



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**AVALIAÇÃO DE MÉTODOS PARA PREDIÇÃO DO
POTENCIAL DE OCORRÊNCIA DE “BITTER PIT” EM
MAÇÃS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Ivan Sestari

**Santa Maria, RS, Brasil
2006**

**AVALIAÇÃO DE MÉTODOS PARA PREDIÇÃO DO
POTENCIAL DE OCORRÊNCIA DE “BITTER PIT” EM
MAÇÃS**

por

Ivan Sestari

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Agronomia**

Orientador: Auri Brackmann

Santa Maria, RS, Brasil

2006

Sestari, Ivan, 1979-

S494a

Avaliação de métodos para predição do potencial de ocorrência de “bitter pit” em maçãs / por Ivan Sestari ; orientador Auri Brackmann. - Santa Maria, 2006

86 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, RS, 2006.

1. Agronomia 2. Macã 3. Distúrbio fisiológico 4. Pós-colheita 5. Qualidade de frutos I. Brackmann, Auri, orient.
II. Título

CDU: 664.85

Ficha catalográfica elaborada por
Luiz Marchiotti Fernandes – CRB 10/1160
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Rurais/UFSM

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Agronomia**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**AVALIAÇÃO DE MÉTODOS PARA PREDIÇÃO DO
POTENCIAL DE OCORRÊNCIA DE “BITTER PIT” EM
MAÇÃS**

elaborada por

Ivan Sestari

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Agronomia

COMISSÃO EXAMINADORA:

Auri Brackmann, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientador)

Arno Bernardo Heldwein, Dr. (UFSM)

Rosangela Lunardi, Dra. (UERGS)

Santa Maria, 03 de fevereiro de 2006

Aos meus pais

Rosane e Ivo,

...que nunca mediram esforços para me garantir educação e dignidade.

Dedico este trabalho

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Santa Maria por proporcionar a realização de minha graduação e pós-graduação.

À Gracieli, pelo companheirismo, incentivo e paciência....

Ao professor Auri Brackmann pela orientação.

Ao NIDAL, representado pelas professoras Tatiana Emanuelli e Leila Picolli da Silva.

Ao professor Sidinei José Lopes pelo auxílio na análise estatística.

Ao CNPq pela concessão de bolsas de estudo durante minha formação acadêmica.

Aos colegas do NPP, Ana Cristina, Affonso, Cláudia, Cristiano, Daniel, Josuel, Ricardo e Weber pela amizade, valiosa colaboração e incondicional empenho na realização deste trabalho.

Obrigado.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Agronomia
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

AVALIAÇÃO DE MÉTODOS PARA PREDIÇÃO DO POTENCIAL DE OCORRÊNCIA DE “BITTER PIT” EM MAÇÃS

AUTOR: Ivan Sestari

ORIENTADOR: Prof. Dr. Auri Brackmann

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 03 de fevereiro de 2006.

Experimentos foram conduzidos com objetivo de avaliar a eficiência de métodos de predição do potencial de ocorrência de “bitter pit”, em maçãs ‘Gala’, ‘Royal Gala’, ‘Braeburn’ e ‘Fuji’ após o armazenamento em atmosfera controlada (AC). Os frutos provenientes de 11 pomares foram coletados 20 dias antes e na colheita comercial. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado. Para os métodos, os tratamentos foram compostos por 4 repetições, sendo cada unidade experimental composta por 25 frutos. Já para a avaliação da integridade das membranas, a unidade experimental foi de 6 frutos. Os métodos de predição avaliados foram: a infiltração de magnésio 0,1M $MgCl_2$ mais 0,01% de Tween-20 e 0,4M de sorbitol; imersão de frutos em solução com 2500nL L^{-1} de ethephon + 20°C; a correlação entre parâmetros de qualidade e maturação e; a comparação entre o vazamento de íons das células dos frutos no momento da colheita e após 50, 100 e 150 dias em AC com a real incidência de “bitter pit”. Para estimar a capacidade predictiva dos métodos, os sintomas do distúrbio induzidos nos frutos coletados 20 dias antes e na colheita comercial foram comparados com a ocorrência real em frutos armazenados por 5 meses em AC mais 12 dias de exposição a 20°C. As condições de AC foram: para maçãs ‘Gala’ e ‘Royal Gala’ 1,5kPa O_2 + 3,0kPa CO_2 e temperatura de +0,5°C; para maçãs ‘Fuji’ 1,2kPa O_2 + <0,5kPa CO_2 e temperatura de -0,5°C e para a ‘Braeburn’ 1,2kPa O_2 + 3,0kPa CO_2 e temperatura de +0,5°C. De acordo com os resultados, na cultivar Gala ambos os métodos não foram eficientes, superestimando a incidência real de “bitter pit” para os frutos colhidos 20 dias antes da colheita e, subestimando a incidência real na colheita comercial. Nas cultivares Fuji e Braeburn ambos os métodos foram eficientes na previsão da incidência de “bitter pit” em frutos amostrados 20 dias antes da colheita, entretanto, para os frutos colhidos na colheita comercial ambos os métodos foram ineficientes. Nenhum parâmetro de qualidade ou índice de maturação apresentou, no geral, correlação consistente que justifique sua utilização como indicativo da ocorrência de “bitter pit” após o armazenamento. Com relação à permeabilidade de membranas, verificou-se, para ambas as cultivares, gradual acréscimo durante o armazenamento, estando este relacionado à época de colheita dos frutos. Para a maioria dos pomares, não foi observada associação entre a incidência de “bitter pit” e o vazamento de íons na colheita e durante o armazenamento, com exceção dos frutos das cultivares Gala e Braeburn amostrada 20 dias antes da colheita comercial. A relação entre a permeabilidade de membranas na colheita e após 5 meses de armazenamento em AC com a incidência real de “bitter pit” não é válida como método de previsão da ocorrência de “bitter pit”.

Palavras-chaves: distúrbios fisiológicos, pós-colheita, qualidade de frutos.

ABSTRACT

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Agronomia
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil

EVALUATION OF METHODS FOR PREDICTION OF POTENTIAL BITTER PIT OCCURRENCE IN APPLES

AUTHOR: Ivan Sestari

ADVISER: Prof. Dr. Auri Brackmann
Santa Maria, February 03rd, 2006.

Experiments were carried out with the objective to evaluate the efficiency of methods for prediction of bitter pit occurrence, on 'Gala', 'Royal Gala', 'Fuji' and 'Braeburn' apples after controlled atmosphere storage (CA). Fruits from 11 orchards were picked 20 days before and at commercial harvest date. The experimental design was completely randomized. For each method, treatments consist of 4 replicates of 25 fruits. On the other hand, for evaluation of membrane integrity samples had 6 fruits. The predictive methods evaluated were: infiltration of fruits with 0.1M MgCl₂ solution containing 0.4M sorbitol and 0.01% Tween-20; immersion of fruits in solution with 2500nL L⁻¹ ethephon at 20°C; the correlation between quality and maturity parameters and; ion leakage of fruit cells at harvest and after 50, 100 and 150 days on CA storage were compared with the real incidence of bitter pit. For estimating the predictive capacity of methods, symptoms induced on fruits sampled 20 days before harvest date and at commercial harvest were compared with real bitter pit present on fruits stored for 5 months on CA plus 12 days at 20°C. The storage conditions were: for 'Gala' and 'Royal Gala' apples 1.5kPa O₂ + 3.0kPa CO₂ plus +0.5°C; for 'Fuji' apples 1.2kPa O₂ + <0.5kPa CO₂ plus -0.5°C; and for 'Braeburn' apples 1.2kPa O₂ + 3.0kPa CO₂ plus +0.5°C. According to results on 'Gala' apples both methods were inefficient, overestimating the real incidence of bitter pit on fruits sampled 20 days before harvest, and underestimating the real incidence when collected at commercial harvest. On 'Fuji' and 'Braeburn' apples both predictive methods were efficient in predict incidence of bitter pit on fruits sampled 20 days before harvest, however, for fruits sampled at commercial harvest both methods were inefficient. No quality parameters or maturity index showed, in general, correlations that justify its utilization as indicate bitter pit occurrence during storage. In relation to membrane permeability, there was in both cultivars, an increase during storage, related to picking time of fruits. For most orchards, no association was observed between the higher incidence of bitter pit with the higher ion leakage at harvest and during storage, with exception for 'Gala' and 'Braeburn' apples picked 20 days before harvest. The relationship between membrane permeability at harvest and after 5 months of CA storage and the real incidence of bitter pit is not valid as a predictive method.

Key-words: physiological disorders, postharvest, fruit quality.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1: Vazamento de íons em discos de polpa de maçãs ‘Gala’ colhidas 20 dias antes da colheita comercial em três pomares e armazenada na temperatura de +0,5°C, durante 5 meses em AC (1,5kPa O₂ + 3,0kPa CO₂) mais 1 dia de exposição a temperatura de 20°C. Santa Maria, RS, 2006. 53
- FIGURA 2: Vazamento de íons em maçãs ‘Gala’ colhida na colheita comercial em três pomares e armazenada durante 5 meses na temperatura de +0,5°C, em AC (1,5kPa O₂ + 3,0kPa CO₂) mais 1 dia de exposição a temperatura de 20°C. Santa Maria, RS, 2006..... 55
- FIGURA 3: Vazamento de íons em maçãs ‘Royal Gala’ colhida na colheita comercial em dois pomares e armazenada na temperatura de +0,5°C, durante 5 meses em AC (1,5kPa O₂ + 3,0kPa CO₂) mais 1 dia de exposição a temperatura de 20°C. Santa Maria, RS, 2005..... 56
- FIGURA 4: Vazamento de íons em maçãs ‘Fuji’ colhidas 20 dias antes da colheita comercial em três pomares e armazenada na temperatura de -0,5°C, durante 5 meses em AC (1,2kPa O₂ + < 0,5kPa CO₂) mais 1 dia de exposição a temperatura de 20°C. Santa Maria, RS, 2006..... 57
- FIGURA 5: Vazamento de íons em maçãs ‘Fuji’ colhida na colheita comercial em três pomares e armazenada na temperatura de -0,5°C, durante 5 meses em AC (1,2kPa O₂ + < 0,5kPa CO₂) mais 1 dia de exposição a temperatura de 20°C. Santa Maria, RS, 2006..... 58
- FIGURA 6: Vazamento de íons em maçãs ‘Braeburn’ colhidas 20 dias antes da colheita comercial em três pomares e armazenada na temperatura de -0,5°C, durante 5 meses em AC (1,2kPa O₂ + 3,0kPa CO₂) mais 1 dia de exposição a temperatura de 20°C. Santa Maria, RS, 2006..... 59
- FIGURA 7: Vazamento de íons em maçãs ‘Braeburn’ colhida na colheita comercial em três pomares e armazenada na temperatura de -0,5°C, durante 5 meses em AC (1,2kPa O₂ + 3,0kPa CO₂) mais 1 dia de exposição a temperatura de 20°C. Santa Maria, RS, 2006..... 60

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Descrição das cultivares e dos pomares comerciais localizados no município de Vacaria, RS, utilizados nos experimentos conduzidos no ano agrícola de 2004/2005. Santa Maria, 2006.	34
TABELA 2 - Incidência de “bitter pit” real e predita em maçãs ‘Gala’ amostradas 20 dias antes e na colheita comercial, em três pomares comerciais localizados no município de Vacaria-RS. Santa Maria, RS, 2006.	41
TABELA 3 - Incidência de “bitter pit” real e predita em maçãs cv. Royal Gala amostrada na colheita comercial, em dois pomares comerciais localizados no município de Vacaria-RS. Santa Maria, RS, 2006.	42
TABELA 4 - Incidência de “bitter pit” real e predita em maçãs cv. Fuji amostradas 20 antes e na colheita comercial, em três pomares comerciais localizados no município de Vacaria-RS. Santa Maria, RS, 2006.	43
TABELA 5 - Incidência de “bitter pit” real e predita em maçãs cv. Braeburn amostradas 20 antes e na colheita comercial, em três pomares comerciais localizados no município de Vacaria-RS. Santa Maria, RS, 2006.	44
TABELA 6 - Coeficientes de correlação para parâmetros de qualidade e índices de maturação em relação à incidência de “bitter pit” em maçãs cv. Gala colhidas 20 dias antes da colheita comercial, Santa Maria, 2006.	47
TABELA 7 - Coeficientes de correlação para parâmetros de qualidade e índices de maturação em relação à incidência de “bitter pit” em maçãs cv. Gala e Royal Gala colhidas na colheita comercial, Santa Maria, 2006.	48
TABELA 8 - Coeficientes de correlação para parâmetros de qualidade e índices de maturação em relação à incidência de “bitter pit” em maçãs cvs. Braeburn e Fuji colhidas 20 dias antes da colheita comercial, Santa Maria, 2006.	49
TABELA 9 - Coeficientes de correlação para parâmetros de qualidade e índices de maturação em relação à incidência de “bitter pit” em maçãs cvs. Braeburn e Fuji colhidas na colheita comercial, Santa Maria, 2006.	50
TABELA 10 - Percentual médio da incidência real de “bitter pit” observada após 5 meses de armazenamento em atmosfera controlada mais 12 dias de exposição dos frutos a 20°C, Santa Maria, 2006.	54

LISTA DE APÊNDICES

- APÊNDICE 1: Quadro de análise da variância referente à incidência de “bitter pit” em maçãs ‘Gala’, prevista pela infiltração dos frutos com Mg^{2+} e pela aceleração da maturação dos frutos nos diferentes pomares. Santa Maria, RS, 2006. 79
- APÊNDICE 2: Quadro de análise da variância referente à incidência de “bitter pit” em maçãs ‘Royal Gala’, prevista pela infiltração dos frutos com Mg^{2+} e pela aceleração da maturação dos frutos nos diferentes pomares. Santa Maria, RS, 2006. 80
- APÊNDICE 3: Quadro de análise da variância referente à incidência de “bitter pit” em maçãs ‘Fuji’, prevista pela infiltração dos frutos com Mg^{2+} e pela aceleração da maturação dos frutos nos diferentes pomares. Santa Maria, RS, 2006. 81
- APÊNDICE 4: Quadro de análise da variância referente à incidência de “bitter pit” em maçãs ‘Braeburn’, prevista pela infiltração dos frutos com Mg^{2+} e pela aceleração da maturação dos frutos nos diferentes pomares. Santa Maria, RS, 2006. 82
- APÊNDICE 5: Quadro de análise da variância referente ao vazamento de íons da polpa de maçãs ‘Gala’, colhidas 20 dias pré-colheita e na colheita, avaliação após 0, 50, 100 e 150 dias de em AC. Santa Maria, RS, 2006. 83
- APÊNDICE 6: Quadro de análise da variância referente ao vazamento de íons da polpa de maçãs ‘Royal Gala’, colhidas na colheita, avaliação após 0, 50, 100 e 150 dias de em AC. Santa Maria, RS, 2006. 84
- APÊNDICE 7: Quadro de análise da variância referente ao vazamento de íons da polpa de maçãs ‘Fuji’, colhidas 20 dias pré-colheita e na colheita, avaliação após 0, 50, 100 e 150 dias de em AC. Santa Maria, RS, 2006. 85
- APÊNDICE 8: Quadro de análise da variância referente ao vazamento de íons da polpa de maçãs ‘Braeburn’, colhidas 20 dias pré-colheita e na colheita, avaliação após 0, 50, 100 e 150 dias de em AC. Santa Maria, RS, 2006. 86

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1. Origem do cálcio nos frutos.....	14
2.1.1. Absorção radicular.....	14
2.1.2. Absorção via superfície do fruto	14
2.2. Fatores que influenciam o conteúdo de cálcio no fruto.....	15
2.2.1. Fatores exógenos à planta.....	15
2.2.2. Fatores endógenos da planta.....	18
2.3. Controle endógeno da translocação de cálcio.....	20
2.3.1. Fatores controladores da direção de translocação de cálcio	20
2.3.2. Fatores controladores da mobilidade do cálcio	21
2.4. Etileno e a maturação de frutos	21
2.5. Alterações nas membranas celulares durante o amadurecimento de frutos	23
2.6. Fisiologia do “bitter pit”	25
2.7. Predição de “bitter pit”	27
2.7.1. Requerimentos de um método predictivo.....	28
2.8. Métodos para predição de “bitter pit”	29
2.8.1. Análise mineral de frutos.....	29
2.8.2. Avaliação do crescimento vegetativo	30
2.8.3. Aceleração da maturação.....	30
2.8.4. Infiltração dos frutos com magnésio	31
2.9. Procedimentos envolvidos na predição de “bitter pit” usando a infiltração dos frutos com Mg ²⁺	32
2.9.1. Amostragem dos frutos.....	32
2.9.2. Infiltração dos frutos.....	32
2.9.3. Desenvolvimento dos sintomas	33
2.9.4. Análise dos dados	33
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	34
3.1. Amostragem, transporte e preparo das amostras	34

3.2. Tratamentos	35
3.2.1. Método baseado no status nutricional do fruto.....	35
3.2.2. Método da aceleração da maturação do fruto.....	36
3.2.3. Correlação entre parâmetros físico-químicos de qualidade e índices de maturação com a incidência de “bitter pit”	36
3.2.4. Determinação da permeabilidade de membranas	37
3.3. Armazenamento dos frutos.....	38
3.4. Análise estatística	39
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
4.1. Predição de “bitter pit” em maçãs ‘Gala’, ‘Royal Gala’, ‘Fuji’ e ‘Braeburn’, através da infiltração de Mg ²⁺ e da aplicação de ethephon em frutos provenientes de diferentes pomares.....	40
4.1.1. Conclusões.....	46
4.2. Correlação entre parâmetros de qualidade e índices de maturação com a incidência de “bitter pit” em maçãs ‘Gala’, ‘Royal Gala’, ‘Fuji’ e ‘Braeburn’ após o armazenamento em atmosfera controlada.....	47
4.2.1. Conclusões.....	52
4.3. Relação da incidência de “bitter pit” com a integridade de membranas celulares de maçãs ‘Gala’, ‘Royal Gala’, ‘Fuji’ e ‘Braeburn’ submetidas ao armazenamento em atmosfera controlada.....	53
4.3.1. Conclusões.....	61
5. CONCLUSÕES FINAIS	62
6. BIBLIOGRAFIA	63
APÊNDICES	78

1. INTRODUÇÃO

O Brasil tornou-se auto-suficiente na produção de maçãs e até gera um excedente, que é exportado para a Europa. Entre as cultivares precoces exploradas no Brasil destacam-se a ‘Gala’ e a ‘Royal Gala’. Já nas cultivares tardias, a ‘Fuji’ apresenta maior expressão. No entanto, a cultivar Braeburn pouco explorada no país, vem se destacando internacionalmente em virtude de sua excelente qualidade, conquistando grande aceitação no mercado consumidor europeu e alcançando melhores preços em relação às cultivares tradicionais.

A aparência do fruto é o atrativo inicial que desperta no consumidor o desejo de comprar. No entanto, em muitos casos o mesmo pode se decepcionar ao encontrar a polpa parcial ou totalmente em processo de degenerescência e com manchas secas, consequência, na maioria das vezes, das condições de cultivo e de armazenamento inadequado.

Os tipos e a dimensão das perdas na pós-colheita de maçãs não são totalmente conhecidos, porém, estima-se que sejam superiores a 20%, dependendo do ano e da variedade, sendo os distúrbios fisiológicos responsáveis por grande parte dessas perdas. O “bitter pit”, ou depressão amarga, ocorre em todos os países podendo afetar todas as cultivares de maçã, em maior ou menor intensidade, em função da suscetibilidade da cultivar e de condições agravantes de clima, solo e práticas culturais. No Brasil, este distúrbio ocorre principalmente nas cultivares Gala, Golden Delicious e Fuji. Porém, em anos favoráveis ao desenvolvimento do distúrbio, pode afetar cultivares com menor susceptibilidade, podendo alcançar, após alguns meses de armazenamento, incidência próxima a 30%.

Os sintomas visuais do “bitter pit”, normalmente, só aparecem durante ou após o armazenamento. Apenas em casos extremos podem aparecer antes da colheita, mas sempre no final do ciclo. A manifestação de “bitter pit” é, na maioria das vezes, um fenômeno pós-colheita e está intimamente relacionado à taxa de amadurecimento e ao estado nutricional dos frutos.

O cálcio é o nutriente mais comumente associado com distúrbios fisiológicos pós-colheita. Este íon desempenha importante papel na manutenção e integridade das membranas celulares. Baixas concentrações de cálcio impedem a permeabilidade seletiva das membranas celulares conduzindo à posterior necrose celular.

Pulverizações com cálcio em intervalos regulares, durante a estação de crescimento e a imersão e/ou infiltração pós-colheita dos frutos em solução com cálcio, têm sido utilizados como forma preventiva. Entretanto, o controle é altamente variável e nem sempre completo.

Outra forma empregada para reduzir as perdas causadas pelo “bitter pit” durante o

armazenamento, corresponde à utilização de métodos predictivos, baseados na fisiologia da incidência, para estimar o potencial de ocorrência do distúrbio durante o período de conservação pós-colheita. Na prática, os sistemas predictivos consistem da análise isolada de frutos ou da combinação destes com outros fatores do pomar. No entanto, a inerente variabilidade de frutos dentro de uma mesma planta e entre pomares de uma mesma cultivar, muitas vezes pode limitar a praticidade destes métodos. Nesse sentido, para ser prático, qualquer que seja o método predictivo, deve prover resultados confiáveis e com relativa antecedência, possibilitando a tomada de decisão a respeito de práticas a serem adotadas.

Tendo em vista a crescente procura por qualidade, eficiência na produção e redução de perdas pelo segmento produtivo, a predição de potencial ocorrência de “bitter pit” durante o armazenamento pode proporcionar uma segregação de frutos provenientes de diferentes pomares, de acordo com seu potencial de incidência de “bitter pit”, auxiliando assim, na decisão sobre a escolha dos frutos que poderão ser armazenados com menor risco de perdas ocasionadas pelo “bitter pit”.

Nesse contexto, os objetivos deste trabalho foram: 1) estimar o potencial de desenvolvimento de “bitter pit” após o armazenamento em atmosfera controlada, através de dois métodos de predição da ocorrência do distúrbio, para frutos provenientes de diferentes cultivares, pomares e épocas de colheita; 2) verificar se a eficiência dos métodos é alterada quando comparados entre os diferentes pomares e cultivares; 3) correlacionar os parâmetros de qualidade e índices de maturação dos frutos, colhidos em dois pontos de maturação, com a incidência real de “bitter pit”; 4) avaliar alterações na integridade das membranas celulares da polpa dos frutos dos diferentes pomares, cultivares e épocas de colheita, após o armazenamento em atmosfera controlada e a sua relação com a incidência de “bitter pit”.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Origem do cálcio nos frutos

2.1.1. Absorção radicular

O cálcio é adquirido da solução do solo pelo sistema radicular e translocado para a parte aérea via xilema (White & Broadley, 2003). Existe, porém, uma tendência de que a retirada de íons ao longo da raiz diminua com o aumento da distância em relação ao ápice radicular (Marschner, 1995). Nas macieiras jovens, em processo de frutificação, a quantidade de raízes de coloração branca, não suberizadas, diminui rapidamente após o pleno florescimento, sem aumentar novamente no decorrer da estação Head (1969 apud SAURE, 2005). Embora o crescimento radicular de macieiras jovens em florescimento ser reduzido quando comparado a macieiras não frutificadas (Hansen, 1978), o conteúdo de cálcio foi maior em plantas com alta carga de frutos (Saure, 2005). Entretanto, Atkinson & Wilson (1980) não observaram diferença na absorção de cálcio entre raízes com coloração branca e raízes suberizadas em macieiras adultas. Segundo estes mesmos autores, em cerejeira a retirada de cálcio por raízes lenhosas foi ligeiramente superior em relação a raízes jovens.

2.1.2. Absorção via superfície do fruto

Devido à incidência de “bitter pit” estar associada à concentração de cálcio na polpa dos frutos, pulverizações com cálcio em intervalos regulares, durante a estação de crescimento, têm sido utilizadas como forma preventiva. No entanto, a absorção do cálcio via epiderme depende da estrutura da superfície do fruto (Saure, 2005). As propriedades da superfície do fruto, particularmente da cutícula, afetam a absorção e distribuição de cálcio aplicado via foliar (Roy et al., 1999). Na maioria das cultivares, o número de fendas presentes na cutícula é menor no lado colorido da maçã, conseqüentemente, a absorção do cálcio externo neste lado é reduzida (Wójcik et al., 1997). Tratamentos pós-colheita com solução de cloreto de cálcio, provavelmente, proporcionam a entrada do cálcio no fruto primariamente através das lenticelas (Betts & Bramlage, 1977), porém, as fendas presentes na cutícula e epiderme podem ser importantes rotas de absorção (Glenn et al., 1985). As fendas prevalecem em frutos precoces, aumentando em número e profundidade à medida que o fruto cresce e

matura (Meyer, 1944 apud ROY et al, 1999).

Na maturidade dos frutos, as fendas presentes na superfície são abundantes e formam uma rede (Faust & Shear, 1972). Estudos sobre a permeabilidade da cutícula a soluções de CaCl_2 indicaram que a permeabilidade e o número de fendas na cutícula aumentam à medida que o fruto se desenvolve (Glenn et al., 1985). O desenvolvimento de fendas e outras irregularidades na superfície durante a última fase da estação de crescimento, podem desempenhar um significativo papel na penetração do cálcio para o interior do fruto (Roy et al., 1999).

Schlegel & Schönherr (2002) verificaram que a permeabilidade não somente depende da permeabilidade da cutícula, mas também da quantidade de solução retida na superfície do fruto e da concentração da solução. Assim, de acordo com Ferguson & Watkins (1989), os tratamentos recomendados com cálcio podem reduzir, mas em geral não impedem completamente o surgimento de distúrbios atribuídos à deficiência de cálcio.

Segundo Saure (2005), 10 a 11 aplicações de CaCl_2 durante a estação de crescimento, não resultam em significativas diferenças nas cultivares Fuji e Braeburn para o conteúdo de cálcio presente na casca e polpa dos frutos, porém causa um acréscimo de cerca de $2,4 \text{ mg}^{-1}$ de cálcio por fruto em maçãs 'Golden Delicious' (Zavalloni et al., 2001). Um número de 10 pulverizações com CaCl_2 durante a estação de crescimento aumenta o conteúdo de cálcio em apenas duas de cada três cultivares (Tomala & Dilley, 1990). No entanto, quando aplicado prematuramente o CaCl_2 não resulta em significativos acréscimos na concentração de cálcio nos tecidos do fruto, (Vang-Petersen, 1990). Além disso, o cálcio adicionado ao fruto, pela aplicação foliar, provavelmente, está localizado nos espaços intercelulares do fruto e não firmemente ligados às estruturas celulares (Ferguson & Watkins, 1983).

2.2. Fatores que influenciam o conteúdo de cálcio no fruto

2.2.1. Fatores exógenos à planta

O conteúdo e também a via de acumulação de cálcio em frutos, como maçãs e pêras, difere substancialmente entre diferentes anos e locais, devido a variações nas condições ambientais. O efeito do ambiente pode ser direto, podendo influenciar várias partes da planta que estão mutuamente conectadas, ou ainda pode interferir de forma indireta, através de interações entre partes da planta durante o desenvolvimento anual (Saure, 2005). De acordo com este autor, existe uma grande dificuldade na identificação das relações entre as diferentes

condições climáticas, edáficas e o conteúdo de cálcio no fruto. Isto exige um melhor entendimento das vias pela qual o ambiente influencia a fisiologia da planta e do fruto.

2.2.1.1. Solo

Fatores adversos, tais como deficiência hídrica contínua ou temporária, salinidade, deficiência mineral, compactação do solo resultando em anoxia, limitado volume de solo, ou baixa temperatura do solo, primariamente, afetam o crescimento e função das raízes. Conseqüentemente, o crescimento de brotos e frutos é muito afetado, não apenas devido ao reduzido suprimento de água e nutrientes, mas também devido à baixa provisão de citocininas pelas raízes, e uma reduzida disponibilidade de giberelinas e aumento na inibição do crescimento pela ação do ácido abscísico (Saure, 2005). Um funcionamento normal das raízes é, portanto, essencial para manter um adequado suprimento de cálcio para as plantas (Richards & Rowe, 1977) e um pré-requisito para o suprimento de cálcio para o fruto. Todavia, Tromp (1979b) observou que em maçãs o suprimento de cálcio (mg/fruto) é positivamente relacionado à taxa de crescimento do fruto.

Entretanto, existem vários relatos de que condições adversas de solo não afetam, ou ainda, aumentam a concentração de cálcio em frutos e folhas. Baixa temperatura do solo aumenta a concentração de cálcio em maçãs jovens (Tromp, 1979b) e folhas (Tromp, 1978). Da mesma forma, a concentração de cálcio foi aumentada em folhas de tomateiro, devido à restrição imposta ao crescimento das raízes (Choi et al., 1997). Informações conflitantes a respeito da influência do déficit hídrico na concentração de cálcio podem, provavelmente, ser atribuídas a diferentes condições experimentais, especialmente em relação ao tempo de déficit hídrico (Behboudian & Mills, 1997) e ao nível de demanda hídrica a que a planta está exposta.

Nutrição desequilibrada de NH_4 , especialmente em excesso, tende a reduzir o conteúdo de cálcio em frutos ainda que sob condições de alto suprimento de cálcio (Marti & Mills, 1991; Motosugi et al., 1995). Ainda, o K^+ , o Mg^{2+} e o NH_4^+ podem afetar também o balanço nutricional dos frutos de forma direta, substituindo o cálcio nos sítios de absorção, ou indiretamente, por meio da diluição do cálcio no fruto, pelo aumento do tamanho do mesmo (Iuchi et al., 2001). Adubações com boro podem reduzir a ocorrência de “bitter pit” (Granelle & Ughini, 1990; Wojcik et al., 1999), possivelmente pelo incremento no transporte de cálcio até os frutos (Wojcik et al., 1999). Porém, a deficiência prejudica a translocação de cálcio e o excesso acelera a maturação dos frutos, agravando a incidência de “bitter pit” (Iuchi et al.,

2001).

2.2.1.2. Clima

Pouco se sabe a respeito do efeito de certos elementos climáticos, tais como umidade relativa, insolação e temperatura, sobre o conteúdo de cálcio nos frutos. A maioria das investigações a respeito da umidade relativa tem sido feita em casas de vegetação onde a umidade relativa é controlada ao redor de toda planta e têm apresentado resultados contraditórios. Maças crescendo em ambiente com alta umidade relativa apresentaram conteúdo de cálcio reduzido já nas fases iniciais do crescimento dos frutos (Tromp & Van Vuure, 1993). Alta umidade relativa também inibe a penetração de cálcio aplicado na epiderme de maçãs (Van Goor, 1973). Por outro lado, Iuchi et al. (2001) sugerem que baixa umidade relativa do ar durante o dia aumenta o fluxo transpiratório, aumentando o conteúdo de cálcio nas folhas e reduzindo nos frutos, tornando-os mais propensos ao “bitter pit”. Ainda, segundo Tromp & Oele (1972), tal efeito é potencializado quando associado à alta temperatura do ar. Quando a umidade relativa é alta, a taxa transpiratória é reduzida, ocorrendo uma distribuição mais equilibrada na planta (Van Der Boon, 1980a).

O elemento meteorológico temperatura parece atuar, principalmente, alterando a época de colheita, por afetar a maturação dos frutos. Temperaturas mais altas podem antecipar a maturação. Por outro lado, temperaturas mais baixas podem atrasá-las (Van Der Boon, 1980b).

A temperatura pode também ter efeito contraditório (Saure, 2005). Seu aumento pode reduzir, aumentar ou não alterar o influxo de cálcio para dentro do fruto, dependendo da cultivar (Tromp, 1975). Todavia, o conteúdo de cálcio do fruto pode ser reduzido substancialmente em ambiente protegido onde, devido ao efeito combinado de reduzida velocidade do vento, reduzida radiação solar e aumento de temperatura, as plantas podem exibir grande crescimento terminal e abundante número de folhas e frutos (Lewis et al., 1977a).

Jackson et al. (1977) não encontraram evidências de que a concentração de cálcio difere em frutos de mesmo tamanho, produzidos sob condições de sombreamento e não sombreamento. Uma redução de 60% da luminosidade com o uso de rede de coloração verde, não causou significativa diferença na concentração de cálcio na polpa de maçãs sombreadas quando comparada a plantas não sombreadas (Chen et al., 1997). Frutos do abacateiro provindos de lado ensolarado da planta não apresentaram, significativamente, mais cálcio do

que frutos do lado sombreado (Witney et al., 1990). Porém, Perring & Wilkinson (1965), verificaram maior conteúdo de cálcio no lado vermelho de maçãs do que no lado oposto, porém, provavelmente isto seja devido a um fator diferente da alta intensidade luminosa (Perring & Clijsters, 1974).

2.2.1.3. Práticas culturais

Pelo menos 20 fatores individuais, dentre os quais, o ambiental e nutricional ou cultural influenciam a composição mineral de frutos, e assim, a qualidade dos mesmos, embora nenhum desses fatores atue independentemente (Shear, 1980). Entre as várias práticas culturais, a intensidade da quebra da dormência, a poda, o raleio de frutos, irrigação, aplicação de fertilizantes e reguladores de crescimento têm sido mencionados como práticas que influenciam a acumulação de cálcio no fruto (Ferguson & Watkins 1989; Saure, 2005). Porém, o efeito pode variar entre aumentar, diminuir ou não afetar o conteúdo de cálcio no fruto (Saure, 1987). Cline et al. (1991) sugerem que a acumulação de cálcio em maçãs pode ser influenciada mais por fatores fisiológicos dentro da planta ou fruto do que por fatores ambientais externos.

2.2.2. Fatores endógenos da planta

2.2.2.1. Crescimento vegetativo

Macieiras com excessivo crescimento vegetativo apresentam, geralmente, reduzido conteúdo de cálcio nos frutos quando comparado à plantas com moderado crescimento vegetativo (Saure, 2005). Isto tem sido atribuído à forte competição pelo cálcio disponível entre o fruto e brotações vigorosas (Garman & Mathis, 1956; Sharples, 1974; Greene, 1991). Ao invés de competição por cálcio pelo ativo crescimento vegetativo, a diferença na acumulação de cálcio no fruto pode ser causada pela diferente área foliar quando comparados frutos de tamanho similar (Volz et al., 1994).

O tipo de porta-enxerto pode influenciar o vigor do crescimento vegetativo, sendo o conteúdo de cálcio em folhas afetado pelo efeito ananizante do porta-enxerto (Autio, 1991; Fallahi et al., 2001a). No entanto, Perring (1979) sugere que o efeito do porta-enxerto resulta, principalmente, da sua influência no tamanho do fruto com a carga de frutos e, possivelmente, com o tipo de solo interagindo mutuamente. Porta-enxerto como o M 26, pode favorecer o

amadurecimento precoce, promovendo maior incidência de “bitter pit” (Iuchi et al., 2001).

2.2.2.2. Carga de frutos na planta

Geralmente, o vigoroso crescimento vegetativo em macieira concorre com uma carga leve de frutos na planta, aumentando o tamanho do fruto e diminuindo a sua concentração de cálcio (Saure, 2005). O aumento no tamanho de frutos provenientes de plantas com uma carga leve de frutos é, principalmente, devido ao aumento no tamanho das células, enquanto diferenças em tamanho de frutos dentro de plantas com grande carga de frutos são, principalmente, devido ao grande número de células (Bain & Robertson, 1951; Martin & Lewis, 1952). Frutos relativamente pequenos, porém tendo alta concentração de cálcio, a qual declina proporcionalmente com aumento no tamanho do fruto, são característicos de plantas com grande carga de frutos (Saure, 2005). Já em maçãs de plantas com carga leve, a concentração de cálcio é menor em todas as classes de tamanho, quando comparado a maçãs de uma planta com alta carga de frutos. A concentração de cálcio nos frutos em crescimento é cerca de duas vezes inferior em plantas com leve carga de produção quando comparada a plantas com grande carga de frutos (Ferguson & Triggs, 1990; Ferguson & Watkins, 1992).

2.2.2.3. Posição do fruto na planta

O conteúdo de cálcio no fruto pode ser grandemente influenciado pela sua posição na planta. Apresentando significativa proporção na diferença verificada no conteúdo de cálcio em maçãs crescendo na mesma planta (Perring & Jackson, 1975). Os frutos diferem no seu conteúdo mineral, e, assim, na susceptibilidade ao “bitter pit” de acordo com a sua posição na planta, no ramo, ou no esporão (Maturana, 1992). Geralmente, frutos bem expostos são grandes e apresentam na polpa, frequentemente, menor concentração de cálcio do que frutos localizados no interior da copa, especialmente em macieiras grandes (Jackson et al., 1971; Haynes & Goh, 1980; Ferguson & Triggs, 1990). Maçãs crescendo na base do ramo tendem a ser maiores e possuem maior concentração de cálcio que outras localizadas na extremidade do ramo (Jones & Samuelson, 1983).

2.2.2.4. Número de sementes

Alta concentração de cálcio tem sido encontrada, em frutos de mesmo tamanho com

maior número de sementes, embora isso não seja verificado em todas as cultivares (Bramlage et al., 1990; Tomala & Dilley, 1990; Broom et al., 1998). Os frutos e as sementes em desenvolvimento sintetizam auxina (Taiz & Zeiger, 2004), responsável por parte do cálcio translocado para o fruto (Sharples, 1974).

Brookfield et al. (1996) verificaram associação entre baixo conteúdo de cálcio e pequeno número de sementes, mas nenhuma influência direta do número de sementes na concentração de cálcio. Provavelmente, existe o envolvimento de outro fator adicional para o número de sementes, que está intimamente relacionado à polinização e, possivelmente, a posição do fruto (Brookfield et al., 1996).

2.3. Controle endógeno da translocação de cálcio

2.3.1. Fatores controladores da direção de translocação de cálcio

A grande variabilidade no conteúdo de cálcio nos frutos, devido a inúmeros fatores internos e externos, levanta a questão de como a distribuição de cálcio em direção ao fruto é controlada e como pode ser manipulada (Saure, 2005). Segundo Kirkby (1979), os frutos e as brotações têm um requerimento, uma demanda (Hansen, 1980), um potencial para seqüestrar o cálcio da seiva do xilema (Atkinson et al., 1992), ou atuam como um dreno de cálcio competindo pelo cálcio pela diferente força de dreno entre frutos e folhas (Cutting & Bower, 1989).

Ford & Quinlan (1979) sugerem que o cálcio, possivelmente, move-se de forma preferencial para os sítios metabólicos ativos, enquanto Tromp (1979a e b) considera o crescimento do fruto como o fator primário no controle do influxo adicional de cálcio. Todavia, Wieneke & Führ (1973) observaram que a translocação de cálcio para o fruto diminuiu substancialmente após o final do crescimento vegetativo.

Pulverizações com TIBA (ácido 2,3,5 – triiodobenzóico), um inibidor do transporte basípeto de auxina aumenta o “bitter pit” e podridão calicial em maçãs e tomates, respectivamente, e reduz o conteúdo de cálcio dos frutos (Bangerth & Firuzeh, 1971; Bangerth, 1973; Oberly, 1973; Stahly & Benson, 1976). De acordo com Banuelos et al. (1987), parte do cálcio transportado de forma acrópeta para os frutos está associado com o transporte polar basípeto de auxinas. Por outro lado, Cutting & Bower (1989) concordam que certa proporção do cálcio alocado para as diferentes estruturas da planta parece estar sob controle do movimento basípeto de auxina, porém, o TIBA não pára o transporte de auxina

por completo. Aplicações da auxina sintética NAAM (naftaleno-aceto-amida) sobre as folhas de macieira jovem, aumentaram, significativamente, a absorção de cálcio das raízes para as folhas (Steenkamp & De Villiers, 1979).

2.3.2. Fatores controladores da mobilidade do cálcio

O rápido crescimento vegetativo concorre com o alto nível de giberelinas (GAs) fisiologicamente ativas nos tecidos. Tipicamente, o conteúdo de cálcio é menor e os sintomas de deficiência ocorrem mais frequentemente naqueles locais onde a concentração de GA são maiores e a expansão celular é mais vigorosa (Saure, 2005). A freqüente redução relatada da acumulação de cálcio pelo fruto durante seu desenvolvimento, ocorre, aproximadamente, quando a divisão celular é substituída pela expansão celular. Isto concorre para o aumento nos níveis de GAs na polpa do fruto, o que pode variar entre anos e cultivares (Ebert & Bangerth, 1985).

De acordo com Soriano (1990), a GA reduz a absorção de cálcio da solução nutritiva do solo e o acúmulo de cálcio em frutos e meristemas apicais, pela inibição da sua translocação para as brotações, entretanto, promove o acúmulo nas raízes. Conseqüentemente, aplicações de GAs podem inibir a translocação do cálcio para os frutos (Bangerth, 1973; Greene et al. 1982; Cohen & Greene, 1989), e também diminuir o conteúdo de cálcio nas folhas (Monge et al., 1994). O mecanismo de inibição da translocação de cálcio pelas GAs ainda não é totalmente compreendido (Saure, 2005).

Fatores que reduzem a biosíntese de GAs fisiologicamente ativas, ou suprimam sua ação, promovem a translocação de cálcio para os frutos (Saure, 2005). Neste sentido, a diminuição no suprimento de nitrogênio, déficit de irrigação, poda radicular, redução da intensidade da poda ou ainda aplicação de substâncias inibidoras do crescimento (Greene, 1991), podem contribuir com a redução da biosíntese de GAs. Saure (2002) sugere que o acréscimo nos níveis de cálcio em frutos, cujas plantas apresentam alta carga de frutos, pode ser atribuído a uma restrição endógena do crescimento radicular, resultando em reduzida interferência das GAs na translocação de cálcio.

2.4. Etileno e a maturação de frutos

A aplicação de etileno é uma prática comum para acelerar a maturação de frutos. O composto químico ácido 2-cloroetilfosfônico, também conhecido como ethephon, em contato

com água sofre hidrólise liberando etileno, fosfato e cloreto. O ethephon é conhecido por acelerar o amadurecimento de diversos frutos, entre eles, maçãs quando aplicado em pré ou pós-colheita (Guelfat-Reich & Ben-Arie, 1974). A taxa de liberação do etileno gasoso, a partir da hidrólise da molécula de ethephon, é grandemente dependente da temperatura e do pH da solução em que o ethephon está presente (Olien & Bukovac, 1978). De acordo com Steffens (2003), no Brasil o ethephon está registrado como acelerador da maturação do tomate, cana-de-açúcar e café, como indutor do perfilhamento da cana-soca, indutor da floração e maturação do abacaxi e estimulador da produção de resina de Pinus.

O etileno está presente em baixas concentrações internas na maioria dos frutos pré-climatéricos, assim como, em flores e vegetais, sem induzir, contudo, a senescência. Em tecidos responsivos, o etileno, semelhante à deficiência de cálcio, induz uma intensificação da permeabilidade de membranas, respiração, amadurecimento e senescência (Abeles, 1973; Suttle & Kende, 1978). Além disso, a produção de etileno é estimulada em tecidos com deficiência de cálcio (Faust & Shear, 1969). Estudos têm sido realizados com o objetivo de determinar se o cálcio é capaz de traduzir o sinal do etileno e iniciar a degradação da membrana lipídica. No entanto, evidências sugerem que se a liberação do cálcio ocorre em resposta ao etileno, o mecanismo seja diferente do estabelecido em células animais e é atualmente desconhecido (Paliyath & Droillard, 1992).

Frutos não climatérios e frutos imaturos não amadurecem após a aplicação externa de etileno (Yang, 1987). Provavelmente, a resposta ao etileno esteja relacionada, principalmente, com a sensibilidade dos tecidos ao hormônio, por intermédio de mudanças nas características dos receptores (Yang, 1987).

Em determinado momento do desenvolvimento dos frutos, segundo Bleeker (1999), a expressão de um ou mais tipos de receptores pode aumentar em detrimento dos outros, aumentando, desta forma, a sensibilidade dos tecidos ao etileno. Contudo, não se verifica uma resposta imediata em decorrência da exposição de frutos imaturos ao etileno exógeno (Yang, 1987) e muitos outros estudos demonstraram que o amadurecimento não é simplesmente desencadeado pelo aumento na produção de etileno, mas, é necessário também um incremento na sensibilidade dos tecidos a este hormônio com o avanço da maturação (Pratt, 1975; Reid, 1975; Hartmann et al., 1987) e/ou uma redução nas concentrações dos 'inibidores' que conferem 'resistência ao amadurecimento' (Yang, 1985). A resistência ao amadurecimento dos frutos decresce com o tempo (Yang, 1985), sendo que, quando atinge um determinado nível tem-se o início do amadurecimento (Hartmann et al., 1987). Conforme Yang (1985), este processo é regulado pela baixa produção de etileno endógeno, que lentamente vai

diminuindo a ‘barreira’ fisiológica imposta pelos ‘inibidores’ e, no momento que esta barreira é vencida, os tecidos tornam-se sensíveis ao etileno e ocorre a promoção do amadurecimento pelo incremento na síntese deste fito-hormônio. Desta forma, ao aplicar etileno exógeno, antecipa-se o início do amadurecimento, pois, conforme Yang (1985) acelera-se o decréscimo na resistência ao amadurecimento ou o incremento na sensibilidade dos tecidos ao etileno. Além disso, o mesmo autor acrescenta que, se a ação do etileno é diminuída pela aplicação de antagonistas, uma pequena mudança na resistência ao amadurecimento é verificada e, conseqüentemente, o processo é inibido ou retardado. Têm se verificado também, frutos como maçãs e abacates, que apresentam uma pequena elevação na síntese de etileno antes do início do amadurecimento (Yang, 1987).

2.5. Alterações nas membranas celulares durante o amadurecimento de frutos

A membrana plasmática, provavelmente, representa o principal impedimento ao vazamento de íons da célula, já que os solutos devem primeiro mover-se através do tonoplasto do vacúolo e através do citoplasma antes de mover-se através da membrana plasmática em direção à região apoplástica do tecido (Saltveit, 2005). Embora a compartimentação celular seja mantida durante o processo de amadurecimento de frutos, a permeabilidade das membranas pode aumentar durante o amadurecimento (Brady, 1987). O vazamento de íons de tecidos é comumente usado como uma medida da permeabilidade de membranas (Lester & Stein, 1993; Xuan et al., 2001), porém, em frutos amadurecendo, as mudanças no conteúdo de sólidos solúveis e na composição da parede celular podem afetar o vazamento de íons (Wade, 1995). Este pode ainda ser afetado pelo gradiente existente entre o potencial de água do tecido e a solução onde o tecido é incubado (Bir & Bramlage, 1973; Simon, 1977) ou por mudanças na pressão de turgor do tecido (Enoch & Glinka, 1981).

O papel do cálcio na manutenção da estrutura e integridade das membranas celulares tem sido discutido em relação aos distúrbios relacionados à sua deficiência (Simon, 1978; Ferguson, 1984), como também no contexto referente ao estresse induzido pela desestabilização das membranas (Cramer et al., 1985; Nur et al., 1986). Frequentemente, a taxa de senescência é dependente do status de cálcio nos tecidos, sendo que acréscimos nos níveis de cálcio alteram vários parâmetros da senescência como a respiração celular (Faust & Shear, 1972) e a fluidez das membranas (Paliyath et al., 1984).

O cálcio é essencial para a estrutura e função das paredes celulares e membranas. Segundo Poovaiah (1986), há três evidências para o papel do cálcio nas membranas celulares.

Primeiro, sob condições de deficiência de cálcio é verificado uma profunda deterioração das membranas (Marinos, 1962). Segundo, o cálcio altera a atual arquitetura das membranas, sua introdução em natural (Paliyath et al., 1984) ou artificial membrana fosfolipídica (Gary-Bobo, 1970) resulta em profundas mudanças na fluidez e permeabilidade à água. Terceiro, o cálcio pode alterar um conjunto de atividades fisiológicas especificamente associadas com as funções das membranas, por exemplo, o transporte ativo de determinados íons através das membranas (Hanson, 1983).

Reduzidos níveis de cálcio nos tecidos causam desestabilização das membranas celulares, o que resulta em um colapso na permeabilidade das membranas (Battey, 1990). Considerável diferença na integridade de membranas também foi verificada em maçãs e tomates tratados ou não com cálcio (Bangerth, 1973; Fuller, 1976; Mahanty & Fineran, 1975) sendo que o retículo endoplasmático, o tonoplasto, e a plasmalema foram primeiramente afetados (Bangerth, 1979).

Delian et al. (2001) observaram que a condutividade elétrica e o vazamento de íons foram maiores em tecidos afetados por “bitter pit” em relação a frutos sadios. Sem dúvida, o vazamento de íons pode ser verificado em tecidos deficientes em cálcio (Simon, 1978). Todavia, um problema encontrado reside em saber se a perda da integridade das membranas é devido ao colapso associado à morte celular, ou a causa dele (Battey, 1990). Na prática é difícil distinguir o efeito do cálcio no metabolismo intracelular e de membranas, devido a sua estreita associação. Se a deficiência extracelular de cálcio torna a membrana parcialmente permeável ao cálcio, então, o aumento nos níveis intracelulares, conseqüentemente, pode resultar em colapso celular resultante do efeito tóxico do cálcio no citoplasma (Ferguson, 1984).

As proteínas presentes nas membranas podem estar imersas dentro da região hidrofóbica ou estarem ligadas periféricamente (Taiz & Zeiger, 2004). A natureza das proteínas associadas às membranas depende de sua função (Marangoni et al., 1996). O papel primário da maioria das proteínas de membrana é o transporte, através das bombas H^+ -ATPase e Ca^{2+} -ATPase (Leshem, 1992). Membranas funcionais são fluidas, contanto que os fosfolipídios possam se mover livremente em direções laterais. Além disso, a presença de proteínas e esteróis influencia a fluidez das membranas celulares (Marangoni et al., 1996). Da mesma forma, a composição dos lipídios constituintes da membrana pode afetar sua fluidez, sendo que um maior conteúdo de ácidos graxos insaturados proporciona maior fluidez em relação aos lipídios saturados (Marangoni et al., 1996). Mudanças no conteúdo de esteróis e fosfolipídios podem acarretar mudanças na relação esterol:fosfolipídio, que tem sido

consideradas responsáveis pelo aumento na microviscosidade das membranas, observadas em maçãs (Lurie & Ben-Arie, 1983; Lurie et al., 1987) e tomates (Legge et al., 1986).

Uma característica que acompanha a maturação e senescência é o acréscimo na permeabilidade das membranas, expressa como aumento no vazamento de íons (Thompson, 1988; Stanley, 1991). Acréscimos no vazamento de íons têm sido verificados em maçãs (Lurie & Ben-Arie, 1983; Lurie et al., 1987; Saquet, 2003) tomates (Cote et al., 1993; Palma et al., 1995; Saltveit, 2005), mamão (Chan, 1991), flores (Faragher et al., 1986) e pêra (Saquet, 2003). Em maçãs, este vazamento está correlacionado com o aumento na viscosidade das membranas e com o decréscimo no grau de insaturação dos ácidos graxos (Lurie & Ben-Arie, 1983; Lurie et al., 1987 apud MARANGONI et al., 1996).

Em pepinos, elevada produção de etano, um indicativo da peroxidação lipídica, foi verificada em paralelo ao vazamento de íons (Kuo & Parkin, 1989). Neste sentido, Marangoni et al. (1996) sugerem que mudanças na composição das membranas celulares que determinam o decréscimo na sua fluidez são traduzidas em vazamento de íons e, desta forma, resultam em redução da funcionalidade das membranas.

Várias enzimas responsáveis pela degradação lipídica são ativadas pelo cálcio ou pelo complexo cálcio-calmodulina (Marschner, 1995). Atualmente, o sinal através do qual o cálcio é liberado para o citosol, ainda não é claro, porém, tem conduzido ao passo inicial descrito como uma pequena perturbação ou mudança na permeabilidade da membrana (Leshem et al., 1986) ou perda da atividade da Ca^{2+} -ATPase (Paliyath & Thompson, 1988).

2.6. Fisiologia do “bitter pit”

O “bitter pit” é um distúrbio fisiológico caracterizado por uma discreta lesão deprimida que se desenvolve logo após a colheita ou durante o armazenamento. O tecido abaixo da epiderme na região afetada torna-se de coloração escura e desidratado (Faust & Shear, 1968). As lesões localizam-se predominantemente na região próxima à cavidade pistilar do fruto (Ferguson & Watkins, 1989). Em casos severos as lesões podem ser numerosas e se estenderem sobre a maior parte da superfície do fruto.

A susceptibilidade ao “bitter pit” varia entre as cultivares e regiões geográficas (Burmeister & Dilley, 1991; Burmeister & Dilley, 1993). A incidência do distúrbio é maior sob certas condições ambientais e práticas culturais, como o excessivo vigor da planta, deficiência de cálcio e estresse hídrico (Van Der Boon, 1980; Perring, 1986). A colheita de frutos imaturos também predispõe ao desenvolvimento de “bitter pit” (Ferguson & Watkins,

1989).

Embora o “bitter pit” seja um dos distúrbios fisiológicos mais amplamente estudados, sua causa não está completamente caracterizada e permanece como um sério problema pós-colheita em várias regiões produtoras de maçãs (Bunemann et al., 1979; Perring, 1986). No Brasil, este distúrbio ocorre predominantemente em maçãs ‘Gala’, ‘Golden Delicious’ e ‘Fuji’ (Argenta & Suzuki, 1994; Nachtigall & Freire, 1998). Porém, em anos favoráveis ao desenvolvimento pode afetar cultivares com menor susceptibilidade alcançando valores de incidência próximos a 30%, após alguns meses de frigoconservação (Basso, 2002).

A incidência e a severidade de “bitter pit” de uma estação para outra é imprevisível, podendo variar de severa a não existente dependendo da localidade, cultivar, manejo do pomar e estação de crescimento (Lewis et al., 1977a; Perring, 1979, Perring, 1986). Um progressivo colapso do tecido condutor em maçãs tem sido atribuído à falência de vasos do xilema (Lang & Ryan, 1994), resultando numa redução na taxa de influxo para o fruto e numa troca na contribuição relativa do xilema para o floema, em relação ao crescimento do fruto (Lang, 1990). Esta mudança pode ter efeito conseqüente no balanço e na quantidade de minerais e, por conseguinte, na qualidade do fruto (Dražeta et al., 2004).

O cálcio é um elemento móvel no xilema (Marschner, 1995), porém, apresenta um progressivo declínio na sua taxa de acumulação durante a estação de crescimento (Wilkinson 1968; Jones et al., 1983). Além disso, a súbita queda na concentração de cálcio em maçãs coincide com o início do crescimento do fruto (Jones et al., 1983). O tempo é variável para o início da disfunção do transporte via xilema e pode, desta maneira, criar uma alta variabilidade na composição mineral de frutos. Este fato pode explicar a alta variabilidade observada na incidência de distúrbios relacionados à deficiência de cálcio, em especial ao “bitter pit” (Dražeta, 2001). Assim, o prematuro início da deficiência de transporte via xilema verificado em maçãs ‘Braeburn’ quando comparada a ‘Granny Smith’, pode explicar sua maior susceptibilidade ao “bitter pit” (Dražeta et al., 2004).

A relação entre concentrações baixas de cálcio e altas de magnésio na polpa de maçãs está relacionada à ocorrência de “bitter pit” (Garman & Mathis, 1956; Cooper & Bangerth, 1976). O cálcio é reconhecido como um mensageiro secundário em células vegetais mediando processos do metabolismo celular (Heplar & Wayne, 1985). O rápido influxo do cálcio através dos canais de cálcio na membrana plasmática, tonoplasto e/ou retículo endoplasmático gera perturbações na concentração citosólica de cálcio que iniciam uma série de mudanças em resposta ao estímulo externo (White, 2000; Sanders et al., 2002). Proteínas que apresentam mudanças na conformação ou atividade catalítica através da ligação com o cálcio, como a

calmodulina (CaM), calcineurina tipo B (CBLs) e proteínas quinases dependentes de cálcio (CDPKs), permitem a percepção celular e a transdução do sinal (White & Broadley, 2003).

As concentrações citosólicas do cálcio e do magnésio são mantidas na faixa submicromolar e molar, respectivamente. Neste sentido, Ferguson (1990) sugere que a diminuição do ‘pool’ extracelular de cálcio resulta na perda da capacidade de resposta da célula a estímulos externos resultando numa deficiência funcional, ocasionando o “bitter pit”. Esta explicação pode considerar o fato de que frutos com baixa concentração de cálcio podem não vir a desenvolver “bitter pit”, a menos que condições desfavoráveis (seca, excessivo vigor, imaturidade dos frutos na colheita) provoquem uma resposta celular (Burmeister & Dilley, 1993) desencadeando o processo.

O papel do magnésio na iniciação do “bitter pit” não é totalmente compreendido. As concentrações de Mg^{2+} e K^+ são geralmente altas em frutos com “bitter pit” (Perring, 1986). Também, altas concentrações de cálcio e magnésio foram verificadas em lesões de “bitter pit” (Garman & Mathis, 1956; Hopfinger & Poovaiah, 1979; Meyer et al., 1979). Harker et al. (1989) verificaram que o Mg^{2+} inibe o transporte de $^{45}Ca^{2+}$ através de discos de polpa de maçãs. Burmeister & Dilley (1993), sugerem que altos níveis de Mg^{2+} no espaço intercelular podem ser um importante fator na iniciação do “bitter pit”, talvez por impedir o influxo de cálcio extracelular para o citoplasma via específicos canais de cálcio.

2.7. Predição de “bitter pit”

Predição significa a capacidade de antecipar a ocorrência de um evento ou fenômeno. No caso da predição do “bitter pit”, isto requer a avaliação do status do cálcio e geralmente do Mg^{2+} , K^+ , N e P no fruto. Em maçãs, torna-se difícil medir diretamente a concentração de cálcio no fruto, pois as concentrações são baixas, extremamente variáveis dentro e entre os frutos e não há conhecimento de qual fração do fruto ou o conteúdo de cálcio no fruto está metabolicamente associado ao distúrbio (Terblanche et al., 1979).

Sistemas predictivos são, na prática, aqueles que utilizam a análise de frutos isoladamente ou em combinação com outros fatores do pomar (tamanho do fruto, idade da planta, carga de produção), para uma previsão da ocorrência de “bitter pit” no armazenamento (Holland, 1980). No entanto, a praticidade destes métodos predictivos é limitada devido à inerente variabilidade da incidência dentro e entre pomares, variedades e estações de crescimento (Wills et al., 1976). De acordo com Ferguson & Triggs (1990), para ser efetivo, qualquer método predictivo deverá objetivar a redução da variabilidade. Conforme os mesmos

autores, a maior fonte de variabilidade na predição de “bitter pit” é a seleção de plantas e frutos no pomar.

Dado que o baixo acúmulo de cálcio em certos frutos, geralmente não é devido ao insuficiente suprimento de cálcio no solo ou deficiente absorção, mas à inadequada distribuição dentro da planta, a determinação das concentrações de cálcio no solo, ou tecidos vegetativos da planta, não são indicadores adequados da concentração de cálcio nos frutos (Fallahi et al., 1997; Retamales et al., 1993). A predição do “bitter pit” apresenta importante aplicação não apenas para os pomicultores, mas também para as empresas armazenadoras e embaladoras, bem como, os demais envolvidos na cadeia de comercialização (Retamales & Valdes, 2001).

A qualidade de um fruto é composta de um componente externo, determinado pela coloração da epiderme, danos mecânicos e manchas, e um componente interno, relacionado à concentração de cálcio e demais nutrientes. Acréscimos na concentração de cálcio resultam em alta qualidade interna, isto é, menos distúrbios fisiológicos associados à nutrição de cálcio (Meheriuk et al., 1994), menores taxas de respiração (Bangerth, et al, 1972; Faust & Shear, 1972) e de perda de firmeza da polpa (Sams, 1999) e reduz a infecção por patógenos (Conway & Sams, 1984).

Por ser o mais freqüente distúrbio fisiológico em maçãs, o “bitter pit” torna-se um componente relevante na qualidade externa dos frutos (Retamales et al., 2000), podendo ser considerado um indicador da qualidade interna ou condição nutricional do fruto. Por estas razões, o “bitter pit” aumenta o custo de produção através de medidas preventivas de controle, diminui o retorno pelo baixo valor de mercado, enquanto aumenta os custos de comercialização para a indústria. No entanto, para qualquer sistema predictivo ser prático, o resultado deve ser obtido com relativa antecedência, para que possibilite a tomada de decisões a respeito das práticas de manejo, que deverão ser adotadas (Burmeister & Dilley, 1994).

2.7.1. Requerimentos de um método predictivo

Para um método ser útil em prever a incidência de “bitter pit”, deverá satisfazer as seguintes exigências: 1) Confiável: deve prover resultados confiáveis quando usado para diferentes cultivares, diferentes estações, condições de carga de frutos e localização geográfica, isto é, prover informação segura sob diferentes condições e com diferentes graus de incidência (Ferguson & Triggs, 1990; Retamales, 1995); 2) Custo/Benefício: deve apresentar uma alta relação custo/benefício; 3) Ocasão: o método deve prover informação

antes de o fruto entrar na cadeia de processamento; isto permitirá a segregação de frutos de acordo com seu potencial de armazenamento. Se possível, os resultados devem estar disponíveis alguns dias antes da colheita permitindo alguma medida de controle. 4) Fácil operação: o procedimento deverá ser de fácil implementação e compatível com os procedimentos usados pela indústria (Retamales, 1995).

2.8. Métodos para predição de “bitter pit”

No geral, os métodos destinados à predição de “bitter pit” são baseados na fisiologia da incidência do distúrbio. Considerando isto, três grupos de métodos são discriminados: aqueles associados ao status nutricional do fruto, a predição relacionada à aceleração da maturação e da relação entre o crescimento vegetativo e a incidência do distúrbio.

2.8.1. Análise mineral de frutos

Uma forma empregada para prever a ocorrência de “bitter pit” é através da análise mineral dos frutos, visando determinar o potencial de frutos atingidos com o distúrbio (Burmeister & Dilley, 1994). Esse método tem-se mostrado bastante útil, sendo empregado comercialmente (Ferguson & Watkins, 1989). Em países onde é utilizada com regularidade (Bélgica, Inglaterra e Nova Zelândia), a predição é baseada nos níveis de cálcio e sua relação com outros nutrientes (N/Ca, K/Ca e K + Mg/Ca) determinados em frutos coletados na pré-colheita e comparados em relação a padrões que garantem a ausência do distúrbio (Ferguson & Watkins, 1989; Marcelle, 1990). Considerando que o “bitter pit” é associado à deficiência localizada de cálcio no fruto, este método deveria prover previsões seguras, porém, tem sido grande a variabilidade do cálcio e outros nutrientes, medida em diferentes regiões produtoras, laboratórios e estações. Além disso, dificuldade metodológica, em relação a qual porção do fruto deve ser amostrada, e, em certos casos, a falta de associação entre o conteúdo de cálcio no fruto e a incidência de “bitter pit” também são fatores que limitam o uso desta técnica (Davenport & Peryea, 1990; Gallerani et al., 1990).

Segundo Lau (1993), valores limiares de cálcio nos frutos, abaixo dos quais a incidência de “bitter pit” é alta, têm sido descritos como sendo 3,0mg e 3,3mg 100g⁻¹ de peso fresco, para as cultivares McIntosh e Golden Delicious, respectivamente. Sistemas de previsão da ocorrência de distúrbios também têm sido testados comercialmente na Nova Zelândia, onde frutos com teores de cálcio inferiores a 2,0mg 100g⁻¹ de peso fresco são

rejeitados para exportação (Ferguson & Watkins, 1989).

Entretanto, Perring & Pearson (1976) verificaram que a incidência de “bitter pit”, em maçãs ‘Cox’s Orange Pippin’, não foi correlacionada com a composição mineral dos frutos, afirmando que sua predição não pode ser feita somente com base no tamanho do fruto e concentrações de cálcio, magnésio e potássio. Por outro lado, Marcelle et al. (1989) relatam que a análise de frutos jovens, durante a estação de crescimento, tem provado ser útil. Porém, a análise de cálcio nos frutos é cara, consome tempo e requer equipamento adequado (Burmeister & Dilley, 1994). Também, devido à grande variabilidade entre frutos dentro de um mesmo pomar seria necessário um grande número de amostras para avaliar o potencial de ocorrência de “bitter pit” (Waller, 1980).

Isto implica na ausência de consenso em relação à amostragem de frutos entre e dentre as várias regiões produtoras de maçã. Além disso, diferentes laboratórios amostram uma ampla variedade de tecidos para medir o status nutricional, apresentando diversos padrões de determinação do potencial de incidência de “bitter pit” (Marcelle, 1990).

2.8.2. Avaliação do crescimento vegetativo

Este método assume que o déficit de cálcio no fruto é ocasionado devido à inadequada distribuição do cálcio entre os diferentes órgãos e não por causa do insuficiente suprimento de cálcio proveniente do solo (Retamales et al., 2000). O uso da medida do comprimento das brotações como um método de previsão relaciona-se à observação de que as brotações transpiram em uma maior taxa que os frutos (Jones, 1992) e o excesso de vigor, reduz o acúmulo de cálcio pelo fruto que tenderá a aumentar a incidência de distúrbios associados à deficiência de cálcio, tal como, o “bitter pit” (Faust, 1989). Um intenso crescimento vegetativo, expresso como crescimento das brotações, pode indicar que o cálcio está sendo desviado para a parte vegetativa ao invés da parte reprodutiva (Terblanche et al., 1980). Para as condições climáticas e edáficas encontradas no Chile, a capacidade predictiva deste método é similar à análise mineral de frutos. Devido ao baixo custo, ser fácil e de rápida implementação, fazem deste um método útil a ser incluído em um sistema de previsão de “bitter pit” (Retamales & Valdes, 1996).

2.8.3. Aceleração da maturação

Este método é baseado no fato de que a exteriorização dos sintomas do “bitter pit”

aparece, predominantemente, na pós-colheita, quando os frutos têm alcançado um avançado estágio de maturação. Assim, quando frutos são tratados próximos à colheita com compostos que aceleram a maturação (etileno ou acetileno), a expressão dos sintomas é ativada (Eksteen et al., 1977) servindo como um método predictivo (Ferguson & Watkins, 1989). Contudo, após vários anos de pesquisa, algumas desvantagens foram observadas (Retamales et al., 1993). Os resultados são obtidos tardiamente na estação, os sintomas observados após a aceleração da maturação são função do conteúdo mineral do fruto e de seus níveis internos de etileno (Retamales & Valdes, 1996), e, pelo fato de frutos imaturos serem incapazes de responder ao etileno exógeno (Yang, 1985), este método se restringe a frutos coletados poucos dias antes do ponto de maturação destinado à colheita comercial.

No entanto, Gajardo (1996), ao estudar métodos predictivos de “bitter pit” em três cultivares de maçã, observou, para as condições climáticas do Chile, que o método da aceleração da maturação apresentou uma capacidade predictiva que variou de 0,60 a 0,84. Ao associar o método da aceleração da maturação com a infiltração de Mg^{2+} a capacidade predictiva foi de 0,79.

2.8.4. Infiltração dos frutos com magnésio

Vários pesquisadores têm relatado que os níveis de cálcio são negativamente correlacionados com a incidência de “bitter pit”, enquanto o magnésio é positivamente correlacionado com este distúrbio (Cooper & Bangerth, 1976; Hopfinger et al., 1984; Fallahi et al., 1987; Burmeister & Dilley, 1991). Estas relações foram a base para o desenvolvimento paralelo da predição de “bitter pit” através da infiltração de Mg^{2+} na Polônia (Tomala et al., 1993) e nos Estados Unidos (Burmeister & Dilley, 1991 e 1993), com posterior desenvolvimento de aplicação comercial para o método no Chile (Llanos, 1993; Retamales et al., 1993; Gajardo, 1996; Retamales, 1995; Retamales & Valdes, 1996).

Segundo Cooper & Bangerth (1976), a base deste método é o antagonismo, em nível celular, entre o cálcio e o magnésio. Ferguson & Watkins (1989) sugerem que o magnésio induz lesões resultantes do colapso causado pela toxidez do magnésio no ponto de entrada para o interior do fruto. Por outro lado, Harker et al. (1989) observaram que o Mg^{2+} inibiu o transporte de $^{45}Ca^{2+}$ através de discos de polpa de maçãs. Também, o magnésio é conhecido por estimular a atividade da polifenoloxidase, enzima relacionada às reações de escurecimento associada à morte de tecidos, em frutos infiltrados com magnésio (Hopfinger et al., 1984). Comparando lesões induzidas pelo magnésio com a ocorrência natural de “bitter

pit”, Fallahi et al. (1987) concluíram que as lesões induzidas não apresentavam tecido com aspecto de cortiça.

Desta maneira, se uma maçã for imersa em uma solução rica em magnésio e posteriormente for aplicado vácuo, o magnésio substituirá o cálcio no fruto e os sintomas de deficiência de cálcio (“bitter pit”) aparecerão no fruto dentro de 10-15 dias (Burmeister & Dilley, 1994; Retamales & Valdes, 1996). A possibilidade do uso de tal método para predição de “bitter pit” deve-se ao fato de que a troca do cálcio pelo magnésio é inversamente relacionada à concentração de cálcio no fruto (Retamales & Valdes, 1996). Assim, este método representa um processo indireto de mensuração da concentração de cálcio no fruto, diferindo da análise mineral por integrar todos os tecidos do fruto que estão envolvidos com a incidência do distúrbio (Hopfinger et al., 1984).

2.9. Procedimentos envolvidos na predição de “bitter pit” usando a infiltração dos frutos com Mg^{2+}

2.9.1. Amostragem dos frutos

Para ser efetivo, qualquer método de previsão de “bitter pit”, deve objetivar a redução da variabilidade. Para reduzir a variabilidade, é melhor coletar poucos frutos de várias macieiras (Ferguson & Triggs, 1990). O procedimento desenvolvido no Chile envolve a seleção prévia de 40 plantas representativas que devem apresentar tamanho, carga de frutos, condição de solo, variedade e porta-enxerto semelhantes (Retamales & Valdes, 1996). Em seguida, procede-se a amostragem de um fruto de tamanho representativo, localizado na altura do peito, 40-80cm da periferia da planta, com orientação sudeste, de cada uma das 40 plantas selecionadas. Os frutos podem ser amostrados 60, 40 ou 20 dias antes da colheita comercial. Todavia, pode haver variações no número de frutos amostrados e no período ótimo para amostragem antecipada dos frutos, o que deve ser determinado para cada cultivar e região produtora (Burmeister & Dilley 1991; Burmeister & Dilley 1994; Kim & Lee, 2000).

2.9.2. Infiltração dos frutos

Dentro de 24 horas após a coleta, os frutos devem ser acondicionados em um dissecador contendo cloreto de magnésio (0,05-0,10M), sorbitol (0,4M) e o surfactante Tween-20 (0,01%). A pressão de vácuo é gerada com auxílio de uma bomba de vácuo por 2

minutos e varia de acordo com a cultivar amostrada: 100mmHg para ‘Granny Smith’, ‘Gala’ e ‘Jonagold’; 500mmHg para maçãs ‘Red Delicious spur’, ‘Braeburn’ e ‘Fuji’ (Retamales & Valdes, 1996). De forma semelhante ao exposto anteriormente para a amostragem de frutos, podem haver diferenças no tempo de exposição dos frutos ao vácuo, como também, diferenças na compactação da polpa de uma mesma cultivar produzida em países diferentes, podem necessitar de maior pressão de vácuo (Burmeister & Dilley 1991; Burmeister & Dilley 1994; Kim & Lee, 2000).

2.9.3. Desenvolvimento dos sintomas

Uma vez infiltrados, os frutos são removidos do dissecador, secados com toalhas de papel e mantidos em câmara com temperatura de 18 a 20°C. Os sintomas ‘tipo’ “bitter pit” começarão a aparecer na superfície dos frutos 7 a 10 dias até três semanas após o tratamento. Todavia, os sintomas são avaliados 16-18 dias devido ao número de frutos afetados e o número de lesões por fruto, neste momento, não diferirem muito em relação ao verificado após três semanas (Retamales & Valdes, 1996).

2.9.4. Análise dos dados

Há necessidade de estabelecer equações e relações matemáticas (para cada combinação de variedade, localização do pomar e data de amostragem) entre o número de lesões obtido após a infiltração e a incidência de “bitter pit” que os frutos apresentarão após o armazenamento, mais o período de prateleira. A análise prevê a incidência e severidade de “bitter pit” na amostra.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos três experimentos, no ano agrícola de 2004/2005, com as cultivares Gala, Royal Gala, Fuji e Braeburn, com frutos provenientes de pomares comerciais localizados no município de Vacaria-RS (latitude 28°33'00"S, longitude 50°57'W, 955 metros de altitude) os quais estão identificados conforme a descrição na tabela 1.

TABELA 1: Descrição das cultivares e dos pomares comerciais localizados no município de Vacaria, RS, utilizados nos experimentos conduzidos no ano agrícola de 2004/2005*. Santa Maria, 2006.

	Gala			Royal Gala		Fuji			Braeburn		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Ano de implantação	1988			1995		1995			1996		1998
Porta-enxerto	M7			M9		M9			M9		
Densidade	1.235			2.857		2.857			2.857		
Espaçamento	1,8 x 4,5m			1,0 x 3,5m		1,0 x 3,5m			1,0 x 3,5m		
Localização	baixada	coxilha		-	-	-	-	-	-	-	-
Irrigação	sim	não		sim		sim			sim		
Aplicações de cálcio	10			0	9	0	4	12	10		15

* O ano agrícola de 2004/2005 foi caracterizado por um período de estresse hídrico de novembro de 2004 a março de 2005.

3.1. Amostragem, transporte e preparo das amostras

Em cada pomar foram selecionadas 70 a 100 plantas representativas, onde foram coletados 6 frutos de diâmetro semelhante na porção central de cada planta. Os frutos foram colhidos 20 dias antes do ponto de colheita comercial e na época recomendada para a colheita comercial, exceto para a 'Royal Gala'.

Após a colheita, os frutos foram acondicionados em caixas plásticas e transportados ao Núcleo de Pesquisa em Pós-Colheita da UFSM. A seguir procedeu-se a seleção dos frutos, eliminando aqueles com danos mecânicos, podridões e manchas na epiderme. Posteriormente, foi efetuada a homogeneização das amostras experimentais.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado. Os tratamentos consistiram em 4 repetições, sendo cada unidade experimental composta por 25 frutos.

3.2. Tratamentos

No experimento 1 os tratamentos foram: a infiltração de magnésio (0,1M $MgCl_2$ mais 0,01% de Tween-20 e 0,4M de sorbitol); imersão de frutos em solução com 2500nL L^{-1} de ethephon, conforme descrição nos itens (3.2.1 e 3.2.2); e o armazenamento em AC como controle onde se constituiu um bifatorial completo (métodos predictivos de “bitter pit” X pomares).

No experimento 2 correlacionou-se os parâmetros físico-químicos de qualidade avaliados no início do armazenamento com a incidência de “bitter pit” após o armazenamento, conforme descrito no item 3.2.3. E, no experimento 3 avaliou-se a permeabilidade de membranas, das cultivares Gala, Royal Gala, Fuji e Braeburn um dia após da colheita e aos 50, 100 e 150 dias de armazenamento em AC (item 3.2.4) e sua relação com a incidência de “bitter pit” após o armazenamento.

A seguir estão descritos os métodos predictivos e os parâmetros avaliados para as cultivares descritas anteriormente.

3.2.1. Método baseado no status nutricional do fruto

3.2.1.1. Infiltração dos frutos com Magnésio

Dentro de 24 horas após a colheita, uma amostra constituída por 4 repetições de 25 frutos, provenientes de cada um dos 11 pomares amostrados 20 dias antes da colheita comercial ou no ponto de colheita comercial, foi imersa em um dissecador com capacidade de 2,5 litros, contendo uma solução de cloreto de magnésio 0,10M, mais 0,01% de surfactante (Tween-20) e 0,4M de sorbitol. A seguir foi aplicado vácuo de 200 (‘Gala’ e ‘Royal Gala’) ou 460mmHg (‘Fuji’ e ‘Braeburn’) com auxílio de uma bomba de vácuo por 3 minutos e 30 segundos ou 5 minutos e 30 segundos, respectivamente, conforme metodologia modificada descrita por Retamales & Valdes (1996).

Após 16 dias de exposição dos frutos em uma câmara de climatização com temperatura de 20°C ($\pm 0,3^\circ C$) e umidade relativa em torno de 85% ($\pm 5\%$), foram avaliadas as lesões do tipo “bitter pit” quanto à incidência (percentual de frutos com lesões tipo “bitter pit”). Todos os frutos avaliados foram descascados completamente para verificar os sintomas que, na maioria das vezes, apenas eram visíveis abaixo da casca.

3.2.2. Método da aceleração da maturação do fruto

3.2.2.1. Maturação acelerada

Uma amostra constituída por 4 repetições de 25 frutos, proveniente de cada um dos 11 pomares amostrados 20 dias antes da colheita comercial ou no ponto de colheita comercial, foi imersa em uma solução contendo 2.500 n L L⁻¹ de Ethephon (Ethrel®) mais espalhante adesivo Iharaguen® (0,01%) durante cinco minutos, sob agitação. Em seguida, os frutos foram secados em ar e armazenados em câmara climatizada com temperatura de 20°C ($\pm 0,3^\circ\text{C}$) e umidade relativa em torno de 85% ($\pm 5\%$). Após 16 dias foram avaliadas as lesões do tipo “bitter pit” quanto à incidência (percentual de frutos com lesões tipo “bitter pit”).

3.2.3. Correlação entre parâmetros físico-químicos de qualidade e índices de maturação com a incidência de “bitter pit”

Uma amostra de 30 frutos de cada pomar foi analisada no dia posterior a cada uma das duas colheitas para os seguintes parâmetros de qualidade e índices de maturação:

- a) **Peso de fruto:** Determinado com o auxílio de balança digital, com resolução de uma grama.
- b) **Diâmetro de frutos:** Através da medida da secção transversal de cada fruto, com auxílio de um paquímetro com valores expressos em milímetros.
- c) **Densidade de frutos:** Os frutos foram colocados individualmente em recipiente com volume de 1.000mL. Após, foi completado o volume com água até 700mL. O volume foi determinado por diferença entre o volume inicial e o volume gasto para completar os 700mL (Princípio de Arquimedes).
- d) **Firmeza de polpa:** Determinada na região equatorial do fruto em dois lados opostos, pela remoção de pequena porção da epiderme e, com auxílio de um penetrômetro com ponteira de 11 mm de diâmetro.
- e) **Sólidos solúveis totais (SST):** Determinados por refratometria utilizando-se suco extraído das amostras de frutos, sendo a leitura determinada em graus (°Brix) com correção do efeito da temperatura (20°C).
- f) **Acidez titulável:** Quantificada em uma amostra de 10mL de suco, previamente extraído, diluído em 100mL de água destilada e titulado com solução de hidróxido de sódio 0,1N até pH 8,1. Os valores foram expressos em meq 100 mL⁻¹.

- g) **Índice iodo-amido:** Foi determinado pela reação do amido com uma solução contendo 12g de iodo metálico e 24g de iodeto de potássio em 1.000mL de água destilada. Comparando-se o escurecimento da metade peduncular dos frutos, tratados com a solução de iodo, com a tabela de fotografias desenvolvidas por Streif (1984), onde o índice 01 indica o teor máximo de amido e o índice 10 representa o amido totalmente hidrolisado.
- h) **Síntese de etileno:** Determinada para cada fruto individualmente, em recipientes com volume de 700mL. Estes foram fechados hermeticamente durante 2 horas. Para a análise da produção de etileno foram injetadas duas amostras de gás de 1mL de cada recipiente, em um cromatógrafo a gás, marca Varian, equipado com um detector de ionização por chama (FID) e coluna Porapak N80/100. A temperatura da coluna, injetor e detector foram de 90, 140 e 200°C, respectivamente. Calculou-se a síntese de etileno em $\mu\text{l C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ através da concentração de etileno, da massa do fruto, do volume do espaço livre no recipiente e do tempo de fechamento.
- i) **Respiração:** Quantificada pela produção de CO_2 . O ar do mesmo recipiente utilizado para a determinação do etileno foi circulado através de um analisador eletrônico de CO_2 , marca Agri-datalog. A partir da concentração de CO_2 , do espaço livre do recipiente, do peso do fruto e do tempo de fechamento, foi calculada a respiração em $\text{ml CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$.
- j) **Suculência:** Determinada através da prensagem de aproximadamente 20g de polpa de cada maçã durante 1 minuto numa prensa pneumática desenvolvida no NPP/UFSM (Lunardi, 2003). A amostra foi submetida ao peso de 1.500kg. A quantidade de suco foi obtida pela diferença do peso inicial da amostra (20g) e o peso final (após a prensagem). A suculência foi expressa em percentagem de suco.
- k) **Incidência real de “bitter pit”:** Determinada visualmente após 5 meses de armazenamento em atmosfera controlada mais 12 dias de exposição dos frutos à temperatura de 20°C, sendo comparada com a incidência prevista pelos métodos, com os parâmetros físico-químicos de maturação e qualidade e, também com a permeabilidade de membranas.

3.2.4. Determinação da permeabilidade de membranas

A metodologia a seguir descrita é adaptada de Saquet (2003). Quatro amostras de 6 frutos homogêneos foram armazenadas juntamente com as amostras em atmosfera controlada,

para cada cultivar e época de colheita. As avaliações foram realizadas na colheita e após 50, 100 e 150 dias de armazenamento. Em cada avaliação os frutos foram retirados das minicâmaras e acondicionados em uma câmara com temperatura controlada de 20°C, sempre pela parte da manhã. Na manhã seguinte as amostras foram avaliadas.

Procedeu-se a retirada de duas fatias longitudinais de 1,0cm em lados opostos de cada um dos seis frutos que compunham a amostra. Em seguida, com auxílio de um vazador de 1,0cm de diâmetro foram retirados discos da região central da polpa das fatias. Após, os discos foram seccionados de forma que apresentassem 5mm de espessura. A seguir, duas repetições de 20 discos de polpa, selecionados aleatoriamente, foram acondicionadas em béquer com 50mL de solução de sorbitol 0,4M. A quantidade de solução era suficiente para manter o eletrodo de aferição imerso. Procedeu-se a incubação das amostras por 3 horas a 25°C em banho maria com agitação moderada. Após este período mediu-se a condutividade elétrica da solução sob agitação magnética (Xi).

As amostras foram então congeladas na temperatura de -20°C durante 18 horas para destruir as membranas. Depois as amostras retornaram ao banho maria até a temperatura estabilizar em 25°C. Quando então se mediu novamente a condutividade elétrica das amostras (Xf). Os valores são expressos em percentual (valores relativos) referentes à condutividade máxima após o congelamento.

3.3. Armazenamento dos frutos

Uma amostra paralela à utilizada nos demais parâmetro avaliados, composta de 4 repetições de 25 frutos de cada pomar, foi armazenada em AC em minicâmaras experimentais com capacidade de 185 litros, as quais foram conectadas por tubulações plásticas a um equipamento de controle automático das pressões parciais de CO₂ e O₂, marca Kronenberger Sistemtechnik. As pressões parciais de O₂, referentes a cada cultivar, foram obtidas pela injeção nas minicâmaras do gás nitrogênio proveniente de um gerador que utiliza o princípio “Pressure Swing Adsorption” (PSA). As concentrações de CO₂ foram obtidas mediante a injeção deste gás puro, a partir de cilindros de alta pressão.

O equipamento de controle automático realizava medições diárias das pressões parciais de gases nas minicâmaras e controlava-as segundo níveis pré-estabelecidos para cada cultivar sendo:

- **‘Gala’ e ‘Royal Gala’:** 1,5kPa O₂ + 3,0kPa CO₂ com umidade relativa entre 95 a 97% na temperatura de +0,5°C, por 5 meses e mais 12 dias de exposição dos frutos à temperatura de 20°C;

- **‘Fuji’:** 1,2kPa O₂ + <0,5kPa CO₂ com umidade relativa entre 95 a 97% na temperatura de -0,5°C, por 5 meses e mais 12 dias de exposição dos frutos à temperatura de 20°C;

- **‘Braeburn’:** 1,2kPa O₂ + 3,0kPa CO₂ com umidade relativa entre 95 a 97% na temperatura de +0,5°C, por 5 meses e mais 12 dias de exposição dos frutos à temperatura de 20°C.

A temperatura das câmaras frigoríficas foi controlada automaticamente por termostatos de alta precisão ($\pm 0,1^\circ\text{C}$), sendo monitorada diariamente através de termômetros de mercúrio introduzidos na polpa de frutos.

Após o armazenamento, os frutos foram expostos por 12 dias a 20°C, período que visa simular a ocorrência do distúrbio no período de prateleira. Comparando-se a incidência de “bitter pit” nestes frutos, com a dos frutos submetidos aos diferentes métodos predictivos foi possível determinar a capacidade predictiva de cada método, pela relação da incidência de “bitter pit” prevista pelos métodos em relação à ocorrência real nos frutos após o armazenamento comercial.

A análise dos frutos foi realizada de acordo com cada método anteriormente descrito. As avaliações dos frutos, em relação à incidência de “bitter pit”, foram realizadas após 12 dias de exposição à temperatura de 20°C, para os frutos mantidos na condição de armazenamento comercial.

3.4. Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise da variância e quando verificadas diferenças, as médias foram comparadas pelo teste de Duncan (5%).

Os valores expressos em percentual foram transformados pela fórmula $\arccos\sqrt{x/100}$ antes da análise da variância. Todos os procedimentos estatísticos foram efetuados com o auxílio do software NTIA/Embrapa.

Detalhes referentes às análises estatísticas podem ser observados nos Apêndices 1 a 8.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Predição de “bitter pit” em maçãs ‘Gala’, ‘Royal Gala’, ‘Fuji’ e ‘Braeburn’, através da infiltração de Mg^{2+} e da aplicação de ethephon em frutos provenientes de diferentes pomares.

A incidência das lesões induzidas através da infiltração dos frutos em solução contendo Mg^{2+} ou pela imersão dos frutos em solução com ethephon está apresentada nas Tabelas 1 a 4, juntamente com os percentuais relativos à ocorrência real de “bitter pit” após o armazenamento em atmosfera controlada (AC).

A incidência das lesões do “bitter pit” na maçã ‘Gala’ amostrada 20 dias antes da colheita comercial foi maior nos frutos do pomar 2, sem diferir, no entanto, dos frutos do pomar 3, independente do método predictivo utilizado (Tabela 2). Verificou-se que ambos os métodos superestimaram a incidência de “bitter pit” nos frutos avaliados 20 dias antes da colheita comercial. Porém, nos frutos avaliados na colheita comercial, observou-se o contrário, ou seja, a ocorrência foi subestimada por ambos os métodos predictivos. Retamales & Valdes (1996) também verificaram, em frutos colhidos 20 dias antes da colheita comercial, que a incidência real de “bitter pit” foi superestimada pelo método da infiltração dos frutos com magnésio na avaliação realizada após 16 dias a 20°C.

Os métodos predictivos não foram eficientes em prever o percentual da incidência de “bitter pit” quando utilizados na colheita comercial da cultivar Gala (Tabela 2). Com exceção dos frutos do pomar 3, ocorreu maior incidência real de “bitter pit” após o armazenamento em AC nos frutos amostrados na colheita comercial. Estes resultados contrariam Kim & Lee (2000), que verificaram em maçãs ‘Tsugaru’, amostradas 20 dias antes da colheita comercial, a maior ocorrência de lesões induzidas pelo Mg^{2+} , além disso, a ocorrência foi menor à medida que as coletas se aproximaram da colheita comercial.

Dentre todos os pomares amostrados, o único que não recebeu manejo de irrigação foi o pomar 3. Assim, esperava-se que os frutos provenientes destas plantas apresentassem maior incidência de “bitter pit”, devido ao estresse hídrico sofrido no verão de 2005, o que não foi verificado neste experimento. Contrariando a afirmação de Poma Trencani & Stanchina (1982) de que condições de irregular suprimento de água ocorrendo durante verões secos e quentes, quando a transpiração é alta, aumentam a ocorrência de “bitter pit”.

TABELA 2 - Incidência de “bitter pit” real e predita em maçãs ‘Gala’ amostradas 20 dias antes e na colheita comercial, em três pomares comerciais localizados no município de Vacaria-RS. Santa Maria, RS, 2006.

	Incidência de bitter pit (%)*			
	20 dias antes da colheita			
	Pomar 1	Pomar 2	Pomar 3	Média
Controle (AC)	3,00**	8,00	10,00	7,00b
MgCl ₂ 0,10M	7,00	18,37	13,74	13,04a
Ethephon (2500nL L ⁻¹)	9,12	19,20	9,04	12,45a
Média	6,37B	15,19A	10,93AB	
CV (%)	33,53			

	Na colheita			
	Pomar 1	Pomar 2	Pomar 3	Média
Controle (AC)	9,00	9,30	9,20	9,17a
MgCl ₂ 0,10M	6,00	8,00	0,00	4,66b
Ethephon (2500nL L ⁻¹)	3,00	3,75	3,89	3,55b
Média	6,00A	7,02A	4,36B	
CV (%)	42,42			

* Incidência: percentual de frutos com sintoma característico de “bitter pit”.

** Tratamentos com médias não seguidas pela mesma letra, minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, diferem pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro.

Por outro lado, há vários relatos que condições adversas do solo e clima não afetam, ou ainda, aumentam a concentração de cálcio em frutos e folhas (Saure, 2005). Segundo Schupp & Ferree (1990), a concentração de cálcio foi aumentada em folhas de macieiras com baixo suprimento de água (Brun et al., 1985; Failla et al., 1992). Conflitantes informações sobre a influência do déficit de irrigação na concentração de cálcio nos frutos pode provavelmente ser atribuída a diferentes condições experimentais, especialmente em relação ao período de déficit hídrico ao qual as plantas foram submetidas Behboudian & Mills (1997 apud SAURE, 2005).

Condições de umidade excessiva do solo podem, também, afetar a época de maturação do fruto. Portanto, a irrigação quando utilizada de forma inadequada pode aumentar a incidência de “bitter pit” ao estimular o crescimento dos frutos e acelerar a maturação (Iuchi et al., 2001).

Na cv. Royal Gala, os frutos do pomar 5 apresentaram percentual de incidência de “bitter pit” estatisticamente semelhante quando comparado aos frutos do pomar 4 (Tabela 3). Nos dois métodos avaliados obtiveram-se percentuais semelhantes à incidência real de “bitter pit” nos frutos armazenados. Este resultado contraria outros trabalhos anteriormente

realizados (Retamales & Valdes, 1996; Kim & Lee, 2000) que verificaram uma redução na capacidade predictiva do método da infiltração com magnésio à medida que a amostragem se aproxima da colheita ou ainda quando é realizada muito antecipadamente. Entretanto, semelhante resultado foi verificado por Eksteen et al. (1977) e Gajardo (1996) ao avaliar o método da aceleração da maturação em frutos amostrados na colheita comercial.

TABELA 3 - Incidência de “bitter pit” real e predita em maçãs cv. Royal Gala amostrada na colheita comercial, em dois pomares comerciais localizados no município de Vacaria-RS. Santa Maria, RS, 2006.

	Incidência de bitter pit (%)*		
	Na colheita		
	Pomar 4	Pomar 5	Média
Controle (AC)	4,00**	2,00	3,00a
MgCl ₂ 0,10M	2,13	6,00	4,06a
Ethephon (2500nL L ⁻¹)	2,00	4,08	3,04a
Média	2,71A	4,03A	
CV (%)	55,06		

* Incidência: percentual de frutos com sintoma característico de “bitter pit”.

** Tratamentos com médias não seguidas pela mesma letra, minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, diferem pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro.

Para maçãs ‘Fuji’, coletadas antecipadamente, em relação à colheita comercial, não houve influência do fator pomar no percentual de incidência de “bitter pit”, independente do método predictivo empregado (Tabela 4). A incidência percentual prevista por ambos os métodos foi semelhante à ocorrência real de “bitter pit” após o armazenamento em atmosfera controlada. Semelhante resultado foi verificado por Retamales et al. (2000), em frutos da cultivar Fuji infiltrados com magnésio 40 dias antes da colheita. Entretanto, segundo Eksteen et al. (1977) e Retamales et al. (2000) o método da aceleração da maturação, não foi eficiente na cultivar Fuji sendo restrito a frutos coletados poucos dias antes da maturação comercial, fato não verificado neste experimento.

Na avaliação realizada com frutos amostrados na colheita comercial, nenhum dos métodos foi capaz de prever a incidência de “bitter pit” após o armazenamento com exceção dos frutos do pomar 7, que apresentaram percentual de incidência de 2,5%, previsto pelo método da aceleração da maturação (Tabela 4), fornecendo assim, uma baixa capacidade predictiva.

TABELA 4 - Incidência de “bitter pit” real e predita em maçãs cv. Fuji amostradas 20 dias antes e na colheita comercial, em três pomares comerciais localizados no município de Vacaria-RS. Santa Maria, RS, 2006.

	Incidência de bitter pit (%) [*]			
	20 dias antes da colheita			
	Pomar 6	Pomar 7	Pomar 8	Média
Controle (AC)	5,10**	15,35	8,00	9,48a
MgCl ₂ 0,10M	8,00	10,00	7,22	8,41a
Ethephon (2500nL L ⁻¹)	8,00	6,00	8,04	7,35a
Média	7,03A	10,45A	7,75A	
CV (%)		47,84		

	Na colheita			
	Pomar 6	Pomar 7	Pomar 8	Média
Controle (AC)	6,25	11,20	6,25	7,90a
MgCl ₂ 0,10M	0,00	0,00	0,00	0,00b
Ethephon (2500n L L ⁻¹)	0,00	2,50	0,00	0,00b
Média	2,08AB	4,57A	2,08AB	
CV (%)		46,58		

* Incidência: percentual de frutos com sintoma característico de “bitter pit”.

** Tratamentos com médias não seguidas pela mesma letra, minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, diferem pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro.

Aplicações pré-colheita de cálcio via foliar são geralmente necessárias para prevenir a ocorrência de “bitter pit” nos frutos, sendo que o grau de controle aumenta com o número de aplicações (Ferguson & Watkins, 1989). Entretanto, tal afirmação não foi verificada neste experimento, pois, os pomares 6, 7 e 8 receberam respectivamente, 0, 4 e 12 aplicações de cálcio durante o desenvolvimento dos frutos, por três anos consecutivos. Desta forma, como as lesões induzidas pela infiltração dos frutos com Mg²⁺ são correlacionadas de forma negativa com o conteúdo de cálcio no fruto (Burmeister & Dilley, 1991), pode-se inferir que os frutos dos pomares 6, 7 e 8 apresentavam semelhante concentração de cálcio, ou ainda, não havia deficiência, ou seja, condições de solo e de crescimento da planta são mais importantes que a aplicação de CaCl₂ (Cline et al., 1991).

Não houve diferença estatística para os valores preditos pelos métodos e a incidência de “bitter pit” real em maçãs ‘Braeburn’ quando colhidas e avaliadas antecipadamente, isto é, 20 dias antes da colheita comercial (Tabela 5).

TABELA 5 - Incidência de “bitter pit” real e predita em maçãs cv. Braeburn amostradas 20 antes e na colheita comercial, em três pomares comerciais localizados no município de Vacaria-RS. Santa Maria, RS, 2006.

Incidência de bitter pit (%)* 20 dias antes da colheita				
	Pomar 9	Pomar 10	Pomar 11	Média
Controle (AC)	10,00**	8,75	10,00	9,58a
MgCl ₂ 0,10M	7,00	8,13	14,00	9,71a
Ethephon (2500n L L ⁻¹)	10,87	2,00	16,25	9,70a
Média	9,29AB	6,30B	13,42A	
CV (%)	40,63			

Na colheita			
	Pomar 9	Pomar 10	Pomar 11
Controle (AC)	2,50cB	1,00bC	4,00aA
MgCl ₂ 0,10M	16,25aA	12,50aB	0,00cC
Ethephon (2500n L L ⁻¹)	5,00bA	0,00cC	2,50bB
Média	-	-	-
CV (%)	15,34		

* Incidência: percentual de frutos com sintoma característico de “bitter pit”.

** Tratamentos com médias não seguidas pela mesma letra, minúscula na vertical e maiúscula na horizontal, diferem pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro.

Entretanto, verificou-se a maior incidência média no pomar 11, contudo, sem diferir do pomar 9, independente do método usado na colheita antecipada (Tabela 5). Nos frutos amostrados na colheita comercial houve interação entre os pomares e os métodos predictivos avaliados, sendo que, o método da infiltração com Mg²⁺ superestimou a incidência real nos pomares 9 e 10, entretanto, para o pomar 11 o método não previu a ocorrência de “bitter pit” nos frutos (Tabela 5). Dependendo da cultivar, a infiltração com Mg²⁺ pode subestimar ou superestimar a real incidência de “bitter pit”. Neste sentido, Retamales & Valdes (1996), verificaram em maçãs ‘Braeburn’ e ‘Royal Gala’, predomínio da subestimação de valores (82 e 75% das previsões imprecisas, respectivamente), enquanto para maçãs ‘Red Delicious’ e ‘Granny Smith’, foi mais comum a superestimativa (75% dos casos). Por outro lado, o método da aceleração da maturação previu percentuais mais próximos da ocorrência real, comparado à infiltração com Mg²⁺ para os pomares 9 e 11, embora estatisticamente diferentes, enquanto para o pomar 10 a incidência prevista foi nula (Tabela 5).

Embora o etileno acelere a maturação de frutos climatéricos, o tempo entre o tratamento inicial e o início da produção autocatalítica do etileno pode ser de dias ou semanas, dependendo da maturidade e sensibilidade dos tecidos (Yang & Hoffman, 1984). De acordo com Pecheur & Ribailier (1974 apud STEFFENS, 2003), em maçãs, a resposta varietal à aplicação de ethephon é o fator mais importante a ser considerado sendo que o mesmo é mais efetivo em cultivares precoces como a ‘Gala’ e a ‘Royal Gala’. Possivelmente, a resposta diferenciada entre os métodos, verificada na colheita comercial da ‘Braeburn’ pode ser devida à grande variabilidade existente, de fruto para fruto, no conteúdo interno de etileno, influenciado pela cultivar, posição do fruto na planta, data de colheita (Saltveit, 1982; Chu, 1984; Blanpied, 1985) e idade cronológica dos frutos na colheita (Blanpied & Little, 1991).

A incidência de “bitter pit” foi dependente da época de amostragem, porém, houve variações entre pomares e cultivares. Neste experimento verificaram-se diferenças na susceptibilidade das cultivares ao “bitter pit”, entre pomares e entre as cultivares avaliadas. Dražeta, (2001) e Dražeta et al. (2004) sugerem que as diferenças na suscetibilidade ao “bitter pit” entre cultivares podem ser explicadas pelas diferenças na funcionalidade do xilema e, por consequência, no acesso do cálcio aos frutos.

4.1.1. Conclusões

Na cultivar Gala ambos os métodos foram ineficientes, superestimando a incidência real de “bitter pit” nos frutos colhidos 20 dias antes da colheita e, subestimando a incidência na colheita comercial;

Os métodos avaliados previram, de maneira geral, percentuais semelhantes à incidência real de “bitter pit”, durante o armazenamento, na cultivar Royal Gala amostrada na colheita comercial;

Para as cultivares Fuji e Braeburn a infiltração com magnésio e a imersão dos frutos em ethephon são eficientes na predição da incidência de “bitter pit” em frutos coletados 20 dias antes da colheita comercial;

O percentual de incidência de “bitter pit” estimado pelos métodos, foi sempre maior nos frutos colhidos 20 dias antes da colheita do que no momento da colheita comercial;

A eficiência dos métodos predictivos é alterada quando comparados entre os diferentes pomares e épocas de colheita das cultivares Gala, Fuji e Braeburn.

A cultivar Fuji foi a mais afetada pelo “bitter pit”, especificamente nos frutos do pomar que recebeu quatro aplicações de cloreto de cálcio.

4.2. Correlação entre parâmetros de qualidade e índices de maturação com a incidência de “bitter pit” em maçãs ‘Gala’, ‘Royal Gala’, ‘Fuji’ e ‘Braeburn’ após o armazenamento em atmosfera controlada.

Verificou-se que os coeficientes de correlação entre os parâmetros de qualidade e índices de maturação em relação à incidência de “bitter pit”, apresentaram comportamento diferenciado entre pomares para um mesmo parâmetro (Tabela 6). Além dos fatores genéticos, ambientais e culturais a qualidade interna e o tempo de armazenamento de maçãs são influenciados, principalmente, pela data de colheita (Streif, 1983). Maçãs colhidas tardiamente apresentam boa qualidade interna, porém, não são adequadas para o armazenamento. Por outro lado, maçãs colhidas muito cedo apresentam maior período de armazenagem, mas inferior qualidade interna (Stoll et al., 1981; Streif, 1980). Frutos colhidos imaturos são mais propensos ao aparecimento de “bitter pit”. Entretanto, frutos colhidos muito maduros são mais propensos à degenerescência da polpa (Ferguson & Watkins, 1989).

Para a cultivar Gala, amostrada 20 dias antes da colheita comercial, apenas o Índice de Iodo-Amido foi significativo ($P < 0,05$) porém com sinal contrário, nos pomares 2 e 3. Embora os demais parâmetros avaliados não tenham apresentado significância, foram verificados coeficientes (r) altos para a síntese de etileno, suculência e densidade (Tabela 6).

TABELA 6 - Coeficientes de correlação para parâmetros de qualidade e índices de maturação em relação à incidência de “bitter pit” em maçãs cv. Gala colhidas 20 dias antes da colheita comercial, Santa Maria, 2006.

	Gala			Royal Gala	
	Pomares			Pomares	
	1	2	3	4	5
Peso	-0,384ns	0,527 ns	-0,455 ns	-	-
Diâmetro	-0,164 ns	0,341 ns	-0,866 ns	-	-
Densidade	-0,505 ns	0,018 ns	-0,868 ns	-	-
Firmeza de polpa	0,572 ns	-0,186 ns	0,180 ns	-	-
SST	0,156 ns	0,780 ns	-0,785 ns	-	-
IIA	0,084 ns	0,963*	-0,962*	-	-
Suculência	-0,809 ns	-0,008 ns	0,637 ns	-	-
Respiração	0,132 ns	0,386 ns	-0,314 ns	-	-
Etileno	-0,850 ns	0,642 ns	-0,637 ns	-	-

Significativo em 5% de probabilidade de erro (*).

Não significativo (ns).

Os valores absolutos dos coeficientes de correlação para amostras coletadas 20 dias antes da colheita comercial, tenderam ser maiores quando comparados aos coeficientes

obtidos na colheita comercial (Tabelas 6 e 7). No entanto, nos frutos colhidos comercialmente, apenas o Índice de Iodo-Amido apresentou significativa correlação com a incidência de “bitter pit” no pomar 3 e 5. Porém, foram observados coeficientes altos para a respiração, densidade, suculência, peso e SST. Tem sido mostrado que os atributos ótimos de qualidade de frutos podem variar entre pomares e estações na colheita comercial (Truter & Hurndall, 1988; Ingle & D’Souza, 1989).

TABELA 7 - Coeficientes de correlação para parâmetros de qualidade e índices de maturação em relação à incidência de “bitter pit” em maçãs cv. Gala e Royal Gala colhidas na colheita comercial, Santa Maria, 2006.

	Gala			Royal gala	
	Pomares			Pomares	
	1	2	3	4	5
Peso	0,273 ns	0,810 ns	-0,486 ns	0,342 ns	0,173 ns
Diâmetro	-0,591 ns	0,562 ns	-0,586 ns	0,264 ns	-0,006 ns
Densidade	0,174 ns	0,233 ns	0,836 ns	0,184 ns	-0,584 ns
Firmeza de polpa	-0,644 ns	-0,509 ns	-0,448 ns	-0,501 ns	-0,270 ns
SST	-0,070 ns	0,810 ns	0,683 ns	0,355 ns	-0,283 ns
IIA	0,535 ns	0,753 ns	0,951*	0,574 ns	0,989*
Suculência	0,329 ns	-0,256 ns	-0,591 ns	0,868 ns	0,026 ns
Respiração	-0,927 ns	-0,895 ns	0,084 ns	0,765 ns	-0,011 ns
Etileno	0,754 ns	-0,499 ns	0,413 ns	0,557 ns	-0,095 ns

Significativo em 5% de probabilidade de erro (*).

Não significativo (ns).

Os pomares das cultivares ‘Fuji’ e ‘Braeburn’ apresentaram padrão inverso ao anterior descrito para a ‘Gala’ e a ‘Royal Gala’. Assim, os coeficientes obtidos 20 dias antes da colheita comercial foram menores em relação aos verificados na colheita comercial (Tabelas 8 e 9). A firmeza de polpa apresentou correlação positiva com a incidência de “bitter pit” no pomar 8 da cv. Fuji, já nos pomares 7, da mesma cultivar, e no 9, da cv. Braeburn, a correlação foi negativa (Tabela 8). O maior coeficiente de correlação foi verificado para a densidade ($r = -0,930$), seguido pela síntese de etileno ($r = -0,905$), nos frutos dos pomares 6 a 11 amostrados 20 dias antes da colheita comercial. Embora, tenham sido verificados valores de (r) altos, nenhum dos parâmetros avaliados foi significativo para as cvs. Fuji e Braeburn quando amostradas 20 dias antes da colheita comercial (Tabela 8).

TABELA 8 - Coeficientes de correlação para parâmetros de qualidade e índices de maturação em relação à incidência de “bitter pit” em maçãs cvs. Braeburn e Fuji colhidas 20 dias antes da colheita comercial, Santa Maria, 2006.

	Fuji			Braeburn		
	Pomares			Pomares		
	6	7	8	9	10	11
Peso	0,617 ns	-0,694 ns	-0,116 ns	0,090 ns	-0,479 ns	-0,003 ns
Diâmetro	0,626 ns	-0,245 ns	-0,561 ns	0,240 ns	-0,232 ns	0,067 ns
Densidade	0,324 ns	0,001 ns	0,169 ns	0,297 ns	-0,930 ns	-0,266 ns
Firmeza de polpa	0,118 ns	-0,649 ns	0,893 ns	-0,770 ns	0,286 ns	0,221 ns
SST	0,014 ns	0,031 ns	0,271 ns	-0,905 ns	-0,732 ns	0,427 ns
IIA	-0,171 ns	-0,164 ns	0,478 ns	-0,760 ns	0,333 ns	-0,798 ns
Suculência	0,085 ns	0,097 ns	-0,506 ns	0,363 ns	0,653 ns	-0,249 ns
Respiração	0,409 ns	-0,419 ns	-0,824 ns	-0,693 ns	-0,550 ns	-0,491 ns
Etileno	0,250 ns	0,351 ns	0,759 ns	-0,905 ns	0,300 ns	0,304 ns

Significativo em 5% de probabilidade de erro (*).

Não significativo (ns).

A incidência de distúrbios fisiológicos é grandemente dependente da cultivar, data de colheita e período de armazenamento. Desta forma, parte do comportamento diferenciado entre pomares de uma mesma cultivar ou ainda entre pomares de cultivares distintas pode ser explicado pela ação de fatores pré-colheita distintos para cada local, como por exemplo, o conteúdo mineral dos frutos (Ferguson & Watkins, 1989; Ferguson et al., 1999).

Embora neste experimento não tenha sido avaliada a composição mineral dos frutos, em especial ao cálcio e suas relações com demais nutrientes, pode-se inferir, de forma indireta, sobre a composição mineral dos diferentes pomares. Em parte, o comportamento diferenciado entre pomares e cultivares, distinto para cada época de amostragem é devido ao manejo de irrigação e possivelmente ao número de aplicações de cálcio durante o período pré-colheita.

Se o número de parâmetros determinados for reduzido a poucos parâmetros avaliados, deve-se usar o critério com alto coeficiente de correlação (Streif, 1983). Sob as condições climáticas da região onde os pomares estão localizados a determinação do Índice de Iodo-Amido é a mais adequada para as cultivares Gala e Royal Gala.

Em maçãs ‘Braeburn’ a síntese de etileno é o parâmetro mais indicado. Já para a ‘Fuji’ nenhum parâmetro apresentou correlação significativa, apesar de serem verificados valores altos de (r). Em maçãs ‘McIntosh’, Bramlage et al. (1985) verificaram que a massa dos frutos foi a única variável independente da análise mineral a apresentar consistente correlação com a

degenerescência. Frutos grandes de maçãs ‘MacIntosh’ e ‘Spartan’ desenvolveram altos níveis de degenerescência durante o armazenamento, em relação a frutos menores (Wolk et al., 1998). Entretanto, em maçãs ‘Golden Delicious’ não houve nenhuma variável que apresentou consistente relação de um ano para outro com a incidência de “bitter pit” (Wolk et al., 1998).

Na avaliação realizada na colheita, apenas a síntese de etileno apresentou correlação positiva significativa no pomar 9. O parâmetro diâmetro, correlacionou-se positivamente com a incidência de “bitter pit” nos pomares 6, 8, 9, 10 e 11, porém no pomar 7 apresentou alta correlação negativa (Tabela 9). Por outro lado, a densidade apresentou uma forte correlação negativa nos pomares 6 e 7, enquanto a suculência apresentou correlação negativa no pomar 6 e 8. Contudo, no pomar 7 verifica-se um coeficiente alto e positivo para a suculência (Tabela 9).

TABELA 9 - Coeficientes de correlação para parâmetros de qualidade e índices de maturação em relação à incidência de “bitter pit” em maçãs cvs. Braeburn e Fuji colhidas na colheita comercial, Santa Maria, 2006.

	Fuji			Braeburn		
	Pomares			Pomares		
	6	7	8	9	10	11
Peso	0,487 ns	-0,772 ns	0,058 ns	0,647 ns	0,247 ns	0,395 ns
Diâmetro	0,539 ns	-0,886 ns	0,437 ns	0,627 ns	0,786 ns	0,889 ns
Densidade	-0,901 ns	-0,925 ns	-0,267 ns	0,178 ns	0,011 ns	0,529 ns
Firmeza de polpa	0,733 ns	0,687 ns	-0,528 ns	0,577 ns	-0,344 ns	-0,642 ns
SST	-0,602 ns	-0,133 ns	0,544 ns	0,101 ns	0,550 ns	0,477 ns
IIA	0,174 ns	0,254 ns	0,551 ns	-0,730 ns	-0,340 ns	0,787 ns
Suculência	-0,931 ns	0,903 ns	-0,610 ns	-0,144 ns	-0,431 ns	-0,822 ns
Respiração	-0,655 ns	-0,384 ns	-0,920 ns	0,597 ns	-0,566 ns	-0,634 ns
Etileno	0,164 ns	-0,020 ns	-0,611 ns	0,954*	-0,148 ns	-0,538 ns

Significativo em 5% de probabilidade de erro (*).

Não significativo (ns).

Dentre os parâmetros de qualidade e índices de maturação correlacionados à incidência de “bitter pit” apenas o Índice de Iodo-Amido apresentou significância para os pomares das cvs. Gala e Royal Gala amostrados nas diferentes épocas de colheita (Tabelas 6 e 7). Na ‘Braeburn’ a síntese de etileno correlacionou-se positivamente com a incidência de “bitter pit” apenas no pomar 9, na colheita. Enquanto na ‘Fuji’ a suculência e a densidade

demonstraram ser os melhores parâmetros, porém, não havendo significância para nenhum dos coeficientes (Tabelas 8 e 9).

Fatores nutricionais pré-colheita, que contribuem para uma forte relação entre cálcio/“bitter pit”, têm formado a base para esquemas comerciais de predição na Nova Zelândia (Ferguson & Watkins, 1989). Enquanto relações biológicas significativas têm sido encontradas, outros fatores pré-colheita, além da análise do cálcio isolado, vêm sendo usados com a finalidade de tornar os esquemas predictivos mais precisos (Ferguson et al., 1999). Para maçãs ‘Cox’s Orange Pippin’ e ‘Braeburn’ cultivadas na Nova Zelândia, níveis de magnésio e potássio, carga de produção da planta, tamanho (Ferguson et al., 1999), peso e densidade de frutos são usados como fatores pré-colheita no desenvolvimento de sistemas predictivos para “bitter pit” (Wolk et al., 1998).

A relação entre os sólidos solúveis totais, firmeza de polpa, incidência de “bitter pit” e o conteúdo mineral de maçãs foram estudadas por Casero et al. (2004), que observaram teores de cálcio negativamente relacionados à acidez titulável, sólidos solúveis totais e “bitter pit”. Por outro lado, o cálcio está fortemente associado à firmeza de polpa. Todavia, a concentração de nitrogênio apresentou comportamento oposto ao cálcio na polpa dos frutos (Casero et al., 2004). Neste sentido, é importante salientar que nenhum parâmetro isolado é capaz de indicar com relativa acurácia a incidência de distúrbios fisiológicos, pois a complexidade biológica envolvida na fisiologia dos distúrbios, em especial o “bitter pit”, relaciona inúmeros fatores de ordem ambiental, genética, nutricional e de manejo da planta. Assim, conforme sugerido por Retamales et al. (1993), o conceito de manejo integrado de “bitter pit” deve ser desenvolvido, o que inclui: predição, manejo dos fatores predisponentes (prevenção) e um programa de aplicações de cálcio dirigido aos frutos.

4.2.1. Conclusões

O índice de iodo amido foi o único índice de maturação que apresentou correlação significativa com a incidência de “bitter pit” para as cultivares Gala e Royal Gala, colhidas antecipadamente;

Nenhum parâmetro de qualidade ou índice de maturação correlacionou-se de forma significativa com a incidência de “bitter pit” após o armazenamento em AC, para as cultivares Fuji e Braeburn amostradas 20 dias antes da colheita comercial;

Apenas os frutos da cultivar Braeburn provenientes do pomar 9, colhidos na colheita comercial correlacionaram-se significativamente com a incidência de “bitter pit” após o armazenamento;

Houve grande variabilidade nos coeficientes obtidos para um mesmo parâmetro dentro de diferentes pomares da mesma cultivar;

No geral, nenhum parâmetro avaliado apresentou correlações consistentes que justifiquem sua utilização como indicativo da ocorrência de “bitter pit” após o armazenamento.

4.3. Relação da incidência de “bitter pit” com a integridade de membranas celulares de maçãs ‘Gala’, ‘Royal Gala’, ‘Fuji’ e ‘Braeburn’ submetidas ao armazenamento em atmosfera controlada.

A medida da condutividade elétrica da solução na qual os discos de polpa foram incubados pode ser usada como uma estimativa da integridade das membranas celulares (Xuan et al., 2001). O vazamento de íons, observado em discos de polpa de maçãs ‘Gala’ amostradas 20 dias antes da colheita, em três pomares, foi pequeno no momento da colheita. Embora tenha ocorrido aumento na permeabilidade das membranas dos discos de polpa, não foi verificada diferença estatística entre frutos dos diferentes pomares na colheita e após 50 dias de armazenamento em atmosfera controlada (AC) (Figura 1).

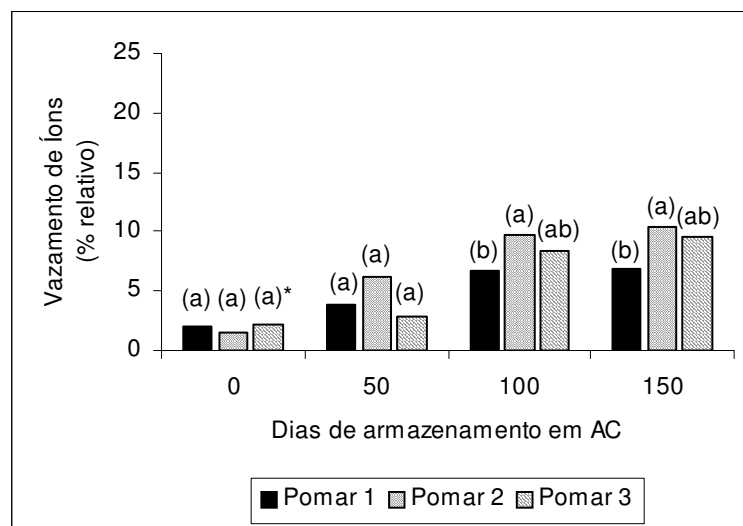


FIGURA 1: Vazamento de íons em discos de polpa de maçãs ‘Gala’ colhidas 20 dias antes da colheita comercial em três pomares e armazenada na temperatura de +0,5°C, durante 5 meses em AC (1,5kPa O₂ + 3,0kPa CO₂) mais 1 dia de exposição a temperatura de 20°C. Santa Maria, RS, 2006. *: Pomares não seguidos pela mesma letra, apresentam as médias diferentes entre si pelo teste de Duncan em nível de 5%.

Durante o período de armazenamento a permeabilidade aumentou em todos os pomares (1, 2 e 3), de acordo com o avanço no processo de amadurecimento dos frutos. Isto pode ser explicado devido à membrana plasmática, representar o principal impedimento ao vazamento de íons da célula, já que os solutos devem primeiro mover-se através do tonoplasto do vacúolo e pelo citoplasma, antes de mover-se através da membrana plasmática em direção à região apoplástica do tecido (Saltveit, 2005).

Após 150 dias de armazenamento, os discos de polpa do pomar 2 apresentaram a maior permeabilidade sem, no entanto, diferir do pomar 3, enquanto os discos de polpa dos frutos do pomar 1 apresentaram a menor permeabilidade, porém não diferindo do pomar 3. Ao comparar os resultados da permeabilidade, em maçãs ‘Gala’, aos 150 dias de armazenamento com a incidência de “bitter pit” após o armazenamento, pode-se verificar que a maior incidência de “bitter pit” nos pomares 2 e 3 foi acompanhada pela maior permeabilidade das membranas (Tabela 10 e Figura 1). De acordo com Simon (1978), tecidos deficientes em cálcio apresentam maior permeabilidade das membranas celulares, tornando os tecidos da polpa de maçãs mais suscetíveis à ocorrência de “bitter pit” (Ferguson & Watkins, 1989).

TABELA 10 - Percentual médio da incidência real de “bitter pit” observada após 5 meses de armazenamento em atmosfera controlada mais 12 dias de exposição dos frutos a 20°C, Santa Maria, 2006.

Cultivares	Pomares	Incidência (%)	
		20 dias antes da colheita	Na colheita
Gala	1	3,00*	9,00
	2	8,00	9,30
	3	10,00	9,20
Royal Gala	4	-	4,00
	5	-	2,00
Fuji	6	5,10	6,25
	7	15,35	11,20
	8	8,00	6,25
Braeburn	9	10,00	2,50
	10	8,75	1,00
	11	10,00	4,00

* Incidência: percentual médio de frutos com sintoma característico de “bitter pit”.

Nos frutos amostrados na colheita comercial não foi verificado diferença entre pomares no momento da colheita (Figura 2). Já, após 50 dias sob AC, os frutos do pomar 2 apresentaram significativo acréscimo no vazamento de íons em relação aos discos de polpa dos pomares 1 e 3, os quais não diferiram entre si. Aos 100 dias de armazenamento, embora apresentando valores superiores, os discos de polpa do pomar 2 não diferiram dos frutos do pomar 1.

Enquanto o pomar 2 praticamente manteve os mesmos valores de condutividade elétrica da solução dos 100 aos 150 dias, o pomar 1 manteve sua tendência de acréscimo na permeabilidade, igualando-se aos valores de permeabilidade dos frutos do pomar 2 (Figura 2). Por outro lado, os discos de polpa dos frutos do pomar 3 apresentaram pequeno acréscimo na permeabilidade das membranas em relação aos discos de polpa dos frutos dos pomares 1 e 2, quando comparado aos valores observados aos 100 dias.

Embora a incidência de “bitter pit”, na cultivar Gala, amostrada na colheita comercial, tenha apresentado percentuais semelhantes entre os pomares, verificou-se que o aumento da incidência está relacionado ao aumento no vazamento de íons (Tabela 10 e Figura 2). Possivelmente, isto seja ocasionado devido ao cálcio desempenhar importante papel na estrutura e integridade das membranas (Ferguson, 1984), sendo que em tecidos deficientes em cálcio há maior incidência de “bitter pit” (Battey, 1990).

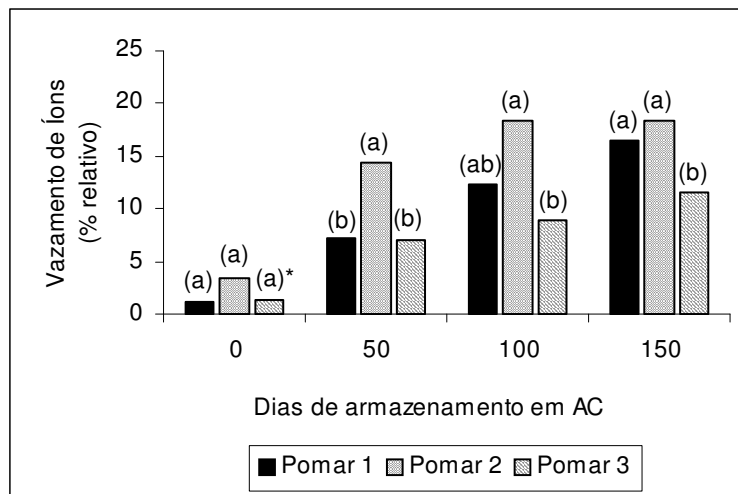


FIGURA 2: Vazamento de íons em maçãs ‘Gala’ colhida na colheita comercial em três pomares e armazenada durante 5 meses na temperatura de +0,5°C, em AC (1,5kPa O₂ + 3,0kPa CO₂) mais 1 dia de exposição a temperatura de 20°C. Santa Maria, RS, 2006. *: Pomares não seguidos pela mesma letra, apresentam as médias diferentes entre si pelo teste de Duncan em nível de 5%.

Semelhante padrão de acréscimo na permeabilidade foi observado nos discos de polpa dos frutos dos pomares 4 e 5 na cultivar Royal Gala (Figura 3). Apesar da crescente taxa verificada durante o decorrer do armazenamento, não foi verificada diferença significativa entre frutos dos distintos pomares em nenhuma das avaliações. Segundo Brady (1987), embora a compartimentação celular seja mantida com o avanço do processo de maturação de frutos, é comum o aumento na permeabilidade das membranas durante o amadurecimento.

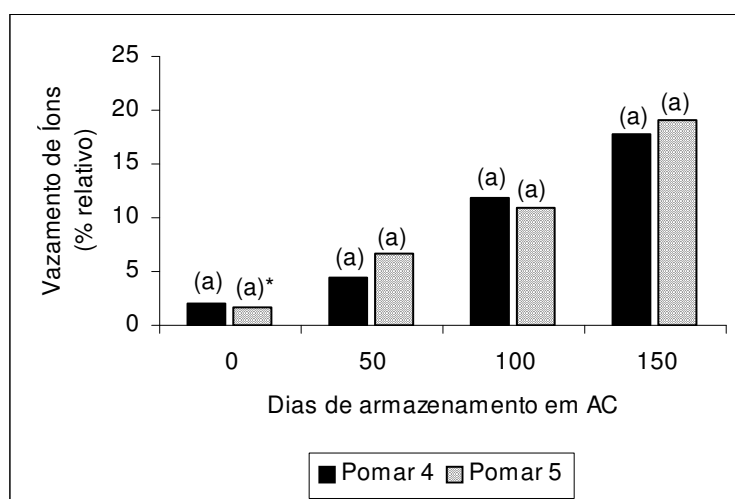


FIGURA 3: Vazamento de íons em maçãs 'Royal Gala' colhida na colheita comercial em dois pomares e armazenada na temperatura de +0,5°C, durante 5 meses em AC (1,5kPa O₂ + 3,0kPa CO₂) mais 1 dia de exposição a temperatura de 20°C. Santa Maria, RS, 2005. *: Pomares não seguidos pela mesma letra, apresentam as médias diferentes entre si pelo teste de Duncan em nível de 5%.

Após 150 dias de armazenamento em AC, valores semelhantes de vazamento de íons (aproximadamente 20%) foram verificados para discos de polpa das cultivares 'Gala' e 'Royal Gala' (Figuras 2 e 3). Entretanto, a incidência de "bitter pit" na cultivar 'Royal Gala' foi inferior a observada na 'Gala' (Tabela 10). Assim, possivelmente a maçã 'Royal Gala' apresentou alto vazamento de íons no final do período de armazenamento devido à maturação estar mais avançada em relação à cultivar Gala.

Porém, esperava-se que houvesse diferenças entre os frutos provenientes dos pomares 4 e 5, pois, enquanto o pomar 5 recebeu 9 aplicações de cálcio via foliar no período de desenvolvimento dos frutos, por três anos consecutivos (2003-2005), o pomar 4 não recebeu nenhuma aplicação de cálcio. Este resultado contraria Poovaiah (1993) que verificou que membranas de maçãs senescentes apresentaram diferentes respostas à adição de Ca²⁺ sugerindo que tratamentos com cálcio alteram a fluidez das membranas. Pulverizações com cálcio em intervalos regulares, durante a estação de crescimento dos frutos, têm sido utilizadas de forma preventiva. Entretanto, o controle é altamente variável e nem sempre completo (Ferguson & Watkins, 1989).

Apesar da cultivar Fuji apresentar menor metabolismo (Jobling & McGlasson, 1995) em relação às demais cultivares apresentadas neste estudo, foram verificados valores

semelhantes de vazamento de íons nos discos de polpa dos frutos aos 20 dias antes da colheita quando comparada à cultivar Gala no mesmo período de armazenamento (Figuras 2 e 5).

Saquet (2003) verificou significativo acréscimo no vazamento de íons, durante o armazenamento, em maçãs ‘Jonagold’ e pêras ‘Conference’ submetidas a diferentes condições de AC, sugerindo que condições limitantes à produção de ATP, alteram o metabolismo celular acarretando a falta de energia para a manutenção das membranas celulares.

Verificou-se um rápido acréscimo na permeabilidade dos discos de polpa da maçã ‘Fuji’, da colheita até os 100 dias de armazenamento em AC. Contudo, praticamente não houve acréscimo na permeabilidade dos 100 aos 150 dias, assim como não houve diferença significativa entre os valores de condutividade elétrica da solução que continha os discos de polpa dos frutos dos pomares 6, 7 e 8 (Figura 4).

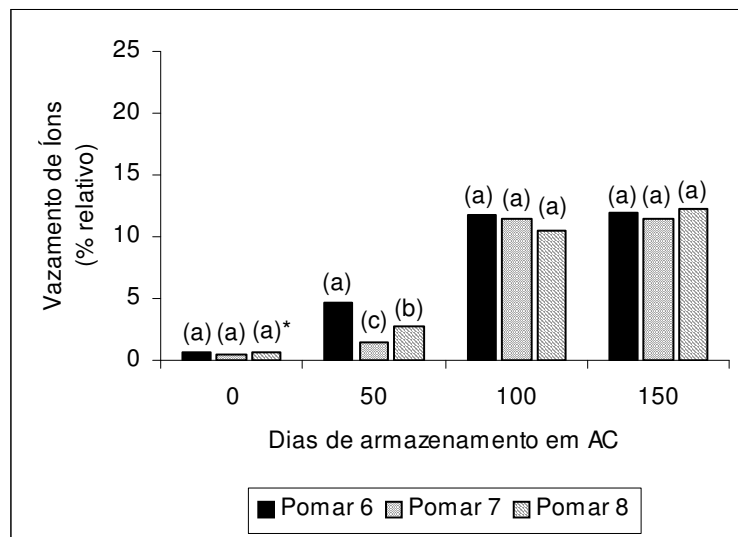


FIGURA 4: Vazamento de íons em maçãs ‘Fuji’ colhidas 20 dias antes da colheita comercial em três pomares e armazenada na temperatura de $-0,5^{\circ}\text{C}$, durante 5 meses em AC ($1,2\text{kPa O}_2 + < 0,5\text{kPa CO}_2$) mais 1 dia de exposição a temperatura de 20°C . Santa Maria, RS, 2006. *: Pomares não seguidos pela mesma letra, apresentam as médias diferentes entre si pelo teste de Duncan em nível de 5%.

Todavia, a maior incidência de “bitter pit” entre os diferentes pomares e cultivares ocorreu nos frutos do pomar 7, porém, não houve relação da elevada incidência de “bitter pit” com o vazamento de íons independente do momento da colheita (Tabela 10 e Figuras 4 e 5). Este resultado é contrário ao verificado por Delian et al. (2001) em maçãs ‘Jonathan’ provenientes de diferentes origens e condições de armazenamento.

Na avaliação realizada na colheita comercial da cv. Fuji, o percentual relativo de vazamento de íons foi baixo, aumentando progressivamente durante o período de armazenamento (Figura 5). Após 50 dias de armazenamento não houve diferença significativa entre a permeabilidade de discos de polpa dos frutos dos pomares 6, 7 e 8, amostrados na colheita comercial da cv. Fuji. No entanto, verifica-se, na Figura 5, que aos 100 e 150 dias de armazenamento em AC, o percentual relativo de vazamento de íons na polpa dos frutos do pomar 6 permaneceu significativamente maior, quando comparado aos valores verificados para os pomares 7 e 8.

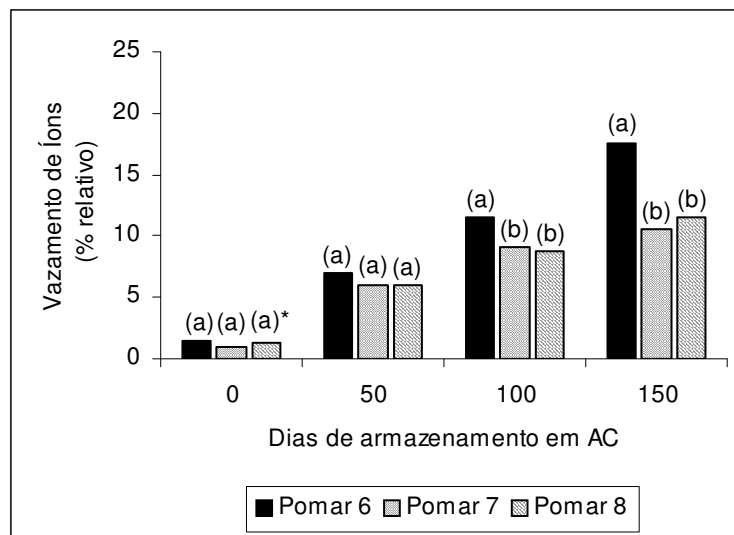


FIGURA 5: Vazamento de íons em maçãs 'Fuji' colhida na colheita comercial em três pomares e armazenada na temperatura de $-0,5^{\circ}\text{C}$, durante 5 meses em AC ($1,2\text{kPa O}_2 + < 0,5\text{kPa CO}_2$) mais 1 dia de exposição a temperatura de 20°C . Santa Maria, RS, 2006. *: Pomares não seguidos pela mesma letra, apresentam as médias diferentes entre si pelo teste de Duncan em nível de 5%.

Provavelmente, os frutos do pomar 6 apresentavam menor concentração de cálcio no tecido em relação aos frutos dos pomares 7 e 8, pois, os mesmos receberam 0, 4 e 12 aplicações de cálcio, respectivamente. Reduzidos níveis de cálcio na polpa de maçãs causam desestabilização das membranas, o que causa um colapso na permeabilidade das membranas celulares (Battey, 1990). Considerável diferença na integridade de membranas também foi verificada em maçãs e tomates tratados ou não com cálcio (Bangerth, 1973; Fuller, 1976; Mahanty & Fineran 1975), mais especificamente, com o retículo endoplasmático, tonoplasto, e plasmalema sendo primeiramente afetados (Bangerth, 1979).

Maçãs ‘Braeburn’ amostradas 20 dias antes da colheita comercial apresentaram acréscimo na permeabilidade dos discos de polpa dos frutos em cada avaliação. Todavia, nenhuma diferença foi verificada entre pomares e datas de avaliação para o percentual relativo da condutividade elétrica da polpa dos frutos (Figura 6). Em bananas, Wade (1995) observou que o vazamento de eletrólitos aumentou com o início do climatério. De certa forma, é possível verificar neste experimento que os percentuais relativos de vazamento de íons dos discos de polpa após 150 dias, foram sempre menores nos frutos colhidos antecipadamente (Figuras 1, 4 e 6) em relação aos amostrados na colheita comercial (Figuras 2, 3, 5 e 7).

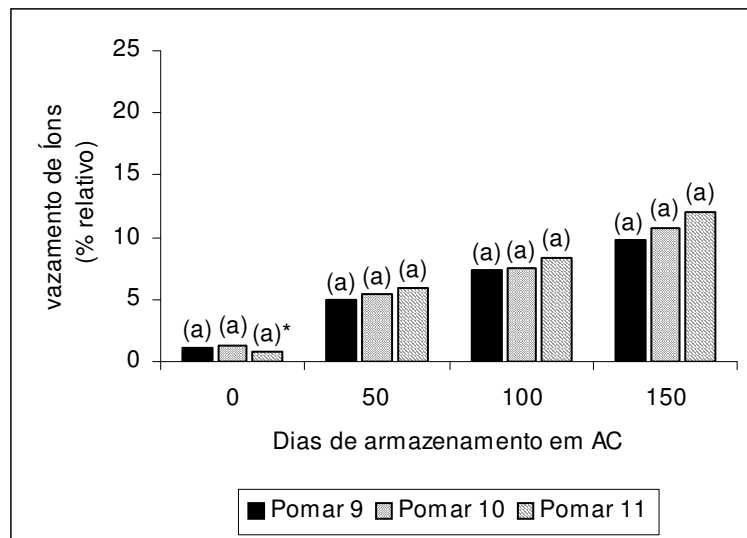


FIGURA 6: Vazamento de íons em maçãs ‘Braeburn’ colhidas 20 dias antes da colheita comercial em três pomares e armazenada na temperatura de $-0,5^{\circ}\text{C}$, durante 5 meses em AC ($1,2\text{kPa O}_2 + 3,0\text{kPa CO}_2$) mais 1 dia de exposição a temperatura de 20°C . Santa Maria, RS, 2006. *: Pomares não seguidos pela mesma letra, apresentam as médias diferentes entre si pelo teste de Duncan em nível de 5%.

Os discos de polpa dos frutos dos pomares 9, 10 e 11 amostrados na colheita comercial, apresentaram grande acréscimo na permeabilidade a partir dos 50 dias de armazenamento (Figura 7) atingindo, neste período, os maiores valores de permeabilidade entre as cultivares avaliadas (Figuras 1 a 7). Tal comportamento pode ser verificado nos pomares 10 e 11, que não diferiram entre si após 100 ou 150 dias de armazenamento, porém, apresentaram percentual relativo de vazamento de íons 10% superior ao verificado nos discos de polpa dos frutos do pomar 9. Parte desta variação pode estar mais relacionada ao diferente grau de maturação dos frutos que com o nível de cálcio que está relacionado com a incidência de “bitter pit”, já que frutos com menor incidência (pomar 10) apresentaram semelhante

percentual de vazamento de íons quando comparado ao pomar 11, onde a incidência foi três vezes superior (Tabela 10 e Figura 7). Embora Delian et al. (2001) verificaram que o vazamento de íons é maior em tecidos afetados por “bitter pit” em relação a frutos saudios, este fato não foi verificado neste experimento.

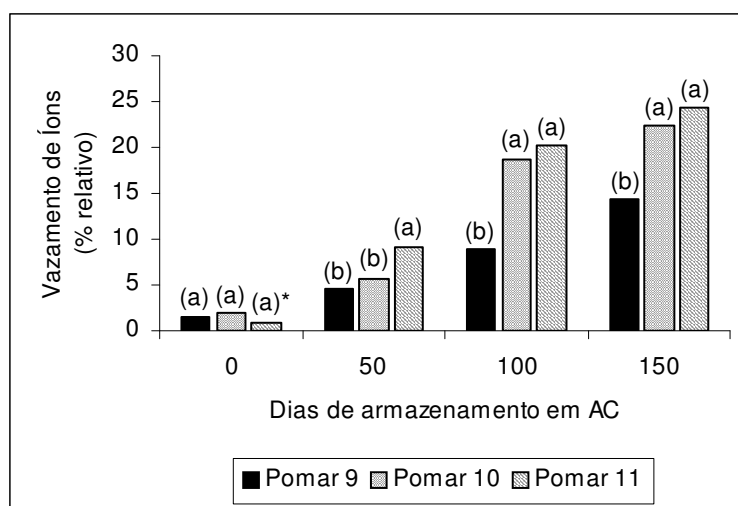


FIGURA 7: Vazamento de íons em maçãs ‘Braeburn’ colhida na colheita comercial em três pomares e armazenada na temperatura de $-0,5^{\circ}\text{C}$, durante 5 meses em AC ($1,2\text{kPa O}_2 + 3,0\text{kPa CO}_2$) mais 1 dia de exposição a temperatura de 20°C . Santa Maria, RS, 2006. *: Pomares não seguidos pela mesma letra, apresentam as médias diferentes entre si pelo teste de Duncan em nível de 5%.

Uma característica comum que acompanha a senescência é o aumento na permeabilidade de membranas (Thompson, 1988; Stanley, 1991). Acréscimo no vazamento de íons tem sido verificado em maçãs senescentes (Lurie & Ben-Arie, 1983; Lurie et al., 1987) tomates (Cote et al., 1993; Palma et al., 1995; Saltveit, 2005), mamão (Chan, 1991) e flores (Faraguer et al., 1986). Todos estes dados sugerem que mudanças na composição que determinem o decréscimo da fluidez da membrana são traduzidas em vazamento de íons e, desta maneira, reduzindo a funcionalidade das membranas celulares (Marangoni et al., 1996). O relativo curto período de armazenamento praticado neste experimento provavelmente proporcionou uma manutenção na qualidade geral dos frutos dos diferentes pomares e cultivares. Os valores aqui apresentados de condutividade elétrica da polpa, embora relativamente altos em algumas ocasiões, são inferiores a valores apresentados na literatura para frutos sob diferentes condições de armazenamento (Paliyath et al., 1984), grau de maturação (Sharom et al., 1994) e ocorrência de distúrbios fisiológicos (Xuan et al., 2001; Delian, et al., 2001; Saquet, 2003).

4.3.1. Conclusões

Para a maioria dos pomares, não há associação entre alta incidência de “bitter pit” e alto vazamento de íons no final do armazenamento, com exceção dos frutos das cultivares Gala e Braeburn amostradas 20 dias antes da colheita comercial;

A relação entre a permeabilidade de membranas e a incidência real de “bitter pit” não é válida como método de previsão da ocorrência de “bitter pit” após 5 meses de armazenamento em AC;

A permeabilidade dos discos de polpa é baixa em todas as cultivares no momento da colheita, aumentando gradativamente durante o período de armazenamento;

Frutos colhidos antecipadamente apresentam menor vazamento de íons em relação aos colhidos no momento indicado para a colheita comercial;

Há diferenças no vazamento de íons em frutos provenientes de diferentes pomares para uma mesma cultivar e entre cultivares, sendo que o acréscimo na permeabilidade está relacionado ao grau de maturação dos frutos;

Aplicação de cálcio via foliar não proporciona significativo acréscimo na estabilidade das membranas das cultivares Gala, Royal Gala e Braeburn. Enquanto na ‘Fuji’, quatro aplicações de cálcio reduz o vazamento de íons.

5. CONCLUSÕES FINAIS

Para a cultivar Gala a infiltração com magnésio e a imersão dos frutos em solução de ethephon não são métodos eficientes, por superestimar a incidência real de “bitter pit” em frutos coletados 20 dias antes da colheita comercial e subestimar a incidência em frutos coletados na colheita comercial;

Para as cultivares Fuji e Braeburn, ambos os métodos apresentaram alta capacidade predictiva para os frutos colhidos 20 dias antes da colheita comercial;

Com exceção da cultivar Royal Gala, nenhum método foi eficiente em prever a incidência de “bitter pit” em frutos amostrados na colheita comercial;

O percentual de incidência de “bitter pit” estimado pelos métodos, é sempre maior nos frutos colhidos 20 dias antes da colheita do que no momento da colheita comercial;

Nenhum parâmetro de qualidade ou índice de maturação determinado no momento da colheita é um bom indicativo da possível incidência de “bitter pit” após o armazenamento em AC;

A permeabilidade de membranas apresenta valores relativamente semelhantes para as cultivares estudadas após 5 meses de armazenamento em AC;

O vazamento de íons aumenta gradualmente durante o armazenamento, com os maiores valores nos frutos amostrados na colheita comercial;

A determinação da permeabilidade de membranas da polpa de frutos na colheita e durante o armazenamento não permite prever a ocorrência de “bitter pit” após o armazenamento para as cultivares Gala, Royal Gala, Fuji e Braeburn.

6. BIBLIOGRAFIA

ABELES, F.B. **Ethylene in plant biology**. New York: Academic. 302 p. Rockville, v. 44, p. 447-452, 1973.

ARGENTA, L.C.; SUZUKI, A. Relação entre teores minerais e frequência de bitter pit em maçã cv. Gala no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 16, n. 1, p. 267-277, 1994.

ATKINSON, C.J.; RUIZ, L.P.; MANSFIELD, T.A. Calcium in the xylem sap and the regulation of its delivery to the shoot. **Journal of Experimental Botany**, v.43, p.1315-1324, 1992.

ATKINSON, D.; WILSON, S.A. The growth and distribution of fruit tree roots: Some consequences for nutrient uptake. In: Atkinson, D., Jackson, J.E., Sharples, R.O., Waller, W.M. (Eds.), **Mineral Nutrition of Fruit Trees**. Butterworths, London, pp. 137-150. 1980

AUTIO, W. R. Rootstocks affect ripening and other qualities of 'Delicious' apples. **Journal of the American Society for Horticultural Sciences**, v. 116, n. 3, p.378-382, 1991.

BAIN, J.M.; ROBERTSON, R.N. The physiology of growth in apple fruits. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 4, p.75-91, 1951.

BANGERTH, F. Calcium-related physiological disorders of plants. **Annual Review Phytopatology**, v. 17, p. 97-122, 1979.

BANGERTH, F. Investigations upon Ca-related physiological disorders. **Phytopath. Z**, v.77, p. 20-37, 1973.

BANGERTH, F.; DILLEY, D. R.; DEWEY, D. H. Effect of postharvest calcium treatments on internal breakdown and respiration of apple fruits. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 97, n.1, p.679-682, 1972.

BANGERTH, F.; FIRUZEH, P. Der Einfluß vom 2, 3, 5- trijodbenzoesäure (Tiba) auf den Mineralstoffgehalt und die Stippigkeit von 'Boskoop' Früchten. **Z. Pflanzenkr**, v. 78, p. 93-97, 1971.

BANUELOS, G.S.; BANGERTH, F.; MARSCHNER, H. Relationship between polar basipetal auxin transport and acropetal Ca²⁺ transport into tomato fruits. **Physiologia Plantarum**, v.71, p. 321-327, 1987.

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

BATTEY, N. H. Calcium deficiency disorders of fruits and vegetables. **Postharvest News and Information**, v. 1, n. 1, p. 23-27, 1990.

BEHBOUDIAN, M.H.; MILLS, T.M.. Deficit irrigation in deciduous orchards. **Horticultural Review**, v.21, p.105-131, 1997.

BETTS, J. A.; BRAMLAGE, W. J. Uptake of calcium by apples from postharvest dips in calcium chloride solutions. **Journal of the American Society for Horticultural Sciences**, v. 102, p. 785-788, 1977.

BIR, R.E.; BRAMLAGE, W.J. Assessing ion leakage from apple fruit tissue. **HortScience**, v.8, p.175-176, 1973.

BLANPIED, G. D. Observations of the variations in the initiation of the ethylene climacteric in apples attached to the trees. **Acta Horticulturae**, n.157, p.143-148, 1985.

BLANPIED, G. D.; LITTLE, C. R. Relationships among bloom dates, ethylene climacteric initiation dates, and maturity-related storage disorders of Jonathan apples grown in Australia. **Postharvest Biology Technology**, v. 1, p. 3-10, 1991.

BLEECKER, A.B. Ethylene perception and signaling: an evolutionary perspective. **Trends in Plant Science**, v. 4, n. 7, p. 269-274, 1999.

BRADY, C.J. Fruit ripening. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 38, p. 155-178, 1987.

BRAMLAGE, W. J.; WEIS, S. A.; DRAKE, M. Predicting the occurrence of poststorage disorders of 'MacIntosh' apples from preharvest mineral analyses. **Journal of the American Society for Horticultural Sciences**, v. 110, p. 493-498, 1985.

BRAMLAGE, W.J.; WEIS, S.A.; GREENE, D.W. Observations on the relationships among seed number, fruit calcium, and senescent breakdown in apples. **HortScience**, v.5, p.351-353, 1990.

BROOKFIELD, P.L. et al. Seed number and calcium concentrations of 'Braeburn' apple fruit. **Journal of Horticultural Science**, v.71, p.265-271, 1996.

BROOM, F.D. et al. Within and between variability in fruit characteristics associated with bitter pit incidence of 'Braeburn' apple. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v.73, p.555-561, 1998.

BRUN, C.A.; RAESE, J.T.; STAHLY, E.A. Seasonal response of 'Anjou' pear trees to different irrigation regimes. II. Mineral composition of fruit and leaves, fruit disorders, and fruit set. **Journal of the American Society for Horticultural Sciences**, v.110, p.835-840, 1985.

BUNEMANN, G.; LUDDERS, P.; SIMON, P. New publications on bitter pit of apples (1972-1979). **Herausgegeben vorder Universitätsbibliothek der Technischen Universität Berlin**, v.94, n.2, 1979.

BURMEISTER, D. M.; DILLEY D. R. Characterization of Mg²⁺ induced bitter pit-like symptoms on apples: A model system to study bitter pit initiation and development. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v.1, p.1203-1207, 1993.

BURMEISTER, D. M.; DILLEY, D. R. Correlation of bitter pit on Northern Spy apples with bitter pit-like symptoms induced by Mg²⁺ salt infiltration. **Postharvest Biology and Technology**, v. 4, p. 301-301, 1994.

BURMEISTER, D. M.; DILLEY, D. R. Induction of bitter pit-like symptoms on apples by infiltration with Mg^{2+} is attenuated by Ca^{2+} . **Postharvest Biology and Technology**, v. 1, p. 11-17, 1991.

CASERO, T. et al. Relationships Between Leaf and Fruit Nutrients and Fruit Quality Attributes in Golden Smoothie Apples Using Multivariate Regression Techniques. **Journal of Plant Nutrition**, v. 27, n. 2, p. 313-324, 2004.

CHAN, H. T. Ripeness and tissue depth effects on heat inactivation of papaya ethylene-forming enzyme. **Journal of Food Science**, v. 56, p. 996-998, 1991.

CHEN, K.; HU, G.Q.; LENZ, F. Training and shading effects on vegetative and reproductive growth and fruit quality of apple. **Gartenbauwissenschaft** v.62, p.207-213, 1997

CHOI, J.H. et al. Suppression of calcium transport to shoots by root restriction in tomato plants. **Plant Cell Physiology**, v.38, p.495-498, 1997.

CHU, C. L. Use of internal ethylene concentration as a maturity index of eleven apple cultivars. **Acta Horticulturae**, n.157, p.129-134, 1984.

CLINE, J.A. et al. Calcium accumulation in Delicious apple fruit. **Journal of Plant Nutrition**, v.14, p.1213-1222, 1991.

COHEN, R.A.; GREENE, D.W. A possible relationship between fruit calcium and gibberellin A_4 response on 'Delicious' apple. **HortScience**, v.24, p.223, 1989.

CONWAY, W. S.; SAMS, C. E. Possible mechanisms by which postharvest calcium treatment reduces decay in apples. **Phytopathology**. v. 24, p.208, 1984.

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**, v. 5, p. 49-57, 1976.

COTE, F.; THOMPSON, J. E.; WILLEMOT, C. Limitation to the use of electrolyte leakage for the measurement of chilling injury in tomato fruit. **Postharvest Biology Technology**, v. 3, p. 103-110, 1993.

CRAMER, G. R.; LAÜCHLI, A.; POLITO, V.S. Displacement of Ca^{2+} by Na^+ from de plasmalemma of root cells. **Plant Physiology**, v. 79, p. 207-211, 1985.

CUTTING, J.G.M.; BOWER, J.P. The relationship between basipetal auxin transport and calcium allocation in vegetative and reproductive flushes in avocado. **Scientia Horticulturae**, v.41, p. 27-34, 1989.

DAVENPORT, J. R.; PERYEA F. J. Whole fruit mineral composition and quality of harvested 'Delicious' apples. **Journal of Plant Nutrition**, v.13, n.6, p.701-711, 1990.

DELIAN, E. et al. Characteristics of the Jonathan spot disorder in the Jonathan apple fruit. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n. 553, p. 271-272, 2001.

DRAŽETA, L. Bitter pit and vascular function in apples. **Acta Horticulturae**, n.564, p. 387-392, 2001.

DRAŽETA, L. et al. Causes and effects of changes in xylem functionality in apple fruit. **Annals of Botany**, v.93, p. 275-282, 2004.

EBERT, A.; BANGERTH, F. Veränderungen im Phytohormongehalt und mögliche Beziehungen zur Fruchtentwicklung beim Apfel. **Gartenbauwissenschaft**, v.50, p.110-113, 1985.

EKSTEEN, G. J.; GINSBURG, L.; VISAGE, T. R. Postharvest prediction of bitter pit. **The Deciduous Fruit Grower**, v. 27, n. 1, p. 16-20, 1977.

ENOCH, S.; GLINKA, Z. Changes in potassium fluxes in cells of carrot tissue related to turgor pressure. **Physiologia Plantarum**, v. 53, p. 548-552, 1981.

FAILLA, O. et al. Growth, development and mineral content of apple fruit in different water status conditions. **Journal of Horticultural Science**, v.67, p.265-27, 1992.

FALLAHI, E. et al. Effects of three rootstocks on photosynthesis, leaf mineral nutrition, and vegetative growth of 'BC-2 Fuji' apple trees. **Journal of Plant Nutrition**, v.24, p.827-834. 2001a.

FALLAHI, E. et al. The role of calcium and nitrogen in postharvest quality and disease resistance of apples. **HortScience**, v. 32, p. 831-835, 1997.

FALLAHI, E.; FIGHETTE, T. L.; WERNZ, J.G. Effects of dip and vacuum infiltrations of various inorganic chemicals on postharvest quality of apple. **Communications in Soil Sciences and Plant Analysis**, v. 18, 1017-1029, 1987.

FARAGHER, J.D.; MAYAK, S.; WATCHEL, E.J. Changes in physical properties of cell membranes and their role in senescence of rose flower petals. **Acta Horticulturae**, n.181, p.371-375, 1986.

FAUST, M. **Physiology of temperate zone fruit trees**. New York. 337p, 1989.

FAUST, M.; SHEAR, C. B. Biochemical changes during development of cork spot of apples. **Qual. Plant. Mater. Veg.** v. 19, p. 255-265, 1969.

FAUST, M.; SHEAR, C. B. Fine structure of the fruit surface of three apple cultivars. **Journal of the American Society for Horticultural Sciences**, v.97, p. 351-355, 1972.

FAUST, M.; SHEAR, C.B. Corking disorder of apples: a physiological and biochemical review. **Botanical Reviews**, New York, v. 34, p.441-469, 1968.

FERGUSON, I. B. Calcium in plant senescence and fruit ripening. **Plant Cell and Environment**, v. 7, p. 477-489, 1984.

FERGUSON, I. B. **Calcium nutrition and cellular response**. In: R.T. LEONARD, EK. HEPLAN (Eds), Calcium in Plant Growth and Development. Proc. 13th Annual Riverside

Symposium on Plant Physiology, 1990. **American Society of Plant Physiologists**, Rockville, p. 1-8, 1990.

FERGUSON, I. B.; TRIGGS, C. M. Sampling factors affecting the use of mineral analysis of apples frutis for the prediction of bitter pit. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Sciences**, v. 18, p. 147-152, 1990.

FERGUSON, I. B.; WATKINS, C. B. Bitter pit in apple fruit. **Horticultural Review**, v.11, 289-355, 1989.

FERGUSON, I.; VOLZ, R.; WOOLF, A. Preharvest factors affecting physiological disorders of fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 15, p. 255-262, 1999.

FERGUSON, I.B.; WATKINS, C.B. Cation distribution and balance in apple fruit in relation to calcium treatments for bitter pit. **Scientia Horticulturae**, v.19, p.301-310, 1983.

FERGUSON, I.B.; WATKINS, C.B. Crop load affects mineral concentrations and incidence of bitter pit in 'Cox's Orange Pippin' apple fruit. **Journal of the American Society for Horticultural Sciences**, v.117, p.373-376, 1992.

FORD, E.M.; QUINLAN, J.D. The distribution of ^{45}Ca in apple fruits when supplied to the roots at three times during the season. **Journal of Horticultural Science**, v.54, p.181-188, 1979.

FULLER, M. M. The ultrastructure of the outer tissues of cold stored apple fruits of high and low calcium content in relation to cell breakdown. **Annals of Applied Biology**, v. 83, p. 299-304, 1976.

GAJARDO, P. **Methods of bitter pit prediction in three apple cultivars**. Tesis Ing Agr, Universidade de Talca. 66p, 1996.

GALLERANI, G. et al. Lack of relationship between total calcium of apple fruit and a calcium deficiency related disorder (bitter pit): a four year report. **Acta Horticulturae**, n. 274, p. 141-148, 1990.

GARMAN, P.; MATHIS, W.T. Studies of mineral balance as related to the occurrence of Baldwin spot in Connecticut. Bull. **Connecticut Agriculture Experimental Station**, v.601, p.1-19, 1956.

GARY-BOBO, C. M. Effects of calcium on the water and non-electrolyte permeability of phospholipid membranes. **Nature**, v. 228, p. 1101, 1970.

GLENN, G.M.; POOVAIAH, B.W. Cuticular permeability to calcium compounds in 'Golden Delicious' apple fruit. **Journal of the American Society for Horticultural Sciences**, v.110, p. 192-195, 1985.

GRANELLE, G.; UGHINI, V. Leaf boron contents and bitter pit in apple. **Acta Horticulturae**, n. 274, p. 169-174, 1990.

GREENE, D.W. Reduced rates and multiple sprays of paclobutrazol control growth and improve fruit quality of 'Delicious' apples. **Journal of the American Society for Horticultural Sciences**, 116, 807–812, 1991.

GREENE, D.W.; LORD, W.J.; BRAMLAGE, W.J. Effects of gibberellins A₄₊₇ and 6-benzylamino purine on fruit set, fruit characteristics, seed content, and storage quality of 'McIntosh' apples. **HortScience**, v.17, p. 653-654, 1982.

GUELFAT-REICH, S.; BEN-ARIE, R. A comparison of the ripening effects of ethephon on Japanese plums and apricots. In: **FACTEURS ET RÉGULATION DE LA MATURATION DES FRUITS**, 1974, Paris : Colloques Internationaux du Centre National de la Recherche Scientifique, n.238,. p.105-108, 1975.

HANSEN, P. Crop load and nutrient translocation. In: Atkinson, D., Jackson, J.E., Sharples, R.O., Waller, W.M. (Eds.), **Mineral Nutrition of Fruit Trees**. Butterworths, London, p. 201-212. 1980

HANSEN, P. Blatt/Frucht-Verhältnisse, Assimilatverteilung und Fruchtentwicklung. **Erwerbsobstbau**, 20, 228–231. 1978

HANSON, J. B. The roles of calcium in plant growth. In: **Current Topics in plant Biochemistry and Physiology**. Ed. D. D. Randall, D. G. Blevins, R. Larson, v. 1, p. 1. University of Missouri, Columbia, 1983.

HARKER, E. R.; FERGUSON, I. B.; DROMGOOLE, E. I. Calcium ion transport through tissue discs of cortical flesh of apple fruit. **Physiologia Plantarum**, v.74, p.688-694, 1989.

HARTMANN, C.J.R.; DROUET, A.; MORIN, F. Ethylene and ripening of apple, pear and cherry fruit. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 25, n. 4, p. 505-512, 1987.

HAYNES, R. J.; GOH, K. M. Variation in the nutrient content of leaves and fruit with season and crown position for two apple varieties. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.31, p.739-748, 1980.

HEAD, G.C. The effect of fruiting and defoliation on seasonal trends in new root production on apple trees. **Journal of Horticultural Science**, v.44, p.175-181, 1969.

HEPLAR, P.K.; WAYNE, R.O. Calcium and plant development. **Annual Review Plant Physiology**, v.36, p.397-439, 1985.

HOLLAND, D. A. The prediction of bitter pit. In: Atkinson D.; Jackson L. E.; Sharples R. O.; Waller W. M. (Ed.), **Mineral Nutrition of Fruit Trees**. Butterworths, London, p. 380-381, 1980.

HOPFINGER, J. A.; POOVAIAH, B. W.; PATTERSON, M. E. Calcium and magnesium interactions in browning of Golden Delicious apples with bitter pit. **Scientia Horticulturae**, v. 23, p. 345-351, 1984.

HOPFINGER, J.A.; POOVAIAH, B.W. Calcium and magnesium gradients in apples with bitter pit. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.10, 57-65, 1979.

INGLE, M.; D'SOUZA, M. C. Fruit characteristics of 'Red Delicious' apples strains during maturation and storage. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 114, p.776-780, 1989.

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

JACKSON, J. E. et al. Effects of shade on the growth and cropping of apple trees. III. Effects on fruit growth, chemical composition and quality at harvest and after storage. **Journal of Horticultural Science**, v.52, p.267-282, 1977.

JACKSON, J.E.; SHARPLES, R.O.; PALMER, J.W. The influence of shade and within-tree position on apple fruit size, colour and storage quality. **Journal of Horticultural Science**, v.46, p. 277-287, 1971.

JOGLING, J. J.; MACGLASSON, W. B. A comparison of ethylene production, maturity and controlled atmosphere storage life of Gala, Fuji and Lady Williams apples (*Malus domestica*, Borkh.). **Postharvest Biology Technology**, v. 6, p. 209-218, 1995.

JONES, H. G. **Plants and microclimate. A quantitative approach to environmental plant physiology**. Second Edition. Cambridge University Press, Cambridge, 428p, 1992.

JONES, H.G.; HIGGS, K.H.; SAMUELSON, T.J. Calcium uptake by developing apple fruits. I. Seasonal changes in calcium content of fruits. **Journal of Horticultural Science**, v.58, p.173-182, 1983.

JONES, H.G.; SAMUELSON, T.J. Calcium uptake by developing apple fruits. II. The role of spur leaves. **Journal of Horticultural Science**, v.58, p.183-190, 1983.

KENDE, H. Ethylene biosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 44, p. 283-307, 1993.

KIM, W. S.; LEE, H. J. Prediction of bitter pit in 'Tsugaru' apple fruits induced by Mg²⁺ toxicity before harvest and its reduction by Ca²⁺ supply after harvest. **Journal of the Korean Society for Horticultural Science**, v. 41, n. 1, p. 7-11, 2000.

KIRKBY, E.A. Maximizing calcium uptake by plants. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.10, p. 89-113, 1979.

KUO, S.; PARKIN, K.L. Chilling injury in cucumbers (*Cucumis sativa* L.) associated with lipid peroxidation as measured by ethane evolution. **Journal of Food Science**, 54, 1488-1491, 1989.

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

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

LAU, O. L. Fruit calcium and quality of apples, the British Columbia perspective. In: **ANNUAL WASHINGTON TREE FRUIT POSTHARVEST CONFERENCE, 9**. Wenatchee, p. 34-36, 1993.

LEGGE, R. L. et al. Differential effects of senescence on the molecular organization of membranes in ripening tomato fruit. **Plant Physiology**, v. 81, p. 954-959, 1986.

LESHEM, Y. Y. **Plant membranes: A Biophysical Approach to Structure, Development and Senescence**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1992.

LESHEM, Y.Y.; HALEVY, A.H.; FRENKEL, C. **Processes and Control of Plant Senescence**. Amsterdam, Elsevier, 1986.

LESTER, G.E.; STEIN, E. Plasma membrane physicochemical changes during maturation and postharvest storage of muskmelon fruit. **Journal of the American Society for Horticultural Sciences**, 118: 223-227, 1993.

LEWIS, T. L et al. The effect of a sheltered environment on the mineral element composition of Merton Worcester apple fruits and leaves and on the incidence of bitter pit at harvest. **Journal of Horticultural Science**, v.52, p.401-407, 1977a.

LLANOS, J. L. **Predicción de bitter pit en manzanos Granny Smith**. 1993. 61p. Tese (Ing. Agr) - Universidade de Talca, Chile, 1993.

LUNARDI, R. **Suculência e solubilização de pectinas em maçãs ‘Gala’ após o armazenamento refrigerado ou atmosfera controlada**. 2003. 67p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2003.

LURIE, S.; BEN-ARIE, R. Microsomal membrane changes during the ripening of apple fruit. **Plant Physiology**, v. 73, p. 636-638, 1983.

LURIE, S.; SONEGO, L.; BEN-ARIE, R. Permeability, microviscosity and chemical changes in the plasma membrana during storage of apple fruit. **Scientia Horticulturae**, v. 32, p. 73-83, 1987.

MAHANTY, H. K.; FINERAM, B. A. The effects of calcium on the ultrastructure of ‘Cox’s Orange apples with reference to bitter pit disorder. **Australian Journal of Botany**, v. 23, p. 55-65, 1975.

MARANGONI, A.G.; PALMA, T.; STANLEY, D.W. Membrane effects in postharvest physiology. **Postharvest Biology and Technology**, v.7, p.193–217, 1996.

MARCELLE, R. D. et al. Relationship between fruit mineral composition and storage life of apples, cv. Jonagold. **Acta Horticulturae**, v. 258, 373-378, 1989.

MARCELLE, R. D. Predicting storage quality from preharvest fruit mineral analysis, a review. **Acta Horticulturae**, n.274, p.305-313, 1990.

MARINOS, N. G. Studies on sub-microscopic aspects of mineral deficiencies. I. Calcium deficiency in the shoot apex of barley. **American Journal of Botany**, v. 49, p. 834, 1962.

MARSCHNER, H. **Mineral Nutrition of Higher Plants**, Amsterdam: 2 ed. Academic Press, 1995.

MARTI, H.R.; MILLS, H.A. Calcium uptake and concentration in bell pepper plants as influenced by nitrogen form and stages of development. **Journal of Plant Nutrition**, v.14, p.1177-1185, 1991.

MARTIN, D.; LEWIS, D.L. The physiology of growth in apple fruits III: Cell characteristics and respiratory activity of light and heavy crop fruits. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.5, p.315-327, 1952.

MATURANA, R. **Depresión amarga (Bitter pit) em manzanos cv. Granny Smith. Relación com la composición nutritiva del fruto, tratamiento de calcio y el tipo de madera frutal**. 1992. 77p. Tese - Pontificia Universidad Católica de Chile, Chile, 1992.

MEHERIUK, M. et al. **Postharvest disorders of apples and pears**. Agriculture Canada Publication 1737/E, 1994. 67p.

MEYER, B. R.; PEISACH, M.; KOTZE, W. A. G. Analysis of sound and pitted tissue of apple fruit by proton-induced x-ray spectrometry. **Scientia Horticulturae**, v.10, p. 57-61, 1979.

MONGE, E.; AGUIRRE, R.; BLANCO, A. Application of paclobutrazol and GA3 to adult peach trees: effects on nutritional status and photosynthetic pigments. **Journal of Plant Growth Regulators**, v.13, p. 15-19, 1994.

MOTOSUGI, H.; GAO, Y. P.; SUGIURA, A. Rootstock effects on fruit quality of 'Fuji' apples grown with ammonium or nitrate nitrogen in sand culture. **Scientia Horticulturae**, v.61, p.205-214, 1995.

NACHTIGALL, G. R.; FREIRE, C. J. S. Previsão da incidência de "bitter pit" em maçãs através dos teores de cálcio em folhas e frutos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 20, n. 2, p. 158-166, 1998.

NUR, T. et al. Involvement of divalent cations in maintaining cell membrane integrity in stressed apple fruit tissues. **Journal of Plant Physiology**. v. 125, p. 47-60, 1986.

OBERLY, G.H. Effect of 2,3,5-triiodobenzoic acid on bitter pit and calcium accumulation in 'Northern Spy' apples. **Journal of American Society for Horticultural Science**, v.98, p.269-271, 1973.

OLLIEN, W.C.; BUKOVAC, M.J. The effect of temperature on rate of ethylene evolution from ethephon and from ethephon-treated leaves of sour cherry. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.103, n.2, p.199-202, 1978.

PALIYATH, G.; DROILLARD, M. J. The mechanism of membrane deterioration and disassembly during senescence. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 30, p. 789-812, 1992.

PALIYATH, G.; POOVAIAH, B. W. Calmodulin inhibitor in senescencing apples and its physiological and pharmacological significance. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 81, p. 2065-2069, 1984.

PALIYATH, G.; THOMPSON, J.E. Senescence-related changes in ATP-dependent uptake of calcium into microsomal vesicles from carnation petals. **Plant Physiology**, v.88, p.295-302, 1988.

PALMA, T.; MARAMGONI, A. G.; STANLEY, D. W. Environmental stresses affect tomato microsomal membrane function differently than natural ripening and senescence **Postharvest Biology and Technology**, v. 6, p. 257-273, 1995.

PERRING, M. A. Incidence of bitter pit in relation to the calcium content of apples: problems and paradoxes, a review. **Journal of the Science for Food and Agriculture**, v.37, p.591-606, 1986.

PERRING, M. A.; PEARSON, K. Residual effects of fertilizers and orchard management. **East Malling Research Station Reports**, p. 74, 1976.

PERRING, M. A.; SHARPLES, R. O. The mineral composition of apples. Composition in relation to disorders of fruit imported from the Southern Hemisphere. **Journal of the Science for Food and Agriculture**, v. 26, p. 681-689, 1975.

PERRING, M.A. The effects of environment and cultural practices on calcium concentration in the apple fruit. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.10, p.279-293, 1979.

PERRING, M.A.; CLIJSTERS, H. The chemical composition and storage characteristics of apples grown in black cloth bags. **Qual. Plant**, v. 4, p.379-393,1974.

PERRING, M.A.; JACKSON, C.H. The mineral composition of apples: calcium concentration and bitter pit in relation to mean mass per apple. **Journal of the Science for Food and Agriculture**, v.26, p.1493-1502, 1975.

PERRING, M.A.; WILKINSON, B.G. The mineral composition of apples. IV. The radial distribution of chemical constituents in apples, and its significance in sampling for analysis. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York. v.16, p.535-541, 1965.

POMA TRECCANI, C.; STANCHINA, G. **Physiological disorders of fruits**. In: 21 International Horticultural Congress. Hamburg, v. 1, p. 310-322, 1982.

POOVAIAH, B. W. Biochemical and molecular aspects of calcium action. **Acta Horticulturae**, n.326, p.139-147, 1993.

POOVAIAH, B. W. Role of calcium in prolonging storage life of fruits and vegetables. **Food Technology**, p. 86-89, 1986.

PRATT, H.K. The role of ethylene in fruit ripening. In: **FACTEURS ET RÉGULATION DE LA MATURATION DES FRUITS**, 1974, Paris : Colloques internationaux du Centre National de la Recherche Scientifique, n. 238, 1975. p. 153-160.

REID, M.S. The role of ethylene in the ripening of some unusual fruits. In: **FACTEURS ET RÉGULATION DE LA MATURATION DES FRUITS**, 1974, Paris : Colloques internationaux du Centre National de la Recherche Scientifique, n. 238, 1975. p. 177-182.

RETAMALES, J. B. et al. Bitter pit prediction in apples through Mg infiltration. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n.512, p.169-179, 2000.

RETAMALES, J. B. **Status de calcio en los tejidos vegetales: determinación y el efecto de diversas prácticas culturales**. In: Symposium Internacional Calcio en Fruticultura. Yuri, J. A.; Retamales, J. B. (Eds). Universidade de Talca. p. 46-63, 1995.

RETAMALES, J. B.; MOGGIA, C.; YURI, J. A. **Control y predicción de bitter pit en manzano**. p. 169-195. In: Avances recientes en nutrición de plantas frutales y vides. M. P. Bañados y S. Santiago, (Eds.). Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. 1993.

RETAMALES, J. B.; VALDES, C. Advances in the prediction of bitter pit in apples. **Revista Fruticola**, v. 17, p. 93-97, 1996.

RETAMALES, J. B.; VALDES, C. Chileans find better way to predict bitter pit. **Good Fruit Grower**. v.52, p.35-38, 2001.

RICHARDS, D.; ROWE, R.N. Effects of root restriction, root pruning and 6-benzylaminopurine on the growth of peach seedlings. **Annals of Botany**, v.41, p.729-740, 1977.

ROY, S. et al. Changes in the ultrastructure of the epicuticular wax and postharvest calcium uptake in apples. **HortScience**, v. 34, n. 1, p. 121-124, 1999.

SALTVEIT, M. E. Jr. Procedures for extracting and analyzing internal gas samples from plant tissues by gas chromatography. **Horticultural Science**, v. 17, p. 878-881, 1982.

SALTVEIT, M. Influence of heat shocks on the kinetics of chilling-induced ion leakage from tomato pericarp discs. **Postharvest Biology and Technology**, v. 36, p. 87-92, 2005.

SAMS, C. E. Preharvest factors affecting postharvest texture. **Postharvest Biology Technology**, v. 15, p. 249-254, 1999.

SANDERS, D. et al. Calcium at crossroads of signaling. **Plant Cell**. v. 14, p. 401-417, 2002.

SAQUET, A. A. **Untersuchungen zur Entstehung physiologischer Fruchterkrankungen sowie zur mangelhaften Aromabildung von 'Conference' Birnen und 'Jonagold' Äpfeln unter verschiedenen CA-Lagerbedingungen**. 2001. 191p. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade de Hohenheim, Stuttgart: Verlag Grauer, Alemanha, 2001.

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

SAURE, M.C. Summer pruning effects in apple: a review. **Scientia Horticulturae**, v.30, p.253-282, 1987.

SCHLEGEL, T.K.; SCHÖNHERR, J. Penetration of calcium chloride into apple fruits as affected by stage of fruit development. **Acta Horticulturae**, n. 594, p.421-425, 2002.

SCHUPP, J.R.; FERREE, D.C. Influence of time of root pruning on growth, mineral nutrition, net photosynthesis and transpiration of young apple trees. **Scientia Horticulturae**, v.42, p.299-306, 1990.

SHAROM, M.; WILLEMOT, C.; THOMPSON, J. E. Chilling injury induces lipid phase changes in membranes of tomato fruit. **Plant Physiology**, v.105, p.305-308, 1994.

SHARPLES, R.O. The number and size of fruits in relation to rootstock type, application of growth regulators, pruning, and fruit thinning. **Acta Horticulturae**, n.45, p.21-24, 1974.

SHEAR, C.B. Interaction of nutrition and environment on mineral composition of fruits. In: Atkinson, D. JACKSON, J.E., SHARPLES, R.O., WALLER, W.M. (Eds.), **Mineral Nutrition of Fruit Trees**. Butterworths, London, pp. 41–50, 1980.

SIMON, E. W. The symptoms of calcium deficiency in plants. **New Phytologist**, v. 80, p. 1-15, 1978.

SIMON, E.W. Leakage from fruit cells in water. **Journal of Experimental Botany**, v.28 p. 1147-1152, 1977.

SORIANO, J.M. Cationic mobilization in barley seedlings. I. Effect of gibberellic acid. **Phyton (Arg.)** v.51, p.25-33, 1990.

STAHLY, E.A.; BENSON, N.R. Calcium levels of 'Golden Delicious' apples as influenced by calcium sprays, 2,3,5-triiodobenzoic acid, and other plant growth regulator sprays. **Journal of the American Society for Horticultural Sciences**, v.101, p.120-122, 1976.

STANLEY, D. W. Biological membrane deterioration and associated quality losses in food tissues. **Critical Review Food Science Nutrition**, v. 30, p. 487-553, 1991.

STEENKAMP, J.; de VILLIERS, O.T. The effect of growth regulators on the uptake and distribution of calcium in Golden Delicious apples. **Agroplanta**, v.11, p. 79-81, 1979.

STEFFENS, C. A. **Maturação e qualidade pós-colheita de maçãs, 'Gala' e 'Fuji', com a aplicação pré-colheita de aminoetoxivinilglicina e ethephon**. 2003. 85p. Dissertação (Mestre em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2003.

STOLL, K.; HAUSER, F.; DAETWYLER, D. Unterschiede zwischen morphologischer fruchtentwicklung und physiologischer reifung beim apfel. **Gartenbauwissenschaft**, v. 46, p. 119-125, 1981.

STREIF, F. Möglichkeiten zur feststellung eines günstigen erntetermins. **Obstbau**, v. 5, p. 312-314, 1980.

STREIF, J. Jod-Stärke-Test zur Beurteilung der Fruchtreife bei Äpfeln. **Obst und Garten**, Stuttgart, n. 8, não paginado, 1984.

STREIF, J. Experiences with ripening tests for apples. **Acta Horticulturae**. n.138, p.63-67, 1983.

SUTTLE, J. C.; KENDE, H. Ethylene and senescence in petals of tradescantia. **Plant Physiology**, v. 62, p. 267-271, 1978.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

TERBLANCHE, J.H.; GÜRGEN, K.H.; HESEBECK, I. **An integrated approach to orchard nutrition and bitter pit control**. In: Atkinson, D., Jackson, J.E., Sharples, R.O., Waller, W.M. (Eds.), **Mineral Nutrition of Fruit Trees**. Butterworths, London, p. 71-82, 1980.

TERBLANCHE, J.H.; GURGEN, K.H.; PIENAAR, W.J. Concentration gradients of K, Ca and Mg in Golden Delicious apples with reference to bitter pit. **The Deciduous Fruit Grower**, v. 29, p.76-79, 1979.

THOMPSON, J. E. **The molecular basis for membrane deterioration during senescence**. In: L. D. Nooden; A.C. Leopold (Ed), **Senescence and Aging in Plants**. Academic Press, San Diego, 1988, p. 51-83.

TOMALA, K.; DILLEY, D.R. Some factors influencing the calcium level in apple fruits. **Acta Horticulturae**, n. 274, p.481-487, 1990.

TOMALA, W.; MYGA, W.; KOBYLINSKA, J. Attempts at predicting storage ability of apples. **Acta Horticulturae**, n.326, p.149-156, 1993.

TROMP, J. Seasonal variations in the composition of xylem sap of apple with respect to K, Ca, Mg, and N. **Z. Pflanzenphysiologie**, v.94, p.189-194, 1979a.

TROMP, J. The effect of root temperature on the absorption and distribution of K, Ca and Mg in three rootstock clones of apple budded with Cox's Orange Pippin. **Gartenbauwissenschaft**, v.43, p.49-54, 1978.

TROMP, J. The effect of temperature on growth and mineral nutrition of fruits of apple, with special reference to calcium. **Physiologia Plantarum**, v.33, p.87-93, 1975.

TROMP, J. The intake curve for calcium into apple fruits under various environmental conditions. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York. v.10, p.325-335, 1979b.

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

TROMP, J.; VAN VUURE, J. Accumulation of calcium, potassium and magnesium in apple fruits under various conditions of humidity. **Physiologia Plantarum**, v.89, p.149-156, 1993.

TRUTER, A. B.; HURNDALL, R. F. New findings on determining maturity of 'Starking', 'Torped' and 'Starkinson' apples. **The Deciduous Fruit Growers**, v. 38, p. 26-29, 1988.

VAN DER BOON, J. Prediction and control of bitter pit in apples. II Control by summer pruning, fruit thinning, delayed harvesting and soil calcium dressings. **Journal of the American Society for Horticultural Sciences**, v.55, 313-321, 1980b.

VAN DER BOON, J. Prediction and control of bitter pit in apples. I. Prediction based on mineral leaf composition, cropping levels and summer temperatures. **Journal of Horticultural Science**, v.55, p.307-312, 1980a.

VAN GOOR, B.J. Penetration of surface-applied ^{45}Ca into apple fruit. **Journal of Horticultural Science**, v. 48, p.261-270, 1973.

VANG-PETERSEN, O. Calcium application to apple trees: V. Effect of early spray application. **Tidsskr. Planteavl.** v.94, p. 33-37, 1990.

VOLZ, R. K. et al. Wood age and leaf area influence fruit size and mineral composition of apple fruit. **Journal of Horticultural Science**, v.69, p.385-395, 1994.

WADE, N. L. Membrane lipid composition and tissue leakage of pre- and early-climacteric banana fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 5, p. 139-147, 1995.

WALLER, W. M. Use of apple analysis. In: Atkinson D.; Jackson L. E.; Sharples R. O.; Waller W. M. (Ed.), **Mineral Nutrition of Fruit Trees**. Butterworths, London, p. 383-394, 1980.

WHITE P. J.; BROADLEY, M. R. Calcium in plants. **Annals of Botany**, v.92, p. 1-25, 2003.

WHITE, P. J. Calcium channels in higher plants. **Biochemica et Biophysica Acta**. v. 1465, p. 171-189, 2000.

WIENEKE, J.; FÜHR, F. Untersuchungen zur Translokation von ^{45}Ca im Apfelbaum: I. Transport und Verteilung in Abhängigkeit vom Aufnahmezeitpunkt. **Gartenbauwissenschaft**, v.38, p. 91-108, 1973.

WILKINSON, B.G. Mineral composition of apples: 9. Uptake of calcium by the fruit. **Journal of the Science for Food and Agriculture**, v.19, p.646-647, 1968.

WILLS, R. B. H et al. Prediction of bitter pit with calcium content of apple fruit. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 19, p. 513-519, 1976.

WITNEY, G.W.; HOFMAN, P.J.; WOLSTENHOLME, B.N. Effect of cultivar, tree vigour and fruit position on calcium accumulation in avocado fruits. **Scientia Horticulturae**, 44, 269-278. 1990.

WITNEY, G.W.; KUSHAD, M. M.; BARDEN, J.A. Induction of bitter pit in apple. **Scientia Horticulturae**, v.47, p.173-176, 1991.

WÓJCIK, P.; DYKI, B.; CIEŚLIŃSKI, G. Fine structure of the fruit surface of seven apple cultivars. **Journal of Fruit Ornamental and Plant Research**, 5, 119-127. 1997.

WÓJCIK, P.; MIKA, A.; CIESLINSKI, G. Effect of boron fertilization on the storage ability of apples (*Malus domestica* Borkh.). **Acta Horticulturae**, n. 485, p. 393-397, 1999.

WOLK, W. et al. Factors and time of sample collection for correlating storage potential of 'McIntosh', 'Spartan', and 'Golden Delicious' apples. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 123, p.104-109, 1998.

XUAN, H.; STREIF, J.; BANGERTH, F. Effect of boron applications on physiological disorders in 'Conference' pears during CA-storage. **Acta Horticulturae**, n. 553, p. 249-251, 2001.

YANG, S. F. Biosynthesis and action of ethylene. **HortScience**, v. 20, n. 1, p. 41-45, 1985.

YANG, S. F. The role of ethylene and ethylene synthesis in fruit ripening. In: THOMSON, W.W.; NOTHNAGEL, E.A.; HUFFAKER, R.C. (ed.) **Plant Senescence: its biochemistry and Physiology**, Rockville : ASPP, 1987.

YANG, S. F.; HOFFMAN, N. E. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology**. v. 35, p. 155-189, 1984.

ZAVALLONI, C.; MARANGONI, B.; SCUDELLARI, D. Dynamics of uptake of calcium, potassium and magnesium into apple fruit in a high density planting. **Acta Horticulturae**, n.564, p. 113-121, 2001.

APÊNDICES

APÊNDICE 1: Quadro de análise da variância referente à incidência de “bitter pit” em maçãs ‘Gala’, prevista pela infiltração dos frutos com Mg^{2+} e pela aceleração da maturação dos frutos nos diferentes pomares. Santa Maria, RS, 2006.

	Causas de Variação	G.L. ¹	Quadrados Médios
			Incidência ²
20 dias antes	Métodos	2	0.04039*
	Pomares	2	0.07145*
	Métodos x Pomares	4	0.01498ns
	Resíduo	27	0.01162
	Total	35	
	Média	-	9,95
	C.V. (%)	-	33,53
Momento da colheita	Métodos	2	0.05049*
	Pomares	2	0.01177ns
	Métodos x Pomares	4	0.01954ns
	Resíduo	27	0.00944
	Total	35	
	Média	-	4,64
	C.V. (%)	-	42,42

1: Graus de Liberdade. **2:** Unidade. (%). A unidade em percentagem (%) foi previamente transformada pela fórmula arco seno. **4:** não significativo (ns) ou significativo (*) pelo teste de F (5%).

APÊNDICE 2: Quadro de análise da variância referente à incidência de “bitter pit” em maçãs ‘Royal Gala’, prevista pela infiltração dos frutos com Mg^{2+} e pela aceleração da maturação dos frutos nos diferentes pomares. Santa Maria, RS, 2006.

Causas de Variação	G.L. ¹	Quadrados Médios
		Incidência ²
Métodos	2	0.00386ns
Pomares	1	0.01412ns
Métodos x Pomares	2	0.01161ns
Resíduo	18	0.00960
Total	23	
Média	-	2,53
C.V. (%)	-	56,06

1: Graus de Liberdade. **2:** Unidade. (%). A unidade em percentagem (%) foi previamente transformada pela fórmula arco seno. **4:** não significativo (ns) ou significativo (*) pelo teste de F (5%).

APÊNDICE 3: Quadro de análise da variância referente à incidência de “bitter pit” em maçãs ‘Fuji’, prevista pela infiltração dos frutos com Mg^{2+} e pela aceleração da maturação dos frutos nos diferentes pomares. Santa Maria, RS, 2006.

	Causas de Variação	G.L. ¹	Quadrados Médios
			Incidência ²
20 dias antes	Métodos	2	0.00135ns
	Pomares	2	0.00597ns
	Métodos x Pomares	4	0.01195ns
	Resíduo	27	0.01786
	Total	35	
	Média	-	7,11
	C.V. (%)	-	47,87
Momento da colheita	Métodos	2	0.14870*
	Pomares	2	0.01695*
	Métodos x Pomares	4	0.00488ns
	Resíduo	27	0.00477
	Total	35	
	Média	-	1,73
	C.V. (%)	-	46,58

1: Graus de Liberdade. **2:** Unidade. (%). A unidade em percentagem (%) foi previamente transformada pela fórmula arco seno. **4:** não significativo (ns) ou significativo (*) pelo teste de F (5%).

APÊNDICE 4: Quadro de análise da variância referente à incidência de “bitter pit” em maçãs ‘Braeburn’, prevista pela infiltração dos frutos com Mg^{2+} e pela aceleração da maturação dos frutos nos diferentes pomares. Santa Maria, RS, 2006.

	Causas de Variação	G.L. ¹	Quadrados Médios
			Incidência ²
20 dias antes	Métodos	2	0.00108ns
	Pomares	2	0.04647ns
	Métodos x Pomares	4	0.02670ns
	Resíduo	27	0.01495
	Total	35	
	Média	-	10,22
	C.V. (%)	-	40,63
Momento da colheita	Métodos	2	0.08159*
	Pomares	2	0.05115*
	Métodos x Pomares	4	0.05573*
	Resíduo	27	0.00997
	Total	35	
	Média	-	4,86
	C.V. (%)	-	53,16

1: Graus de Liberdade. **2:** Unidade. (%). A unidade em percentagem (%) foi previamente transformada pela fórmula arco seno. **4:** não significativo (ns) ou significativo (*) pelo teste de F (5%).

APÊNDICE 5: Quadro de análise da variância referente ao vazamento de íons da polpa de maçãs ‘Gala’, colhidas 20 dias pré-colheita e na colheita, avaliação após 0, 50, 100 e 150 dias de em AC. Santa Maria, RS, 2006.

	Causas de Variação	G.L. ¹	Quadrados Médios			
			Vazamento de Íons (% relativo) ²			
			Na colheita	50 dias	100 dias	150 dias
20 dias antes	Pomares	2	0.00018338ns	0.00366035ns	0.00150590*	0.00200765ns
	Resíduo	3	0.00127214	0.00097020	0.00016826	0.00031890
	Total	5				
	Média	-	1,92	4,29	8,26	8,94
	C.V. (%)	-	26,12	15,20	4,46	5,90
Momento da colheita	Pomares	2	0.00412762ns	0.00983640*	0.00984345*	0.00492151*
	Resíduo	3	0.00143490	0.00013533	0.00072597	0.00024038
	Total	5				
	Média	-	1,96	9,48	13,21	15,49
	C.V. (%)	-	28,45	3,77	7,32	3,84

1: Graus de Liberdade. **2:** Unidades. (%). As unidades em percentagem (%) foram previamente transformadas pela fórmula arco seno. **4:** não significativo (ns) ou significativo (*) pelo teste de F (5%).

APÊNDICE 6: Quadro de análise da variância referente ao vazamento de íons da polpa de maçãs ‘Royal Gala’, colhidas na colheita, avaliação após 0, 50, 100 e 150 dias de em AC. Santa Maria, RS, 2006.

Causas de Variação	G.L. ¹	Quadrados Médios				
		Vazamento de Íons (% relativo) ²				
		Na colheita	50 dias	100 dias	150 dias	
Momento da colheita	Pomares	1	0.00007047ns	0.00252799ns	0.00018284ns	0.00034067ns
	Resíduo	2	0.00181108	0.00015812	0.00119669	0.00010884
	Total	3				
	Média	-	1,89	5,50	11,32	18,44
	C.V. (%)	-	31,59	5,34	10,10	2,35

1: Graus de Liberdade. **2:** Unidades. (%). As unidades em percentagem (%) foram previamente transformadas pela fórmula arco seno. **4:** não significativo (ns) ou significativo (*) pelo teste de F (5%).

APÊNDICE 7: Quadro de análise da variância referente ao vazamento de íons da polpa de maçãs 'Fuji', colhidas 20 dias pré-colheita e na colheita, avaliação após 0, 50, 100 e 150 dias de em AC. Santa Maria, RS, 2006.

	Causas de Variação	G.L. ¹	Quadrados Médios			
			Vazamento de Íons (% relativo) ²			
			Na colheita	50 dias	100 dias	150 dias
20 dias antes	Pomares	2	0.00016341ns	0.00481322*	0.00019877ns	0.00008328
	Resíduo	3	0.00161489	0.00010675	0.00003901	0.00010021
	Total	5				
	Média	-	0,62	2,98	11,19	11,84
	C.V. (%)	-	55,08	6,11	1,83	2,85
Momento da colheita	Pomares	2	0.00021243ns	0.00026527ns	0.00417866*	0.01267245*
	Resíduo	3	0.00117144	0.00031488	0.00001017	0.00008668
	Total	5				
	Média	-	1,21	6,34	9,81	13,19
	C.V. (%)	-	31,81	6,98	0,91	2,23

1: Graus de Liberdade. **2:** Unidades. (%). As unidades em percentagem (%) foram previamente transformadas pela fórmula arco seno. **4:** não significativo (ns) ou significativo (*) pelo teste de F (5%).

APÊNDICE 8: Quadro de análise da variância referente ao vazamento de íons da polpa de maçãs 'Braeburn', colhidas 20 dias pré-colheita e na colheita, avaliação após 0, 50, 100 e 150 dias de em AC. Santa Maria, RS, 2006.

	Causas de Variação	G.L. ¹	Quadrados Médios			
			Vazamento de Íons (% relativo) ²			
			Na colheita	50 dias	100 dias	150 dias
20 dias antes	Pomares	2	0.00092537ns	0.00445509*	0.01611961*	0.00933196*
	Resíduo	3	0.00062522	0.00028229	0.00006372	0.00050795
	Total	5				
	Média	-	1,11	5,39	7,77	10,82
	C.V. (%)	-	20,86	6,64	1,96	4,84
Momento da colheita	Pomares	2	0.00028750ns	0.00023297ns	0.00018958ns	0.00064667ns
	Resíduo	3	0.00130835	0.00053925	0.00020261	0.00015827
	Total	5				
	Média	-	1,49	6,40	15,99	20,33
	C.V. (%)	-	35,52	9,93	5,04	3,75

1: Graus de Liberdade. **2:** Unidades. (%). As unidades em percentagem (%) foram previamente transformadas pela fórmula arco seno. **4:** não significativo (ns) ou significativo (*) pelo teste de F (5%).