

**Universidade de São Paulo  
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Características anatômicas e físico-químicas de frutos de macieira (*Malus domestica* Borkh.) e sua relação com a lenticelose**

**Magda Andréia Tessmer**

Dissertação apresentada para obtenção de título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica de Plantas

**Piracicaba  
2009**

Magda Andréia Tessmer  
Engenheira Agrônoma

**Características anatômicas e físico-químicas de frutos de macieira (*Malus domestica*  
Borkh.) e sua relação com a lenticelose**

Orientadora:  
Prof<sup>a</sup>. Dra. **BEATRIZ APPEZZATO DA GLÓRIA**

Dissertação apresentada para obtenção título de Mestre em  
Ciências. Área de concentração: Fisiologia e Bioquímica de  
Plantas

**Piracicaba**  
**2009**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Tessmer, Magda Andréia

Características anatômicas e físico-químicas de frutos de macieira (*Malus domestica* Borkh.) e sua relação com a lenticelose / Magda Andréia Tessmer. - - Piracicaba, 2009.  
75 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2009.  
Bibliografia.

1. Anatomia vegetal 2. Distúrbios fisiológicos de plantas 3. Maça - Armazenagem I. Título

CDD 634.11  
T338c

**"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES, pela concessão da bolsa de Mestrado.

À Rohm and Haas Company & Agrofresh Inc. pelo investimento no projeto na forma de concessão da bolsa de Mestrado no período de um semestre.

À Escola de Agricultura “Luiz de Queiroz”, aos professores que contribuíram na minha formação.

À Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves-RS, pela parceria na execução do projeto e disponibilização do Laboratório de Pós-colheita.

Ao Projeto “Inovações Tecnológicas para a Modernização do setor da Maçã”- INOVAMAÇÃ”, como a Instituição Executora, Embrapa Uva e Vinho e as Instituições de apoio financeiro FINEP e ABPM.

À Beatriz Appezzato da Glória pela orientação durante o mestrado, pela amizade e exemplo profissional como docente em anatomia.

À Lucimara Rogéria Antonioli pela co-orientação e parceria no projeto, pela amizade, pelo exemplo profissional e pelo incentivo para realização do mestrado.

À Marli Kasue Misaki Soares, técnica do Laboratório de Anatomia Vegetal pelo treinamento, disposição e amizade.

Aos colegas de Laboratório de Anatomia Vegetal, Anielca, Marta, Aline Bombo, Aline Martins, João Paulo, João Marcelo, Bianca, Rebeca, Juliana e Tuane, pela amizade, companheirismo, por dividir momentos de alegrias e dificuldades.

Ao Prof. Dr. Ricardo Alfredo Kluge, Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Bioquímica de Plantas, pela colaboração no projeto que possibilitou a concessão da bolsa pela empresa Rohm and Haas Company & Agrofresh Inc. e pela sua constante disposição em ajudar os alunos.

À Maria Solizete Granziol Silva, secretária do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Bioquímica de Plantas, pela amizade e por estar sempre disposta a ajudar os alunos.

Aos colegas do PPG em Fisiologia e Bioquímica de Plantas, que se tornaram verdadeiros amigos, que dividiram alegrias, tristezas, vitórias e conquistas. Obrigada pelo ombro amigo, pelos estudos em grupo e incentivo. Com carinho à Giovane Rossi, Evandro Tambarussi e Rogerio Lorençoni.

Aos estagiários do Laboratório de Pós-colheita da Embrapa Uva e Vinho, Laís, Roberta, Fernando, e Rosane pela colaboração e dedicação nas análises físico-químicas do projeto.

Às empresas produtoras de maçãs, Fischer Fraiburgo Agrícola Ltda, Agrícola Fraiburgo, Rubifrut Agroindustrial Ltda., Sanjo - Cooperativa Agrícola São Joaquim, Lazzeri Agricultural Group, pelo fornecimento dos frutos e armazenamento nas câmaras comerciais. À EPAGRI pela colaboração.

À Gilvano Brondani pelo auxílio na análise estatística.

Aos meus pais, Udo e Ilma (*in memorium*), pela vida; e aos demais familiares. Agradeço em especial, as sobrinhas Daniela Tessmer Santim e Giovana Tessmer Santim, pelo carinho e momentos de alegria.

À Cristiane, Juliana, Maria Izabel, Jackeline e Fernanda por dividirem comigo um lar, e fazerem parte da minha nova família. Obrigada pelo auxílio na confecção deste trabalho, por saber ouvir, pelo carinho e amizade que será para a vida toda.

À Marcos Vieira pela agradável companhia e por fazer-me sorrir durante a realização deste trabalho.

À Carlos Vildoso, pela disposição e auxílio.

Em especial, a Adão José Vital da Costa pelos conselhos, pelo incentivo para retornar aos estudos e por acreditar, sempre, na minha capacidade.

A todos verdadeiros amigos, que de uma forma ou de outra, contribuíram na realização deste trabalho.

E finalmente a Deus, por me conceder saúde, por ter me iluminado durante todas etapas desta caminhada, por ter me dado forças nos momentos difíceis e por todos os anjos que colocou no meu caminho para me ajudar.

*“Se não houver frutos,  
valeu a beleza das flores...  
se não houver flores,  
valeu a sombra das folhas...  
se não houver folhas,  
valeu a intenção da semente”.*  
(Henfil)

## SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	9
LISTA DE FIGURAS.....	100
1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1 Importância econômica.....	15
2.2 Aspectos botânicos.....	16
2.3 Aspectos morfo-anatômicos.....	17
2.4 Aspectos fisiológicos.....	19
2.5 Influências climáticas sobre a qualidade dos frutos.....	21
2.6 Técnicas de conservação.....	22
2.7 Lenticelose (“ <i>Lenticel Breakdown</i> ”) e suas possíveis causas.....	23
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
3.1 Material botânico e locais de coleta.....	25
3.2 Colheita e armazenamento.....	25
3.3 Determinações.....	26
3.4 Métodos estatísticos.....	29
4 DISCUSSÃO E RESULTADOS.....	31
4.1 Condições climáticas.....	31
4.2 Características físico-químicas.....	32
4.2.1 Firmeza de polpa.....	32
4.2.2 Acidez titulável.....	35
4.2.3 Sólidos solúveis.....	37
4.2.4 Coloração da epiderme.....	39

4.2.5 Tingimento de lenticelas .....	44
4.3 Ocorrência de Lenticelose .....	46
4.4 Aspectos anatômicos dos frutos de macieira.....	48
4.4.1 Caracterização das lenticelas .....	48
4.4.2 Caracterização dos frutos maduros recém colhidos .....	54
4.4.3 Caracterização das ceras epicuticulares .....	56
4.4.4 Alterações das ceras epicuticulares durante o período de armazenamento.....	59
4.4.5 Caracterização do distúrbio Lenticelose.....	63
CONCLUSÕES.....	65
REFERÊNCIAS .....	67

## **Resumo**

### **Características anatômicas e físico-químicas de frutos de macieira (*Malus domestica* Borkh.) e sua relação com a lenticelose**

A presente proposta teve como objetivo avaliar aspectos anatômicos e físico-químicos em frutos de macieiras (*Malus domestica* Borkh.), ‘Gala’ e ‘Galaxy’, cultivadas em três diferentes altitudes, buscando correlacioná-las ao distúrbio fisiológico, conhecido por lenticelose (“lenticel breakdown”), caracterizado pelo escurecimento das lenticelas e ocorrência de depressões de coloração parda ao redor destas estruturas. Os frutos maduros foram colhidos na safra 2008-09, em pomares comerciais localizados em cada uma das três áreas produtoras: Vacaria (RS), Fraiburgo (SC) e São Joaquim (SC), localizadas a 971, 1.048 e 1.353 m de altitude, respectivamente. As avaliações foram realizadas nos frutos maduros recém-colhidos e durante o armazenamento, quando os frutos foram submetidos a duas condições distintas: refrigeração (0°C e 90% UR) e atmosfera controlada (1,5% O<sub>2</sub>; 2,5% CO<sub>2</sub>; 0°C e 90% UR). Os frutos foram avaliados anatomicamente na colheita e durante o armazenamento quando detectado algum distúrbio fisiológico relacionado às lenticelas. A superfície dos frutos maduros de macieiras ‘Gala’ e ‘Galaxy’, recém-coletados nas três localidades e ao final do armazenamento nas condições estudadas, foram analisadas ao microscópio eletrônico de varredura a fim de comparar a deposição das ceras epicuticulares. Adicionalmente os frutos foram avaliados em intervalos de 30 dias, durante os armazenamentos quanto ao teste de tingimento de lenticelas (número) e aos seguintes atributos de qualidade: cor, firmeza, índice de maturação, teor de sólidos solúveis, acidez titulável e, ou outros distúrbios fisiológicos. Também foi analisada a estrutura anatômica dos frutos de macieiras ‘Gala’ e ‘Galaxy’, coletados em Vacaria (RS), em diferentes fases do desenvolvimento a fim de caracterizar a formação dos diferentes tipos de lenticelas. Não houve diferenças no padrão de formação das lenticelas entre ‘Gala’ e ‘Galaxy’ e entre os locais de produção. Nos frutos com o sintoma da lenticelose havia uma depressão na superfície resultante da obliteração de células da epiderme e camadas subepidérmicas, sendo que no parênquima subjacente à depressão havia amplos espaços formados pela lise das células. Nem sempre a área sintomática estava associada à presença da lenticela. Os resultados mostraram que a altitude não interferiu na espessura cuticular nem no padrão de deposição de ceras epicuticulares nos frutos de macieiras ‘Gala’ e ‘Galaxy’. Nos frutos recém-colhidos de ‘Gala’ e ‘Galaxy’ foi observada a deposição de ceras na forma de plaquetas paralelas e o mecanismo de “rompimento e reparo”. Após quatro meses de armazenamento, houve alteração no formato das ceras epicuticulares de plaquetas para aglomerados esféricos ou amorfos nos frutos da ‘Gala’ e ‘Galaxy’ provenientes de todas as localidades. As alterações foram mais evidentes na condição de armazenamento em atmosfera controlada. Não houve diferenças significativas entre as duas condições de armazenamento e a manifestação dos sintomas nas macieiras ‘Gala’ e ‘Galaxy’ procedentes das três regiões produtoras em relação aos parâmetros físico-químicos analisados. A maior incidência ocorreu em frutos ‘Gala’ provenientes de São Joaquim (SC) ao final do período de armazenamento.

**Palavras chave:** Anatomia; Ceras; Lenticelas; Gala; Galaxy



## ABSTRACT

### **Anatomical and physico-chemical characteristics of fruits of apple trees (*Malus domestica* Borkh.) and their relations to lenticel breakdown**

The aim of this study was to describe anatomical and physico-chemical characteristics of apple fruits (*Malus domestica* Borkh.) 'Gala' and 'Galaxy' grown in three different altitudes, seeking to correlate them to the physiological disorder known as lenticelose ("lenticel breakdown"), characterized by the darkening of lenticels and the occurrence of brownish depressions around them. Mature fruits were harvested in 2008-09, from commercial orchards located in each of three producing areas: Vacaria (RS), Fraiburgo (SC) and São Joaquim (SC), located at 971, 3.088 and 1.353 m altitude, respectively. The evaluations were realized in the mature, freshly harvested fruits and during the storage, when the fruits were subjected to two distinct conditions: refrigeration (0°C and 90% HU) and controlled atmosphere (1.5% O<sub>2</sub>; CO<sub>2</sub>; 2.5%, 0°C and 90% HU). The fruits were evaluated anatomically at the harvest moment and during storage, when any physiological disorder related to lenticels was detected. The surface of the mature fruit of apple 'Gala' and 'Galaxy' freshly harvested from the three localities and at the end of the storage period in the studied conditions were examined under scanning electron microscope to compare the deposition of epicuticular waxes. Additionally, the fruits were evaluated at every 30 days, during storage, in relation to lenticels dyeing test (number) and to the following qualitative attributes: color, firmness, index of ripening, soluble solids content, titratable acidity and physiological disorders. In order to characterize the formation of different types of lenticels, the anatomical structure of fruits, collected in Vacaria (RS), it was also analyzed in different stages of development. There were no differences in the pattern of formation of lenticels between 'Gala' and 'Galaxy' and the producing areas. Fruits with 'lenticel breakdown' symptoms had a surface depression as a result of the obliteration of the epidermal and sub epidermal cells, and the underlying parenchyma exhibited large spaces formed by cell lyses. The symptomatic area was not always associated to the presence of lenticels. The results showed that the altitude did not affect the cuticular thickness or the pattern of deposition of epicuticular waxes in apple fruits of 'Gala' and 'Galaxy'. In freshly harvested fruits it was observed the deposition of wax platelets and the mechanism named "Tear and Repair" or "Rip and Stitch". After four months of storage, we observed changes in the shape of the waxes from platelets to spherical or amorphous clusters in fruits of 'Gala' and 'Galaxy' from all producing areas. The changes were most evident in controlled atmosphere storage condition. There were no significant differences between the two storage conditions and the onset of symptoms in fruits from the three producing areas in relation to the physico-chemical parameters. The highest incidence of symptoms occurred in fruit 'Gala' from São Joaquim (SC) at the end of the storage period.

**Keywords:** Anatomy; Waxy; Lenticels; Gala; Galaxy

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Dados climáticos que antecederam a colheita de maçãs ‘Gala’ e ‘Galaxy’ nos municípios de Vacaria-RS, Fraiburgo-SC e São Joaquim-SC .....	34
Figura 2- Firmeza da polpa (N) das maçãs ‘Gala’ e ‘Galaxy’ provenientes de três locais de cultivo e mantidas sob duas condições de armazenamento (AR e AC).....	37
Figura 3- Acidez titulável em % de ácido málico das maçãs ‘Gala’ e ‘Galaxy’ provenientes de três locais de cultivo e mantidas sob duas condições de armazenamento.....	39
Figura 4- Sólidos solúveis (°Brix) das maçãs ‘Gala’ e ‘Galaxy’ provenientes de três locais de cultivo e mantidas sob duas condições de armazenamento.....	41
Figura 5- Coloração de cobrimento (h*) das maçãs ‘Gala’ e ‘Galaxy’ provenientes de três locais de cultivo e mantidas sob duas condições de armazenamento.....	43
Figura 6- Coloração de cobrimento (L*) das maçãs ‘Gala’ e ‘Galaxy’ provenientes de três locais de cultivo e mantidas sob duas condições de armazenamento.....	45
Figura 7- Coloração de cobrimento (a*) das maçãs ‘Gala’ e ‘Galaxy’ provenientes de três locais de cultivo e mantidas sob duas condições de armazenamento.....	46
Figura 8- Tingimento de lenticelas em maçãs ‘Gala’ e ‘Galaxy’ provenientes de três locais de cultivo e mantidas sob duas condições de armazenamento por 210 dias.....	48
Figura 9- Incidência de lenticelose em maçãs ‘Gala’ e ‘Galaxy’ provenientes de três locais de cultivo durante 210 dias de armazenamento .....	50
Figura 10- Frutos de macieira ‘Gala’ e ‘Galaxy’ provenientes de Vacaria-RS, coletados em 10 de novembro de 2008.....	51
Figura 11- Cortes transversais e paradérmicos de frutos de macieiras com cerca de 2,0 cm de diâmetro.....	52
Figura 12- Cortes transversais de frutos de macieiras.....	54
Figura 13- Cortes transversais de frutos de macieira ‘Gala’ e ‘Galaxy’ mostrando a epiderme e lenticelas.....	55
Figura 14- Cortes transversais de frutos maduros de macieira após a colheita mostrando lenticelas.....	56

Figura 15- Corte transversal do fruto de ‘Gala’ coletado em Fraiburgo-SC. Observar a presença de esporos de fungos.....	57
Figura 16- Caracterização da cutícula de frutos maduros de macieira.....	58
Figura 17- Recobrimento de ceras evidenciando os cristalóides existentes na cutícula de frutos recém-colhidas de macieiras ‘Gala’.....	60
Figura 18- Recobrimento de ceras evidenciando os cristalóides existentes na cutícula de frutos recém colhidos de macieiras ‘Galaxy’.....	61
Figura 19- Alterações das ceras epicuticulares em frutos de macieiras, durante o período de quatro meses, em condições de armazenamento refrigerado (0°C e 90% UR).....	62
Figura 20- Alterações das ceras epicuticulares em frutos de macieiras, durante o período de quatro meses, em condições de atmosfera controlada (1,5% O <sub>2</sub> ; 2,5% CO <sub>2</sub> ; 0°C e 90%).....	64
Figura 21- Principais alterações e problemas encontrados em frutos de macieiras ‘Gala’ e ‘Galaxy’, durante o período de quatro meses de armazenamento refrigerado.....	65
Figura 22- Eletromicrografias de varredura (A, C, E) e cortes transversais de frutos de macieiras com o sintoma da lenticelose.....	67



## 1 INTRODUÇÃO

O consumo de frutas tem sido cada vez mais valorizado na dieta alimentar humana, principalmente devido aos efeitos comprovadamente benéficos decorrentes de seu consumo regular. Entre elas, a maçã destaca-se por ser a terceira fruta mais consumida pelos brasileiros, perdendo apenas para a banana e os frutos cítricos (ANUÁRIO, 2003).

Atualmente, o Brasil apresenta posição de destaque no cenário mundial de produção de maçãs, sendo um grande exportador da fruta. Na safra nacional de 2008-09 o volume produzido foi de 1.184,3 toneladas em área de 36,3 mil hectares (IBGE, 2009). As variedades que predominam são ‘Gala’ e ‘Fuji’, as quais vêm sendo substituídas por seus clones de coloração mais vermelha, por ser este um atributo desejado pelo consumidor, que associa coloração e aparência com qualidade de fruto.

A principal região produtora da fruta é o Sul do país, com destaque para os pólos de Vacaria-RS, Fraiburgo-SC e São Joaquim-SC, propícios para o cultivo da macieira, pois possibilitam a produção, em grande escala, de frutos de elevada qualidade, muito embora ocorram problemas fitossanitários devido às condições de temperatura e umidade relativa elevadas durante o período de colheita.

Os frutos produzidos são disponibilizados no mercado consumidor durante o ano todo, devido ao emprego de métodos de conservação como o armazenamento refrigerado e a atmosfera controlada, e outros métodos complementares, que permitem retardar os processos de maturação e senescência. Entretanto, apesar das tecnologias adotadas durante o desenvolvimento do fruto no campo e em pós-colheita, a ocorrência de distúrbios fisiológicos tem merecido especial atenção dos produtores e do corpo técnico-científico ligados à pomicultura, devido às significativas perdas ocasionadas por estes problemas.

Um dos distúrbios fisiológicos que ocorre em maçãs armazenadas é denominado de lenticelose (*lenticel breakdown*), e caracteriza-se, inicialmente, pelo escurecimento das lenticelas, e em estágios mais avançados pela ocorrência de depressões de coloração parda ao redor destas estruturas (CURRY, 2003).

A ocorrência da lenticelose tem sido observada nos últimos 8 anos em variedades Gala e Fuji, principalmente em seus clones. Em hipótese, a seleção de clones baseada nas características de intensidade e uniformidade de cor vermelha, pode estar relacionada também com a seleção de frutos com maior pré-disposição para ocorrência deste distúrbio.

As causas exatas da ocorrência da lenticelose ainda permanecem desconhecidas. Sabe-se, no entanto, que além das características do fruto, como tamanho e cor, os fatores climáticos da região de cultivo como altitude e temperaturas noturnas superiores a 10°C podem influenciar na ocorrência do distúrbio e que este é mais freqüente em épocas secas e quentes. Em função disso, as áreas amostradas neste estudo foram selecionadas para distintas altitudes e condições climáticas. Ainda, fatores nutricionais como excessiva adubação nitrogenada, podem favorecer sua ocorrência.

Os sintomas do distúrbio ocorrem somente após a colheita, durante o período de armazenamento, embalagem e comercialização, sendo que, fatores relacionados a esta fase, como diferentes condições de refrigeração podem, igualmente, influenciar sua ocorrência. Assim, frutos destinados ao mercado externo podem manifestar o distúrbio durante o período de transporte, ocasionando perdas econômicas ao mercado brasileiro e podendo comprometer sua condição idônea de fornecedor.

Além do dano direto, a região de depressão ao redor da lenticela pode facilitar a entrada de patógenos causadores de podridões, agravando significativamente o percentual de perdas em pós-colheita.

No intuito de esclarecer as possíveis causas que influenciam a manifestação da lenticelose, o presente trabalho teve por objetivo estudar os caracteres anatômicos, ultra-estruturais e físico-químicos de frutos de macieiras ‘Gala’ e ‘Galaxy’ provenientes de cultivos em três altitudes distintas e armazenados em duas condições de refrigeração, buscando correlacioná-los a este distúrbio fisiológico.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Importância econômica**

Dentre os países produtores de maçãs, a China lidera o ranking mundial, respondendo por 38,6% do volume total, embora apresente um rendimento médio de 13,75 toneladas por hectare (EPAGRI, 2009). O Brasil está entre os vinte maiores produtores mundiais ocupando a terceira posição na América Latina e perdendo somente para o Chile e a Argentina (FAO, 2009). Embora se constitua em atividade, de certa forma, recente no País, haja vista que os primeiros pomares implantados com fins comerciais datam do início da década de 70, a área e a produção nacional começaram a crescer graças aos incentivos de políticas públicas.

Segundo dados do IBGE (2009), a produção de maçãs na safra 2007/08 foi de 1.121,5 mil toneladas. Santa Catarina permanece na liderança do ranking nacional, responsável por 50,2% da produção (563,0 mil toneladas) seguida pelo Rio Grande do Sul, com 45,9% (514,7 mil toneladas). A maior parte da produção é oriunda das variedades Gala e Fuji. A Gala é a primeira a ser colhida, em fevereiro, com 46% da produção total; a Fuji tem sua colheita iniciada no mês de abril e é a mais resistente para frigoconservação, sendo responsável por cerca de 45% do volume produzido; a ‘Golden Delicious’, colhida em março, representa 6% da produção total e os 3% restantes são compostos por outras variedades (EPAGRI, 2009).

Na safra nacional de maçãs 2008-09 o volume produzido foi de 1.184,3 mil toneladas, com área colhida de 36,3 mil hectares e rendimento médio de 32.638 toneladas/hectares (IBGE, 2009). Em comparação com os resultados da safra anterior, embora apresente um decréscimo de 4,2% na área colhida (devido à erradicação de pomares nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul), o ganho de 10,3% no rendimento médio eleva para 5,6% a quantidade produzida. Destacam-se como pólos produtores, as cidades de Vacaria-RS, Fraiburgo-SC e São Joaquim-SC.

Além da importância econômica, a maçã é uma cultura que apresenta papel social bastante importante. Por ser um fruto delicado com colheita artesanal, exige grande número de operações manuais e, em consequência, emprega mão-de-obra intensiva. Cada hectare plantado exige 1,5 empregos diretos, o que representa 52.000 trabalhadores nos pomares brasileiros,

abrangendo agricultores familiares que trabalham na forma de cooperados, médias e grandes empresas (ZONTA, 2007).

## 2.2 Aspectos botânicos

A macieira (*Malus domestica* Borkh.), é originária da Europa e Ásia, sendo pertencente à família Rosaceae que abrange cerca de 100 gêneros e mais de 2.000 espécies espalhadas por todo mundo. É uma espécie de fruteira lenhosa, decídua, temperada e adaptável a diferentes condições climáticas (LUCHI, 2002).

A macieira foi trazida para o Brasil por imigrantes durante o processo de colonização, sendo que as primeiras variedades introduzidas foram a Starkrimson, Red Delicious, Golden Delicious, Black John, Mutsu, entre outras (BONETI et al., 2001). Entretanto, por apresentarem problemas de produção, qualidade de frutos e pouca aceitação por parte dos consumidores, algumas destas foram sendo paulatinamente substituídas por variedades mais modernas (BONETI et al., 2001). Os pomares comerciais começaram a ser implantados na década de 70 e em cerca de 40 anos, o Brasil passou a ser auto-suficiente e exportador da fruta.

Atualmente, as principais variedades utilizadas são ‘Gala’ e ‘Fuji’ que vêm sendo gradativamente substituídas por clones de coloração vermelha mais intensa, como a ‘Royal Gala’, ‘Imperial Gala’ e ‘Galaxy’; ‘Fuji Suprema’ e ‘Kiku’, respectivamente (BONETI et al., 2001). A ‘Gala’ é uma das variedades cuja popularidade vem crescendo em todo mundo, devendo-se à sua excelente qualidade gustativa e à boa aparência de seus frutos (CAMILO & DENARDI, 2002).

A variedade Gala é originária do cruzamento ‘Kidd's Orange Red’ x ‘Golden Delicious’, na Nova Zelândia, no ano de 1934. O fruto apresenta formato redondo-cônico, com coloração vermelho-rajada sobre o fundo amarelo, lisa e brilhante. A polpa é de coloração amarelo-creme, crocante, suculenta e bem balanceada em ácidos e sólidos solúveis (CAMILO; DENARDI, 2002).

O clone Galaxy é uma mutação espontânea da ‘Gala’. O fruto apresenta coloração vermelha intensa e brilhante, com estrias pouco pronunciadas, o que o torna bastante atrativo ao consumidor. A busca por mutações somáticas de ‘Gala’ visa principalmente à obtenção de frutos mais uniformemente coloridos. A coloração desuniforme deprecia o fruto, reduzindo seu preço de mercado e mesmo inviabilizando-o para exportação (CAMILO; DENARDI, 2002).

A variedade Gala e seus clones apresentam sazonalidade acentuada na colheita, a qual é realizada nos meses de fevereiro a março. As técnicas de conservação têm permitido que os frutos estejam disponíveis no mercado durante o ano todo, com qualidade e preços acessíveis.

### **2.3 Aspectos morfo-anatômicos**

A interpretação morfológica do fruto de macieira tem sido motivo de controvérsia há muito tempo (SOUZA, 2006). É classificado como Pomídio (pomum = maçã), ou seja, fruto simples carnosos, pentacarp yelar, pentalocular e plurispérmico (SOUZA, 2006). A maçã apresenta o receptáculo formado pela epiderme, hipoderme e duas regiões: o córtex e a medula (TUKEY; YOUNG, 1942 apud SOUZA 2006). A porção carpelar desse fruto é formada pelo “pericarpo” carnosos mais externo e pelo “pericarpo” cartilaginoso mais interno (SOUZA, 2006). De acordo com Esau (1974) o limite entre o pericarpo e os tecidos extracarpelares nem sempre é perceptível. A maior parte da porção carnosa do fruto é constituída de parênquima. O pericarpo é formado pelo exocarpo carnosos de natureza parenquimática, mais ou menos confluyente com o parênquima extracarpelar, e pelo endocarpo cartilaginoso que apresenta esclereídes orientadas de maneira diferente nas sucessivas camadas.

Nos frutos ainda jovens, a epiderme é constituída por uma única camada de células alongadas radialmente, coberta por cutícula e com presença de estômatos e tricomas unicelulares. À medida que o fruto se desenvolve, as células se tornam tangencialmente alongadas e se separam, os tricomas se rompem e as células rompidas são cobertas por cutícula, sendo, os espaços, preenchidos com cera cuticular (ROTH, 1977).

De acordo com Clements (1935) e Roth (1977) as lenticelas presentes em maçãs podem ter três diferentes origens: a partir de estômatos que cessam o funcionamento no início do desenvolvimento do fruto; de quebras na continuidade da epiderme causadas pela remoção completa dos tricomas associados aos frutos jovens e da ruptura da epiderme, decorrente da incapacidade em acompanhar a expansão interna dos tecidos. O surgimento das lenticelas pode ocorrer quando o fruto ainda está verde, entre duas a quatro semanas após a floração, mesmo antes dos tricomas caírem. As camadas imediatamente abaixo da abertura estomática tornam-se impregnadas por tanino, conferindo coloração marrom-amarelada que se mantém enquanto o fruto amplia em volume e desenvolve as cores vermelha e verde, características das células da epiderme (CLEMETS, 1935).

As ceras epicuticulares são um dos principais componentes da cutícula que recobre a epiderme dos frutos de macieiras (*Malus domestica* Borkh.), pois protegem o fruto contra estresses do meio ambiente como vento, radiação solar, desidratação e entrada de patógenos. As ceras são compostas principalmente de aldeídos alifáticos de cadeia longa, alcoóis primários, secundários e terciários, alcanos, cetonas e ésteres saturados derivados de ácidos graxos de cadeia longa com comprimento entre 24 e 34 carbonos (WALTON, 1990). Outros componentes que podem estar inclusos são terpenóides, flavonóides, esteróis e  $\beta$ -dicetonas e seus derivados (VON WETTSTEIN-KNOWLES, 1995). As ceras são distribuídas em duas classes distintas: as ceras epicuticulares e as ceras intracuticulares. Enquanto as ceras intracuticulares estão embebidas na matriz de cutina, as ceras epicuticulares se movem até a superfície (NEINHUIS et al., 2001).

Segundo Curry (2009), a biossíntese de ceras ocorre desde o início do desenvolvimento do fruto. Assim que o botão floral inicia o desenvolvimento, expondo o tecido ao déficit de vapor de água, a pró-cutícula começa a recobrir a superfície do tecido com uma rede sobreposta de microtúbulos de base lipídica, produzidos pelas células epidérmicas e ligados às estas. A temperatura ambiente e a pressão de vapor de água, detectada por essas células, ajudam modular a composição dos microtúbulos de ceras. Conforme os microtúbulos de ceras se alongam distalmente, agregam-se para formar plaquetas de cera microcristalinas, as quais se copolimerizam para formar um solvente orgânico insolúvel, que é a matriz de cutina semipermeável (CURRY, 2009).

A segunda fase do desenvolvimento do fruto envolve um período de divisões celulares rápidas, enquanto que na terceira, as divisões celulares geralmente cessam e o crescimento ocorre através do aumento celular e dos espaços intercelulares, causando microfissuras na cutícula. Neste período, o fruto necessita de alongamento e ruptura da matriz de cutina, causando pressão nos microtúbulos de cera, para criar novas extremidades distais alongadas (CURRY, 2009).

O processo de alongamento dos microtúbulos de cera, agregação, cristalização e polimerização ocorrem simultaneamente, durante o crescimento do fruto, fazendo com que as plaquetas de ceras sejam depositadas sobre a cutícula e sobre as microfissuras nela formadas, num mecanismo denominado de “rompimento e reparo”.

A produção de cera continua durante o armazenamento (BELDING et al., 1998), até que se esgote o substrato das células de origem, as quais são bioquimicamente inibidas ou tornam-se necróticas (CURRY, 2009; CURRY, 2005). Frutos de diferentes variedades de macieiras variam

quanto a morfologia das ceras epicuticulares, quantidade e composição química durante o desenvolvimento, bem como durante o armazenamento e vida útil subsequente (VERAVERBEKE et al., 2001).

#### **2.4 Aspectos fisiológicos**

A maçã pertence ao grupo dos frutos climatéricos, ou seja, apresenta uma pronunciada elevação na taxa respiratória durante o amadurecimento, a qual é estimulada pelo etileno, hormônio responsável pelo processo de maturação e senescência dos frutos (BIALE, 1960). De acordo com Chitarra (1998), a intensidade da taxa respiratória está relacionada com a capacidade de armazenamento do produto, de forma que, quanto maior a taxa respiratória, menor é o potencial de armazenamento.

Para determinar o ponto ideal de colheita e avaliar a qualidade dos frutos durante o período de armazenamento têm sido utilizados parâmetros como a coloração da casca, índice de degradação de amido, acidez titulável e firmeza de polpa.

A pigmentação verde em maçãs imaturas decorre da presença de clorofila nos cloroplastos. Com o desenvolvimento e climatério do fruto, ocorre a degradação dessas clorofilas por enzimas clorofilases, que são estimuladas pelo etileno e, nesses plastídios, surge componentes do grupo dos carotenóides, responsáveis pela pigmentação amarela (ARGENTA, 2002). Diferenças entre variedades no controle do processo de destruição da clorofila e síntese de carotenóides resultam em padrões de mudança da cor de fundo da casca. A coloração vermelha é decorrente das antocianinas, pigmentos hidrossolúveis do grupo dos flavonóides acumulados nos vacúolos (MARKAKIS, 1982), que dentre várias funções, apresentam propriedades nutracêuticas.

O teste iodo-amido, de ampla utilidade, se baseia na quantidade de amido presente, sendo que sua maior quantidade indica que o amido ainda não foi hidrolisado e transformado em açúcares solúveis (GIRARDI et al., 2004). Aproximadamente 99% dos sólidos solúveis do suco de maçãs correspondem aos açúcares solúveis e o restante a ácidos orgânicos, sais inorgânicos e outras moléculas (LITTLE, 1992).

A acidez em maçãs é representada, principalmente, pelo ácido málico e seu conteúdo começa a diminuir durante o processo de maturação e armazenamento. Os açúcares solúveis, resultantes da degradação do amido, bem como o ácido málico, são consumidos como substrato do metabolismo respiratório (ARGENTA, 2002). As mudanças do sabor resultam do aumento da relação açúcar/ácido, sendo um atributo desejável para o sabor e aroma do fruto.

Segundo Girardi et al. (2004), os frutos colhidos antes do completo desenvolvimento têm seu processo de amadurecimento prejudicado, não alcançando a qualidade desejada para o consumo, comprometendo o sabor e o aroma e desidratando-se com maior facilidade. Em contrapartida, o atraso na colheita, além de aumentar a incidência de distúrbios fisiológicos, causa perdas devido à queda pré-colheita dos frutos, à redução da firmeza de polpa e ao menor conteúdo de ácidos orgânicos e amido (BOWEN; WATKINS, 1997).

A perda da firmeza resulta de processos como a diminuição da pressão de turgescência das células e modificações na lamela média e parede celular devido à ação de enzimas pectinolíticas. As pectinas encontram-se naturalmente em associação com a celulose e a hemicelulose, que auxiliam na adesão entre as células, sendo considerada a pectina, o principal agente cimentante da parede celular, contribuindo desta forma para firmeza, resistência mecânica e coesividade do tecido (PAIVA et al., 2009).

As pectinametilesterases (PME) catalisam a desesterificação dos resíduos pécticos, hidrolizando grupos metil-éster, produzindo pectinas de menor grau de metilação que servirão de substrato às poligalacturonases (PG) (LIMA, 2002).

A poligalacturonase é considerada elemento chave na despolimerização da maioria dos frutos. Ela atua clivando as ligações endo- e exo- $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4) dos ácidos galacturônicos, e sua atividade aumenta significativamente durante o amadurecimento, levando à diminuição de tamanho e massa molecular das pectinas e ácido pécticos (PAIVA et al., 2009). Existe uma atividade sinérgica destes dois grupos enzimáticos que determina a perda da firmeza.

Outros grupos de enzimas também atuam no processo de senescência da maçã. O escurecimento da polpa se deve à presença da enzima polifenoloxidase, que oxida compostos fenólicos produzindo pigmentos escuros.

## 2.5 Influências climáticas sobre a qualidade dos frutos

Fatores como acúmulo de horas de frio, diferença térmica entre o período do dia e da noite, umidade, luminosidade, entre outros, estão diretamente relacionados à qualidade dos frutos, por serem estes reguladores de muitos processos fisiológicos, tanto em velocidade quanto em intensidade. Atributos como, acúmulo de cor, quantidade de açúcares e acidez, os quais determinam o sabor e o aroma do fruto, são influenciados pelo ambiente (ARGENTA, 2002).

A macieira é considerada uma fruteira de clima temperado, adaptada às condições de frio, e, embora algumas variedades modernas necessitem de um menor acúmulo de horas de frio para a produção, ou mesmo, reajam à quebra de dormência mediante aplicação de hormônios sintéticos, locais de clima frio possibilitam o bom desenvolvimento da produção com qualidade destacada (BRAGA et al., 2001).

Neste sentido, a região de origem dos frutos de macieira é extremamente importante na formação do preço das frutas no mercado consumidor, uma vez que as condições climáticas locais são associadas à qualidade do fruto. Com a evolução do setor e o aumento da competitividade, as regiões produtoras estão cada vez mais concentradas em locais que apresentam algumas vantagens comparativas, que permitam alta produtividade, elevado índice de qualidade e estrutura de comercialização (BONETI et al, 2002).

Um dos parâmetros que pode auxiliar na avaliação do potencial de uma determinada região é a altitude, pois pode indicar a predominância de características climáticas específicas.

Vários estudos vêm sendo realizados de forma a demonstrar a influência das condições climáticas dos locais de cultivo sobre as características de qualidade dos frutos. Na China, o acúmulo de antocianinas e as características morfo-anatômicas de maçãs durante a formação da cor foram comparados em duas condições distintas de altitude (XING-JUN et al., 2003).

No Brasil, as regiões produtoras são Vacaria-RS, Fraiburgo-SC e São Joaquim-SC. Regiões mais altas como São Joaquim-SC possibilitam a formação de frutos menos achatados, com formato mais regular e melhor coloração, principalmente quando se trata de ‘Fuji’ (CAMILO; DENARDI, 2002). Segundo os atacadistas, as frutas provenientes do município de São Joaquim são consideradas de melhor qualidade, principalmente pelo formato mais alongado, comparadas às oriundas de regiões mais quentes, como Fraiburgo, comprovando a associação de características dos frutos com local de produção (BITENCOURT, 2005).

Outra forma de contribuição para a qualidade do fruto que não pela regulação dos processos fisiológicos é pela correlação a incidência de doenças, uma vez que a aparência, principalmente de frutos comercializados *in natura*, contribui para sua avaliação pelo consumidor.

Assim também, distúrbios fisiológicos são influenciados em diferentes intensidades por condições climáticas, e a presença dos distúrbios por sua vez, relacionada com a qualidade dos frutos. Nos Estados Unidos da América, têm sido destacados os estudos referentes à ocorrência de lenticelose em macieiras ‘Gala’ provenientes de regiões áridas de produção (CURRY, 2008).

## **2.6 Técnicas de conservação**

A maçã possui elevado potencial de armazenamento, embora exista vários fatores que interferem neste potencial, como variedade, condições climáticas durante o desenvolvimento dos frutos, estágio de maturação na colheita e condição nutricional da planta, além do manejo pós-colheita e das condições de armazenamento (BRACKMANN; STEFFENS, 2002).

Em condições de armazenamento refrigerado, onde se controlam apenas a temperatura e a umidade relativa, os frutos da ‘Gala’ podem ser conservados por períodos relativamente curtos, de até quatro meses. A velocidade com que ocorrem os processos metabólicos na fase pós-colheita depende, principalmente, da temperatura e sua diminuição em 10°C reduz o metabolismo dos frutos em duas a três vezes (BRACKMANN; STEFFENS, 2002). Apesar de ser o principal fator na manutenção da qualidade pós-colheita dos frutos e apresentar um custo relativamente mais baixo que o armazenamento em atmosfera controlada, o ar refrigerado, isoladamente, não reduz suficientemente o metabolismo para permitir um longo período de armazenamento.

Em condições de atmosfera controlada, onde, além do controle da temperatura e da umidade, se monitoram as concentrações de O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>, o período de armazenamento pode ser estendido para oito meses (SAQUET, 1997). Após este período de oito meses os problemas de ordem fisiológica e sanitária, que depreciam a qualidade dos frutos, ocorrem com maior intensidade. Alterações na estrutura do fruto como a rápida perda da firmeza de polpa, a redução da suculência e o surgimento da textura farinácea, a perda acentuada da acidez, o amarelecimento da epiderme e a ocorrência de distúrbios fisiológicos são os principais problemas relacionados aos longos períodos de armazenamento de maçãs ‘Gala’ (BRACKMANN; SAQUET, 1995).

Segundo Meheriuk (1990), a condição adequada para o armazenamento de ‘Gala’ é temperatura entre 0 e 2°C e concentrações de 1 a 3% de CO<sub>2</sub> e 1 a 2% de O<sub>2</sub>, salientando que esta cultivar é sensível a altas concentrações de gás carbônico que poderão causar distúrbios fisiológicos.

Com a finalidade de aumentar o período de conservação e preservar a qualidade de maçãs, têm sido utilizadas algumas técnicas complementares à refrigeração, como pré-resfriamento dos frutos, rápida instalação da atmosfera controlada, remoção do etileno da câmara e uso de inibidores da síntese e da ação do etileno como o 1-metilciclopropeno (1-MCP).

## **2.7 Lenticelose (“*Lenticel Breakdown*”) e suas possíveis causas**

Distúrbio fisiológico é uma alteração de origem não patogênica, decorrente de modificações no metabolismo normal de um vegetal ou na integridade estrutural de seus tecidos (CANTILLANO, 2004). Pode levar à alteração na aparência, no sabor, perda de qualidade e aceitação pelo consumidor. As causas podem ser ambientais, nutricionais, ou ainda decorrentes das diversas condições de armazenamento (temperatura, composição atmosférica).

A lenticelose é uma desordem fisiológica caracterizada, nas fases iniciais, pelo escurecimento das lenticelas e, nas fases mais avançadas, pela ocorrência de depressões de coloração parda ao redor destas estruturas (CURRY, 2003).

De acordo com Curry (2008), os primeiros sintomas em frutos armazenados podem ser vistos como ligeiros recuos na epiderme com cerca de 1 a 2 mm, geralmente simétricos, e centrados em uma lenticela, sem escurecimento. Com o tempo, ocorre o aumento na profundidade da depressão, tornando-se progressivamente mais escura. O escurecimento parece ser em grande parte, decorrente do número de camadas de células dessecadas, que comprimem as paredes celulares, e dos compostos fenólicos presentes. Em casos graves, as depressões podem se sobrepor e se fundir. Nos estágios mais avançados do distúrbio lenticelose, as depressões que ocorrem ao redor das lenticelas podem estar relacionadas com a perda da firmeza de polpa (CURRY; KUPFERMAN, 2004).

A causa exata da ocorrência da lenticelose é desconhecida (ANTONIOLLI; 2006). Sabe-se, no entanto, que é mais freqüente em épocas quentes e secas, principalmente quando as temperaturas noturnas são superiores a 10°C durante o período de alongamento celular

(MORALES, 1995; YURY, 1995; CURRY e KUPFERMAN, 2004). Em áreas com adubação nitrogenada excessiva (MOGGIA et al. 1997; MORALES, 1995) e em frutos de maior calibre (MORALES, 1995) e maior área de coloração vermelha (MOGGIA et al. 1997).

Em pós-colheita, o atraso no acondicionamento refrigerado, o sistema de refrigeração inadequado e os longos períodos de armazenamento favorecem a ocorrência da lenticelose (MORALES, 1995). Frutos armazenados em atmosfera controlada tendem a apresentar mais o distúrbio do que em atmosfera refrigerada (CURRY, 2001). Frutos de maçãs ‘Galas’ embaladas dentro de 3 a 4 meses de armazenamento, apresentaram menor ocorrência do distúrbio do que aquelas embaladas após longos períodos de armazenamento (KUPFERMAN, 2007).

Os sintomas da lenticelose não são visíveis na colheita e geralmente não são aparentes sobre as frutas que não passaram pelo processo de beneficiamento e classificação (CURRY, 2008).

Durante o processo de beneficiamento, os frutos recém tirados da condição refrigerada e, portanto, com baixa temperatura de polpa, são depositados em tanques de recepção, onde a água se encontra com temperatura superior à dos frutos (LARA, 2004). Este fato pode causar fissuras cuticulares ao redor das lenticelas, devido à expansão da cutícula em locais em que está menos espessa.

Adicionalmente, os detergentes, os quais são tensoativos, podem penetrar através das microfissuras, destruindo as membranas das células adjacentes às lenticelas (CURRY, 2002). De acordo com Morales (1995) e Curry (2001) o distúrbio também se manifesta durante o transporte e a comercialização.

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Material botânico e locais de coleta**

Foram colhidos frutos da cultivar Gala e do clone Galaxy em pomares comerciais localizados em três pólos produtores, Vacaria (RS), Fraiburgo (SC) e São Joaquim (SC) localizados a 971, 1.048 e 1.353 m de altitude, respectivamente.

As áreas de produção (quadras) foram selecionadas em função do material botânico, porta-enxerto e idade de implantação do pomar, buscando-se reduzir a heterogeneidade decorrente da interação entre estes fatores.

- **Cultivar Gala**

Vacaria: ‘Gala’ sobre porta-enxerto M7, ano de implantação 1993.

Fraiburgo: ‘Gala’ sobre porta-enxerto EM7, ano de implantação 1992.

São Joaquim: ‘Gala’ sobre porta-enxerto Maruba, ano de implantação 1991.

- **Clone Galaxy**

Vacaria: ‘Galaxy’ sobre porta-enxerto Maruba/EM9, ano de implantação 2006.

Fraiburgo: ‘Galaxy’ sobre portaenxerto Maruba/ EM9, ano de implantação 2004.

São Joaquim: ‘Galaxy’ sobre porta-enxerto Maruba/EM9, ano de implantação 2004.

Foram obtidos, a partir de estações meteorológicas localizadas próximas às áreas selecionadas, os dados meteorológicos referentes à safra agrícola 2008/09, referente ao período de 01 de julho de 2008 a 30 de fevereiro de 2009.

#### **3.2 Colheita e armazenamento**

Foram colhidos lotes de 900 frutos de cada cultivar e de cada local de produção. Os frutos foram colhidos aleatoriamente, na altura mediana da planta, em estágio de maturidade fisiológica, fazendo-se uma amostragem da área total. Os frutos foram acondicionados em bandejas de papelão colocadas em caixas plásticas, forradas com plástico polibolha, sendo, em seguida, transportados para a Estação Experimental de Fruticultura Temperada (EEFT) da Embrapa Uva e Vinho, Vacaria-RS, onde foram armazenados em câmara refrigerada (0°C e 90% UR). A colheita da primeira área foi realizada em 10 de fevereiro e a última no dia 02 de março de 2009, sendo que os frutos foram mantidos sob refrigeração até a colheita da última área. Imediatamente após a colheita, 50 frutos de cada lote foram destinados à avaliação inicial, sendo 40 frutos para análises físico-químicas e 10 para caracterização das ceras epicuticulares. Outros cinquenta frutos foram analisados antes do acondicionamento definitivo em AC.

Os 800 frutos restantes foram divididos em dois lotes de 400, subdivididos em oito amostras de 50 frutos, acondicionados em sacos plásticos telados e devidamente etiquetados. Imediatamente, as amostras foram conduzidas às respectivas condições de armazenamento, atmosfera controlada (AC) de 1,5% O<sub>2</sub>; 2,5% CO<sub>2</sub>; 0°C e 90% UR em empresa comercial situada em Fraiburgo-SC e atmosfera refrigerada (AR) de 0°C e 90% UR nas instalações da Embrapa Uva e Vinho, Bento Gonçalves-RS. Este procedimento foi adotado para que todos os tratamentos fossem submetidos à AC no mesmo dia, embora tenham sido colhidos em diferentes datas devido às diferenças entre os estádios de maturação dos frutos nos locais de coleta. As amostras foram avaliadas em intervalos de 30 dias, durante sete meses de armazenamento.

Para as análises de desenvolvimento dos frutos de ‘Gala’ e Galaxy’ foi escolhida a região de Vacaria-RS pela sua proximidade ao Centro da EMPRAPA. A primeira coleta foi realizada um mês após plena floração (10/11/2008), foram colhidos frutos com cerca de 2 cm de diâmetro e 2,3 cm de comprimento. As demais coletas foram realizadas quinzenalmente, totalizando sete coletas até o ponto de maturação. Para cada período, foram coletados seis frutos de cada cultivar.

### **3.3 Determinações**

As análises anatômicas e ultra-estruturais foram realizadas no Laboratório de Anatomia Vegetal da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – USP/ ESALQ, Piracicaba, SP. As

análises físico-químicas foram conduzidas no Laboratório de Pós-Colheita da Embrapa Uva e Vinho, localizada em Bento Gonçalves, RS.

#### **a) Avaliações anatômicas e ultra-estruturais**

Foram coletadas amostras de frutos recém-colhidos e de frutos submetidos à técnica de tingimento de lenticelas, em faces opostas, na zona equatorial do fruto. As amostras foram fixadas em solução de Karnovsky (KARNOVSKY, 1965). Para melhor fixação, as amostras foram colocadas na bomba de vácuo para a retirada do ar dos espaços intercelulares, desidratadas em série etílicas até álcool 70%, e, posteriormente estocadas.

Para as análises anatômicas dos frutos recém-colhidos e daqueles que apresentaram sintomas de lenticelose ao longo do armazenamento, as amostras (frutos diferentes) de cada tratamento foram desidratadas em série etílicas crescente até etanol 100% e infiltradas em hidróxi-etil-metacrilato (Leica Historesin). Foram seccionados dois blocos cada um deles com duas amostras de cada tratamento a 5-10  $\mu\text{m}$  de espessura.

Os cortes foram corados com azul de toluidina (SAKAI, 1973) para as análises histológicas usuais, com o Sudan Black B para detectar substâncias lipídicas (JENSEN, 1962). Também foram realizadas as reações com o cloreto férrico para detectar compostos fenólicos (JOHANSEN, 1940) e com cloreto de zinco iodado para detectar amido (STRASBURGER, 1913). As lâminas histológicas foram montadas em resina sintética “Entellan” e as imagens foram capturadas em microscópio trinocular Leica DM LB acoplado na câmara de vídeo Leica DC 300 F e processadas em computador para confecção das ilustrações.

Para as análises ultra-estruturais dos frutos que apresentaram lenticelose ao longo do armazenamento, amostras de cada tratamento foram desidratadas em série etílicas crescente até etanol 100%, secas ao método do ponto crítico de  $\text{CO}_2$  (HORRIDGE; TAMM, 1969), montadas sobre suportes de alumínio e cobertas com uma delgada camada de ouro de 30 a 40 nm.

Para criofratura, amostras foram fixadas, lavadas com tampão fosfato e colocadas em glicerina 30% por duas horas, com a finalidade de evitar a formação de cristais de gelo. A seguir, as amostras foram mergulhadas em nitrogênio líquido, fraturadas, e lavadas em água destilada. As amostras resultantes da criofratura foram desidratadas em série etílica (10, 30, 50, 70, 90 e 100%), secadas pelo método do ponto crítico de  $\text{CO}_2$ , montadas sobre suporte de alumínio e cobertas com uma delgada camada de ouro (30 a 40 nm).

As observações e as eletromicrografias foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura modelo LEO VP 435, operado a 20 kV, com as escalas das eletromicrografias diretamente impressas nas mesmas. Esta etapa foi desenvolvida junto ao Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia Eletrônica Aplicada a Agricultura (NAP/MEPA)– ESALQ/USP.

#### **b) Deposição de ceras**

Foi realizada a análise comparativa da deposição de cera epicuticular em frutos maduros de ‘Gala’ e ‘Galaxy’ após a colheita e ao final do período de quatro meses de armazenamento em AC e AR, provenientes das três regiões produtoras. Foram retiradas porções da superfície dos frutos na região equatorial, de lados opostos, de quatro frutos por tratamento. As porções foram fixadas em lâminas histológicas utilizando fita adesiva nas extremidades e colocadas em dessecador contendo sílica gel para desidratação. Após 72 horas foram retirados fragmentos (0,2 x 0,2 mm) para fixação em suportes de alumínio e cobertura com ouro utilizando metalizador MED 010 da Balzers (CASTRO et al. 2002). As análises e as eletromicrografias foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura Zeiss modelo DSM-940A, operado a 20 kV, com escalas das eletromicrografias diretamente impressas nas mesmas.

#### **c) Tingimento de lenticelas**

O teste de tingimento de lenticelas foi realizado através da imersão de 15 frutos (5 repetições de 3 frutos) de cada tratamento em solução de azul de anilina 0,2% e posterior infiltração a vácuo por 30 segundos de acordo com metodologia desenvolvida por Curry e Kupferman (2004). Para determinação da quantidade de lenticelas tingidas na epiderme do fruto foi utilizado um anel de 2 cm de diâmetro, em quatro setores na zona equatorial do fruto. Foi calculado o número de lenticelas tingidas/cm<sup>2</sup> (LARA, 2004 com modificações).

#### **d) Firmeza de polpa**

A firmeza de polpa (N) foi medida com penetrômetro digital (TR – Fruit Pressure Tester, Modelo 53205), com ponteira de 11 mm. As leituras foram efetuadas em lados opostos na região equatorial dos frutos, após remoção da “casca” com auxílio de lâmina.

**e) Cor da epiderme**

A cor da epiderme foi avaliada como cor de cobrimento e cor de fundo, em lados opostos, sendo realizada com auxílio de colorímetro Minolta (CM-508 d). O sistema de cor adotado foi CIE Lab.

**f) Índice de maturação**

Foi utilizado o teste iodo-amido. Para tal, os frutos foram cortados transversalmente na região equatorial, sendo a porção peduncular imersa por 1 minuto em solução aquosa de iodo. Após 10 minutos procedeu-se à leitura utilizando-se a escala de 1 a 5 proposta por Werner (1989).

**g) Sólidos solúveis (SS)**

Foi realizado através de refratômetro digital de mesa (PR-101, Atago), com correção automática para 20°C, utilizando suco centrifugado e homogeneizado. Os resultados foram expressos em ° Brix.

**h) Acidez titulável (AT)**

Foi realizada através de titulometria de neutralização em pHmetro (Marconi, Modelo FTP 905), utilizando-se 10 mL do suco homogeneizado e 90 mL de água destilada, empregando-se NaOH para titulação até pH 8,1. O resultado foi expresso em % de ácido málico. O potencial hidrogeniônico (pH) foi realizado diretamente no suco homogeneizado.

**3.4 Métodos estatísticos**

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial (3 x 2 x 2 x 8) com parcela subdividida no tempo. Os fatores estudados foram: regiões produtoras (Vacaria, Fraiburgo, São Joaquim), cultivares ('Gala' e 'Galxy'), condição de armazenamento (Armazenamento refrigerado e atmosfera controlada) e tempo de armazenamento (0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 dias). Foram utilizadas três repetições, sendo cada uma delas composta por cinco frutos nas análises físico-químicas. Na contagem das lenticelas foram utilizadas cinco repetições de três frutos.

Inicialmente, dos dados foram analisados pelo teste de Hartley ( $p < 0,05$ ) a fim de verificar a homogeneidade da variância entre os tratamentos. Em seguida, os resultados foram submetidos à análise de variância ( $p < 0,01$  e  $p < 0,05$ ), sendo os dados qualitativos comparados pelo teste de Duncan ( $p < 0,05$ ) e, os dados quantitativos foram submetidos à análise de regressão polinomial ( $p < 0,05$  e  $p < 0,01$ ). Para tanto, utilizou-se o programa estatístico SOC (EMBRAPA, 1990).

## 4 DISCUSSÃO E RESULTADOS

### 4.1 Condições climáticas

Os dados climáticos que antecederam a colheita dos frutos em Vacaria-RS, Fraiburgo-SC e São Joaquim-SC, no período de julho de 2008 a fevereiro de 2009, referentes à amplitude térmica e às temperaturas mínimas mensais podem ser observados nas Figuras 1A e B. São Joaquim apresentou temperaturas médias mais baixas durante todo o período e amplitude térmica intermediária. Vacaria apresentou temperaturas intermediárias entre os locais, com acentuada elevação a partir do mês de dezembro e menor amplitude térmica, enquanto, Fraiburgo manteve temperaturas mais elevadas e maior amplitude térmica.

Muitos são os fatores que influenciam no desenvolvimento, na produção e na coloração da maçã. Os fatores que limitam o cultivo da macieira em diferentes áreas, incluindo o sul do Brasil, são os climáticos, dentre esses, o mais limitante é a temperatura, a qual está condicionada a outros fatores como a altitude e a latitude.

Segundo estudos conduzidos por D'Esclapon (1970), a qualidade dos frutos, principalmente, coloração, consistência e conteúdo de sólidos solúveis, é favorecida pela alta intensidade luminosa e baixas temperaturas noturnas. A variedade 'Gala', a mais plantada no sul do país, sofre influência de vários fatores durante o desenvolvimento, como a amplitude térmica que pode influenciar no formato do fruto (WESTWOOD, 1982).

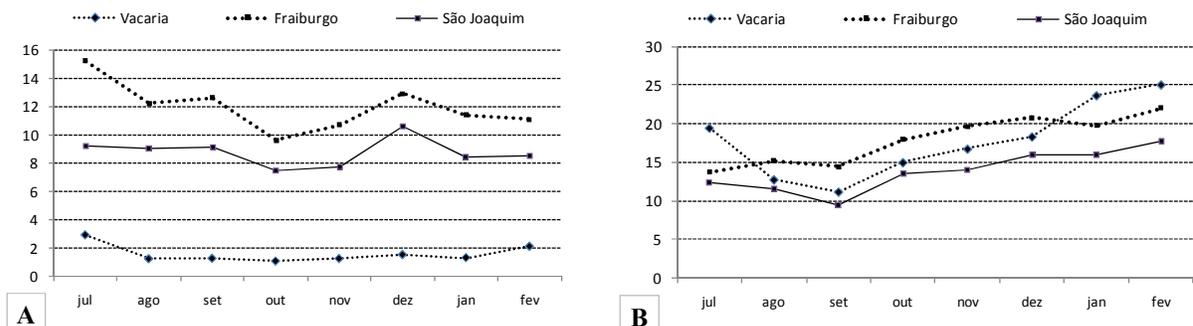


Figura 1 – Dados climáticos que antecederam a colheita de maçãs 'Gala' e 'Galaxy' nos municípios de Vacaria-RS, Fraiburgo-SC e São Joaquim-SC. A; diferença entre temperaturas médias máximas e mínimas; B: temperaturas mínimas registradas no período de julho de 2008 a fevereiro de 2009

## 4.2 Características físico-químicas

A partir do início da maturação, o amido acumulado durante o crescimento é convertido em açúcares solúveis. O teor de amido e sua distribuição na polpa estão associados ao estágio de maturação comercial, específico para cada cultivar. O amido de diferentes cultivares apresenta diferentes proporções de amilose:amilopectina. A hidrólise inicia-se em torno da região carpelar, seguindo pela região do córtex e, finalmente, na área próxima à epiderme (ARGENTA, 2002). Após 30 dias de armazenamento, os frutos de todos os tratamentos atingiram o valor máximo de maturação, ou seja, nota cinco na escala de Werner (1980) pelo teste iodo-amido (dados não apresentados).

As variáveis físico-químicas dos frutos que sofreram alterações significativas em relação aos valores obtidos no momento da colheita devido às interações dos fatores (local de cultivo, variedade, condição e tempo de armazenamento) (Anexos 1 e 2).

### 4.2.1 Firmeza de polpa

Houve interação ( $p < 0,05$ ) entre os fatores estudados e a firmeza de polpa dos frutos. As análises de regressão apresentadas para este parâmetro obtiveram valores significativos para  $r^2$ , com exceção da ‘Galaxy’ proveniente de São Joaquim e armazenada em atmosfera controlada, onde o  $r^2 = 0,30$  (Anexos 1 e 2).

Inicialmente, as maçãs ‘Gala’ provenientes das três regiões produtoras, Vacaria-RS, Fraiburgo-SC e São Joaquim-SC, apresentaram valores médios de firmeza de 67,88, 62,81 e 78,04 N, respectivamente. As maçãs ‘Galaxy’, apresentaram valores médios de firmeza de 72,09, 65,57 e 80,51 N, respectivamente. Observa-se que maçãs ‘Galaxy’ provenientes das três regiões produtoras apresentaram valores de firmeza, após a colheita, maiores que os apresentados pelas maçãs ‘Gala’. Os níveis de firmeza associados ao estágio de maturação comercial são específicos para cada cultivar (ARGENTA, 2002).

Dentre as regiões, a firmeza dos frutos de ambas as cultivares foi maior naqueles colhidos em São Joaquim, para as duas condições de armazenamento. Esta condição reflete-se na manutenção da firmeza de polpa ao longo das duas condições de armazenamento, o que justifica o potencial de armazenamento dos frutos de São Joaquim ser maior do que o dos demais locais. Segundo os atacadistas, as frutas provenientes do município de São Joaquim são consideradas de melhor qualidade, principalmente pelo formato mais alongado, comparadas às oriundas de

regiões mais quentes, como Fraiburgo, comprovando a relação existente entre as características dos frutos e os locais de produção (BITENCOURT, 2005). Ainda não foi demonstrado claramente como as condições climáticas e os sistemas de cultivo interferem na firmeza de polpa dos frutos (ARGENTA, 2002). Segundo Little (1992), a firmeza se correlaciona negativamente com o tamanho dos frutos e o teor de nitrogênio da polpa e positivamente com o teor de cálcio e o grau de exposição dos frutos ao sol durante o desenvolvimento. As duas cultivares apresentaram redução significativa na firmeza da polpa durante o armazenamento, tanto no refrigerado como em atmosfera controlada. A ocorrência de distúrbios fisiológicos, depois das podridões pós-colheita, é um dos principais problemas relacionados aos longos períodos de armazenamento de maçãs ‘Gala’ (BRACKMANN et al., 1995). De acordo com Curry (2004), as depressões que ocorrem ao redor das lenticelas, observadas nos estágios mais avançados da lenticelose, podem estar relacionadas com a perda da firmeza de polpa. A redução gradual da firmeza da polpa, observada durante a maturação, está associada à síntese e ao transporte, para a parede celular, de enzimas envolvidas na hidrólise de componentes de parede celular e lamela média (KNEE & BARTLEY, 1981).

Os frutos ‘Gala’ e ‘Galaxy’ provenientes das três regiões produtoras apresentaram melhor manutenção da firmeza de polpa em atmosfera controlada (Figura 2). As exigências de AC são específicas para cada cultivar e variam dependendo das características climáticas da região produtora (ARGENTA, 2002). Os efeitos do armazenamento sob AC na inibição de processos associados à maturação e à manutenção da qualidade do fruto estão relacionados, principalmente, com a redução da respiração e da produção de etileno (KADER, 1986). A maior perda de firmeza observada no armazenamento refrigerado foi, possivelmente, devida à maior atividade metabólica dos frutos, em comparação aos tratamentos em atmosfera controlada.

Constatou-se que ao final do período de 210 e 150 dias de armazenamento sob AC e AR, respectivamente, os frutos de ‘Gala’ e ‘Galaxy’ provenientes das três regiões de cultivo apresentaram firmeza de polpa superior ao limite mínimo tolerado para comercialização de maçãs ‘Gala’ e clones que é de 40,05N (MAPA, 2002). A restrição do armazenamento refrigerado a 150 dias deveu-se à ocorrência da desidratação dos frutos, visto que, este é o período máximo recomendado para o armazenamento comercial nesta condição.

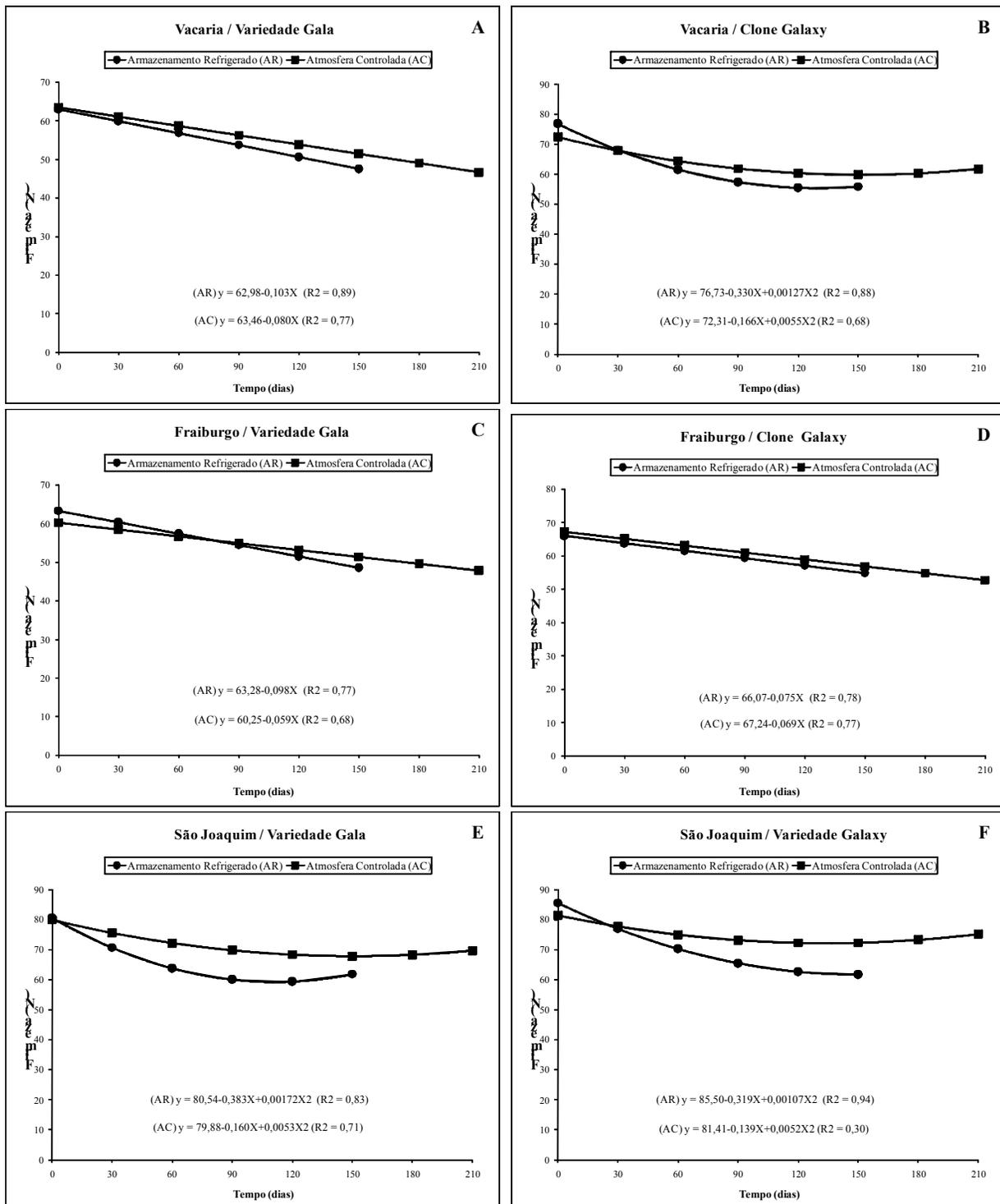


Figura 2 - Firmeza da polpa (N) das maçãs ‘Gala’ e ‘Galaxy’ provenientes de três locais de cultivo e mantidas sob duas condições de armazenamento (AR e AC). A: ‘Gala’ - Vacaria, B: ‘Galaxy’ - Vacaria, C: ‘Gala’ - Fraiburgo, D: ‘Galaxy’ - Fraiburgo, E: ‘Gala’ - São Joaquim, F: ‘Galaxy’ - São Joaquim

#### 4.2.2 Acidez titulável

Houve diferença significativa entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ) quanto ao atributo acidez titulável em função dos fatores estudados (Anexo 1). Maçãs ‘Galaxy’ apresentaram valores médios de acidez mais acentuados quando comparados aos observados em maçãs ‘Gala’ (Figuras 3A a 3F). Comparados aos demais locais, os frutos provenientes de São Joaquim apresentaram valores médios iniciais de acidez titulável maiores para ‘Gala’ e ‘Galaxy’, 0,47% e 0,49%, respectivamente, e mantiveram-se com valores mais altos durante o armazenamento em atmosfera controlada do que refrigerado (Figura 3 E-F).

Os frutos provenientes de Vacaria apresentaram comportamento similar aos de São Joaquim, com maior manutenção da acidez sob condições de atmosfera controlada (Figura 3A-B). Maçãs ‘Gala’ e ‘Galaxy’, provenientes de Fraiburgo, apresentaram oscilação acentuada nos valores de acidez, com elevação aos 210 e 180 dias, respectivamente, conferindo um comportamento diferenciado dos frutos dos demais locais (Figura 3 C-D).

O comportamento da acidez titulável foi distinto para frutos mantidos sob AC e AR. Com exceção das maçãs ‘Gala’ oriundas de Fraiburgo, observou-se um decréscimo gradual na acidez dos frutos mantidos sob refrigeração, enquanto que naqueles mantidos sob AC, observou-se redução menos acentuada na acidez, com estabilização a partir dos 120 dias de armazenamento.

A acidez titulável é um dos mais importantes parâmetros de qualidade de maçãs após o armazenamento (ARGENTA, 2002). O conteúdo de ácidos orgânicos, o qual é representado predominantemente pelo ácido málico, diminui gradualmente durante a maturação e armazenamento dos frutos, fato que pode ser explicado pela oxidação dos ácidos para obtenção de energia no ciclo de Krebs (BALLOD, 1990).

O ácido málico, bem como os açúcares, é utilizado como substrato do metabolismo respiratório (ARGENTA, 2002). O fato da taxa de consumo do ácido málico ser superior à dos açúcares durante a maturação, resulta no aumento da relação entre açúcar/ácido (ratio), e como consequência, mudança no sabor dos frutos.

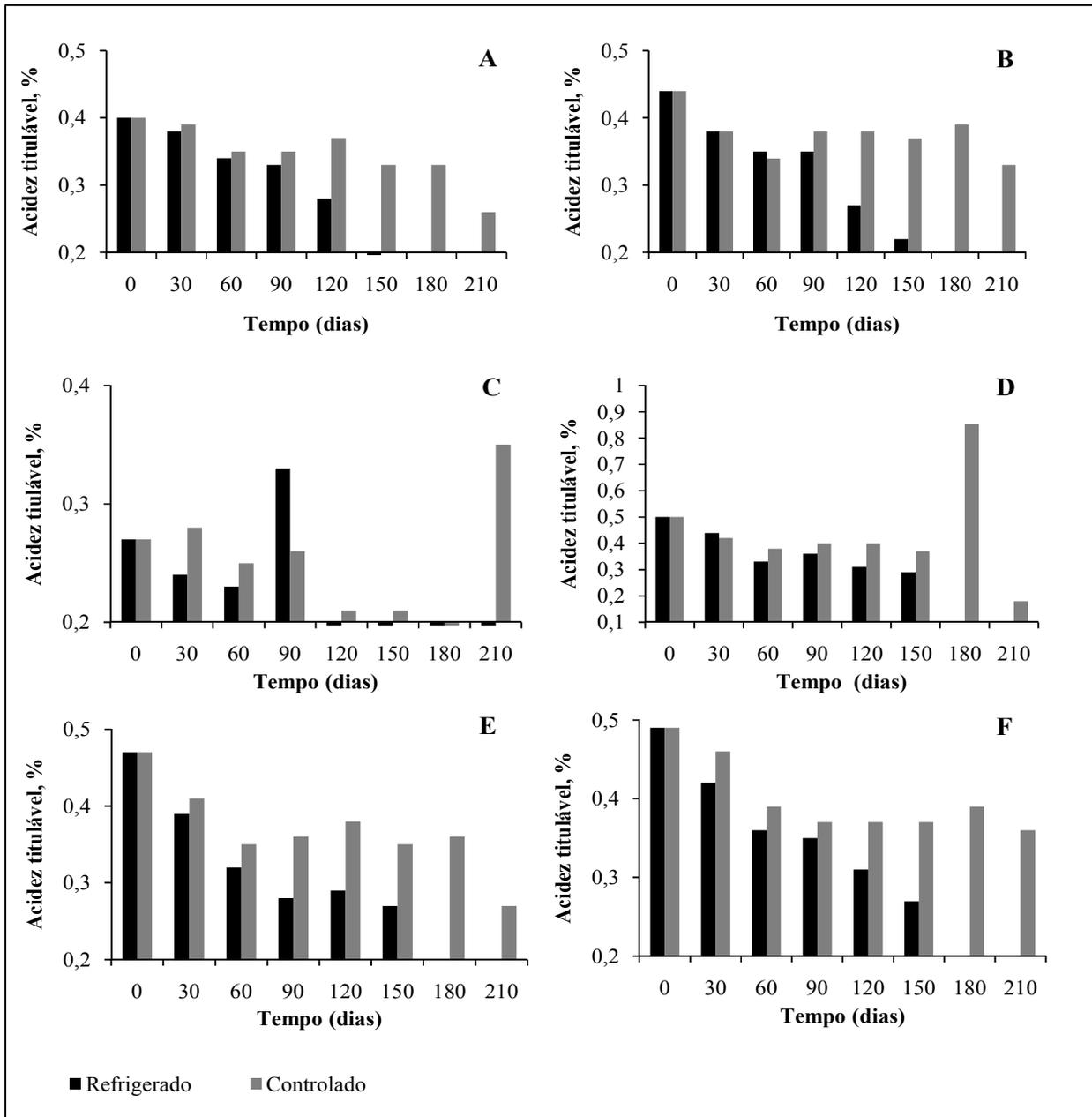


Figura 3 – Acidez titulável em % de ácido málico das maçãs ‘Gala’ e ‘Galaxy’ provenientes de três locais de cultivo e mantidas sob duas condições de armazenamento. A: ‘Gala’ - Vacaria, B: ‘Galaxy’ - Vacaria, C: ‘Gala’ - Fraiburgo, D: ‘Galaxy’ - Fraiburgo, E: ‘Gala’ - São Joaquim, F: ‘Galaxy’ - Vacaria

### 4.2.3 Sólidos solúveis

Maçãs ‘Galaxy’ apresentaram maior teor de sólidos solúveis (SS) quando comparadas às maçãs ‘Gala’, sendo essa diferença mais evidente nos frutos provenientes de Vacaria e Fraiburgo (Figura 4 A).

Os frutos ‘Gala’ e ‘Galaxy’ provenientes de Vacaria, local que apresenta temperaturas intermediárias e elevação acentuada nos três últimos meses do desenvolvimento e maturação, apresentaram valores maiores de sólidos solúveis, 13,42°Brix e 14,52°Brix, respectivamente. Frutos provenientes de Fraiburgo apresentaram valores médios intermediários, enquanto que nos provenientes de São Joaquim, os valores obtidos foram mais baixos para ‘Gala’ e ‘Galaxy’, provavelmente em função das condições climáticas. De acordo com estudos de Little (1992), frutos apresentam menores teores de sólidos solúveis em anos ou regiões com menor incidência de horas de sol durante o desenvolvimento dos frutos e ou pelo excesso de chuvas e alta umidade relativa.

Houve um pequeno incremento no teor de sólidos solúveis diferenciadas nos diferentes locais de produção (Figura 4B), o que indica a influência do local de produção neste atributo. Maçãs ‘Galaxy’ apresentaram valores de sólidos solúveis superiores a ‘Gala’ ao longo do período de armazenamento, nos três locais de produção, embora com quantidades distintas entre estes (Figura 4 C). Normalmente, o teor de sólidos solúveis aumenta com o amadurecimento através de processos de biossíntese ou degradação de polissacarídeos, até um ponto em que o fruto passa a utilizar essa reserva de açúcares para manter sua atividade metabólica (CHITARRA & CHITARRA, 1990).

Em maçãs, 99% dos sólidos solúveis são representados pelos açúcares solúveis e o restante por ácidos orgânicos, sais inorgânicos e outras moléculas (LITTLE, 1992). Os açúcares solúveis mais abundantes no suco de maçãs são frutose, glicose e sacarose, e em menor proporção o sorbitol.

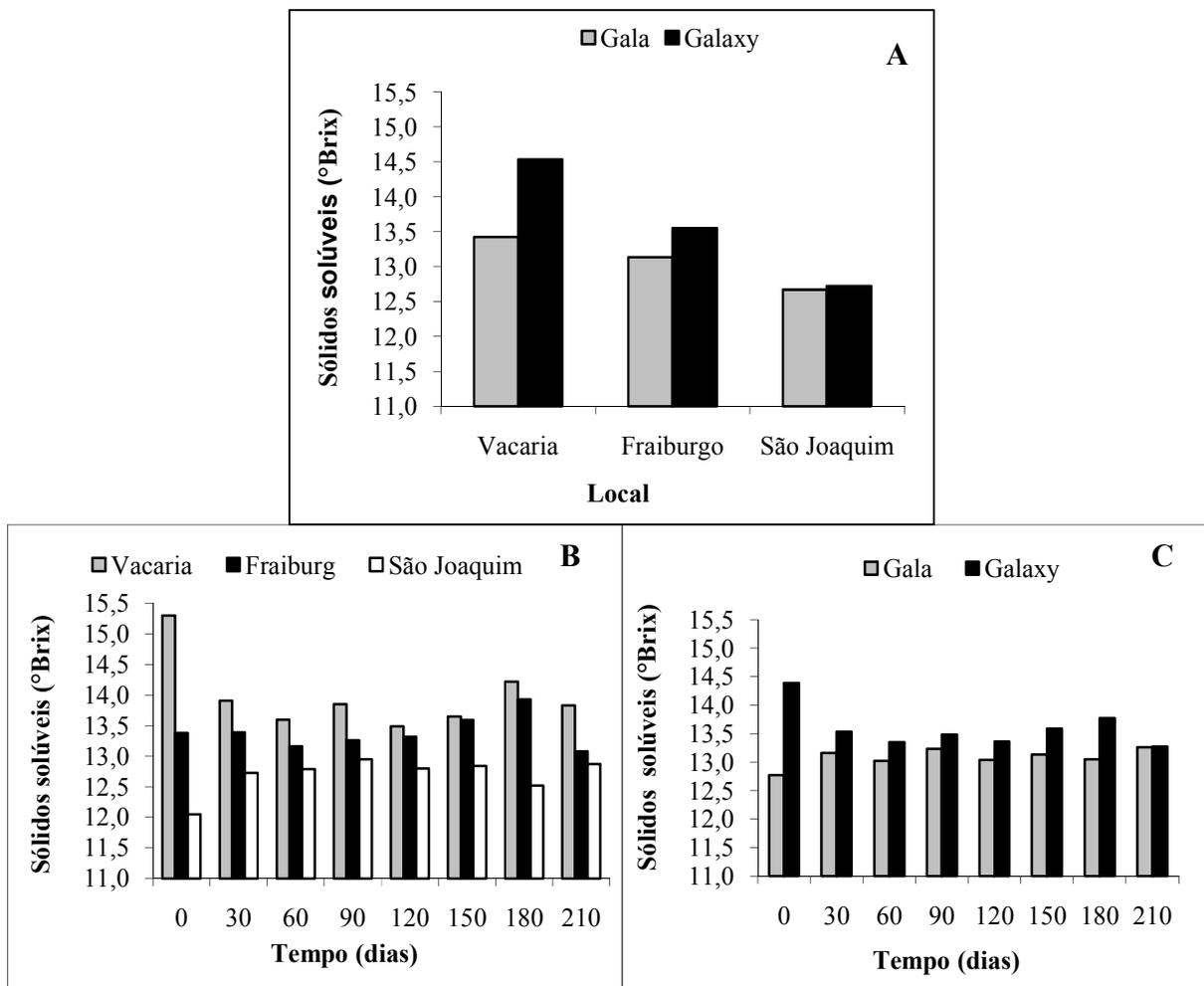


Figura 4 – Sólidos solúveis (°Brix) das maçãs ‘Gala’ e ‘Galaxy’ provenientes de três locais de cultivo e mantidas sob duas condições de armazenamento

#### 4.2.4 Coloração da epiderme

Foram observados efeitos significativos ( $p < 0,05$ ) no parâmetro ângulo de cor ( $h^*$ ) de cobertura em função dos fatores avaliados. Segundo Mcguirre (1992), o ângulo de cor ( $h^*$ ) é a medida mais apropriada para expressar a variação da coloração durante o amadurecimento de vegetais, onde  $0^\circ$  corresponde à cor vermelha,  $90^\circ$  à amarela,  $180^\circ$  à verde e  $270^\circ$  à cor azul.

Observa-se quanto às cultivar, valores de  $h^*$  mais baixos para ‘Galaxy’, quando comparados com os valores obtidos para ‘Gala’ (Figura 5, A-B). Além disso, há um comportamento de estabilidade para a primeira cultivar, enquanto que os valores referentes à ‘Gala’ apresentam oscilação. Estes dados evidenciam a influência do genótipo no parâmetro cor durante o armazenamento.

Mesmo considerando que a alteração da cor é resultante do processo natural de senescência dos frutos, objetiva-se, que ao final do processo de armazenamento, sejam obtidos frutos com manutenção da cor, o que contribui para a qualidade do fruto. Neste sentido, a ‘Galaxy’, além de apresentar frutos com área de cobertura de coloração vermelha intensa, apresenta-se mais estável quanto a manutenção da cor, o que em hipótese se deve a própria uniformidade de coloração característica, destacando-se como aspecto positivo para a comercialização.

Em atmosfera controlada (Figura 5A), os valores do ângulo  $h^*$  da cor dos frutos foram superiores aos apresentados nos frutos mantidos em AR (Figura 5 B), indicando o desenvolvimento da cor amarela.

A mudança na coloração dos frutos pode ser explicada pela intensidade do metabolismo, ou seja, quanto maior o metabolismo, mais intensa é a degradação das clorofilas e a síntese de carotenóides (CHITARRA & CHITARRA, 1990). Desta forma, era esperado que frutos resultantes de armazenamento em atmosfera controlada (AC) apresentassem valores de  $h^*$  menores quando comparados aos frutos provenientes de refrigeração; devido aos menores níveis metabólicos proporcionados pela primeira condição.

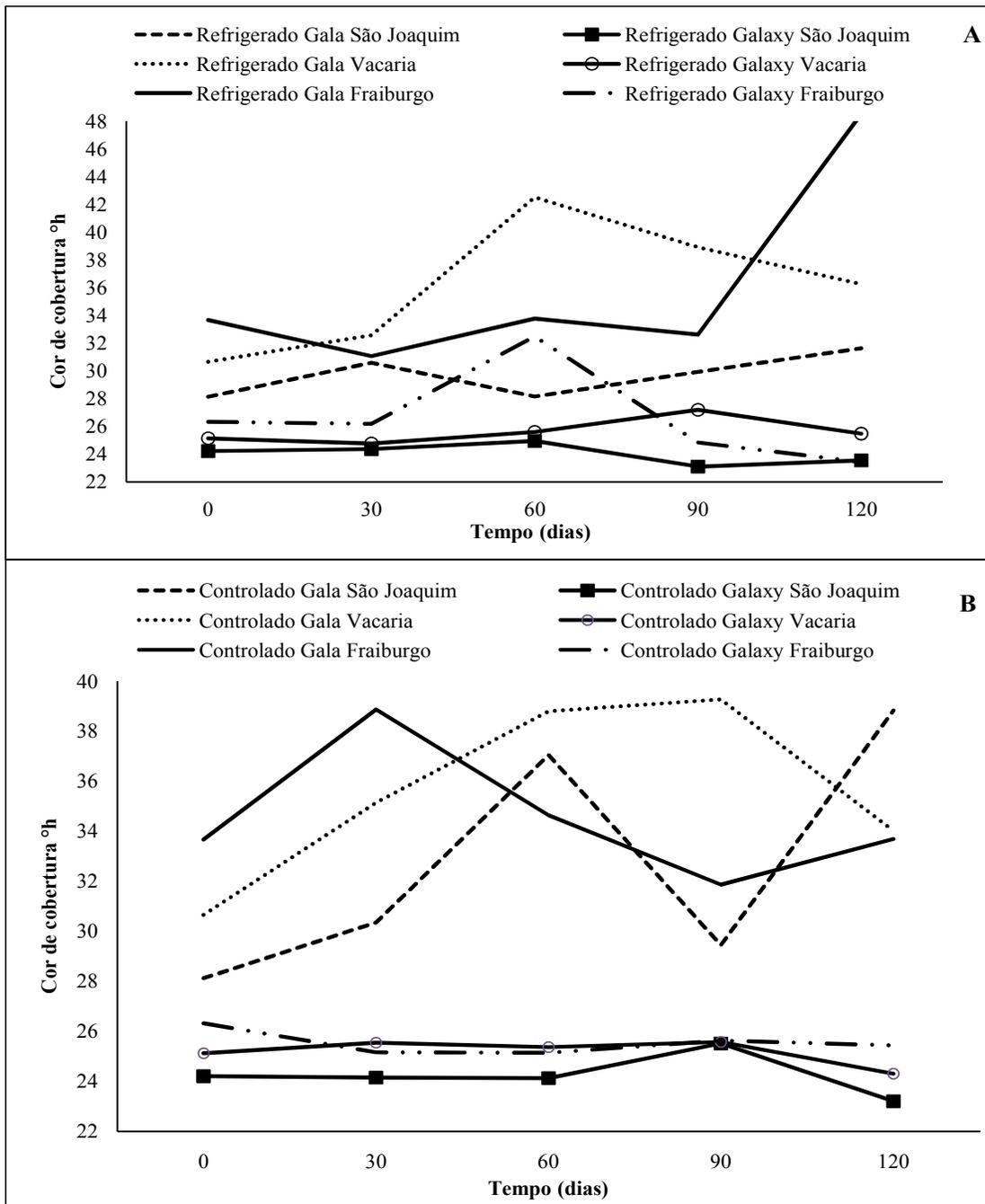


Figura 5 – Coloração de cobertura ( $h^*$ ) das maçãs ‘Gala’ e ‘Galaxy’ provenientes de três locais de cultivo e mantidas sob duas condições de armazenamento. A: armazenamento refrigerado (AR) e B: atmosfera controlada (AC)

Na avaliação de interação entre cor e ocorrência de lenticelose, embora os clones de ‘Gala’ com maior área de coloração sejam mais suscetíveis ao distúrbio (Moggia et al.; 1997), como é o caso da ‘Galaxy’, a ocorrência não foi significativa (Anexo 2). A avaliação da cor para frutos mantidos sob AC foi realizada até o final do armazenamento (210 dias), enquanto que, para AR os frutos foram avaliados somente até a quarta avaliação (120 dias), pois este é o prazo indicado para este tipo de armazenamento. Dessa forma não possível avaliar se há ou não interação da cor com as condições de AR e AC, pois a presença de lenticelose só foi registrada aos 180 dias.

A análise de variância identificou efeito significativo ( $p < 0,01$ ) nesta coordenada da cor em função dos fatores avaliados (Anexo 2). A luminosidade é uma coordenada do espaço de cores CIELAB que pode variar do 0 a 100, ou seja, do preto ao branco (LAWLESS & HEYMANN, 1999).

Puderam-se observar comportamentos distintos entre maçãs ‘Gala’ e ‘Galaxy’ durante o período de armazenamento quanto à coloração de cobrimento ( $L^*$ ). A ‘Gala’ apresentou clareamento ou brilho da cor nas duas condições de armazenamento, com maiores índices para os frutos de Vacaria (Figura 6 A-B). Maçãs ‘Galaxy’ apresentaram decréscimo neste parâmetro em ambas as condições de armazenamento, indicando o escurecimento ou perda gradual do brilho da epiderme (Figura 6A -B). A mudança dos valores de  $L^*$  pode estar relacionada às alterações como a mudança da composição e conformação ocorrida nas ceras epicuticulares, e conseqüentemente no brilho, durante o período de armazenamento. Estas alterações foram observadas em análises ultra-estruturais dos frutos ao final do período de armazenamento.

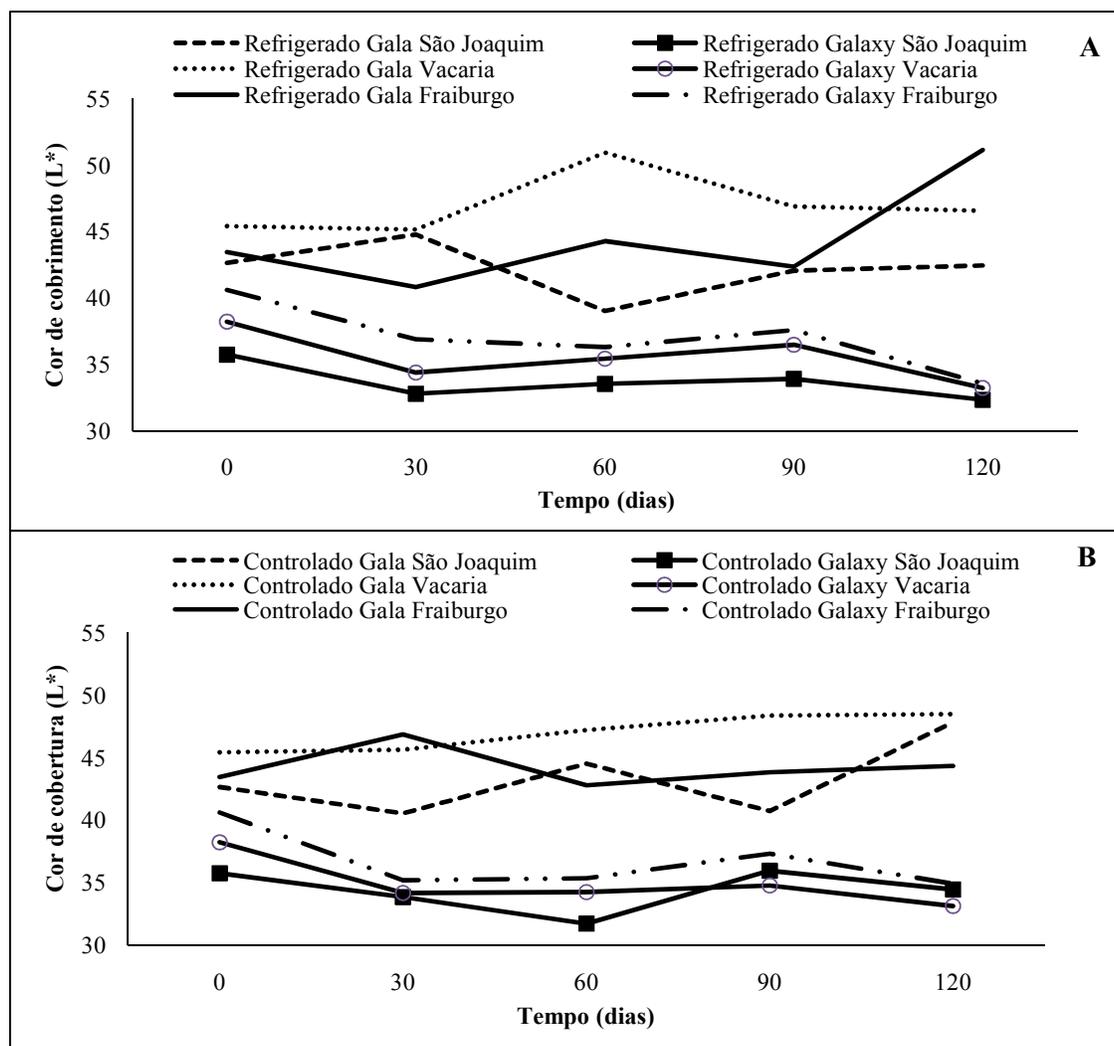


Figura 6 – Coloração de cobertura ( $L^*$ ) das maçãs ‘Gala’ e ‘Galaxy’ provenientes de três locais de cultivo e mantidas sob duas condições de armazenamento. A: armazenameto refrigerado (AR) e B: atmosfera controlada (AC)

O terceiro método utilizado para a avaliação da cor foi o parâmetro  $a^*$ , onde os valores mais positivos representam o vermelho. Os frutos ‘Galaxy’ apresentaram maiores valores médios de cor  $a^*$  do que ‘Gala’ concordando com a avaliação da cor pelos valores de  $h^*$  e  $L^*$ , com exceção de São Joaquim (Figura 7 A-C). Os frutos ‘Galaxy’ de Fraiburgo obtiveram maior acúmulo de coloração vermelha. Isto se deve, provavelmente, às condições climáticas dos locais de produção, pois Fraiburgo apresentou maiores temperaturas e maior amplitude térmica (Figura 1 A-B).

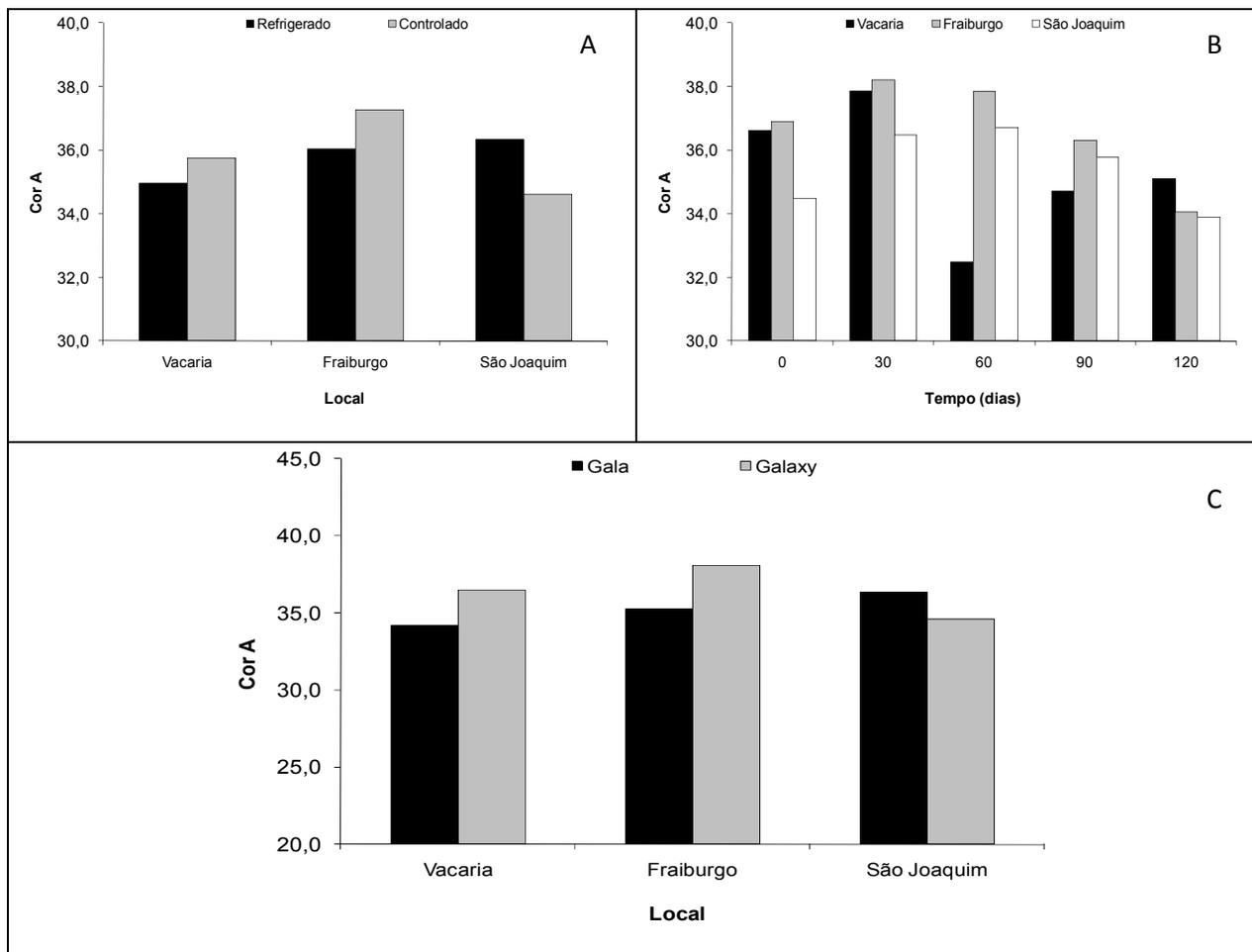


Figura 7 – Coloração de cobertura ( $a^*$ ) das maçãs ‘Gala’ e ‘Galaxy’ provenientes de três locais de cultivo e mantidas sob duas condições de armazenamento

#### 4.2.5 Tingimento de lenticelas

Houve interação entre os fatores estudados ( $p < 0,05$ ) quanto ao teste de tingimento de lenticelas (Anexo 1). Observou-se baixo índice de tingimento de lenticelas em maçãs ‘Gala’ e ‘Galaxy’ oriundas dos três locais de produção. O tingimento foi mais expressivo no decorrer do período de armazenamento, havendo um acréscimo após 120 dias (Figura 8 A-F). Comparando-se as condições de armazenamento, os índices foram maiores para os frutos ‘Gala’ e ‘Galaxy’ mantidos sob atmosfera controlada, com exceção das maçãs ‘Galaxy’ provenientes de Vacaria, que apresentaram índice de tingimento aos 30 dias de armazenamento refrigerado (Figura 8 B).

No entanto, os resultados obtidos, indicam que não houve relação entre o índice de tingimento de lenticelas e a ocorrência da lenticelose. Estes dados corroboram com os obtidos por Lara (2002), que não obteve relação entre o número e a intensidade de tingimento de lenticelas e a ocorrência de lenticelose em maçãs ‘Royal Gala’. Desta forma, pode-se inferir que esta técnica apresenta-se inadequada para estudos que objetivam identificar a pré-disposição de frutos de maçã a ocorrência do distúrbio.

Os índices de tingimento foram mais expressivos para a condição de armazenamento em atmosfera controlada. De acordo com Curry (2001), frutos armazenados em AC tendem a apresentar mais o distúrbio quando comparados aos mantidos sobre condição refrigerada. Provavelmente, isto se deve às condições utilizadas no armazenamento, como os índices de  $O_2$  e  $CO_2$  combinados às baixas temperaturas e à alta umidade. Estes fatores diminuem a respiração do fruto, a produção de etileno e a biossíntese de ceras (KUPFERMAN, 2003).

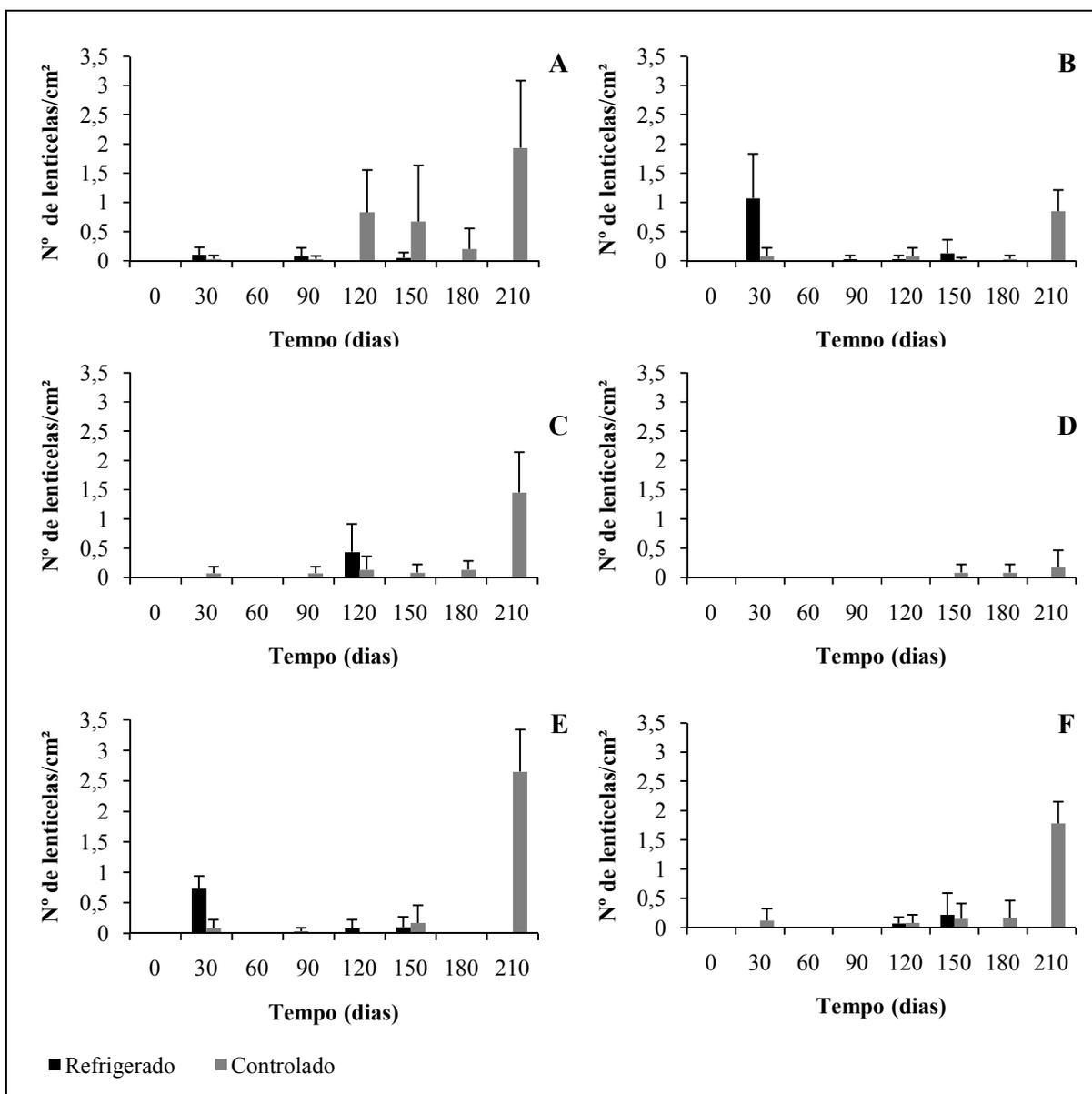


Figura 8 - Tingimento de lenticelas em maçãs ‘Gala’ e ‘Galaxy’ provenientes de três locais de cultivo e mantidas sob duas condições de armazenamento por 210 dias. A: ‘Gala’-Vacaria, B: ‘Galaxy’-Vacaria, C: ‘Gala’-Fraiburgo, D: ‘Galaxy’-Fraiburgo, E: ‘Gala’ São Joaquim e F: ‘Galaxy’- São Joaquim

Quanto ao padrão de deposição das ceras epicuticulares, ocorrem alterações na distribuição e conformação durante o período de armazenamento, deixando expostas microfissuras cuticulares, principalmente ao redor das lenticelas. Em hipótese, este fato pode ser responsável pela maior intensidade de tingimento das lenticelas, pois as microfissuras possibilitam maior infiltração do corante utilizado na técnica. Com base nisso, o índice de tingimento pode não corresponder à ocorrência de lenticelose.

### 4.3 Ocorrência de Lenticelose

As interações local de produção x tempo de armazenamento e variedade x tempo de armazenamento foram significativas para o distúrbio lenticelose (Anexo 1). Os frutos que apresentaram maior índice de ocorrência do distúrbio foram os provenientes de São Joaquim ao longo do período de armazenamento (Figura 9B).

De acordo com estudos realizados por Curry (2003, 2006), a incidência da lenticelose é influenciada pelas condições climáticas do local de produção, como temperaturas noturnas acima de 10°C durante o período de alongamento celular. A região de São Joaquim apresenta temperaturas mais baixas que os demais locais avaliados (Figura 1), no entanto, apresentou maior número médio de frutos com ocorrência do distúrbio, muito embora a incidência tenha ocorrido somente ao final do armazenamento (Figura 9B). Não houve interação entre a condição de armazenamento e os demais fatores avaliados.

A maior incidência de lenticelose foi observada aos 180 dias de armazenamento. Neste período, a ‘Gala’ apresentou número médio de 1,7 frutos com sintoma do distúrbio, equivalente a 11,3% dos frutos amostrados, enquanto somente 0,3 frutos (2% dos frutos amostrados) de ‘Galaxy’ apresentaram sintomas. De acordo com Moggia et al. (1997), os clones de ‘Gala’ com maior área de coloração são mais susceptíveis ao distúrbio. Esse fato não se comprovou neste estudo, uma vez que a ‘Gala’ apresentou maior ocorrência do distúrbio quando comparada à ‘Galaxy’, a qual possui coloração mais vermelha. Embora tenha ocorrido interação entre alguns fatores estudados, os resultados não foram esclarecedores, possivelmente em função da baixa incidência da lenticelose em todos os tratamentos.

Atributos do próprio fruto também vêm sendo relacionados à lenticelose, como a perda da firmeza de polpa (Curry, 2004). Embora tenha ocorrido perda de firmeza para todos os tratamentos durante o armazenamento (Figura 2), os frutos provenientes de São Joaquim apresentaram os maiores valores de firmeza de polpa, e, justamente nestes frutos a incidência foi significativa.

Assim sendo, novos estudos deverão ser conduzidos em períodos com maior incidência do distúrbio, de forma a possibilitar a avaliação do efeito dos fatores avaliados sobre a ocorrência da lenticelose.

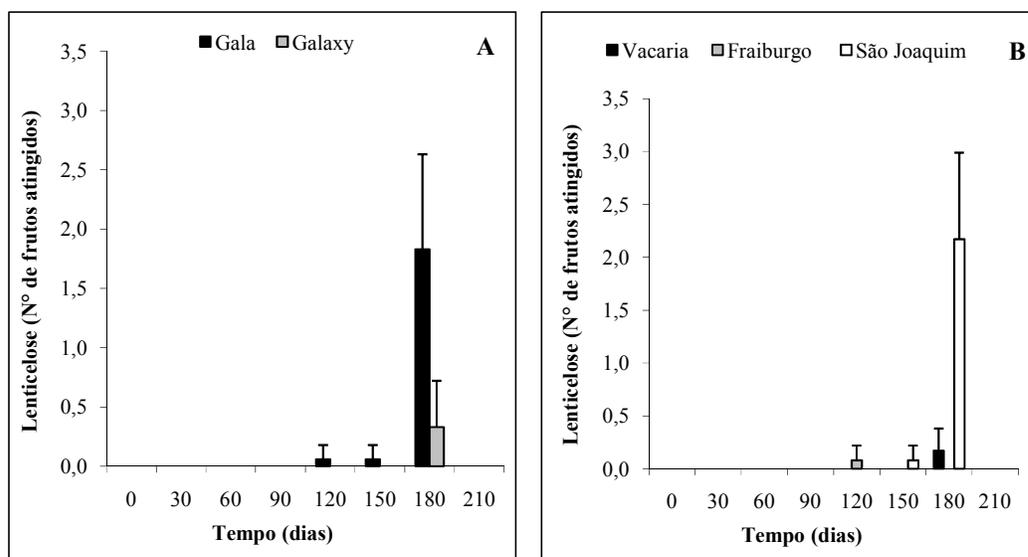


Figura 9 - Incidência de lenticelose em maçãs ‘Gala’ e ‘Galaxy’ (A) provenientes de três locais de cultivo (B) durante 210 dias de armazenamento

#### 4.4 Aspectos anatômicos dos frutos de macieira

##### 4.4.1 Caracterização das lenticelas

Os frutos jovens de macieira ‘Gala’ e ‘Galaxy’, coletados um mês após o período de plena floração, apresentaram cerca de 2 cm de diâmetro e 2,3 cm de comprimento (Figura 10 A-B).

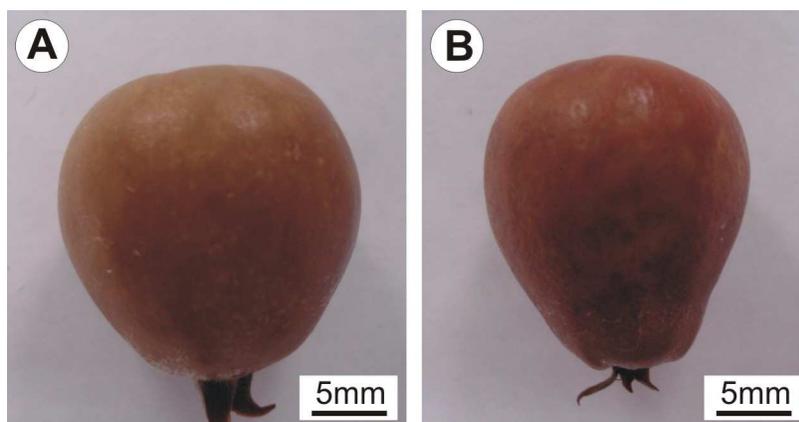


Figura 10 - Frutos de macieira ‘Gala’ (A) e ‘Galaxy’ (B) provenientes de Vacaria-RS, coletados em 10 de novembro de 2008

Nessa fase a epiderme unisseriada é contínua (Figura 11 A-B) e apresenta tricomas unicelulares e estômatos (Figura 11 C-D). De acordo com Tetley (1925) os estômatos formam-se ao longo de toda a superfície do fruto nos estágios iniciais de desenvolvimento, mas com o intumescimento posterior do fruto há uma aparente concentração dos estômatos na terminação apical.

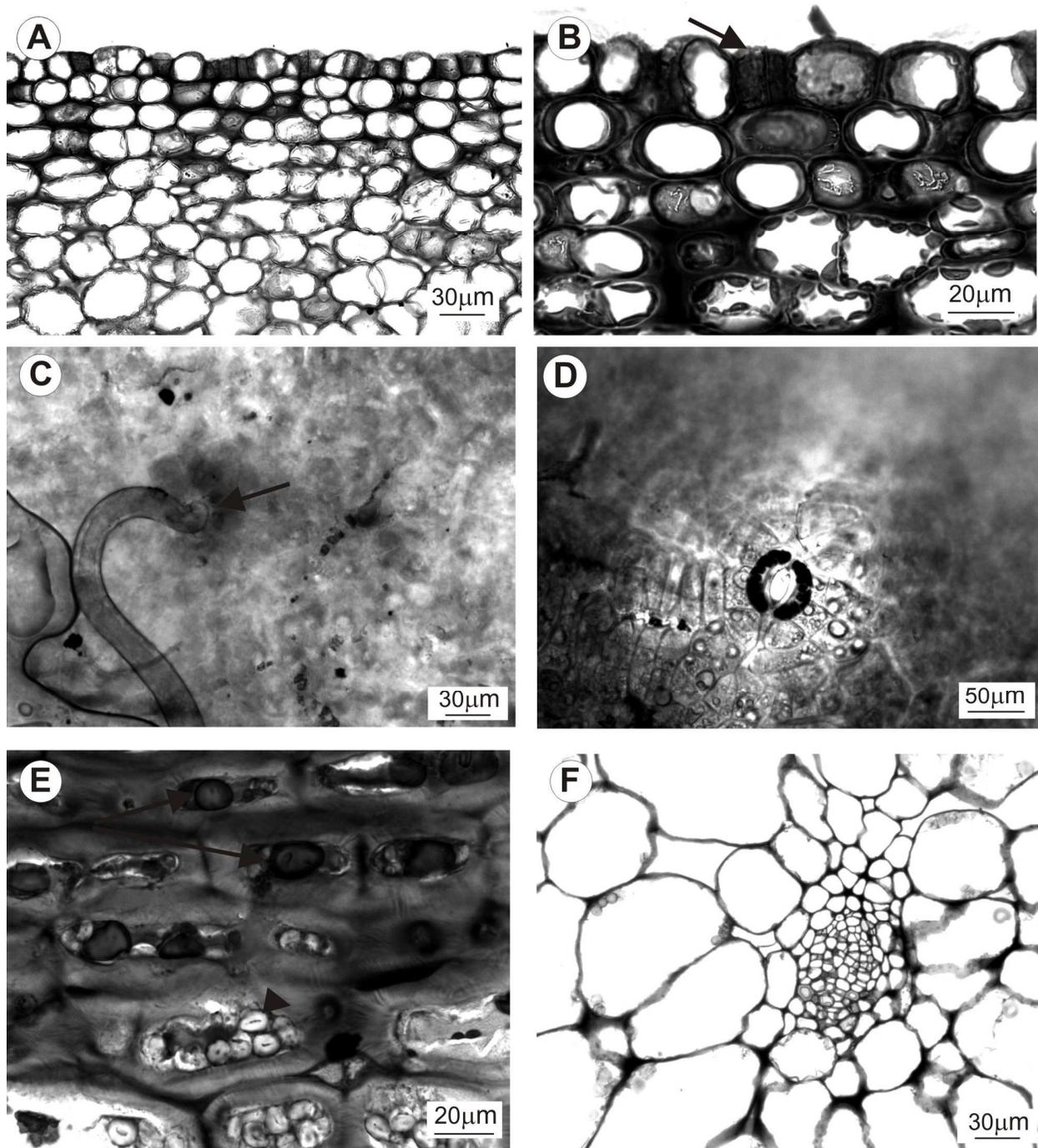


Figura 11- Cortes transversais (A-B, E-F) e paradérmicos (C, D) de frutos de macieiras com cerca de 2,0 cm de diâmetro. A-B. Observar a epiderme (E) unisseriada e contínua. C. Tricoma unicelular (seta indica a base). D. Estômato com células-guarda com grãos de amido evidenciados pelo lugol. E. Células do colênquima contendo compostos fenólicos (seta) e grãos de amido (ponta de seta). F. Feixe vascular colateral envolvido pelo parênquima de células volumosas

Sob a epiderme encontram-se três a quatro camadas de tecido colenquimático cujas células acumulam compostos fenólicos e grãos de amido (Figura 11 E). Segue-se o parênquima com células isodiamétricas volumosas entre as quais ocorrem feixes vasculares colaterais (Figura 11F). Há ablação dos tricomas nos frutos ainda jovens. Nos frutos maduros não se observa a presença de estômatos. Os mesmos devem ser difíceis de localizar e a formação das lenticelas deve ocorrer em quase todos os casos sem deixar qualquer vestígio da participação estomática (TETLEY, 1925).

A origem das lenticelas ocorre pela instalação do felogênio nas células que delimitam a câmara subestomática (Figura 12 A) e pela divisão das células colenquimáticas situadas sob áreas da epiderme que ficam descontínuas devido ao aumento do volume e expansão das células do parênquima (Figura 12 C-F). De acordo com estudos de Curry (2009), o tamanho das células epidérmicas é mantido cerca de 30 dias após o crescimento inicial em macieiras ‘Golden Delicious’ e com o crescimento posterior do fruto, há o afastamento das células epidérmicas pelas paredes anticlinais. Tal fato também foi observado no presente estudo (Figura 12 B). De acordo com Clements (1935) e Roth (1977) as lenticelas presentes em maçãs podem ter três origens diferentes: a partir de estômatos que cessam o funcionamento no início do desenvolvimento do fruto; de quebras na continuidade da epiderme causadas pela remoção completa dos tricomas associadas aos frutos jovens; da ruptura da epiderme, decorrente da incapacidade em acompanhar a expansão interna dos tecidos. No presente estudo não foi possível observar a formação das lenticelas nas áreas de ablação dos tricomas.

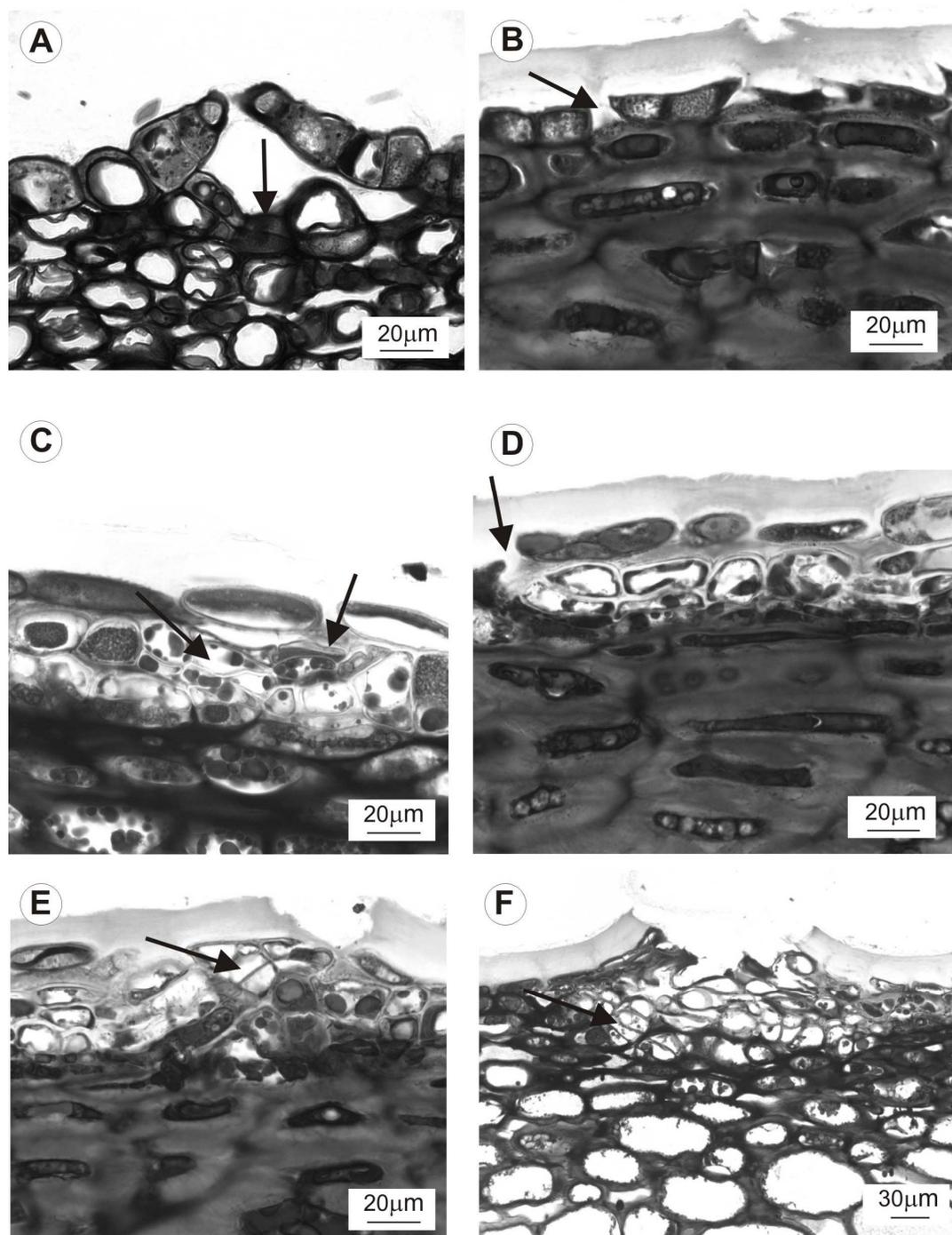


Figura 12 - Cortes transversais de frutos de macieiras. A. Instalação do felogênio da lenticela sob o estômato (seta). B. Células da epiderme separadas (seta). C-E. Divisões no colênquima (setas) sob a epiderme nos locais onde as células estão separadas. F. Lenticela originada por divisões nas camadas sob a epiderme descontínua (seta)

A maior parte das lenticelas formadas nos frutos maduros tem origem a partir de divisões das camadas subjacentes às áreas de descontinuidade da epiderme. Portanto, foi realizada uma análise comparativa entre a ‘Gala’ e ‘Galaxy’ quanto à epiderme e tipo de lenticela nas diferentes áreas de coleta a fim de verificar se tais características estavam associadas ao distúrbio lenticelose.

As análises revelaram que não houve diferenças na epiderme no padrão de formação das lenticelas entre ‘Gala’ e ‘Galaxy’ e os locais de produção (Figuras 13 e 14).

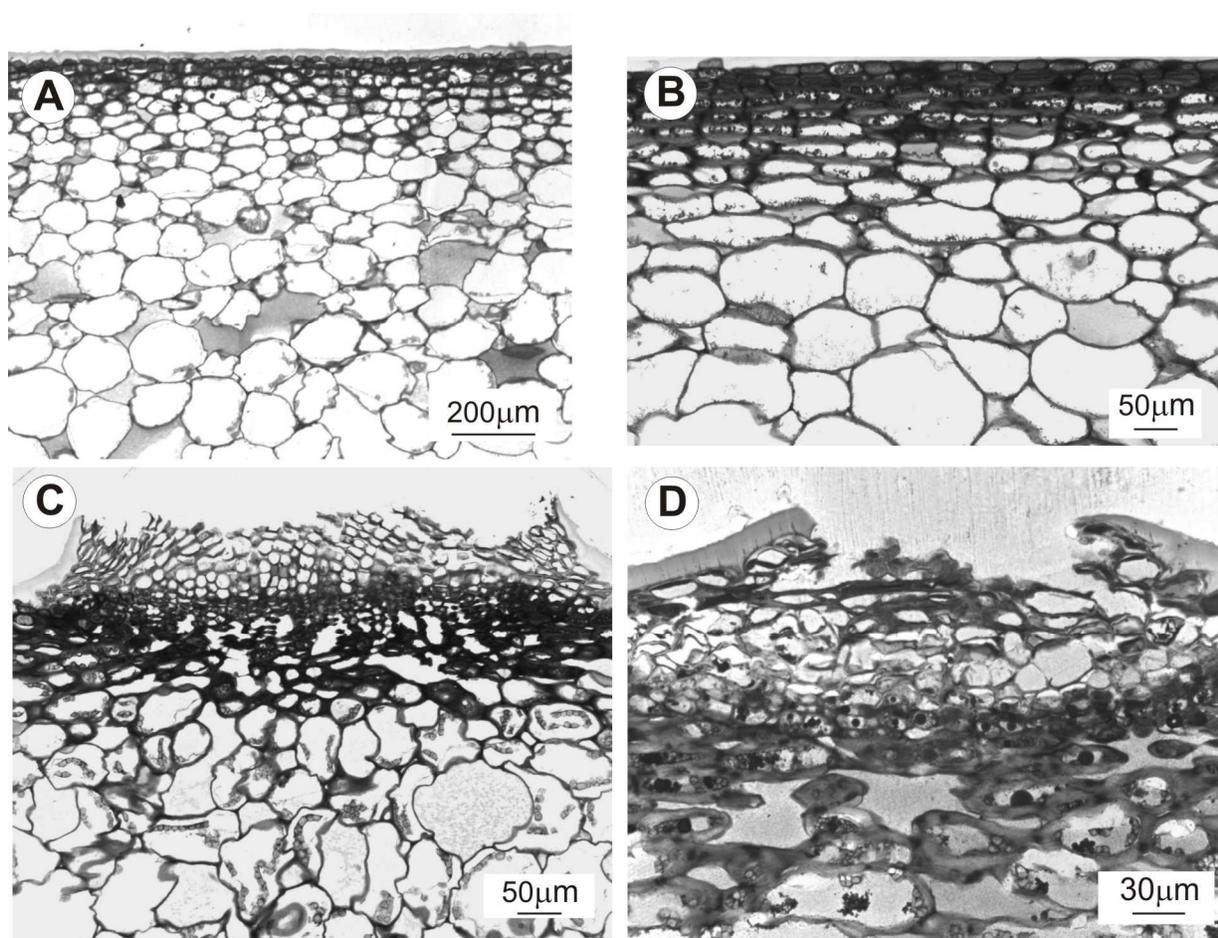


Figura 13 - Cortes transversais de frutos de macieira ‘Gala’ (A, C) e ‘Galaxy’ (B, D) mostrando a epiderme (A-B) e lenticelas (C-D)

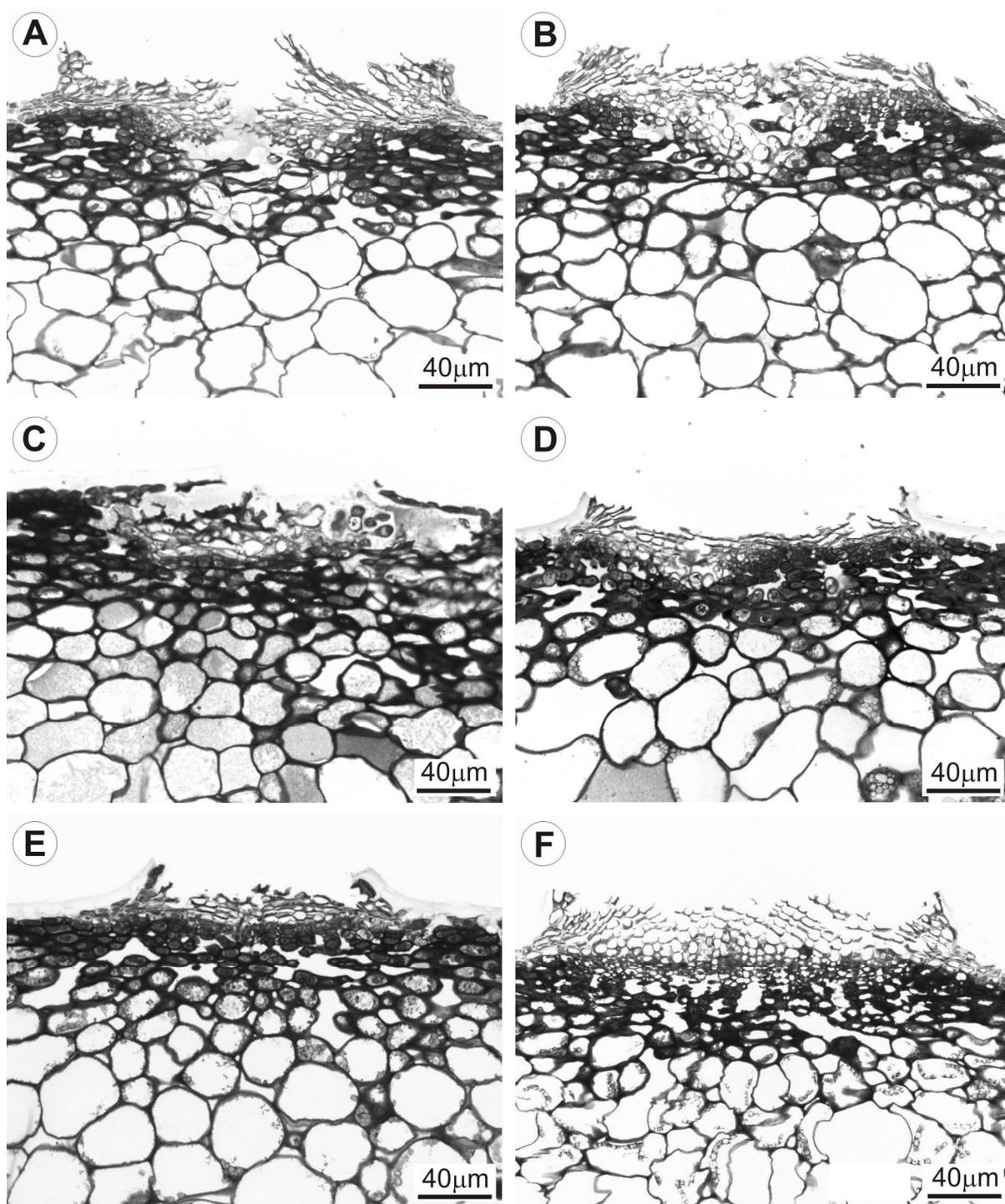


Figura 14 - Cortes transversais de frutos maduros de macieira após a colheita mostrando lenticelas. A: 'Gala'-Vacaria; B: 'Galaxy'-Vacaria; C: 'Gala'-Fraiburgo; D: 'Galaxy'-Fraiburgo; E: 'Gala'-São Joaquim e F: 'Galaxy'-São Joaquim

Tetley (1925) comenta que lenticelas muito abertas permitem a germinação de esporos de fungos. Em frutos de ‘Gala’ coletados em Fraiburgo-SC (Figura 15) foi possível observar a presença de esporos de fungos.

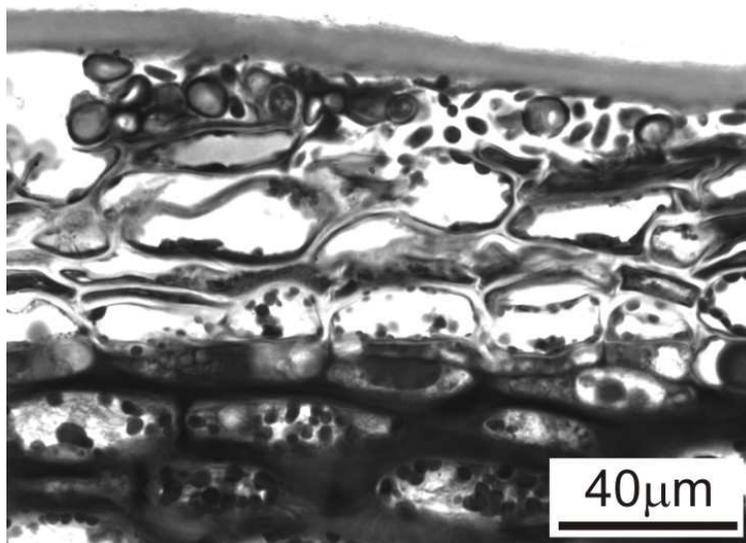


Figura 15 - Corte transversal do fruto de ‘Gala’ coletado em Fraiburgo-SC. Observar a presença de esporos de fungos

#### 4.4.2 Caracterização dos frutos maduros recém colhidos

A cutícula dos frutos maduros após a colheita, em ambas cultivares, apresenta-se bastante espessa e forma flanges cuticulares em função do afastamento das células epidérmicas (Figura 16). A espessura da cutícula é uma função da predisposição genética da cultivar, bem como o ambiente em que a fruta está crescendo (CURRY, 2009). No entanto, não foram observadas diferenças entre as cultivares e os locais de coleta dos frutos no presente estudo.

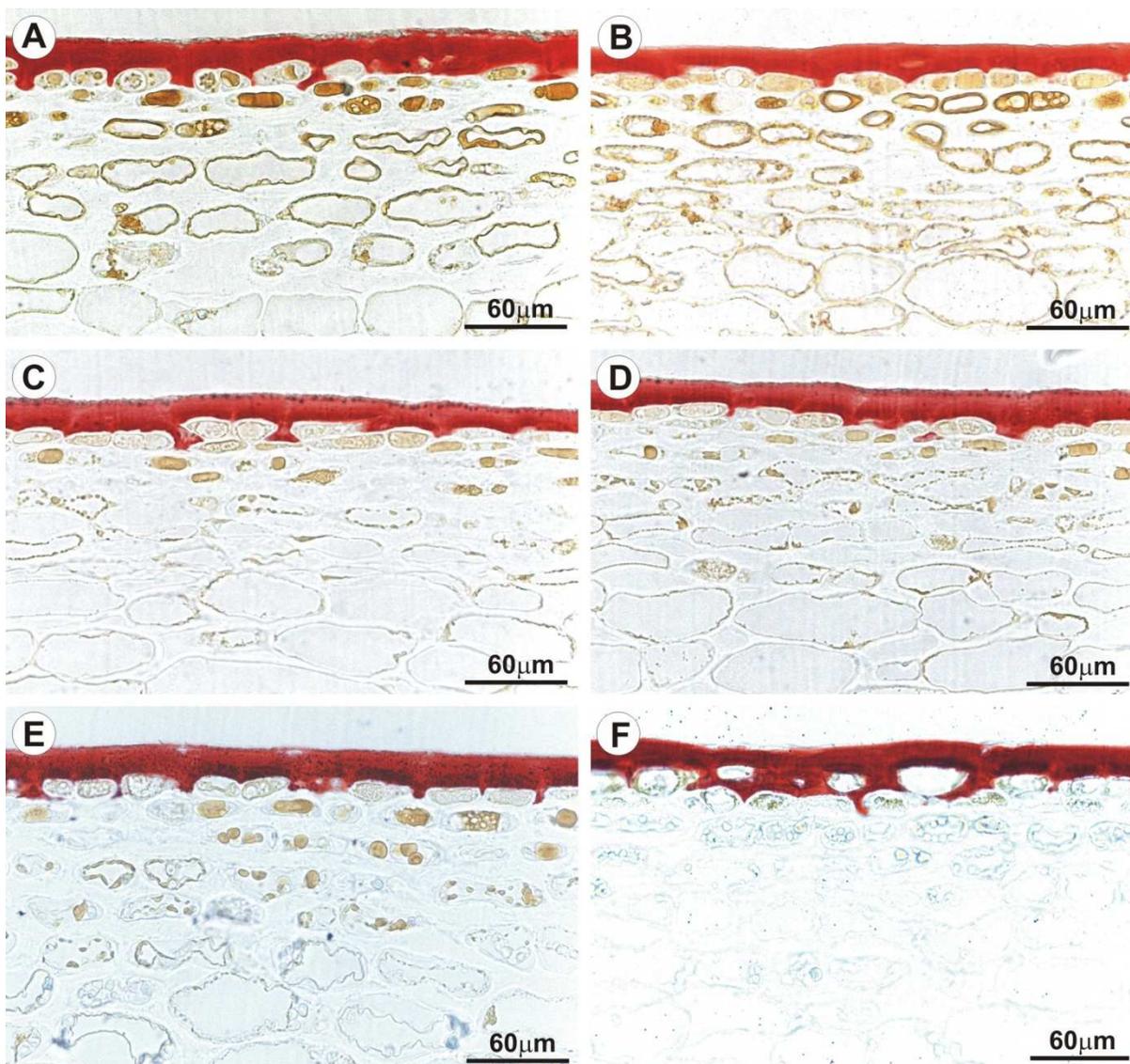


Figura16 - Caracterização da cutícula de frutos maduros de macieira. A: Gala'-Vacaria; B: Galaxy'-Vacaria; C: Gala'-Fraiburgo; D: Galaxy'-Fraiburgo; E: 'Gala'-São Joaquim e F: 'Galaxy'-São Joaquim

De acordo com Curry (2009), o tamanho das células epidérmicas permanece inalterado por aproximadamente 30 dias após o crescimento inicial em frutos de macieiras ‘Golden Delicious’. Com o crescimento posterior do fruto, ocorre o afastamento das células epidérmicas pelas paredes anticlinais. A cutícula dos frutos maduros, após a colheita, em ambas cultivares, apresentou-se bastante espessa e com formação de flanges cuticulares em função do afastamento das células epidérmicas (Figura 16). A espessura da cutícula é uma função da predisposição genética da cultivar, bem como do ambiente de crescimento do fruto (CURRY, 2009). No entanto, não foram observadas diferenças entre as cultivares e os locais de cultivo dos frutos no presente estudo.

#### **4.4.3 Caracterização das ceras epicuticulares**

A cutícula é um sistema dinâmico que se expande na mesma proporção que o crescimento do fruto. Conforme as células do parênquima se alongam durante a expansão do fruto, a cutícula começa a distender causando microfissuras nas plaquetas de cera (Figura 17 A, E). Sob condições ambientais favoráveis, esse processo ocorre gradualmente, iniciando-se o reparo das microfissuras através da deposição paralela de plaquetas de ceras antes que haja o completo rompimento e exposição das células epidérmicas subjacentes, em um mecanismo denominado de “rompimento e reparo” (CURRY, 2005).

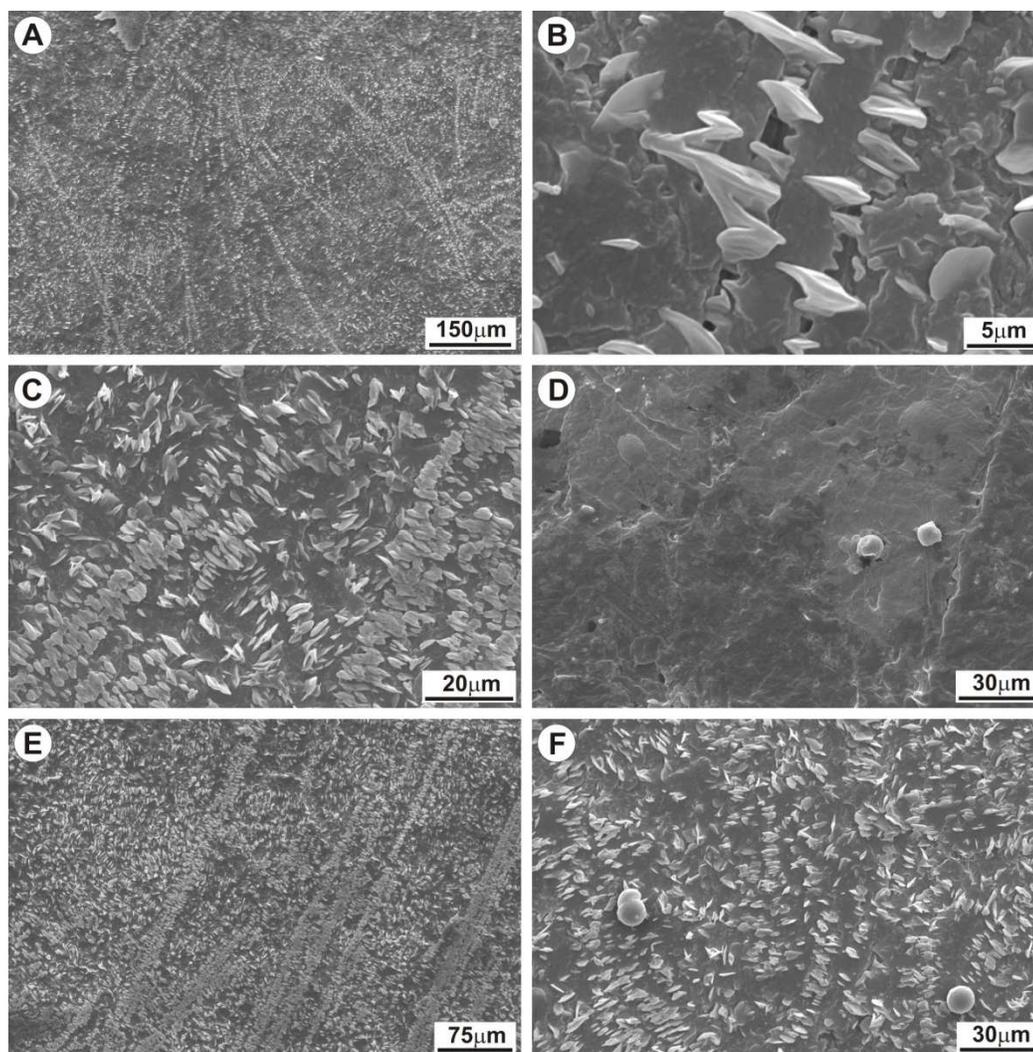


Figura 17 - Eletromicrografias de varredura mostrando o recobrimento de ceras e os cristalóides existentes na cutícula de frutos recém-colhidos de macieiras ‘Gala’: (A-B, Vacaria-RS; C-D, Fraiburgo-SC; E-F, São Joaquim-SC). D-F, presença de grânulos dispersos sobre a cutícula. As setas indicam a deposição de plaquetas dispostas paralelamente sobre as microfissuras da cutícula

Esse padrão pode ser observado em ambas as cultivares (Figuras 17 A-C e 18 A-F). Outros padrões de ceras também foram encontrados como grânulos (Figura 17 D, F), placas (Figura 18 A), plaquetas (Figura 17 B) de acordo com a classificação de Barthlott et al. (1998). Não houve diferença no formato e distribuição de ceras epicuticulares entre as regiões produtoras. Porém, na ‘Gala’ (Figura 17A) as ceras epicuticulares são distribuídas de forma mais uniforme sobre a cutícula do que na ‘Galaxy’ (Figura 18 C-E).

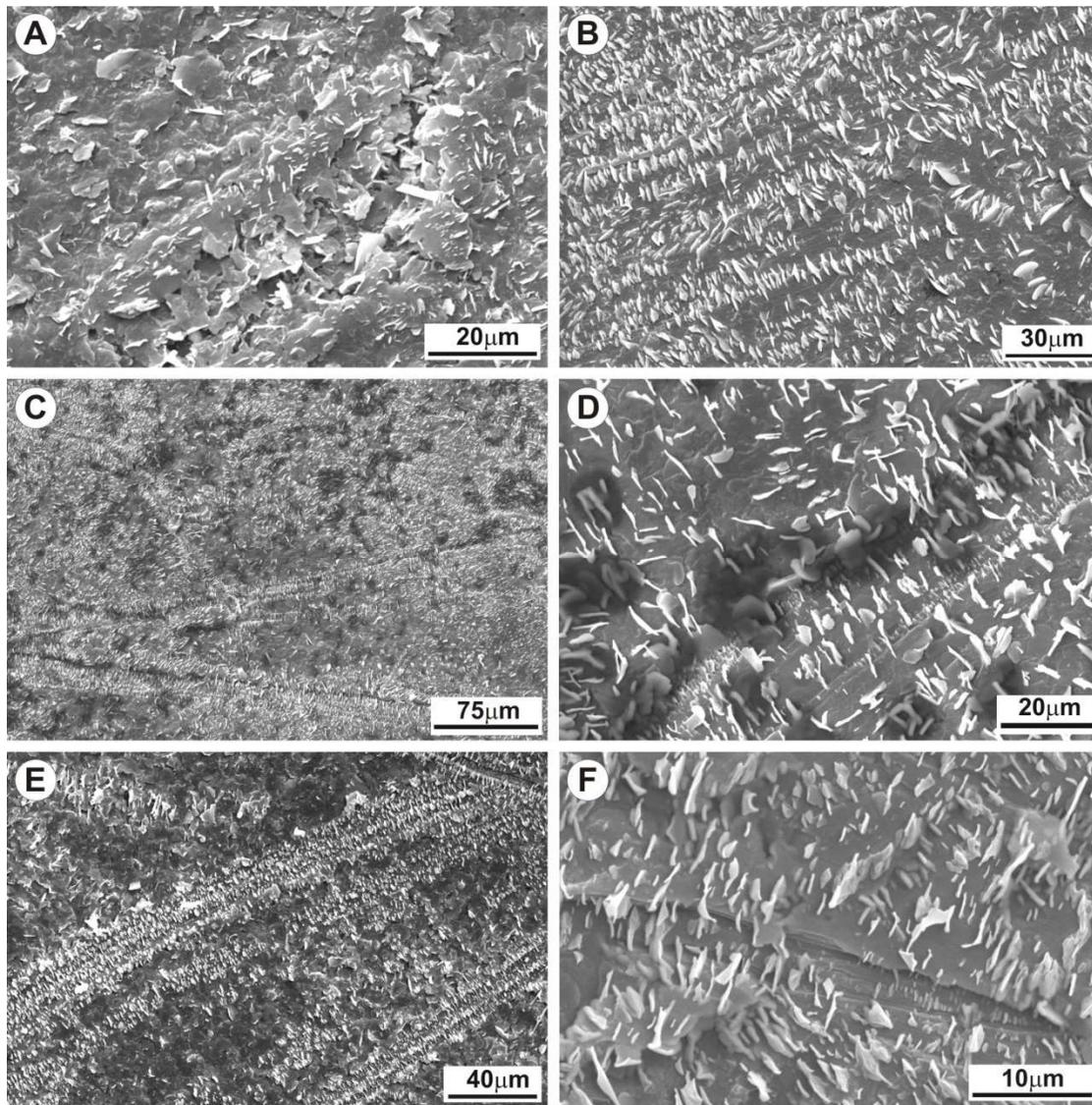


Figura 18- Eletromicrografias de varredura mostrando o recobrimento de ceras e os cristalóides existentes na cutícula de frutos recém colhidos de macieiras ‘Galaxy’ (A-B, Vacaria-RS; C-D, Fraiburgo-SC; E-F, São Joaquim-SC). As setas em C e F indicam a deposição de plaquetas dispostas paralelamente sobre as microfissuras da cutícula. A e F: detalhe das microfissuras

#### 4.4.4 Alterações das ceras epicuticulares durante o período de armazenamento

Ao final do período de armazenamento, tanto refrigerado quanto sob atmosfera controlada, observaram-se regiões com o formato original dos cristalóides, e outras, com regiões amorfas e menor presença de estruturas epicuticulares (Figuras 19 A-F e 20A-F). As alterações foram observadas em frutos de macieiras ‘Gala’ e ‘Galaxy’, sendo mais evidentes na condição de atmosfera controlada.

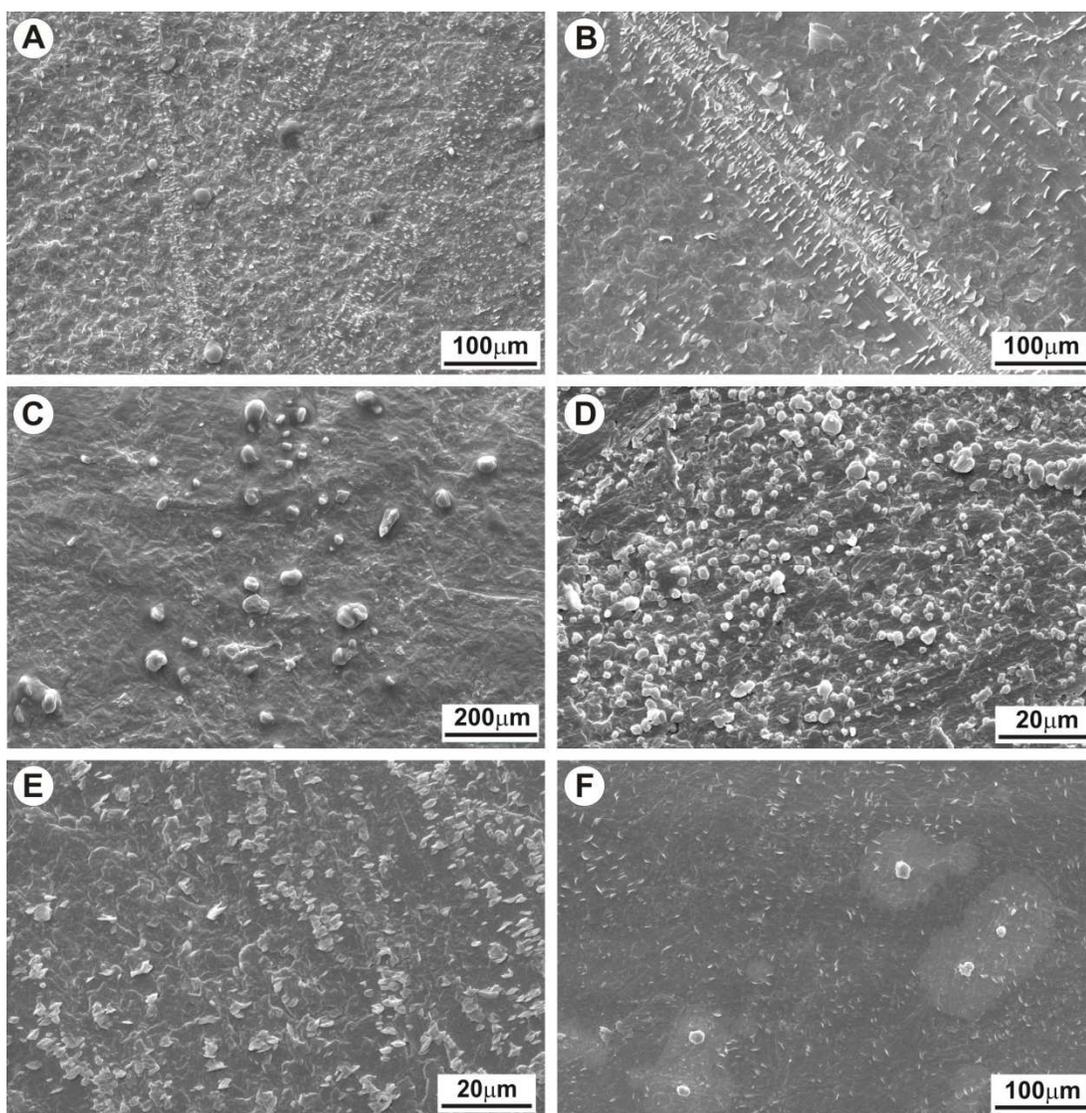


Figura 19 - Eletromicrografias de varredura mostrando as alterações das ceras epicuticulares em frutos de macieiras, durante o período de quatro meses, em condições de armazenamento refrigerado (0°C e 90% UR). A: ‘Gala’-Vacaria; B: ‘Galaxy’-Vacaria; C: ‘Gala’-Fraiburgo; D: ‘Galaxy’-Fraiburgo; E: ‘Gala’-São Joaquim e F: ‘Galaxy’-São Joaquim

Durante o processo de maturação, a composição da cutícula é alterada, devido ao acúmulo de ácidos graxos insaturados os quais possuem menor temperatura de congelamento. O acúmulo desses ácidos resulta em mudanças nas propriedades físicas da cutícula (ARGENTA, 2002).

Na colheita, as plaquetas, em sua maioria, são compostas por alcanos de cadeia longa e alto ponto de fusão para resistir às altas temperaturas ambientais. Como resultado das baixas temperaturas de armazenamento, é provável que cadeias de carbono mais curtas e com baixo ponto de fusão sejam produzidas, e conseqüentemente, com menos energia para refazer os cristalóides (CURRY, comunicação pessoal). Em razão desta mudança na produção de compostos, os cristalóides começam a mudar sua aparência, cristalizando-se em aglomerados graxos (“grease balls”) (Figuras 19 D e 20 B-C), conferindo alteração no brilho de frutos armazenados por muito tempo. De acordo com Barthlott et al. (1998), os componentes predominantes das ceras são geralmente considerados como responsáveis pelo formato dos cristalóides. Ensaio realizado por Monteiro (2007), com tratamento térmico e posterior armazenamento refrigerado em maçãs ‘Gala’ e ‘Fuji’ foi constatada a fusão parcial ou total dos cristalóides de cera e alteração dos mesmos. Curry<sup>1</sup> (comunicação pessoal) também observou que em maçãs ‘Gala’, sob armazenamento refrigerado por quatro meses, os cristalóides das ceras epicuticulares formam aglomerados esféricos.

<sup>1</sup> Eric A. Curry - Agricultural Research Service, Tree Fruit Research Laboratory

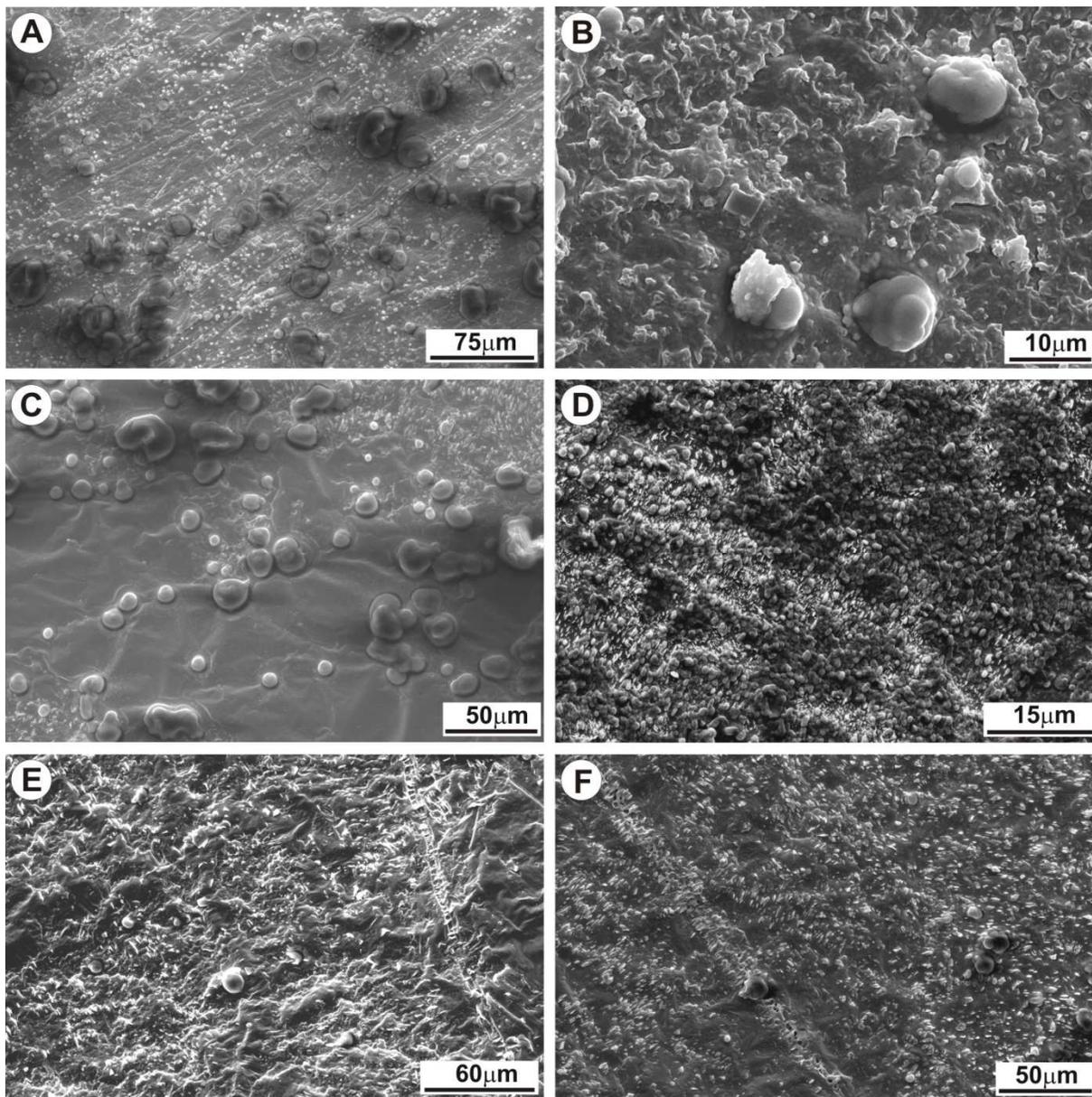


Figura 20 - Eletromicrografias de varredura mostrando as alterações das ceras epicuticulares em frutos de macieiras, durante o período de quatro meses, em condições de atmosfera controlada (1,5% O<sub>2</sub>; 2,5% CO<sub>2</sub>; 0°C e 90%). A: 'Gala'-Vacaria; B: 'Galaxy'-Vacaria; C: 'Gala'-Fraiburgo; D: 'Galaxy'-Fraiburgo; E: 'Gala'-São Joaquim e F: 'Galaxy'-São Joaquim

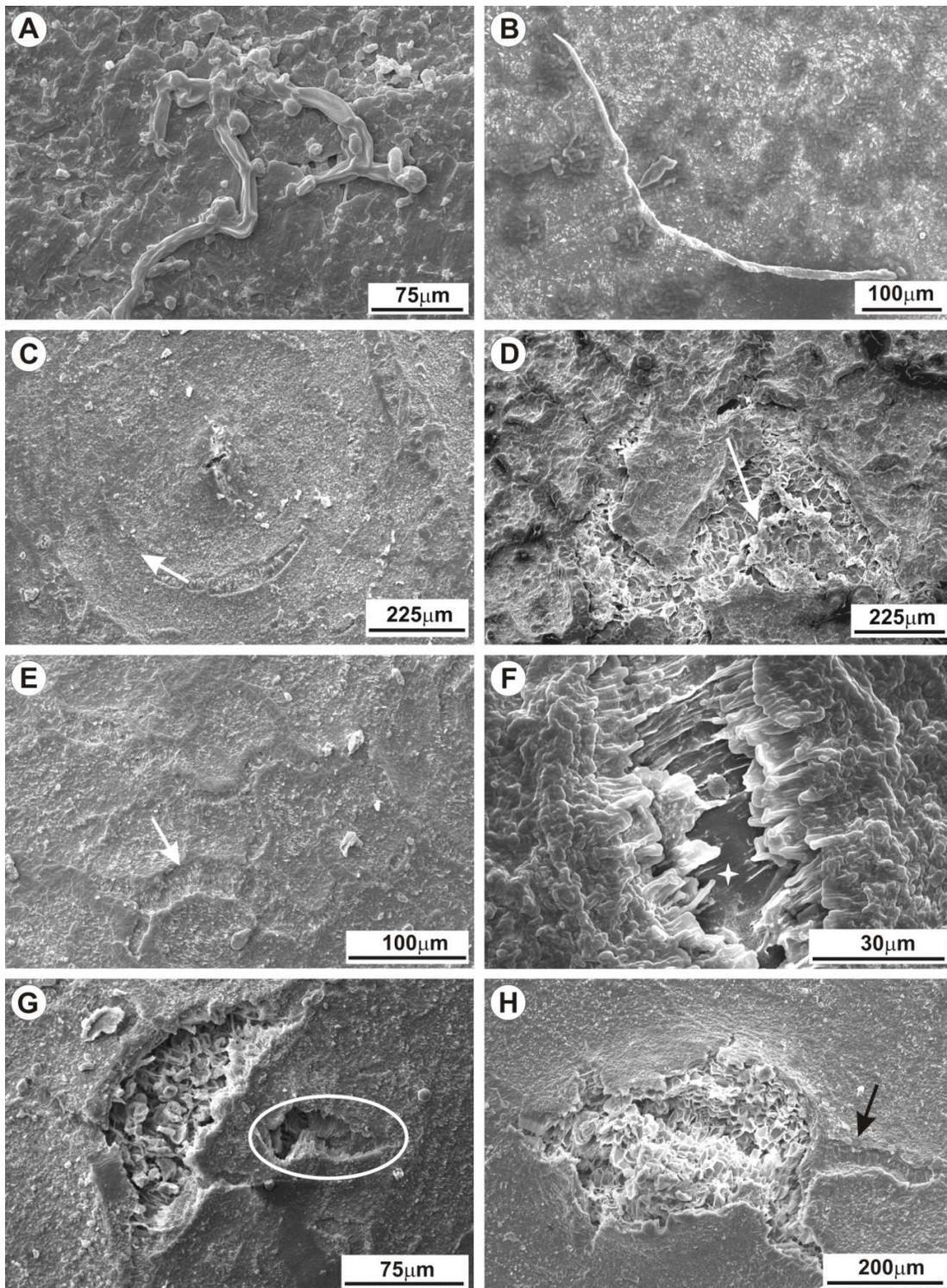


Figura 21 - Eletromicrografias de varredura mostrando as principais alterações e problemas encontrados em frutos de macieiras ‘Gala’ e ‘Galaxy’, durante o período de quatro meses de armazenamento refrigerado (coluna à esquerda) e atmosfera controlada (coluna à direita). A-B: presença de fungos; C-D-E: ocorrência de microfissuras na cutícula (setas); F: microfissura da cutícula com exposição da camada epidérmica subjacente (estrela); G-H: extensão das microfissuras originadas a partir das lenticelas (circulo e seta)

Ao final do período de armazenamento foi observada a presença de hifas de fungos (Figura 21 A-B) associadas ou não às lenticelas e às microfissuras na cutícula que atingem diferentes extensões e profundidades (Figura 21 C-H). Embora algumas microfissuras possam ser oriundas do campo, observou-se o aumento e alterações dessas devido às condições de armazenamento. O avanço dessas micro-fissuras pode ser explicado por se formar uma região de menor resistência da cutícula ao redor da lenticela (Figura 21 G-H). Este fato também foi indicado por Monteiro (2007), para a cutícula de frutos de macieiras ‘Gala’ e ‘Fuji’. A presença de micro-fissuras na camada de ceras epicuticulares já foi demonstrada em outros estudos, e esta pode influenciar a permeabilidade ao vapor de água nos frutos (MIGUIRE et al., 1999). Os mesmos autores observaram, em frutos de macieiras ‘Braeburn’, que a permeabilidade das fissuras era aproximadamente 15 vezes maior que a da cutícula intacta.

Além da perda de umidade, estas fissuras são possíveis portas de entrada de patógenos causadores de podridões nos frutos. Conforme citado, foram encontradas hifas de fungos aderidas às fissuras da camada de ceras epicuticulares e nas lenticelas, o que demonstra que estes locais servem de apoio para a fixação do patógeno no fruto. De acordo com Sanhueza (2004), as podridões podem atingir 35% em frutos armazenados.

#### **4.4.5 Caracterização do distúrbio Lenticelose**

Nos frutos com o sintoma da lenticelose observou-se em alguns casos uma depressão na superfície resultante da obliteração de células da epiderme e camadas subepidérmicas (Figura 22). Na área do parênquima subjacente à depressão observou-se a lise das células e a formação de amplos espaços (Figura 22 A-B). Em alguns casos havia a lise e amplos espaços, mas sem depressão na superfície (Figura 22 C-D). Nas análises realizadas não foi possível associar tais alterações com as lenticelas, embora em uma das amostras tenha sido possível observar a presença de uma lenticela na área da depressão (Figura 22 E-F).

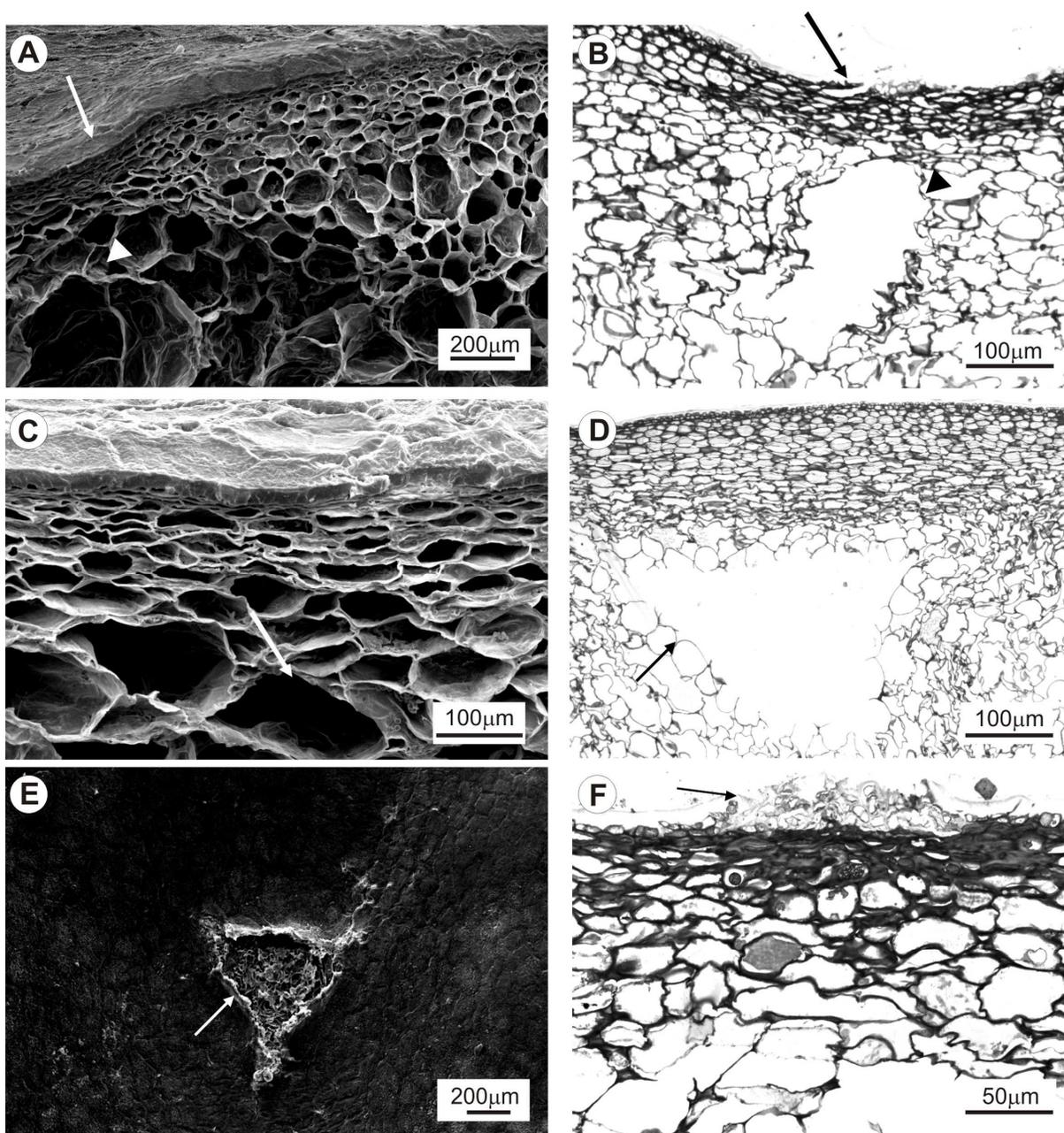


Figura 22 - Eletromicrografias de varredura (A, C, E) e cortes transversais (B, D, F) de frutos de macieiras com o sintoma da lenticelose. Em A e B a seta indica área da depressão e a ponta de seta a lise celular e amplos espaços no parênquima. C-D. Observar a lise (setas), mas não há depressão na superfície. E-F. Lenticela (seta) associada à depressão

## CONCLUSÕES

Na safra analisada a incidência de lenticelose foi menor do que em anos anteriores o que dificultou a realização das comparações propostas nesse projeto. De qualquer maneira foi possível observar que morfológicamente as lenticelas são similares nos dois genótipos analisados. Nos frutos com o sintoma da lenticelose havia uma depressão na superfície resultante da obliteração de células da epiderme e das camadas subepidérmicas, sendo que no parênquima subjacente à depressão havia amplos espaços formados pela lise das células. O que chamou a atenção é que, no presente estudo, nem sempre a área sintomática estava associada à presença da lenticela.

Houve diferenças quanto a atributos como sólidos solúveis, acidez titulável e coloração da epiderme entre as variedades e entre ao longo do armazenamento. Estas diferenças não significativas entre as duas condições de armazenamento e a manifestação dos sintomas da lenticelose nas macieiras ‘Gala’ e ‘Galaxy’ procedentes das três regiões produtoras em relação aos parâmetros físico-químicos analisados. Ao contrário do que era esperado, houve maior incidência da lenticelose em frutos ‘Gala’ provenientes de São Joaquim (SC) ao final do período de armazenamento. Os resultados obtidos indicam que não houve relação entre o índice de tingimento de lenticelas e a ocorrência da lenticelose, fato já relatado por outros autores em outras condições de cultivo de macieiras. Desta forma, pode-se inferir que esta técnica apresenta-se inadequada para estudos que objetivam identificar a pré-disposição de frutos de maçã a ocorrência do distúrbio.

A altitude das regiões de cultivo não interferiu na espessura cuticular nem no padrão de deposição de ceras epicuticulares nos frutos de macieiras ‘Gala’ e ‘Galaxy’. Em ambas, nos frutos recém-colhidos, observou-se a deposição de ceras na forma de plaquetas e o mecanismo de “rompimento e reparo”, em que as plaquetas se posicionam paralelamente de forma a cobrir as microfissuras.

A altitude das regiões de cultivo não interfere na espessura cuticular nem no padrão de deposição de ceras epicuticulares nos frutos de macieiras ‘Gala’ e ‘Galaxy’. As cultivares são muito similares nesses aspectos embora a ‘Gala’ apresente padrão de deposição mais uniforme que a ‘Galaxy’. Nos frutos recém-colhidos das duas cultivares observa-se a deposição de ceras na

forma de plaquetas e o mecanismo de “rompimento e reparo”, em que as plaquetas se posicionam paralelamente de forma a cobrir as microfissuras.

Ao final do período de quatro meses de armazenamento, houve alteração no formato das ceras epicuticulares de plaquetas para aglomerados esféricos ou amorfos nos frutos das duas cultivares provenientes de todas as localidades. As alterações foram mais evidentes na condição de armazenamento em atmosfera controlada. Houve também o aumento na frequência de microfissuras na cutícula, encontrando-se mais extensas e em maior profundidade do que nos frutos recém-colhidos. Foi registrada a presença de grande quantidade de fungos nas proximidades dessas e das lenticelas, evidenciando estas áreas como potenciais portas para entrada de patógenos.

## REFERÊNCIAS

- ANTONIOLLI, L.R. Lenticelose em Maçãs. **Jornal Toda Fruta**, Jaboticabal, 25 out. 2006. Disponível em: <[http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra\\_conteudo.asp?conteudo=14028](http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=14028)>. Acesso em: 10 set. 2007.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2003, Santa Cruz do Sul. **Anais...** Santa Cruz do Sul: ANUÁRIO, 2003. 136p.
- ARGENTA, L.C. Fisiologia pós-colheita: Maturação, colheita e armazenagem dos frutos. In: **A cultura da macieira**. Florianópolis: Epagri, 2002. chap. 20, p. 691-732.
- BARTHLOTT, W.; NEINHUIS, C.; CUTLER, D.; DITSCH, F.; MEUSEL, I.; THEISEN, I.; WILHELMI, H. Classification and terminology of plant epicuticular waxes. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 126, n. 3, p. 237-260, Mar. 1998, p. 237-260.
- BELDING, RD., BLANKENSHIP, SM., YOUNG, E. AND LEIDY, RB. Composition and variability of epicuticular waxes in apple cultivars. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Palm Desert, v.123, p. 348-256, 1998.
- BIALE, J.B. Respiration of fruits. In: W. RUHLAND (Ed.). **Handbuch der Pflanzenphysiologie**, Berlin, v.12, p.536-592, 1960.
- BITENCOURT, G.V.A. Analysis of the quality and valorization of integrated apples production: an study in the wholesale market of São Paulo, Brazil. In: INTERNATIONAL PENSA CONFERENCE ON AGRI-FOOD CHAINS/NETWORKS ECONOMICS AND MANAGEMENT, 5., 2005. Ribeirão Preto **Proceedings...** Ribeirão Preto Brazil School of Business and Economics of Ribeirão Preto - University of São Paulo, jul.2005.
- BONETI, J.I.S.; PEREIRA, A. J.; BRIGHENTI, E. **Joaquina**: nova cultivar de macieira resistente à sarna e de maturação precoce. Epagri, SC, (Folder) 2001. Disponível em: <[http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra\\_conteudo.asp?conteudo=14595](http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=14595)>. Acesso em: 12 nov. 2009.
- BONETI, J.I.S.; CESA, J.D.; PETRI, J.L.; BLEICHER, J. Evolução da cultura da macieira In: **A cultura da macieira**. Florianópolis: Epagri, 2002. chap. 2, p. 37-57.
- BELDING, RD., BLANKENSHIP, SM., YOUNG, E. AND LEIDY, RB. Composition and variability of epicuticular waxes in apple cultivars. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Palm Desert, v.123, p. 348-256, 1998.

BOWEN, J.H. & WATKINS, C.B. Fruit maturity, carbohydrate and mineral content relationships with watercore in 'Fuji' apples. **Postharvest Biology and Technology**, Washington, v.11, p. 31-38, 1997.

BRACKMANN, A. & STEFFENS, C.A. Maçã resiste por bastante tempo, desde que seja armazenada da forma correta. **Cultivar HF**, UFSM, p.20 a 21, 2002.

BRACKMANN, A.; SAQUET, A. A. Armazenamento de maçã cv. Gala em atmosfera controlada. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.1, p.55-60, 1995.

BRAGA; H.J.; SILVA JUNIOR, V.P.; PANDOLFO, C. e PEREIRA, E.S. Zoneamento de riscos climáticos da cultura da maçã no estado de Santa Catarina. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Passo Fundo, v.9, n.3, p.439-445, 2001. Disponível em: <http://www.sbagro.org.br/rbagro/pdfs/artigo564.pdf>>. Acesso em: 12 nov. 2009.

CAMILO, A.P.; DENARDI, F. Cultivares: Descrição e comportamento no sul do Brasil In: **A cultura da macieira**. Florianópolis: EPAGRI, 2002. chap. 5, p. 113- 168.

CANTILLANO, F. F. Distúrbios Fisiológicos In: GIRARDI, C.L. **Frutas do Brasil**. Brasília: EMBRAPA, 2004. p. 45.

CASTRO, L.A.S.; SANHUEZA, R.M.V.; CANTILLANO, R.F.F; ROCHA, N.E.M. Metodologia para observação da camada de cera em maçãs, utilizando microscopia eletrônica de varredura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.3, p. 774-775, 2002.

CHITARRA, M.F.I.; CHITARRA, A.B. Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio. Lavras: ESAL/FAEPE, 1990. 320p.

CHITARRA, M.I.F. Fisiologia e qualidade de produtos vegetais. In: BOREN, F.M. (Ed.). Lavras: Ufla/SBEA, 1998. p.1-57.

CLEMENTS, H.F. Morphology and physiology of the pome lenticels of *Pyrus malus*. **Botanical Gazette**, New Jersey, v. 97, p.101-117, 1935.

CURRY, E. Lenticel and cuticle disorders: a survey. Washington tree fruit postharvest conference, 2001, 4p. Disponível em:< <http://postharvest.tfrec.wsu.edu/proc/PC2002U.pdf>>. Acesso em: 10 out. 2009.

\_\_\_\_\_. Factors Contributing to lenticels Breakdown. Washington tree fruit postharvest conference, 2002, 4p. Disponível em:< <http://postharvest.tfrec.wsu.edu/proc/PC2002U.pdf>>. Acesso em: 10 out. 2009.

\_\_\_\_\_. Factors associated with apple lenticel breakdown. Postharvest information network. Abril de 2003 p. 1-9. Disponível em: <http://postharvest.tfrec.wsu.edu/REP2003B.pdf> > Acesso em: out. 2009.

\_\_\_\_\_. Ultrastructure of epicuticular wax aggregates during fruit development in apple (*Malus domestica* Borkh.). **Journal of Horticultural Science & Biotechnology**, Warwick, v.80, n.6, p. 668-676, 2005.

\_\_\_\_\_. Effects of 1-MCP applied postharvest on epicuticular wax of apples (*Malus domestica* Borkh.) during storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Davis, v. 88, p. 996-1006, 2008.

CURRY, E. Growth-induced microcracking and repair mechanisms of fruit cuticles. Proceedings of the SEM Annual Conference, Albuquerque New Mexico USA, June 1-4, 2009.

CURRY, E.; KUPFERMAN, E. Predicting susceptibility of 'Gala' apples to lenticel breakdown disorder: guidelines for using the dye uptake test. Washington tree fruit postharvest conference, 2004. Disponível em: <<http://postharvest.tfrec.wsu.edu/aniline-blue.pdf>> Acesso em: 29 set. 2009.

EMBRAPA. Núcleo Tecnológico para Informática. Campinas: SOC - Software Científico, 1990.

EPAGRI/CEPA. Centro de Socioeconomia e planejamento agrícola. 31 jul. 2009.

ESAU, K. Anatomia de plantas com sementes. Tradução: Berta Lange de Morretes, SP, 1974.

FAO-Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <<http://www.fao.org>> Acesso em: jun 2009.

GIRADI, C.L.; NACHTIGAL, J.C.; PARUSSOLO, A. **Fatores pré-colheita interferem na qualidade da fruta**. Revista Maçã: pós-colheita EMBRAPA Uva e Vinho, 2004. 107p.

HORRIDGE, G.A.; TAMM, S.L. Critical point drying for scanning electron microscopy study of ciliarmotion. **Science**, New York, v. 3869, n. 13, p. 871-818, 1969.

IBGE. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola – LSPA** -, Disponível em: <<http://www.ibge.org>> Acesso em: 30 jun. 2009.

JENSEN, W.A. Botanical histochemistry, principles and practice. San Francisco:W.H. Freeman, 1962. 408p.

- JOHANSEN, D.A. **Plant Microtechnique**. New York:McGraw-Hill Book,1940. 523p
- KARNOVSKY, M.J. A formaldehyde – glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, v.27, p. 137-B8, 1965.
- KUPFERMAN, G. Plain talk about apple lenticel breakdown. **Good Fruit Grower Magazine**, v.58, n. 16, Nov. 2007. Disponível em: <<http://postharvest.tfrec.wsu.edu/EMK2007C.pdf>> Acesso em: set. 2009
- LARA, C.R.A. **Desarrollo de lenticelosis e manzanas cv. Royal Gala**. Talca: Facultad de Ciencias Agrárias, 2004. p. 35.
- LIMA, H.C. **Modificações de carboidratos estruturais e enzimas pécticas em jaboticabas**. 2002. 178p. Tese de (Doutorado PPGA) – Universidade Federal de Lavras – Lavras – MG – 2002.
- LITTLE, C.R. **A manual of procedures of assessing apple maturity for storage schedules**. Victoria: Horticulture Research Institute, Knoxfield, 1992. 80 p
- LUCHI, V.L. Botânica e fisiologia In: \_\_\_\_\_ **A cultura da macieira**. EPAGRI, Florianópolis, SC, 2002. 59-104 p.
- MARKAKIS, P. Stability of Anthocyanins in foods. In: MARKAKIS P (Ed) **Anthocyanins in color foods**. New York :Academic Press, 1982. p. 163-180.
- MEHERIUK, M. Controlled atmosphere storage of apples: a survey. **Postharvest News and Informations**, London, v.1, n.2, p.119-121, 1990.
- MIGUIRE, K. M.; LANG, A.; BANKS, N. H.; HALL, A.; HOPCROFT, D.; BENNETT, R. Relationship between water vapor permeance of apples and micro-cracking of the cuticle. **Postharvest Biology and Technology**, London, v.17, p. 89-96, 1999.
- MOGGIA, C.; YURI, J.; LOZANO, P. Problemas lenticelares em manzanas. **Revista Frutícola**, Jaboticabal, v. 18, n. 2, p.67-72, 1997.
- MORALES, A. Manchas lenticelares en manzanas Gala y Royal Gala. **Aconex**, n. 47, p. 15-17, 1995.
- NEINHUIS, C.; KOCH, K.; BARTHLOTT, W. 2001. Movement and regeneration of epicuticular waxes through plant cuticles. **Planta**, Berlin, v.213, n.3, p. 427-434.

PAIVA, E.P.; LIMA, M.S.; PAIXÃO, J.A. Pectina: propriedades químicas e importância sobre a estrutura da parede celular de frutos durante o processo de maturação. *Revista Iberoamericana Polimeros, Mexico*, v. 10, n.4, p 196-211, 2009.

ROTH, I. **Fruits of angiosperms**. Berlin: Stuttgart. Ed. Gebrüder Borntraeger, 1977. 234p.

SAKAI, W.S. Simple method for differential staining of paraffin embedded plant material using toluidine blue. **Stain Technology**, Baltimore, v.48, n.5, p.247-249, 1973.

SANHUEZA, R.M.V. Podridões de maçãs frigorificadas In: GIRARDI, C.L. (Org). **Frutas do Brasil**, Maçã pós-colheita. Brasília, EMBRAPA, 2004. p.35-44 (Informação tecnológica)

SAQUET, A. A. **Efeito das temperaturas e concentrações de CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> sobre a qualidade de maçãs da cultivar Gala durante o armazenamento em atmosfera controlada**. 1997. 105p  
Dissertação (Mestrado em Agronomia- Produção Vegetal)- Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 1997.

SOUZA, L.A. **Anatomia do fruto e da semente**. Ponta Grossa: Editora Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2006. 278p.

STRASBURGER, E. *Handbook of practical botany*. 7.th ed. London: George Allen, 1913. 527p.

TETLEY, U. The secretory system of the roots of the Compositae. **The New Phytologist**, London v.24, p. 138-161, 1925.

VERAVERBEKE, E.A., LAMMERTYN, J., SAEVELS, S. AND NICOLAÏ, BM. Changes in chemical wax composition of three different apple (*Malus domestica* Borkh.) cultivars during storage. *Postharvest Biology and Technology*, London v.23, p. 197-208, 2001.

VON WETTSTEIN-KNOWLES, P. In: \_\_\_\_\_ **Waxes: chemistry, molecular biology and functions**. HAMILTON, RJ.( Ed.). Dundee: Oily Press, 1995. p. 91-129.

WALTON, TJ. In: *Methods in plant biochemistry: lipids, membranes and aspects of photobiology*. HARWOOD, JL.;BOWYER, JR., (Ed.). London: Academic Press, 1990. p.105-158.

WERNER, R.A. **Maçã: maturação e colheita**. Florianópolis: EMATER/ACARESC, 1980. 78p.

XING-JUN LI; JI-HUA HOU; GUANG-LUN ZHANG; RONG-SHAN LIU; YING-GEN YANG; YU-XI HU; JIN-XING LIN; Comparison of anthocyanin accumulation and morpho-anatomical features in apple skin during color formation at two habitats. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 99, p. 41–53, 2004.

YURI, A. Aspectos fundamentales de la bioquímica y fisiología del calcio. Calcio en fruticultura. In: SIMPOSIUM INTERNACIONAL UNIVERSIDAD DE TALCA. 1995. Talca. **Proceedings...** Talca, 1995. p. 25-45.

ZONTA, O. Maçã: cooperativismo que dá frutos. *Jornal Toda Fruta*, 2007. Disponível em: <[http://www.ufpel.tche.br/sbfruti/anais\\_xvii\\_cbf/genetica\\_melhoramento/861](http://www.ufpel.tche.br/sbfruti/anais_xvii_cbf/genetica_melhoramento/861)>. Acesso em: 13 nov. 2007.

## **ANEXOS**

Tabela 1- Resumo da análise de variância para firmeza (F), valor do pH (PH), sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), valor ratio (RA), tingimento (TI) e lenticelose (LE) para as variedades Gala e Galaxy (V) em função do condição de armazenamento (A), local de cultivo (L) e tempo de armazenamento (T)

Causas da Variação	GL	Quadrados Médios						
		F (N)	pH <sup>(1)</sup>	SS <sup>(1)</sup> (°brix)	AT <sup>(1)</sup> (%)	RA <sup>(1)</sup> (°brix /‰ <sup>-1</sup> )	TI <sup>(2)</sup> (Cm <sup>2</sup> /fruto <sup>-1</sup> )	LE <sup>(2)</sup> (fruto <sup>-1</sup> )
Local (L)	2	4.448,7**	0,00543**	0,0616**	0,0035**	1,313**	0,1024 <sup>ns</sup>	0,0774*
Variedade (V)	1	1.954,0**	0,00055**	0,0297**	0,0242**	2,687**	0,1800*	0,0545 <sup>ns</sup>
Armazenamento (A)	1	148,4**	0,00601**	0,0036 <sup>ns</sup>	0,0082**	1,776**	0,3574**	0,0707 <sup>ns</sup>
L * V	2	91,8**	0,00046**	0,0095**	0,0093**	1,154**	0,0049 <sup>ns</sup>	0,0169 <sup>ns</sup>
L * A	2	193,4**	0,00047**	0,0006 <sup>ns</sup>	0,0001 <sup>ns</sup>	0,025 <sup>ns</sup>	0,0098 <sup>ns</sup>	0,0304 <sup>ns</sup>
V * A	1	2,7 <sup>ns</sup>	0,000003 <sup>ns</sup>	0,0017 <sup>ns</sup>	0,00001 <sup>ns</sup>	0,035 <sup>ns</sup>	0,1103 <sup>ns</sup>	0,0190 <sup>ns</sup>
L * V * A	2	5,2 <sup>ns</sup>	0,000002 <sup>ns</sup>	0,0002 <sup>ns</sup>	0,00001 <sup>ns</sup>	0,074*	0,0827 <sup>ns</sup>	0,0022 <sup>ns</sup>
Subparcela (A*L*V)	24	15,0 <sup>ns</sup>	0,000065 <sup>ns</sup>	0,0011 <sup>ns</sup>	0,00011 <sup>ns</sup>	0,014 <sup>ns</sup>	0,0331**	0,0173 <sup>ns</sup>
Tempo (T)	7	978,4**	0,00418**	0,0007 <sup>ns</sup>	0,0073**	0,856**	0,8735**	0,2063**
L * T	14	54,4**	0,00013**	0,0036**	0,0022**	0,187**	0,0672**	0,1077**
V * T	7	23,6**	0,00049**	0,0030*	0,0004**	0,103**	0,0846**	0,0735**
A * T	5	82,4**	0,00118**	0,0003 <sup>ns</sup>	0,0015**	0,412**	0,0352**	0,0030 <sup>ns</sup>
L * V * A * T	38	29,4**	0,00018**	0,0014 <sup>ns</sup>	0,0005**	0,096**	0,0274**	0,0072 <sup>ns</sup>
Resíduo	142	13,0	0,00005	0,0013	0,00008	0,012	0,0104	0,0198
Média	–	62,73	3,77	13,34	0,35	41,40	0,19	0,06
CV <sub>exp.</sub> (%)	–	5,75	1,21	3,12	5,05	5,46	12,78	19,25

<sup>ns</sup> valor não significativo ao nível de 5% de probabilidade de erro, pelo teste F.

\* \*\* valor significativo ao nível de 5% e 1% de probabilidade de erro, respectivamente pelo teste F.

<sup>(1)</sup> e <sup>(2)</sup> dados transformados por  $(n/10)^{0,5}$  e  $(n+0,5)^{0,5}$  respectivamente pelo teste de Bartlett ao nível de 5% de probabilidade de erro.  $n$  = dado amostrado.

CV<sub>exp.</sub> = coeficiente de variação experimental, GL = graus de liberdade

Tabela 2 - Resumo da análise de variância para cor de cobertura referente a CorL, Cora, Corb, Corc e Corh para as variedades Gala e Galaxy (V) em função do condição de armazenamento (A), local de cultivo (L) e tempo de armazenamento (T)

Causas da Variação	GL	Quadrados Médios				
		Cor L <sup>*(1)</sup>	Cor a <sup>*(1)</sup>	Cor b <sup>*(1)</sup>	Cor C <sup>*(1)</sup>	Cor h <sup>*(1)</sup>
Local (L)	2	0,0773 <sup>**</sup>	0,0203 <sup>*</sup>	0,1825 <sup>**</sup>	0,0703 <sup>**</sup>	0,1379 <sup>**</sup>
Variedade (V)	1	2,4322 <sup>**</sup>	0,0427 <sup>**</sup>	2,3003 <sup>**</sup>	0,1733 <sup>**</sup>	2,9200 <sup>**</sup>
Armazenamento (A)	1	0,0004 <sup>ns</sup>	0,0011 <sup>ns</sup>	0,0001 <sup>ns</sup>	0,0012 <sup>ns</sup>	0,0001 <sup>ns</sup>
L * V	2	0,0438 <sup>**</sup>	0,0682 <sup>**</sup>	0,0003 <sup>ns</sup>	0,0325 <sup>**</sup>	0,0277 <sup>*</sup>
L * A	2	0,0038 <sup>ns</sup>	0,0293 <sup>**</sup>	0,0018 <sup>ns</sup>	0,0080 <sup>**</sup>	0,0225 <sup>ns</sup>
V * A	1	0,0013 <sup>ns</sup>	0,0076 <sup>ns</sup>	0,0001 <sup>ns</sup>	0,0040 <sup>ns</sup>	0,0080 <sup>ns</sup>
L * V * A	2	0,0001 <sup>ns</sup>	0,0048 <sup>ns</sup>	0,0042 <sup>ns</sup>	0,0002 <sup>ns</sup>	0,0072 <sup>ns</sup>
Subparcela (A*L*V)	24	0,0022 <sup>ns</sup>	0,0047 <sup>ns</sup>	0,0034 <sup>ns</sup>	0,0011 <sup>ns</sup>	0,0067 <sup>ns</sup>
Tempo (T)	4	0,0111 <sup>*</sup>	0,0356 <sup>**</sup>	0,0267 <sup>**</sup>	0,0250 <sup>**</sup>	0,0370 <sup>**</sup>
L * T	8	0,0042 <sup>ns</sup>	0,0221 <sup>**</sup>	0,0111 <sup>*</sup>	0,0052 <sup>**</sup>	0,0173 <sup>ns</sup>
V * T	4	0,0432 <sup>**</sup>	0,0148 <sup>ns</sup>	0,0190 <sup>**</sup>	0,0028 <sup>ns</sup>	0,0450 <sup>**</sup>
A * T	4	0,0015 <sup>ns</sup>	0,0012 <sup>ns</sup>	0,0101 <sup>ns</sup>	0,0090 <sup>**</sup>	0,0066 <sup>ns</sup>
L * V * A * T	28	0,0068 <sup>*</sup>	0,0109 <sup>ns</sup>	0,0099 <sup>**</sup>	0,0049 <sup>**</sup>	0,0203 <sup>**</sup>
Resíduo	96	0,0037	0,0069	0,0044	0,0013	0,0089
Média	—	40,02	35,83	20,47	41,76	29,66
CV <sub>exp.</sub> (%)	—	3,04	4,40	4,66	1,83	5,51

<sup>ns</sup> valor não significativo ao nível de 5% de probabilidade de erro, pelo teste F.

<sup>\*</sup> e <sup>\*\*</sup> valor significativo ao nível de 5% e 1% de probabilidade de erro, respectivamente pelo teste F.

<sup>(1)</sup> dados transformados por  $(n/10)^{0,5}$  pelo teste de Bartlett ao nível de 5% de probabilidade de erro.  $n$  = dado amostrado.

CV<sub>exp.</sub> = coeficiente de variação experimental, GL = graus de liberdade.

