



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



NATHÁLIA DE SOUZA PARREIRAS

**APLICAÇÃO DE CÁLCIO EM PRÉ-COLHEITA DE ATEMOIA 'THOMPSON':
TROCAS GASOSAS, ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS E CARACTERÍSTICAS
FÍSICO-QUÍMICAS DOS FRUTOS**

Botucatu

2017

NATHÁLIA DE SOUZA PARREIRAS

**APLICAÇÃO DE CÁLCIO EM PRÉ-COLHEITA DE ATEMOIA 'THOMPSON':
TROCAS GASOSAS, ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS E CARACTERÍSTICAS
FÍSICO-QUÍMICAS DOS FRUTOS**

Tese apresentada à faculdade de
Ciências Agrônômicas da Unesp
Câmpus de Botucatu, para obtenção
do título de Doutor em Agronomia
(Horticultura) .

Orientadora: Carmen S. Fernandes Boaro

**Botucatu
2017**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

P258a Parreiras, Nathália de Souza, 1987-
Aplicação de cálcio em pré-colheita de atemoia 'Thompson': trocas gasosas, óleo essencial de folhas e características físico-químicas dos frutos / Nathália de Souza Parreiras.- Botucatu :[s.n.], 2017
71 p. : grafs., tabs.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2017
Orientador: Carmen Silvia Fernandes Boaro
Inclui bibliografia

1. Anonacea - cultivo. 2. Cloreto de cálcio. 3. Alimentos - Conservação. 4. Plantas - Efeito dos cloretos. 5. Plantas - Efeito dos minerais. I. Boaro, Carmen Silvia Fernandes. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III. Título.

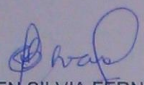
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

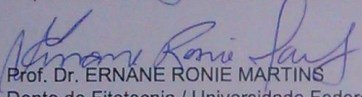
TÍTULO: APLICAÇÃO DE CÁLCIO EM PRÉ-COLHEITA DE ATEMOIA 'THOMPSON': TROCAS GASOSAS, ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS E CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS FRUTOS

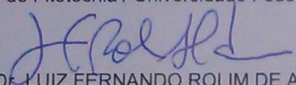
AUTORA: NATHÁLIA DE SOUZA PARREIRAS

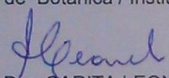
ORIENTADORA: CARMEN SILVIA FERNANDES BOARO

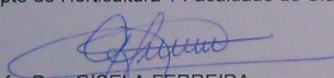
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA (HORTICULTURA), pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. CARMEN SILVIA FERNANDES BOARO
Departamento de Botânica / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP


Prof. Dr. ERNANE RONIE MARTINS
Depto de Fitotecnia / Universidade Federal de Minas Gerais


Prof. Dr. LUIZ FERNANDO ROLIM DE ALMEIDA
Depto de Botânica / Instituto de Biociências de Botucatu


Profa. Dra. SARITA LEONEL
Depto de Horticultura / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu


Profa. Dra. GISELA FERREIRA
Depto de Botânica / UNESP- Instituto de Biociências de Botucatu

Botucatu, 08 de junho de 2017.

Dedico à minha família pelo apoio, dedicação e carinho.

Por compreenderem minha ausência, e ainda assim

se fazerem tão presentes em amor.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela da vida, saúde, sabedoria e perseverança, assim como pela proteção, força e coragem;

Aos meus pais, Idely e Leda, por serem os grandes incentivadores da minha caminhada até aqui e pelo amor que dedicam a mim, mesmo que a distância.

Aos meus irmãos, Andréia, Leco, Aila e Ricardo, pela amizade e apoio.

Aos meus sobrinhos, Anna, Filipe, Ricardo, Larissa, João, Laura, Eduardo e Antônia pelo apoio e por encherem minha vida de esperança e doçura.

Aos demais familiares por sempre me incentivaram.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro concedido para a realização deste trabalho.

À Faculdade de Ciências Agrônômicas (UNESP – Campus de Botucatu), pela oportunidade de realização do curso e por toda a estrutura disponibilizada para realização do experimento de doutorado.

À Prof^a Dr^a. Carmen Silvia Fernandes Boaro, pela orientação, respeito, ética, paciência, confiança, ensinamentos transmitidos e ajuda durante todo esse processo.

À Prof^a Dr^a Regina Evangelista, pela disponibilidade de usar os seus laboratórios para realização das análises físico-químicas dos frutos.

À Prof^a Dr^a Márcia Ortiz Mayo Marques, pela ajuda e disponibilidade de usar seus laboratórios para a análise da composição química do óleo essencial.

À Prof^a Dr^a Gisela Ferreira, pela amizade, carinho e por disponibilizar seus laboratórios para realização das análises enzimáticas.

Ao Prof. Dr. Filipe Pereira Giardini Bonfim, pela amizade, carinho, respeito e por disponibilizar seus laboratórios para a extração do óleo essencial e empréstimo de material.

À Prof^a Dr^a Martha Maria Mischan, pelo auxílio prestado nas análises estatísticas.

Ao Prof. Dr. Luiz Fernando Rolim de Almeida, pelo respeito e empréstimo de equipamentos.

Ao Prof. Dr. Ernane Ronie Martins, pela ajuda, disponibilidade e por ser um exemplo de pesquisador.

À Prof^a Dr^a Sarita Leonel pelas valiosas contribuições para melhoria deste trabalho.

À Dr. Maria Aparecida Ribeiro Vieira, pela amizade, paciência, dedicação e ajuda com o capítulo referente ao óleo essencial.

Ao Sr. William Schauff, proprietário do sítio Paraizinho, por permitir que o experimento fosse conduzido em seu pomar, por acreditar no nosso trabalho e por nos receber sempre com muito carinho.

Aos funcionários, Sr. Lima, Moacir, Sr. Aureo, Acir, Maria Helena e aos motoristas da FCA.

Aos técnicos Edson, Márcia, José Eduardo.

À Jordany, pela grande amizade, ajuda incondicional e por dividir comigo grandes momentos.

Aos amigos, Fabrício Custódio, Daniela, Felipe, Carla, Luís Paulo e Samantha que participaram diretamente na realização deste trabalho e que sem os quais este não teria acontecido.

Aos colegas de pós graduação, Rafaely, Sthefani, Lucas, Sofia, Jackson, João Paulo, Ana Paula, Dayane e Fabrício Palla, pela amizade e carinho.

Aos Amigos Nath, Dilma, Cristina, Lourenço e Guilherme pelo carinho e respeito.

Aos colegas do mestrado Daniela, Giovanna, Pedro, Viviane, Joedson, Leyde, Nairane e Felipe pela amizade e carinho que fazemos questão de manter.

Agradeço a todas as pessoas que me apoiaram e incentivaram a realização deste trabalho.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Marthin Luther King)

RESUMO

O cálcio é um nutriente essencial às plantas, participando das funções estruturais da parede celular e da membrana, como contra cátion para ânions orgânicos e inorgânicos no vacúolo e desempenha papel essencial como mensageiro intracelular no citosol. A concentração de cálcio no citoplasma das células vegetais aumenta em resposta a várias condições de desenvolvimento e fatores ambientais. Essas alterações na concentração de cálcio no citosol da célula são cruciais para as respostas fisiológicas da planta. O presente estudo objetivou avaliar se a aplicação de concentrações de cloreto de cálcio afetam as trocas gasosas, atividade das enzimas antioxidantes, perfil químico do óleo essencial extraído das folhas, tamanho, firmeza e aspectos químicos ligados à qualidade dos frutos de *Annona x atemoya* Mabb. cv. 'Thompson'. O experimento foi conduzido no sítio Paraizinho localizado no município de Pardinho-SP em pomar comercial. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, sendo quatro concentrações de cloreto de cálcio (0%, 0,5%, 1,0% e 1,5% de CaCl_2) aplicados via foliar a cada 45 dias e seis blocos, com uma planta por parcela experimental. Foram avaliadas as seguintes características: trocas gasosas, enzimas antioxidantes, diâmetro e comprimento dos frutos, firmeza, pH, acidez titulável, sólidos solúveis, relação sólidos solúveis/acidez, açúcares, amido, teor de ácido ascórbico, teor de cálcio, perfil químico dos óleos essenciais. As dosagens de CaCl_2 aumentaram a assimilação de CO_2 , a eficiência no uso da água, a eficiência de carboxilação, a firmeza e a acidez dos frutos, reduzindo os teores de ácido ascórbico e modificando o perfil químico dos óleos essenciais.

Palavras chaves: *Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L., *Annona x atemoya* Mabb, metabolismo secundário, Ca^{2+} , nutrição mineral.

ABSTRACT

Calcium is an essential nutrient for plants, participating in the structural functions of the cell wall and membrane, as against cation for organic and inorganic anions in the vacuole and plays an essential role as a messenger in intracellular cytosol. The concentration of calcium in the cytoplasm of plant cells increases in response to several conditions of development and environmental factors. These changes in the concentration of calcium in the cytosol of the cell are crucial to the physiological responses of the plant. The present study aimed to evaluate the implementation of different calcium concentrations in gas exchange, chemical profile of essential oil extracted from the leaves, size, firmness and chemical aspects linked to the quality of the *Annona x atemoya Mabb*. The experiment was conducted at the Paraisinho site located in the municipality of Pardinho-SP in a commercial orchard. The experimental design was in randomized blocks, being 4 concentrations of calcium chloride (0%, 0.5%, 1.0% and 1.5% CaCl₂) applied via by foliar every 45 days and six replications of a plant. The effect of the treatments was evaluated by assessing the following: gas exchange, diameter and length of fruits, firmness, pH, soluble solids, titratable acidity, soluble solids/acidity, sugars, starch, ascorbic acid content and chemical profile of essential oils. The levels of CaCl₂ increased CO₂ assimilation, water use efficiency, carboxylation efficiency, the firmness and the acidity of the fruit, reducing the levels of Ascorbic acid and modifying the chemical profile of essential oils.

Key words: *Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L., *Annona x atemoya Mabb*, secondary metabolism, calcium chloride, mineral nutrition.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	17
CAPITULO 1 : TROCAS GASOSAS DE PLANTAS DE ATEMOIA 'THOMPSON' PULVERIZADAS COM CLORETO DE CÁLCIO	21
RESUMO.....	21
SUMMARY	21
INTRODUÇÃO	21
METODOLOGIA.....	23
Trocas gasosas	24
Atividade das enzimas peroxidase (POD), superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT).....	25
Análise estatística	27
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
Trocas Gasosas	27
Atividade das enzimas peroxidase (POD), superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT).....	36
REFERÊNCIAS.....	39
CAPÍTULO 2: QUALIDADE DOS FRUTOS DE ATEMOIA 'THOMPSON' TRATADOS EM PRÉ-COLHEITA COM CLORETO DE CÁLCIO.....	43
RESUMO.....	43
SUMMARY	43
INTRODUÇÃO	43
MATERIAL E MÉTODOS	44
Diâmetro e comprimento de frutos	45
Pós-colheita.....	45
Firmeza	46
Potencial hidrogeniônico (pH)	46
Acidez titulável (AT)	46

Sólidos solúveis (SS).....	46
Ratio (SS/AT).....	46
Açúcares e amido.....	47
Determinação de ácido ascórbico.....	47
Determinação dos teores de cálcio.....	47
Análise estatística.....	47
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
REFERÊNCIAS.....	55
CAPÍTULO 3: COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE ATEMOIA 'THOMPSON' PULVERIZADAS COM CLORETO DE CÁLCIO.....	58
RESUMO.....	58
SUMMARY.....	58
INTRODUÇÃO.....	59
MATERIAL E METODOS.....	60
REFERÊNCIA.....	66
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	68
REFERÊNCIAS.....	68

INTRODUÇÃO

Annonaceae é uma família antiga de plantas, com idade estimada entre 62 e 110 milhões de anos, distribuindo-se principalmente em regiões tropicais e subtropicais (STEVENS, 2011; PIRIE; DOYLE, 2012). Foi catalogada em 1789 por Jussieu (HUTCHINSON, 1974) e agrupada na classe Magnoliopsida, subclasse Magnoliidae e ordem Magnoliales, inclui muitos gêneros, possuindo cerca de 2000 a 2300 espécies, (MAAS, et al., 2001; FRANNA; SUFFREDINI; 2002; GONÇALVES, et al., 2017).

As espécies pertencentes a esta família, de maneira geral, são de hábito arbóreo, raramente arbustos, subarbustos ou lianas; apresentam folhas alternas, dísticas, simples, sem estípulas, margem inteira. As flores das anonáceas podem ser isoladas ou reunidas em inflorescências, hemicíclicas, hermafroditas, diclamídeas com perianto diferenciado no cálice e na corola. Em geral, são trímeras e carnosas, com estames numerosos, dispostos em forma espiralada, o ovário é súpero com um a muitos óvulos. Os frutos podem ser apocárpicos ou sincárpicos carnosos e indeiscentes ou deiscentes (JOLY, 2002; SOUZA; LORENZI, 2008;). Na família Annonaceae o principal gênero botânico é o *Annona*, com 118 espécies, 108 originárias da América Tropical, 10 da África Tropical e apenas *Annona glabra* L. é relatada nesses dois continentes (SÃO JOSÉ et al., 2014).

As anonáceas apresentam importância econômica por seus frutos terem sabor adocicado pronunciado e aroma característico, sendo consumido 'in natura' ou processado (TOKUNAGA, 2005) e pela extração de metabólitos secundários como os óleos essenciais (SIQUEIRA et al., 2011) e alcaloides (SIMÕES e SCHENKEL, 2004; SILVA et al., 2007;).

A atemoia é um híbrido resultante do cruzamento entre *Annona cherimola* Mill. e *A. squamosa* L. que possui características importantes, como sabor doce ligeiramente acidulado e aromático. Além disso, possui menos sementes que a fruta-do-conde, apresentando maior produtividade (MOSCA; LIMA, 2003; SILVA et al., 2009), características de interesse comercial, fazendo com que seu consumo esteja em franco crescimento. Os frutos de atemoia são compostos por carpelos agregados, sem forma definida podendo ser, cônico, cordiforme, liso ou com

protuberâncias. O amadurecimento acontece de quatro a seis meses a partir do florescimento, os frutos apresentam massa entre 200 e 450g, polpa branca de sabor adocicado e quando maduros variam sua coloração do esverdeado ao amarelo-pálido (MANICA, 2003; MOSCA et al., 2006).

No Brasil, existem em média 1.200 ha de atemoia cultivados, sendo a maior parte (44%), encontrada no Estado de São Paulo, seguido do Paraná, Minas Gerais e Bahia, cada um deles com aproximadamente 18% da produção (SILVA; MUNIZ, 2011). O principal mercado consumidor é o Estado de São Paulo, onde os frutos são destinados ao consumo “in natura” (FIRMINO et al., 2012). Esta espécie representou 54% das anonáceas comercializadas em 2012 na CEAGESP (SIEM, 2013; WATANABE, et al., 2014). Segundo Watanabe¹ (2015) 3302,31 t de atemoia foram comercializados na CEAGESP em 2014, com movimentação de quase 16 milhões de Reais.

A crescente demanda do mercado impõe a necessidade de pesquisa para o desenvolvimento de técnicas apropriadas de manejo e conservação pré e pós-colheita da atemoia. Devido ao papel desempenhado pelo cálcio nas plantas, a pulverização com cálcio é bastante utilizada em frutíferas.

O cálcio desempenha função estrutural, fisiológica e bioquímica, estando envolvido em numerosos processos, entre eles, constituição da lamela média, formação da parede celular, regulação da funcionalidade da membrana plasmática e ativação de vários sistemas enzimáticos, contribuindo assim, para o adequado desenvolvimento das plantas (MENGEL; KIRKBY, 2000). A função do Ca^{2+} como mensageiro secundário está baseada nas concentrações muito baixas de Ca^{2+} livre no citosol (0,1 a 0,2 μM) e sua elevada concentração em outros compartimentos (BUSH, 1995). Assim em resposta a vários sinais, como hormônios, luz, estresse abiótico e ataque de patógenos (SANDERS et al., 1999, REDDY, 2001, RUDD; FRANKLIN TONG, 2001, WHITE; BROADLEY, 2003) a concentração do cálcio no citosol aumenta. Para o íon tornar-se potente elemento efetador na célula ele deve ligar-se e alterar a conformação de proteínas que possibilitam a modulação

¹Hélio Satoshi Watanabe Engenheiro Agrônomo do Centro de Qualidade em Horticultura da CEAGESP. Comunicação pessoal, 2015.

de processos de respostas bioquímicas e fisiológicas. Entre as proteínas mais comuns ligantes ao Ca^{2+} encontram-se a calmodulina (CaM) e as proteínas quinases dependentes de Ca^{2+} . Desse modo, há evidências de que o Ca^{2+} atua como mensageiro secundário, na medida em que ele ativa a CaM gerando uma resposta fisiológica (INÁCIO et al., 2011), que vai desde o controle de transcrição e sobrevivência celular até a liberação de sinais químicos. Além disso, esse elemento está envolvido na estabilidade e agregação das moléculas de clorofila ao complexo antena nas folhas (RAMALHO et al. 1995 citado por DE FAZIO, 2011) .

Considerando os frutos, o cálcio é um elemento químico de grande importância, afetando a qualidade do produto final e seu tempo de armazenamento após a colheita. Há relação direta entre o conteúdo de cálcio nos frutos e o amolecimento, firmeza e tempo de vida útil de prateleira. Quando o conteúdo de cálcio no fruto é baixo, o metabolismo respiratório aumenta e acelera a maturação e a senescência (PRATELLA, 2003; NATALE, et al., 2005).

A nutrição mineral é importante, em especial, nos processos de fotossíntese e respiração, devido aos elementos minerais serem componentes de enzimas e pigmentos, ou ainda, ativadores diretos do processo fotossintético (LARCHER, 2006). A fotossíntese é um processo essencial à vida das plantas e melhorar a sua eficiência é uma das formas de obter melhores produções em plantas cultivadas (LAWSON et al., 2012; ZHU et al., 2012). A produtividade é influenciada por características morfológicas e fisiológicas dos órgãos fotossintetizantes, conhecidos como fontes, e dos órgãos consumidores dos produtos fotossintetizados, conhecidos como drenos. Toda a produção da biomassa depende da atividade fotossintética da fonte, mas a assimilação de CO_2 é apenas um dos fatores que influenciam o desenvolvimento vegetal (FOYER; GALTIER, 1996). Por isso, torna-se cada vez mais importante estudar a fisiologia da fonte, sendo uma forma, a avaliação de trocas gasosas. Vale ressaltar que, em estudos visando aumento de produtividade, é importante buscar informações sobre a assimilação de CO_2 e eficiência do uso da água durante essa assimilação (BRANDÃO FILHO et al., 2003).

O metabolismo especializado (secundário), por meio do qual, diferentes metabólitos secundários são sintetizados, entre eles o óleo essencial, é altamente

dependente dos compostos produzidos no metabolismo primário e ambos são influenciados por diversos fatores ambientais. Os estímulos decorrentes do ambiente, no qual a planta se encontra, podem redirecionar a rota metabólica, ocasionando a biossíntese de diferentes compostos. Assim, idade e estágio de desenvolvimento e fatores abióticos como luminosidade, temperatura, pluviosidade, nutrição, época e horário de coleta, bem como técnicas de colheita e pós – colheita podem apresentar correlações entre si, não atuando isoladamente e exercendo influência conjunta no metabolismo secundário (MORAIS, 2009). O cálcio em solução nutritiva ou aplicado na parte aérea influencia a composição química e os teores de óleo essencial de diversas plantas (DORDAS, 2009, DZIDA, 2010 EUNJOO; KUENWOO, 2000).

Com base no acima exposto, soluções de cloreto de cálcio pulverizadas na parte aérea das plantas de atemoia ‘Thompson’ podem influenciar aspectos dos metabolismos primário e especializado e atributos físico-químicos dos frutos.

O presente estudo objetivou avaliar se a aplicação de concentrações de cloreto de cálcio alteram as trocas gasosas, atividade das enzimas peroxidase, superóxido dismutase e catalase, tamanho, firmeza e aspectos químicos ligados a qualidade dos frutos e o perfil químico do óleo essencial extraído das folhas de *Annona x atemoya Mabb* cv ‘Thompson’.

CAPITULO 1 : TROCAS GASOSAS DE PLANTAS DE ATEMOIA 'THOMPSON' PULVERIZADAS COM CLORETO DE CÁLCIO

RESUMO

O estudo avaliou os efeitos do cloreto de cálcio sobre as trocas gasosas de atemoia 'Thompson' em condições de campo, determinando-se assimilação de CO₂, transpiração, condutância estomática, eficiência do uso da água, eficiência de carboxilação e concentração de CO₂ na folha. A atividade das enzimas peroxidase (POD), superóxido dismutase (SOD) e Catalase (CAT) também foram avaliadas em folhas concomitante às quatro pulverizações de solução aquosa de CaCl₂ 0%, 0,5%, 1,0% e 1,5% nas plantas de atemoia, a cada 45 dias, por um período de avaliação igual a 210 dias. CaCl₂ a 1,0% aumentou a eficiência das trocas gasosas e a atividade da enzima SOD em plantas, demonstrando uma vez mais a ação do cálcio no metabolismo vegetal.

SUMMARY

The study evaluated the effects of calcium chloride on the gas exchange of Atemoya 'Thompson' in field conditions, investigating the following indexes: CO₂ assimilation, transpiration, stomatal conductance, water use efficiency, carboxylation efficiency and CO₂ concentration on the sheet. Aqueous CaCl₂ solution was sprayed on the plants of Atemoya, every 45 days, on the following concentrations, 0%, 0.5%, 1.0% and 1.5% CaCl₂, during of 210 days. The 1.0% CaCl₂ has increased the efficiency of gas exchange and SOD enzyme activity in plants, demonstrating once more the action of calcium in plant metabolism.

INTRODUÇÃO

A atemoia é um híbrido, resultado do cruzamento entre a fruta-do-conde ou pinha ou ata (*A. squamosa* L.), espécie doadora de pólen, e a cherimoia (*A. cherimola* Mill.), receptora. Como resultado desse cruzamento interespecífico o híbrido atemoia, é constituído do prefixo “ata” do nome comum da *Annona squamosa* e o sufixo “moia” derivado da cherimóia (SANEWSKI, 1991). Utilizado mundialmente tanto na indústria alimentícia quanto para o consumo “in natura” (SÃO JOSÉ et al., 2014), a qualidade do fruto de atemoia está diretamente

relacionada ao valor de mercado que receberá ao ser comercializado (WATANABE et al., 2014).

A prática agrícola objetiva maximizar a eficiência fotossintética das culturas e canalizar seus produtos em produtividade e qualidade da produção final. Neste sentido o equilíbrio entre fonte e dreno se torna fundamental. Essa relação pode ser alterada, por meio de fatores exógenos que aumentam ou diminuem a força da fonte (taxa fotossintética da cultura) ou a força de dreno (demanda por assimilados) (DUARTE; PELI, 2010).

Toda a produção de biomassa depende da atividade fotossintética da fonte e a fotoassimilação constitui mais de 90% do material seco da planta. Uma parcela destes assimilados é utilizada durante o crescimento, tornando-se biomassa, e outra parte, é oxidada na respiração e serve como fonte de energia para o crescimento e função de processos biológicos (PLAXTON, PODESTA et al., 2006; BARON, et al., 2014).

O cálcio tem papel fundamental na fisiologia das células vegetais como regulador de muitos processos fisiológicos e bioquímicos em resposta a vários fatores como, estresse abiótico, luminosidade, disponibilidade hídrica, sinais hormonais, ataques de pragas e doenças, (BUSH, 1995; BOWLER; FLUHR, 2000) e nutrição mineral (LIU et al., 2014). Esses fatores muitas vezes levam ao aumento do Ca^{2+} livre na planta, evocando a expressão gênica e ativando uma série de respostas bioquímicas que permitem a elas se adaptarem ao ambiente (MONROY et al., 1993). Sabe-se que o CaCl_2 contribui para a manutenção da estrutura e função das membranas das células vegetais (MINORSKY, 1985).

As enzimas antioxidantes são um importante sistema de desintoxicação de espécies reativas de oxigênio (EROS) nas células vegetais. Portanto, um aumento induzido da atividade enzimática antioxidante pode ser considerado um mecanismo importante na estratégia de defesa celular contra o estresse oxidativo (SHI et al., 2006). Estudos tem demonstrado que a deficiência de Ca^{2+} pode influenciar a atividade de compostos do sistema antioxidativo (SCHMITZ-EIBERGER et al., 2002).

Estudos com aplicação desse sal inorgânico demonstram que o cálcio desempenha importante função na regulação da fotossíntese em trigo (YOU et al., 2002), arroz paddy (LIANG; Wang 2001) e tabaco (YI; SUN 2004).

A redução do CO₂ a carboidratos depende do consumo de NADPH e ATP sintetizado pelas reações luminosas da fotossíntese. A fixação do carbono acontece no estroma dos cloroplastos pela via do Ciclo de Calvin-Benson-Bassham (CBB). O ciclo CBB prossegue em três etapas principais: carboxilação, redução e regeneração. Na primeira fase, o dióxido de carbono é ligado enzimaticamente à sua molécula aceptora, ribulose 1,5-bisfosfato (Rubisco), resultando na formação de dois 3-fosfoglicerato (PGA). No estágio de redução, 3-PGA é fosforilado e reduzido pelo consumo de ATP e NADPH, produzindo 3-fosfato de gliceraldeído (G3P). As trioses fosfato formadas são usadas na fase final para regenerar a Rubisco ou entrar na via de biossíntese de amido ou sacarose (TAIZ; ZEIGER et al., 2013). Para manter o equilíbrio entre essas vias, o fluxo metabólico é regulado por meio de atividade enzimática (FRIDLAND, et al., 1999). Acredita-se que o cálcio seja importante para a regulação de várias enzimas chave, incluindo frutose 1,6-bisfosfatase (FBPase) e sedoheptulose 1,7-bisfosfatase (SBPase) do ciclo redutor de pentose fosfato. Um dos fatores que afeta a atividade destas enzimas é a concentração de íons Ca²⁺ no estroma, que pode elevar ou reduzir o nível de expressão destas duas enzimas do CBB impactando diretamente a fotossíntese (GARDEMANN et al., 1983; CHUECA et al., 2002; HOCHMAL et al., 2015).

Sendo a fotossíntese um processo influenciado pelas condições ambientais e o cálcio, elemento essencial envolvido na resposta a sinais do ambiente, o presente estudo objetivou avaliar os efeitos da aplicação de CaCl₂ nas trocas gasosas de plantas de atemoia cv. 'Thompson' e a sua influência na atividade das enzimas Peroxidase (POD), Super oxído dismutase (SOD) e Catalase (CAT).

METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no sítio Paraizinho em pomar comercial de *Annona x atemoya Mabb* cv Thompson com treze anos de formação, localizado a 23°06'28.3"S e 48°22'44.4"W, 931m de altitude, no município de Pardinho – SP. Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é classificado como Cwa, que corresponde a uma região com clima subtropical de inverno seco (com

temperaturas inferiores a 18°C) e verão quente (com temperaturas superiores a 22°C), que em 2016 apresentou índice pluviométrico anual de 1444,1 mm, temperatura média de 19,3°C, com média das mínimas de 13,2°C e média das máximas de 25,4°C (CEPAGRI).

O experimento foi instalado em parcelas subdivididas no tempo, esquema fatorial 4x5, com quatro concentrações de CaCl₂, cinco épocas de avaliações e três repetições constituídas de uma planta. O espaçamento no pomar foi de 2,0m entre plantas e 4,0m entre linhas. Direcionou-se a aplicação dos tratamentos por toda copa com auxílio de pulverizador costal, utilizando a mistura de cloreto de cálcio (CaCl₂) g ml⁻¹ com 0,15 ml L⁻¹ de espalhante adesivo a base de polioxietileno aquil fenol éter. A primeira aplicação de CaCl₂ foi realizada quando as plantas se encontravam em plena floração, sendo repetidas a cada 45 dias até o momento de colheita dos frutos, 210 dias depois. Os tratamentos estudados foram iguais a 0,0% (Testemunha), 0,5%, 1,0% e 1,5% de CaCl₂. Foram utilizados dois litros de calda por planta.

Quadro 1- Temperatura (°C), umidade relativa do ar (%) e precipitação(mm), durante a condução do experimento com plantas de atemoia 'Thompson', entre a primeira aplicação de cloreto de cálcio e a última avaliação, realizada após 180 dias. Botucatu-SP, 2017.

	Período de avaliação						
	Dez 15	Jan 16	Fev 16	Mar 16	Abr 16	Mai 16	Jun 16
Temperatura do ar (C°)	22,4	22,4	23,5	22,9	23,1	17,6	15,8
Umidade relativa do ar (%)	82,5	81,1	80,3	79,3	66,8	81,6	73,8
Precipitação (mm)	9,5	14,6	11,7	4,1	0,9	4,9	4,2

Trocas gasosas

As trocas gasosas foram realizadas segundo metodologia seguida por Búfalo (2011), Amaro (2014) e Campos (2014). As avaliações foram realizadas em folhas totalmente expandidas, sadias e sem sinais de senescência, entre 9h e 11h em dia ensolarado, 30 dias depois de cada pulverização, selecionando-se 3 plantas (repetições) por tratamento. Utilizou-se equipamento com sistema aberto portátil de

fotossíntese com analisador de CO₂ e vapor d'água por radiação infravermelha ("Infra Red Gas Analyser – IRGA", modelo GFS-3000 - Walz). As medidas foram estimadas a partir da diferença entre a concentração de CO₂ e vapor d'água do ar da referência (valor presente na câmara sem a folha) e da amostra (valor com a folha presente na câmara), obtendo-se as concentrações de vapor d'água e CO₂ que foram liberados (transpiração – vapor d'água) e assimilados (assimilação de CO₂) pelos estômatos das folhas.

Foram avaliadas taxa de assimilação de CO₂ (A, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), taxa de transpiração (E, $\text{mmol vapor d'água m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), condutância estomática (gs, $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e concentração interna de CO₂ na folha (C_i, $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}\text{ar}$), adotando-se 1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (PAR) de luminosidade. Essas variáveis foram calculadas pelo programa de análise de dados do equipamento, que utiliza a equação geral de trocas gasosas de Von Caemmerer e Farquhar (1981).

A eficiência do uso da água (EUA, $\mu\text{mol CO}_2 (\text{mmol H}_2\text{O})^{-1}$) foi determinada pela relação entre a taxa de assimilação de CO₂ e a taxa de transpiração (A/E) e a eficiência instantânea de carboxilação da enzima ribulose 1, 5-difosfato carboxilase (Rubisco) foi calculada pela relação da taxa de assimilação de CO₂ e concentração interna de CO₂ na folha (A/C_i), conforme descrito por Zhang et al. (2001).

Atividade das enzimas peroxidase (POD), superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT)

Utilizou-se delineamento experimental em parcelas subdivididas no tempo, esquema fatorial 4x3, com quatro concentrações de CaCl₂, três épocas de avaliações e seis repetições constituídas de uma planta.

A extração enzimática foi realizada segundo metodologia proposta por Kar e Mishra (1976). Foram utilizados 300mg de folhas frescas congeladas e trituradas em almofariz com nitrogênio líquido. Em seguida, homogeneizou-se o material vegetal em 4mL de tampão fosfato de potássio (0,1M, pH 6,8) gelado e centrifugou-se a 10000 x g por 10 minutos a 4°C. Separou-se o sobrenadante e o extrato obtido foi separado em microtubos armazenados a -20°C para posterior determinação.

A atividade da superóxido dismutase (SOD) foi determinada de acordo com metodologia proposta por Beauchamp e Fridovich (1971). O sistema de reação foi

preparado ao abrigo da luz e constituído por 50 μ L de extrato enzimático e 2950 μ L de solução tampão fosfato de potássio (50 mmol L⁻¹, pH 7,8) + metionina (13 mmol L⁻¹) + cloreto de azul de p-nitrotetrazólio (NBT, 75 μ mol L⁻¹) + riboflavina (2 μ mol L⁻¹) + EDTA (100 nmol L⁻¹), totalizando volume igual a 3000 μ L. A reação foi conduzida à temperatura ambiente sob iluminação por 5 minutos. A inibição na redução fotoquímica do NBT foi avaliada em espectrofotômetro a 560nm.

A atividade da peroxidase (POD) foi determinada de acordo com metodologia proposta por Teisseire e Guy (2000). O sistema de reação foi composto por 30 μ L de extrato enzimático, 500 μ L de tampão fosfato de potássio (50 mmol L⁻¹, pH 6,5), 250 μ L de pirogalol (1,2,3-benzenotriol 20 mmol L⁻¹) e 220 μ L de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 5 mmol L⁻¹, totalizando volume igual a 1000 μ L. A reação foi conduzida à temperatura ambiente por 5 minutos. A formação de purpurogalina foi medida em espectrofotômetro a 430nm. Para calcular a atividade específica da enzima, foi utilizado o seu coeficiente de extinção molar (2,5 mmol L⁻¹ cm⁻¹), e a atividade foi expressa em μ mol de purpurogalina min⁻¹ mg⁻¹ de proteína.

A atividade da catalase (CAT) foi determinada de acordo com metodologia proposta por Peixoto et al. (1999). O sistema de reação foi composto por 100 μ L de extrato enzimático e 1900 μ L de solução tampão fosfato de potássio (50 mmol L⁻¹, pH 7,0) suplementado com peróxido de hidrogênio (H₂O₂, 12,5 mmol L⁻¹), totalizando um volume final de 2000 μ L. A reação foi conduzida à temperatura ambiente por 80 segundos. As leituras de absorvância foram realizadas em espectrofotômetro a 240nm aos 0 e 80 segundos, a fim de verificar quanto ocorreu decréscimo na absorvância. Para calcular a atividade específica da enzima, foi utilizado o coeficiente de extinção molar do H₂O₂ (39,4mmol L⁻¹ cm⁻¹), e a atividade foi expressa em nmol de H₂O₂ consumido min⁻¹ mg⁻¹ proteína.

A quantificação das proteínas totais no extrato, necessária para o cálculo das enzimas SOD, POD e CAT foi determinada de acordo com metodologia proposta por Bradford (1976). O sistema de reação foi composto por 100 μ L de extrato enzimático e 5000 μ L reativo de Bradford. A reação foi conduzida à temperatura ambiente por 15 minutos, e a leitura de absorvância realizada em espectrofotômetro a 595nm. A curva padrão utilizou solução de caseína.

Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F), utilizando-se teste Tukey 5% de probabilidade para comparar concentrações de CaCl_2 dentro das diferentes épocas e análise de regressão, quando as épocas foram avaliadas nas diferentes concentrações de cálcio.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Trocas Gasosas

As trocas gasosas das plantas de atemoia 'Thompson' foram influenciadas pelas concentrações de CaCl_2 pulverizadas em sua copa. De maneira geral, as maiores concentrações aumentaram a assimilação de CO_2 , a eficiência da Rubisco e a eficiência no uso da água em relação às plantas que não receberam o CaCl_2 .

As plantas testemunhas (que não receberam aplicação de CaCl_2) e aquelas tratadas com a concentração de 0,5% de CaCl_2 apresentaram menor taxa de assimilação até 170 dias após a primeira aplicação (DAPA), quando as taxas assimilatórias dessas plantas se tornaram iguais às reveladas pelas demais plantas.

As plantas submetidas a todos os tratamentos apresentaram tendência de reduzir a transpiração ao longo do tempo, exceto aquelas pulverizadas com a concentração de 1,0% de CaCl_2 que mantiveram a taxa transpiratória praticamente constante ao longo do tempo. Essa redução na transpiração se deve à provável redução da temperatura e precipitação ao longo do tempo (Quadro 1), condições que levam a fechamento de estômatos como forma de diminuir perda de água, e com menor transpiração e condutância estomática. Com o estômato fechado a planta perde menos água e pode melhorar a eficiência no uso da água. Deve ser ressaltado o aspecto cíclico revelado pelas plantas quando são consideradas as variáveis, eficiência de carboxilação e assimilação de CO_2 , menos influenciadas pela temperatura e precipitação.

As plantas testemunhas apresentaram elevada taxa transpiratória inicialmente, com redução com o tempo, elevada condutância estomática (Gs) até os 150 DAPA, elevada concentração de CO_2 na folha (C_i) e baixa eficiência da Rubisco, o que

resultou em baixa assimilação de CO_2 (A) até os 150 DAPA e em baixa eficiência no uso da água (EUA).

Quando as plantas foram pulverizadas com 0,5% de CaCl_2 apresentaram redução na assimilação até os 120 DAPA, com aumento a partir deste ponto. As taxas transpiratórias foram elevadas no início e diminuíram com o passar dos dias, da mesma forma como ocorreu com a condutância estomática. Aos 120 DAPA observou-se menor eficiência da Rubisco, promovendo maior acúmulo de CO_2 na câmara subestomática e menor assimilação.

O tratamento contendo 1,0% de CaCl_2 resultou em plantas com elevadas taxas de assimilação, baixa condutância estomática até os 100 DAPA, com menor transpiração ao longo de todo o período de avaliação. Nessas plantas a elevada eficiência da Rubisco, associada à concentração interna de CO_2 bem constante, garantiu a elevada assimilação e conseqüente elevada eficiência de uso da água.

Aos 60 dias DAPA pode-se notar que as plantas tratadas com 1,5% de CaCl_2 estavam em condições semelhantes às plantas testemunha, mas ao longo do tempo elas apresentaram elevadas taxas de assimilação, transpiração e condutância estomática, além de manter elevada a eficiência da Rubisco e de uso da água.

O cálcio desempenha importante papel fisiológico como mensageiro secundário, regulando muitos processos fisiológicos no crescimento e desenvolvimento das plantas, estando envolvido em respostas a diversos estresses ambientais (DODD et al., 2010). Plantas de tabaco tratadas com CaCl_2 aumentaram a tolerância ao calor, uma vez que, o CaCl_2 possibilitou maiores taxas de assimilação e condutância estomática mesmo que em elevadas temperaturas (TAN et al., 2011). Plantas de tomate que receberam pré-tratamento com CaCl_2 apresentaram o sistema fotossintético protegido do estresse sob baixa temperatura noturna, revelando maiores condutância estomática, abertura estomática, largura e área de cloroplastos e diminuição do número de grãos de amido por cloroplasto (LIU et al., 2015). Os resultados do presente estudo estão de acordo com os dos autores acima relacionados, uma vez que, a aplicação do CaCl_2 também aumentou as taxas de assimilação de CO_2 e a condutância estomática no início das avaliações. Deve ser registrado que, neste estudo, várias avaliações de trocas

gasosas foram realizadas ao longo do tempo enquanto que, nos estudos apresentados acima somente uma foi realizada.

Um dos fatores que afeta a atividade das enzimas frutose 1,6-bisfosfatase (FBPase) e sedoheptulose 1,7-bisfosfatase (SBPase) do ciclo redutor de pentose fosfato é a concentração de íons Ca^{2+} no estroma, que pode elevar ou reduzir o nível de expressão destas duas enzimas, impactando diretamente a fotossíntese (GARDEMANN et al., 1983; CHUECA et al., 2002; HOCHMAL et al., 2015). Essa pode ser a explicação para o aumento nas taxas assimilatórias e na eficiência de carboxilação das plantas de atemoia 'Thompson' submetidas a variação de aplicação de CaCl_2 .

Além disso, o Ca^{2+} está no fechamento estomático induzido pelo ABA e os resultados observados no presente estudo não demonstram essa ação, uma vez que as plantas pulverizadas com cálcio não fecharam os seus estômatos, conforme revelam os resultados de condutância estomática.

Figura 1- Taxa de assimilação de CO₂ (a), taxa de transpiração (b) e condutância estomática (c), eficiência do uso da água (d), eficiência de carboxilação (e) e concentração interna de CO₂ na folha (f) em atemoia 'Thompson', tratadas com CaCl₂ nas seguintes dosagens: 0, 0,5, 1,0 e 1,5% de CaCl₂ em função do tempo

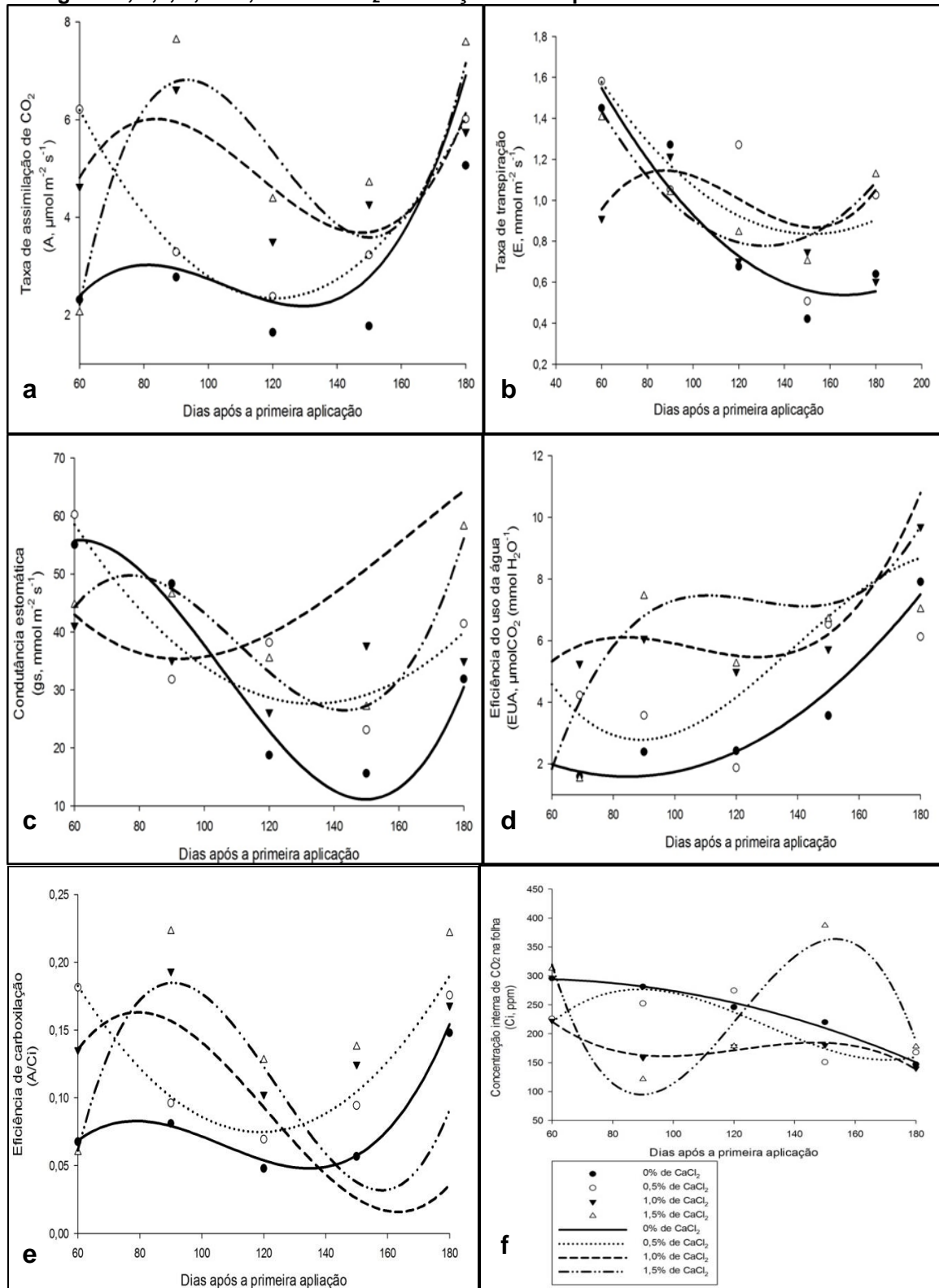


Tabela 1- Equações e coeficientes de determinação referentes aos gráficos da figura 1. Botucatu-SP, 2017

	Tratamentos CaCl ₂ (%)	R ²	Equações
Taxa de assimilação de CO ₂ (a)	0,0	0,99	$y = 0,000015x^3 - 0,00473x^2 + 0,473x - 12,1499$
	0,5	0,99	$y = 0,00104x^2 - 0,253x + 17,585$
	1,0	0,65	$y = 0,000018x^3 - 0,00624x^2 + 0,666x - 16,567$
	1,5	0,88	$y = 0,000035x^3 - 0,0128x^2 + 1,471x - 47,600$
Taxa de transpiração (b)	0,0	0,89	$y = 0,00009x^2 - 0,0299x + 3,016$
	0,5	0,58	$y = 0,000088x^2 - 0,0267x + 2,863$
	1,0	0,72	$y = 0,000002x^3 - 0,000721x^2 + 0,0802x - 1,695$
	1,5	0,92	$y = 0,00013x^2 - 0,0341x + 3,011$
Condutância estomática (c)	0,0	0,96	$y = 0,00013x^3 - 0,0412x^2 + 3,589x - 39,354$
	0,5	0,77	$y = 0,0057x^2 - 1,527x + 129,542$
	1,0	0,61	$y = -0,00003x^3 + 0,0147x^2 - 1,946x + 113,37$
	1,5	0,99	$y = 0,000161x^3 - 0,0532x^2 + 5,330x - 118,725$
Eficiência do uso da água (d)	0,0	0,94	$y = 0,00065x^2 - 0,110x + 6,255$
	0,5	0,65	$y = -0,000012x^3 + 0,00501x^2 - 0,606x + 25,489$
	1,0	0,99	$y = 0,000016x^3 - 0,00505x^2 + 0,509x - 10,489$
	1,5	0,83	$y = 0,000022x^3 - 0,00837x^2 + 1,045x - 35,470$
Eficiência instantânea de carboxilação (e)	0,0	0,99	$y = 0,0000004x^3 - 0,00013x^2 + 0,0127x - 0,320$
	0,5	0,99	$y = 0,000031x^2 - 0,0074x + 0,514$
	1,0	0,65	$y = 0,0000001x^3 - 0,00018x^2 + 0,0194x - 0,484$
	1,5	0,88	$y = 0,000001x^3 - 0,000373x^2 + 0,04297x - 1,390$
Concentração de CO ₂ interna na folha (f)	0,0	0,99	$y = -0,0086x^2 + 0,869x + 273,167$
	0,5	0,77	$y = 0,000448x^3 - 0,174x^2 + 20,420x - 474,113$
	1,0	0,98	$y = -0,00039x^3 + 0,1424x^2 - 16,663x + 792,34$
	1,5	0,93	$y = -0,00206x^3 + 0,7498x^2 - 84,804x + 3152,63$

Houve interação entre as concentrações de CaCl₂ e as épocas de avaliação para a assimilação de CO₂. Aos 60 DAPA as plantas sem aplicação (0%) e as que receberam 1,5% de CaCl₂ apresentaram as menores taxas de assimilação de CO₂, sendo que essas últimas não diferiram daquelas com 1%. Aos 90, 120 e 150 DAPA as plantas pulverizadas com as concentrações de 1,0 e 1,5% de CaCl₂ apresentaram elevação das taxas de assimilação de CO₂. Aos 180 DAPA a assimilação de CO₂ foi equivalente entre as plantas (Tabela 2). Assim, houve efeito positivo do CaCl₂ na assimilação de CO₂, resultados concordantes com os estudos de Ai et al., (2006), que verificaram que CaCl₂ na concentração de 10mM aumentou a capacidade fotossintética em pepinos.

Tabela 2 - Análise de variância e comparação entre médias de assimilação de CO₂ (A, $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) em plantas de atemoia 'Thompson' pulverizadas com diferentes concentrações de CaCl₂, nas diferentes épocas. Botucatu-SP, 2017

Taxa de assimilação de CO₂ (A, $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)					
Concentrações de CaCl₂ (%)	Épocas (Dias após a primeira aplicação-DAPA)				
	60	90	120	150	180
0	2,31 c	2,77 b	1,64 b	1,93 b	6,06 a
0,5	6,21 a	3,29 b	2,38 b	3,22 ab	6,01 a
1,0	4,64 ab	5,64 a	4,55 a	4,27 a	5,75 a
1,5	3,16 bc	6,71 a	5,15 a	4,71 a	6,77 a
Análise de Variância	Concentrações	Época	Concentração x Época		
Quadrado médio	19,35**	12,13**	3,66**		
CV (%)	20,25				

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. ** significativo a 1% de probabilidade ($\alpha < 0,01$).

Houve interação entre as concentrações de CaCl₂ e as épocas de avaliação para a transpiração. Aos 60 DAPA a menor taxa transpiratória foi revelada pelas plantas com aplicação de 1,0% de CaCl₂. A transpiração foi igual para todos os tratamentos aplicados, aos 90, 150 e 180 DAPA. As menores taxas transpiratórias aos 120 DAPA foram observadas nas plantas sem aplicação (0%) e naquelas com aplicação de 1,0% de CaCl₂ (Tabela 3). Plantas de morango cultivadas em estresse salino, em solução nutritiva com adição de CaCl₂ e CaSO₄ apresentaram aumento na assimilação de CO₂ e na transpiração (KHAYYAT et al., 2017). Esses resultados discordam dos observados no presente estudo, uma vez que, a pulverização com o CaCl₂ não aumentou as taxas transpiratórias. Aparente ausência de efeito na fotossíntese se dá em virtude das pequenas quantidades deste elemento necessárias para esta atividade metabólica (TERRY; HUSTON, 1975).

Tabela 3 - Análise de variância e comparação entre médias da taxa de transpiração (E , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em plantas de atemoia 'Thompson' pulverizadas com diferentes concentrações de CaCl_2 , nas diferentes épocas. Botucatu-SP, 2017

Taxa de transpiração (E , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)					
Concentrações de CaCl_2 (%)	Épocas (dias após a primeira aplicação)				
	60	90	120	150	180
0	1,45 ab	1,27 a	0,67 b	0,42 a	0,64 a
0,5	1,58 a	1,05 a	1,27 a	0,50 a	1,02 a
1,0	0,91 b	1,21 a	0,70 b	0,75 a	0,60 a
1,5	1,40 ab	1,04 a	0,84 ab	0,70 a	1,12 a
Análise de Variância	Concentrações	Época	Concentração x Época		
Quadrado médio	0,20 ^{ns}	0,98 ^{**}	0,15*		
CV (%)	25,24				

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. ** significativo a 1% de probabilidade ($\alpha < 0,01$); * significativo a 5% de probabilidade ($\alpha < 0,05$); ns não significativo ($\alpha \geq 0,05$).

Houve interação entre as concentrações de CaCl_2 e as épocas de avaliação para a condutância estomática. Não houve diferença de condutância estomática para plantas pulverizadas com as diferentes concentrações de CaCl_2 nas épocas 60, 90 e 120 DAPA. Aos 150 DAPA as plantas pulverizadas com 1,0% de cloreto de cálcio apresentaram maior condutância e aos 180 DAPA foram as pulverizadas com 1,5% de CaCl_2 que apresentaram maior condutância (Tabela 4). A condutância estomática sofre interferência do ambiente (BERRY; BJORKMAN, 1980; GUTSCHICK, 1997) e da nutrição mineral (Wong et al., 1979; Von CAEMMERER, FARQUHAR, 1981), resultados concordantes com os do presente estudo para plantas de atemoia 'Thompson'.

Tabela 4 - Análise de variância e comparação entre médias da condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) em plantas de atemoia 'Thompson' pulverizadas com diferentes concentrações de CaCl_2 , nas diferentes épocas. Botucatu-SP, 2017

Condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)					
Concentrações de CaCl_2 (%)	Épocas (dias após a primeira aplicação)				
	60	90	120	150	180
0	55,09 a	48,32 a	18,77 a	15,61 b	31,88 b
0,5	60,24 a	31,84 a	38,17 a	23,12 ab	41,44 ab
1,0	41,12 a	35,13 a	26,16 a	37,71 a	34,99 b
1,5	44,70 a	46,47 a	35,37 a	27,07 ab	58,16 a
Análise de Variância	Concentrações	Época	Concentração x Época		
Quadrado médio	222,76 ^{ns}	1083,84 ^{**}	304,62*		
CV (%)	24,01				

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. ** significativo a 1% de probabilidade ($\alpha < 0,01$); * significativo a 5% de probabilidade ($\alpha < 0,05$); ns não significativo ($\alpha \geq 0,05$).

Houve interação entre as concentrações de CaCl_2 e as épocas de avaliação para a eficiência no uso da água. As concentrações de 0,5 e 1,0% de CaCl_2 elevaram a eficiência no uso da água de plantas de atemoia 'Thompson' aos 60 DAPA. Aos 90 e 120 DAPA as plantas pulverizadas com as maiores concentrações de CaCl_2 mostraram-se mais eficientes no uso da água. Aos 150 DAPA não houve diferença para os tratamentos aplicados e aos 180 DAPA as plantas pulverizadas não diferiram daquelas em que não foram realizadas aplicações (Tabela 5). A eficiência no uso da água foi influenciada principalmente pelo aumento da taxa de assimilação de CO_2 nos períodos de 60, 90 e 120 DAPA.

Tabela 5 - Análise de variância e comparação entre médias da eficiência do uso da água (A/E , $\mu\text{mol CO}_2$ ($\text{mmol H}_2\text{O}$)⁻¹) em plantas de atemoia 'Thompson' pulverizadas com diferentes concentrações de CaCl_2 , nas diferentes épocas. Botucatu-SP, 2017

Eficiência do uso da água (A/E , $\mu\text{mol CO}_2$ ($\text{mmol H}_2\text{O}$) ⁻¹)					
Concentrações de CaCl_2 (%)	Épocas (dias após a primeira aplicação)				
	60	90	120	150	180
0	1,59 b	2,39 b	2,42 b	4,65 a	7,90 ab
0,5	4,23 a	3,57 b	1,87 b	6,52 a	6,12 b
1,0	5,25 a	6,07 a	4,99 a	5,72 a	9,69 a
1,5	1,51 b	7,45 a	5,25 a	6,70 a	7,01 b
Análise de Variância	Concentrações	Época	Concentração x Época		
Quadrado médio	19,44 ^{ns}	39,97**	6,44**		
CV (%)	16,63				

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. ** significativo a 1% de probabilidade ($\alpha < 0,01$); ns não significativo ($\alpha \geq 0,05$).

Houve interação entre as concentrações de CaCl_2 e as épocas de avaliação para a eficiência de carboxilação. A concentração de 0,5% de CaCl_2 aumentou a eficiência de carboxilação das plantas aos 60 DAPA. Aos 90 DAPA, as maiores concentrações (1 e 1,5%) de CaCl_2 aumentaram a eficiência da Rubisco, condição também verificada aos 120 e 150 DAPA. Aos 180 DAPA a Rubisco foi mais eficiente nas plantas pulverizadas com 1,5% de CaCl_2 (Tabela 6).

Tabela 6 - Análise de variância e comparação entre médias da eficiência de carboxilação (A/Ci) em plantas de atemoia 'Thompson' pulverizadas com diferentes concentrações de CaCl₂, nas diferentes épocas. Botucatu-SP, 2017

Eficiência de carboxilação (A/Ci)					
Concentrações de CaCl ₂ (%)	Épocas (dias após a primeira aplicação)				
	60	90	120	150	180
0	0,067 c	0,081 b	0,048 c	0,057 c	0,148 b
0,5	0,181 a	0,096 b	0,069 bc	0,094 bc	0,168 b
1,0	0,135 b	0,193 a	0,102 ab	0,125 ab	0,175 b
1,5	0,059 c	0,222 a	0,128 a	0,137 a	0,222 a
Análise de Variância	Concentrações	Época	Concentração x Época		
Quadrado médio	0,0162**	0,0165**	0,005**		
CV (%)	18,42				

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. ** significativo a 1% de probabilidade ($\alpha < 0,01$).

Houve interação entre as concentrações de CaCl₂ e as épocas de avaliação para a concentração interna de CO₂ na folha. Aos 60 e 120 DAPA, o CO₂ interno na folha não diferiu entre as plantas pulverizadas e não pulverizadas. As maiores concentrações de CaCl₂ reduziram a concentração de CO₂ na folha aos 90 DAPA. A maior concentração de CaCl₂ foi a que resultou em plantas com maior acúmulo de CO₂ na folha aos 150 DAPA. Aos 180 DAPA as concentrações de CaCl₂ aplicadas não resultaram em diferenças de CO₂ interno para plantas de atemoia 'Thompson'. Os maiores valores de CO₂ interno nas plantas resultaram da baixa eficiência da Rubisco na carboxilação, condição observada, em especial, aos 60 DAPA (Tabela 7).

Tabela 7 - Análise de variância e comparação entre médias da concentração interna de CO₂ (Ci, ppm) em plantas de atemoia 'Thompson' pulverizadas com diferentes concentrações de CaCl₂, nas diferentes épocas. Botucatu-SP, 2017

Concentração interna de CO ₂ (Ci, ppm)					
Concentrações de CaCl ₂ (%)	Épocas (dias após a primeira aplicação)				
	60	90	120	150	180
0	295,59 ab	281,50 a	246,08 ab	219,69 b	146,83 a
0,5	225,77 b	252,38 a	274,65 a	150,76 b	167,80 a
1,0	222,30 b	158,22 b	178,01 b	180,12 b	140,09 a
1,5	312,70 a	121,36 b	178,23 b	387,14 a	177,63 a
Análise de Variância	Concentrações	Época	Concentração x Época		
Quadrado médio	12406,03*	18527,36**	13254,99**		
CV (%)	17,09				

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. ** significativo a 1% de probabilidade ($\alpha < 0,01$); * significativo a 5% de probabilidade ($\alpha < 0,05$).

As plantas de atemoia 'Thompson' não pulverizadas (0% de CaCl_2) tempo apresentaram baixa eficiência de carboxilação e baixa assimilação que aumentaram ao longo do tempo, de modo inverso à concentração interna de CO_2 e transpiração. Os resultados de assimilação de CO_2 e transpiração levaram a aumento da eficiência de uso da água com o tempo.

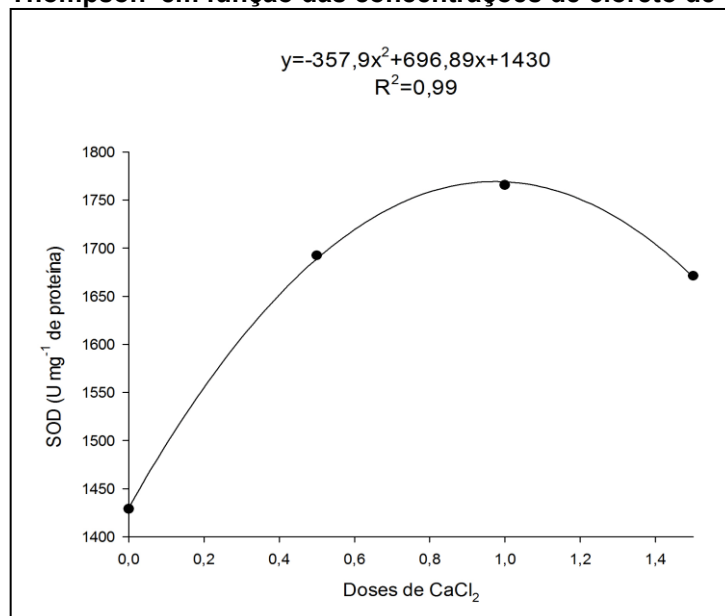
As plantas pulverizadas com 0,5% de CaCl_2 apresentaram a mesma tendência de resposta de todas as variáveis avaliadas. Nessas plantas verificam-se taxas mais elevadas de assimilação de CO_2 , eficiência da Rubisco, condutância estomática e transpiração no início e final da avaliação e eficiência do uso da água. Essa concentração de CaCl_2 levou a efeitos mais pronunciados de diminuição entre 120 e 130 DAPA para a maioria das variáveis, com exceção da concentração interna de CO_2 e eficiência do uso da água, cujos decréscimos ocorreram, respectivamente aos 160 e 80 DAPA. Cumpre ressaltar que a pulverização com esta dosagem modificou o padrão de trocas gasosas das plantas de atemoia, não trazendo efeitos benéficos para a espécie.

Quando as plantas foram pulverizadas com as concentrações de 1,0 e 1,5% de CaCl_2 os resultados de trocas gasosas ao longo do tempo foram melhores que aqueles revelados pelas plantas não pulverizadas. Essas plantas apresentaram maiores taxas de assimilação de CO_2 , eficiência de carboxilação e eficiência do uso da água. Nos momentos de menor eficiência de carboxilação houve maior acúmulo de CO_2 no mesófilo. A transpiração diminuiu ao longo do tempo mais nas plantas pulverizadas com 1,5% de CaCl_2 do que naquelas com aplicação de 1,0%, cuja transpiração se manteve mais constante.

Atividade das enzimas peroxidase (POD), superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT)

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) aumentou com as concentrações de CaCl_2 até 0,973% de CaCl_2 (Figura 2). A atividade da enzima SOD não foi influenciada pela época de avaliação.

Figura 2 - Atividade da enzima superóxido dismutase (SOD, U mg⁻¹ de proteína) em atemoia cv. 'Thompson' em função das concentrações de cloreto de cálcio



A atividade da enzima peroxidase (POD) não foi influenciada pelas concentrações de CaCl₂ pulverizadas na copa das plantas de atemoia, mas houve efeito das épocas de avaliação e aos 210 dias após a primeira aplicação esta enzima apresentou maior atividade (Tabela 8).

Tabela 8 - Análise de variância e comparação entre médias da atividade da enzima peroxidase (POD) em plantas de atemoia 'Thompson' nas diferentes épocas. Botucatu-SP, 2017

Época	POD (µmol de purpurogalina min ⁻¹ mg ⁻¹ de proteína)		
45	7,51 b		
125	8,42 b		
210	11,50 a		
Análise de Variância	Concentração	Época	Concentração * Época
Quadrado médio	43,35 ^{ns}	105,20 ^{**}	7,92 ^{ns}
CV(%)	38,88		

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. ** significativo a 1% de probabilidade ($\alpha < 0,01$); * significativo a 5% de probabilidade ($\alpha < 0,05$); ns não significativo ($\alpha \geq 0,05$).

A enzima catalase não revelou variação de atividade com as diferentes concentrações de CaCl₂ e épocas de avaliação (Tabela 9). Deve ser ressaltado o maior valor da sua atividade em plantas tratadas com 1,0% de CaCl₂. Considerando a maior atividade da SOD com essa concentração de CaCl₂, estes resultados estão de acordo com os de trocas gasosas e a maior atividade dessas enzimas nestas plantas pode ser indicativo de que realizaram trocas gasosas com

maior assimilação de CO₂ estando em melhores condições do que as testemunhas.

Dessa forma, plantas que receberam 1,0% de CaCl₂ apresentaram maior atividade da SOD, mostrando um possível mecanismo antioxidante mais eficiente em comparação às demais plantas. A SOD é a primeira enzima da linha de defesa das plantas contra as EROS nas células, entre organismos que consomem oxigênio (OLMOS et al., 2003) e essa enzima funciona catalisando a dismutação do superóxido O₂⁻ em H₂O₂ (SCANDALIOS, 2005). Já as catalases funcionam como um canal de “limpeza” do H₂O₂ (BREUSEGEM et al., 2001), assim sendo, o aumento da atividade da CAT pode ser consequência da maior atividade da SOD. No presente estudo não foi observada variação de atividade da CAT o que pode indicar presença de compostos fenólicos e, portanto maior atuação da POD. Em parte estes resultados estão de acordo com os estudos que revelaram que o Ca²⁺ exógeno induziu aumento na atividade da SOD, CAT e POD em mudas de milho na estação fria e em plântulas de trigo (JIANG; HUANG, 2001; GONG et al., 1997, AGARWAL et al., 2005).

Tabela 9 - Análise de variância e comparação entre médias da atividade da enzima Catalase (CAT) em plantas de atemoia ‘Thompson’ nas diferentes épocas. Botucatu-SP, 2017

Tratamento (% de CaCl ₂)	Catalase (nmol de H ₂ O ₂ consumido min ⁻¹ mg ⁻¹ proteína)		
0	40,86		
0,5	44,06		
1,0	61,65		
1,5	45,08		
Análise de Variância	Concentração	Época	Concentração * Época
Quadrado médio	1569,64 ^{ns}	277,6 ^{ns}	2818,20 ^{ns}
CV(%)	68,10		

ns= não significativo.

Assim, CaCl₂ pode ser usado para aumentar a eficiência das trocas gasosas em plantas de atemoia ‘Thompson’, sugerindo-se a concentração de 1,0% , sendo que estas aplicações interferem na atividade das enzimas antioxidantes.

REFERÊNCIAS

- AI, X.; WANG, X.; CUI, Z., WANG, Z. Effect of calcium on photosynthesis of cucumber under low light intensity and sub-optimal temperature. **Zhongguo nongye kexue**, v.39, p.1865-1871, 2005.
- AGARWAL, S.; SAIRAM, R. K.; SRIVASTAVA, G. C.; TYAGI, A.; MEENA, R. C. Role of ABA, salicylic acid, calcium and hydrogen peroxide on antioxidant enzymes induction in wheat seedlings. **Plant Science**, v.169, p.559–570, 2005.
- AMARO, A. C. E. **Efeitos fisiológicos de fungicidas no desenvolvimento de plantas de pepino japonês enxertadas e não enxertadas, cultivadas em ambiente protegido**. 2011. 100 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia (Horticultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2011.
- BARON, D.; FERREIRA, G.; RODRIGUES, J. D.; MACEDO, A. C.; AMARO, A. C. E. Gas exchanges in annonaceae species under different crop protections. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.36, p. 243-250, 2014.
- BERRY, J., BJORKMAN, O. 1980. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. **Annu. Rev. Plant Physiol.**, v. 31, p.491-543.
- BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, v. 44, p. 276-287, 1971.
- BOWLER, C.; FLUHR, R.. The role of calcium and activated oxygens as signals for controlling cross-tolerance. **Trends in plant science**, v. 5, p. 241-246, 2000.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.
- BREUSEGEM, F. V. et al. The role of active oxygen species in plant signal transduction. **Plant Science**, v. 161, n. 3, p. 405-414, 2001.
- BÚFALO, J. **Efeito alelopático de extrato de Leonurus sibiricus L. em Mentha piperita L. Desenvolvimento, trocas gasosas e metabólitos secundários**. 2011. 103 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia (Horticultura) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2011.
- BUSH, D. S. Calcium regulation in plant cells and its role in signaling. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.46, p.95–122, 1995.
- CAEMMERER, S. V., FARQUHAR, G. D. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. **Planta**, v.153, p. 376-387, 1981
- CAMPOS, F. G.; BARON, D.; MARQUES, M.O.M.; FERREIRA, G.; BOARO, C.S.F. Characterization of the chemical composition of the essential oils from *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer 'terra-fria' and *Annona squamosa* L. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.36, p. 202-208, 2014.

CHUECA, A.; SAHRAWY, M.; PAGANO, E. A.; GORGÉ, J. L. (2002). Chloroplast fructose-1, 6-bisphosphatase: structure and function. **Photosynthesis research**, v.74, p.235-249, 2002.

DODD, A. N.; KUDLA, J.; SANDERS, D. The language of calcium signaling. **Annual review of plant biology**, v.61, p. 593-620, 2010.

DUARTE, T. S.; PEIL, R. M. N. Relações fonte: dreno e crescimento vegetativo do meloeiro. **Horticultura brasileira**, v. 28, n. 3, 2010.

FRIDLAND, L. E.; BACKHAUSEN, J. E.; SCHEIBE, R. Homeostatic regulation upon changes of enzyme activities in the Calvin cycle as an example for general mechanisms of flux control. What can we expect from transgenic plants?. **Photosynthesis Research**, v. 61, p. 227-239, 1999.

GARDEMANN, A.; STITT, M.; HELDT, H. W. Control of CO₂ fixation. Regulation of spinach ribulose-5-phosphate kinase by stromal metabolite levels. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics**, v.722, p.51-60, 1983.

GONG, M.; LI, Y.J.; DAI, X.; TIAN, M.; LI, Z. G. Involvement of calcium and calmodulin in the acquisition of HS induced thermotolerance in maize seedlings. **J. Plant Physiol**, v.150, p. 615–621, 1995.

GUTSCHICK, V. P., 1997. **Photosynthesis, Growth Rate, and Biomass Allocation** In: Jackson, L.E. (Ed.), **Ecology in agriculture**. Academic Press, San Diego (1997). pp.39-78

HOCHMAL, A.K.; SCHULZE, S.; TROMPELT, K.; HIPPLER, M. Calcium-dependent regulation of photosynthesis. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics**, v.1847, p.993-1003, 2015.

JIANG, Y.; HUANG, B. Effects of calcium on antioxidant activities and water relations associated with heat tolerance in two cool season grasses, **J. Exp. Bot.**, v. 52 p.341–349, 2001.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, Peroxidase, and Polyphenoloxidase Activities during Rice Leaf Senescence. **Plant Physiology**, v. 57, n. 2, p. 315-319, 1976.

KHAYYAT, M.; KHANIZADEH, S.; TAFAZOLI, E.; RAJAEI, S.; KHOLDEBARIN, B.; EMAM. Effects of different calcium forms on gas exchange activities, water usage and macronutrient uptake by strawberry plants under sodium chloride stress. **Journal of Plant Nutrition**, v.34, p. 427-435, 2011.

LIU, Y.F.; ZHANG, G. X.; QI, M. F.; LI, T. L. Effects of calcium on photosynthesis, antioxidant system, and chloroplast ultrastructure in tomato leaves under low night temperature stress. **Journal of Plant Growth Regulation**, v.34, p. 263-273, 2015.

MINORSKY, P. V. An heuristic hypothesis of chilling injury in plants: a role for calcium as the primary physiological transducer of injury. **Plant, Cell & Environment**, v. 8, n. 2, p. 75-94, 1985.

- MONROY, A. F.; SARHAN, F.; DHINDSA, R. S. Cold-induced changes in freezing tolerance, protein phosphorylation, and gene expression (evidence for a role of calcium). **Plant physiology**, v. 102, p. 1227-1235, 1993.
- OLMOS, E.; MARTÍNEZ-SOLANO, J. R.; PIQUERAS, A.; HELLÍN, E. Early steps in oxidative burst induced by cadmium in cultured tobacco cells (BY-2 line). **Journal of Experimental Botany**, v. 54, p. 291-301, 2003.
- PEIXOTO, P. H. P. et al. Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 11, p. 137-143, 1999.
- PLAXTON, W. C.; PODESTÁ, F. E. The Functional Organization and Control of Plant Respiration. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 25, p. 159-198, 2006.
- SANEWSKI, G. M. **Custard apples: cultivation and crop protection**. Brisbane: Queensland Department of Primary Industries, 1991. 103p.
- SÃO JOSÉ, A. R., PIRES, M., FREITAS, A., RIBEIRO, D. P., PEREZ, L. A. A. Atualidades e perspectivas das Anonáceas no mundo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.36, p.86-93, 2014.
- SCANDALIOS, J. G. et al. Catalase gene expression in response to chronic high temperature stress in maize. **Plant Sci.**, v. 156, p. 103-110, 2000.
- SCHMITZ-EIBERGER, M.; HAEFS, R.; NOGA, G. Calcium deficiency – Influence on the antioxidative defense system in tomato plants. **Journal Plant Physiology**, v. 159, n.7, p. 733-742, 2002.
- SHI, Q.; BAO, Z.; ZHU, Z.; YING, Q.; QIAN, Q. Effects of different treatments of salicylic acid on heat tolerance, chlorophyll fluorescence, and antioxidant enzyme activity in seedlings of *Cucumis sativa* L. **Plant Growth Regul**, v.48, p.127–135, 2006.
- TAIZ, L., ZEIGER, E. 2013. **Fisiologia vegetal**. Artmed, Porto Alegre. 819p.
- TAN, W.; WEI MENG, Q.; BRESTIC, M.; OLSOVSKA, K.; YANG, X. Photosynthesis is improved by exogenous calcium in heat-stressed tobacco plants. **Journal of plant physiology**, v.168, p. 2063-2071, 2011.
- TEISSEIRE, H.; GUY, V. Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities in fronds of duckweed (*Lemna minor*). **Plant Science**, v. 153, p. 65-72, 2000.
- TERRY, N.; HUSTON, R. P. Effects of calcium on the photosynthesis of intact leaves and isolated chloroplasts of sugar beets. **Plant Physiology**, v.55, p.923 – 927, 1975.
- WATANABE, H. S.; OLIVEIRA, S. L.; CAMARA, F. M.; ALMEIDA, G. V .B.; ALVES, A. A. Perfil de comercialização das Anonáceas nas Ceasas brasileira,s. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.36, n.spe1, p. 65-70. 2014.
- WONG, S. C., COWAN, I. R., FARQUHAR, G. D. Stomatal conductance correlates with photosynthetic capacity. **Nature**, v.282, p.424-426, 1979.

YOU, M.; Hong, J.; Jing; L.; YANG, W. Effects of Ca^{2+} on Photosynthesis and Related Physiological Indexes of Wheat Seedlings under Low Temperature Stress [J]. **Acta Agronomica Sinica**, v. 5, p. 020, 2002.

ZHANG, S.; LI, Q.; MA, K; CHEN, L. Temperature-dependent gas exchange and stomatal/non-stomatal limitation to CO_2 assimilation of *Quercus liaotungensis* under midday high irradiance. **Photosynthetica**, v.39, p.383-388, 2001.

CAPÍTULO 2: QUALIDADE DOS FRUTOS DE ATEMOIA 'THOMPSON' TRATADOS EM PRÉ-COLHEITA COM CLORETO DE CÁLCIO

RESUMO

Frutos de atemoia cv. 'Thompson' foram analisados com o objetivo de verificar a influência da aplicação pré-colheita de cloreto de cálcio no diâmetro e comprimento dos frutos, firmeza, pH, acidez titulável, sólidos solúveis, relação sólidos solúveis/acidez, açúcares, amido e teor de ácido ascórbico. Os tratamentos consistiram na pulverização da copa com concentrações de cloreto de cálcio nas doses de 0%; 0,5%; 1,0% e 1,5%. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com quatro concentrações, seis blocos e cada unidade experimental constituída por três frutos. As concentrações de CaCl_2 não influenciaram pH, sólidos solúveis, açúcares, amido e teores de cálcio na casca e na polpa dos frutos. As maiores concentrações de CaCl_2 aumentaram a firmeza e a acidez dos frutos e os teores de cálcio nas folhas, reduzindo os teores de ácido ascórbico.

SUMMARY

Atemoya fruit 'Thompson' were analyzed in order to verify the influence of pre-harvest application of calcium chloride in the diameter and length of fruits, firmness, pH, soluble solids, titratable acidity, soluble solids/acidity, sugars, starch and ascorbic acid content. The treatments consisted in foliar spraying of concentrations of calcium chloride in doses of 0%; 0.5%; 1.0% and 1.5%. The experimental design used was randomized blocks, with four concentrations, six packs and each experimental unit consisted of three fruits. The concentrations of CaCl_2 did not influence pH, soluble solids, sugars, starch and calcium levels in the peel and the pulp of the fruit. The largest concentrations of CaCl_2 increased firmness and acidity of fruit and calcium levels in leaves, reducing the levels of Ascorbic acid.

INTRODUÇÃO

As anonáceas possuem importância econômica em diversos países como Chile, México, Venezuela, Austrália e Brasil, principalmente por suas espécies frutíferas como a pinha, a graviola e a atemoia. No Brasil estes cultivos são feitos

desde o norte do País, até o estado do Paraná, encontrando-se plantios irrigados e com bom nível tecnológico. Existe interesse em se cultivar especialmente a pinha e a atemoia devido ao elevado valor de mercado e inserção no mercado europeu e americano (BRAGA SOBRINHO, 2014).

Os frutos de anonáceas apresentam intensa atividade metabólica após a colheita, o que faz com que a maturação se processe em curto espaço de tempo, tornando-os muito macios e difíceis de serem manuseados sem danos. A atemoia por seu elevado conteúdo de umidade se torna extremamente perecível, sobretudo em condições ambientais com elevada temperatura, associada à ausência ou ao manejo inadequado pós-colheita, fatores negativos para sua conservação (MOSCA; LIMA, 2008; SANTOS, 2009). Essas condições contribuem com a limitação de distribuição de frutos de atemoia para mercados distantes, o que demonstra problema a ser solucionado para melhoria do manejo pós-colheita.

O cálcio é constituinte indispensável da parede celular (POOVAIAH, 1988), proporcionando estabilidade e contribui na permeabilidade seletiva das membranas (HAWKESFORD et al., 2012) e, além disso, elevados teores desse nutriente nos frutos tendem a retardar o processo de maturação e senescência por diminuição da síntese de etileno e da atividade respiratória durante seu armazenamento (POOVAIAH, 1986; BRACKMANN et al., 2010). Assim, aplicações de cálcio realizadas em pré colheita desde a pré-floração, passando pela floração e fase de crescimento das frutas, têm sido recomendadas como forma de reduzir os índices de abortamento floral, os distúrbios fisiológicos pós-colheita, a taxa respiratória, a produção de etileno e de preservar a firmeza da polpa (PEREZ et al., 1995; FERRI et al., 2002; HOJO et al., 2009; BRACKMANN et al., 2010).

O objetivo do trabalho foi avaliar se concentrações de cloreto de cálcio aplicadas em pré-colheita alteram os atributos físico-químicos dos frutos de atemoia cv. 'Thompson'.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no sítio Paraizinho em um pomar comercial de atemoia variedade Thompson com treze anos de formação, localizado a 23°06'28.3"S e 48°22'44.4"W, 931 metros de altitude no município de Pardinho –

SP. Segundo a classificação de Köeppen, o clima da região é classificado como Cwa, que corresponde a uma região com clima subtropical de inverno seco (com temperaturas inferiores a 18°C) e verão quente (com temperaturas superiores a 22°C). Em 2016 o índice pluviométrico anual foi igual a 1444,1 mm, com temperaturas médias de 19,3°C, mínimas de 13,2°C e máximas de 25,4°C.

O experimento foi instalado em delineamento experimental em blocos ao acaso com quatro tratamentos, seis repetições com uma planta por parcela e espaçamento de 2,0 m entre plantas e 4,0 m entre linhas. A aplicação dos tratamentos foi realizada em toda copa com auxílio de pulverizador costal, utilizando a mistura de cloreto de cálcio (CaCl_2) g ml^{-1} + 0,15 ml L^{-1} de espalhante adesivo a base de Polioxietileno aquil fenol éter, variando-se a concentração de CaCl_2 . A primeira aplicação foi realizada em plena floração (florada produtiva), com repetições a cada 45 dias até pouco antes da colheita dos frutos (210 dias após a primeira aplicação). Foram utilizados dois litros de calda por planta. Os tratamentos estudados com variação de CaCl_2 foram: 0,0% - Testemunha; 0,5%, 1,0% e 1,5% de CaCl_2 .

Diâmetro e comprimento de frutos

O comprimento foi avaliado em centímetros, a partir da medição do eixo longitudinal do fruto e o diâmetro a partir da medição da região equatorial dos mesmos, por meio da utilização de paquímetro digital. As medidas foram feitas em quatro frutos por planta aos 45, 125 e 205 dias após a primeira aplicação dos tratamentos com variação de concentrações de cloreto de cálcio.

Pós-colheita

Três frutos de cada planta foram colhidos no estágio de maturidade fisiológica, aos 210 dias após a primeira aplicação de CaCl_2 durante a safra de junho de 2016 e transportados para o Laboratório de pós-colheita de frutas e hortaliças do Departamento de Horticultura da FCA/UNESP – Botucatu. Esses frutos foram mantidos no laboratório respeitando-se o delineamento estabelecido no campo. Cada parcela foi constituída por três frutos e estes foram armazenados em condições do ambiente (temperatura média $21,44 \pm 3,68^\circ\text{C}$ e umidade relativa $62,3 \pm 10,44\%$, utilizando-se termo-higrógrafo digital marca Data Logger modelo HT-

500) por cinco dias, objetivando condição adequada de processamento quanto à firmeza.

Para a realização das análises físico-químicas (pH, acidez titulável, sólidos solúveis e teores de ácido ascórbico) foram necessárias preparações prévias das amostras, com trituração com mixer das polpas de três frutos formando uma amostra composta.

Firmeza

Os frutos de atemoia tratados com CaCl_2 foram perfurados com auxílio de um penetrômetro manual com uma ponteira de 11 mm de diâmetro. Os dados foram expressos em Newtons (N).

Potencial hidrogeniônico (pH)

Sua determinação foi realizada na amostra composta da polpa triturada de atemoia, com auxílio de potenciômetro digital Micronal modelo B-221, conforme as normas do Instituto Adolfo Lutz (Brasil, 2005).

Acidez titulável (AT)

A acidez titulável foi obtida por meio da titulação em NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de 5 g da amostra composta de polpa de atemoia, com adição de 100 mL de água deionizada e 0,3 mL do indicador fenolftaleína. O resultado foi expresso em mg de ácido cítrico por 100 g^{-1} de polpa de atemoia, conforme as normas do Instituto Adolfo Lutz (Brasil, 2005).

Sólidos solúveis (SS)

A determinação do teor de sólidos solúveis foi realizada na amostra composta de polpa utilizando-se refratômetro, conforme recomendação feita pela AOAC (2005). Os resultados foram expressos em °Brix.

Ratio (SS/AT)

Calculada através do quociente entre o teor de sólidos solúveis e acidez titulável.

Açúcares e amido

Realizou-se a determinação dos teores de açúcares redutores (frutose + glicose), não redutor (sacarose), totais e amido, utilizando a metodologia descrita por Somogy (1937), adaptada por Nelson (1944). O aparelho utilizado para leitura da absorbância foi o espectrofotômetro Micronal B 382, no comprimento de onda de 535 nm. Os resultados foram expressos em porcentagem.

Determinação de ácido ascórbico

A determinação dos teores de ácido ascórbico foi necessário misturar 15 g da amostra composta de polpa de atemoia com 30 mL de ácido oxálico. A seguir, as amostras foram filtradas em filtro de papel e 2ml do filtrado foram utilizados para a realização da titulação com 2,6-diclorofenolindofenol sódio a 0,2 %, seguindo-se metodologia do MAPA (2006), com resultados expressos em mg 100g⁻¹ de polpa.

Determinação dos teores de cálcio

Três frutos por parcela foram separados em casca e polpa para a determinação dos teores de cálcio. Além disso, foram coletadas folhas de vários ramos em posições distinta da planta de atemoia, no período da manhã das 9:00 às 11:00 horas para as mesmas determinações. As amostras foram colocadas em sacos de papel, identificadas e levadas para secagem em estufa com circulação forçada de ar a 40 °C, até atingirem massa constante.

Em seguida, as amostras foram moídas em moinho tipo Wiley, acondicionadas e levadas ao Laboratório de análise química de plantas do Departamento de Solos e Recursos Ambientais da FCA/UNESP – Botucatu onde foram submetidas à digestão nítrico-perclórica- para a obtenção dos extratos e determinação do teor de cálcio, conforme metodologia apresentada por Malavolta et al. (1997).

Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F), sendo que as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade e análise de regressão. Os dados referentes à sacarose foram transformados em arco sem raiz quadrada de x/100.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para às variáveis diâmetro e comprimento de fruto, a análise de variância acusou significância apenas para o fator época (Tabela 1). Os frutos apresentaram crescimento contínuo ao longo do tempo independente das concentrações de CaCl_2 aplicadas, sendo que, as maiores médias foram obtidas aos 210 dias após a primeira aplicação (Figura 1). Em frutos de Romã tratados com CaCl_2 também não foram observadas diferenças no diâmetro e no comprimento (RAMEZANIAN et al., 2009), este resultado talvez se justifique pelo fato da menor concentração junto ao cálcio existente na planta ter sido suficiente para garantir a multiplicação celular, exercendo sua função na estrutura da parede e na estrutura e funcionamento das membranas. Além disso, a função estrutural do cálcio na parede celular pode ter resultado na firmeza dos frutos de atemoia, que aumentou com as dosagens de CaCl_2 até 1,24% de CaCl_2 . Esta variável se ajustou ao modelo quadrático, sendo a maior firmeza estimada de 22,13 N (Figura 2).

Tabela 1 - Médias dos diâmetros e comprimentos dos frutos de atemoia cv. 'Thompson' em função das concentrações de CaCl_2 . Botucatu-SP, 2017

Tratamento (% de CaCl_2)	Médias de comprimento do fruto	Médias de diâmetro do fruto
0	55,85	44,83
0,5	59,44	47,67
1,0	54,62	44,91
1,5	58,89	46,73
Teste F	0,077 ^{ns}	0,381 ^{ns}
CV(%)	10,81	12,35

ns= não significativo.

Figura 1 - Médias dos diâmetros e comprimentos dos frutos de atemoia cv. 'Thompson' em função das diferentes épocas. Botucatu-SP, 2017

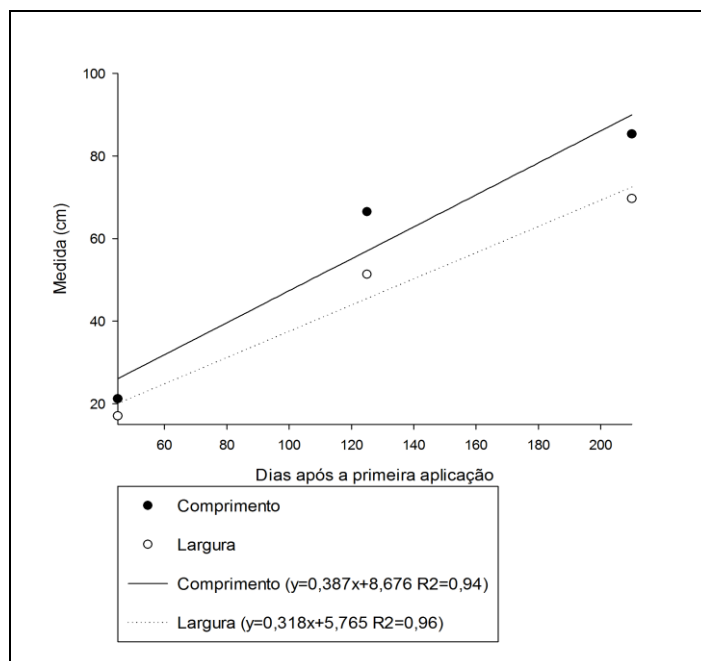
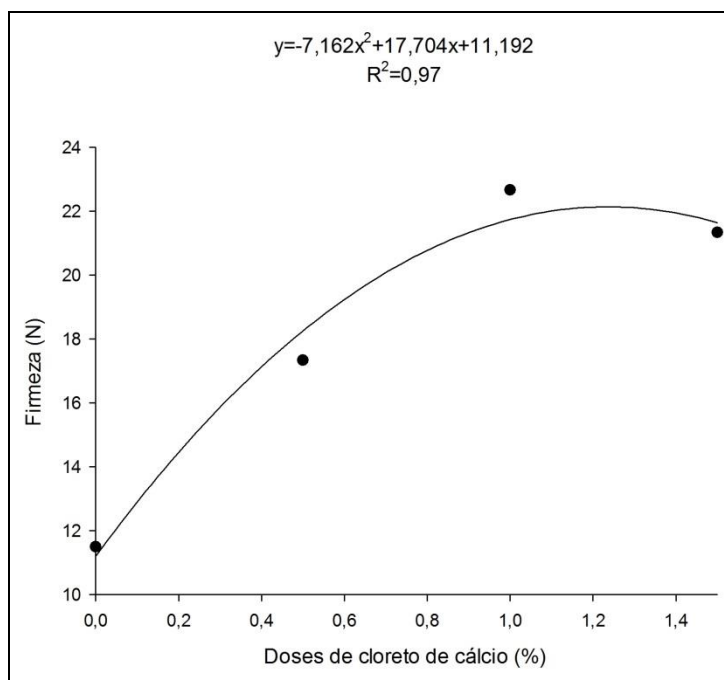


Figura 2- Firmeza (N) dos frutos de atemoia cv. 'Thompson' em função das concentrações de cloreto de cálcio



Em frutos de maçã 'Fuji' a firmeza aumentou com o aumento do número de aplicações de cloreto de cálcio (BRACKMANN et al., 2010). Estudo com nêspera mostrou que nas concentrações de 2 e 3% de CaCl_2 aplicados na pós colheita os

frutos apresentaram maior firmeza quando comparados com a concentração de 1% de CaCl_2 e a testemunha (AKHTAR et al., 2010). O CaCl_2 quando aplicado nas concentrações de 0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0% via foliar em mamão papaia, fez com que os frutos ficassem mais firmes quando comparados a testemunha no ano de 2012 e no ano de 2013 as concentrações de 1,5 e 2% de CaCl_2 se mostraram mais eficientes (MADANI et al., 2014). O cálcio aplicado em pré colheita foi eficiente em retardar a perda da firmeza em figo (IRFAN, 2013), morango (CHEN et al., 2011) e goiaba (WERNER et al., 2009).

A enzima pectinametilesterase, é conhecida por desesterificar compostos pécticos que constituem a parede celular das plantas. A hidrólise de grupos metil-éster, catalisada por essa enzima, produz uma pectina com menor grau de metilação, que sofre clivagem pela poligalacturonase. Assim, o efeito dessas duas enzimas tem um importante papel no processo de amolecimento do fruto durante o estágio de amadurecimento. A desmetilação da pectina resulta em um maior número de grupos carboxílicos, o que facilita a ação da poligalacturonase, que degrada substâncias pécticas, preferivelmente desesterificadas (SANTANA et al., 2008). O cálcio na parede celular, ao ligar-se covalentemente às pectinas, dá origem ao pectato de cálcio, restringindo a ação da pectinametilesterase e poligalacturonase, e, conseqüentemente, retardando o amaciamento de frutos (YAMAMOTO et al., 2011).

Não houve efeito significativo das concentrações de CaCl_2 para o pH, teor de sólidos solúveis, açúcares redutores, açúcares totais, sacarose, °Brix e amido dos frutos de atemoia (Tabela 2). Embora não tenha ocorrido diferença nos teores de sólidos solúveis entre os frutos pulverizados com diferentes concentrações de CaCl_2 , o valor médio igual a 21,18 °Brix está de acordo com Silva, 2011 que refere teor de sólidos solúveis nos frutos de anonáceas elevado, constituindo-se principalmente de açúcares solúveis (ALVES et al., 1997), o que também foi verificado no presente estudo. Em atemoia, a quantidade de açúcares nos frutos é superior a 20 °Brix, atingindo média de 25,2 °Brix em atemoieira 'Gefner' submetidas a diferentes intensidades de podas (MOTA FILHO et al., 2013). A proporção elevada de frutose, que em atemoia supera a sacarose, contribui para o sabor extremamente doce deste fruto, uma vez que o poder adoçante da frutose é 1,7 vezes superior ao da sacarose (ALVES et al., 1997).

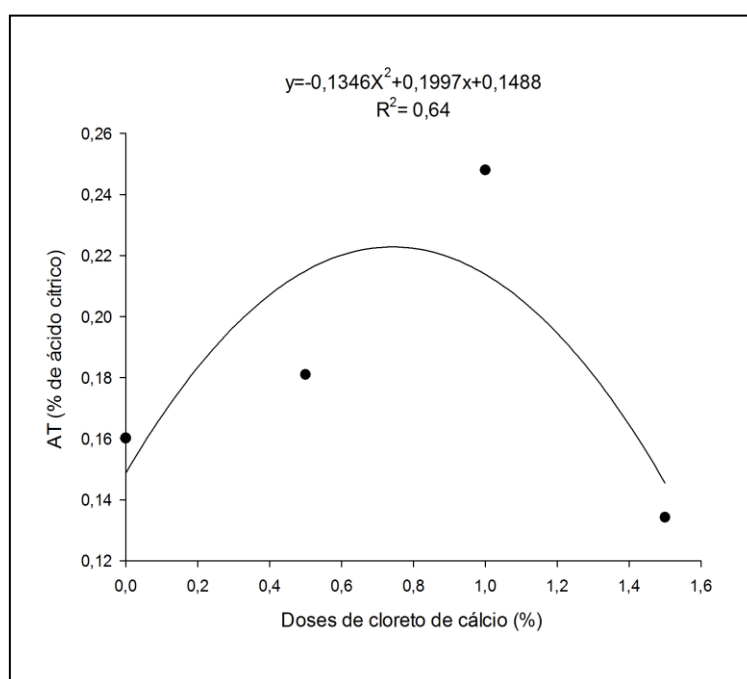
Tabela 2- Efeito das concentrações de CaCl_2 no pH, sólidos solúveis (SS), açúcares redutores (AR), açúcares totais (ATOTAIS), sacarose e amido de atemoia cv. 'Thompson'. Botucatu-SP, 2017

Doses de CaCl_2 (%)	pH	SS (°Brix)	AR (%)	ATOTAIS (%)	SACAROSE (%)	AMIDO (%)
0	5,42	22,40	13,76	14,64	0,98	4,39
0,5	5,36	21,00	15,32	12,98	0,13	5,87
1,0	5,34	19,99	14,67	12,47	0,00	5,97
1,5	5,40	21,32	12,81	14,94	0,30	5,68
Teste F	0,86 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,27 ^{ns}	0,31 ^{ns}	0,20 ^{ns}	0,57 ^{ns}
CV (%)	3,53	7,58	14,32	13,40	3,45	36,17

ns não significativo ($\alpha \geq 0,05$).

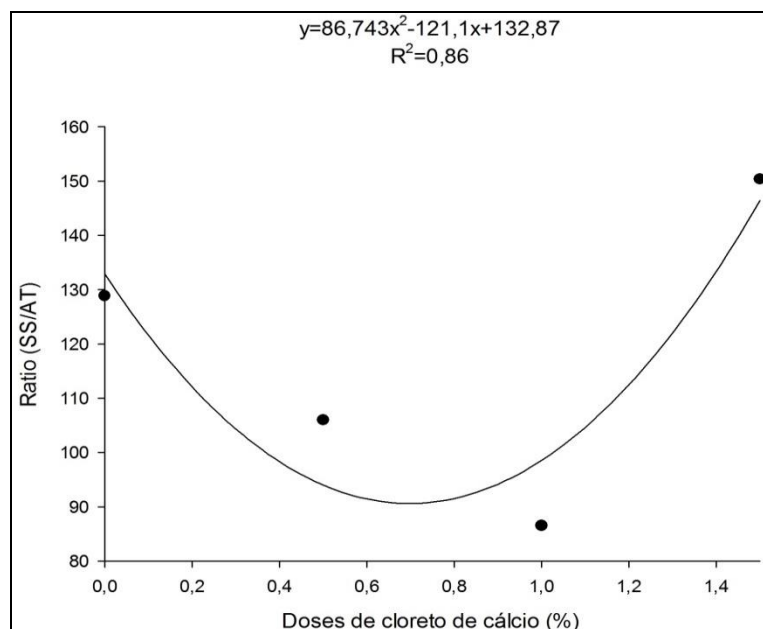
Para acidez titulável, houve ajuste quadrático, em função das concentrações de CaCl_2 (Figura 3). A AT foi representada pelo aumento nos teores de ácido cítrico conforme o aumento nas concentrações de CaCl_2 aplicadas até a concentração estimada de 0,74% de CaCl_2 . Maiores teores de Ca na parede celular resultam em menor atividade das enzimas responsáveis pelo amaciamento dos frutos e com a parede mais íntegra há uma queda da atividade respiratória (BRACKMANN et al., 2010). Assim com a diminuição dessa atividade há um atraso no uso de ácidos orgânicos nas reações enzimáticas de respiração (MAHMUD et al., 2008).

Figura 3 - Acidez titulável (% ácido cítrico) de frutos de atemoia cv. 'Thompson' em função das concentrações de cloreto de cálcio



Houve ajuste quadrático para a relação entre SS/AT (ratio) dos frutos, sendo que na concentração estimada de 0,698% de CaCl_2 os frutos ficaram mais ácidos e menos doces apresentando um ratio de 90,60 (SS/AT) (Figura 4). Considerando-se que o sabor dos frutos é função da relação sólidos solúveis:acidez titulável (“ratio”) (CHITARRA; CHITARRA, 2005), no presente trabalho pode-se observar que mesmo com os teores de ácido cítrico elevados a partir da concentração de 0,698% de CaCl_2 o aumento nos teores de SS contribuiu para que os frutos voltassem a ter um equilíbrio sensorial, entre ácido e doce. Frutos de atemoia armazenados com e sem PVC apresentaram um ratio que variou de 75 a 166 (SOUZA et al., 2015), resultado concordante com o do presente estudo, em que variação entre 90 e 146 foi observada. Este resultado demonstra que o cálcio pode ser utilizado para controlar acidez dos frutos de atemoia dependendo da finalidade a qual se destina, sendo que o mercado de frutas processadas exige frutos com maior acidez (LEMOS, 2014) e, frutos destinados à mesa, devem conter maiores teores de sólidos solúveis.

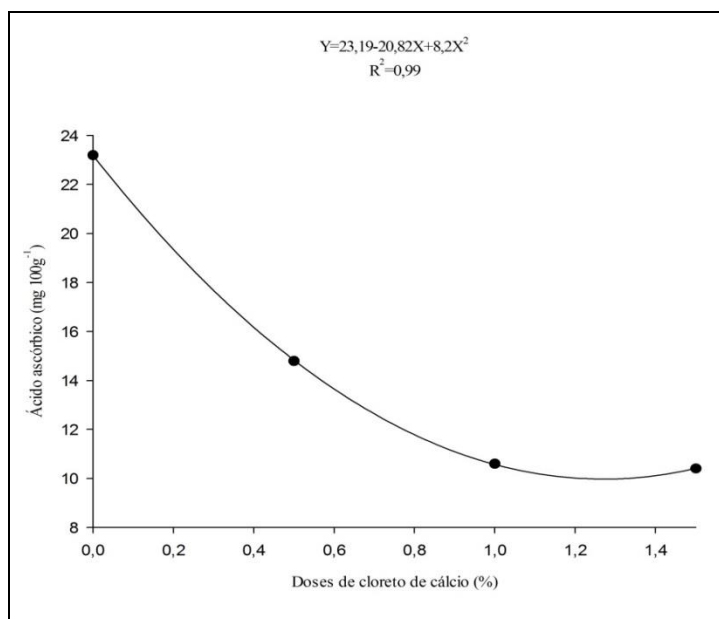
Figura 4- Ratio (SS/AT) de frutos de atemoia cv. ‘Thompson’ em função das concentrações de cloreto de cálcio



O teor de ácido ascórbico (AA) se ajustou ao modelo quadrático e o aumento nas concentrações de CaCl_2 reduziu os teores de AA até a concentração estimada de 1,27% de CaCl_2 , sendo que o menor valor obtido foi de $9,974 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$ (Figura 5). Cruz et al., 2013 observaram teores de AA para atemoia ‘Gefner’ iguais a

105,41 mg 100g⁻¹ para casca, 60,97mg 100g⁻¹ para polpa e 8,18 mg 100g⁻¹ para as sementes. O valor para polpa encontrado pelos autores foi muito superior ao máximo encontrado neste estudo (23,19 mg 100g⁻¹ sem aplicação de CaCl₂), condição que deve ser explicada com base na cultivar estudada.

Figura 5 - Teor de ácido ascórbico (mg 100g⁻¹) de frutos de atemoia cv. 'Thompson' em função de concentrações de cloreto de cálcio.



O maior teor de cálcio nas folhas foi estimado na concentração de 1,28% de CaCl₂, sendo igual a 19,70 g Kg⁻¹. O ajuste quadrático revelou-se o melhor (Figura 6). Não houve diferença entre os teores de cálcio contidos na casca e na polpa dos frutos tratados com diferentes concentrações de CaCl₂ (Tabela 3). Os teores de cálcio no fruto são consideravelmente menores que aqueles acumulados nas folhas, devido a baixa mobilidade do cálcio, que depende da transpiração para ser distribuído nos diferentes órgãos da planta. Assim, órgãos com baixa transpiração como os frutos acabam por conter menores teores deste nutriente quando comparados com as folhas. Na atemoia cv. 'Gefner' os teores médios de cálcio encontrados na casca, polpa e sementes foram iguais a 1,4 g Kg⁻¹, 1,6 g Kg⁻¹ e 1,8 g Kg⁻¹ respectivamente (CRUZ et al., 2013). No presente estudo os valores médios observados na casca e na polpa foram semelhantes aos encontrados pelos autores na atemoia 'Gefner' (Tabela 3).

Figura 6- Teor de cálcio (g Kg^{-1}) em folhas de atemoia cv. 'Thompson' em função de doses de cloreto de cálcio.

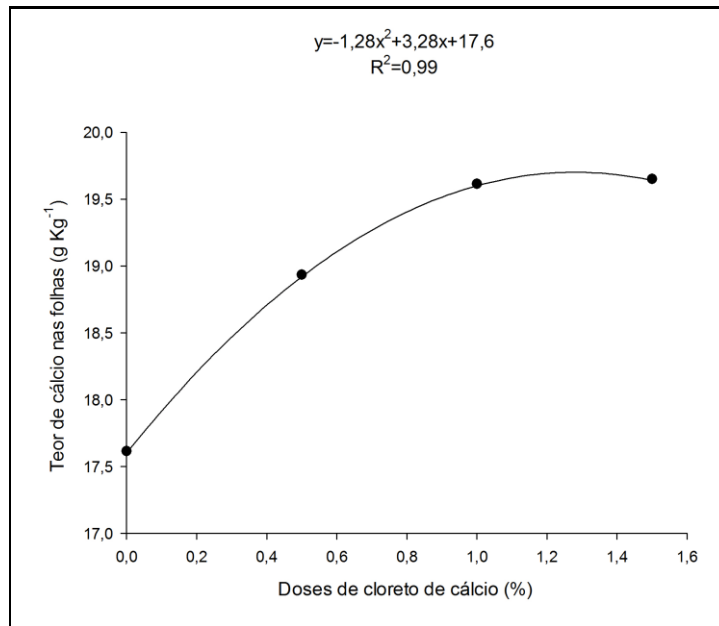


Tabela 3 - Médias dos teores de cálcio na casca e na polpa dos frutos de atemoia cv. 'Thompson' em função das concentrações de CaCl_2 . Botucatu-SP, 2017

Tratamento (% de CaCl_2)	Teor de Ca na casca (g Kg^{-1})	Teor de Ca na polpa (g Kg^{-1})
0	1,83	1,85
0,5	1,88	1,77
1,0	1,85	1,90
1,5	2,07	1,83
Teste F	0,30 ^{ns}	0,74 ^{ns}
CV(%)	12,08	11,48

ns=não significativo

A aplicação de CaCl_2 aumentou a firmeza e a acidez dos frutos de atemoia, confirmada pelo ratio. Como os teores de ácido ascórbico também diminuíram, a aplicação do CaCl_2 pode ser realizada quando o atendimento for de um mercado mais exigente quanto à firmeza e frutos mais ácidos, como ocorre para o atendimento do mercado de frutos processados.

REFERÊNCIAS

- ALVES, R. E.; FILGUEIRAS, H. A. C.; MOSCA, J. L. Colheita e pós-colheita de anonáceas. In: SÃO JOSÉ et al. (Ed.). Anonáceas: produção e mercado (pinha, graviola, atemóia e cherimóia). Vitória da Conquista: UESB, 1997. p. 240-256.
- AKHTAR, A.; ABBASI, N. A.; HUSSAIN, A. Effect of calcium chloride treatments on quality characteristics of loquat fruit during storage. *Pak. J. Bot.*, v.42, p.181-188, 2010.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis of the association of official analytical chemistry international**. 18th ed. Gaithersburg: AOAC, 2005. 1015 p
- BRACKMANN, A.; M. R. W.; PINTO, J. A. V.; VENTURINI, T. L. Aplicações pré-colheita de cálcio na qualidade pós-colheita de maçãs 'Fuji'. *Ciência Rural*, v.40, p.1435-1438, 2010.
- BRAGA SOBRINHO, R. Produção integrada de Anonáceas no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.38, p. 102-107. 2014.
- CHEN, F.; LIU, H.; YANG, H.; LAI, S.; CHENG, X.; XIN, Y.; DENG, Y. Quality attributes and cell wall properties of strawberries (*Fragaria annanassa* Duch.) under calcium chloride treatment. **Food Chemistry**, v.126, p.450-459, 2011.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio. 2. ed. rev. e ampl. Lavras: UFLA, 2005.
- CRUZ, L. S.; LIMA, R. Z.; ABREU, C. M. P.; CORRÊA, A. D.; PINTO, L. M. A. Caracterização física e química das frações do fruto atemoia Gefner. **Ciência Rural**, v.43, p.2280-2284, 2013.
- FERRI, V. C.; RINALDI, M. M.; LUCCHETTA, L.; ROMBALDI, C. V. Qualidade de caquis Fuyu tratados com cálcio em pré-colheita e armazenamento sob atmosfera modificada. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, p. 385-388, 2002.
- HAWKESFORD, M.; HORST, W.; KICHEY, T.; LAMBERS, H.; SCHJOERRING, J.; MOLLER, S. I.; WHITE, P. Functions of macronutrients. In: **Marschner**, P. (ed.). *Marschner's mineral nutrition of higher plants*. NewYork: Elsevier, 2012. cap.6, p.135-189.
- HOJO, R. H.; SÃO JOSÉ, A. R.; HOJO, E. T. D; ALVES, J. F. T.; REBOUÇAS, T. N. H.; DIAS, N. O. Qualidade de manga 'tommy atkins' pós-colheita com uso de cloreto de cálcio na pré-colheita. **Reista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, p.62-70, 2009.
- IRFAN, P. K.; VANJAKSHI, V.; PRAKASH, M. N.; RAVI, R.; KUDACHIKAR, V. B. Calcium chloride extends the keeping quality of fig fruit (*Ficus carica* L.) during storage and shelf-life. **Postharvest Biology and Technology**, v.82, p.70- 75, 2013.

Lemos, E. E. P.. A produção de anonáceas no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p.77-85, 2014.

MADANIA, B.; MOHAMEDA, M. T. M.; WATKINSB, C. B.; AWANGA, J. K. Y.; SHOJAEIDA, T. R. Preharvest calcium chloride sprays affect ripening of Eksotikall'papaya fruits during cold storage. **Scientia Horticulturae**, v.171, p. 6–13, 2014.

MAHMUD, T. M. M.; ERYANI-RAQEEB, A.; SYED OMAR, S. R.; MOHAMED ZAKI, A. R.; ERYANI, A. Effects of different concentrations and applications of calcium on storage life and physicochemical characteristics of papaya (*Carica Papaya* L.). **American Journal of Agricultural & Biological Science**, v.3, p.526-533, 2008.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Potafós, 1997. 319 p.

MOSCA, J. L.; LIMA, G. P. P. **Atraso no amadurecimento de atemoia cv. African Pride após tratamento pós-colheita com 1-metilciclopropeno**. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/25081/1/Dora1-2010.pdf> . Acesso em: 20 jan. 2017.

MOTA FILHO, V. J. G; PEREIRA, M. C. T.; NIETSCHKE, S.; MAIA, V. M; SANTOS, M. G. P.; FERNANDES, T. P.. Crescimento, produção e qualidade de frutos de atemoieira 'Gefner' submetida a diferentes intensidades de poda. **Ciência Rural** [online], v.43, p.1932-1937, 2013.

NELSON, N. A. A Photometric adaptation of Somogy method for determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, Rockville, v. 135, n. 1, p. 136-175, 1944.

PEREZ, A.; BEN-ARIE, R.; DINNOR, A.; GENIZI, A.; PRUSKY, D. Prevention of black spot disease in persimmon fruit by gibberellic acid and iprodione treatments. **Phytopathology**, v.85, p.221-225, 1995.

POOVAIAH, B. W. Role of calcium in prolonging storage life of fruyt and vegetables. **Food Technology**, v.16, p.86-89, 1986.

POOVAIAH, B. W. Molecular and cellular aspects of calcium action in plants. **HortScience**, v.23, p.267- 271, 1988.

RAMEZANIAN, A.; M. RAHEMI; M. R. VAZIFEHSHENAS. Effects of foliar application of calcium chloride and urea on quantitative and qualitative characteristics of pomegranate fruits. **Scientia Horticulturae**, v.121, p.171–175, 2009.

SANTANA, M. T. A.; SIQUEIRA, H.H.; LACERDA, R.J.; LIMA, L.C.O. Caracterização físico-química e enzimática de uva 'Patricia' cultivada na região de Primavera do Leste - MT. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 1, 2008.

SANTOS, IZABELLA RODRIGUES CHAVES DOS. **Escurecimento enzimático em frutos: polifenoloxidase de atemóia (*Annona cherimola* Mill. X *Annona squamosa* L.)**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de

Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição. – Araraquara, 2009. 119 f.

SILVA, A. V. C.; MUNIZ, E. N. Qualidade de atemóia colhida em dois estádios de maturação. **Revista Caatinga**, v. 24, p. 9-13, 2011.

SOMOGYI, M. A reagent for the copper-iodometric determination of very small amounts of sugar. **Journal of biological Chemistry**, v.117, p.771, 1937.

WERNER, E. T.; OLIVEIRA JUNIOR, L. F. G.; BONA, A. P.; CAVATI, B.; GOMES, T. D. U. H. Efeito do cloreto de cálcio na pós-colheita de goiaba Cortibel. **Bragantia**, v. 68, p.511-518, 2009.

YAMAMOTO, E. L. M.; FERREIRA, R. M. A.; FERNANDES, P. L. O.; ALBUQUERQUE, L. B.; ALVES, E. O. Função do cálcio na degradação da parede celular vegetal de frutos. **Revista Verde**, v. 6, p.49-55, 2011.

CAPÍTULO 3: COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE ATEMOIA 'THOMPSON' PULVERIZADAS COM CLORETO DE CÁLCIO

RESUMO

Este trabalho objetivou avaliar a composição do óleo essencial de atemoia 'Thompson' em quatro épocas de colheita e pulverizadas com quatro concentrações de CaCl_2 , iguais a 0%, 0,5%, 1,0 e 1,5% pulverizadas em toda a planta a cada 45 dias. As colheitas foram realizadas em três épocas em intervalos regulares de 80 dias, sendo a primeira aos 45 dias e a última aos 205 dias após a primeira aplicação. A extração do óleo essencial foi realizada por hidrodestilação e a identificação dos componentes por CG e CG/EM. Os compostos majoritários do óleo essencial de atemoia 'Thompson' foram o espatulenol, oxido de cariofileno e γ -gurjuneno quando avaliou-se as concentrações de cálcio. As concentrações de cloreto de cálcio nas plantas são influenciadas e modificam seu potencial biológico.

SUMMARY

This work aimed to evaluate the composition of essential oil of Atemoya 'Thompson' in four seasons of harvest and sprayed with four concentrations of CaCl_2 , equal to 0%, 0.5%, 1.0 and 1.5% sprayed throughout the plant every 45 days. The harvest was carried out in three seasons at regular intervals of 80 days, being the first to 45 days and the last to 205 days after the first application. Essential oil extraction was performed by hydrodistillation and identification of components by GC and GC/MS. The major compounds of the essential oil of Atemoya 'Thompson' were the espatulenol, caryophyllene oxide and γ -gurjuneno when evaluated calcium concentrations. Calcium chloride concentration pulverized in the plants are evaluated can influence the chemical profile of essential oil and change your biological potential.

INTRODUÇÃO

O gênero *Annona* é um dos mais importantes, devido principalmente aos frutos comestíveis, com destaque para a atemoia graviola e pinha. A atemoia é um híbrido, resultado do cruzamento da *Annona cherimola* Mill. com *Annona squamosa* L., que apresenta sabor adocicado e aroma característico, consumidos 'in natura' ou como polpa processada (TOKUNAGA, 2005).

Muitas espécies da família Annonaceae apresentam metabólitos secundários, de interesse comercial, destacando-se os óleos essenciais. Substâncias como α -pineno, limoneno, β -pineno, *trans*-cariofileno, óxido de cariofileno, são relatadas como as principais substâncias para a família Annonaceae (FOURNIER, et al., 1999). Na literatura consultada foram encontrados poucos estudos sobre óleo essencial extraído de folhas de atemoia (RABELO, 2014). No entanto, estudo dos frutos de plantas de atemoia cultivadas em Havana (PINO, 1999) revelou as substâncias majoritárias α -pineno (28%), limoneno (18%), β -pineno (11%) e germacreno D (8%) entre os voláteis extraídos da polpa e casca. Os trabalhos de Rabelo, 2014 e Pino, 1999, confirmam os componentes encontrados na família.

O perfil dos óleos essenciais nas plantas depende de fatores genéticos, climáticos, épocas de colheita, estado nutricional, entre outros (GOBBO NETO E LOPES, 2007). O cálcio é um nutriente essencial às plantas, participando das funções estruturais da parede celular e da membrana e como contra íon para ânions orgânicos e inorgânicos no vacúolo. Além disso, o elemento desempenha papel essencial como mensageiro intracelular no citosol (HAWKESFORD et al., 2012). A concentração de cálcio no citoplasma das células vegetais aumenta em resposta a várias condições de desenvolvimento e fatores ambientais e são cruciais para as respostas fisiológicas das plantas (REDDY, 2000). O cálcio aplicado em solução nutritiva em plantas de manjerição aumentou os teores dos sesquiterpenos e reduziu o teor de linalol (EUNJOO; KUENWOO, 2000).

O objetivo desse estudo foi avaliar a influência da aplicação de concentrações de CaCl_2 no perfil químico do óleo essencial.

MATERIAL E METODOS

O experimento foi conduzido no sítio Paraizinho em um pomar comercial de atemoia variedade Thompson com treze anos de formação, localizado a 23°06'28.3"S e 48°22'44.4"W, 931m de altitude, no município de Pardinho – SP. Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é classificado como Cwa, que corresponde a uma região com clima subtropical de inverno seco (com temperaturas inferiores a 18°C) e verão quente (com temperaturas superiores a 22°C). Em 2016 o índice pluviométrico anual foi igual a 1444,1 mm, com temperaturas médias de 19,3°C, mínimas de 13,2°C e máximas de 25,4°C.

O experimento foi instalado em delineamento experimental em blocos ao acaso com quatro concentrações de CaCl₂, seis repetições com uma planta por parcela, com espaçamento de 2,0 m entre plantas e 4,0 m entre linhas. A aplicação dos tratamentos foi realizada em toda copa com auxílio de pulverizador costal, utilizando a mistura de cloreto de cálcio (CaCl₂) ml L⁻¹ + 0,15 mL L⁻¹ de espalhante adesivo à base de Polioxietileno aquil fenol éter, variando-se a concentração de CaCl₂. A primeira aplicação foi realizada em plena floração (florada produtiva), com repetições a cada 45 dias até pouco antes da colheita dos frutos (210 dias após a primeira aplicação). Foram utilizados dois litros de calda por planta. Os tratamentos estudados com variação de CaCl₂ foram: T1- Testemunha (água + adjuvante); T2- 0,5% de CaCl₂, T3- 1,0% de CaCl₂ e T4- 1,5% de CaCl₂.

As folhas foram coletadas de vários ramos em diferentes posições da planta de atemoia, no período da manhã das 9:00 às 11:00 horas. Sessenta gramas de folhas secas de cada árvore que constituía cada parcela foram coletadas para extração do óleo.

As folhas de Ateemoia foram secas em estufa de ventilação forçada de ar a temperatura de 40°C durante cinco dias. Os óleos essenciais das folhas foram extraídos no Laboratório de plantas medicinais do Departamento de Horticultura da FCA/UNESP – Botucatu por hidrodestilação, em aparato tipo Clevenger, por duas horas e meia, e armazenados em frascos âmbar identificados e mantidos em geladeira até o momento de injeção para identificação dos componentes.

A separação, quantificação e identificação das substâncias foram realizadas no Laboratório de Produtos Naturais, do Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Recursos Genéticos Vegetais do Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas-SP.

A análise da composição química dos óleos essenciais foi realizada em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas (CG/EM - Shimadzu, QP-5000) operando a 70 eV, dotado de coluna capilar de sílica fundida DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm), hélio como gás de arraste (1 mL min^{-1}), injetor a 240 $^{\circ}\text{C}$, detector a 230 $^{\circ}\text{C}$, modo de injeção split e o seguinte programa de temperatura: 60 $^{\circ}\text{C}$ -240 $^{\circ}\text{C}$, 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$.

A identificação das substâncias foi realizada pela análise comparativa dos espectros de massas das substâncias com o banco de dados do sistema CG-EM (Nist 62.lib); índices de Retenção (IR) e dados de literatura (ADAMS, 2007). Os índices de retenção (IR) das substâncias foram obtidos, a partir da injeção de uma série de *n*-alcanos (C₉-C₄₀), aplicando-se a equação de Van den Dool & Kratz, 1963 (VAN DEN DOOL; KRATZ, 1963).

A análise quantitativa das substâncias foi realizada por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (CG-DIC; Shimadzu, GC-2010), operando nas mesmas condições que o sistema CG-EM.

As análises de Componentes Principais (ACP) e de Cluster Aglomerativa Hierárquica (CAH) (algoritmo UPGMA, índice de similaridade e Coeficiente de correlação de Pearson), foram realizadas com as porcentagens relativas das substâncias identificadas, utilizando-se o *software* XLSTAT v.2015 (ADDINSOFT®, 2015). Os dados das porcentagens relativas foram submetidos à análise de variância (teste F), sendo que as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Plantas de atemoia cv. Thompson tratadas com concentrações de CaCl₂ revelaram em seu óleo 25 substâncias, três majoritárias (espatulenol, oxido de cariofileno e γ -gurjuneno). Entre as 25, quatorze diferiram em função da concentração de CaCl₂ aplicada e foram β pineno, δ - elemeno, β - elemeno, trans-

cariofileno, β -copaeno, α -humuleno, allo-aromadendreno, γ -gurjuneno, β -selineno, γ -cadineno, δ -cadineno, espatulenol e oxido de cariofileno (Tabela 1).

Tabela 1- Composição química (% relativa) dos óleos essenciais de Ateemoia cv. 'Thompson', pulverizadas com concentrações de cloreto de cálcio. Botucatu-SP,2017.

Substancias	IR _C	IR _L	% de CaCl ₂				CV(%)	F
			0	0,5	1,0	1,5		
α -pineno	932	939	0,49	0	0,47	0,49	32,22	0,50 ^{ns}
sabineno	971	975	0,12	0	0	0	10,55	0,42 ^{ns}
β -pineno	975	979	0,41 ab	0 b	0,29 ab	1,21 a	31,62	0,05*
mirceneno	988	990	0,18	0	0	0	14,69	0,42 ^{ns}
<i>p</i> -cimemo	1021	1024	0,23	0	0	0	17,66	0,42 ^{ns}
limoneno	1025	1029	2,14	0	0,07	0	70,09	0,45 ^{ns}
linalol	1096	1096	1,59	1,37	1,89	2,55	15,49	0,11 ^{ns}
<i>trans</i> - β -terpineol	1173	1163	0	0,17	0,38	0,21	20,17	0,25 ^{ns}
acetato isobornila	1282	1285	0,12	0,17	0,34	0,18	12,58	0,28 ^{ns}
δ -elemeno	1335	1338	0,73 a	0,26 ab	0 b	0,34 ab	20,78	0,05*
β -borboneno	1382	1388	0,26	0	0,14	0,17	13,27	0,19 ^{ns}
β -elemeno	1389	1390	3,48 a	1,56 b	1,75 ab	2,74 ab	18,00	0,04*
<i>trans</i> -cariofileno	1417	1419	7,16 a	2,77 bc	1,17 c	5,53 ab	17,90	0,00**
β -copaeno	1426	1432	1,28 a	0,49 ab	0 b	0,43 ab	27,23	0,03*
α -humuleno	1450	1454	1,83 a	0,55 bc	0,35 c	1,37 ab	16,56	0,00**
allo-aromadendreno	1456	1460	0,55 a	0,08 b	0 b	0 b	16,20	0,00**
γ -gurjuneno	1481	1477	17,15 ab	9,26 b	0,23 c	22,1 a	28,88	0,00**
β -selineno	1494	1490	4,37 a	2,73 a	0,31 b	6,13 a	24,37	0,00**
γ -cadineno	1511	1512	1,97 a	0,84 ab	0,33 b	0,8 ab	18,67	0,00**
δ -cadineno	1520	1523	0 a	0,24 a	0 a	0,65 a	22,45	0,04*
germacreno B	1453	1561	3,08	4,23	3,09	2,68	13,46	0,15 ^{ns}
<i>trans</i> -nerolidol	1560	1563	1,25	0,32	0,36	1,05	30,57	0,13 ^{ns}
espatulenol	1574	1578	18,25 b	29,53 a	35,01 a	16,31 b	9,17	0,00**
oxido de cariofileno	1579	1583	9,23 b	11,85 b	20,25 a	8,5 b	14,95	0,00**
α -epi-cadinol	1637	1640	5,62 a	6,23 a	2,64 b	3,96 ab	11,73	0,00**
α -muurolol	1642	1646	0,16	0,59	0,1	0,47	31,58	0,48 ^{ns}
Cubenol	1651	1646	4,46	5,8	4,76	4,19	12,36	0,33 ^{ns}

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. ** significativo a 1% de probabilidade ($\alpha < 0,01$); * significativo a 5% de probabilidade ($\alpha < 0,05$); ns não significativo ($\alpha \geq 0,05$).

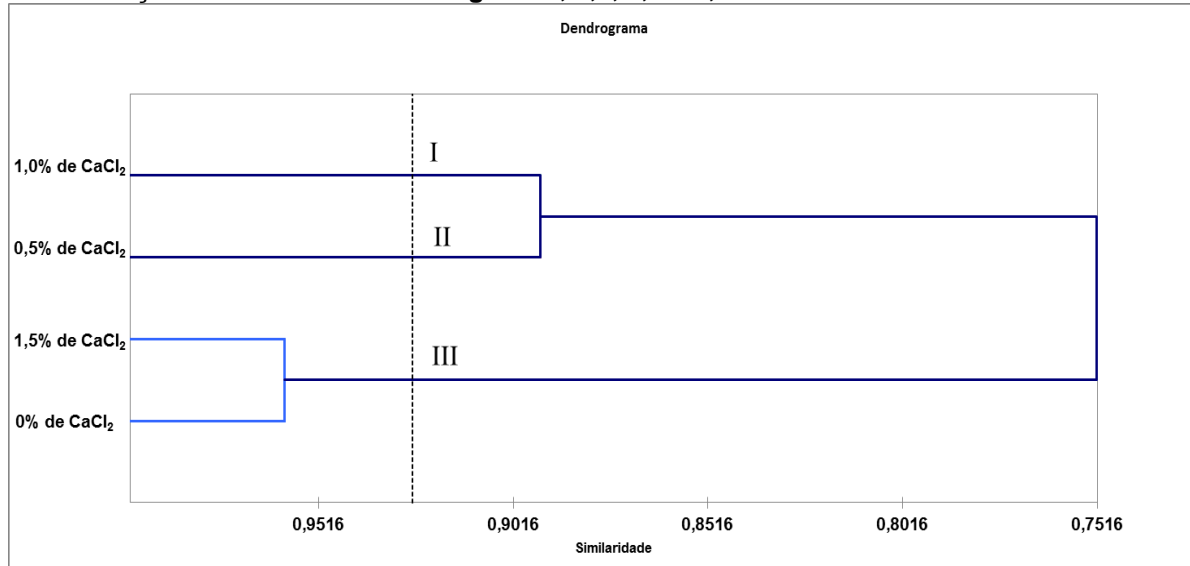
Muitos estudos demonstram que os óleos essenciais e seus constituintes possuem diversas atividades biológicas. β -elemeno e espatulenol apresentaram atividade citotóxica (WANG et al., 2005; YAO et al., 2008; LIMBERGER et al., 2004). β -selineno apresentou atividade inseticida (CHU; JIANG; LIU, 2011). Trans-

cariofileno apresentou atividade anti-inflamatória (FERNANDES et al., 2007; PASSOS et al., 2007), antialérgica (GHELARDINI et al., 2001), anestésica local (COSTA et al., 2000), antifúngica (ZHENG et al., 1992) e anticarcinogênica (CHINOUE et al., 1996). Óleo essencial de *Annona squamosa*, com elevada porcentagem de óxido de cariofileno (29,38%) apresentou atividade contra bactérias *gram* positivas, ação já descrita na literatura para esse componente (CHAVAN et al., 2006). Esses estudos demonstram que a aplicação de CaCl_2 em plantas de atemoia pode possibilitar a extração de óleo com perfil químico com potencial de uso medicinal e biológico.

No presente estudo, o cálcio não modificou o teor do monoterpeno linalol, ocorrendo variação dos teores de sesquiterpenos e nesse grupo as diferentes substâncias não apresentaram o mesmo padrão de variação. Esses resultados concordam com os verificados em manjerição, onde cálcio em solução modificou o perfil químico do óleo essencial reduzindo o linalol e aumentando os sesquiterpenos (EUNJOO; KUENWOO, 2000). Já o cálcio aplicado como CaCO_3 não modificou o perfil químico do óleo essencial de *Chrysopogon zizanioides* (DANH et al., 2009), enquanto que a variação de cálcio na solução nutritiva influenciou o rendimento de óleo essencial em *Mentha piperita* L. e interferiu na sua composição química (DEFAZIO, 2011).

A análise de Cluster Aglomerativa Hierárquica (CAH) formou 3 classes, classe I constituída por 1,0% de CaCl_2 , classe II por 0,5% de CaCl_2 e Classe III por 0 e 1,5% de CaCl_2 (Figura 1). A similaridade observada no dendograma é confirmada pela figura 2 que apresenta o perfil químico dos óleos essenciais de atemoia pulverizadas com diferentes concentrações de CaCl_2 .

Figura 1- Dendrograma obtido pela análise de Cluster Aglomerativa Hierárquica (CAH) das substâncias identificadas nos óleos essenciais de atemoia 'Thompson', pulverizadas com concentrações de cloreto de cálcio iguais 0, 0,5, 1,0 e 1,5%.



A análise de componentes principais (PCA), realizada com as porcentagens relativas das substâncias que apresentaram diferenças no óleo essencial extraído das folhas de atemoia pulverizadas com concentrações de cloreto de cálcio, confirmou a similaridade entre os tratamentos 0,5 e 1,0% de CaCl₂, sendo as substâncias discriminantes o espatulenol e o óxido de cariofileno (Tabela 1). Essa classe divergiu dos tratamentos 0 e 1,5% de CaCl₂, em que as substâncias discriminantes para o 1,5% foram g-gurjuneno, b selineno, d-cadineno e B-pineno. As substâncias discriminantes para o tratamento 0% foram d-elemeno, b- copaeno, g-cadineno, allo-aromadendreno e a-epi-cadinol (Figuras 2 e 3).

Figura 2- Composição química (%) dos óleos essenciais de plantas de Ateemoia 'Thompson' pulverizadas com concentrações de cloreto de cálcio iguais (T1=0; T2=0,5; T3=1,0 e T4=1,5%).

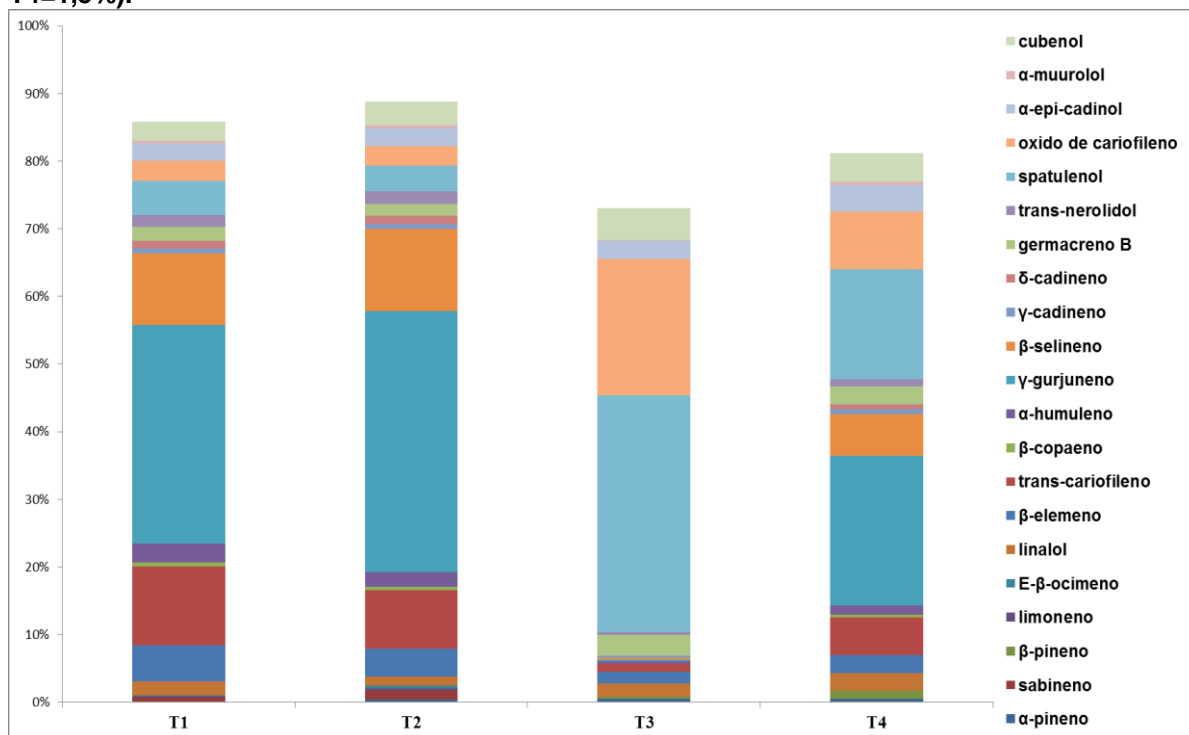
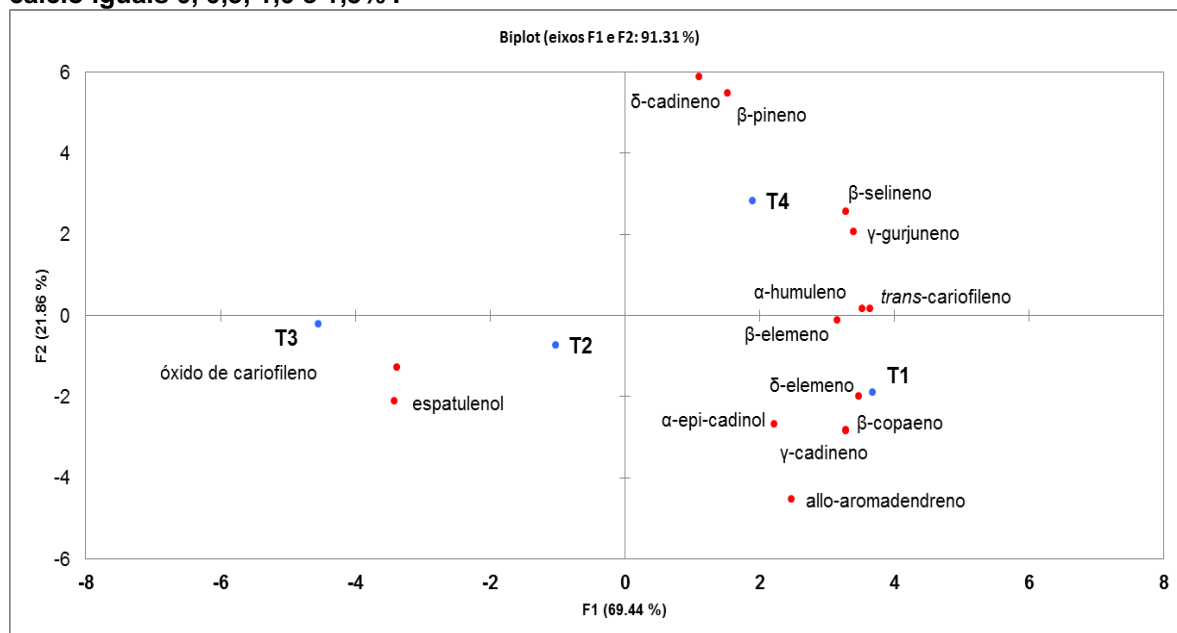


Figura 3- Análise dos Componentes Principais das substâncias cujas porcentagens variaram no óleo essencial de atemoia cv. 'Thompson', pulverizada com concentrações de cloreto de cálcio iguais 0, 0,5, 1,0 e 1,5% .



Cálcio pulverizado na forma de cloreto em plantas de atemoia influencia o perfil químico do óleo essencial, modificando seu potencial biológico.

REFERÊNCIA

- ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (fourth ed.)** Allured Publishing Corp., Carol Stream, IL, USA (2007).
- CHAVAN, M. J.; SHINDE, D. B.; NIRMAL, S. A. Major volatile constituents of *Annona squamosa* L. bark. **Journal Natural Product**, v. 20, p. 754-757, 2006.
- CHU, S. S.; JIANG, G. H.; LIU, Z. L.. Insecticidal compounds from the essential oil of Chinese medicinal herb *Atractylodes chinensis*. **Pest Manag Sci**, v.67, p.1253–1257, 2011.
- COSTA, T. R.; FERNANDESA, O. F. L.; SANTOS, S. C.; OLIVEIRA, C. M. A.; LIÃO, L. M.; FERRI, P. H.; PAULA, J. R.; FERREIRA, SALES, B. H. N.; SILVA, M. R. R. Antifungal activity of volatile constituents of *Eugenia dysenterica* leaf oil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 72, p.111–117, 2000.
- DANH, L. T.; TRUONG, P.; AUCARI, R.; FOSTER, N. Effect of Calcium on Growth Performance and Essential Oil of Vetiver Grass (*Chrysopogon zizanioides*) Grown on Lead Contaminated, **International Journal of Phytoremediation**, v. 13, p. 154-155, 2009.
- DE FAZIO, J. L. ***Mentha piperita* cultivada com variação de cálcio. Trocas gasosas e óleo essencial**. 2011. 101 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas (Botânica)) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu.
- EUNJOO, S; KUENWOO, P.. Effect of calcium ion in nutrient solution on the content and composition of essential oil of sweet basil in hydroponics. **Journal of the Korean Society for Horticultural Science**, v.41, p.598-601, 2000.
- FERNANDES, E. S.; PASSOS, G. F.; MEDEIROS, R.; CUNHA, F. M.; FERREIRA, J.; CAMPOS, M. M.; PIANOWSKI, L. F.; CALIXTO, J. B. Os efeitos antiinflamatórios dos compostos de alfa-humuleno e (-) – trans-cariofileno isolados a partir do óleo essencial de *Cordia verbenácea*. **European Journal of Pharmacology**, v. 569, p. 228-236, 2007.
- FOURNIER, G.; LEBOEUF, M.; CAVÉ, A.. ANNONACEAE ESSENTIAL OILS: A REVIEW. **Journal of Essential Oil Research**, v. 11, p. 131-142, 1999.
- GHELARDINI, C.; GALEOTTI, N.; MANNELLIA, L. D. C.; MAZZANTI, G.; BARTOLINI, A.. Local anaesthetic activity of β -caryophyllene. **IL Farmaco**, v.56, p. 387–389, 2001.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v.30, p.374-381, 2007.
- HAWKESFORD, M.; HORST, W.; KICHEY, T.; LAMBERS, H.; SCHJOERRING, J.; MOLLER, S. I.; WHITE, P. **Functions of macronutrients**. In: Marschner, P. (ed.).

Marschner's mineral nutrition of higher plants. NewYork: Elsevier, 2012. cap.6, p.135-189.

LIMBERGER, R. P.; SOBRAL, M.; HENRIQUES, A. T.; MENUT, C.; BESSIÈRE, J. M. Óleos voláteis de espécies de *Myrcia* nativas do Rio Grande do Sul. **Química Nova**, v.27, p.916-919, 2004.

PASSOS, G. F.; FERNANDES, E. S.; CUNHA, F. M.; FERREIRA, J.; PIANOWSKI, L. F.; CAMPOS, M. M.; CALIXTO, J.B.. Anti-inflammatory and anti-allergic properties of the essential oil and active compounds from *Cordia verbenacea*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.110, p. 323–333, 2007.

PINO, J. A.; ROSADO, A.. Volatile Constituents of Custard Apple (*Annona atemoya*). **Journal of Essential Oil Research**, v.11, p.303-305, 1999.

RABÊLO, S. V. **Revisão de alcaloides do gênero Annona, estudo fitoquímico e avaliação da atividade biológica de atemoia (*Annona cherimola* x *Annona squamosa*).** -- Petrolina, 2014. 234 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais do Semiárido) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Petrolina, Petrolina-PE, 2014.

REDDY, V.S.; REDDY, A. S. N. Proteomics of calcium-signaling components in plants. **Phytochemistry**, v.65, p.1745–1776, 2004.

TOKUNAGA, T. 2005. **A cultura da atemoia. Cati, Campinas.**

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, D. J. 1963. A generalization of the retention index system including liner temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J Chromatography*, v.11, p. 463-467, 1963.

WANG, G.; LI, X.; HUANG, F.; ZHAO, J.; DING, H.; CUNNINGHAM, C.; COAD, J. E.; FLYNN, D. C.; REED, E.; LI, Q. Q. Antitumor effect of beta-elemene in non-small-cell lung cancer cells is mediated via induction of cell cycle arrest and apoptotic cell death. **Cell Mol Life Sci**, v.62, p.881-893, 2005.

YAO, Y. Q.; DING, X.; JIA, Y. C.; HUANG, C. X.; WANG, Y. Z.; XU, Y. H.. **Anti-tumor effect of beta-elemene in glioblastoma cells depends** on p38 MAPK activation. *Cancer Lett.*, v. 264, p.127-134, 2008. ZHENG, G.Q.; KENNEY, P.M.; LAM, L.K.. Sesquiterpenes from clove (*Eugenia caryophyllata*) as potential anticarcinogenic agents. *Journal of Natural Products*, v.55, p.999-1003, 1992.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As trocas gasosas revelaram-se mais eficientes nas plantas de atemoia cv. 'Thompson' pulverizadas com 1,0% de CaCl_2 . Enzimas antioxidantes podem ter contribuído com essa eficiência. Nessas plantas, os frutos apresentaram maior firmeza, condição desejável, uma vez que, o transporte é um dos gargalos no escoamento da produção para pequenas, médias e longas distancias, sendo importante a maior resistência do fruto ao choque mecânico, causador de danos.

Cumprе destacar que a relação inversa observada entre as substancias espatulenol e γ -gurjuneno verificada nas plantas cultivadas com variação de CaCl_2 , sugere interação entre reações que compõe a rota metabólica de síntese desses componentes. A literatura consultada não esclarece tal resultado.

Experimentos futuros poderão contemplar também a avaliação das taxas de respiração, síntese de etileno, tempo de prateleira e análise sensorial dos frutos.

REFERÊNCIAS

BRANDÃO FILHO, J.U.T.; GOTO, R.; GUIMARÃES, V.F.; HABERMANN, G.; RODRIGUES, J.D.; CALLEGARI, O. Influência da enxertia nas trocas gasosas de dois híbridos de berinjela cultivados em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira, Brasília**, v. 21, n. 3, p. 474-477, 2003.

BUSH, D.S.. Calcium regulation in plant cells and its role in signaling. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology** 46: 95–122, 1995.

DORDAS, C. Foliar application of calcium and magnesium improves growth, yield, and essential oil yield of oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*). **Industrial crops and products**, v. 29, p. 599-608, 2009.

DZIDA K. Biological value and essential oil content in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) depending on calcium fertilization and cultivar. **Acta Sci.Pol. Hortorum Cultus**, v. 9, p. 153-161, 2010.

EUNJOO, S; KUENWOO, P. Effect of calcium ion in nutrient solution on the content and composition of essential oil of sweet basil in hydroponics. **Journal of the Korean Society for Horticultural Science**, v.41, p.598-601, 2000.

FIRMINO, A. C.; TOZZE JUNIOR, H.J.; COSTA, P.N.; FURTADO, E. L. *Ceratocystis fimbriata* causando murcha em atemóia na região de Botucatu-SP. **Summa phytopathol. [online]**, v.38, n.2, p. 171-171. 2012.

FOYER, C. H.; GALTIER, N. Source-sink interaction and communication in leaves. In: ZAMSKI, E.; SCHAFFER, A. A. (Ed.). **Photoassimilate distribution in plants and crops: Source-sink relationships**. New York: Marcel Dekker INC, 1996. cap. 13, p.331-340.

FRANNA, SA; SUFFREDINI, IB. Determinação da atividade citotóxica a artemia de extratos de Annonaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p.15-16, 2002.

GONÇALVES, G. L. P.; DOMINGUES, V. C. ; RIBEIRO, L. P. R.; FERNANDES, J. B.; FERNANDES, M. F. G; FORIM, M. R.; VENDRAMIM, J. D. Compounds from *Duguetia lanceolata* St.- Hil. (Annonaceae) bioactive against *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 360–367, 2017.

HUTCHINSON, J. **The Genera of Flowering Plants**, v. 1, Oxford: University Press, 1974.

INÁCIO, M. C.; SILVA, E. D. S .D.; SOUZA, M. E. D.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J.D.. Mensageiros secundários relacionados à ação dos hormônios vegetais. **Revista Brasileira de Agrociencia**, p.438-446, 2011.

JOLY, A. B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. 13.ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional. 2002. 777p.

LARCHER, W. ECOFISIOLOGIA vegetal. São Carlos: Ed. Rima Artes e Textos, 2006. 531p.

LAWSON, T.; KRAMER, D. M.; RAINES, C. A. Improving yield by exploiting mechanisms underlying natural variation of photosynthesis. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, n. 2, p. 215-220, 2012.

MAAS, P.J., DE KAMER, H. M. V., JUNIKKA, L., DE MELLO-SILVA, R., RAINER, H., 2001. **Annonaceae from central-eastern Brazil. Rodriguésia**, 61–94.

MANICA, I.; ICUMA, I. M.; JUNQUEIRA, K.P; OLIVEIRA, M. A. S.; CUNHA, M. M., OLIVEIRA Jr., M. E.; JUNQUEIRA, N.T.V.; ALVES, R.T. Frutas anonáceas: ata ou pinha, atemólia, cherimólia e graviola: Tecnologia de produção, colheita, mercado. Porto Alegre: Cinco continentes, 2003. 596p.

MENGEL, K.; KIRKBY, E. A. 2000 Principles of Plant Nutrition. 4th edn. International Potash Institute, Bern, Switzerland, 687 p..

MORAIS L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, p.4050-4063, 2009.

MOSCA, J. L.; LIMA, G. P. P. **Desenvolvimento de Frutos de Atemóia (*Annona cherimola* L. x *Annona squamosa* L.) cv. Gefner**. Disponível em: http://www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/arquivos/artigo_1577.pdf. Acesso em: 20 Mai. 2017.

MOSCA, J. L.; CAVALCANTE, C. E. B.; DANTAS, T. M. D. **Características botânicas das principais anonáceas e aspectos fisiológicos de maturação**. Fortaleza: Embrapa agroindústria tropical, 2006. 28p.

NATALE, W.; PRADO, R. M.; MÔRO, F. V. Alterações anatômicas induzidas pelo cálcio na parede celular de frutos de goiabeira. **Pesquisa Agropecuária**, v.40,p.1239-1242, 2005.

PIRIE, M. D; DOYLE, J. A. Dating clades with fossils and molecules: the case of Annonaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.164, p. 84-116, 2012.

PRATELLA G.C. Note di biopatologia e tecnica di conservazionetrasporto dei frutti: l'effetto del calcio in post-raccolta. **Rivista di Frutticoltura**, v.6, p.70-71, 2003.

RAMALHO, J. C. et al. **Effects of calcium deficiency on *Coffea arabica*. Nutrient changes and correlation of calcium levels with some photosynthetic parameters. *Plant and Soil***, v. 172, p. 87-96, 1995. Apud: DE FAZIO, J. L. *Mentha piperita* Cultivada Com Variação De Cálcio. Trocas Gasosas e Óleo Essencial. 2011. Tese (Doutorado) Ciências Biológicas (Botânica), Fisiologia e Bioquímica Vegetal. Instituto de Biociências de Botucatu (IBB), Botucatu, 2010.

REDDY, V. S.; REDDY, A. S. N. Proteomics of calcium-signaling components in plants. **Phytochemistry**, v.65, p.1745–1776, 2004.

RUDD, J. J.; FRANKLIN-TONG, V. E. Unravelling response-specificity in Ca²⁺ signalling pathways in plant cells. **New Phytologist**, v. 151, p. 7-33, 2001.

SANDERS, D.; AGUIUBROWNLEE, C.; HARPER, J.F.. Communicating with **Calcium. Plant Cell**, v. 11, p. 691-706, 1999.

SAO JOSE, A. R.; PIRES, M. M.; FREITAS, A. L. G. E.; RIBEIRO, D.E.; PEREZ, L. A. A. Atualidades e perspectivas das Anonáceas no mundo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. spe1, 2014.

SIEM - **Sistema de Informação e Estatística de Mercado da Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo**. São Paulo: CEAGESP, 2013. Não publicado.

SILVA, D. B; MATOS, M. F. C; NAKASHITA, S.Y.; MISU, C.K.; YOSHIDA, N.C.; CAROLLO, C. A.; FABRI, J. R.; MIGLIO, H. S.; SIQUEIRA; J. M. Isolamento e avaliação da atividade citotóxica de alguns alcalóides oxaporfínicos obtidos de annonaceae. **Químia Nova**, v. 30, p.1809-1812, 2007.

SILVA, A. V. C.; ANDRADE, D. G.; Y P.; Carnellosi, m.a.g; Muniz, e.n.; Narain, N. Uso de embalagens e refrigeração na conservação de atemóia. **Ciência Tecnologia Alimentar** ,v.29, n.2, p. 300-304, 2009.

SILVA, A. V. C.; MUNIZ, E. N. Qualidade de atemóia colhida em dois estádios de maturação. **Revista Caatinga**, v. 24, n. 4, p. 9-13, 2011.

SIMÕES, C. M. O. et al; **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre: UFRGS/UFSC, 2004. 475p.

SIQUEIRA, C. A. T. et al. Chemical constituents of the volatile oil from leaves of *Annona coriacea* and in vitro antiprotozoal activity. **Brazilian Journal of Pharmacognos**. v. 21, n.1, p. 33-40, 2011.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2005. 640p.

STEVENS P. F. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/> Angiosperm Phylogeny Website acessado em 06 de fevereiro de 2017.

TOKUNAGA, T. A. **Cultura da atemoia**. 2.ed. Campinas: CATI, 2005. 80p

WATANABE, H. S.; OLIVEIRA, S. L.; CAMARA, F. M.; ALMEIDA, G. V. B.; Alves, A. A. Perfil de comercialização das Anonáceas nas Ceasas brasileira,s. **Revista Brasileira de Fruticultura[online]**, v.36, n.spe1, p. 65-70. 2014.

WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R.. **Calcium in Plants. Annals of Botanical**. v.92 p.487-511, 2003.

ZHU, X.-G.; SONG, Q.; ORT, D. R. Elements of a dynamic systems model of canopy photosynthesis. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 15, n. 3, p. 237-244, 2012.