

JOYCE HELENA MODESTO

**APLICAÇÃO DE CLORETO DE CÁLCIO EM PRÉ-COLHEITA NOS FRUTOS DE
AMOREIRA-PRETA 'TUPY'**

Botucatu

2017

JOYCE HELENA MODESTO

**APLICAÇÃO DE CLORETO DE CÁLCIO EM PRÉ-COLHEITA NOS FRUTOS DE
AMOREIRA-PRETA ‘TUPY’**

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

Orientadora: Prof^a Dr^a Sarita Leonel

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)

Modesto, Joyce Helena, 1988-
M691a Aplicação de cloreto de cálcio em pré-colheita nos
 frutos de amoreira-preta 'Tupy' / Joyce Helena Modesto. -
 Botucatu : [s.n.], 2017
 76 p. : il., color., grafs., tabs.

 Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2017
 Orientador: Sarita Leonel
 Inclui bibliografia

 1. Amora - Cultivo. 2. Cloreto de cálcio. 3. Frutas - Conservação. I. Leonel, Sarita. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade de Ciências Agrônômicas. III. Título.

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte"

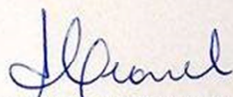
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: APLICAÇÃO DE CLORETO DE CÁLCIO EM PRÉ-COLHEITA NOS FRUTOS DE AMOREIRA PRETA 'TUPY'

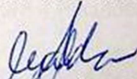
AUTORA: JOYCE HELENA MODESTO

ORIENTADORA: SARITA LEONEL

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



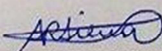
Prof.ª Dra. SARITA LEONEL
Dep de Horticultura / Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu



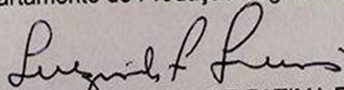
Prof.ª Dra. MARIA CECÍLIA DE ARRUDA PALHARINI
Polo Regional Centro Oeste / APTA



Prof.ª Dra. REGINA MARTA EVANGELISTA
Dep de Horticultura / Faculdade de Ciências Agrônômica - UNESP



Prof.ª Dra. SIMONE RODRIGUES DA SILVA
Departamento de Produção Vegetal / ESALQ - USP - Piracicaba/SP



Prof.ª Dra. TEREZINHA DE FATIMA FUMIS
Depto de Ciências Biológicas / Faculdade de Ciências

Botucatu, 10 de abril de 2017.

À minha amada mãe Maria Helena, ser de luz que ilumina
meus dias e quem sempre me fortalece para enfrentar as
dificuldades da vida e incentiva à jamais desistir dos meus
sonhos,
dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me proteger, conceder bênçãos diárias e me dar forças para finalizar mais esta etapa da minha vida profissional.

À Faculdade de Ciências Agrônômicas da Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho” e ao Programa de Pós-graduação em Agronomia (Horticultura), por ter propiciado condições para a realização deste trabalho.

À minha orientadora Prof^a Dr^a Sarita Leonel, pela orientação, paciência, dedicação, carinho e amizade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos fornecida.

Aos meus pais Antonio Carlos Modesto e Maria Helena Batista Ramos Modesto, pela educação e pela confiança que sempre atribuíram a mim.

Ao meu irmão Joel Antonio Modesto, por me alegrar e ajudar ao longo dessa caminhada.

A todos meus familiares e amigos, que sempre me motivaram a seguir em frente.

A todos os meus amigos do curso de Pós-graduação, em especial a Rafael Augusto Ferraz, Jackson Mirellys Azêvedo Souza, Daniela Mota Segantini, Marcelo de Souza Silva, Rafael Bibiano Ferreira, Bruno Henrique Leite Gonçalves, Luis Lessi dos Reis, Lucas Lencione, Andréa Carvalho da Silva, Erika Tiemi Suzuki e Ana Carolina Batista Bolfarini.

Às minhas parceiras de “teto”, Adriana Aparecida Gabia e Ana Tereza Durão Galão, pelos momentos tristes e felizes na convivência dessa caminhada, e por cada minuto de atenção que fomos o apoio uma da outra.

Ao grupo de queridos amigos e companheiros de trabalho, que foi o mais engrandecedor possível, Jack, Chaves, Marcelinho e Bibi; fazem parte da minha história de vida, sou grata por todos os sorrisos, lágrimas, conversas, conselhos, trabalhos, estudos, apoios, aprendizados, bagunças, festas, enfim, tornaram meus dias em Botucatu mais leves e felizes.

Aos funcionários da FCA/UNESP e da Fazenda Experimental São Manuel, pelo auxílio e disposição na realização deste trabalho.

A todos os professores de Pós-graduação do Departamento de Horticultura, pelos ensinamentos compartilhados.

A todos que de alguma forma contribuíram para esta conquista.

RESUMO

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental São Manuel, da Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP, Campus de Botucatu (SP), nos anos de 2014 e 2015. Objetivou-se avaliar o efeito da aplicação pré-colheita de cloreto de cálcio (CaCl_2) na qualidade de frutos da amoreira preta 'Tupy'. Foram avaliadas plantas, cujas mudas foram plantadas em 23/06/2009. Conduziram-se seis hastes mais vigorosas, numa área experimental não irrigada, no sistema de espaldeira em T, com dois arames e com 1,2 metros de altura. O espaçamento foi de 0,6 m entre plantas e 4,0 m entrelinhas e a densidade de plantio de 4.166 plantas ha^{-1} . No experimento o delineamento experimental adotado foi de blocos casualizados em fatorial 4 x 3, sendo o primeiro fator correspondente às concentrações de cloreto de cálcio (0; 1,5; 3 e 4,5 %) e o segundo aos números de aplicações (1, 2 e 3 aplicações). A fase fenológica adotada para a primeira aplicação do cloreto de cálcio foi dos frutos verdes em início de inchamento e ainda aderidos aos restos florais. Quando realizada mais de uma aplicação, havia um intervalo de cinco dias entre uma e outra. Foram realizadas avaliações físicas, físico-químicas, bioquímicas e enzimáticas nos frutos. Os níveis de Ca^{+2} foram aferidos nas folhas antes e após as aplicações com CaCl_2 e nos frutos logo que realizada a colheita. A aplicação de CaCl_2 em pré-colheita, na concentração de 4,5 %, quando os frutos estavam na fase fenológica de inchamento dos frutos com restos florais, promove menor perda de massa, maior firmeza e conteúdo de ácido ascórbico em amoras-pretas 'Tupy'. Maiores concentrações de CaCl_2 promovem decréscimo dos teores de açúcares solúveis redutores e totais, atividade antioxidante e polifenóis totais.

Palavras-chave: *Rubus* spp.; nutrição mineral; Ca^{+2} ; firmeza dos frutos; compostos bioativos.

ABSTRACT

The objective of this experiment was to evaluate the effect of pre-harvest application of calcium chloride (CaCl_2) on 'Tupy' blackberry fruits, which was carried out at the São Manuel Experimental Farm, at the Faculty of Agronomic Sciences of UNESP, Botucatu Campus (SP), in the years 2014 and 2015. As the fruits of the black mulberry 'Tupy' plants were evaluated, whose seedlings were planted on 06/23/2009. Six more vigorous stems were conducted in a non-irrigated experimental area in the T-tier system with two wires and 1,2 meters in height. The spacing was 0,6 m between plants and 4,0 m between rows and the planting density of 4,166 plants ha^{-1} . In the experiment, the experimental design was a randomized block in factorial 4 x 3, the first factor corresponding to the concentrations of calcium chloride (0, 1,5, 3 and 4,5 %) and the second to the numbers of applications (1, 2 and 3 applications). The phonological phase adopted for the first application of calcium chloride was of the green fruits at the beginning of swelling and still adhered to the flower remains. When more than one application was performed, there was an interval of five days between one application and another. Physical, physicochemical, biochemical and enzymatic evaluations were performed on the fruits. The levels of Ca^{+2} were measured in the leaves before and after the applications with CaCl_2 and in the fruits as soon as the harvest was carried out. The application of pre-harvest CaCl_2 , at a concentration of 4,5 %, when fruits were in the phonological stage of fruit swelling with floral remains, promotes lower weight loss, higher firmness and ascorbic acid content in blackberries 'Tupy'. Higher concentrations of CaCl_2 promote reduction of soluble and total soluble sugars, antioxidant activity and total polyphenols.

Keywords: *Rubus* spp.; nutrição mineral; Ca^{+2} ; fruits firmness; bioactive compounds.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

Figura 1 - Médias de volume pluviométrico e de temperaturas mínimas, médias e máximas do município de São Manuel – SP, de janeiro de 2014 a dezembro de 2015.....	24
Figura 2 - Vista parcial da área experimental com plantas de amoreira-preta ‘Tupy’. São Manuel – SP, 2015.....	25
Figura 3 - Frutos de amora-preta ‘Tupy’ no estágio de maturação “preto-brilhante”. São Manuel-SP, 2015.....	20
Figura 4 - Vista parcial da área experimental com plantas de amoreira-preta ‘Tupy’ quinze dias após desfolha. São Manuel-SP, 2015.....	28
Figura 5 - Quantidade de cálcio nas folhas de amoreira-preta ‘Tupy’, após aplicação de CaCl_2 em pré-colheita, em função das concentrações de CaCl_2 e número de aplicações. São Manuel, SP. 2014 e 2015.....	37
Figura 6 - Quantidade de cálcio nos frutos de amoreira-preta ‘Tupy’, após aplicação de CaCl_2 em pré-colheita, em função das concentrações de CaCl_2 e número de aplicações. São Manuel, SP. 2014 e 2015.....	38
Figura 7 - Comprimento de frutos de amoreira-preta ‘Tupy’ em função das diferentes concentrações de CaCl_2 , aplicadas em pré-colheita. São Manuel, SP. 2014 e 2015.....	41
Figura 8 - Diâmetro de frutos de amoreira-preta ‘Tupy’ em função das diferentes concentrações de CaCl_2 , aplicadas em pré-colheita. São Manuel, SP. 2014 e 2015.....	42
Figura 9 - Formato de frutos de amoreira-preta ‘Tupy’ em função das diferentes concentrações de CaCl_2 , aplicadas em pré-colheita. São Manuel, SP. 2014 e 2015.....	42
Figura 10 - Massa de frutos de amoreira-preta ‘Tupy’ em função das diferentes concentrações de CaCl_2 , aplicadas em pré-colheita. São Manuel, SP. 2014 e 2015.....	43
Figura 11 - Firmeza de frutos de amoreira-preta ‘Tupy’ em função das diferentes concentrações de CaCl_2 , aplicadas em pré-colheita. São Manuel, SP. 2014 e 2015.....	44

Figura 12 - Perda de massa de frutos de amoreira-preta 'Tupy' em função das diferentes concentrações de CaCl_2 , armazenados por 6 dias a temperatura de 5 ± 1 °C e umidade relativa (UR) 85 ± 5 %. São Manuel, SP. 2014 e 2015.....	46
Figura 13 - Perda de massa (em função das concentrações de CaCl_2) de frutos de amoreira-preta 'Tupy' em função do tempo de armazenamento a 5 ± 1 °C e umidade relativa (UR) 85 ± 5 %. São Manuel, SP. 2014 e 2015.....	48
Figura 14 - Perda de massa (em função do número de aplicações de CaCl_2) de frutos de amoreira-preta 'Tupy' em função do tempo de armazenamento à 5 ± 1 °C e umidade relativa (UR) 85 ± 5 %. São Manuel, SP. 2014 e 2015.....	48
Figura 15 - Sólidos solúveis de frutos de amoreira-preta 'Tupy' em função das diferentes concentrações de CaCl_2 , aplicadas em pré-colheita. São Manuel, SP. 2014 e 2015.....	53
Figura 16 - Acidez titulável de frutos de amoreira-preta 'Tupy' em função das diferentes concentrações de CaCl_2 , aplicadas em pré-colheita. São Manuel, SP. 2014 e 2015.....	54
Figura 17 - Ácido ascórbico de frutos de amoreira-preta 'Tupy' em função das diferentes concentrações de CaCl_2 , aplicadas em pré-colheita. São Manuel, SP. 2014 e 2015.....	55
Figura 18 - Açúcar solúvel total de amoreira-preta 'Tupy' em função das diferentes concentrações de CaCl_2 , aplicadas em pré-colheita. São Manuel, SP. 2014 e 2015.....	56
Figura 19 - Açúcar solúvel redutor de amoreira-preta 'Tupy' em função das diferentes concentrações de CaCl_2 , aplicadas em pré-colheita. São Manuel, SP. 2014 e 2015.....	57
Figura 20 - Atividade antioxidante de frutos de amoreira-preta 'Tupy' em função das diferentes concentrações de CaCl_2 , aplicadas em pré-colheita. São Manuel, SP. 2014 e 2015.....	59
Figura 21 - Polifenóis totais de frutos de amoreira-preta 'Tupy' em função das diferentes concentrações de CaCl_2 , aplicadas em pré-colheita. São Manuel, SP. 2014 e 2015.....	60

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Tabela 1 - Análise de solo da área experimental de amoreira-preta, 2014 e 2015. São Manuel – SP.....	29
Tabela 2 - Concentrações dos macronutrientes N, P, K, Ca, Mg e S, nas folhas da amoreira-preta ‘Tupy’ de cada tratamento, antes e após aplicação de CaCl_2 , na safra 2014, em São Manuel - SP.....	35
Tabela 3 - Concentrações dos macronutrientes N, P, K, Ca, Mg e S, nas folhas da amoreira-preta ‘Tupy’ de cada tratamento, antes e após aplicação de CaCl_2 , na safra 2015, em São Manuel - SP.....	36
Tabela 4 - Concentrações dos macronutrientes N, P, K, Ca, Mg e S, nos frutos da amoreira-preta ‘Tupy’ de cada tratamento, após aplicação de CaCl_2 , nas safras 2014 e 2015, em São Manuel - SP.....	36
Tabela 5 - Valores do Teste F e média da análise de variância do comprimento, diâmetro, formato (comprimento/diâmetro), massa média e firmeza de frutos de amoreira-preta ‘Tupy’, colhidos em São Manuel - SP nos ciclos agrícolas de 2014 e 2015.....	39
Tabela 6 - Dados médios dos frutos de amoreira-preta ‘Tupy’ de comprimento (mm), diâmetro (mm), formato de fruto (comprimento/diâmetro), massa (g) e firmeza (N), referentes às concentrações de CaCl_2 e do número de aplicações correspondente aos ciclos agrícolas de 2014 e 2015, em São Manuel - SP.....	40
Tabela 7 - Valores do Teste F e média da análise de variância do pH, sólidos solúveis (SS), acidez titulável (Aci. tit.), “ratio”, ácido ascórbico (AA), açúcar solúvel redutor (AR) e açúcar solúvel total (AT) de frutos de amoreira-preta ‘Tupy’, colhidos em São Manuel-SP nos ciclos agrícolas de 2014 e 2015.....	50
Tabela 8 - Dados médios dos frutos de amoreira-preta ‘Tupy’ de pH, sólidos solúveis ($^{\circ}\text{Brix}$), acidez titulável (mg ácido cítrico 100 g^{-1}), “ratio”, ácido ascórbico ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$), açúcar solúvel redutor (%) e açúcar solúvel total (%), referentes às concentrações de CaCl_2 e do número de aplicações correspondente aos ciclos agrícolas de 2014 e 2015, em São Manuel - SP.....	51
Tabela 9 - Valores do Teste F e média da análise de variância da atividade antioxidante, polifenóis totais, flavonóides e antocianinas de frutos de amoreira-preta	

‘Tupy’, colhidos em São Manuel-SP nos ciclos agrícolas de 2014 e 2015.....57

Tabela 10 - Dados médios dos frutos de amoreira-preta ‘Tupy’ de atividade antioxidante (μmol ácido ascórbico g^{-1}), polifenóis totais (mg 100 g^{-1}), flavonóides (mg 100 g^{-1}), antocianinas (mg 100 g^{-1}), referentes às concentrações de CaCl_2 e do número de aplicações correspondente aos ciclos agrícolas de 2014 e 2015, em São Manuel - SP.....58

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 CAPÍTULO I – APLICAÇÃO DE CLORETO DE CÁLCIO EM PRÉ-COLHEITA NOS FRUTOS DE AMOREIRA-PRETA ‘TUPY’	21
2.1 Introdução	22
2.2 Material e métodos.....	24
2.2.1 Localização e caracterização da área experimental	24
2.2.2 Tratamentos e delineamento experimental.....	25
2.2.3 Manejo cultural da área experimental.....	27
2.2.4 Características avaliadas.....	30
2.2.4.1 Avaliações físicas, físico-químicas e bioquímicas	31
2.2.4.2 Avaliações enzimáticas	33
2.2.5 Análise estatística	34
2.3 Resultados e discussão	35
2.3.1 Avaliação de cálcio nas folhas e nos frutos	35
2.3.2 Avaliações físicas, físico-químicas e bioquímicas.....	39
2.3.3 Avaliações enzimáticas.....	60
2.4 Conclusões	62
2.5 Referências.....	62
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	73
REFERÊNCIAS.....	74

1 INTRODUÇÃO

A amora-preta, a framboesa e o mirtilo são frutas que estão incluídas num grupo denominado, nos Estados Unidos, de *berries* (SILVA, 2007). No Brasil, tal grupo é bastante difundido na maior parte das tradicionais regiões produtoras de frutíferas, com destaque para o Rio Grande do Sul. A procura por estas frutas pelo consumidor é resultante da atratividade atribuída ao sabor e à cor, e mais recentemente, aos benefícios para a saúde devido à presença de antioxidantes. Tais características proporcionam um cenário promissor para o cultivo das pequenas frutas, sobretudo no Brasil, que comparado com países como Chile, Estados Unidos e Itália, seu cultivo ainda pode ser incrementado (HOFFMANN et al., 2005).

O interesse na cultura tem despertado a atenção dos produtores, principalmente em relação à produção para o mercado *in natura*, existindo alguns fatores que colaboraram para este aumento, tais como: lançamento de cultivares mais adaptadas e sem espinhos, com melhor qualidade de frutas; o aumento dos esforços de propaganda, no sentido de promover benefícios à saúde; melhoria das tecnologias de manejo, além do desenvolvimento de melhores técnicas pós-colheita (CLARK, 2006).

Uma série de funções e constituintes químicos é abordada na literatura internacional, relacionados aos atributos da amora-preta, estando, entre estes, o ácido elágico, que possui funções anti-mutagênicas e é um poderoso inibidor da indução química do câncer (ANTUNES, 2004).

As atividades biológicas das frutas vermelhas, como a amora-preta, são também atribuídas ao seu elevado teor de fitoquímicos, como os flavonóides (antocianinas e flavonóis), taninos (proantocianidinas, elagitaninos e galotaninos), estilbenóides (como o resveratrol) e ácidos fenólicos (derivados do ácido hidroxibenzóico e hidroxicinâmicos) (SEERAM et al., 2006).

Ainda existe limitação de mercado para os pequenos frutos, como amora-preta, mirtilo e framboesa (PAGOT; HOFFMANN, 2003), provavelmente, devido a baixa oferta de produto no mercado brasileiro, a fragilidade da fruta e deficiente conservação em pós-colheita (ANTUNES et al., 2003).

A amora é uma fruta muito delicada, e apresenta alta sensibilidade ao dano mecânico, o que afeta diretamente sua vida útil e obriga a maior parte dos produtores a direcionarem seus frutos, principalmente para o mercado interno, visto

que possui alta perecibilidade. Muitos produtores têm necessidade de gastos adicionais com câmaras frias, para aumentar o tempo de conservação das frutas. Esse se constitui no principal entrave para a cadeia produtiva da frutífera.

A utilização de cálcio, com a finalidade de manter a qualidade e vida útil das frutas, tem mostrado bons resultados em pré ou pós-colheita, como demonstrado em goiabas, mangas, maçãs 'Fuji', mirtilos, maçãs 'Golden Reinders', morangos, figos, bananas e mamões (NATALE et al., 2005; SILVA et al., 2008; BRACKMANN et al., 2010; ANGELETTI et al., 2010; ORTIZ et al., 2011; CHEN et al., 2011; PAULA et al., 2007 e IRFAN et al., 2013; PEREIRA et al., 2015; SILVA et al., 2015).

Neste cenário, o cálcio pode ser considerado um nutriente de grande importância para a amora, uma vez que, segundo Poovaiah (1986), este tem como principal função, no fruto, promover resistência à parede celular e manter a firmeza do mesmo. Assim, ultimamente, está sendo discutido o papel da nutrição mineral, na melhoria da qualidade dos frutos, especialmente, em relação aos aspectos físicos e tecnológicos das frutas, como o teor de sólidos solúveis, a acidez e desordens fisiológicas; tais fatores são responsáveis pelo aumento da vida útil e comercialização do produto (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Partindo do pressuposto de que o aumento da vida útil dos frutos resulta da maior resistência dos mesmos, a aplicação pré-colheita de cálcio poderá possibilitar a obtenção de frutos com maior qualidade, agregando valor aos frutos e poderá facilitar aos produtores uma maior distribuição da produção, para mercados mais distantes, da mesma forma.

2 CAPÍTULO I – APLICAÇÃO DE CLORETO DE CÁLCIO EM PRÉ-COLHEITA NOS FRUTOS DE AMOREIRA-PRETA ‘TUPY’

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito da aplicação pré-colheita de cloreto de cálcio na qualidade de frutos da amoreira preta ‘Tupy’. O trabalho foi conduzido na Fazenda Experimental São Manuel, da Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP, campus de Botucatu, SP, nos anos de 2014 e 2015. Conduziram-se seis hastes mais vigorosas, numa área experimental não irrigada, no sistema de espaldeira em T, com dois arames e com 1,2 metros de altura. O espaçamento foi de 0,6 m entre plantas e 4,0 m entrelinhas e a densidade de plantio de 4.166 plantas ha⁻¹. O delineamento experimental adotado foi de blocos casualizados em fatorial 4 x 3, sendo o primeiro fator correspondente às concentrações de cloreto de cálcio (0; 1,5; 3 e 4,5 %) e o segundo aos números de aplicações (1, 2 e 3 aplicações). A fase fenológica adotada para a primeira aplicação do cloreto de cálcio foi quando os frutos verdes encontravam-se em início de inchamento e ainda aderidos aos restos florais. Quando realizada mais de uma aplicação, havia um intervalo de cinco dias entre uma e outra. Foram realizadas avaliações físicas, físico-químicas, bioquímicas e enzimáticas nos frutos. Os níveis de Ca⁺² foram aferidos nas folhas antes e após as aplicações com CaCl₂ e também nos frutos logo após a colheita. A aplicação de CaCl₂ em pré-colheita, na concentração de 4,5 %, quando os frutos estavam na fase fenológica de inchamento dos frutos com restos florais, promove menor perda de massa, maior firmeza e conteúdo de ácido ascórbico em amoras-pretas ‘Tupy’. Maiores concentrações de CaCl₂ promovem decréscimo dos teores de açúcares solúveis redutores e totais, atividade antioxidante e polifenóis totais.

Palavras-chave: *Rubus* spp.; concentrações; aplicações; amoras-pretas; textura.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of the pre-harvest application of calcium chloride as 'Tupy' blackberry fruit. The work was conducted at the São Manuel Experimental Farm, at the Faculty of Agronomic Sciences of UNESP, Campus Botucatu, SP, in the years 2014 and 2015. Six more vigorous stems were conducted in a non-irrigated experimental area in the T-tier system with two wires and 1,2 meters in height. The spacing was 0,6 m between plants and 4,0 m between

rows and the planting density of 4,166 plants ha⁻¹. The experimental design was randomized blocks in factorial 4 x 3, the first factor corresponding to the concentrations of calcium chloride (0, 1,5, 3 and 4,5 %) and the second one to the numbers of applications (1, 2 And 3 applications). The phenological phase adopted for the first application of calcium chloride was when the green fruits were at the beginning of swelling and still adhered to the floral remains. When more than one application was performed, there was an interval of five days between one application and another. Physical, physicochemical, biochemical and enzymatic evaluations were carried out on the fruits. The levels of Ca⁺² were measured in the leaves before and after the applications with CaCl₂ and also in the fruits after harvest. The application of pre-harvest CaCl₂, at a concentration of 4,5 %, when fruits were in the phenological stage of fruit swelling with floral remains, promotes lower weight loss, higher firmness and ascorbic acid content in blackberries 'Tupy'. Higher concentrations of CaCl₂ promote reduction of soluble and total soluble sugars, antioxidant activity and total polyphenols.

Keywords: *Rubus* spp.; concentrations; applications; blackberries; texture.

2.1 INTRODUÇÃO

O cultivo da amoreira-preta vem aumentando no Brasil, partindo de uma área plantada de 250 ha no ano de 2005, para uma área atual de 500 há no ano de 2014, sendo que os maiores produtores estão nos Estados do Rio Grande do Sul, São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina e Espírito Santo, sendo o Rio Grande do Sul o maior produtor nacional, com quase cinquenta por cento da área plantada do país (239 ha) e uma produção estimada de 9,24 t ha⁻¹ (ANTUNES et al., 2014; VIGNOLO et al., 2015).

A quantidade de frutos comercializada no entreposto da CEAGESP no Estado de São Paulo aumentou significativamente de 123.103 kg em 2007 para 279.272 kg em 2015 (WATANABE, 2016).

Em 2011, as pequenas frutas ocupavam uma área total, destinada aos seus cultivos de 3.560 ha (FACHINELLO et al., 2011). Na safra 2007/08, o Estado de São Paulo apresentava por volta de 213,47 hectares plantados de amoreira-preta, sendo que o município de Tarumã retratou a maior área plantada, em torno de 24,20 hectares, seguido pelos municípios de Duartina com 21,20 hectares, Itatinga e

Pariqueraçu, com aproximadamente 20 hectares plantados (CATI, 2016). A região da Serra da Mantiqueira/SP também se destaca com aproximadamente cinco hectares plantados, onde há três produtores em Campos do Jordão, um em Santo Antonio do Pinhal e seis em São Bento do Sapucaí (WIECHMANN, 2016).

Ainda existe limitação de mercado para as pequenas frutas, como amora-preta, mirtilo e framboesa (PAGOT; HOFFMANN, 2003), provavelmente, devido a baixa oferta de produto no mercado brasileiro, a fragilidade da fruta e deficiente conservação em pós-colheita (ANTUNES et al., 2003).

Um dos nutrientes associados à qualidade das frutas é o cálcio (SAMS, 1999). As pontes de cálcio entre os ácidos pécticos ou entre esses e outros polissacarídeos dificultam o acesso e a ação de enzimas pectolíticas produzidas pela fruta que causam amolecimento dos tecidos, e daquelas produzidas pelos fungos e bactérias que causam deterioração (CONWAY et al., 1992). De acordo com Linhares et al. (2007), as aplicações de cálcio permitem efeitos positivos na preservação da integridade e funcionalidade da parede celular, mantendo assim a consistência firme do fruto.

A utilização de cálcio, com a finalidade de manter a qualidade e vida útil das frutas, tem mostrado bons resultados em pré ou pós-colheita, como demonstrado em goiabas, mangas, maçãs 'Fuji', mirtilos, maçãs 'Golden Reinders', morangos, figos, bananas e mamões (NATALE et al., 2005; SILVA et al., 2008; BRACKMANN et al., 2010; ANGELETTI et al., 2010; ORTIZ et al., 2011; CHEN et al., 2011; PAULA et al., 2007 e IRFAN et al., 2013; PEREIRA et al., 2015; SILVA et al., 2015).

Desta forma, o cálcio pode ser considerado um nutriente de grande importância para a amora, uma vez que, segundo Poovaiah (1986), este tem como principal função, no fruto, promover resistência à parede celular e manter a firmeza do mesmo. Assim, ultimamente, está sendo discutido o papel da nutrição mineral, na melhoria da qualidade dos frutos, especialmente, em relação aos aspectos físicos e tecnológicos das frutas, como o teor de sólidos solúveis, a acidez e desordens fisiológicas; tais fatores são responsáveis pelo aumento da vida útil e comercialização do produto (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Partindo do pressuposto de que tanto o produtor como o comerciante e o consumidor, querem frutos mais resistentes e conservados, a aplicação de cálcio poderá positivamente proporcionar a obtenção de frutos com qualidade destacável,

adicionando valor e dando mais visibilidade aos frutos, assim os produtores poderão aumentar a distância de distribuição da sua produção para novos mercados.

Neste contexto, objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito da aplicação pré-colheita de cloreto de cálcio na qualidade de frutos da amoreira preta 'Tupy'.

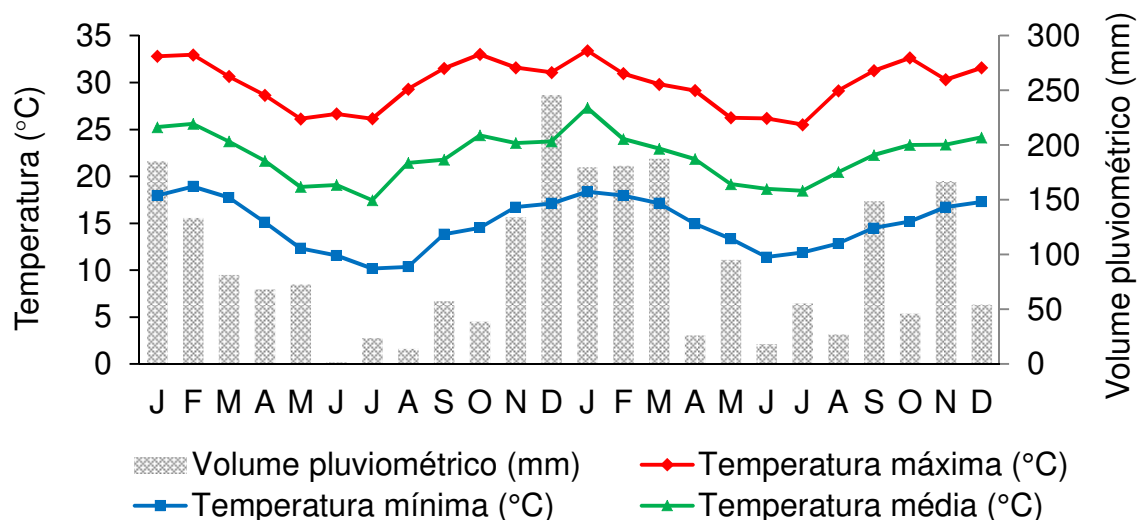
2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Localização e caracterização da área experimental

O trabalho foi conduzido na Fazenda Experimental São Manuel, da Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP, campus de Botucatu, SP, localizada nas seguintes coordenadas geográficas: 22° 44' 28" S e 48° 34' 37" O e a 740 m de altitude. O clima de São Manuel - SP, segundo a classificação de Köppen, é do tipo *Cfa*, clima temperado quente (mesotérmico) úmido, com chuvas concentradas de novembro a abril sendo a precipitação média anual do município de 1.376,70 mm, com temperatura média do mês mais quente superior a 22 °C (CUNHA; MARTINS, 2009). O solo da área experimental é classificado como Latossolo Vermelho Distrófico Típico (EMBRAPA, 1999).

Os dados climáticos de São Manuel-SP para o período das safras 2014 e 2015, referentes às temperaturas mínimas, médias e máximas e volume pluviométrico encontram-se na Figura 1.

Figura 1 - Médias de volume pluviométrico e de temperaturas mínimas, médias e máximas do município de São Manuel-SP, de janeiro de 2014 a dezembro de 2015



2.2.2 Tratamentos e delineamento experimental

Foram avaliadas plantas de amoreira-preta cultivar Tupy, cujas mudas foram plantadas em 23/06/2009. Conduziram-se seis hastes mais vigorosas, numa área experimental não irrigada, no sistema de espaldeira em T, com dois arames e com 1,2 metros de altura (Figura 2). O espaçamento foi de 0,6 m entre plantas e 4,0 m entrelinhas e a densidade de plantio de 4.166 plantas ha⁻¹.

Figura 2 - Vista parcial da área experimental com plantas de amoreira-preta 'Tupy'. São Manuel – SP, 2015



O delineamento experimental adotado foi de blocos casualizados em fatorial 4 x 3, sendo o primeiro fator correspondente às concentrações de cloreto de cálcio (0; 1,5; 3 e 4,5 %) e o segundo aos números de aplicações (1, 2 e 3 aplicações, mantendo-se a mesma concentração). Diante disto, perfizeram-se 12 tratamentos, os quais estavam distribuídos em quatro repetições de quatro plantas por parcela, sendo três delas úteis e uma bordadura, totalizando desta forma 144 plantas úteis.

Os tratamentos foram:

Tratamento 1 (T1) = apenas água - 0 % de CaCl₂ x 1 aplicação;

Tratamento 2 (T2) = apenas água - 0 % de CaCl₂ x 2 aplicações;

Tratamento 3 (T3) = apenas água - 0 % de CaCl₂ x 3 aplicações;

Tratamento 4 (T4) = 1,5 % de CaCl₂ x 1 aplicação;

Tratamento 5 (T5) = 1,5 % de CaCl_2 x 2 aplicações;

Tratamento 6 (T6) = 1,5 % de CaCl_2 x 3 aplicações;

Tratamento 7 (T7) = 3 % de CaCl_2 x 1 aplicação;

Tratamento 8 (T8) = 3 % de CaCl_2 x 2 aplicações;

Tratamento 9 (T9) = 3 % de CaCl_2 x 3 aplicações;

Tratamento 10 (T10) = 4,5 % de CaCl_2 x 1 aplicação;

Tratamento 11 (T11) = 4,5 % de CaCl_2 x 2 aplicações;

Tratamento 12 (T12) = 4,5 % de CaCl_2 x 3 aplicações.

O experimento foi avaliado em período de 2 anos: 2014 e 2015.

No final do mês de setembro, com as plantas em pleno florescimento, foram identificados com etiquetas, quatro ramos com flores por planta, todos no mesmo estágio fenológico, para posterior aplicação de cloreto de cálcio na planta.

Os frutos foram colhidos no estágio de maturação “preto-brilhante”, sem nenhum drupete vermelho (Figura 3), sendo este o ponto ideal de colheita da amora-preta, segundo Schaker e Antoniolli (2009).

Figura 3 - Frutos de amora-preta ‘Tupy’ no estágio de maturação “preto-brilhante”. São Manuel-SP, 2015



A aplicação de cloreto de cálcio foi realizada no início de outubro, com pulverizador costal, num intervalo de cinco dias de uma aplicação para a outra, quando realizada mais de uma aplicação. Onze dias após a última aplicação, os

frutos foram colhidos para realização das avaliações. O espalhante adesivo utilizado foi Assist.

A fase fenológica adotada para a primeira aplicação do cloreto de cálcio foi de inchamento dos frutos com restos florais, seguindo a classificação dos estádios fenológicos de acordo com Antunes (1999).

2.2.3 Manejo cultural da área experimental

Podas

No final do mês de janeiro de 2014 e 2015, foi realizada uma poda de renovação drástica das plantas rente ao solo, para retirar as hastes que produziram na safra anterior, já que estas iriam secar e morrer. Também foi reduzido o comprimento das hastes do ano, para preparar a produção do próximo ciclo e estimular brotações secundárias. Tal poda facilita a condução da cultura, assim como o manejo.

Houve controle das brotações radiculares (rebentões) durante todo o desenvolvimento da cultura.

No fim do mês de junho dos anos de 2014 e 2015, foi efetuada a desfolha com aplicação de calda desfolhante de uréia a 10 %. Foram retiradas manualmente as folhas que ainda permaneciam na planta, quinze dias após a aplicação desta calda (Figura 4).

Figura 4 - Vista parcial da área experimental com plantas de amoreira-preta 'Tupy' quinze dias após a desfolha. São Manuel-SP, 2015



Ao final do mês de julho de 2014 e 2015, foi realizada a poda de frutificação, deixando 6 ramos entre 30 e 40 cm, sendo efetuado no mesmo dia a quebra de dormência com pulverização de Dormex® (49 % de cianamida hidrogenada) na concentração de 3 %.

Análise de solo e adubação

As análises de solo realizadas na área experimental, no início dos anos de 2014 e 2015 estão apresentadas na Tabela 1. Foram coletadas amostras em diferentes profundidades do solo (0-20 e 20-40 cm), e encaminhadas para análise no Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas do Departamento de Solos e Recursos Ambientais da UNESP/FCA, em Botucatu/SP, seguindo a metodologia de Raij et al. (2001).

As correções e adubações de solo na área experimental foram efetuadas com base em análises de solo e nas recomendações de Freire (2008).

Tabela 1 - Análise de solo da área experimental de amoreira-preta, 2014 e 2015. São Manuel – SP

2014												
Profun- didade	pH	M.O.	P _{resina}	Al ³⁺	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V	S
(cm)	CaCl ₂	g dm ⁻³	mg dm ⁻³	----- mmolc dm ⁻³ -----								mg dm ⁻³
0-20	4,7	6	15	1	21	3,7	19	6	29	50	58	4
20-40	4,9	5	8	0	16	4,1	22	6	32	48	66	4
		B	Cu		Fe		Mn		Zn			
		----- mg dm ⁻³ -----										
0-20		0,21		1,1				28		24,7		1,3
20-40		0,14		0,9				18		12,8		0,7
2015												
Profun- didade	pH	M.O.	P _{resina}	Al ³⁺	H+Al	K	Ca	Mg	SB	CTC	V%	S
(cm)	CaCl ₂	g dm ⁻³	mg dm ⁻³	----- mmolc dm ⁻³ -----								mg dm ⁻³
0-20	5,2	8	15	0	13	1,3	13	5	19	33	59	5
20-40	5,3	8	10	0	13	1,2	14	5	21	33	62	6
		B	Cu		Fe		Mn		Zn			
		----- mg dm ⁻³ -----										
0-20		0,24		1,3			16		15,9			1,4
20-40		0,26		1,3			14		13,3			1,2

Fonte: Laboratório de Fertilidade do Solo. Departamento de Solos e Recursos Ambientais, UNESP/FCA

Nos dois anos, nos meses de janeiro, fevereiro e março, foram aplicados 120 g (40 g por mês) de uréia no solo por planta, para estimular a brotação e crescimento de novos ramos, sendo que em janeiro de 2015 foram aplicados por planta 25 g de super triplo, 17 g de cloreto de potássio, 35 g de uréia e ainda 200 g do composto orgânico Provaso.

No mês de agosto, após a poda de produção, também foram aplicados, por planta, uréia (40 g), super triplo (25 g) e cloreto de potássio (17 g).

Controle de pragas, doenças e plantas invasoras

Após realização da poda de renovação na última semana do mês de janeiro dos anos de 2014 e 2015, as brotações iniciaram na última semana do mês de fevereiro, ocorrendo ataque de algumas formigas saúvas (*Atta* spp.) e gafanhotos na última semana do mês de março destes dois anos. Já no período da colheita, no mês de outubro apareceram alguns besouros desfolhadores e serra-pau (*Dorcacerus* spp.). Para controlar tais pragas foram utilizados formicidas e inseticidas quinzenalmente.

A única doença averiguada na amoreira-preta foi a ferrugem (*Gimnoconia nitens*), sendo controlada através de pulverizações quinzenais com produtos a base de cobre.

Foi realizado o controle das plantas invasoras, principalmente no período de chuvas, através de roçadeiras nas entrelinhas e capinas manuais nas linhas de plantio.

2.2.4 Características avaliadas

Os níveis de Ca^{+2} e de outros macronutrientes (N, P, K, Mg, S) foram aferidos nas folhas antes e após as aplicações com CaCl_2 , através de análise foliar, e nos frutos também, logo que realizada a colheita.

A amostragem foliar foi realizada por meio da coleta da sexta folha totalmente expandida com o pedicelo, contada a partir do ápice. A amostra dentro de cada tratamento foi constituída de 80 folhas (ANTUNES; RASEIRA, 2004). Após a coleta, as amostras foram lavadas rapidamente com água deionizada, secas em estufa, a 65 °C, por 72 horas, moídas e posteriormente encaminhadas para laboratório onde foram realizadas as análises.

Para aferir o teor de cálcio no fruto, foram coletados 10 frutos maduros (cor preto-brilhante) por parcela, totalizando 40 frutos por tratamento. Tais frutos, colocados em sacos de papel, foram secos em estufa com circulação forçada de ar a 65 °C por sete dias e em seguida moídos. Por fim, as amostras foram analisadas, quanto ao teor de cálcio de Ca^{+2} e dos demais macronutrientes (N, P, K, Mg, S).

As análises de folhas e frutos foram realizadas no Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas do Departamento de Solos e Recursos Ambientais da UNESP/FCA, em Botucatu/SP, seguindo a metodologia de Malavolta et al. (1997).

As análises físicas, físico-químicas, bioquímicas e enzimáticas foram realizadas no Laboratório de Fruticultura do Departamento de Horticultura, da UNESP/FCA, em Botucatu/SP, colhendo-se 10 frutos maduros (cor preto-brilhante) por repetição, totalizando 40 frutos por tratamento, para cada tipo de análise, inclusive para perda de massa.

As avaliações físicas e físico-químicas foram realizadas logo após a colheita, já para as avaliações bioquímicas e enzimáticas, a polpa dos frutos foi congelada em

nitrogênio líquido no mesmo dia da colheita, para evitar possíveis alterações até a realização das análises.

2.2.4.1 Avaliações físicas, físico-químicas e bioquímicas

Foram avaliadas as seguintes variáveis nos frutos:

- ✓ **Massa média:** obtida por meio da pesagem dos frutos em balança semi-analítica – carga máxima de 2000 g e precisão de 0,01 g e expressa em gramas (g).
- ✓ **Comprimento:** obtido com paquímetro digital (Starret 799) e expresso em milímetros (mm).
- ✓ **Diâmetro:** obtido com paquímetro digital (Starret 799) e expresso em milímetros (mm).
- ✓ **Formato de fruto:** obtido mediante a relação entre comprimento e diâmetro do fruto. Onde, relação < 1 – frutos achatados, relação > 1 – frutos alongados e relação = 1 – frutos arredondados.
- ✓ **Firmeza:** determinada nos frutos com o auxílio do texturômetro (TA. XT Plus Texture Analyser) com ponta de prova SMS P/2N e velocidade de penetração de 5,0 mm s⁻¹. A leitura foi realizada em dois diferentes pontos centrais dos frutos, cujos resultados obtidos foram expressos em Newton (N).
- ✓ **Perda de massa:** os frutos (40 frutos por tratamento) foram embalados em bandejas de poliestireno expandido e envoltas por filme de policloreto de vinila (PVC), acondicionados em câmara fria a 5 ± 1 °C e UR 85 ± 5 % e pesados diariamente num período de seis dias. Para isso, foram escolhidas amostras representativas de cada tratamento e pesadas ao longo do período de armazenamento. Foi calculada a diferença de massa dos frutos (parcela) entre os intervalos, sendo o resultado transformado em porcentagem de perda de massa, determinada através do cálculo:

$$\% \text{ perda de massa fresca} = ((MI - MA)/MI) \times 100 \quad (1)$$

Onde, MI é a massa inicial (dia zero) e MA é a massa no dia de avaliação.

- ✓ **Potencial hidrogeniônico (pH):** mensurado em extratos de frutos homogeneizados, utilizando-se pHmetro (Digital DMPH-2), segundo a técnica da AOAC (2005).
- ✓ **Ácido ascórbico:** foram pipetados 10 mL da solução padrão de ácido ascórbico em erlenmeyer contendo 50 mL de solução de ácido oxálico a 1 %. Posteriormente, realizou-se a titulação com 2,6 DCFI até coloração rosa persistente por 15 segundos para determinação do padrão. Em seguida, as amostras foram preparadas com 3 g de polpa e 50 mL de solução de ácido oxálico a 1 % em erlenmeyer. Após, realizou-se a titulação com a solução de 2,6 DCFI padronizado até coloração rosa persistente por 15 segundos. Os resultados foram expressos em g de ácido ascórbico por 100 g⁻¹ da polpa (AOAC, 1992).
- ✓ **Acidez titulável (AT):** expressa em porcentagem de ácido cítrico, com titulação com hidróxido de sódio (NaOH) a 1,0 mol L⁻¹, em solução de 1 mL de suco, 50 mL de água destilada e 0,3 mL de fenolftaleína – metodologia adaptada (BRASIL, 2005).
- ✓ **Sólidos solúveis (SS):** expresso em °Brix, medido com auxílio de refratômetro digital.
- ✓ **“Ratio”:** obtido por meio da relação entre o conteúdo de sólidos solúveis e acidez titulável.
- ✓ **Flavonóides:** extraídos por meio de metodologia proposta por Awad et al. (2000). Cerca de 50 mg de amostra fresca, pulverizada em nitrogênio líquido, foram acondicionadas em recipientes de vidro e adicionou-se 2 mL da solução de metanol (MeOH) acidificado a 15 % (metanol a 70 %: solução aquosa de ácido acético a 10 %). As amostras foram levadas ao banho ultrassônico a 30 °C durante 30 minutos. Depois, centrifugadas durante 20 minutos, a 15000 rpm e 5 °C. Os sobrenadantes foram recolhidos em tubos de ensaio e adicionou-se 0,5 mL da solução de cloreto de alumínio. Após 30 minutos de reação no escuro, realizaram-se as leituras a 425 nm. O conteúdo total de flavonóides foi expresso em mg de rutina por 100 g⁻¹ de fruta fresca.
- ✓ **Pigmentos:** foram determinados por meio da obtenção do extrato, no qual amostras de 100 mg de polpa de amora pulverizadas em nitrogênio líquido foram transferidas para tubos de ensaio e homogeneizadas com acetona (80 % tamponada TRIS pH 7,2). As amostras foram centrifugadas por 10 minutos

a 4 °C e a 2.000 rpm. Foi recolhido o sobrenadante e as leituras foram realizadas para antocianinas a 537 nm. Todas as etapas foram realizadas em ambiente escuro e os resultados expressos em $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ de amostra (SIMS; GAMON, 2002).

- ✓ **Polifenóis totais:** obtido por meio da metodologia proposta por Swain e Hills (1959). Foram diluídos 100 mg de amostra liofilizada em 3 ml de acetona, levados a um agitador durante 1 hora, a 4 °C e a 200 rpm. Depois de 1 hora as amostras foram acondicionadas em ependorfes de 2 mL e levados à centrifuga, a 4 °C, 14.000 rpm durante 15 minutos. Do sobrenadante obtido foram recolhidos 240 μL , os quais reagiram com 360 μL de Folin (1:1 V/V, Folin: Água MiliQ) durante 3 minutos. Depois de 3 minutos, adicionou-se 2400 μL de um Mix (Hidróxido de sódio (NaOH) 0,4 % e 2,0 % de carbonato de sódio (Na_2CO_3), em água destilada). Após uma hora de reação, as amostras foram analisadas em espectrofotômetro a 750 nm. A quantidade de polifenóis totais foi expressa em mg de ácido gálico por 100 g^{-1} de amostra.
- ✓ **Atividade antioxidante:** determinada por meio de metodologia proposta por Brand-Willians et al. (1995). Foram diluídos 100 mg de amostra liofilizada em 3 ml de acetona, levados a um agitador durante 1 hora, a 4 °C e a 200 rpm. Depois de 1 hora as amostras foram acondicionadas em tubos ependorfes de 2 mL e levadas à centrifuga, a 4 °C e a 14.000 rpm durante 15 minutos. Do sobrenadante obtido, 150 μL foram recolhidos para reagir com 2850 μL da solução de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) por 40 minutos. Depois deste tempo de reação, as amostras foram analisadas em espectrofotômetro a 515 nm. O potencial antioxidante das amostras foi expressa em μmol de ácido ascórbico por g^{-1} de amostra.
- ✓ **Açúcares solúveis redutores e totais:** foi utilizada a metodologia descrita por Somogy, adaptada por Nelson (1944). O aparelho utilizado foi o espectrofotômetro modelo 1105 – Bel Photonics, sendo a leitura realizada à 535 nm e os resultados expressos em porcentagem.

2.2.4.2 Avaliações enzimáticas

- ✓ **Extração e determinação da atividade da poligalacturonase (PG):** de acordo com a metodologia descrita por D’Innocenzo e Lajolo (2001), foram

homogeneizadas (mix) 5 g de amostra em água destilada resfriada. As amostras homogeneizadas foram, em seguida, filtradas em tecido fino (organza) e o resíduo ressuspendido em cloreto de sódio (NaCl) 1 mol L⁻¹. Com auxílio de um pHmetro, o pH foi ajustado para 6,0 com hidróxido de sódio (NaOH) e logo incubado em câmara fria na temperatura de 4 °C por uma hora. Após o período de resfriamento, uma nova filtragem foi realizada em papel filtro e o filtrado guardado em frascos âmbar. O extrato foi incubado com adição de 1 mL de pectina cítrica gelado por 3 horas. A reação foi interrompida em banho-maria fervente por 5 minutos. Para a análise dos grupos redutores e totais (açúcares solúveis) foi utilizada a metodologia de Somogy, modificada por Nelson (1944). O branco utilizado foi um extrato inativo termicamente e incubado nas mesmas condições do extrato. Os resultados foram expressos em U.E. min⁻¹g⁻¹ de tecido.

- ✓ **Extração e determinação da atividade da pectinametilesterase (PME):** seguindo a metodologia descrita por D’Innocenzo e Lajolo (2001), a determinação da atividade da enzima pectinametilesterase foi homogeneizada em mix, testando 1, 2, 3 e 5 g de amostra com adição de 20 mL de cloreto de sódio (NaCl) 0,2 mol L⁻¹ resfriado. Em seguida, o extrato foi acondicionado em frascos pequenos de âmbar. Para a determinação, 30 mL de pectina cítrica a 1 % foi adicionada a um mililitro do extrato e o pH foi mantido em torno de 7,0, por 10 minutos, com hidróxido de sódio (NaOH) 0,01 mol L⁻¹. Uma unidade de PME foi definida como a quantidade de enzima capaz de catalisar a desmetilação de pectina correspondente ao consumo de 1 nmol de NaOH min⁻¹g⁻¹ de massa fresca e o resultado foi expresso em U.E. min⁻¹g⁻¹ de tecido.

2.2.5 Análise estatística

Realizada utilizando-se a média aritmética dos valores obtidos para cada variável, em cada ano de avaliação, correspondente aos anos de 2014 e 2015.

Após obtenção dos dados, estes foram tabelados e submetidos ao teste de análise de variância nos níveis de 1 e 5 % de probabilidade. Quando significativo, realizou-se análise de regressão para os dados correspondentes ao fator concentração de cloreto de cálcio (0, 1,5, 3 e 4,5 %), uma vez que são dados quantitativos. Porém, para os dados referentes ao fator número de aplicações (1, 2 e

3 aplicações), por se tratar de dados qualitativos, foi realizado o teste Tukey ao nível de 5 % de probabilidade para comparação das médias. Para a avaliação da perda de massa, além dos fatores citados, foi adicionado o fator dias após a colheita, perfazendo-se assim, para esta característica, um fatorial triplo (concentrações X aplicações X dias após a colheita), para este terceiro fator, quando a variância foi significativa, realizou-se análise de regressão. Todas as análises foram realizadas utilizando-se o programa computacional SISVAR (FERREIRA, 2011).

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Avaliação de cálcio nas folhas e nos frutos

As concentrações dos macronutrientes N, P, K, Ca, Mg e S, nas folhas da amoreira-preta 'Tupy', antes e após aplicação de CaCl_2 , nas safras 2014 e 2015, e frutos após aplicação de cloreto de cálcio (CaCl_2), encontram-se nas tabelas 2, 3 e 4.

Tabela 2 - Concentrações dos macronutrientes N, P, K, Ca, Mg e S, nas folhas da amoreira-preta 'Tupy' de cada tratamento, antes e após aplicação de CaCl_2 , na safra 2014, em São Manuel - SP

CICLO AGRÍCOLA 2014												
Tratamento	Antes da aplicação de CaCl ₂						Após aplicação de CaCl ₂					
	Macronutrientes (g kg ⁻¹)											
	N	P	K	Ca	Mg	S	N	P	K	Ca	Mg	S
T1	25,20	1,96	10,70	6,20	3,20	1,34	23,66	1,05	9,70	6,19	3,50	1,39
T2	24,15	1,60	11,90	6,70	3,40	1,48	20,30	1,09	10,30	6,70	3,20	1,41
T3	25,20	1,96	10,70	6,20	3,20	1,34	21,63	1,13	10,20	6,18	3,00	1,48
T4	24,15	1,60	11,90	6,70	3,40	1,48	23,38	1,25	9,20	8,70	3,40	1,46
T5	25,20	1,96	10,70	6,20	3,20	1,34	23,38	1,20	10,20	8,40	3,10	1,50
T6	24,15	1,60	11,90	6,70	3,40	1,48	24,43	1,26	8,90	8,50	3,50	1,49
T7	25,20	1,96	10,70	6,20	3,20	1,34	26,04	1,35	10,30	7,50	3,20	1,43
T8	24,15	1,60	11,90	6,70	3,40	1,48	23,03	1,24	9,90	9,40	3,30	1,32
T9	25,20	1,96	10,70	6,20	3,20	1,34	24,22	1,33	8,80	7,90	3,30	1,56
T10	24,15	1,60	11,90	6,70	3,40	1,48	24,92	1,37	8,80	9,00	3,70	1,54
T11	25,20	1,96	10,70	6,20	3,20	1,34	25,41	1,26	10,40	8,70	3,50	1,66
T12	24,15	1,60	11,90	6,70	3,40	1,48	22,75	1,22	8,90	8,20	3,50	1,62

Tabela 3 - Concentrações dos macronutrientes N, P, K, Ca, Mg e S, nas folhas da amoreira-preta 'Tupy' de cada tratamento, antes e após aplicação de CaCl_2 , na safra 2015, em São Manuel - SP

CICLO AGRÍCOLA 2015												
Tratamento	Antes da aplicação de CaCl ₂						Após aplicação de CaCl ₂					
	Macronutrientes (g kg ⁻¹)											
	N	P	K	Ca	Mg	S	N	P	K	Ca	Mg	S
T1	32,62	1,90	10,40	5,80	3,00	1,74	22,54	1,46	11,70	11,00	2,00	1,52
T2	28,07	1,66	14,10	7,00	3,10	1,60	23,17	1,39	10,60	11,10	2,70	1,51
T3	28,70	1,81	11,50	5,70	3,10	1,70	23,45	1,52	11,80	10,21	2,30	1,56
T4	31,71	1,78	11,80	6,20	3,10	1,36	22,19	1,44	11,40	11,50	2,60	1,55
T5	28,35	1,87	11,20	5,20	3,20	1,41	22,61	1,31	12,50	11,50	2,10	1,50
T6	30,45	1,79	10,40	5,40	3,10	1,68	24,22	1,51	11,80	12,60	2,70	1,46
T7	30,10	1,70	11,50	5,10	2,90	1,66	22,75	1,43	11,50	11,50	2,30	1,49
T8	30,24	1,78	12,00	5,20	3,30	1,52	21,84	1,31	11,00	10,50	2,50	1,53
T9	28,28	1,76	10,80	6,60	2,90	1,60	22,47	1,25	11,20	12,60	2,80	1,45
T10	28,98	2,00	11,60	5,50	2,80	1,50	22,82	1,48	11,80	13,50	2,60	1,44
T11	29,75	1,79	12,00	6,10	3,50	1,53	23,45	1,40	11,30	16,20	2,30	1,45
T12	29,40	1,83	12,10	6,80	2,90	1,62	25,55	1,57	10,50	18,30	2,00	1,57

Tabela 4 - Concentrações dos macronutrientes N, P, K, Ca, Mg e S, nos frutos da amoreira-preta 'Tupy' de cada tratamento, após aplicação de CaCl_2 , nas safras 2014 e 2015, em São Manuel - SP

CICLO AGRÍCOLA 2014							CICLO AGRÍCOLA 2015					
Tratamento	Macronutrientes (g kg ⁻¹)											
	N	P	K	Ca	Mg	S	N	P	K	Ca	Mg	S
T1	12,74	1,42	11,45	2,55	1,68	1,16	16,08	1,31	8,65	2,55	1,65	1,33
T2	12,79	1,51	12,20	2,50	1,68	1,15	16,80	1,53	11,63	2,50	1,85	1,29
T3	11,94	1,62	12,25	2,40	1,70	1,13	15,40	1,43	10,48	2,41	1,60	1,30
T4	12,04	1,56	12,38	2,53	1,68	1,12	17,08	1,41	12,45	2,85	1,60	1,23
T5	11,50	1,45	11,50	2,60	1,48	1,13	18,27	1,66	12,30	3,08	1,68	1,30
T6	13,53	1,57	12,88	3,05	1,83	1,13	17,69	1,67	13,45	3,33	1,80	1,50
T7	11,67	1,61	11,38	2,80	1,68	1,15	18,71	1,89	12,90	3,13	1,83	1,28
T8	13,32	1,61	12,60	2,85	1,73	1,15	18,32	1,91	14,28	3,08	1,93	1,25
T9	12,23	1,48	12,63	2,75	1,63	1,14	17,89	1,63	13,50	2,30	1,78	1,28
T10	12,48	1,62	11,85	2,85	1,63	1,14	19,20	1,74	13,13	2,50	1,95	1,35
T11	13,20	1,61	12,13	2,75	1,50	1,11	21,25	1,81	14,80	2,80	2,00	1,33
T12	12,20	1,58	12,88	3,10	1,70	1,10	17,94	1,72	14,45	2,50	1,88	1,28

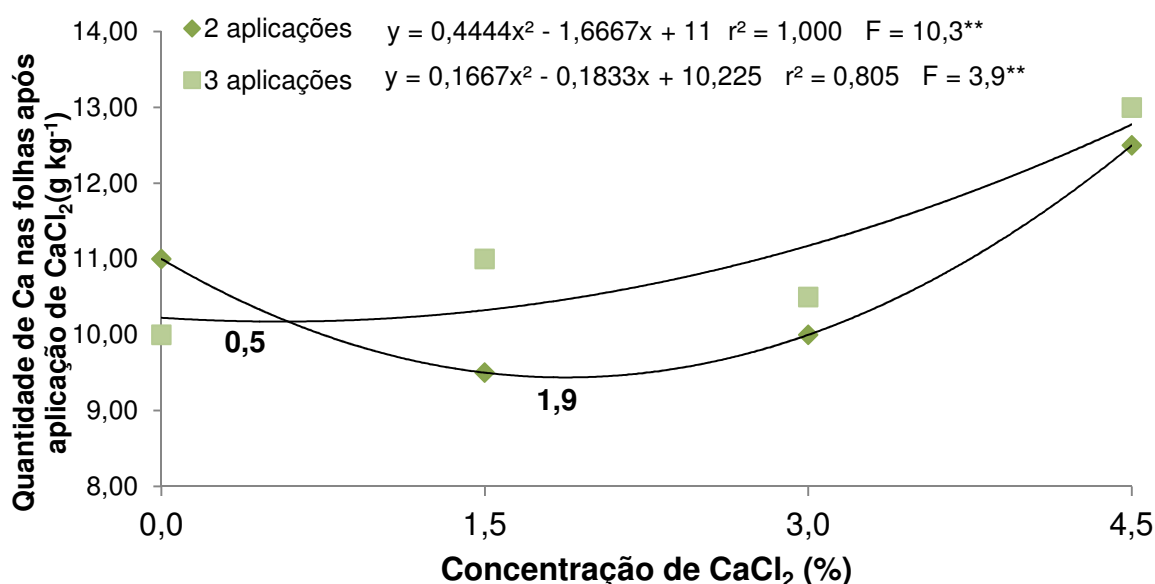
A quantidade de cálcio na folha após aplicação de CaCl_2 nas plantas foram influenciadas significativamente pela interação das concentrações de CaCl_2 e pelo número de 2 e 3 aplicações, sendo a resposta de forma quadrática. Observou-se

que com duas aplicações a menor quantidade de cálcio na folha ($9,4 \text{ g kg}^{-1}$) foi gerada a partir da concentração de CaCl_2 de 1,9 %, já com três aplicações a menor quantidade de cálcio na folha ($10,2 \text{ g kg}^{-1}$) foi obtida com a concentração de 0,5 % de CaCl_2 (Figura 5).

Ocorreu efeito contrário até certa concentração, porém independente da aplicação, os teores de cálcio na folha estão dentro do normal, conforme Freire (2008), que afirma que, por meio de análise foliar, o teor de Ca na folha de amoreira-preta é interpretado de tal forma: insuficiente ($<0,50 \%$), abaixo do normal ($0,50 - 0,59 \%$), normal ($0,60 - 2,50 \%$), acima do normal ($2,51 - 3,00 \%$) e excesso ($>3,00 \%$).

Em São Mateus do Sul/PR, a cultivar Tupy apresentou concentração de cálcio na planta nas folhas e hastes resultantes da poda de 0,96 % (PEREIRA et al., 2013).

Figura 5 - Quantidade de cálcio nas folhas de amoreira-preta 'Tupy', após aplicação de CaCl_2 em pré-colheita, em função das concentrações de CaCl_2 e número de aplicações. São Manuel, SP. 2014 e 2015



A quantidade de cálcio no fruto após aplicação de CaCl_2 nas plantas foram influenciadas significativamente pela interação das concentrações de CaCl_2 e com apenas uma aplicação, obtendo resposta de forma quadrática. Notou-se que a concentração de CaCl_2 de 2,2 % gerou a maior quantidade de cálcio no fruto ($2,9 \text{ g kg}^{-1}$) (Figura 6). Tal quantidade de cálcio no fruto é considerada ótima, pois sabe-se que, de acordo com Souza et al. (2015), o teor de cálcio possui leve tendência à

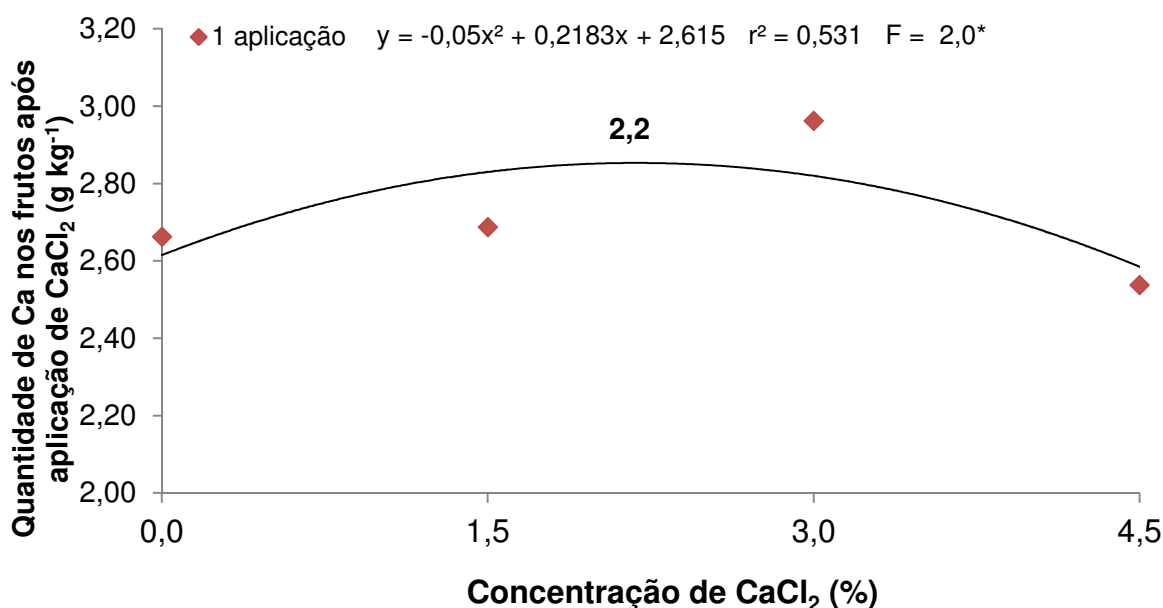
queda conforme o estágio de colheita mais avançado de amoras-pretas (100% pretas), e avaliando diferentes pontos de maturação dos frutos de amoreira-preta 'Tupy', os autores supracitados encontraram valores inferiores ao deste trabalho em frutos maduros ($1,44 \text{ g kg}^{-1}$).

Já em experimento avaliando o desenvolvimento de frutas de amoreira-preta, colhidas em três níveis de maturação (verde, vermelho e maduro/preto brilhante), Tosun et al. (2008) afirmaram não ocorrer mudanças marcantes nos conteúdos de cálcio, constatando que no fruto verde a concentração de cálcio foi $0,96 \text{ g kg}^{-1}$, no fruto vermelho $0,67 \text{ g kg}^{-1}$ e no fruto maduro $0,82 \text{ g kg}^{-1}$.

O cálcio é considerado um dos elementos minerais mais importantes, sendo fator determinante da qualidade final dos frutos (LIV, 1998). A manutenção da concentração de cálcio nos frutos proporciona melhor preservação da firmeza de polpa e resistência, não somente às injúrias mecânicas, mas também às desordens e danos na pós-colheita (CONWAY et al., 1994).

Estudando teores de minerais em frutos de diferentes cultivares de amoreira-preta em Lavras/MG, Guedes et al. (2013) constataram também valor inferior ($1,16 \text{ g kg}^{-1}$) ao deste trabalho quanto ao teor de cálcio no fruto da cultivar 'Tupy', e em São Mateus do Sul/PR, a cultivar Tupy apresentou concentração de cálcio no fruto de 1,68 % (PEREIRA et al., 2013).

Figura 6 - Quantidade de cálcio nos frutos de amoreira-preta 'Tupy', após aplicação de CaCl_2 em pré-colheita, em função das concentrações de CaCl_2 e número de aplicações. São Manuel, SP. 2014 e 2015



2.3.2 Avaliações físicas, físico-químicas e bioquímicas

Foi verificado efeito significativo das concentrações de CaCl_2 para todas as variáveis, porém para o número de aplicações não houve significância (Tabela 5).

Tabela 5 - Valores do Teste F e média da análise de variância do comprimento, diâmetro, formato (comprimento/diâmetro), massa média e firmeza de frutos de amoreira-preta 'Tupy', colhidos em São Manuel - SP nos ciclos agrícolas de 2014 e 2015

FV	Comprimento (mm)	Diâmetro (mm)	Formato (C/D)	Massa (g)	Firmeza (N)
Bloco (B)	4,1	4,5 ^{**}	1,1 ^{NS}	5,1 ^{**}	2,4 ^{NS}
Concentração de CaCl_2 (C)	3,7 [*]	10,1 ^{**}	19,2 ^{**}	2,0 [*]	1,6 ^{**}
Nº de aplicações (A)	0,1 ^{NS}	1,8 [*]	1,5 ^{NS}	0,1 ^{NS}	1,1 ^{NS}
Interação (CxA)	0,2 ^{NS}	2,6 [*]	2,8 [*]	0,5 ^{NS}	0,5 ^{NS}
CV (%)	2,91	2,53	2,19	7,25	19,91
Média	27,61	21,98	1,26	6,93	0,31

^{NS} = não significativo; * = significativo a 5 %; ** = significativo à 1 % pelo teste F

Os dados médios das concentrações de CaCl_2 e do número de aplicações separadamente, correspondente aos ciclos agrícolas de 2014 e 2015 encontram-se na tabela 6.

Tabela 6 - Dados médios dos frutos de amoreira-preta 'Tupy' de comprimento (mm), diâmetro (mm), formato de fruto (comprimento/diâmetro), massa (g) e firmeza (N), referentes às concentrações de CaCl_2 e do número de aplicações correspondente aos ciclos agrícolas de 2014 e 2015, em São Manuel - SP

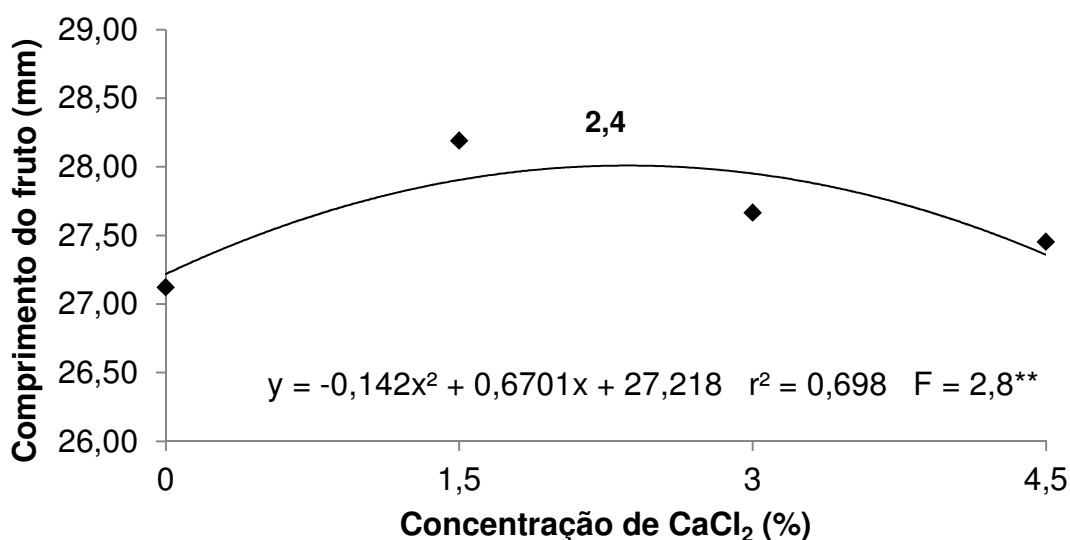
CICLO AGRÍCOLA 2014					
Concentração de CaCl_2 (%)	Comprimento (mm)	Diâmetro (mm)	Formato (C/D)	Massa (g)	Firmeza (N)
0	27,20	21,32	1,28	7,25	0,31
1,5	29,36	20,99	1,40	7,55	0,33
3	29,17	21,47	1,34	7,79	0,36
4,5	28,68	23,35	1,25	7,27	0,34
Média	28,60	21,78	1,32	7,46	0,33
Número de aplicações	Comprimento (mm)	Diâmetro (mm)	Formato (C/D)	Massa (g)	Firmeza (N)
1	28,52	21,53	1,33	7,34	0,36
2	27,96	21,41	1,31	7,34	0,32
3	29,32	22,41	1,31	7,71	0,33
Média	28,60	21,78	1,32	7,46	0,33
CICLO AGRÍCOLA 2015					
Concentração de CaCl_2 (%)	Comprimento (mm)	Diâmetro (mm)	Formato (C/D)	Massa (g)	Firmeza (N)
0	27,05	22,13	1,22	6,52	0,25
1,5	27,02	22,58	1,20	6,66	0,27
3	26,16	21,88	1,20	6,34	0,28
4,5	26,22	22,15	1,18	6,04	0,32
Média	26,61	22,18	1,20	6,39	0,28
Número de aplicações	Comprimento (mm)	Diâmetro (mm)	Formato (C/D)	Massa (g)	Firmeza (N)
1	26,68	22,19	1,20	6,49	0,28
2	27,13	22,37	1,21	6,59	0,26
3	26,04	21,99	1,18	6,09	0,30
Média	26,61	22,18	1,20	6,39	0,28
Média de 2014 e 2015	27,60	21,98	1,26	6,92	0,47

O valor máximo de comprimento do fruto (28,00 mm) foi obtido com a concentração estimada de 2,4 % de CaCl_2 (Figura 7), sendo que concentrações acima deste valor promoveram redução no comprimento.

Em experimento com amoreira-preta 'Tupy' no município de São Manuel/SP, onde não foi utilizado CaCl_2 , Segantini et al. (2014) constataram comprimento de fruto variando de 23,60 a 31,20 mm em plantas não irrigadas. Estes valores se aproximam aos encontrados em Marechal Cândido Rondon/PR por Campagnolo e Pio (2012), que observaram comprimento de 24,5 mm para frutos de amoreira-preta.

Quanto à amora-preta, não há informações referentes ao que seria considerado padrão médio para comprimento, diâmetro, formato de fruto e massa quando aplicado cálcio em pré ou pós-colheita. A ausência dessa informação dificulta qualquer forma de comparação. Mas pode-se registrar que para a cv. Tupy, quando avaliada concentrações de CaCl_2 de 0 %, 1,5 %, 3,0 % e 4,5 %, com 1, 2 e 3 número de aplicações, em pré-colheita, o comprimento médio de 28,00 mm na concentração de 2,4 % foi o maior comprimento alcançado, sendo que concentrações acima ou abaixo desta, promoveram a formação de frutos com comprimento inferior.

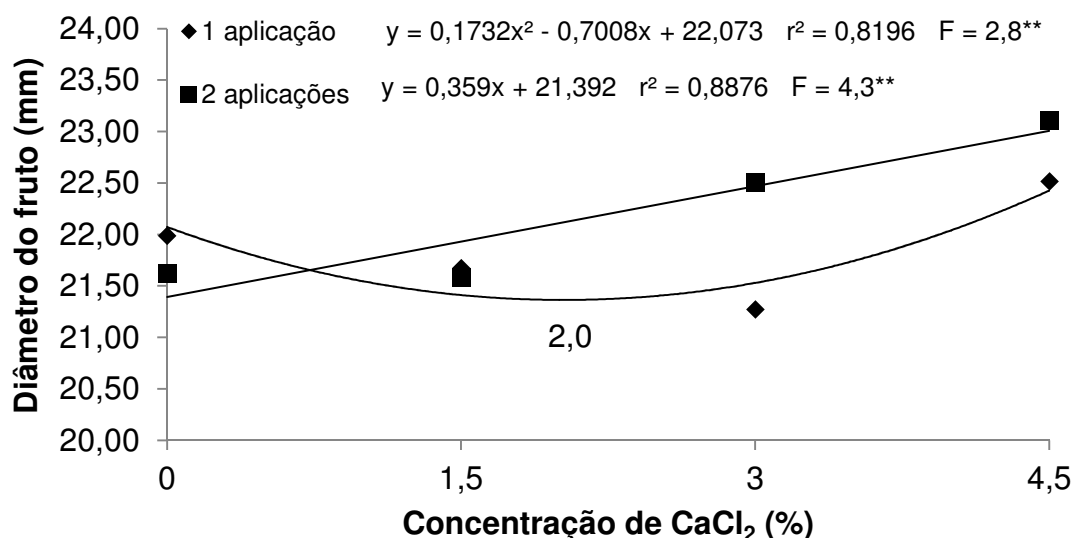
Figura 7 - Comprimento de frutos de amoreira-preta 'Tupy' em função das diferentes concentrações de CaCl_2 , aplicadas em pré-colheita. São Manuel, SP. 2014 e 2015



O diâmetro dos frutos foi influenciado significativamente pela interação das concentrações de CaCl_2 e pelo número de aplicações, sendo a resposta de forma quadrática quando efetuada uma aplicação (Figura 8). Para a aplicação única, observou-se que a concentração de CaCl_2 de 2,0 % gerou o menor diâmetro do fruto, e foi a partir do aumento desta concentração, que houve incremento do diâmetro do fruto, alcançando 22 mm.

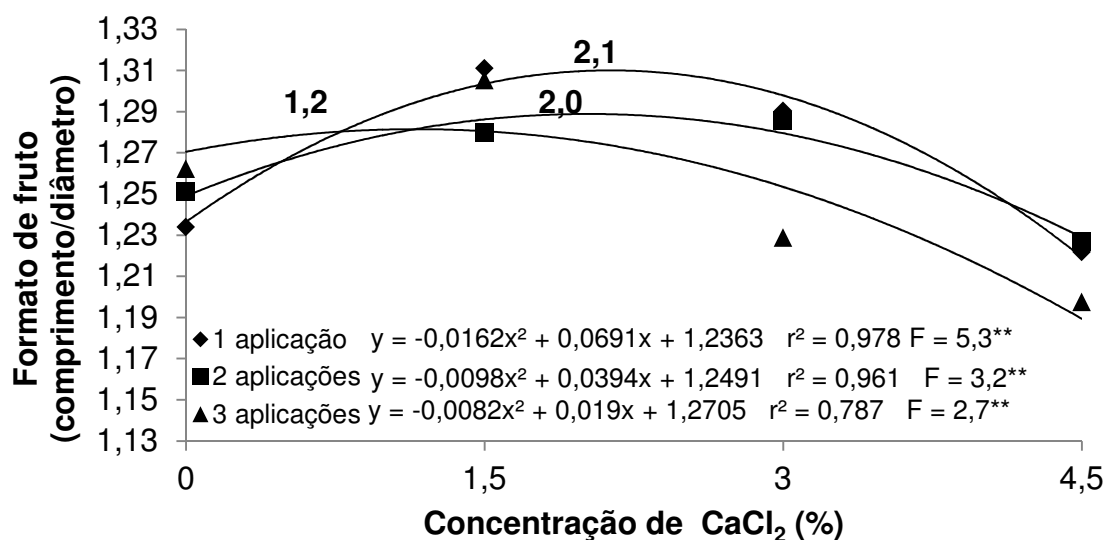
Segantini et al. (2014) constataram para amora-preta cultivar Tupy, em São Manuel/SP, o diâmetro variando de 18 a 23,60 mm em plantas não irrigadas e sem aplicação de CaCl_2 . Estes valores se aproximam aos encontrados por Campagnolo e Pio (2012), com 23,6 mm de diâmetro em Marechal Cândido Rondon/PR.

Figura 8 - Diâmetro de frutos de amoreira-preta 'Tupy' em função das diferentes concentrações de CaCl_2 , aplicadas em pré-colheita. São Manuel, SP. 2014 e 2015



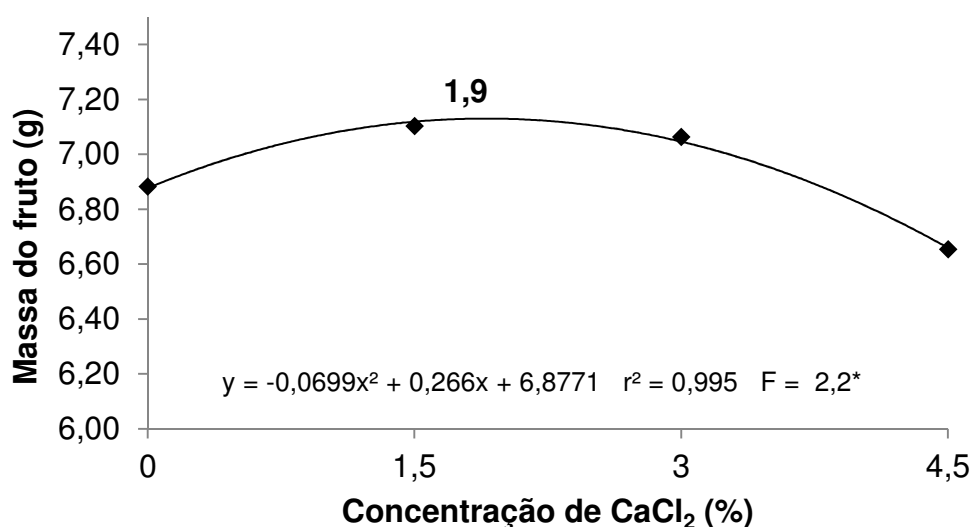
Em relação a variável formato do fruto, houve interação entre as concentrações de CaCl_2 e o número de aplicações. O valor máximo para tal variável foi obtido com a concentração estimada de 2,1 %, 2,0 % e 1,2 %, quando efetuada 1, 2 e 3 aplicações, respectivamente (Figura 9). Todos os valores de formato do fruto estão acima de 1, logo todos os frutos possuem forma alongada.

Figura 9 - Formato de frutos de amoreira-preta 'Tupy' em função das diferentes concentrações de CaCl_2 , aplicadas em pré-colheita. São Manuel, SP. 2014 e 2015



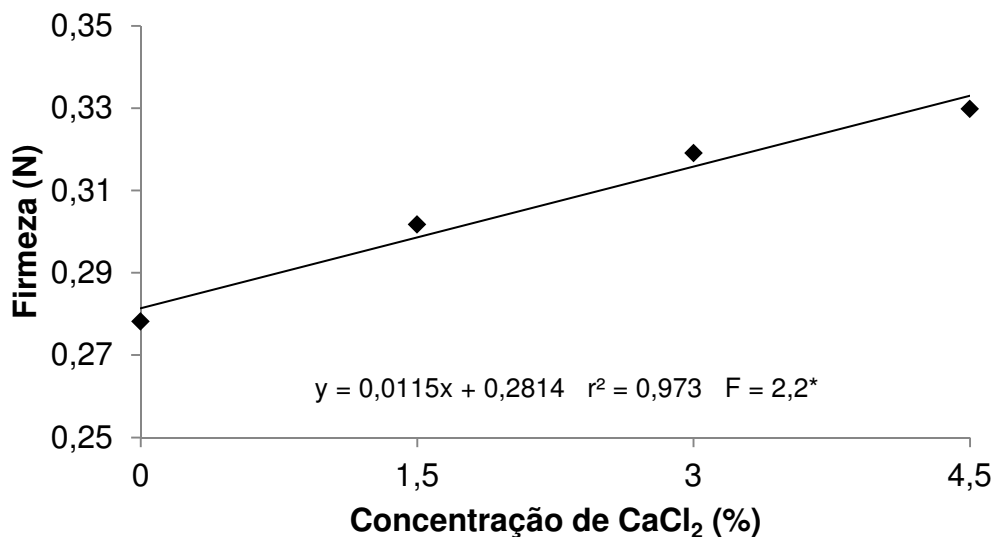
O valor máximo de massa do fruto (7,1 g) foi obtido com a concentração estimada de 1,9 % de CaCl_2 (Figura 10), sendo que concentrações acima deste ponto promoveram redução na massa do fruto. Campagnolo e Pio (2012) encontraram valor inferior de massa fresca da amora-preta 'Tupy' (5,3 g), em Marechal Cândido Rondon/PR.

Figura 10 - Massa de frutos de amoreira-preta 'Tupy' em função das diferentes concentrações de CaCl_2 , aplicadas em pré-colheita. São Manuel, SP. 2014 e 2015



A firmeza apresentou aumento linear em função das concentrações crescentes de CaCl_2 , aplicadas na planta, atingindo o valor máximo no tratamento onde foi aplicada a maior quantidade do CaCl_2 (4,5 %) (Figura 11). O cálcio possui como uma de suas características, manter a integridade da parede celular e lamela média, pois fixa as ligações entre as moléculas de pectina, portanto explica-se a maior firmeza dos frutos tratados com a maior concentração de CaCl_2 .

Figura 11 - Firmeza de frutos de amoreira-preta 'Tupy' em função das diferentes concentrações de CaCl_2 , aplicadas em pré-colheita. São Manuel, SP. 2014 e 2015



Em experimento com amoreira-preta 'Tupy', Ferreira et al. (2013) avaliaram número de aplicações de cálcio (0, 2, 4 e 8 aplicações), na forma de fertilizante foliar líquido, contendo 19 % de Cálcio e 2 % de Boro, mantendo a mesma concentração em todas as aplicações, as quais foram realizadas por meio de pulverizador costal com volume de 2 ml do fertilizante e 2 ml de espalhante adesivo Assist por litro de calda; e três períodos de armazenamento (0, 3 e 8 dias de armazenamento), na fase de floração das plantas, observaram que tais aplicações de cálcio não influenciaram na firmeza das frutas de amora-preta, pois provavelmente a concentração de cálcio não foi eficiente para amora-preta ou a amostragem não foi realizada na época em que os efeitos poderiam ser percebidos.

Em estudo realizado com mangas, pulverizadas na pré-colheita com CaCl_2 , nas concentrações 0 %, 2,5 % e 5 %, em três épocas de seu desenvolvimento (40, 60 e 90 dias após a floração), Evangelista et al. (2002) observaram que na ausência de aplicação de cálcio, os frutos-controle da mangueira, no dia da colheita, apresentaram desestruturação da parede celular e dissolução da lamela média.

Da mesma forma, Pereira et al. (2015) observaram em bananas 'FHIA-18' que a aplicação, em pré-colheita, das soluções de cloreto de cálcio nas doses de 2, 4 e 6 % não foram suficientes para afetar a firmeza do fruto, porém houve aumento na firmeza com o aumento do número de aplicações. Em três aplicações de cloreto de cálcio, os frutos apresentaram-se mais consistentes do que com uma e duas aplicações, não diferindo da testemunha.

Brackmann et al. (2010) obtiveram maior firmeza dos frutos de maçãs 'Fuji' submetidas à aplicação em pré-colheita de um maior número de aplicações de CaCl_2 (nove aplicações). De acordo com Poovaiah (1986), o cálcio mantém a firmeza de polpa dos frutos ao formar ligações entre as pectinas da parede celular e lamela média, promovendo maior estabilidade. Além disso, altos níveis de cálcio no apoplasto de frutos podem contribuir para a inibição persistente da hidrólise da pectina durante o amadurecimento (HUBER et al., 2001).

Por meio de avaliações microscópicas da estrutura da parede celular de goiaba 'Paluma', Natale et al. (2005) explicam que a aplicação de cálcio promove resposta positiva na qualidade de frutos, e que este mineral é efetivo na organização subcelular dos frutos e aumenta sua vida útil. Tal trabalho foi desenvolvido com frutos colhidos em área sem aplicação de calcário e com aplicação de corretivo. Os frutos que receberam aplicação de Ca tiveram as paredes celulares e as lamelas médias bem definidas e estruturadas, notou-se que o Ca foi efetivo na preservação da parede celular, em particular a região da lamela média, que se apresentava rica em poliuronídeos, com as células unidas e, ainda, escuras, o que indica presença de material intercelular; já nos frutos sem aplicação de cálcio, observou-se que a degradação da parede celular ocorreu, inicialmente, na lamela média, que é rica em protopectina, o que levou à formação de espaços vazios bastante visíveis.

Em mamões UENF/ Caliman 01, Silva et al. (2015) avaliaram diferentes concentrações de CaCl_2 aplicadas, na pós-colheita, por infiltração a vácuo (0 %, 2 %, 4 %, 6 % e 8 % CaCl_2 (p/v), constataram que as soluções com 6 % e 8 % de CaCl_2 , foram capazes de influenciar na qualidade dos mesmos, melhorando a manutenção da firmeza do fruto e do mesocarpo, o que pode favorecer a comercialização dos mesmos em mercados mais distantes.

O processo de amolecimento é parte integrante do amadurecimento de quase todas as frutas e tem grande importância comercial devido ao fato de a vida pós-colheita das frutas ser limitada, em grande parte, pelo aumento do amolecimento, que as tornam mais susceptíveis às injúrias mecânicas e às doenças durante o manuseio pós-colheita (BICALHO et al., 2000).

O cálcio recebe considerável atenção devido ao seu efeito na redução da taxa de senescência dos frutos. Estudos indicam que, no amadurecimento dos frutos, a taxa de senescência frequentemente depende dos níveis de cálcio do tecido (AGHDAM et al., 2012).

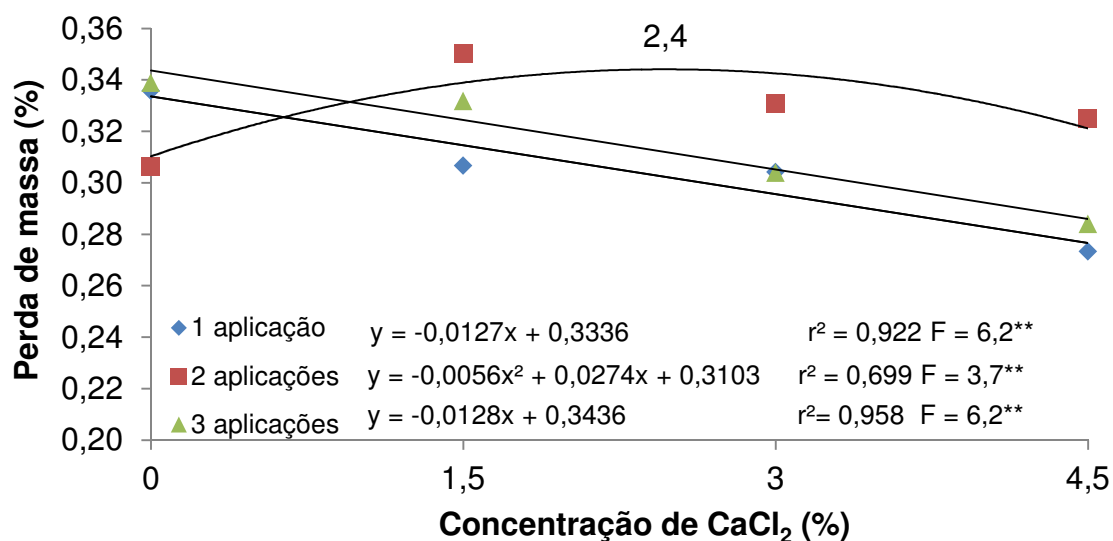
Em frutos de figueira na Índia, foi constatado que a imersão de frutos em solução com 4 % de cloreto de cálcio é eficaz na manutenção da qualidade dos mesmos, com efeito positivo na textura dos frutos, e desta forma prolongou a vida útil em 14 dias (IRFAN et al., 2013).

Evangelista et al. (2000) observaram uma manutenção da firmeza de mangas 'Tommy Atkins' tratadas com cloreto de cálcio a 2,5 e 5,0 %, e verificaram que quanto maior a concentração aplicada, mais firmes permaneceram os frutos.

Quanto à avaliação da perda de massa, verificou-se que esta característica foi influenciada significativamente pela interação de diferentes concentrações de CaCl_2 e número de aplicações, sendo que efetuando o número de duas aplicações ocorreu a maior perda de massa (0,35 %) com a concentração de 2,4 % de CaCl_2 . Quando realizado 1 e 3 aplicações, observou-se que quanto maior a concentração de CaCl_2 , menor a perda de massa (Figura 12). Logo, é aconselhável utilizar a maior concentração (4,5 % de CaCl_2) com única aplicação, economizando tempo para aplicação e quantidade de produto aplicado.

No presente trabalho, nas condições de câmara fria a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR $85 \pm 5\%$, o sexto dia foi o tempo limite de armazenamento para que os frutos não apresentassem decréscimo significativo da qualidade, não ocorrendo podridões ou comprometimento do odor.

Figura 12 - Perda de massa de frutos de amoreira-preta 'Tupy' em função das diferentes concentrações de CaCl_2 , armazenados por 6 dias a temperatura de $5 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa (UR) $85 \pm 5\%$. São Manuel, SP. 2014 e 2015



Já para Ferreira (2012) o período de oito dias de armazenamento foi o limite, nas seguintes condições da câmara fria: temperatura de $0\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $96\% \pm 1$. Para este mesmo autor, no geral, as aplicações de cálcio não melhoraram a qualidade das amoras durante o armazenamento, pois provavelmente a concentração de cálcio utilizada, não foi eficiente para amora-preta ou a amostragem não foi realizada na época em que os efeitos poderiam ser percebidos.

Ao avaliar a perda de massa em função do tempo de armazenamento, corroborou-se que, independente da concentração de CaCl_2 e número de aplicações, o comportamento foi similar, com aumento quadrático. Com seis dias de armazenamento notou-se menor perda de massa com as concentrações 3 e 4,5 % de CaCl_2 e com uma aplicação (Figuras 13 e 14).

A amora-preta é um fruto não climatérico, que possui curta vida útil (AZEVEDO, 2011). Sendo assim, a avaliação de perda de massa dos frutos cessou no sexto dia, pois no sétimo dia apresentavam sinais de deterioração e surgimento de fungos, tornando os frutos inapropriados para comercialização e consumo.

As perdas de massa em frutos armazenados ocorrem em decorrência da água eliminada por transpiração, causada pela diferença de pressão de vapor entre o fruto e o ar no ambiente (SOUSA et al., 2000). A perda de água leva ao amolecimento dos tecidos, tornando as frutas e hortaliças mais suscetíveis às deteriorações e às alterações na cor e sabor (BEN-YEHOSHURA, 1985).

Figura 13 - Perda de massa (em função das concentrações de CaCl_2) de frutos de amoreira-preta 'Tupy' em função do tempo de armazenamento a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa (UR) $85 \pm 5\%$. São Manuel, SP. 2014 e 2015

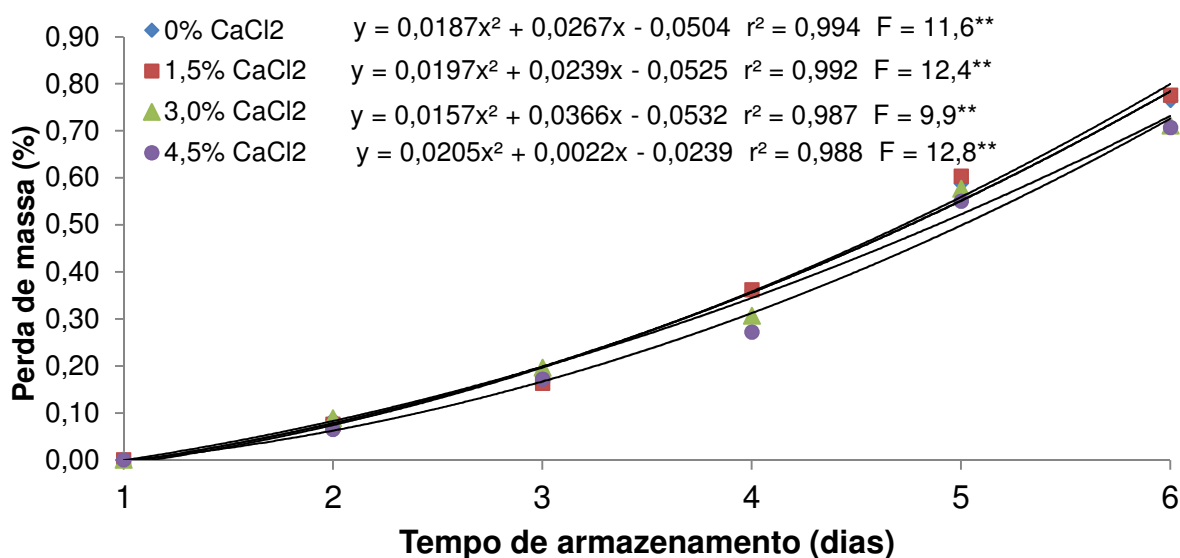
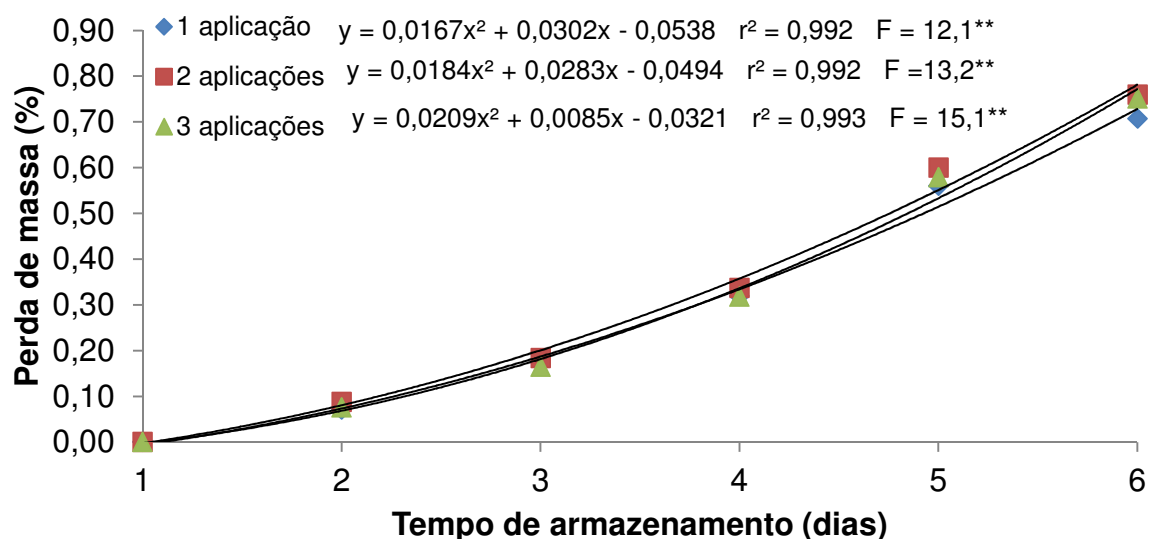


Figura 14 - Perda de massa (em função do número de aplicações de CaCl_2) de frutos de amoreira-preta 'Tupy' em função do tempo de armazenamento à $5 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa (UR) $85 \pm 5\%$. São Manuel, SP. 2014 e 2015



Para Ferreira (2012) a perda de massa em amoreira-preta também foi significativa, sendo observada nas condições de câmara fria com temperatura de $0^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa de $96\% \pm 1$, a interação entre número de aplicações de cálcio (0, 1, 2, 3, 4 e 5) e período de armazenamento (4 dias), explicando ainda que tal fato deve-se ao teor de água na maioria das frutas variando de 80 a 95 % e parte

dela é perdida pelo processo de transpiração, através dos estômatos, cutículas e lenticelas, sendo o principal processo envolvido na perda de massa das frutas após a colheita.

De acordo com Chitarra e Chitarra (2005), a perda de massa fresca, para ser considerada danosa e com redução na qualidade dos frutos, de modo geral, deve ser em torno de 10%.

Al-Eryani-Raqeeb et al. (2008) demonstraram que a aplicação de cloreto de cálcio a vácuo na pós-colheita do mamão 'Eksotica II' reduziu significativamente a perda de massa fresca dos frutos, que foi justificada pela maior dificuldade de saída de água quando as paredes e membranas celulares estão mais íntegras, o que é favorecido pelo cálcio. Enquanto que, Angeletti et al. (2010) observaram em mirtilos 'O'Neal' e 'Bluecrop', aplicando cálcio em pré-colheita, via solo (adubação com CaSO_4), que houve perda de massa reduzida, pois os íons de cálcio aumentaram a estabilidade das paredes das células por ligação de pectinas não esterificadas e, apesar da parede celular das plantas serem permeáveis à água, reduzida a desmontagem desta estrutura pode resultar em maior resistência ao fluxo de água.

Quanto à avaliação das variáveis físico-químicas houve significância a 1 % de probabilidade pelo teste F para as variáveis ácido ascórbico e açúcar solúvel total dos frutos, já para 5 % de probabilidade houve significância para as variáveis sólidos solúveis, acidez titulável e açúcar solúvel redutor, referente às concentrações de CaCl_2 (Tabela 7). Quando avaliado o número de aplicações e a interação entre os fatores, não foi observada significância para nenhuma variável.

Ferreira (2012) também afirmou que a relação sólidos solúveis/acidez titulável ("ratio") não foi significativa quando utilizado cálcio em diferentes números de aplicações em pré-colheita da cultivar Tupy. Finkenauer (2010) observou na safra 2008/09, relação SS/AT entre 13,10 e 16,01 para amoreira-preta cv. Xavante, valores superiores aos encontrados neste trabalho.

No geral, a amora-preta, apresenta valores de pH baixos, isso se deve à sua característica natural, o qual lhe proporciona um sabor ácido ou doce ácido, que geralmente está abaixo de 4 (VILLA et al., 2014), logo os valores deste trabalho estão dentro do esperado, variando de 3,02 a 3,08 em 2014 e de 3,54 a 3,60 em 2015 (Tabela 8).

Valores de pH, encontrados por Werner et al. (2009), em goiabas 'Cortibel' também não diferiram significativamente, quando aplicado cálcio em pós-colheita.

Da mesma forma, Ferreira et al. (2013) não obtiveram alteração nos valores de pH (variou de 2,79 a 3,16), em amoras-pretas 'Tupy', que receberam aplicações na planta na fase de floração com um fertilizante foliar líquido na forma de CaB, contendo 19 % de Cálcio e 2 % de Boro.

Hirsh (2011) obteve valores de pH em torno de 3,06 trabalhando com amoras da região de Pelotas/RS, valores semelhantes aos encontrados neste experimento.

Tabela 7 - Valores do Teste F e média da análise de variância do pH, sólidos solúveis (SS), acidez titulável (Aci. tit.), "ratio", ácido ascórbico (AA), açúcar solúvel redutor (AR) e açúcar solúvel total (AT) de frutos de amoreira-preta 'Tupy', colhidos em São Manuel-SP nos ciclos agrícolas de 2014 e 2015

FV	pH	SS (°Brix)	Aci. tit. (mg ác.cítrico 100 g ⁻¹)	"Ratio"	AA (g100g ⁻¹)	AR (%)	AT (%)
Bloco (B)	3,73 ^{NS}	0,80 ^{NS}	2,85*	2,89 ^{NS}	0,25 ^{NS}	0,63 ^{NS}	0,71 ^{NS}
Concentração de CaCl₂ (C)	1,76 ^{NS}	1,85*	1,55*	1,33 ^{NS}	23,18**	4,47*	3,31**
Nº de aplicações (A)	0,74 ^{NS}	0,47 ^{NS}	0,25 ^{NS}	1,28 ^{NS}	0,31 ^{NS}	3,19 ^{NS}	1,04 ^{NS}
Interação (Cx A)	0,95 ^{NS}	0,73 ^{NS}	0,69 ^{NS}	0,83 ^{NS}	1,09 ^{NS}	0,29 ^{NS}	0,43 ^{NS}
CV (%)	2,96	7,91	11,20	16,74	18,52	12,93	18,73
Média	3,30	9,89	1,34	7,69	65,52	6,77	7,74

^{NS} = não significativo; * = significativo a 5 %; ** = significativo à 1 % pelo teste F

Os dados médios das concentrações de CaCl₂ e do número de aplicações separadamente, correspondente aos ciclos agrícolas de 2014 e 2015 encontram-se na tabela 8.

Tabela 8 - Dados médios dos frutos de amoreira-preta ‘Tupy’ de pH, sólidos solúveis (°Brix), acidez titulável (mg ácido cítrico 100 g⁻¹), “ratio”, ácido ascórbico (g 100g⁻¹), açúcar solúvel redutor (%) e açúcar solúvel total (%), referentes às concentrações de CaCl₂ e do número de aplicações correspondente aos ciclos agrícolas de 2014 e 2015, em São Manuel - SP

CICLO AGRÍCOLA 2014							
Concentração de CaCl ₂ (%)	pH	SS (°Brix)	Aci. tit. (mg ác.cítrico 100 g ⁻¹)	“Ratio”	AA (g 100g ⁻¹)	AR (%)	AT (%)
0	3,08	9,22	1,37	6,80	46,77	7,77	9,38
1,5	3,04	8,66	1,34	6,48	62,11	6,58	7,30
3	3,04	8,95	1,40	6,45	80,25	6,25	8,00
4,5	3,04	8,77	1,39	6,36	82,64	6,45	6,76
Média	3,05	8,90	1,37	6,52	67,94	6,76	7,86
Número de aplicações	pH	SS (°Brix)	Aci. tit. (mg ác.cítrico 100 g ⁻¹)	“Ratio”	AA (g 100g ⁻¹)	AR (%)	AT (%)
1	3,07	8,93	1,35	6,64	73,51	7,17	8,27
2	3,05	8,86	1,39	6,44	65,85	6,45	7,60
3	3,02	8,91	1,38	6,48	64,47	6,67	7,71
Média	3,05	8,90	1,37	6,52	67,94	6,76	7,86
CICLO AGRÍCOLA 2015							
Concentração de CaCl ₂ (%)	pH	SS (°Brix)	Aci. tit. (mg ác.cítrico 100 g ⁻¹)	“Ratio”	AA (g 100g ⁻¹)	AR (%)	AT (%)
0	3,60	11,16	1,44	8,63	43,76	7,32	8,07
1,5	3,58	11,14	1,25	9,19	54,97	6,82	7,34
3	3,60	11,10	1,19	9,78	71,17	6,44	7,79
4,5	3,46	10,18	1,33	7,85	82,50	6,54	7,24
Média	3,56	10,89	1,30	8,86	63,10	6,78	7,61
Número de aplicações	pH	SS (°Brix)	Aci. tit. (mg ác.cítrico 100 g ⁻¹)	“Ratio”	AA (g 100g ⁻¹)	AR (%)	AT (%)
1	3,57	11,15	1,28	9,57	59,15	7,26	8,02
2	3,57	10,89	1,32	8,65	67,47	6,56	7,66
3	3,54	10,64	1,31	8,35	62,68	6,52	7,16
Média	3,56	10,89	1,30	8,86	63,10	6,78	7,61
Média de 2014 e 2015	3,30	9,89	1,33	7,69	65,52	6,77	7,73

Conforme aumentou a concentração de CaCl₂ aplicada na planta, o valor para a variável sólidos solúveis diminuiu, atingindo o valor mínimo quando aplicada a maior concentração (4,5 % de CaCl₂) (Figura 15). Lima et al. (2000) avaliando a aplicação de doses crescentes (0, 5, 10 e 150 mg L⁻¹) de cloreto de cálcio, em pré-colheita na cultivar de videira Itália, observaram que houve decréscimo linear no teor de sólidos solúveis comparado com a testemunha. O cálcio, segundo Bangerth et al. (1972),

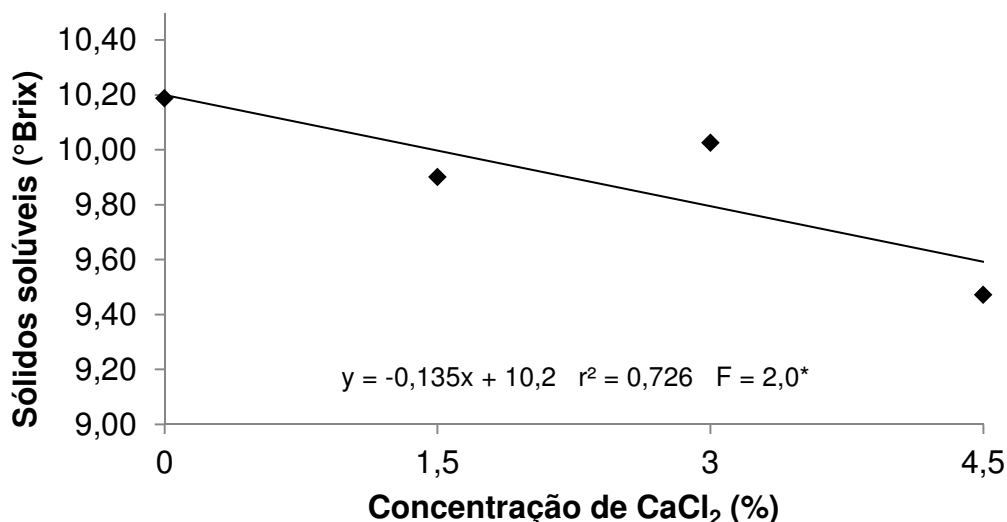
pode reduzir a taxa respiratória, por limitar a difusão dos substratos do vacúolo para o citoplasma. Conseqüentemente, a concentração de frutose 2,6-bifosfato e o fluxo glicolítico são reduzidos (BRADY, 1987).

Segundo Ferreira (2012) a quantidade de sólidos solúveis em frutos de amoreira-preta 'Tupy', foi significativa para o fator número de aplicações de cálcio em pré-colheita na planta em floração, sendo que o maior valor (11,4 °Brix) foi observado no tratamento com o maior número de aplicações de cálcio (4 aplicações). De acordo com Kluge et al. (1997) a presença do cálcio nas membranas reduz a permeabilidade destas, decrescendo o processo respiratório e aumentando a estabilidade das membranas. Uma característica apreciada pelos consumidores é o equilíbrio entre o teor de açúcar das frutas e a acidez, fato que a torna sensorialmente atrativa.

Brackmann et al. (2010) constataram que os níveis de sólidos solúveis mostraram aumento com o maior número de aplicações de Ca (nove aplicações). Esses resultados concordam parcialmente com os de Omaira e Karima (2007), que verificaram aumento no teor de sólidos solúveis totais com a aplicação pré-colheita de CaCl_2 (0,4 %), em maçãs 'Anna'.

O teor de sólidos solúveis é característica de interesse para frutas comercializadas *in natura*, pois o mercado consumidor demanda frutos mais doces (CONTI et al., 2002). O teor de sólidos solúveis dá um indicativo da quantidade de açúcares existentes na fruta, considerando que outros compostos, em menores proporções, como os ácidos, as vitaminas, os aminoácidos e algumas pectinas, também fazem parte da composição dos sólidos solúveis da fruta (KLUGE et al., 2002).

Figura 15 - Sólidos solúveis (°Brix) de frutos de amoreira-preta 'Tupy' em função das diferentes concentrações de CaCl_2 , aplicadas em pré-colheita. São Manuel, SP. 2014 e 2015



As concentrações de CaCl_2 , aplicadas na planta, influenciaram significativamente a acidez titulável dos frutos de amoreira-preta 'Tupy', cujos efeitos foram quadráticos, ou seja, o mínimo valor de acidez titulável, 1,3 mg ácido cítrico 100 g^{-1} , foi alcançado com a concentração estimada de 2,5 % de CaCl_2 (Figura 16). A manutenção da acidez do fruto é muito importante porque garante sabor e odor ao produto (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

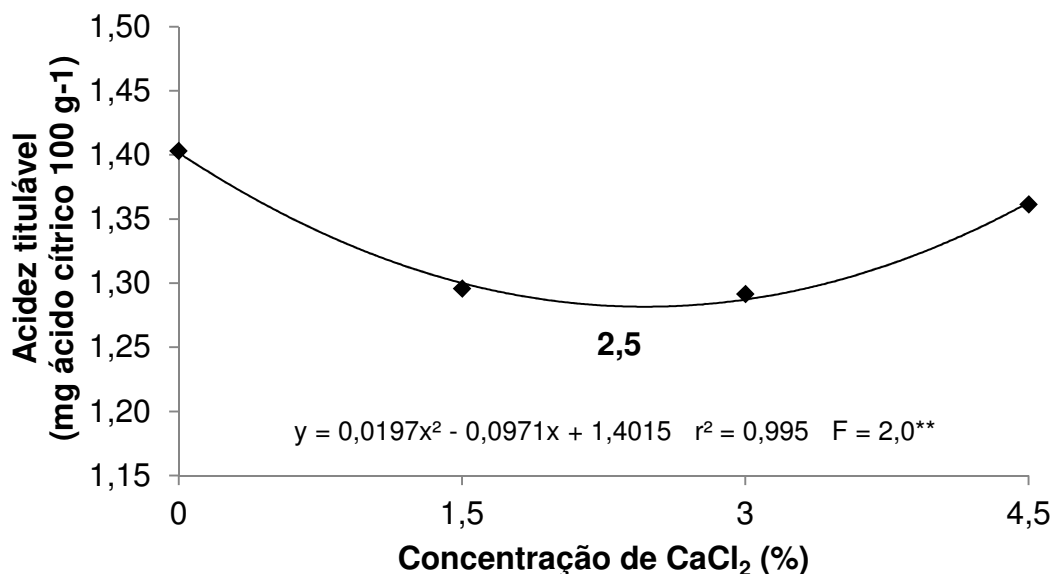
O efeito do tratamento com cálcio na acidez titulável tem sido apresentado na literatura com resultados bastante variáveis (SILVA et al., 2015).

Omaima e Karima (2007) verificaram diminuição na acidez titulável com a aplicação pré-colheita de CaCl_2 (0,4 %), em maçãs 'Anna'. Salles e Tavares (1999) relataram que a diminuição da acidez está associada ao consumo de ácidos no processo respiratório, em decorrência da maturação.

Segundo Chitarra e Chitarra (2005) a acidez em produtos hortícolas é atribuída, principalmente, aos ácidos orgânicos que se encontram dissolvidos nos vacúolos das células, tanto na forma livre, como combinada com sais, ésteres, glicosídeos, etc.

Lima et al. (2000) não observaram efeitos da aplicação de cálcio na acidez titulável em videira 'Itália'. Os autores citaram que a mesma resposta foi obtida por Singh et al. (1989) com a aplicação de CaCl_2 na cultivar Himrod.

Figura 16 - Acidez titulável de frutos de amoreira-preta ‘Tupy’ em função das diferentes concentrações de CaCl_2 , aplicadas em pré-colheita. São Manuel, SP. 2014 e 2015



O ácido ascórbico apresentou aumento linear em função das concentrações crescentes de CaCl_2 , aplicadas na planta, atingindo o valor máximo no tratamento onde foi aplicada a maior quantidade do CaCl_2 (4,5 %) (Figura 17). O teor de ácido ascórbico pode ser utilizado como índice de qualidade dos alimentos, logo a aplicação da maior concentração de cloreto de cálcio (4,5 %) em pré-colheita em plantas de amoreira-preta ‘Tupy’, gerou frutos com altos teores de ácido ascórbico.

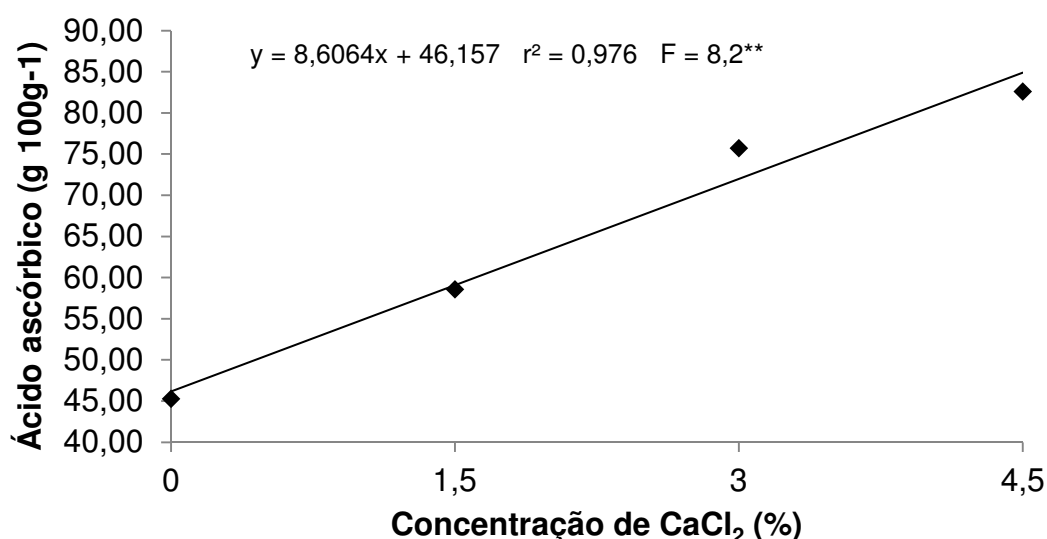
De acordo com Silva et al. (2015) o uso do CaCl_2 não interferiu nas características químicas do fruto, tais como sólidos solúveis, acidez titulável e razão SS/AT, porém diminuiu a síntese de ácido ascórbico. A diminuição na síntese de ácido ascórbico (AA) para os frutos com maiores concentrações de CaCl_2 pode ser justificada pela menor atividade respiratória destes frutos, dado o menor fornecimento de “substrato” respiratório pela menor atividade de enzimas pectinolíticas (MAHMUD et al., 2008). Uma consequência deste fenômeno é o menor fornecimento de intermediários pela oxidação de açúcares que levariam à produção de L-galactona-1,4-lactona (GL), precursor imediato na via de síntese do AA, a partir da ação da enzima L-galactona-1,4-lactona desidrogenase (GLDH) (SMIRNOFF; WHEELER, 2000).

No entanto, goiabas ‘Cortibel’, quando tratadas em pós-colheita com CaCl_2 , apresentaram diminuição nos teores de ácido ascórbico quando comparadas aos

frutos não tratados, justificado pela possível redução na degradação de polissacarídeos da parede celular e relacionados à via de síntese de ácido ascórbico em plantas (WERNER et al., 2009; SZARKA et al., 2013).

Resultados semelhantes também foram observados por Torres et al. (2010) em atemoia (*Annona cherimola* Mill x *Annona squamosa* L.), e também em figo (*Ficus carica* L.) por Irfan et al. (2013). Porém, em maçã e tomates tratados com cloreto de cálcio, o conteúdo de vitamina C aumentou (BANGERTH, 1976). Botelho et al. (2002) verificaram que a concentração de 0,5 % de cloreto de cálcio não alterou o teor de ácido ascórbico em goiabas 'Branca de Kumagai'.

Figura 17 - Ácido ascórbico de frutos de amoreira-preta 'Tupy' em função das diferentes concentrações de CaCl_2 , aplicadas em pré-colheita. São Manuel, SP. 2014 e 2015



O teor de açúcar solúvel total e redutor nos frutos apresentou diminuição linear em função das concentrações crescentes de CaCl_2 , aplicadas à planta, atingindo o valor mínimo no tratamento onde foi aplicada a maior concentração de CaCl_2 , 4,5 % (Figuras 18 e 19).

No Sul de Minas Gerais, avaliando diferentes cultivares de amoras, foram constatados valores menores ao deste trabalho nos frutos da cultivar Tupy (açúcar total: 1,60 g 100g⁻¹ e açúcar redutor: 1,51 g 100g⁻¹) (GUEDES et al., 2014). Conforme retrata Mujtaba e Masud (2014), a porcentagem total de açúcares solúveis é de grande importância para determinar a qualidade dos frutos, haja vista que o

sabor dos mesmos depende deste conteúdo, concordando com Kafkas et al. (2006), que afirmam que o acúmulo de açúcar nos frutos exerce grande importância em sua fisiologia pós-colheita, em especial a frutose, que é o açúcar responsável pela doçura.

Assim como neste trabalho, Silva et al. (2015) avaliando tratamento com aplicação de CaCl_2 em mamões, observaram que os teores de açúcares solúveis totais foram significativamente influenciados pela aplicação das soluções de CaCl_2 , ocorrendo redução à medida que se aumentaram as concentrações de CaCl_2 , justificado pela maior estabilização das ligações pécnicas promovidas pelo cálcio.

Figura 18 - Açúcar solúvel total de amoreira-preta 'Tupy' em função das diferentes concentrações de CaCl_2 , aplicadas em pré-colheita. São Manuel, SP. 2014 e 2015

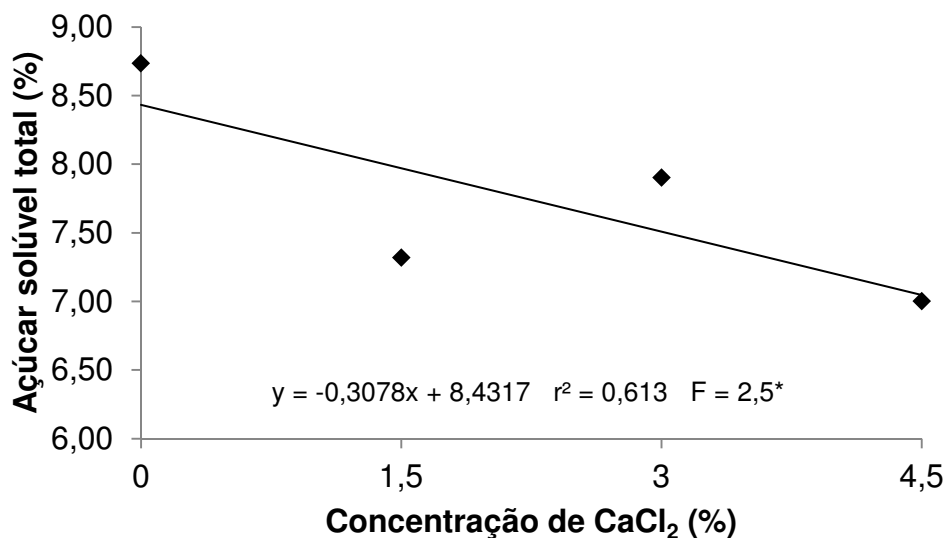
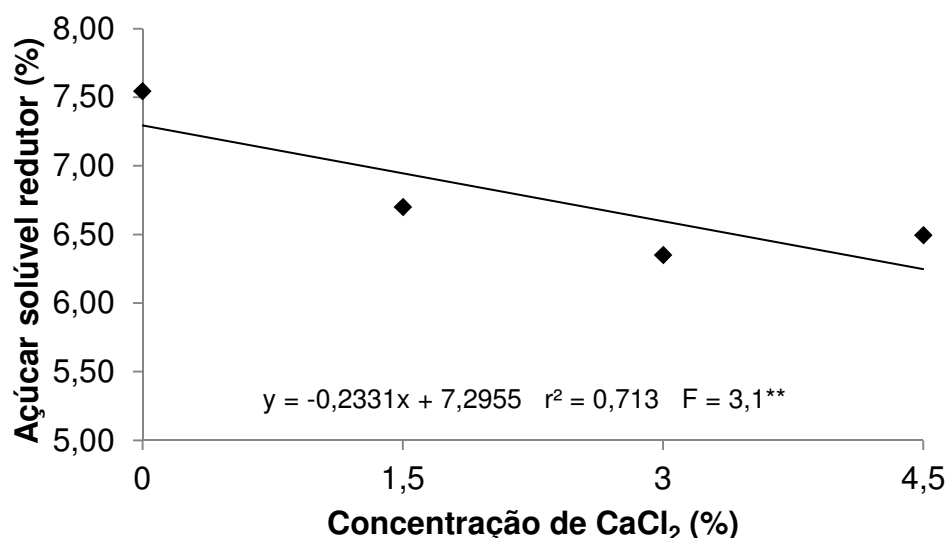


Figura 19 - Açúcar solúvel redutor de amoreira-preta 'Tupy' em função das diferentes concentrações de CaCl_2 , aplicadas em pré-colheita. São Manuel, SP. 2014 e 2015



Quanto à avaliação das variáveis bioquímicas houve significância a 1 % de probabilidade pelo teste F para as variáveis atividade antioxidante e polifenóis totais referente às concentrações de CaCl_2 (Tabela 9). Quando avaliada a interação entre os fatores, não foi observada significância para nenhuma variável.

Tabela 9 - Valores do Teste F e média da análise de variância da atividade antioxidante, polifenóis totais, flavonóides e antocianinas de frutos de amoreira-preta 'Tupy', colhidos em São Manuel-SP nos ciclos agrícolas de 2014 e 2015

FV	Ativ. Antioxidante (μmol ác. asc. g^{-1})	Polif. totais (mg 100 g^{-1})	Flavonóides (mg 100 g^{-1})	Antocianinas (mg 100 g^{-1})
Bloco (B)	2,46 ^{NS}	4,59 ^{**}	0,28 ^{NS}	0,10 ^{NS}
Concentração de CaCl_2 (C)	5,58 ^{**}	20,86 ^{**}	2,68 ^{NS}	0,62 ^{NS}
Nº de aplicações (A)	3,73 [*]	3,30 [*]	1,65 ^{NS}	0,41 ^{NS}
Interação (CxA)	0,73 ^{NS}	1,71 ^{NS}	1,62 ^{NS}	1,39 ^{NS}
CV (%)	21,08	10,27	24,80	35,98
Média	0,61	1450,73	221,50	68,58

^{NS} = não significativo; * = significativo a 5 %; ** = significativo à 1 % pelo teste F

Na Tabela 10 encontram-se os dados médios das concentrações de CaCl_2 e do número de aplicações separadamente, correspondente aos ciclos agrícolas de 2014 e 2015.

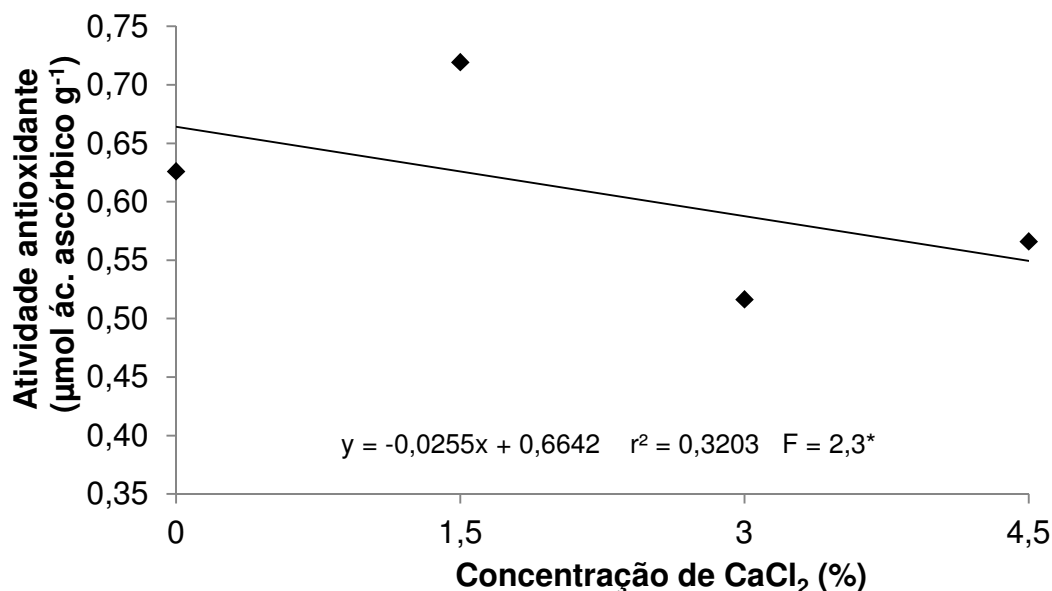
Tabela 10 - Dados médios dos frutos de amoreira-preta 'Tupy' de atividade antioxidante (μmol ácido ascórbico g^{-1}), polifenóis totais (mg 100 g^{-1}), flavonóides (mg 100 g^{-1}), antocianinas (mg 100 g^{-1}), referentes às concentrações de CaCl_2 e do número de aplicações correspondente aos ciclos agrícolas de 2014 e 2015, em São Manuel - SP

CICLO AGRÍCOLA 2014				
Concentração de CaCl_2 (%)	Ativ. Antioxidante (μmol ác. asc. g^{-1})	Polif. totais (mg 100 g^{-1})	Flavonóides (mg 100 g^{-1})	Antocianinas (mg 100 g^{-1})
0	0,57	1462,02	191,82	60,43
1,5	0,63	1559,91	202,71	59,42
3	0,52	1146,14	162,72	56,27
4,5	0,51	1335,31	238,55	54,73
Média	0,55	1375,85	198,95	57,71
Número de aplicações	Ativ. Antioxidante (μmol ác. asc. g^{-1})	Polif. totais (mg 100 g^{-1})	Flavonóides (mg 100 g^{-1})	Antocianinas (mg 100 g^{-1})
1	0,49	1325,52	184,52	58,99
2	0,56	1376,58	208,97	54,71
3	0,61	1425,44	203,36	59,44
Média	0,55	1375,85	198,95	57,71
CICLO AGRÍCOLA 2015				
Concentração de CaCl_2 (%)	Ativ. Antioxidante (μmol ác. asc. g^{-1})	Polif. totais (mg 100 g^{-1})	Flavonóides (mg 100 g^{-1})	Antocianinas (mg 100 g^{-1})
0	0,70	1765,66	259,74	90,03
1,5	0,81	1678,00	261,75	79,96
3	0,52	1315,03	205,70	79,39
4,5	0,63	1343,79	249,03	68,43
Média	0,66	1525,62	244,05	79,45
Número de aplicações	Ativ. Antioxidante (μmol ác. asc. g^{-1})	Polif. totais (mg 100 g^{-1})	Flavonóides (mg 100 g^{-1})	Antocianinas (mg 100 g^{-1})
1	0,67	1479,18	218,36	77,51
2	0,58	1467,11	259,99	74,94
3	0,74	1630,57	253,81	85,91
Média	0,66	1525,62	244,05	79,45
Média de 2014 e 2015	0,60	1459,48	221,5	68,58

Conforme aumentou a concentração de CaCl_2 aplicada na planta, o valor para a variável atividade antioxidante diminuiu, atingindo o valor mínimo quando aplicada a maior concentração (4,5 % de CaCl_2) (Figura 20).

Souza et al. (2013) encontraram $0,29 \pm 0,04 \mu\text{mol g}^{-1}$ de atividade antioxidante em frutos 100 % pretos de amora-preta 'Tupy' e afirmam que a capacidade antioxidante de frutos vem sendo reportada na literatura pela relação direta do conteúdo total de fenóis e de antocianinas presentes no material.

Figura 20 – Atividade antioxidante de frutos de amoreira-preta ‘Tupy’ em função das diferentes concentrações de CaCl_2 , aplicadas em pré-colheita. São Manuel, SP. 2014 e 2015

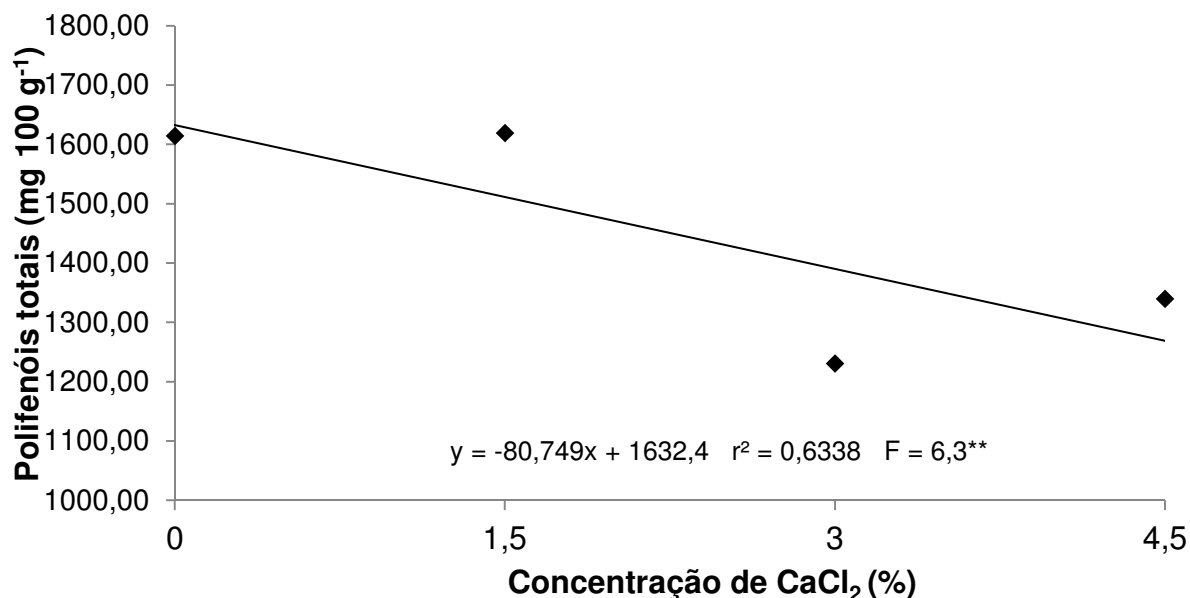


Os polifenóis totais nos frutos apresentaram diminuição linear em função das concentrações crescentes de CaCl_2 , aplicadas à planta, atingindo o valor mínimo no tratamento onde foi aplicada a maior concentração de CaCl_2 , 4,5 % (Figura 21). Mesmo com o valor mínimo encontrado de polifenóis totais, este ainda é considerado elevado. Assim como afirmou Vizzotto et al. (2012), que encontraram valores semelhantes de compostos fenólicos totais em polpa de amora-preta, $1145,5 \pm 56,4 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$.

Já Hassimoto et al. (2008) observaram em cultivares de amoras-pretas Cainguangue, Brazos, Tupy, Guarani e Seleção 97, valores inferiores de compostos fenólicos, 373 a $499 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$, assim como para outros compostos, antocianinas de 116 a $194 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ e de flavonoides 123 a $233 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$.

Segundo Acosta-Montoya et al. (2010), a amora possui elevada atividade antioxidante, que pode ser explicada pelo efeito sinérgico entre os compostos fenólicos.

Figura 21 – Polifenóis totais de frutos de amoreira-preta ‘Tupy’ em função das diferentes concentrações de CaCl_2 , aplicadas em pré-colheita. São Manuel, SP. 2014 e 2015



2.3.3 Avaliações enzimáticas

A pectinametilesterase (PME) deve preceder a atividade da poligalacturonase (PG), no sentido de facilitar a atividade desta última, pela desmetilação dos poliuronídeos. A PG teria maior afinidade pelo substrato linear, desmetilado, após a atuação da PME (ANTHON et al., 2002; BICALHO et al., 2000). Na maioria dos frutos a atividade da PG aumenta durante o amadurecimento concomitantemente com um aumento na maciez do fruto e a solubilização de poliuronídeos da parede (BICALHO et al., 2000).

Não foi encontrada atividade enzimática das enzimas pectinametilesterase (PME) e poligalacturonase (PG) em todos os tratamentos, pois os frutos, que apresentavam-se maduros na cor “preto-brilhante”, estavam abaixo do limite de detecção do método. Tal resultado pode ser entendido quando temos a explicação de que em frutos tratados com CaCl_2 ocorrem menores atividades da PME e PG, pois uma vez que os íons Ca^{++} associam-se com substâncias pécticas da parede celular e lamela média, há a formação de pectato de cálcio, que diminui a ação dessas enzimas, propiciando maior rigidez da lamela média e parede celular (AGHDAM et al., 2012).

Dados semelhantes ao deste trabalho foram observados por Souza (2013), em que ao avaliar a atividade das enzimas poligalacturonase e pectinametilesterase em frutos de amora-preta 'Tupy' 100 % vermelhos; 50 % vermelho e 50 % pretos; e 100 % pretos; aos 0, 3, 6, 9, 12 e 15 dias de armazenamento a 2 °C e UR 90 ± 5 %, encontrou que, aos 15 dias, tanto a PG quanto a PME apresentaram atividade enzimática muito baixa, ou seja, abaixo do limite de detecção do método, e assim os frutos desta época não foram avaliados.

Este mesmo autor ainda afirmou que o tratamento composto pelos frutos 100 % pretos não apresentou atividade enzimática durante todo o período de avaliação. Antunes et al. (2006) estudando a alteração da atividade das enzimas PG e PME ao longo do tempo de armazenamento de 2 cultivares de amora-preta verificaram aumento linear nos teores de PME até o 12º dia em ambas as cultivares avaliadas (Brazos e Comanche), enquanto a atividade da PG decresceu com o aumento do período de armazenamento. Já quanto à alteração nos teores de PME quanto à temperatura de armazenamento dos frutos, os mesmos autores verificaram que o tratamento que se manteve à temperatura ambiente apresentou os maiores teores na maioria do período avaliado.

De acordo com Xisto et al. (2004), a aplicação de cálcio na pós-colheita em goiabas 'Pedro Sato', com tratamento hidrotérmico à temperatura de 30 °C com cloreto de cálcio a 1g 100 mL⁻¹, onde em seguida os frutos foram armazenados em condições ambientes (22,6 ± 1 °C, UR 75 ± 5 %) durante quatro dias, proporcionou atividades mais baixas de PME e PG, promovendo amaciamento menos intenso e mantendo a firmeza desses frutos. Segundo Imsabai et al. (2006) e Johnston et al. (2002), isso é explicado pelo fato de que o cálcio atua fixando as ligações cruzadas entre as moléculas de pectina e, portanto, mantendo a integridade da parede celular.

Trabalhando com mangas 'Tommy Atkins' pulverizadas na pré-colheita em três épocas (± 40 dias após a floração, ± 60 dias após a floração e ± 90 dias após a floração) e com três concentrações de CaCl₂ (zero, 2,5 e 5,0 %), Evangelista et al. (2000) também constataram que não houve atividade da PME no frutos, e quanto à PG, ocorreu menor atividade da enzima no tratamento com CaCl₂ a 5,0 %, sendo sua maior atividade observada nos frutos testemunha.

A participação do cálcio nas ligações entre ácidos pécticos e polissacarídeos estabiliza a estrutura da parede e da membrana celular por meio da formação de uma rede de pectina envolvendo pontes de cálcio nos grupos carboxílicos não

esterificados da estrutura poligalacturônica, o que dificulta o acesso das enzimas hidrolíticas, como a pectinametilesterase e poligalacturonase (WERNER et al., 2009).

2.4 CONCLUSÕES

A aplicação de CaCl_2 em pré-colheita, na concentração de 4,5 %, quando os frutos estavam na fase fenológica de inchamento dos frutos com restos florais, promove menor perda de massa, maior firmeza e conteúdo de ácido ascórbico em amoras-pretas 'Tupy'.

Maiores concentrações de CaCl_2 promovem decréscimo dos teores de açúcares solúveis redutores e totais, atividade antioxidante e polifenóis totais.

O tempo de armazenamento da amora-preta Tupy é de seis dias (câmara fria a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR $85 \pm 5\%$), de modo que após o sexto dia há decréscimo significativo da qualidade das frutas, com surgimento de fungos, tornando-os inapropriados para comercialização e consumo.

Portanto, é viável a utilização de CaCl_2 em pré-colheita em frutos de amoreira-preta 'Tupy'.

2.5 REFERÊNCIAS

ACOSTA-MONTOYA, O.; VAILLANT, F.; COZZANO, S.; MERTZ, C.; PÉREZ, A.M.; CASTRO, M.V. Phenolic content and antioxidant capacity of tropical highland blackberry (*Rubus adenotrichus* Schltdl.) during three edible maturity stages. **Food Chemistry**, v.119, p.1497-1501, 2010.

AGHDAM, M. S.; HASSANPOURAGHDAM, M. B.; PALIYATH, G.; FARMANI, B. The language of calcium in postharvest life of fruits, vegetables and flowers. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.144, p.102–115, 2012.

AL-ERYANI-RAQEEB, A.; MAHMUD, T. M. M.; SYED OMAR, S. R.; MOHAMED ZAKI, A. R.; AL-ERYANI, A. R. Effects of calcium and chitosan treatments on controlling anthracnose and postharvest quality of papaya (*Carica papaya* L.). **International Journal of Agricultural Research**, New York, v.4, n.2, p.53-68, 2008.

ANGELETTI, P.; CASTAGNASSO, H.; MICELI, E.; TERMINIELLO, L.; CONCELLÓN, A.; CHAVES, A.; VICENTE, A. R. Effect of preharvest calcium applications on postharvest quality, softening and cell wall degradation of two

blueberry (*Vaccinium corymbosum*) varieties. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.58, p. 98-103, 2010.

ANTHON, G. E.; SEKINE, Y.; WATANABE, N. Thermal inactivation of pectin methylesterase, polygalacturonase, and peroxidase in tomato juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p.6153-6159, 2002.

ANTUNES, L. E. C. **Aspectos fenológicos, propagação e conservação pós-colheita de frutos de amoreira-preta (*Rubus* spp) no sul de Minas Gerais**. 1999. 129 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

ANTUNES, L. E. C.; DUARTE FILHO, J.; SOUZA, C. M. de Conservação pós-colheita de frutos de amoreira-preta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n. 3, p. 413-419, 2003.

ANTUNES, L. E. C.; RASEIRA, M. do C. B. **Aspectos técnicos da cultura da amora-preta**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. 54 p. (Documento, 122).

ANTUNES, L. E. C.; GONÇALVES, E. D.; TREVISAN, R. Alterações da atividade da Poligalacturonase e Pectinametilesterase em amora-preta (*Rubus* spp.) durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 12, n. 1, p. 63-66, jan-mar, 2006.

ANTUNES, L. E. C., PEREIRA, I. dos S., PICOLOTTO, L., VIGNOLO, G. K., GONÇALVES, M. A. Produção de amoreira-preta no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, n. 1, p. 100-111, Mar. 2014.

ASSOCIATION OF OFICIAL ANALITYCAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis of the Association of Oficial Analitycal Chemistry International**. 13th ed. Washington, DC, 1992, 1015p.

ASSOCIATION OF OFICIAL ANALITYCAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis of the Association of Oficial Analitycal Chemistry International**. 18th ed. Gaithersburg, 2005. 1015 p.

AWAD, M. Efeito do cálcio nos frutos. In: Fisiologia pós-colheita de frutos. São Paulo: Nobel, 1993. 114p.

AWAD, A. M.; JAGER, A.; WESTING, L. M. van. Flavonoid and chlorogenic acid levels in apple fruit: characterization of variation. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 83, n. 3, p. 249-263, 2000.

AZEVEDO, M. L. **Perfil fitoquímico, atividades antioxidante e antimicrobiana de amora-preta (*Rubus fruticosus*) cv. Tupy em diferentes estádios de maturação cultivada em clima temperado**. 2011. 75 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial), Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2011.

BANGERTH, F. Relationship between calcium content and the content of ascorbic acid in apple, pear and tomato fruits. **Quality Plant**, Coimbra, v.26, p.341–348, 1976.

BANGERTH, F.; DILLEY, D.R.; DEWEY, D.H. Effect of postharvest calcium treatments on internal breakdown and respiration of apple fruits. **American Society for Horticultural Science. Journal**, Alexandria, v.97, n.5, p.679-682, 1972.

BEN-YEHOSHUA, S. Individual seal-packing of fruit and vegetables in plastic film: a new postharvest technique. **HortScience**, Alexandria, v. 20, n. 1, p. 32-37, 1985.

BICALHO, U. de O.; CHITARRA, A. B.; CHITARRA, M. I. F.; COELHO, A. H. R. Modificações texturais em mamões submetidos à aplicação pós-colheita de cálcio e embalagens PVC. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 1, p.136-146, 2000.

BOTELHO, R. V.; SOUZA, N. L. de; PERES, N. A. R. Post-harvest quality of guavas 'Branca de Kumagai', treated with calcium chloride. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 1, p. 63-67, 2002.

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

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

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C.; Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food Science and Tecnology**, London, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Instituto Adolfo Lutz. **Métodos Físicoquímicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo, 2005. 1018p.

CAMPAGNOLO, M. A.; PIO, R. Phenological and yield performance of black and redberry cultivars in western Paraná State. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 34, n. 4, p.439-444, 2012.

CATI. Distribuição geográfica de área cultivada e número de produtores, 2007/08, São Paulo. **Levantamento censitário das unidades de produção agropecuária do Estado de São Paulo**. Disponível em: <<http://www.cati.sp.gov.br/projetolupa/mapaculturas/AmoraPreta.php>>. Acesso em: 22 mar. 2016.

CHEN, F.; LIU, H.; YANG, H.; LAI, S.; CHENG, X.; XIN, Y.; YANG, B.; HOU, H.; YAO, Y.; ZHANG, S.; BU, G.; DENG, Y. Quality attributes and cell wall properties of strawberries (*Fragaria annanassa* Duch.) under calcium chloride treatment. **Food Chemistry**, Barking, v. 126, p. 450-459, 2011.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: Fisiologia e manuseio**. Lavras: UFLA, 2005. 785 p.

CONTI, J. H.; MINAMI, K.; TAVARES, F. C. A. Produção e qualidade de frutos de morango em ensaios conduzidos em Atibaia e Piracicaba. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n.1, p. 10- 17, 2002.

CONWAY, W. S.; SAMS, C. E.; McGUIRE, R. G.; KELMAN, A. Calcium treatment of Apples and Potatoes to reduce postharvest decay. **Plant Disease**, St. Paul, v.76, n.4, p. 329-334, 1992.

CONWAY, W. S.; SAMS, C. E.; HICKEY, K. D. Commercial potential for increasing apple tissue calcium sufficiently to maintain fruit quality in storage. In: INTERNACIONAL SYMPOSIUM ON POSTHARVEST PHYSIOLOGY, PATOLOGY AND TECHNOLOGIES FOR HORTICULTURAL COMMODITIES, 1., 1994, Agadir. **Proceedings...** Agadir: Institut Agronomique et Veterinaire Hassan, 1994. p. 70-74.

CUNHA, A. R.; MARTINS, D. Classificação climática para os municípios de Botucatu e São Manuel, SP. **Irriga**, Botucatu, v. 14, n.1, p. 1 – 11, 2009.

D'INNOCENZO, M.; LAJOLO, F. M. Effect of gama irradiation on softening changes and enzyme activities during ripening of papaya fruit. **Journal of Food Biochemistry**, Trumbull, n. 25, p. 425-438, 2001.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Rio de Janeiro, 1999. 412 p.

EVANGELISTA, R. M.; CHITARRA, A. B.; CHITARRA, M. I. F. Influência da aplicação pré-colheita de cálcio na textura e na atividade das enzimas poligalacturonase, pectinametilesterase e α -galactosidade de mangas 'Tommy Atkins' armazenadas sob refrigeração. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.24 (Edição Especial), p.174-181, dez., 2000.

EVANGELISTA, R. M.; CHITARRA, A. B.; CHITARRA, M. I. F. Mudanças na ultra-estrutura da parede celular de mangas 'Tommy Atkins' tratadas com cloreto de cálcio na pré-colheita. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, p.254-257, 2002.

FACHINELLO, J. C.; PASA, M. da S.; SCHMITZ, J. L.; BETEMPS, D. L. Situação e perspectivas da fruticultura de clima temperado no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.33, n.1 p.92-108, 2011.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FERREIRA, L. V. **Produção de amora-preta em sistemas de condução, doses de torta de mamona e concentrações de cálcio e boro**. 2012. 113f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Fruticultura de Clima Temperado)- Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2012.

FERREIRA, L. V.; COCCO, C.; GONÇALVES, M. A.; CARVALHO, S. F. de; PICOLOTTO, L.; MONTE, F.; ANTUNES, L. E. C.; CANTILLANO, R. F. F. Efeito da aplicação de cálcio e boro em pré-colheita na qualidade pós-colheita de amoreira-preta 'Tupy'. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, Hermosillo (México), v. 14, n.1, p. 53-58, 2013.

FINKENAUER, D. **Produção de amoreira-preta em diferentes densidades de plantio**. 2010. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Fruticultura de Clima Temperado) – Fruticultura de Clima Temperado, FAEM, Universidade Federal de Pelotas, 2010.

FREIRE, C. J da S. Nutrição e adubação. In: Sistema de produção da amoreira-preta. Embrapa clima temperado, 2008. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Amora/SistemaProducaoAmoreiraPreta/adubo.htm>> Acesso em: 28 nov 2013.

GUEDES, M. N. S.; ABREU, C. M. P. de; MARO, L. A. C.; PIO, R.; ABREU, J. R. de; OLIVEIRA, J. O. de. Chemical characterization and mineral levels in the fruits of blackberry cultivars grown in a tropical climate at an elevation. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 35, n. 2, p. 191-196, Apr.-Jun., 2013.

GUEDES, M. N. S.; MARO, L. A. C.; ABREU, C. M. P. de; PIO, R.; PATTO, L. S. Composição química, compostos bioativos e dissimilaridade genética entre cultivares de amoreira (*Rubus* spp.) cultivadas no Sul de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, n. 1, p. 206-213, 2014.

HASSIMOTTO, N.M.A.; MOTA, R.V.; CORDENUNSI, B.R.; LAJOLO, F.M. Physico-chemical characterization and bioactive compounds of blackberry fruits (*Rubus* sp.) grown in Brazil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, n.3, p.702-708, 2008.

HAWKESFORD, M.; HORST, W.; KICHEY, T.; LAMBERS, H.; SCHJOERRING, J.; MØLLER, I. S.; WHITE, P. Functions of Macronutrients. In: MARSCHNER, P. (Ed.). **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. 3rd ed. San Diego: Academic Press, 2002. p. 135-189. Chapter 6.

HIRSH, G. E. **Valor nutricional e capacidade antioxidante de diferentes genótipos de Amora-preta (*Rubus* sp.)**. 2011. 100f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos alimentos). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

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

IMSABAI, W.; KETSA, S.; DOORN, M. W. G. V. Physiological and biochemical changes during banana ripening and finger drop. **Postharvest Biological Technology**, v.38, p.211-216, 2006.

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**, Amsterdam, v.82, p.70-75, 2013.

JOHNSTON, J. W.; HEWETT, E. W.; HERTOOG, M. L. A. T. M. Postharvest softening of apple (*Malus domestica*) fruit: a review. **New Zealand Journal Crop Horticultural Science**, v.30, p.145-160, 2002.

JOYCE, D. C.; SHORTER, A. J.; HOCKINGS, P. D. Mango fruit calcium levels and effect of postharvest calcium infiltration at different maturities. **Scientia Horticulturae**, v.91, p.81-89, 2001.

KAFKAS, E.; KOSAR, M.; TUREMIS, N.; BASER, K. H. C. Analysis of sugars, organic acids and vitamin C contents of blackberry genotypes from Turkey. **Food Chemistry**, Reading, v.97, n.4, p.732-736, 2006.

KLUGE, R. A.; NACHTIGAL, J. C. Fisiologia e manejo pós-colheita de frutas de clima temperado. Pelotas: UFPEL, 1997.

KLUGE, R. A.; NACHTIGAL, J. C.; FACHINELLO, J. C.; BILHALVA, A. B. **Fisiologia e manejo pós colheita de frutas de clima temperado**. Campinas, 2002. 214p.

LIMA, M. A. C.; ALVES, R. E.; ASSIS, J. S.; FILGUEIRAS, H. A.; COSTA, J. T. A. Qualidade, fenóis e enzimas oxidativas de uva Itália sob influência do cálcio, durante a maturação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 1, p. 97-101, 2000.

LINHARES, L.A.; SANTOS, C.D.; ABREU, C.M.P; CORRÊA, A.D. Transformações químicas, físicas e enzimáticas de goiabas “Pedro Sato” tratadas na pós-colheita com cloreto de cálcio e 1-metilciclopropeno e armazenadas sob refrigeração. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.3, p. 829-841, 2007.

LIV, S. A. Effects of calcium in ripening climacteric fruits. **Fruits Technology**, New York, v. 25, n. 3, p. 1104-1109, 1998.

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**, New York, v.3, p.526-533, 2008.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. de. Avaliação do Estado Nutricional das Plantas: princípios e aplicações. 2.ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319p.

MOTA, R. V. Caracterização do suco de amora-preta elaborado em extrator caseiro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 303-308, 2006.

MUJTABA, A.; MASUD, T. Enhancing post harvest storage life of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cv. Rio Grandi using calcium chloride, **American-Eurasian Journal Agricultural & Environment Scientia**, Deira, v.14, n.2, p.143-149, 2014.

NATALE, W.; PRADO, R. M.; MÔRO, F. V. Alterações anatômicas induzidas pelo cálcio na parede celular de frutos de goiabeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n.12, p.1239-1242, 2005.

NELSON, N. A photometric adaptation of Somogyi method for determination of glucose. **Journal Biological Chemistry**, Baltimore, v. 153, p. 375-380, 1944.

OMAIMA, M. H.; KARIMA, H. E. H. Quality improvement and storability of apple cv. Anna by pré-harvest applications of boric acid and calcium chloride. **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, Egypt, v.3, n.3, p.176- 183, 2007.

ORTIZ, A.; GRAELL, J.; LARA, I. Cell wall-modifying enzymes and firmness loss in ripening 'Golden Reinders' apples: A comparison between calcium dips and ULO storage. **FoodChemistry**, v. 128, p. 1072–1079, 2011.

PAGOT, E.; HOFFMANN, A. **Produção de pequenos frutos**. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 1, 2003, Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. p.7-15. (Documentos, 37).

PAULA, L. A.; ISEPON, J. S.; CORRÊA, L. S. Qualidade pós-colheita de figos do cv Roxo-de-Valinhos com aplicação de cloreto de cálcio e fungicidas. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 29, p. 41-46, 2007.

PEREIRA, I. S.; SILVEIRA, C. A. P.; PICOLOTTO, L.; SCHNEIDER, F. C.; GONÇALVES, M. A.; VIGNOLO, G. K.; ANTUNES, L. E. C. Constituição química e exportação de nutrientes da amoreira-preta. **Revista Congrega URCAMP**, v. 9, p. 1-10, 2013.

PEREIRA, M. C. T.; SALOMÃO, L. C. C.; SANTOS, R. C. dos; SILVA, S. de O. e; CECCON, P. R.; NIETSCH, S. Aplicação em pré-colheita de cloreto de cálcio no controle do despencamento natural dos frutos de bananeira 'FHIA-18. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.45, n.11, p.1925-1931, nov. 2015.

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

RAIJ, B. V.; ANDRADE, J. C. de; CANTARELLA, H.; QUAAGGIO, J. A. Análise Química para Avaliação da Fertilidade de Solos Tropicais. IAC, 2001. 285p.

SALLES, J. R. J.; TAVARES, J. C. Vida útil pós-colheita de manga cv. Tommy Atkins: influência da temperatura e estágio de maturação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.21, n.2, p.171-176, 1999.

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

SCHAKER, P. D. C.; ANTONIOLLI, L. R. Aspectos econômicos e tecnológicos em pós-colheita de amoras-pretas (*Rubus* spp). **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v. 15, n. 1/4, p. 11-15, jan-dez, 2009.

SEGANTINI, D. M.; LEONEL, S.; CUNHA, A. R. da; FERRAZ, R. A.; RIPARDO, A. K. da S. Exigência térmica e produtividade da amoreira-preta em função das épocas de poda. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 36, n. 3, p. 568- 575, Setembro 2014.

SILVA, D. J.; CHOUDHURY, M. M.; MENDES, A. M. S.; DANTAS, B. F. Efeito da aplicação pré-colheita de cálcio na qualidade e no teor de nutrientes de manga 'Tommy Atkins'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.1, p. 074-078, Mar. 2008.

SILVA, W. B.; SILVA, G. M. C.; SILVA, L. R. da; WALDMAN, W. R.; OLIVEIRA, J. G. de. Tratamento com cloreto de cálcio na pós-colheita retarda o desverdecimento e a perda de firmeza do mamão UENF/Caliman01. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.37, n.3, p.588-599, 2015.

SIMS, D. A.; GAMON, J. A. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. **Remote Sensing of Environment**, New York, v. 81, p. 337– 354, 2002.

SINGH, S.; KUMAR, R. Effect of preharvest application of cycocel, calcium, nitrate and zinc sulphate on the storage behavior of Deligth grapes. **Haryana Agric. University Journal of Research**, v.19, n.4, p. 294-301, 1989.

SMIRNOFF, N.; WHEELER, G. L. Ascorbic acid in plants: biosynthesis and funcion. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, New York, v.35, n.4, p.291-314, 2000.

SOUSA, R. F. de; FILGUEIRAS, H. A. C.; COSTA, J. T. A.; ALVES, R. E.; OLIVEIRA, A. C. de. Armazenamento de ciriguela (*Spondia purpurea* L.) sob atmosfera modificada e refrigeração. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 3, p. 334-338, 2000.

SOUZA, A. V. de. **Pós-colheita e processamento de amora-preta ‘Tupy’**. 2013. 86f. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura)- Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.

SOUZA, A. V. de; RODRIGUES, R. J.; GOMES, E. P.; GOMES, G. P.; VIEITES, R. L. Caracterização bromatológica de frutos e geleias de amora-preta. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 37, n. 1, p. 13-19, Mar. 2015 .

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus pérsica domestic*: the quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Chichester, n. 10, p. 63-68. 1959.

SZARKA, A.; BÁNHEGYI, G.; ASARD, H. The inter-relationship of ascorbate transport, metabolism and mitochondrial, plastidic respiration. **Antioxidants & Redox Signaling**. New Rochelle, v.19, p.1036-1044, 2013.

TORRES, L. M. A. R.; SILVA, M. D.; GUAGLIANONI, D. G.; NEVES, V. A. Effects of heat treatment and calcium on postharvest storage of atemoya fruits. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.20, n.3, p.359-368, 2010.

TOSUN, I.; USTUN, N. S.; TEKGULER, B. Physical and chemical changes during ripening of blackberry fruits. **Scientia Agricola**, v. 65, p. 87-90, 2008.

VIGNOLO, G. K.; GONÇALVES, M. A.; ANTUNES, L. E. C. Exigência nutricional e adubação da amoreira-preta. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 58, n. 1, p. 96-104, jan./mar. 2015.

VILLA, F., SILVA, D. F., BARP, F. K., STUMM, D. R. Amoras-pretas produzidas em região subtropical, em função de podas, sistemas de condução e número de hastes. **Agrarian**, v. 7, n. 26, p. 521-529, 2014.

VIZZOTTO, M.; BIALVES, T. S.; ARAUJO, V. F.; NACHTIGAL, J. C. Polpas de frutas: fonte de compostos antioxidantes. In: **4º Simpósio de segurança alimentar, 2012**, Gramado, RS. FAURGS, 2012.

WATANABE, H. S. **Relatório** [mensagem pessoal]. Mensagem recebida por <hwatanabe@ceagesp.gov.br> em 2 jun. 2016.

WERNER, E. T.; JUNIOR-OLIVEIRA, L. F. G. D.; BONA, A. P. D.; CAVATI, B.; GOMES, T. D. U. H. Efeito do cloreto de cálcio na pós-colheita de goiaba 'Cortibel'. **Bragantia**, Campinas, v.68, n.2, p.511-518, 2009.

WIECHMANN, C. J. S. **Relatório** [mensagem pessoal]. Mensagem recebida por <ca.camposdojordao@cati.sp.gov.br> em 3 ago. 2016.

XISTO, A. L. R. P.; ABREU, C. M. P. de; CORREA, A. D.; SANTOS, C. D. dos. Textura de goiabas "Pedro Sato" submetidas à aplicação de cloreto de cálcio. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.28, n.1, p.113-118, 2004.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

É possível afirmar que aplicação das concentrações avaliadas de CaCl_2 em frutos de amoreira-preta 'Tupy' apresentam bons resultados de qualidade nos frutos.

A aplicação de CaCl_2 em pré-colheita, quando amoras-pretas 'Tupy' estão na fase fenológica de inchamento dos frutos com restos florais, proporciona frutos com maior firmeza, sendo o maior valor de firmeza obtido com a maior concentração de CaCl_2 (4,5 %). Logo, é possível proporcionar frutos mais resistentes aos produtores e consumidores, melhorando a distribuição da produção e agregando valor ao produto.

Os estudos de aplicação de cálcio em pré-colheita ainda são muito restritos, no caso da amoreira-preta são ainda mais escassos, havendo a necessidade de maiores estudos nesta área.

REFERÊNCIAS

- ANGELETTI, P.; CASTAGNASSO, H.; MICELI, E.; TERMINIELLO, L.; CONCELLÓN, A.; CHAVES, A.; VICENTE, A.R. Effect of preharvest calcium applications on postharvest quality, softening and cell wall degradation of two blueberry (*Vaccinium corymbosum*) varieties. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.58, p. 98-103, 2010.
- ANTUNES, L. E. C.; DUARTE FILHO, J.; SOUZA, C. M. de Conservação pós-colheita de frutos de amoreira-preta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n. 3, p. 413-419, 2003.
- ANTUNES, L. E. C. **Aspectos técnicos da cultura da amora-preta**. Editada por Luis Eduardo Côrrea Antunes, Maria do Carmo Bassols Raseira – Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p. 54, 2004.
- BRACKMANN, A.; SCHORR, M.R.; PINTO, J.A.V.; VENTURINI, T.L. Aplicações pré-colheita de cálcio na qualidade pós-colheita de maçãs 'Fuji'. **Ciência Rural**, v.40, n.6, 2010.
- CHEN, F.; LIU, H.; YANG, H.; LAI, S.; CHENG, X.; XIN, Y.; YANG, B.; HOU, H.; YAO, Y.; ZHANG, S.; BU, G.; DENG, Y. Quality attributes and cell wall properties of strawberries (*Fragaria annanassa* Duch.) under calcium chloride treatment. **Food Chemistry**, Barking, v. 126, p. 450-459, 2011.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2.ed. Lavras: UFLA, 2005. 785p.
- CLARK, J. R. Blackberry: World production and perspectives. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, 3., ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 2., **Palestras**. p.11-16. 2006. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 171).
- HOFFMANN, A.; PAGOT, E.; POLTRONIERI, E.; SANHUEZA, R. M. V. Pequenas frutas na região de Vacaria, RS: um breve histórico. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 3., 2005, Vacaria. **Anais...** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2005. p. 11 - 14. (Documentos, 53).
- IRFAN, P.K.; VANJAKSHI, V.; PRAKASH, M.N.K.; 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**, Amsterdam, v.82, p. 70-75, 2013.

NATALE, W.; PRADO, R. M.; MÔRO, F. V. Alterações anatômicas induzidas pelo cálcio na parede celular de frutos de goiabeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n.12, p.1239-1242, 2005.

ORTIZ, A.; GRAELL, J.; LARA, I. Cell wall-modifying enzymes and firmness loss in ripening 'Golden Reinders' apples: A comparison between calcium dips and ULO storage. **Food Chemistry**, v. 128, p. 1072–1079, 2011.

PAULA, L. A.; ISEPON, J. S.; CORRÊA, L. S. Qualidade pós-colheita de figos do cv Roxo-de-Valinhos com aplicação de cloreto de cálcio e fungicidas. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 29, p. 41-46, 2007.

PAGOT, E.; HOFFMANN, A. Produção de pequenas frutas no Brasil. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 1, 2003, Vacaria. **Anais...** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. p. 31 - 32. (Documentos, 37).

PEREIRA, M. C. T.; SALOMÃO, L. C. C.; SANTOS, R. C. dos; SILVA, S. de O. e; CECCON, P. R.; NIETSCH, S. Aplicação em pré-colheita de cloreto de cálcio no controle do despencamento natural dos frutos de bananeira 'FHIA-18. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.45, n.11, p.1925-1931, nov. 2015.

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

SEERAM, N. P.; ADAMS, L. S.; ZHANG, Y.; LEE, R.; SAND, D.; SCHEULLER, H. S.; HEBER, D. Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells in vitro. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 54, 9329-9339, 2006.

SILVA, D. J.; CHOUDHURY, M. M.; MENDES, A. M. S.; DANTAS, B. F. Efeito da aplicação pré-colheita de cálcio na qualidade e no teor de nutrientes de manga 'Tommy Atkins'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.1, p. 074-078, Mar. 2008.

SILVA, P. R. Mercado e comercialização de pequenas frutas. In: IV SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 4., 2007, Vacaria, RS. **Palestras**. Bento Gonçalves-RS: Embrapa Uva e Vinho, p.45-48, 2007.

SILVA, W. B.; SILVA, G. M. C.; SILVA, L. R. da; WALDMAN, W. R.; OLIVEIRA, J. G. de. Tratamento com cloreto de cálcio na pós-colheita retarda o desverdecimento e a perda de firmeza do mamão UENF/Caliman01. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.37, n.3, p.588-599, 2015.