (FCD₁), referente aos atributos fisiológicos e físico-químicos (respiração, produção de etileno, acidez titulável, percentagem de cor vermelha, firmeza de polpa e forças para penetração na casca e polpa), em maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ armazenadas por 4 meses em atmosfera do ar a 1°C e UR 90-95%.

Atributo	CCP	r	TDP
‘Fuji’			
Respiração (nmol CO ₂ kg ⁻¹ s ⁻¹)	-0,97	-0,17	0,17
Produção de etileno (µl.kg ⁻¹ .h ⁻¹)	0,24	-0,14	-0,03
Acidez titulável (%)	1,28	0,21	0,27
Cor vermelha (%)	0,60	0,18	0,11
Firmeza de polpa (N)	0,26	0,16	0,04
Força para a penetração da casca (N)	0,49	0,14	0,07
Força para a penetração da polpa (N)	1,34	0,28	0,38
‘Catarina’			
Respiração (nmol CO ₂ kg ⁻¹ s ⁻¹)	0,66	0,22	0,15
Produção de etileno (µl kg ⁻¹ h ⁻¹)	-0,60	0,35	-0,21
Acidez titulável (%)	1,54	0,83	1,29
Cor vermelha (%)	-0,04	-0,34	0,01
Firmeza de polpa (N)	0,67	-0,35	-0,24
Força para a penetração da casca (N)	0,17	-0,33	-0,06
Força para a penetração da polpa (N)	-0,24	-0,23	0,06

Tabela 6 - Coeficiente canônico padronizado (CCP), correlação canônica (r) e coeficiente da taxa de discriminação paralela (TDP) para a função canônica discriminante 1 (FCD₁), referente aos atributos minerais (Ca, Mg/Ca, K/Ca e N/Ca) na casca e polpa em maçãs ‘Fuji’ armazenadas por 4 meses em atmosfera do ar a 1°C e UR 90-95%.

Atributo mineral	CCP	r	TDP
Polpa			
Ca	-5,81	-0,10	0,58
Mg/Ca	-10,83	0,07	-0,78
K/Ca	10,85	0,17	1,85
N/Ca	-10,61	0,14	-1,48
Casca			
Ca	0,62	-0,16	-0,10
Mg/Ca	2,94	0,15	0,45
K/Ca	-4,45	0,13	-0,58
N/Ca	6,98	0,15	1,05

Tabela 7 - Coeficiente canônico padronizado (CCP), correlação canônica (r) e coeficiente da taxa de discriminação paralela (TDP) para a função canônica discriminante 1 (FCD₁), referente aos atributos minerais (Ca, Mg/Ca, K/Ca e N/Ca) na casca e polpa em maçãs ‘Catarina’ armazenadas por 4 meses em atmosfera do ar a 1°C e UR 90-95%.

Atributo mineral	CCP	r	TDP
		Polpa	
Ca	-1,21	0,13	-0,16
Mg/Ca	-1,12	-0,11	0,12
K/Ca	-2,14	-0,15	0,31
N/Ca	0,19	-0,17	-0,03
		Casca	
Ca	0,24	0,35	0,08
Mg/Ca	0,95	-0,15	-0,15
K/Ca	-3,69	-0,36	1,34
N/Ca	2,27	-0,23	-0,51

2.6 CONCLUSÕES

1. Maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ com “bitter pit” exibiram elevados valores de AT e baixos valores de firmeza de polpa, texturas da casca e da polpa, PCV e pH, bem como baixos teores de Ca e elevados valores das relações K/Ca, N/Ca, (K+Mg)/Ca e (K+Mg+N)/Ca nos tecidos da casca e polpa da região pistilar em relação aos frutos sem “bitter pit”.
2. Maçãs ‘Catarina’ apresentaram menores teores de Ca e maiores valores das relações K/Ca, N/Ca, (K+Mg)/Ca e (K+Mg+N)/Ca na casca e polpa da região pistilar e, conseqüentemente, apresentaram uma maior incidência e severidade de “bitter pit”, em relação a ‘Fuji’.
3. A análise multivariada (ACD) mostrou que a força para a penetração da polpa e a relação K/Ca polpa em maçãs ‘Fuji’, e a AT e a relação K/Ca na casca em maçãs ‘Catarina’, foram os atributos que melhor separaram frutos com e sem “bitter pit”.

3 CONCLUSÕES GERAIS

O “bitter pit” é uma desordem fisiológica que ocorre em maçãs e que está relacionado com a perda na funcionalidade do xilema, reduzindo o aporte de Ca e elevando os valores das relações K/Ca, Mg/Ca, (Mg+K)/Ca e (K+Mg+N)/Ca, principalmente na região distal do fruto.

Maçãs ‘Catarina’ apresentam elevada perda na funcionalidade do xilema, resultando no menor aporte de Ca aos frutos e maior suscetibilidade ao “bitter pit”, em relação a maçãs ‘Fuji’.

Maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’ com “bitter pit” exibiram elevada AT e elevados valores nas relações K/Ca, N/Ca, (K+Mg)/Ca e (K+Mg+N)/Ca nos tecidos da casca e polpa, e baixos valores na firmeza de polpa, nos atributos de textura, pH, PCV e nos teores de Ca total na casca e polpa.

A força para a penetração da polpa em maçãs ‘Fuji’, e a AT em maçãs ‘Catarina’, foram os atributos físico-químicos que proporcionaram melhor discriminação entre frutos com e sem “bitter pit”. Quanto aos atributos minerais, as relações K/Ca na polpa e K/Ca na casca para maçãs ‘Fuji’ e ‘Catarina’, respectivamente, foram os que discriminaram mais eficientemente os frutos com a presença do distúrbio fisiológico.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O “bitter pit” é um distúrbio fisiológico, cuja ocorrência em maçãs está relacionada com inúmeros fatores. Para trabalhos futuros, sugere-se correlacionar este distúrbio com condições climáticas (temperatura e umidade relativa), porta-exerto e manejo do pomar.

Em função de o Ca ser o principal elemento mineral associado ao “bitter pit”, propõe-se desta forma em realizar uma análise molecular para a identificação das enzimas que aprisionam o cálcio e o indisponibilizam para o fruto.

Atualmente, para avaliar o risco de ocorrência de “bitter pit”, utiliza-se a análise mineral, através do método de amostragem em cunha (seção longitudinal), contendo tecidos de casca e polpa. Contudo, este método apresenta limitações, já que são amostrados tecidos bastante diferenciados de casca e polpa, além de haver uma heterogeneidade na concentração mineral na seção longitudinal do fruto. Assim, alvitra-se, estudos sobre uma nova metodologia, a qual, terá por objetivo a quantificação dos teores minerais (Ca, Mg, K e N) solúveis como uma alternativa para discriminar frutos com e sem “bitter pit”, uma vez que a determinação deste atributos minerais na forma solúvel são rápidos e menos onerosos. No entanto, deve ser verificado a sua capacidade de predição de “bitter pit”.

Novos estudos sobre a funcionalidade do xilema deveriam ser realizados, mas não somente em maçã, e também em kiwi e outros frutos, porque alguns distúrbios fisiológicos podem estar relacionados com perda na funcionalidade do xilema.

O estudo da funcionalidade do xilema além de utilizar a técnica de infusão do corante, deverá empregar a microscopia de varredura, com o intuito de verificar o que realmente ocorre nas células da polpa, e porque há uma perda na funcionalidade de forma heterôgenea na mesma seção do fruto e em seções diferenciadas.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABPM. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PRODUTORES DE MAÇÃS. **Caderno Estatístico**. 2004. Disponível em: <<http://www.abpm.org.br>>. Acesso em: 05 jan. 2011.

AMARANTE, C.V.T.; ERNANI, P.R.; STEFFENS, C.A. Identificação pré-colheita do risco de ocorrência de “bitter pit” em maçãs ‘Gala’ por meio de infiltração com magnésio e análise dos teores de cálcio e nitrogênio nos frutos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 1, p. 27-34, 2010.

AMARANTE, C.V.T.; ERNANI, P.R.; STEFFENS, C.A. Predição de “bitter pit” em maçãs ‘gala’ por meio da infiltração dos frutos com magnésio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 4, p. 962-968, 2009.

AMARANTE, C.V.T.; CHAVES, D.V.; ERNANI, P.R. Composição mineral e severidade de “bitter pit” em maçãs ‘Catarina’. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.28, n.1, p.51-54, 2006.

BANKS, N.H.; CLELAND, D.J.; CAMERON, A.C.; BEANDRY, R.M; KADER, A.A. Proposal for a rationalized system of units for postharvest research in gas exchange. **American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.30, n.6, p.1129- 1131, 1995.

BANGERTH, F. Second discussion meeting on “bitter pit” in apples. **Acta Horticulture**, Wageningen, n.45, p.43-52, 1974.

BASSO, C. Distúrbios fisiológicos. In: EPAGRI. **A cultura da macieira**. Florianópolis, 2002. p.609-636.

BENAVIDES, A.; RECASENS, I.; CASERO, T.; SORIA, Y.; PUY, J. Multivariate analysis of quality and mineral parameters on ‘Golden Smoothee’ apples treated before harvest with calcium and stored in controlled atmosphere. **Food Science and Technology International**, London, v.8, n.3, p.139-146, 2002.

BLUM, L.E.B.; AMARANTE, C.V.T.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M.; LETÍCIA S. GUIMARÃES, L.S.; DEZANET, A.; HACK NETO, P.H. *Cryptococcus laurentii* aplicado em pós-colheita reduz podridões em maçãs. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, n.4, p.433-436, 2004

BRACKMANN, A.; SCHORR, M.R.W.; PINTO, J.A.V.; VENTURINI, T.L. Aplicações pré-colheita de cálcio na qualidade pós-colheita de maçãs 'Fuji'. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.6, p.1435-1438, 2010.

COOPER, T.; BANGERTH, F.; The effect of Ca and Mg treatments on the physiology, chemical composition and "bitter pit" development of 'Cox's Orange' apples. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.5, n.1, p.49-57, 1976.

DELIAN, E.; DOBRESCU, A.; BURZO, I.; VOICAN, A. Characteristics of the 'Jhonatan' spot disorder in the Jhonatan apple fruit. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n.553, p.271-272, 2001.

DICHIO, B.; REMORINI, D.; LANG, A. Developmental changes in xylem functionality in kiwi fruit: implications for fruit calcium. **Acta Horticulturae**, Leuven, n.610, p.191-195, 2003.

DRAZETA, L.; LANG, A.; HALL, A.J.; VOLZ, R.K. Causes and effects of changes in xylem functionality in apple fruit. **Annals of Botany**, Oxford, v.93, n.3, p.275-282, 2004.

DRAZETA, L.; LANG, A.; MORGAN, L.; VOLZ, R.; JAMESON, P.E. Bitter pit and vascular function in apples. **Acta Horticulturae**, Leuven, n.564, p.387-392, 2001.

FERGUSON, I.B.; WATKINS, C.B. Bitter-pit in apple fruit. **Horticultural Reviews**, New York, v.11, n.11, p.289-355, 1989.

FINDLAY, N.; OLIVER, K.J.; NII, N.; COOMBE, B.G. Solute accumulation by grape pericarp cells. IV. Perfusion of pericarp apoplast via the pedicel and evidence for xylem malfunction in ripening berries. **Journal of Experimental Botany**, Davis, v.38, n.4, p.668-679, 1987.

FULLER, M.M. Cell ultra-structure in apple fruits in relation to calcium concentration and fruit quality. **Acta Horticulturae**, Leuven, n.92, p.51-55, 1980.

FRANCO, J.; MELO, F.; GUILHERME, R.; ANTUNES, D.; NEVES, N.; CURADO, F.; RODRIGUES, S. The influence of pre and postharvest calcium applications on storage capability and quality of "Hayward" kiwifruit. In: PANAGOPOULOS, T.; NORONHA, V.T.; ANTUNES, M.D.C. **New aspects of energy, environment, ecosystems and sustainable development**. Athens: Ed. WSEAS Press, 2008. p.512-516.

FREITAS, S.T. de; AMARANTE, C.V.T. do; LABAVITCH, J.M.; MITCHAM, E.J. Cellular approach to understand bitter pit development in apple fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.57, n.1, p.6-13, 2010.

HANGER, B.C. The movement of calcium in plants. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Philadelphia, v.10, n.1, p.171-193, 1979.

HO, L.C.; WHITE, P.J. A cellular hypothesis for the induction of blossom-end rot in tomato fruit. **Annals of Botany**, Oxford, v.95, n.4, p.571-581, 2005.

HUBER, D.J.; KARAKURT, Y.; JEONG, J. Pectin degradation in ripening and wounded fruits. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Lavras, v.13, n.2, p.224-241, 2001.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Sistema IBGE de Recuperação Automática (SIDRA)**. 2009. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/agric/default.asp?z=t&o=11&i=P>>. Acesso em: 27 nov. 2009.

IBRAF. INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS. **Estrutura da produção brasileira**. 2010. Disponível em: <<http://www.ibraf.org.br>>. Acesso em: 27 nov. 2010.

IUCHI, V.L.; NAVA, G.; IUCHI, T. **Distúrbios fisiológicos e desequilíbrios nutricionais em macieira**. Florianópolis: Epagri, 2001. 74p.

JARVIS, M.C.; BRIGGS, S.P.H.; KNOX, J.P. Intercellular adhesion and cell separation in plants. **Plant, Cell Environment**, New York, v.26, n.7, p.977-989, 2003.

KENDAL, D.H. The calcium conundrum. Both versatile nutrient and specific signal. **Plant Physiology**, Rockville, v.136, n.6, p.2438-2442, 2004.

KERBAUY, G.B. **Fisiologia Vegetal**. 2. Ed. Rio de Janeiro:Guanabara, 2008. 431p.

LANG, A.; RYAN, K.G. Vascular development and sap flow in apple pedicels. **Annals of Botany**, Oxford, v.74, n.4, p.381-388, 1994.

LANG, A. Xylem, phloem and transpiration flows in developing apple fruits. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v. 41, n. 227, p. 645-651, 1990.

LASHBROOK, C.C. New insights into cell wall disassembly during fruit ripening. **Stewart Postharvest Review**, Quebec, v.1, n.3, p.1-18, 2005.

MacARTHUR, M.; WETMORE, R.H. Developmental studies in apple fruit in the varieties McIntosh Red and Wagener. I. Vascular anatomy. **Journal of Pomology and Horticultural Science**, London, v.147, n.3721, p.218-232, 1941.

MANGANARIS, G.A.; VASILAKAKIS, M.; DIAMANTIDIS, G.; MIGNANI, I. The effect of postharvest calcium application on tissue calcium concentration, quality attributes, incidence of flesh browning and cell wall physicochemical aspects of peach fruits. **Food Chemistry**, New York, v.100, n.4, p.1385-1392, 2007.

MASSIOT, P.; BARON, A.; DRILLEAU, J.F. Characterization and enzymatic hydrolysis of cell-wall polysaccharides from different tissue zones of apple. **Carbohydrate Polymers**, Shannon, v. 25, n.3, p.145-154, 1994.

NAIFF, A.P.M. **Crescimento, Composição mineral e sintomas visuais de deficiências de macronutrientes em plantas de Cv. Jungle King**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural da Amazônia. Belém, 2007. 77p.

OLIVEIRA, J.G. **A qualidade do mamão afetada por distúrbios fisiológicos**. Papaya Brasil, Vitória: Incaper, 2005. p.147-159. (Circular Técnica)

OMAIMA, M.H; KARIMA, H.E.H. Quality Improvement and Storability of Apple cv. Anna by Pre-harvest Applications of Boric Acid and Calcium Chloride. **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, Punjab, v.3, n.3, p.176-183, 2007.

PARK, S.; CHENG, N.H.; PITTMAN, J.K.; YOO, K.S.; PARK, J.; SMITH, R.H.; HIRSCHI, K.D. Increasing calcium levels and prolonged shelf life in tomatoes expressing Arabidopsis H^+/Ca^{2+} transporters. **Plant Physiology**, Sunderland, v.139, n.3, p.1194-1206, 2005.

POOVAIAH, B.W. Role of calcium in prolonging storage life of fruit and vegetables. **Food Technology**, Chicago, v.40, n.1, p.86-89, 1986.

QIU, Y.; NISHINA, M. S.; PAULL, R. E. Papaya fruit growth, calcium uptake, and fruit ripening. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Washington, v. 120, n. 2, p. 246-253, 1995.

RECASENS, I.; BENAVIDES, A.; PUY, J.; CASERO, T. Pre-harvest calcium treatments in relation to the respiration rate and ethylene production of 'Golden Smoothie' apples. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.84, n.8, p.765-771, 2004.

SAS INSTITUTE. **Getting started with the SAS learning edition**. Cary: SAS, 2002. 200p.

SAURE, M.C. Calcium translocation to fleshy fruit: its mechanism and endogenous control. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.105, n.1, p.65-89, 2005.

SESTARI, I. **Avaliação de métodos para predição do potencial de ocorrência de "bitter pit" em maçãs**. 2006. 86p. Dissertação (mestrado em agronomia)- Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria: Rio Grande do Sul, Brasil, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 4nd ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2006. 793p.

TEDESCO, M.J; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análise do solo, plantas e outros materiais**. 2. ed. Porto Alegre: Departamento de Solos, UFRGS, 1995. 174p. (Boletim Técnico de Solos, 5).

TROMP, J.; OELE, J. Shoot growth and mineral composition of leaves and fruits of apple as affected by relative humidity. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.27, n.2, p.253-258, 1972.