

**TRANSFORMAÇÕES QUÍMICAS, FÍSICAS E
BIOQUÍMICAS DE TOMATES SUBMETIDOS
À APLICAÇÃO DE ÁCIDOS HÚMICOS E
CULTIVADOS EM DIFERENTES
SUBSTRATOS ORGÂNICOS**

CAROLINE ROBERTA FREITAS PIRES

2009

CAROLINE ROBERTA FREITAS PIRES

**TRANSFORMAÇÕES QUÍMICAS, FÍSICAS E BIOQUÍMICAS DE
TOMATES SUBMETIDOS À APLICAÇÃO DE ÁCIDOS
HÚMICOS E CULTIVADOS EM DIFERENTES SUBSTRATOS
ORGÂNICOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador:

Prof. Dr. Luiz Carlos de Oliveira Lima

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2009**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Pires, Caroline Roberta Freitas.

Transformações químicas, físicas e bioquímicas de tomates submetidos à aplicação de ácidos húmicos e cultivados em diferentes substratos orgânicos / Caroline Roberta Freitas Pires. – Lavras : UFLA, 2009.

84 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.

Orientador: Luiz Carlos de Oliveira Lima.

Bibliografia.

1. Parede celular. 2. Ácidos orgânicos. 3. Substratos orgânicos. 4. *Lycopersicon esculentum*. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 635.64289

CAROLINE ROBERTA FREITAS PIRES

**TRANSFORMAÇÕES QUÍMICAS, FÍSICAS E BIOQUÍMICAS
DE TOMATES SUBMETIDOS À APLICAÇÃO DE ÁCIDOS
HÚMICOS E CULTIVADOS EM DIFERENTES SUBSTRATOS
ORGÂNICOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 16 de março de 2009

Profª. Dra. Ana Carla Marques Pinheiro – UFMT

Prof. Dr. Eduardo Valério de Barros Vilas Boas – UFLA

Prof. Dr. Luiz Carlos de Oliveira Lima
UFLA
(Orientador)

**LAVRAS
MINAS GERAIS-BRASIL
2009**

OFEREÇO

*Aos meus pais, Conceição e Olavo
Que, em meio a tantas dificuldades, tiveram amor, coragem,
persistência e sabedoria, permitindo, sempre, que eu seguisse em frente.*

Com toda estima e gratidão, por tudo que fizeste por mim, pelo exemplo de ser humano e profissional que foste, agradeço-te,

Prof Adimilson Bosco Chitarra (in memoriam)

AGRADECIMENTOS

A **DEUS**, pela proteção constante durante todos os dias de minha vida.

Aos meus pais, por permitirem que este sonho fosse concretizado.

Ao José Ricardo, pela paciência e pelo apoio que me deu durante esta fase tão importante de minha vida.

Ao professor Luiz Carlos de Oliveira Lima, pela preciosa orientação concedida, incentivo e pela atenção.

Ao professor Eduardo Valério de Barros Vilas Boas, pelo exemplo de profissionalismo e pelos ensinamentos transmitidos.

Ao professor Mário Guerreiro, pelo auxílio nas análises cromatográficas.

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade de cursar o mestrado.

À Capes, pelo apoio financeiro.

Aos amigos do Laboratório de Pós-Colheita: Ritinha, Manu, Suzana, Dani, Helô, Milton, Luizinho, Nélio, Jú, Edson e Marisa pelo apoio e amizade.

Aos amigos do Laboratório de Produtos Vegetais, pela intensa ajuda e pela acolhida.

Às amigas de República: Rosi, Rosália, Nara, Débora, Tati, Paula e Ana Clara, por estarem sempre me apoiando.

A minha tia Kelly e minha priminha Estéfany, que sempre me incentivaram e torceram por mim.

Ao amigo Antônio Anicete, pelo oferecimento dos frutos e pela intensa ajuda.

À amiga Ana Paula, pela ajuda durante a execução das análises cromatográficas e aos amigos Clarissa e Marcus, pela ajuda nas análises do experimento.

E a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para execução do trabalho.

SUMÁRIO

| | Páginas |
|---|----------------|
| LISTA DE FIGURAS..... | i |
| LISTA DE TABELAS..... | iii |
| RESUMO..... | iv |
| ABSTRACT..... | v |
| 1 INTRODUÇÃO..... | 01 |
| 2 REFERENCIAL TEÓRICO..... | 03 |
| 2.1 Fatores de pré-colheita que influenciam na qualidade pós-colheita..... | 03 |
| 2.1.1 Ácidos Húmicos..... | 04 |
| 2.1.2 Substratos Orgânicos..... | 08 |
| 2.2 Aspectos gerais do tomate..... | 10 |
| 2.2.1 Características do Fruto..... | 11 |
| 2.3 Alterações físicas, físico-químicas e bioquímicas no amadurecimento.... | 12 |
| 2.3.1 Coloração..... | 12 |
| 2.3.2 Acidez Titulável e pH..... | 14 |
| 2.3.3 Sólidos Solúveis e Relação SST/ATT..... | 15 |
| 2.3.4 Textura..... | 16 |
| 2.4 Estrutura química da Parede Celular..... | 17 |
| 2.4.1 Celulose..... | 21 |
| 2.4.2 Hemicelulose..... | 22 |
| 2.4.3 Substâncias pécicas..... | 23 |
| 2.5 Enzimas pectinolíticas..... | 27 |
| 2.5.1 Pectinametilesterase..... | 29 |
| 2.5.2 Poligalacturonases..... | 30 |
| 3 MATERIAL E MÉTODOS..... | 33 |
| 3.1 Produção dos frutos..... | 33 |
| 3.2 Análises físicas, físico-químicas, químicas e bioquímicas..... | 35 |
| 3.2.1 Sólidos Solúveis..... | 35 |
| 3.2.2 Acidez Titulável (AT)..... | 35 |
| 3.2.3 Relação sólidos solúveis/Acidez total titulável..... | 36 |
| 3.2.4 pH..... | 36 |
| 3.2.5 Firmeza..... | 36 |
| 3.2.6 Coloração..... | 36 |
| 3.2.7 Açúcares Totais..... | 36 |
| 3.2.8 Pectina Total e Solúvel..... | 37 |
| 3.2.9 % de Solubilização..... | 37 |
| 3.2.10 Pigmento Carotenóides..... | 37 |
| 3.2.11 Pectinametilesterase..... | 37 |

| | |
|--|----|
| 3.2.12 Poligalacturonase..... | 38 |
| 3.3 Determinação dos constituintes da parede celular..... | 38 |
| 3.3.1 Extração da parede celular..... | 38 |
| 3.3.2 Poliuronídeos..... | 39 |
| 3.3.3 Celulose..... | 39 |
| 3.3.4 Hemicelulose..... | 39 |
| 3.3.5 Cálcio ligado à parede..... | 40 |
| 3.3.6 Derivatização de Açúcares Neutros da Parede Celular..... | 40 |
| 3.3.7 Cromatografia gasosa associada a espectrometria de massas..... | 40 |
| 3.4 Delineamento Experimental e Análise Estatística..... | 41 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 42 |
| 4.1 Produção dos frutos..... | 42 |
| 4.2 Sólidos Solúveis..... | 44 |
| 4.3 Acidez Titulável..... | 45 |
| 4.4 pH..... | 45 |
| 4.5 Relação Sólidos Solúveis /Acidez Titulável..... | 47 |
| 4.6 Açúcares Solúveis Totais..... | 48 |
| 4.7 Coloração..... | 50 |
| 4.8 Firmeza..... | 52 |
| 4.9 Porcentagem de Solubilização | 54 |
| 4.10 Atividade enzimática..... | 56 |
| 4.10.1 Pectinametilsterase..... | 56 |
| 4.10.2 Poligalacturonase..... | 58 |
| 4.11 Hemicelulose..... | 61 |
| 4.12 Celulose..... | 62 |
| 4.13 Poliuronídeos..... | 64 |
| 4.14 Açúcares Neutros de Parede Celular..... | 65 |
| 4.15 Cálcio ligado..... | 67 |
| 5 CONCLUSÃO..... | 70 |
| 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 71 |
| REFERÊNCIAS..... | 72 |

LISTA DE FIGURAS

| | | Páginas |
|-----------|---|----------------|
| FIGURA 1 | Modelos estruturais da parede celular primária. Fonte: Cosgrove, 2000..... | 20 |
| FIGURA 2 | Estrutura da celulose..... | 21 |
| FIGURA 3 | Estrutura principal da pectina. Fonte: Willats et al. (2006).... | 26 |
| FIGURA 4 | Hidrólise da ligação metil-éster do ácido poligalacturônico da pectina, devido à ação da Pectinametilsterase. Fonte: Jayani et al. (2005)..... | 29 |
| FIGURA 5 | Hidrólise da ligação glicosídica da pectina devido à ação da PG. Fonte: Jayani et al. (2005)..... | 30 |
| FIGURA 6 | Representação gráfica da curva e da equação de regressão dos valores médios de pH de tomates em função das doses de ácidos húmicos..... | 46 |
| FIGURA 7 | Representação gráfica da curva e da equação de regressão dos valores médios de Açúcares Solúveis Totais (%), em função das doses de ácidos húmicos e dos diferentes substratos orgânicos..... | 49 |
| FIGURA 8 | Representação gráfica da curva e da equação de regressão dos valores médios de Licopeno, em função das doses de ácidos húmicos e dos diferentes substratos orgânicos..... | 51 |
| FIGURA 9 | Representação gráfica da curva e da equação de regressão dos valores médios de Firmeza (N), em função das doses de ácidos húmicos e dos diferentes substratos orgânicos..... | 53 |
| FIGURA 10 | Representação gráfica da curva e da equação de regressão dos valores médios de Solubilização (%), em função das doses de ácidos húmicos e dos diferentes substratos orgânicos..... | 55 |

| | | |
|-----------|---|----|
| FIGURA 11 | Representação gráfica da curva e da equação de regressão dos valores médios de PME (unidades), em função das doses de ácidos húmicos e dos diferentes substratos orgânicos..... | 56 |
| FIGURA 12 | Representação gráfica da curva e da equação de regressão dos valores médios de PG (unidades), em função das doses de ácidos húmicos e dos diferentes substratos orgânicos..... | 59 |
| FIGURA 13 | Representação gráfica da curva e da equação de regressão dos valores médios de hemicelulose de tomates em função das doses de ácidos húmicos..... | 61 |
| FIGURA 14 | Representação gráfica da curva e da equação de regressão dos valores médios de Celulose de tomates em função das doses de ácidos húmicos..... | 63 |
| FIGURA 15 | Representação gráfica da curva e da equação de regressão dos valores médios de Poliuronídeos (%) de tomates em função das doses de ácidos húmicos..... | 64 |
| FIGURA 16 | Representação gráfica da curva e da equação de regressão dos valores médios de Cálcio ligado (%), em função das doses de ácidos húmicos e do substrato de cultivo..... | 68 |

LISTA DE TABELAS

| | Páginas |
|----------|--|
| TABELA 1 | Situação do tomate no Brasil e Regiões, 2007..... 10 |
| TABELA 2 | Características dos substratos orgânicos..... 33 |
| TABELA 3 | Produção média de frutos de tomate, pequenos (FP), médios (FM), grandes (FG), não-comerciais (FNC), comercial (FC)..... 42 |
| TABELA 4 | Valores médios de açúcares neutros da fração da parede celular de tomates submetidos à aplicação de ácidos húmicos e cultivados em diferentes substratos orgânicos..... 66 |

RESUMO

PIRES, Caroline Roberta Freitas. **Transformações químicas, físicas e bioquímicas de tomates submetidos à aplicação de ácidos húmicos e cultivados em diferentes substratos orgânicos**, 2009. 84p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

Com o objetivo de avaliar os efeitos dos ácidos húmicos e dos diferentes substratos orgânicos na qualidade pós-colheita dos frutos do tomateiro híbrido Vênus, o trabalho foi desenvolvido, durante o ciclo de produção 2007-2008, na Universidade Federal de Lavras, em Lavras, MG. Utilizaram-se, neste experimento, quatro tipos de substratos: o primeiro (S1) era constituído apenas por fibra de coco, o segundo (S2) por fibra de coco mais casca de café carbonizada 1/3 (v/v), o terceiro (S3) por fibra de coco mais casca de café carbonizada 2/3 (v/v) e o quarto (S4), apenas casca de café carbonizada. As doses de ácidos húmicos foram de 0, 20, 40 e 80L.ha⁻¹, as quais foram aplicadas quinzenalmente a partir do oitavo dia após o transplante, direto no substrato. O delineamento foi em blocos casualizados 4x4, sendo o primeiro referente aos tipos de substrato e o segundo, às doses de ácidos húmicos com quatro repetições. Avaliaram-se a produção de frutos pequenos, médios, grandes, produção comercial e total e as características físicas, físico-químicas, químicas e bioquímicas dos frutos. As doses de ácidos húmicos não influenciaram na produção de frutos pequenos, médios e grandes, produção comercial, produção total, teores de sólidos solúveis totais, acidez titulável, relação sólidos solúveis/acidez titulável, valores L*, a* e teores de betacaroteno. A fibra de coco apresenta resultados significativamente superiores aos dos demais substratos, com relação à produção de frutos grandes, produção total, comercial e teores médios de licopeno. Doses de ácidos húmicos de 80 L.ha⁻¹ promoveram redução na atividade das hidrolases de parede celular e aumento na concentração de poliuronídeos. Frutos cultivados na fibra de coco apresentaram aumento na firmeza e redução da porcentagem de solubilização com a aplicação de doses crescentes de ácidos húmicos.

*Orientador: Luiz Carlos de Oliveira Lima - UFLA

ABSTRACT

PIRES, Caroline Roberta Freitas. **Chemical, physical and biochemical transformation in tomatoes submitted to the application of humic acids and growth in different organic substrates.** 2009. 84p. Dissertation (Master in Food Science) - Federal University of Lavras, Lavras, MG.

In order to evaluate the effects of humic acid and of different organic substrates on postharvest quality of fruits of tomato hybrid "Vênus" the work was done during the production cycle 2007-2008 in Lavras-Minas Gerais, the Universidade Federal de Lavras. Was use in this experiment, four types of substrates where the first (S1) was made only for coconut fiber, the second (S2) for fiber and coco husk carbonized coffee 1/3 (v/v), the third (S3) for fiber coco and husk carbonized coffee 2/3 (v/v) and fourth (S4) only carbonized bark of coffee. The doses of humic acid were 0, 20, 40 and 80L.ha⁻¹, which were applied fortnightly from the eighth day after transplanting, direct the substrate. The design was casualty 4x4 blocks where the first refers to the types of substrate and the second doses of humic acids with four replications. We evaluated the production of fruits small, medium, large, and full commercial production and the physical, physicochemical, chemical and biochemical fruit quality. The doses of humic acids did not affect production in small, medium and large fruit, commercial production, total production levels of soluble solids, acidity, ratio soluble solids / acidity, values L *, a *, and levels of beta carotene. The coconut fiber presents results significantly higher than other substrates, with respect to the production of large fruits, total production, comercial and average levels of lycopene. Doses of humic acids of 80 L.ha⁻¹ promoted a reduction in activity of cell wall hydrolases and an increase in the concentration of poliuronídeos. Fruit growth in coconut fiber showed an increase in their firmness and a reduction in the percentage of solubilization in the application of increasing doses of humic acids.

* Adviser: Luiz Carlos de Oliveira Lima

1 INTRODUÇÃO

O tomate ocupa lugar proeminente entre as hortaliças cultivadas, no que se refere ao consumo *in natura* e industrializado, sendo, por isso, considerado de produção e utilização universal.

A comercialização do tomate é constituída por diferentes atividades, que envolvem desde os cuidados que o produto requer ainda na planta, fase pré-colheita, até a sua apresentação ao consumidor. A etapa pré-colheita é muito importante, pois todo o processo de conservação, após a colheita, dependerá da qualidade que o produto adquiriu durante a fase de crescimento e desenvolvimento ainda no campo.

As mudanças tecnológicas que têm sido introduzidas nos últimos anos têm a finalidade de aumentar a qualidade pós-colheita dos frutos e hortaliças, sendo importante utilizar meios para o cultivo e o fornecimento das condições exigidas pelas culturas.

A adubação realizada de forma racional é um dos fatores no conjunto de medidas necessárias à elevação da produtividade das lavouras. Ao longo dos anos, o uso de adubos orgânicos tem mostrado a sua eficiência no desenvolvimento das culturas e na melhoria da qualidade dos produtos agrícolas. (Rocha et al., 2001).

A solução do solo contém quantidades variáveis de matéria orgânica dissolvida, sendo composta, na sua maioria, por moléculas complexas de elevado peso molecular, conhecidas por substâncias húmicas. Essas substâncias são materiais de ocorrência natural que podem ser extraídos de solos, de sedimentos e de aquíferos naturais.

As substâncias húmicas participam de processos agrônômicos e ambientais. Servem de reservatório para micronutrientes no solo,

disponibilizando-os mais tarde para as raízes das plantas; contribuem para a estruturação e a capacidade tampão do solo, atuando na manutenção do seu regime hídrico (Vasconcelos et al., 2006)

Os efeitos das substâncias húmicas sobre o metabolismo das plantas foram resumidos por Nannipieri et al. (1993) como resultado (i) da influência positiva sobre o transporte de íons facilitando a absorção; (ii) do aumento da respiração e da velocidade das reações enzimáticas do ciclo de Krebs, resultando em maior produção de ATP; (iii) do aumento no teor de clorofila; (iv) do aumento na velocidade e síntese de ácidos nucleicos; (v) do efeito seletivo sobre a síntese proteica e (vi) do aumento ou inibição da atividade de diversas enzimas.

Ao longo dos anos, a produção e o uso de muitos produtos comerciais contendo substâncias húmicas têm aumentado, sendo imprescindível uma investigação científica para comprovar os efeitos na melhoria do desenvolvimento geral do vegetal.

Entre os principais fatores que contribuem para a redução da vida útil de tomates estão as modificações texturais que acompanham o amadurecimento do fruto. À medida que o fruto amadurece, ocorrem redução de sua firmeza e aumento da suscetibilidade a deteriorações, com conseqüente perda do valor mercadológico. Essas mudanças na sua textura estão intimamente associadas com as modificações nos compostos químicos da parede celular. Busca-se portanto, alternativas que visem uma redução na atividade enzimática da parede celular e frutos com maior textura.

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos de doses crescentes de ácidos orgânicos (ácidos fúlvicos e húmicos), extraídos a partir de minérios de lignitos conhecidos como leornadita e dos diferentes substratos orgânicos na qualidade pós-colheita de frutos do tomateiro cultivar Vênus.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Fatores pré-colheita que influenciam a qualidade pós-colheita

As características de produção devem ser correlacionadas com a fase de pós-colheita, considerando-se o tipo de mercado e o destino do produto. As exigências do mercado interno, quanto aos atributos de qualidade, diferem das do mercado de exportação, do mesmo modo que diferem as características dos produtos para o consumo imediato, armazenamento a curto, médio e longo prazo ou para o processamento (Fontes & Silva, 2002).

Uma das dificuldades na conservação do tomate é a alta perecibilidade natural do fruto maduro, exigindo sua rápida comercialização após a colheita. Nos últimos anos, têm-se realizado esforços para melhorar a qualidade dos frutos comercializados e, assim, atender às exigências dos consumidores. Entretanto, a qualidade pós-colheita dos frutos também depende de fatores pré-colheita.

Esses fatores podem ser intrínsecos do produto, como a seleção de sementes, cultivares mais adaptadas às condições edafoclimáticas da região de plantio e que apresentem maior grau de resistência às desordens fisiológicas e infecções por patógenos (Chitarra & Chitarra, 2005), ou podem ser extrínsecos, como fatores climáticos (radiação, temperatura, umidade relativa do ar, etc.), fisiológicos (área foliar, captação de água e nutrientes, biossíntese orgânica, etc.), de manuseio (poda, raleio, fertilização, irrigação, pulverização, controle hormonal, controle de pragas e doenças e controle de estresses) e fatores de amadurecimento (fisiológicos, índices de qualidade, manuseio e controle da maturação) (Sansavini, 1996).

Muitas perdas de produtos hortícolas podem ser consideravelmente reduzidas pela correta aplicação de práticas recomendadas para a produção, a colheita e o manuseio.

2.1.1 Ácidos húmicos

Durante muitos anos, a produção quantitativa do tomateiro foi o principal critério na avaliação do efeito das práticas culturais sobre esta cultura, sendo a qualidade dos frutos pouco considerada. Entretanto, com os avanços das pesquisas, aumentando o potencial de produção do tomateiro e avaliando também os fatores relacionados à qualidade, mais ênfase tem sido dada ao efeito das práticas culturais sobre os aspectos qualitativos do tomate. A maior parte dos fatores que determinam a qualidade dos produtos vegetais é controlada geneticamente. Dessa forma, a qualidade dos frutos do tomateiro difere entre as cultivares (Warner et al., 2004), sendo também influenciada por outros fatores, como a fertilidade do solo e as condições climáticas.

Os ácidos húmicos são compostos orgânicos derivados da matéria orgânica, solúvel em meio básico e insolúvel em meio ácido, precipitando como uma substância amorfa de coloração escura (Canellas et al. 2002).

As substâncias húmicas (SH) participam de importantes reações que ocorrem nos solos, influenciando a fertilidade pela liberação de nutrientes, pela detoxificação de elementos químicos e pela melhoria das condições físicas e biológicas (Santos & Camargo, 1999).

Os grupos funcionais predominantes nas substâncias húmicas são os oxigenados, principalmente carboxílicos (COOH), hidroxilas (OH), carbonilas (C=O), metoxilas (OCH₃) e, ocasionalmente, ésteres (COOR) e éteres (COC) (Hayes et al., 1989).

Esses grupos funcionais são capazes de complexar-se com cátions, evitando precipitações indesejáveis da maioria dos micronutrientes, inclusive do

fósforo e atuam como estimulantes do crescimento vegetal, pela liberação de moléculas bioativas com ação semelhante à da auxina e ação direta em atividades enzimáticas em diversas rotas metabólicas (Vaughan & Malcolm, 1985).

Estudos espectroscópicos e físico-químicos têm demonstrado a existência de quatro características estruturais principais das substâncias húmicas que influenciam sua reatividade química: (1) polifuncionalidade, indicando a existência de uma variedade de grupos funcionais e uma faixa larga de reatividade dos grupos funcionais, representando uma mistura heterogênea de polímeros interativos; (2) carga macromolecular, o desenvolvimento de um caráter aniônico numa rede macromolecular, com efeitos na reatividade dos grupos funcionais e conformação molecular; (3) hidrofilicidade, a tendência de formar ligações de hidrogênio fortes com moléculas de água solvatando grupos funcionais polares, como COOH e OH e (4) flexibilidade estrutural, indicando a capacidade de associação intermolecular e de mudança de configuração molecular em resposta a mudanças nos valores de pH, condições redox, concentração de eletrólitos e ligação de grupos funcionais (Sposito, 1989).

De acordo com Maccarthy et al. (1990), a presença de ácidos húmicos aumenta a permeabilidade da membrana celular, os quais agem como moléculas sinalizadoras, resultando num aumento da absorção de nutrientes.

A primeira barreira biológica na interface solução do solo-célula vegetal é a membrana plasmática (MP), sendo essa, portanto, alvo primário da ação de moléculas-sinais porventura presentes na solução do solo. As H^+ -ATPases têm papel central no balanço energético celular e na promoção do enraizamento, uma vez que fornecem energia (com a hidrólise de $ATP \rightarrow ADP + Pi + 3$ a 5 mol de H^+) para os transportadores de íons localizados na MP e gera o gradiente eletroquímico responsável pela polarização da MP. A geração do gradiente favorece termodinamicamente a absorção de íons e energiza o transporte

transmembranar (Sondergaard et al., 2004). Além disso, o abaixamento do pH proporcionado pelo acúmulo de H^+ no lado externo à célula providencia condições fisiológicas ótimas para o funcionamento de enzimas do tipo hidrolases e fenoloxidasas, enzimas com habilidade de romper ligações da parede celular. Além dessas enzimas, as proteínas expansinas operam em $pH < 4,5$ e tornam a parede celular mais flexível com o rompimento das ligações de hidrogênio (Cosgrove, 2000). Desse modo, o bombeamento de H^+ para o meio externo, pela ação das ATPases, proporciona pH ótimo para a ação de expansinas, as quais relaxam a parede celular. O relaxamento da parede celular e a consequente diminuição do potencial de parede (ψ_p) e do potencial hídrico (ψ_H) dentro da célula favorecem a entrada de água e, portanto, o turgor celular (o acúmulo de íons no citoplasma deve ser compensado pelo aumento do volume da célula para atender o balanço de massa e carga) (Cosgrove, 2000). Esse mecanismo complexo e intrincado de promoção do crescimento celular mediado pelas H^+ -ATPases é conhecido como “teoria do crescimento ácido” (Rayle & Cleland, 1992). As auxinas assumem papel central nesse mecanismo, uma vez que promovem tanto a transcrição de genes codificando ATPases quanto a ativação dessas proteínas (Rayle & Cleland, 1992).

Façanha et al. (2002) e Canellas et al. (2002b) demonstraram que os ácidos húmicos de massa aparentemente elevada (pelo menos maior que 14 kDa) isolados de vermicomposto apresentaram estímulos sobre a atividade de hidrólise e transporte de H^+ das H^+ -ATPases de MP isoladas de raízes de plantas mono e dicotiledôneas. Esses autores observaram aumento na síntese de H^+ -ATPase, induzido por ácidos húmicos e postularam um mecanismo pós-transcricional via ativação de genes *Mha1* e *Mha2*, da mesma forma que as auxinas disparam a síntese das H^+ -ATPases de MP.

Canellas & Santos (2005) e Zandonadi (2005), utilizando mutantes de tomateiro porte micro (MT) com a mutação diageotrófica (*dgt*) e raízes

transformadas geneticamente, supersensíveis a auxinas (MT8196), foram testadas na presença de ácidos húmicos. De acordo com o mesmo autor, os ácidos húmicos, assim como as auxinas, não induziram o alongamento de pecíolos de tomate *dgt*, como ocorre nos pecíolos de plantas-controle, indicando que parte da ação dos ácidos húmicos, neste fenômeno, está relacionada com o efeito promovido pela auxina. Além disso, o processo de diferenciação observado pela quantificação das raízes emergidas também corroborou a confirmação do efeito auxínico dos ácidos húmicos sobre o processo de enraizamento de tomateiro. A H⁺-ATPase de membrana plasmática foi estimulada nas plantas de tomate MT. No entanto, nas plantas mutantes insensíveis à auxina não foi observado qualquer estímulo significativo sobre a bomba. Por outro lado, nas raízes transgênicas supersensíveis à auxina, tratadas com ácidos húmicos, o aumento da atividade da extrusão de H⁺ foi ainda maior do que nas raízes de plantas com genótipo MT. Os resultados obtidos permitiram afirmar que o modo de ação dos ácidos húmicos é dependente, pelo menos em parte, da via de transdução de sinal de auxina. Já David et al. (1994), utilizando solução nutritiva na cultura do tomate, constataram que a permeabilidade da membrana celular não se altera com a adição de ácidos húmicos. Ocorre, porém, uma melhor ligação eletrolítica que apresenta uma correlação positiva com a adição de ácidos húmicos.

Observa-se que os resultados obtidos são variáveis e dependem, além da espécie testada, das substâncias húmicas utilizadas, da concentração, do grau de purificação do material e das condições em que foram realizados os experimentos.

Sharif et al. (2002), estudando o efeito de ácidos húmicos no desenvolvimento do milho, observaram aumento do peso da matéria seca da parte aérea e das raízes nas plantas com a dose aplicada.

Pinto & Carvalho (2003) aplicaram bioestimulantes provenientes de leonardita e obtiveram aumento na produtividade de videiras (*Vitis vinifera* L.) e na melhoria da qualidade dos frutos.

2.1.2 Substratos orgânicos

Cultivos em substratos demonstram grande avanço frente aos sistemas de cultivo no solo, pois oferecem vantagens, como o manejo mais adequado da água, o fornecimento de nutrientes em doses e épocas apropriadas, a redução do risco de salinização do meio radicular e a redução da ocorrência de problemas fitossanitários, que se traduzem em benefícios diretos no rendimento e na qualidade dos produtos colhidos (Andriolo et al., 1999).

O substrato deve apresentar algumas propriedades físicas e químicas intrínsecas importantes para a sua utilização, como boa capacidade de retenção de água na faixa de 1 a 5 kPa, alta disponibilização de oxigênio para as raízes, capacidade de manutenção da proporção correta entre fase sólida e líquida, alta capacidade de troca catiônica (CTC) e baixa relação C/N, entre outras (Martinez, 2002). Além disso, deve garantir, por meio de sua fase sólida, a manutenção mecânica do sistema radicular, assegurando um balanço correto de água-ar, estabelecendo, na fase líquida, o suprimento de água e nutrientes e, na fase gasosa, o suprimento de oxigênio e o transporte de dióxido de carbono entre as raízes e o ar externo. Deve ainda estar isento de elementos minerais ou qualquer outra substância em concentração fitotóxica, assim como de fitopatógenos, pragas e plantas indesejáveis (Vavrina et al., 2009).

De acordo com Andriolo et al. (1999), o cultivo do tomateiro em substrato é uma das principais alternativas de escape, tanto para as moléstias do sistema radicular como para os problemas decorrentes da concentração excessiva de nutrientes na camada superficial do solo, que conduzem à salinização.

Encontram-se no mercado substratos formulados pelos mais variados tipos de materiais quanto à origem de seus componentes ou composição das misturas. Isso ocorre porque as normas para produção e fiscalização de substratos no Brasil ainda não estão definidas (Fabri et al., 2004).

Carrijo et al. (2004) afirmam que vários tipos de substratos orgânicos, como fibra de coco, turfas, resíduos de madeira, casca de pinus, de arroz e de café, parcialmente carbonizadas ou não, ou materiais inorgânicos, como areia, rochas vulcânicas, perlita, lã de rocha e espuma fenólica, utilizados de forma isolada ou em composição, podem ser utilizados no cultivo sem solo.

Nunes (2000) relatou que o pó de coco é um excelente material orgânico para a formulação de substratos, devido às suas propriedades de retenção de umidade, aeração do meio de cultivo e estimulador de enraizamento.

Ao utilizar pó de coco verde como substrato, Silveira et al. (2002) observaram que houve redução no custo da produção de mudas de tomateiro em torno de 47%, além de ser este um subproduto abundante da agroindústria do coco, de ampla disponibilidade e de baixo valor no mercado. Além disso, tem sido estudado no desenvolvimento de mudas de tomateiro que, ao serem transplantadas, podem atingir a maturidade em seis semanas (Vavrina et al., 2002).

A grande percentagem de lignina (35%-45%) e de celulose (23%-43%) e a pequena quantidade de hemicelulose (3%-12%), que é a fração prontamente atacada por microrganismos, conferem ao substrato de fibra de coco uma grande durabilidade (Noguera et al., 2000).

Segundo Carrijo et al. (2004), as boas propriedades físicas da fibra de coco, a sua não reação com os nutrientes da adubação, sua longa durabilidade sem alteração de suas características físicas, a possibilidade de esterilização, a abundância da matéria-prima que é renovável e o baixo custo para o produtor

fazem da fibra de coco verde um substrato dificilmente superável por outro tipo de material, mineral ou orgânico, no cultivo sem solo de hortaliças e flores.

2.2 Aspectos gerais do tomate

O tomate pertence à família Solanaceae, gênero *Lycopersicon*, subgênero *Eulycopersicum*, espécie *Lycopersicon esculentum*, sendo encontradas diferentes cultivares que variam em função do grupo e da região de cultivo.

É originário do norte do Chile até o Equador, entre o Oceano Pacífico e os Andes e foi cultivado largamente no México, de onde foi levado para a Europa, no período entre 1535 a 1544. Foi introduzida no Brasil pelos imigrantes italianos, na virada do século XX e desenvolveu-se rapidamente a partir da década de 1970, colocando o Brasil entre os maiores produtores mundiais (Nayka et al., 2006; Oliveira, 2006).

Levando-se em conta sua importância econômica, em 2007, a produção brasileira de tomate foi superior a 3,35 milhões de toneladas. A região sudeste contribuiu com quase 43% do total dessa produção (Tabela 1).

TABELA1 Situação do tomate no Brasil e regiões, 2007

| Região | Produção (T) | Área (ha) |
|---------------|------------------|---------------|
| Sudeste | 1.442.780 | 22.442 |
| Centro-Oeste | 835.988 | 10.486 |
| Sul | 552.161 | 9.440 |
| Nordeste | 517.453 | 12.878 |
| Norte | 8.074 | 1.029 |
| Brasil | 3.356.456 | 56.275 |

Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (2009).

Vários estados brasileiros produzem tomate, com destaque para Goiás, São Paulo e Minas Gerais, os quais atingiram, respectivamente, no ano de 2007, a produção de 802, 713 e 421 mil toneladas (IBGE, 2009).

2.2.1 Características do fruto

O tomate caracteriza-se por ser um fruto climatérico e seu amadurecimento, normalmente, se inicia na porção distal do fruto, migrando para as regiões vizinhas pelo processo de difusão livre, até que o processo de amadurecimento atinja todo o fruto (Alexander & Grierson, 2002).

Os tomates contêm de 93% a 95% de água. Os 5% a 7% restantes, que formam a matéria seca, são constituídos, principalmente, de componentes estruturais insolúveis em álcool (fibra alimentar), açúcares e proporções menores de compostos inorgânicos, ácidos orgânicos, proteínas e lipídeos. Os teores de açúcares solúveis (frutose e glicose) correspondem a cerca de 50 a 65% da matéria seca do fruto. A sacarose, outro açúcar solúvel, quando presente nos tomates frescos, encontra-se em níveis baixos. O sabor e o aroma são conferidos principalmente pela relação entre o açúcar e os ácidos, sendo a acidez resultante dos ácidos orgânicos cujos principais são o cítrico e o málico e o aroma por compostos já identificados, como, por exemplo: 3-hexenal, 2-hexanal, hexanal, 3-hexen-1-ol, 1-hexanol e 6-metil-5-heptano-2-metil, entre outros (Silva & Giordano, 2000; Thybo et al., 2006).

De acordo com Naika et al. (2006), o tomate, do ponto de vista nutricional, se sobressai como uma boa fonte de vitamina A e C, minerais (potássio), flavonoides e carotenoides. Seus outros componentes se apresentam em teores baixos, não atingindo níveis que permitam considerar este fruto como um fornecedor de calorias e proteínas para a alimentação humana.

No tomate é encontrado o pigmento licopeno ($C_{40}H_{56}$), que pertence ao subgrupo dos carotenoides não oxigenados, caracterizado por uma estrutura

acíclica e simétrica contendo 11 ligações duplas conjugadas. Devido à sua estrutura química, o licopeno figura como um dos melhores supressores biológicos de radicais livres, especialmente aqueles derivados do oxigênio (Carvalho et al., 2005).

O grupo de tomate saladete, também chamado de tomate italiano, apresenta dupla aptidão, sendo recomendado para consumo *in natura* e processamento. Os frutos são alongados (7 a 10 cm), com diâmetro transversal reduzido (3 a 5 cm), biloculares, polpa espessa, coloração vermelha intensa, muito firmes e saborosos (Filgueira, 2003; Alvarenga, 2004).

2.3 Alterações físicas, físico-químicas e bioquímicas no amadurecimento

Na fase final do desenvolvimento do fruto, quando este atinge o seu tamanho máximo, ocorre a maturação, que envolve significativas alterações bioquímicas e fisiológicas. A etapa final da maturação corresponde ao amadurecimento e envolve uma série de mudanças que resultam na alteração de estrutura e de composição dos frutos, tornando-os aceitáveis para o consumo (Chitarra & Chitarra, 2005).

O amadurecimento do tomate pode ser caracterizado pelas alterações da cor, na estrutura da parede celular, no metabolismo de carboidratos e pela síntese de compostos voláteis nos frutos.

2.3.1 Coloração

O amadurecimento do fruto do tomateiro é acompanhado pela degradação da clorofila, que dá a cor verde ao fruto (cloroplastos são transformados em cromoplastos) e síntese de carotenoides, como o licopeno e o betacaroteno, caracterizados, respectivamente, pelos pigmentos vermelho e amarelo. Tais processos serão responsáveis, portanto, pela coloração final do

fruto, variando de acordo com o grau de maturação (Alexander & Grierson, 2002; Santos Junior et al., 2003).

A coloração do tomate pode ser influenciada pelos mutantes do amadurecimento *alcobaça* (*alc*), *Ripening inhibitor* (*rin*) e *Non-ripening* (*nor*), quando utilizados em homozigose, visto que há uma alteração na síntese de licopeno e betacaroteno dos frutos. Os alelos *alc* e *nor*, quando em homozigose, afetam a síntese de carotenoides, fazendo com que os frutos tenham coloração alaranjada. Já o alelo *rin* em homozigose faz com que os frutos tenham coloração amarela. A utilização dos alelos *alc*, *rin* e *nor* em homozigose aumenta a firmeza, porém, sua coloração final não é aceita pelo consumidor (Santos Junior et al., 2003).

Para avaliação de tratamentos pós-colheita, a análise da coloração constitui uma preciosa ferramenta, no entanto, pode ser influenciada pelo manuseio e pelas temperaturas de armazenamento. A temperatura durante o processo de amadurecimento influencia, portanto, tanto a velocidade quanto a extensão das modificações de coloração (Davies & Hobson, 1981).

Segundo Shewfelt et al. (1988), sob baixas temperaturas, a clorofila não é degradada e o licopeno não é, portanto, acumulado. Em altas temperaturas, a clorofila desaparece e o betacaroteno é acumulado. Contudo, a síntese de licopeno é inibida, resultando em frutos amarelos.

A coloração de um fruto, de acordo com López Camelo & Gómez (2004), é definida quando o componente acromático L^* é medido em adição aos componentes cromáticos a^* e b^* . Essas variáveis fazem parte do sistema conhecido como CIELAB. O componente L^* varia de 0 a 100, em que o valor 0 indica o preto e valor 100, o branco. O valor a^* varia do vermelho ($+a^*$), localizado a 0° ou 360° , ao verde ($-a^*$), que está a 180° (na ausência dos componentes amarelo ou azul). O valor b^* , na ausência dos componentes verde

ou vermelho, varia do amarelo (+b*) ao azul (-b*), que estão a 90° e 270°, respectivamente.

Shewfelt et al. (1988) afirmam que a variável b* se altera pouco durante o amadurecimento do tomate e, apesar de não ser significativo, os maiores valores foram encontrados nos estádios pink light e red (rosado e vermelho, respectivamente).

2.3.2 Acidez titulável e pH

A acidez de um produto é determinada por duas variáveis, o pH e a acidez titulável. A acidez titulável detecta o ácido predominante no alimento, ou seja, é dada pela presença de ácidos orgânicos (Hobson & Davies, 1971).

Dentre os principais ácidos encontrados em tomates, cítrico, málico e glutâmico, o mais abundante é o ácido cítrico, correspondendo a mais ou menos 90% do total da acidez. Estes ácidos estão concentrados na cavidade locular do fruto. Com o avanço da maturação, o ácido málico diminui, enquanto o ácido cítrico aumenta até a cor salada e decresce posteriormente, até o completo amadurecimento, sem grandes variações. Esta queda no teor de ácido cítrico com o avanço da maturação é sugerida por vários autores por meio do processo catabólico do citrato via malato (Hobson & Davies, 1971; Thybo et al., 2006).

O termo pH é utilizado para descrever o grau de acidez ou de alcalinidade de um alimento. A escala de pH é baseada no número de íons H⁺ presentes numa solução. Para pH igual a sete, as concentrações de H⁺ e OH⁻ são iguais (neutralidade). O pH com valor inferior uma solução ácida e superior a sete indica uma solução alcalina (Sadler & Murphy, 1998).

Filgueiras (1996) identificou que não houve interação significativa entre os diferentes genótipos e os estádios de amadurecimento para a variável acidez titulável. Esse mesmo autor observou valores mais altos de acidez para frutos no estágio maduro, enquanto os valores de pH indicaram diminuição com o

processo de amadurecimento. Filgueiras (1996) constatou que esse comportamento de pH se mostrou coerente com a tendência de aumento dos valores de acidez titulável.

Contudo, diferentes pesquisadores apontam alguns fatores que podem influenciar nos valores de acidez do produto, que são: cultivar, estágio de amadurecimento, épocas de plantio e colheita, condições ambientais de crescimento e desenvolvimento da planta e práticas de manuseio pré e pós-colheita (Shewfelt et al., 1988).

2.3.3 Sólidos solúveis e relação SST/ATT

O sabor é o aspecto mais importante para o consumidor no momento de decidir qual tipo de tomate comprar, preferindo uma proporção balanceada de açúcar/ácido. Quando altos teores de açúcares são combinados com baixos teores de ácidos, o sabor, apesar de muito doce, é considerado sem gosto e, quando se combinam altos teores de ácidos e baixos teores de açúcares, o sabor é azedo (Naika et al., 2006).

A capacidade dos frutos de importar e metabolizar sacarose tem papel importante no teor de sólidos solúveis totais, embora não se tenha demonstrado acúmulo de sacarose em tomates (Hewitt et al., 1982). Entretanto, já foi demonstrado um aumento de atividade da enzima invertase durante o amadurecimento (Hobson & Grierson, 1993) e sabe-se que essa enzima está envolvida com a translocação e a hidrólise de sacarose.

A relação sólidos solúveis/acidez titulável é comumente utilizada como parâmetro de comparação entre frutos de diferentes origens ou variedades e esse balanço pode ser influenciado pelo clima, pela cultivar e pelas práticas culturais (Sadler & Murphy, 1998).

2.3.4 Textura

A textura é considerada um dos principais atributos de qualidade no produto final e o estudo dos eventos moleculares responsáveis pela sua mudança nos frutos demonstra que estes poderiam exercer um efeito cooperativo sobre outros atributos sensoriais, como aroma, cor, sabor. Pode, ainda, influenciar na aceitabilidade, na vida de prateleira e na capacidade de transporte e resistência ao cisalhamento e ao ataque por insetos, bactérias e fungos (Manrique & Lajolo, 2004).

Alguns aspectos intrínsecos ao fruto e outros que antecedem a colheita do mesmo devem ser considerados quando o assunto é firmeza e qualidade. Elementos bioquímicos, como conteúdo de lipídio, composição da parede celular, espessura da casca, tamanho e formato, conteúdo de água nas células vegetais, estrutura locular dos frutos e fatores mecânicos contribuem para firmeza do produto. Fatores abióticos, igualmente, contribuem para a determinação dessa variável, tais como umidade do solo de plantio da cultura, disponibilidade nutricional desse solo, temperatura e umidade relativa do ambiente (Andreuccetti et al., 2005).

A textura é um importante fator de qualidade em tomates para o consumo ao natural, pois indica a tolerância do fruto ao transporte e ao manuseio durante a colheita e a comercialização. Contudo, o mecanismo pelo qual os frutos amaciam não é completamente entendido (Resende et al., 2004).

Inúmeros trabalhos têm se dedicado a elucidar os mecanismos responsáveis pelas mudanças na firmeza que ocorrem durante a pós-colheita. Até o momento, acredita-se que estas alterações sejam consequência das modificações dos polissacarídeos das paredes celulares, principalmente na pectina e na hemicelulose. A pectina, durante o amadurecimento, sofre solubilização, despolimerização e desmetoxilação, assim como a celulose e a hemicelulose são susceptíveis à hidrólise química e/ou enzimática, com

subsequente produção de oligossacarídeos de diferentes tamanhos e composição (Ali et al., 2004; Manrique & Lajolo, 2004; Yashoda et al., 2005).

Shackel et al. (1991) estudaram a pressão de turgor da célula e concluíram que a perda de turgor durante o amadurecimento é uma causa alternativa ou auxiliar do amaciamento do tecido, considerado como sendo ocasionado primariamente por alterações bioquímicas na estrutura da parede celular.

Para avaliação da firmeza são utilizados os métodos objetivos que envolvem testes de resistência à penetração, de compressão, de deformação, de aplanção, de medidas de pressão de turgor, entre outros e podem ser agrupados em três grupos que são os métodos fundamental e empírico e o teste imitativo. O método fundamental fornece as propriedades elásticas do material, como, por exemplo, os módulos de Poisson, Young, Shear e Bulk. O segundo método, empírico, inclui testes rápidos e simples, tais como ensaios de compressão e de penetração. Já os testes denominados imitativos são aqueles que simulam o que ocorre na boca quando o alimento é mastigado (Shackel et al., 1991). Cada um desses testes físicos avalia propriedades diferentes; alguns são destrutivos outros não e nem sempre há uma correlação entre eles (Yashoda et al., 2005).

2.4 Estrutura química da parede celular

A presença de parede celular é uma característica das células vegetais, que se desenvolve em camadas depositadas durante seu crescimento e senescência. A célula vegetal apresenta parede primária e secundária, e uma lamela média, presente na junção das paredes de células vizinhas. A parede celular primária é formada na fase de crescimento, sendo considerada não-especializada. Enquanto a parede celular secundária forma-se após cessar o crescimento celular e pode se tornar uma estrutura altamente especializada, dependendo de sua localização (Taiz & Zeiger, 2004).

A lamela média é constituída por polissacarídeos pécticos estruturalmente diferentes dos que constituem a parede celular primária. Os polissacarídeos da lamela média são capazes de se associarem por intermédio de cátions, como o cálcio, por isso são polímeros com zonas constituídas por resíduos de ácido galacturônico não esterificados intercaladas por zonas com polímeros pouco ramificados com cadeias laterais curtas e com elevado grau de esterificação. Pelo contrário, as pectinas da parede celular primária são muito ramificadas e com cadeias laterais mais longas, isto é, com um elevado conteúdo em açúcares neutros (Prasanna et al., 2007).

Carpita & McCann (2000) definem que a composição da matriz é heterogênea variando em diferentes partes da parede, em diferentes tipos celulares, em diferentes espécies e, provavelmente, em diferentes estádios do ciclo celular. Os componentes que podem ser encontrados são os polissacarídeos pécticos (pectina), tais como: ramnogalacturanos, arabinanos, arabinogalactano do tipo I e homogalacturonanos. As hemiceluloses que compõem a matriz podem ser: xilano, glucomanano, galactomanano, manano, glucuronomanano, xiloglucano, calose (composto de cadeias de glucanos com ligações do tipo β -(1 \rightarrow 3)), arabinogalactano do tipo II e glucanos de cadeia mista com ligações do tipo β -(1 \rightarrow 3) e β -(1 \rightarrow 4). Além dessas substâncias, a matriz contém proteínas (estruturais e enzimas) e compostos fenólicos, tais como lignina, ácido ferúlico, ácido cumárico.

Existem quatro grandes classes de proteínas estruturais: glicoproteínas ricas em hidroxiprolina (HRGPs), proteínas ricas em prolina (PRPs), proteínas ricas em glicina (GRPs) e proteínas arabinogalactanas (AGPs). As três primeiras são conhecidas pela riqueza em certos aminoácidos, enquanto a última é denominada de proteoglicanas, pois possui mais de 95% de carboidratos. A extensina, codificada por uma família multigênica, é uma das mais bem

estudadas HRGPs nas plantas (Carpita & McCann, 2000; Lofgren & Hermansson, 2007).

Uma importante característica da extensina é a sua insolubilidade na parede celular. Na forma monomérica solúvel, pode ser insolubilizada na parede celular por meio de ligações cruzadas dos monômeros pela ação de peroxidases ligadas às paredes, sendo um importante componente na formação de barreiras estruturais nos tecidos feridos. Essas enzimas podem gerar ligações cruzadas nos polímeros das paredes celulares por meio da formação de ligações bifenil, tais como as do acoplamento de resíduos de tirosina na extensina (Chitarra & Chitarra, 2005).

Durante muitos anos, buscou-se definir a verdadeira conformação da parede celular dos vegetais. Cosgrove (2000) propôs três modelos estruturais que diferem na interação entre os diferentes polissacarídeos constituintes da parede celular e na sua organização espacial, assumindo que as microfibrilas de celulose (moléculas de celulose alinhadas paralelamente) estão dispostas por camadas. No primeiro, as microfibrilas de celulose da mesma camada e entre camadas estão ligadas entre si por meio dos polissacarídeos hemicelulósicos, nomeadamente xiloglucanas e xilanas de cadeias longas (Figura 1a). Neste modelo, os polissacarídeos hemicelulósicos conferem resistência à parede celular e são importantes na sua integridade. No segundo modelo, as microfibrilas de celulose estão rodeadas por polissacarídeos hemicelulósicos ligados à sua superfície, que também estão envolvidos por outros polissacarídeos associados entre si por ligações mais fracas, não existindo uma interligação direta entre as microfibrilas (Figura 1b). No terceiro modelo, a parede celular é constituída por camadas alternadas de uma matriz constituída pela celulose e pelos polissacarídeos hemicelulósicos e de uma matriz de polissacarídeos pécnicos, em que os polissacarídeos hemicelulósicos interligam as microfibrilas de celulose da mesma camada (Figura 1c).

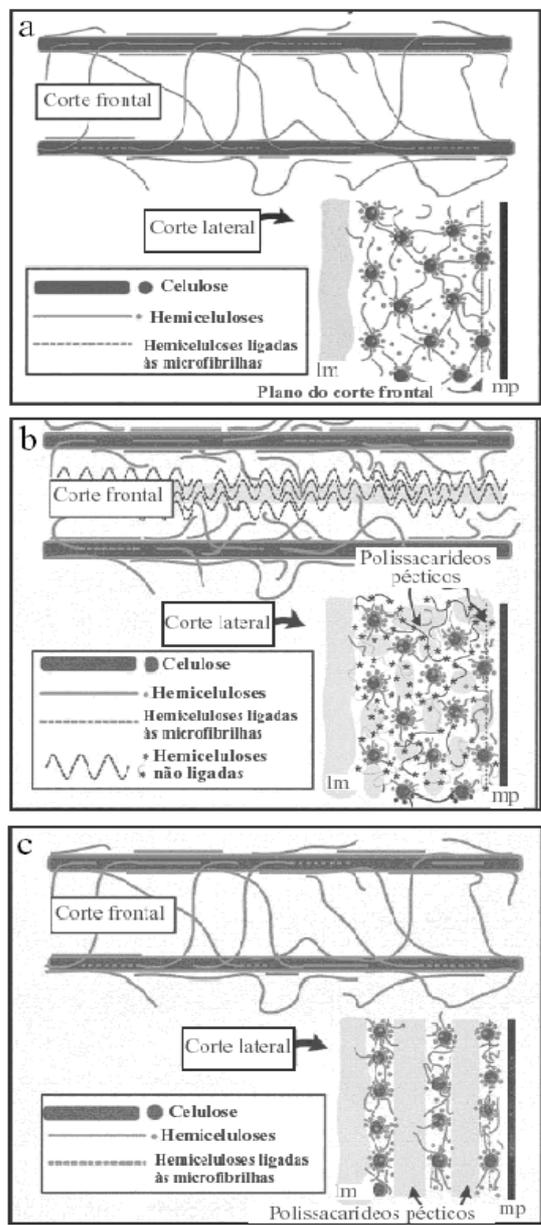


FIGURA 1 Modelos estruturais da parede celular primária (lm-lamela média mp- membrana plasmática)
 Fonte: Cosgrove, 2000.

Dependendo da composição dos monossacarídeos ou polissacarídeos, sequências de ligação e comprimento da cadeia, as abundantes zonas de junção, permitem a formação de uma estrutura que é frágil, mas ao mesmo tempo elástica. As associações entre xiloglucanas e arabinoxilanas com as regiões de celulose também contribuem no controle dinâmico dos movimentos da parede celular e na firmeza (Lazan et al., 2004).

Ao avaliar a evolução dos constituintes da parede celular, Nothnagel & Nothnagel (2007) indicam que, entre os compostos químicos mais conservados, estão a presença da rede de celulose, a presença de certa hemicelulose como xiloglucanas e a presença de ramnogalacturonana II, como um domínio dos polissacarídeos pectico. Os mesmos autores afirmam que, entre as características mais modificadas, estão a abundância de manose nas cadeias de hemicelulose e a presença de açúcares metilados, o que demonstra um processo de especialização e fortalecimento das interações químicas.

2.4.1 Celulose

A celulose é um dos principais constituintes da parede celular primária, presente na forma de microfibrilas. Este polissacarídeo é composto por cadeias lineares de glicose com ligações β -(1 \rightarrow 4) (Figura 2).

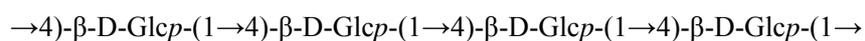


FIGURA 2 Estrutura da celulose.

As cadeias estão associadas entre si por ligações de hidrogênio intra e intermoleculares. A estrutura organizada da celulose torna-a um polímero de pouca solubilidade (Andersson & Westerlund, 2006).

Vários estudos vêm destacando que, durante o amadurecimento dos frutos, ocorre alguma degradação das microfibrilas de celulose por ação da

celulase. A celulase é uma enzima que se caracteriza por ter várias atividades enzimáticas, tais como endo-1,4- β -glucanase, exo-1,4- β -glucanase e endo-1,4- β -glucosidase. A endo-1,4- β -glucanase degrada todos os polissacarídeos com ligações glicosídicas β -(1 \rightarrow 4) entre resíduos de glicose no interior da cadeia, a exo-1,4- β -glucanase cliva ligações glicosídicas nos resíduos não redutores, originando glicose e celobiose e a endo-1,4- β -glucosidase cliva a ligação glicosídica da celobiose. Essas enzimas são capazes de degradar a celulose em derivados solúveis e a sua atividade contribui para a perda de textura dos frutos com o amadurecimento (Prasanna et al., 2007).

Esta enzima não é capaz de degradar a celulose cristalina (Prasanna et al., 2007).

2.4.2 Hemicelulose

A hemicelulose é constituída, principalmente, de xiloglucanas, mas também por xilanas, glucomananas e arabinogalactanas do tipo II. Em geral, as xiloglucanas estão ligadas a microfibrilas de celulose, pectinas e lignina por meio de pontes de hidrogênio formando ligações cruzadas que estabilizam a parede celular (Wakabayashi, 2000; Andersson & Westerlund, 2006).

As xiloglucanas têm uma cadeia principal de resíduos de glicose em ligação β -(1 \rightarrow 4) com cadeias laterais constituídas por resíduos de α -D-xilose ligados ao carbono 6 de alguns resíduos de glicose e por β -D-galactose ligada ao carbono 2 ou α -L-arabinose no carbono 3 dos resíduos de xilose. Resíduos de α -L-fucose podem estar ligados ao carbono 2 da galactose. Alguns resíduos de galactose da xiloglucana podem estar acetilados (Andersson & Westerlund, 2006).

As glucomananas apresentam uma cadeia principal composta por D-glucose e D-manose em ligação β -(1 \rightarrow 4) com ramificações ocasionais de resíduos únicos de α -D-galactose nos resíduos de D-manose. Estas

hemiceluloses também estão ligadas por pontes de hidrogênio às microfibrilas de celulose da matriz da parede celular (Andersson & Westerlund, 2006).

De acordo com Jackman & Stanley (1995), nos frutos verdes, as moléculas de hemicelulose são grandes polímeros de massa molecular que varia de 100-1000 kDa, o que indica que a parede celular dos frutos tem significativa quantidade de xiloglucanas e sua despolimerização e diminuição de tamanho têm sido associada com a atuação das hidrolases.

Neste contexto, enzimas, como as endo-glucanases $\beta(1\rightarrow4)$, β -glucanases e a β -galactosidase com atividade de β -galactanase (esta última tem capacidade de modificar simultaneamente pectinas e hemicelulose) atuam diretamente na despolimerização das xiloglucanas, embora seus níveis de atividade variem marcadamente entre os tipos de frutos (Ali et al., 2004).

De acordo com Vilas Boas (1998), os principais componentes da fração solúvel em KOH 4M, encontrado em tomates foram xilose, glicose, manose, galactose e arabinose, tendo os açúcares em maior proporção sido xilose e glicose, indicando, provavelmente, a predominância de xilanas e xiloglucanas. Ainda de acordo com os mesmos autores, a perda líquida de galactose durante o amadurecimento pode estar associada a uma das principais causas do amaciamento de tomates (Vilas Boas, 1998).

2.4.3 Substâncias pécticas

De acordo com Almeida et al. (2005), as substâncias pécticas são macromoléculas glicosídicas de alto peso molecular que formam o maior componente da lamela média, uma fina camada de material adesivo extracelular entre as paredes primárias de células de vegetais superiores.

Quimicamente, são um complexo coloidal de polissacarídeos ácidos, composto de resíduos de ácido galacturônico unidos por ligações $\alpha(1\rightarrow4)$, parcialmente esterificados por grupos metil éster (Kashyap et al., 2000; Taiz &

Zeiger, 2004) e parcial ou completamente neutralizadas por uma ou mais bases (íons sódio, potássio ou amônio) (Sakai et al., 1993; Kashyap et al., 2000).

A Sociedade Americana de Química (American Chemical Society) classificou as substâncias pécnicas em: protopectina, ácido pectínico, ácido pécnico e pectina, sendo estes três últimos total ou parcialmente solúveis em água (Kashyap et al., 2000). A protopectina é insolúvel em água. É a forma nativa unida com outros constituintes das células vegetais e, em condições de hidrólise restrita, produzem ácidos pectínicos ou pectina (Sakai et al., 1993; Kashyap et al., 2000). Ácido pécnico é uma designação aplicada a substâncias pécnicas compostas de ácido poligalacturônico coloidal, em que os grupos carboxilas estão essencialmente livres de grupos metil éster e seus sais são pectatos neutros ou ácidos (Sakai et al., 1993; Kashyap et al., 2000). Ácido pectínico é um grupo de compostos contendo ácido poligalacturônico coloidal com poucos grupos metil éster (Manrique & Lajolo, 2004).

Com base em sua estrutura, os polissacarídeos pécnicos podem ser classificados em homogalacturonanas e ramnogalacturonanas (RG I e RG II). As homogalacturonanas são polissacarídeos constituídos por cadeias lineares de ácido D-galacturônico em ligação α -(1→4), parcialmente esterificados. A presença de ramnose na cadeia origina irregularidades na estrutura, conferindo alguma flexibilidade (Vincken et al., 2003; Andersson & Westerlund, 2006). As homogalacturonanas formam géis rígidos e insolúveis na presença de cálcio, uma propriedade que irá determinar suas funções na parede celular (Yapo et al., 2007).

As RG-I são polissacarídeos constituídos por ácido D-galacturônico em ligação β - (1→4) alternando com resíduos de L-ramnose em ligação α -(1→2). Cerca de 50% dos resíduos de ramnose são ramificados no carbono 4 por cadeias laterais curtas ricas em arabinose e/ou galactose. Estas cadeias laterais estão presentes principalmente como arabinanas, galactanas e arabinogalactanas

do tipo I. As arabinanas são constituídas por uma cadeia principal de resíduos de L-arabinose em ligação α -(1 \rightarrow 5) com outros resíduos de L-arabinose ligados ao carbono 2 e/ou 3. As galactanas são polissacarídeos lineares constituídos por D-galactose em ligação β -(1 \rightarrow 4). As arabinogalactanas são polímeros com uma cadeia principal linear de resíduos de D-galactose em ligação β -(1 \rightarrow 4) com ramificações no carbono 3 de cadeias curtas de resíduos de arabinose em ligação α -(1 \rightarrow 5). As xilogalacturonanas são polissacarídeos pécticos ramificados em que resíduos de D-xilose podem aparecer como ramificação, ligados ao carbono 3 do ácido D-galacturônico da cadeia principal (Vincken et al., 2003).

Segundo Andersson & Westerlund (2006), as homogalacturonanas e as RG-I parecem formar uma extensa cadeia principal com uma distribuição intramolecular bem definida, em que regiões muito ramificadas com açúcares neutros estão separadas por zonas de cadeia principal sem ramificações, contendo quase exclusivamente resíduos de ácido galacturônico.

As RG-II são regiões de ácidos galacturônicos aos quais se ligam diretamente, nos carbono 2 e/ou 3, alguns açúcares raros, como fucose, xilose, apiose e ácido acérico, além dos açúcares comuns, como arabinose, glucose, ácido galacturônico e glucurônico (Andersson & Westerlund, 2006).

Willats et al. (2006) postularam um modelo esquemático da conformação da cadeia péctica. De acordo com os mesmos autores, é possível observar que a estrutura principal da pectina foi considerada como homogalacturonanas, com ligações simples chamadas de regiões lisas (*smooth region*) e as ramnogalacturonanas com ramificações contendo vários açúcares, chamadas de regiões em cabeleira (*hairy region*), representado na Figura 3A. No entanto, a Figura 3B se refere às pesquisas segundo as quais os autores propõem um novo modelo, demonstrando que a homogalacturonana pode ser considerada uma cadeia lateral das ramnogalacturonanas (Vincken et al., 2003; Willats et al., 2006).

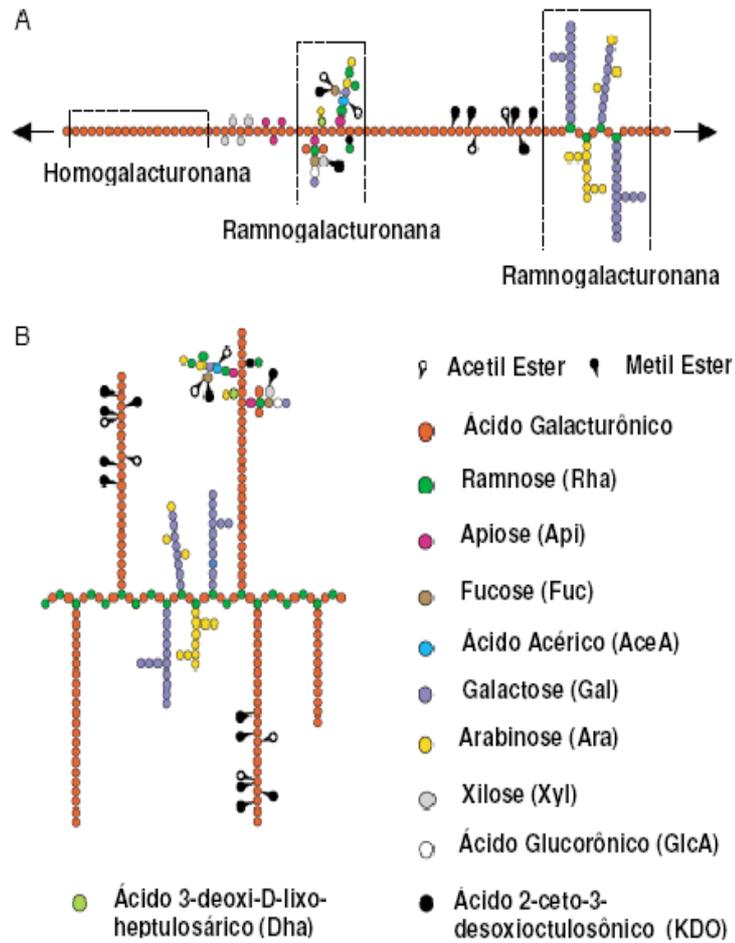


FIGURA 3 Estrutura principal da pectina. Estrutura convencional (A), nova proposta dos autores (B).
 Fonte: Willats et al. (2006).

Os polissacarídeos pécticos podem também estar esterificados no terminal não redutor dos resíduos de arabinose e galactose, com os ácidos ferúlico e cumárico. Estes substituintes facilitam as interações entre as moléculas de polissacarídeos pécticos com outros polissacarídeos presentes na parede celular, sendo importantes para a estrutura da parede celular (Prasanna et al., 2007).

Em estágios avançados de amadurecimento o tomate começa a colapsar, perdendo sua estrutura rígida e tornando-se, conseqüentemente, desforme. Esta degradação estrutural deve-se à ação de enzimas que atuam sobre a pectina no tecido celular, conhecidas como pectinases.

2.5 Enzimas pectinolíticas

Os polissacarídeos pécticos são os principais constituintes da lamela média e sua degradação tem sido associada ao amadurecimento e ao amolecimento dos frutos. Para que ocorram a despolimerização e a solubilização das substâncias pécticas, é necessária a atuação de enzimas.

Jayani et al. (2005) classificaram as enzimas pectinolíticas em três grupos: 1 - protopectinases: que degradam as protopectinas insolúveis e aumentam a solubilização dos polímeros de pectina; 2 - esterases: que catalisam a desesterificação de pectinas pela remoção dos ésteres de metoxil e 3 - depolimerases: catalisam a hidrólise das ligações glicosídicas α -(1→4) do ácido D-galacturônico. Esta última pode ser subdividida em quatro categorias, dependendo da preferência das enzimas sob o substrato, mecanismo de clivagem e local de quebra da ligação glicosídica. Assim, a poligalacturonase e a polimetilgalacturonase quebram pectatos em pectinas, ambas por mecanismos de hidrólise. Entretanto, poligalacturonase liase e polimetilgalacturonase liase quebram pectatos em pectinas por α -eliminação e, dependendo do padrão de

ação, aleatório ou terminal, estas enzimas são terminalizadas como endo- ou exo-, respectivamente (Jayani et al., 2005).

Além das pectinolíticas, a celulolítica provoca a despolimerização e certa desorganização das microfibrilas de celulose, além de atuar sobre as interações via pontes de hidrogênio da hemicelulose-celulose. Outras enzimas responsáveis pelo desarranjo da estrutura celular são as xiloglucana endotransglicosilases (XET) e a celulase, que atuam exclusivamente sob as ligações β -(1 \rightarrow 4) da hemicelulose, e a β -galactosidase (EC 3.2.1.23) que, em uma variedade de frutos, foi reportada por possuir atividade de β -galactanase, funcionando, possivelmente, como uma exo-glucanase, promovendo degradação dos polissacarídeos pécticos por degradação das arabinogalactanas das cadeias laterais (Lazan et al., 2004; Baumann et al., 2007; Prasanna et al., 2007).

De acordo Baumann et al. (2007), a XET catalisa a quebra intramolecular de polímeros de xiloglucanas, permitindo a expansão da célula sem danificar sua estrutura, provavelmente por adição de novos polímeros de xiloglucanas em locais específicos.

A ramnogalacturonase, que catalisa a hidrólise da ligação glicosídica entre resíduos de ácido galacturônico e ramnose, pode também contribuir para a degradação dos polissacarídeos pécticos (Prasanna et al., 2007).

Uma única enzima não parece ser responsável pela degradação da parede celular e um número considerável de genes tem sido encontrado, demonstrando o papel de algumas das famílias de enzimas relacionadas ao amolecimento dos frutos. Estes estudos estabelecem correlações entre o acúmulo de RNAm e os dados de estado fisiológico e fenótipo. A combinação dessas informações moleculares tem sido utilizada para gerar dados sobre papel fisiológico de cada enzima, seja bloqueando-a ou exacerbando sua expressão (Seymour et al., 2002; Goulão et al., 2007;).

Embora as mudanças no RNA possam prever as modificações enzimáticas, elas não garantem que o transcrito será necessariamente traduzido e as proteínas detectadas podem não ser necessariamente modificadas por mecanismos pós-traducionais e/ou podem não ser totalmente ativas (Goulao et al., 2007).

Adicionalmente, o papel de cada enzima pode não ser totalmente explicado pelos estudos de uma única isoforma, já que existe a presença de diversas isoformas com distintos padrões de expressão, o que pode mascarar as atividades individuais em um determinado estágio do desenvolvimento (Giovannoni, 2004; Goulão et al., 2007). Outros fatores específicos também podem influenciar a atividade enzimática, entre estes o pH e a composição iônica do fluido apoplástico.

2.5.1 Pectinametilesterase (PME)

Também pode ser denominada de pectina metilesterase (E.C. 3.1.1.1), pectase, pectina metoxilase. Atua removendo grupos metil-ésteres do ácido poligalacturônico da parede celular da pectina, formando produtos como o ácido péctico e o grupos metílicos, convertendo pectinas de alto grau de metoxilação em pectinas de baixo grau de metoxilação (Figura 4) (Jayani et al., 2005).

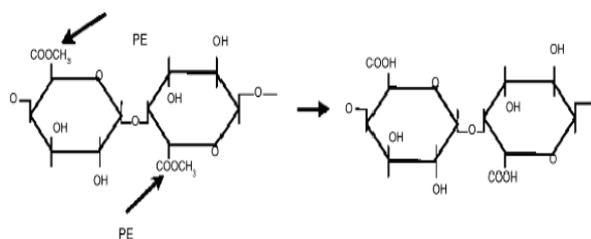


FIGURA 4 Hidrólise da ligação metil-éster do ácido poligalacturônico da pectina, devido à ação da pectinametilesterase.

Fonte: Jayani et al. (2005).

A pectinametilsterase (PME) tem uma atividade ótima a pH 7,5 e, para desesterificar uma unidade esterificada, requer, pelo menos, uma unidade de ácido galacturônico livre do grupo metílico (Jayani et al., 2005).

Alta demetilesterificação da pectina catalizada por PME tem também a finalidade de modificar o pH e as propriedades de troca catiônica das paredes que modulam a atividade de outras enzimas degradantes da parede celular (Ali et al., 2004), como por exemplo, a poligalacturonase (PG).

De acordo com Jiang et al. (2003), a existência de frutos que mantêm sua polpa endurecida depois de completado o tempo de amadurecimento também demonstra a existência de substâncias inibidoras da atividade da PME. Substâncias tais como sacarose, maltose e glicose agem por meio de inibição não competitiva e alguns peptídeos, por competição aos sítios de ligação da PME.

2.5.2 Poligalacturonases (PG)

As poligalacturonases (PG) são hidrolases que agem preferencialmente sobre o ácido poligalacturônico como substrato, hidrolisando as ligações glicosídicas α -(1 \rightarrow 4) do ácido galacturônico próximo ao grupo carboxílico livre. Hidrolisam pectinas com baixo grau de metoxilação a ácidos pécnicos (Figura 5) (Jayani et al., 2005).

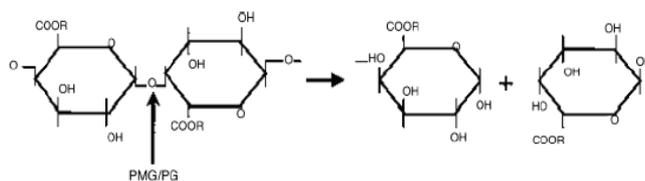


FIGURA 5 Hidrólise da ligação glicosídica da pectina devido à ação da PG

Fonte: Jayani et al. (2005).

A ativação da transcrição do gene que codifica a poligalacturonase ocorre um a dois dias após o início do aumento na síntese de etileno, que é agente precursor do amadurecimento, conduzindo ao acúmulo de RNAm da poligalacturonase no citosol e à síntese de isoformas dessa proteína (Hobson & Grierson, 1993).

As poligalacturonases (PG) são encontradas em duas formas: as endopoligalacturonases (endo-PG) e as exopoligalacturonases (exo-PG). As PGs tornam-se bastante ativas somente depois da ação da PME, por terem dificuldade de romper a cadeia da pectina quando o grau de metoxilação é superior a 60%-70% (Assis et al., 2004; Prasanna et al., 2007).

O processo de amaciamento no tecido parenquimático do tomate está associado com a perda de metil ésteres do homogalacturonano, em consequência da atividade da PME, que remove os grupos metil éster dos resíduos do α -D-ácido galacturônico das cadeias de polissacarídeos pécticos. A cadeia de homogalacturonano desesterificado, neste caso, está susceptível à atividade da PG. A PG I, com uma massa molecular de, aproximadamente, 100 kDa, consiste de PG II de 46 kDa complexada firmemente com uma subunidade β . A subunidade β é uma proteína rica em aminoácidos aromáticos. Acredita-se que ela atue como um componente âncora para a subunidade PG II, sendo sintetizada precocemente no desenvolvimento do fruto. A subunidade β pode solubilizar pectinas da parede celular, facilitando progressivamente hidrólises por PG II nas ligações glicosídicas dentro da cadeia de homogalacturonano não ramificado. Estas exibem uma atividade máxima em pH 5,5-6,0 e 4,5, respectivamente (Carpita & McCann, 2000).

Modificação da pectina dentro da parede durante o amadurecimento é um processo regulado com precisão. O resultado de tal mecanismo é a modificação do substrato, que restringe o acesso da enzima, ou a presença de

enzimas inibidoras, como na inibição da atividade da PG II por produtos difusíveis da despolimerização das pectinas (Carpita & McCann, 2000).

De acordo com Huber et al. (2001), a PG obtida de tomate tem atividade específica para as cadeias de ácido poligalacturônico seis vezes maior que a de abacate, sendo também quatro vezes mais ativa na liberação de unidades do ácido urônico da parede celular dos frutos.

No início das pesquisas sobre o amadurecimento de tomates, os trabalhos focalizaram uma acentuada atividade da PG, especificamente a endo-PG, que tem poder de solubilização da maior parte das pectinas. Assim, passou-se a considerar que esta seria a principal enzima responsável pelo amolecimento. No entanto, experimentos com frutos transgênicos, nos quais o acúmulo de RNAm da PG foi suprimido, ainda ocorria o amolecimento dos frutos.

Dellapenna et al. (1990) demonstraram que, em tomates mutantes, com o gene silenciado para o amadurecimento (*rin*), o qual leva à produção de apenas 10% da enzima poligalacturonase (PG), quando restaurada a atividade normal da PG, os tomates demonstravam degradação das pectinas sem, contudo, amolecer. Esse resultado evidencia que outros processos estavam envolvidos no amaciamento do fruto, já que as xiloglucanas de frutos silvestres diminuía durante o amadurecimento, diferindo em relação às do fruto *rin*.

De acordo com Hobson & Grierson (1993), quando o fruto se encontra no estado máximo de amadurecimento, ocorre desintegração das células, devido à progressiva despolimerização e degradação das substâncias pécicas pela poligalacturonase, resultando em uma mistura de enzimas e substratos, propiciando a invasão por fungos e bactérias.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Produção dos frutos

O experimento foi conduzido no setor de Olericultura do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, (UFLA), em Lavras, MG, no período de agosto de 2007 a janeiro de 2008. As sementes do híbrido Vênus, do grupo italiano, hábito de crescimento determinado, frutos oblongos, foram semeadas em bandejas de poliestireno com 128 células e irrigadas diariamente por meio de microaspersão.

As mudas foram transplantadas, 35 dias após a semeadura, para sacolas plásticas com capacidade de 7,0 litros contendo os substratos orgânicos. O substrato 1 foi constituído apenas por fibra de coco; o substrato 2, por fibra de coco + casca de café carbonizada -1/3 (v/v); substrato 3, por fibra de coco + casca de café carbonizada- 2/3 (v/v) e o substrato 4, por casca de café carbonizada. Estes substratos foram analisados e suas características são apresentadas na Tabela 2.

TABELA 2 Características dos substratos orgânicos.

| Características | S1 | S2 | S3 | S4 |
|-------------------------------------|-------|--------|--------|--------|
| pH em H ₂ O | 5,8 | 7,2 | 7,3 | 7,8 |
| N-Total (g kg ⁻¹) | 9,2 | 8,7 | 9,7 | 8,2 |
| P (g kg ⁻¹) | 2,0 | 2,4 | 2,5 | 2,5 |
| K (g kg ⁻¹) | 8,2 | 17,7 | 22,0 | 30,5 |
| Ca (g kg ⁻¹) | 4,2 | 10,2 | 8,2 | 9,1 |
| Mg (g kg ⁻¹) | 1,5 | 2,8 | 2,5 | 2,3 |
| Cu (mg kg ⁻¹) | 85,2 | 57,7 | 61,8 | 45,0 |
| Mn (mg kg ⁻¹) | 77,8 | 182,0 | 157,1 | 164,2 |
| Fe (mg kg ⁻¹) | 716,3 | 1256,1 | 1265,1 | 1188,9 |
| C.E. (mS cm ⁻¹) | 3,8 | 3,9 | 4,9 | 5,6 |
| C total (dag kg ⁻¹) | 40,6 | 40,6 | 36,9 | 41,0 |
| C/N | 44,1 | 46,7 | 38,0 | 50,0 |
| Ácido húmico (g kg ⁻¹) | 2,0 | 2,5 | 1,4 | 2,5 |
| Ácido fúlvico (g kg ⁻¹) | 3,2 | 2,4 | 1,6 | 3,7 |

C.E. – Condutividade elétrica. Nutrientes - determinados após mineralização pela digestão nitroperclórica.

As mudas foram distribuídas no espaçamento de 1,0 m x 0,80 m x 0,40 m, com densidade populacional de 2,78 plantas m⁻². A condução do experimento foi em ambiente protegido, modelo capela, com 30 m de comprimento, 10 m de largura e 1,80 m de pé direito, coberto com polietileno de baixa densidade, de 150 micras.

Os nutrientes foram fornecidos por meio de fertirrigação diária, de acordo com o estágio de desenvolvimento da cultura, sendo as doses baseadas em recomendação de Castellane & Araújo (1995). Na fase inicial de crescimento: 12,5 de N; 1,5 de P; 7,0 de K; 4,0 de Ca; 2,0 de Mg e 2,0 de S (mmol. L⁻¹) e, ainda, 20 de Fe; 15 de Mn; 5 de Zn; 30 de B; 0,8 de Cu e 0,5 de Mo (μmol. L⁻¹). Na fase de crescimento e frutificação: 14,0 de N; 2,0 de P; 11,2 de K; 5,2 de Ca; 1,6 de Mg; 5,7 de S (mmol. L⁻¹); e 25 de Fe; 15 de Mn; 5 de Zn; 30 de B; 0,8 de Cu e 0,5 de Mo (μmol. L⁻¹).

A irrigação foi realizada por meio de gotejamento, com gotejadores de múltiplas saídas (um por planta), vazão média de 1,0 L.h⁻¹. O tempo de irrigação foi determinado após drenagem de 30% do volume total de água aplicada as sacolas plásticas e a frequência ajustada diariamente, de acordo com o estágio de desenvolvimento da cultura e as condições climáticas.

Como fonte de ácidos orgânicos foi utilizado o produto comercial Codahumus 20 (ácido fúlvico 10,2% e ácido húmico 10,0%), aplicado quinzenalmente, a partir do oitavo dia após o transplântio, nas dosagens de (0, 20, 40 e 80 L.ha⁻¹), diretamente nos substratos.

Foram totalizadas 11 colheitas, de frutos maduros ou em estágio máximo de desenvolvimento fisiológico. Os frutos foram pesados e classificados, de acordo como o diâmetro equatorial (calibre), em pequenos (40-50 mm), médios (50-60 mm), grandes (>60 mm). Também foram separados os que apresentaram podridão apical. Com os resultados obtidos, determinou-se a produção de frutos total, comercial, pequenos, médios, grandes e não-comerciais. A produção

comercial de frutos foi obtida pelo somatório das classes (calibres) grande, médio e pequeno ($t/ha = g \text{ planta}^{-1}$ de cada classe $\times 2,78 \text{ plantas m}^{-2} \times 10^{-2}$). A produção não-comercial foi constituída, principalmente, por frutos que apresentaram podridão apical.

Selecionaram-se frutos de todos os calibres no estágio de maturação “vermelho” de segundo e terceiro cacho, os quais foram transportados para o Laboratório de Pós-Colheita de Frutos e Hortaliças do Departamento de Ciência dos Alimentos da UFLA.

Em seguida, procedeu-se a higienização dos frutos com hipoclorito de sódio a 100mg.L^{-1} e postos para secar. Após a secagem desses frutos, foi feita a leitura da coloração e, posteriormente, a determinação da textura. Os frutos foram cortados e foi retirado o material placentário. Em seguida, foram armazenados a -18°C , para as análises posteriores.

3.2 Análises físicas, físico-químicas, químicas e bioquímicas

3.2.1 Sólidos solúveis totais

Para se determinar o °Brix (sólidos solúveis totais), o fruto foi triturado e o suco obtido foi então colocado em refratômetro digital ATAGO PR-100, com compensação automática de temperatura automática a 25°C . Os resultados foram expressos em °Brix, segundo técnica da Association of Official Agricultural Chemists, AOAC (1992).

3.2.2 Acidez titulável (AT)

Foi determinada por titulação com solução de hidróxido de sódio (NaOH) $0,1\text{Mol.L}^{-1}$ FC 1,0, tendo como indicador fenolftaleína, de acordo com o Instituto Adolfo Lutz (1985). Os resultados foram expressos em porcentagem de ácido cítrico por 100g de fruto.

3.2.3 Relação sólidos solúveis/acidez total titulável

Determinada pela divisão do teor de sólidos solúveis pela acidez total titulável.

3.2.4 pH

Os valores de pH foram determinados no filtrado, utilizando-se pHmetro TECNAL (Tec 3MP), segundo AOAC (1992).

3.2.5 Firmeza

A firmeza da polpa foi determinada com o auxílio de um penetrômetro manual, modelo Mc-Cormik, com ponteira plana de diâmetro 7,94 mm, em dois pontos equidistantes na porção equatorial de cada fruto, após a remoção de pequena porção da casca. Os resultados de firmeza foram expressos em Newton.

3.2.6 Coloração

Utilizou-se colorímetro marca Minolta, modelo CR 400. As leituras dos valores L* e a* foram feitas, em lados opostos, de 7 frutos, em cada repetição, totalizando quatorze leituras por repetição. A coordenada L* representa quão clara ou escura é a amostra, com valores variando de 0 (totalmente preta) a 100 (totalmente branca); a coordenada a* pode assumir valores de -80 a +100, em que os extremos correspondem ao verde e ao vermelho, respectivamente.

3.2.7 Determinação de açúcares totais

Foram extraídos com álcool etílico 70% e determinados pelo método de Antrona (Dische, 1962). Os resultados foram expressos em % de glicose na polpa.

3.2.8 Determinação de pectina total e solúvel

Foram extraídas segundo técnica descrita por McCready & McComb (1952) e determinadaS colorimetricamente, conforme técnica de Bittner & Muir (1962). Os resultados foram expressos em mg de pectina por 100 g de polpa.

3.2.9 Porcentagem de solubilização

Foi determinada pela razão: (pectina solúvel/pectina total) x 100.

3.2.10 Pigmentos carotenóides

Foram extraídos de 1 g do tecido pericárpico com o auxílio de acetona:hexano (4:6) e determinados segundo Nagata e Yamashita (1992). Os teores de licopeno e β -caroteno foram expressos em mg por 100g de polpa, após seu equacionamento:

$$\text{Licopeno} = -0,0458 A_{663} + 0,204 A_{645} + 0,372 A_{505} - 0,0806 A_{453}$$

$$\beta\text{-caroteno} = 0,216 A_{663} - 1,22 A_{645} - 0,304 A_{505} + 0,452 A_{453}$$

sendo: A_{663} , A_{645} , A_{505} , A_{453} as leituras de absorbância nos respectivos comprimentos de onda. Os resultados foram multiplicados por 1.000, para serem expressos em $\mu\text{g}/100\text{g}$ polpa.

3.2.11 Determinação de pectinametilsterase

A atividade enzimática foi determinada pela técnica descrita por Jen e Robinson (1984). O substrato utilizado foi a pectina cítrica a 1% em NaCl 0,1 Mol.L⁻¹, pH 7,0, à temperatura ambiente. A taxa de desmetilação da pectina, adicionada do extrato enzimático, foi medida pela titulação da mistura da reação com NaOH 0,01 Mol.L⁻¹, mantendo-se o pH 7,0 por 10 minutos. Uma unidade de atividade foi considerada como sendo a quantidade de enzima capaz de catalizar a desmetilação de pectina correspondente a um micromol de NaOH por

minuto, nas condições do ensaio. Os resultados foram expressos em unidades por grama de peso fresco ($\mu\text{mol}^{-1}\text{g}^{-1}\text{min}$).

3.2.12 Determinação de poligalacturonase

A extração foi realizada de acordo com a metodologia de Buecher & Furmanski (1978). Amostras de 5g foram trituradas em politron com 50 mL de água destilada gelada, a 4°C. O homogenato resultante foi filtrado em papel de filtro. O resíduo foi lavado mais uma vez com água destilada e, em seguida, ressuspenso em NaCl 1,0 Mol.L⁻¹ e submetido à homogeneização por um minuto. O pH foi ajustado para 6 com NaOH e o novo homogenato foi incubado a 4°C, por uma hora. Depois de incubado, o volume foi completado para 30mL com NaCl 1,0 Mol.L⁻¹ e filtrado com papel de filtro. O sobrenadante constituiu a fonte enzimática. A determinação da atividade enzimática foi realizada segundo Pressey & Avants (1973). O extrato foi incubado com ácido galacturônico 0,25% em tampão acetato de sódio 37,5mM pH 5,0, a 30 °C, por 3 horas. A reação foi interrompida em banho-maria fervente e os grupos redutores liberados determinados pela técnica Somogyi, modificada por Nelson (1944), utilizando-se ácido galacturônico como padrão. Os resultados foram expressos em unidades de atividade de poligalacturonase por minuto ($\mu\text{mol}^{-1}\text{g}^{-1}\text{min}$).

3.3 Determinação dos constituintes da parede celular

3.3.1 Extração da parede celular

A parede celular foi extraída do material (polpa mais casca), pesando-se 50g e triturando-se em homogeneizador de tecidos tipo politron com 200 mL de álcool 92,8%. Em seguida, filtrou-se em organza, lavando-se com álcool 92,8% duas vezes, logo após, com álcool etílico absoluto e, finalmente, com acetona P.A. O processo de extração foi feito com álcool fervente. O material da parede

celular foi colocado em placa de Petri para secagem e armazenado em frascos até a sua utilização, segundo Mitcham & McDonald (1992).

3.3.2 Determinação de poliuronídeos

Em 0,05g do material da parede celular, acrescentaram-se 5ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 72%. Após repouso por 2 horas, à temperatura ambiente, completou-se o volume para 50 mL, com água destilada, filtrando-se em seguida. Para a determinação, utilizou-se o método carbazol e os resultados foram expressos em porcentagem de açúcar péctico, segundo Bitter & Muir (1962), no material da parede celular.

3.3.3 Determinação de celulose

Em 0,05g do material da parede celular, acrescentaram-se 5ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 72%. Após repouso por 2 horas, à temperatura ambiente, completou-se o volume para 50 mL, com água destilada, filtrando-se em seguida. Para a determinação, utilizou-se o método Antrona, segundo Dische (1962) e os resultados foram expressos em porcentagem de açúcar celulósico no material da parede celular.

3.3.4 Determinação de hemicelulose

Em 0,05g do material da parede celular, acrescentaram-se 10 mL de ácido trifluoracético (TFA 2N), permanecendo em banho-maria por 2 horas, a 30°C. Ao findar o tempo, completou-se o volume para 50 ml com água destilada, filtrando-se em seguida. Tomou-se uma alíquota de 1 ml para doseamento, utilizando-se o método antrona, segundo Dische (1962) e resultados expressos em porcentagem de açúcar hemicelulósico no material da parede celular.

3.3.5 Determinação de cálcio ligado à parede celular

Foi determinado após digestão nitroperclórica, por espectrofotometria de absorção atômica, conforme metodologia descrita por Sarruge & Haag (1974).

3.3.6 Derivatização de açúcares neutros da parede celular

Amostras de 1 mg de parede celular foram colocadas em tubos de ensaio rosqueados; adicionaram-se 500 µL de HCl (2 mol L⁻¹ contendo 500 µg de inositol) e vedou-se. Os tubos foram aquecidos, a 121°C, sob agitação por uma hora no *headspace*. Em seguida, o homogenato foi evaporado com N₂ gasoso. Procedeu-se a lavagem com 500 µL de metanol e evaporação com o N₂ gasoso (três vezes). A redução dos polissacarídeos foi feita com ciclohdroxilamina e a acetilação com o anidrido acético. Para a redução, adicionaram-se 250 µL de ciclohdroxilamina contendo 20g para 1 litro de piridina. Posteriormente, esta solução foi mantida a 121°C, por 10 minutos, sob agitação no *headspace*. Adicionaram-se 500 µL de anidrido acético para promover a acetilação dos polissacarídeos. A solução foi mantida a 121°C, por 20 minutos, sob agitação, no *headspace*. Depois de resfriada, a amostra foi injetada no cromatógrafo (Guerreiro, 2009)*.

3.3.7 Cromatografia gasosa associada à espectrometria de massas

Injetou-se 1 µL das amostras derivatizadas no cromatógrafo a gás GCMS-QP 2010 Shimadzu (Gas Chromatograph mass spectrometer) com coluna capilar OV-DB 225, 0,25 mm de diâmetro interno e 25 m de comprimento. Os gases utilizados foram o hidrogênio, como gás de queima, o ar sintético, como mantedor da chama e o “make up”, uma mistura de hidrogênio e nitrogênio (30 mL.min⁻¹). A pressão da coluna foi de 21psi, o fluxo da coluna de

* GUERREIRO, M.C. Metodologia para determinação cromatográfica de açúcares neutros de parede celular. Lavras: UFLA/DQI, 2009. Dados não publicados.

1,0 mL.min⁻¹ e a do gás de arraste, 30 mL.min⁻¹. Foram utilizadas as seguintes temperaturas: coluna 225°C, injetor 250°C e detector de 300°C. Utilizou-se como padrão uma mistura dos açúcares ramnose, fucose, arabinose, manose, galactose, glicose e inositol (padrão interno), todos na concentração de 1mg.mL⁻¹ (Guerreiro, 2009)*.

3.4 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, em que cada bloco representou uma repetição, em esquema fatorial 4x4. O primeiro fator refere-se às doses de ácidos húmicos e o segundo, aos diferentes substratos: S₁ = fibra de coco; S₂ = fibra de coco + casca de café carbonizada - 1/3 (v/v); S₃ = fibra de coco + casca de café carbonizada - 2/3 (v/v) e S₄ = casca de café carbonizada. As parcelas foram constituídas por nove plantas, sendo as amostras retiradas de cinco plantas centrais em cada parcela. Como fonte de ácidos húmicos foi utilizado o produto comercial Codahumus 20 (ácido fúlvico 10,2% p/p e ácido húmico 10,0% p/p e 0,65 de N p/p), aplicados quinzenalmente, a partir do oitavo dia após o transplântio, nas dosagens de 0, 20, 40 e 80 L.ha⁻¹, diretamente nos substratos.

Os resultados de cada característica avaliada foram submetidos à análise de variância, para testar o efeito de cada um dos dois fatores e a interação entre eles. Quando houve efeito significativo da interação entre os fatores foi feito um teste de média para definir qual era o melhor tratamento. Já quando não houve efeito significativo da interação, os fatores foram analisados separadamente, fazendo análise de regressão quando ocorreu o efeito significativo das doses de ácidos húmicos e teste de médias quando houve efeito dos diferentes substratos. Para realizar as análises estatísticas foi utilizado o software R.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Produção dos frutos

De acordo com os resultados, observou-se que não houve efeito significativo dos ácidos húmicos sobre a produção de frutos pequenos (FP), médios (FM), grandes (FG) e não-comerciais (FNC). Porém, os substratos orgânicos promoveram efeito significativo sobre a produção de frutos grandes, frutos comerciais (FC) e produção total (PT), não havendo diferença entre FP, FM e FNC (Tabela 3). O substrato constituído apenas pela fibra de coco (S1) apresentou produção de 9,36% de frutos pequenos, 37,90% de frutos médios, 49,90% de frutos grandes e 2,85% de frutos não-comerciais. Já o substrato que apresentava só a casca de café carbonizada (S4), determinou a produção de apenas 21% de frutos grandes (Tabela 3).

TABELA 3 Produção média de tomate, pequenos (FP), médios (FM), grandes (FG), não-comerciais (FNC), comercial (FC) e produção total (PT).

| Tratamentos | FP | FM | FG (t/ha) | FNC | FC | PT |
|-------------|-------|-------|--------------|-------|-----------|----------|
| S1 | 15,61 | 63,19 | 83,20 a | 4,75 | 157,17 a | 166,83a |
| S2 | 17,10 | 58,36 | 47,00 b | 4,89 | 117,84 b | 127,20b |
| S3 | 18,15 | 59,43 | 36,91 b | 4,58 | 108,87 bc | 115,54bc |
| S4 | 19,60 | 61,21 | 2,80 c | 5,40 | 99,07 c | 102,74c |
| Média | 17,62 | 60,55 | 47,48 | 4,91 | 120,74 | 125,64 |
| CV (%) | 25,33 | 16,63 | 24,29 | 35,21 | 10,68 | 10,94 |

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade; S – substratos orgânicos: S1 = fibra de coco (FC); S2 = FC + casca de café carbonizada (CC) 2:1, (v/v); S3 = FC + CC, 1:2 (v/v); S4 = CC; v/v – volume/volume.

Fontes et al. (2004), trabalhando com substratos constituídos de areia e areia + composto, não observaram diferença significativa com relação à

produção de frutos pequenos e grandes (17,15 e 7,925 t.ha⁻¹), exceto para a produção de frutos médios (77,23 t.ha⁻¹).

No presente estudo, à medida que houve o incremento de casca de café carbonizada nos tratamentos, ocorreu redução significativa de frutos grandes, da produção total e comercial, provavelmente devido ao aumento da condutividade elétrica (CE) de 3,81 para 5,61 mS.cm⁻¹ e da granulometria das partículas, resultando em menor capacidade de retenção de água dos substratos, influenciando na absorção de nutrientes (Tabela 2).

Segundo Alvarenga (2004), o limite máximo de salinidade expressa pela CE do solo para o tomateiro é de 2,5 mS.cm⁻¹, ocorrendo diminuição de rendimento de 10% para cada acréscimo de 1,0 mS.cm⁻¹, acima do limite de tolerância. A produção média de frutos não comerciais não foi afetada nos diferentes tratamentos (Tabela 3). Os frutos não-comerciais constituídos especialmente por deficiência de cálcio ou podridão apical apresentaram produção média de 4,91 t.ha⁻¹. Carrijo et al. (2004) observaram que as maiores perdas de frutos devido à podridão apical ocorreram especialmente no substrato de casca de arroz parcialmente carbonizada (15,5 frutos.m⁻²).

A produção média de frutos comerciais com a fibra de coco (S1), de 157,17 t.ha⁻¹, foi significativamente superior à dos demais tratamentos. A produção total do tomateiro cultivado com a casca de café carbonizada (S4) foi significativamente inferior à dos demais tratamentos, com média de 99,07 t. ha⁻¹ (Tabela 3). De acordo com Carrijo et al. (2004), com a utilização de fibra de coco como substrato, na condução das cultivares TX e Larissa, a produção média de frutos comerciais foi de 104 t.ha⁻¹.

O substrato S1 apresentou diferença significativa em relação aos demais tratamentos na produção total de frutos, com 166,83 t.ha⁻¹. Os tratamentos S2 e S3 apresentaram produção total média de 127,09 e 108,14 t.ha⁻¹, respectivamente (Tabela 3). A produtividade está relacionada ao tipo de

substrato (granulometria das partículas, capacidade de retenção de água, drenagem, condutividade elétrica), ao tipo de cultivar e à aplicação de solução nutritiva equilibrada (Carrijo et al., 2004).

4.2 Sólidos solúveis

De acordo com os resultados observados, os teores de sólidos solúveis de tomate cultivar Vênus não foram influenciados significativamente pelos fatores ácidos húmicos, substratos orgânicos e nem pela interação entre eles. O valor médio encontrado para a variável foi de 4,31°Brix. Yildirim (2007), ao realizar adubação foliar e do solo do tomateiro com ácidos húmicos, obteve um aumento significativo no teor de sólidos solúveis do tomate. Tal estudo revelou que uma concentração de ácidos húmicos de 20ml.L⁻¹ poderá ser utilizada com sucesso para se obter frutos com melhor crescimento e também um aumento na produtividade.

Carvalho et al. (2005), ao estudarem quatro cultivares de tomate cultivados em substrato e em ambiente protegido, encontraram média de 4,37 °Brix, tendo a cultivar Andréa apresentado média de 5,05 °Brix. Fontes et al. (2004), trabalhando com tomates 'Carmen' cultivados em substrato constituído de composto + areia + fertilizantes em ambiente protegido e no campo, registraram valor médio de SS de 4,82 °Brix. Vale ressaltar que as características ambientais exercem grande influência sobre os teores de SS de frutos do tomateiro.

Caliman et al. (2008), utilizando três cultivares de tomate, BHG-320, Carmen e Santa Clara, observaram que frutos cultivados em ambiente protegido apresentaram menores valores de SS, comparados com frutos cultivados em ambiente aberto. Maiores valores de °Brix estão relacionados à síntese e ao acúmulo de açúcares no fruto, devido à maior luminosidade (aproximadamente 25% superior) em relação ao cultivo no ambiente protegido. Outros fatores,

como cultivar, local, época de colheita, estresse hídrico antes da colheita, idade da planta e práticas culturais, podem afetar a produção de SS (Davies & Hobson, 1981).

4.3 Acidez titulável

A acidez titulável apresentou valor médio de 0,37%. Esta variável não sofreu influência das doses crescentes de ácidos húmicos, dos substratos nem da interação entre os ácidos húmicos e tipos de substratos orgânicos. Fontes et al. (2004) não encontraram diferença nos valores de acidez dos tomates cultivados em ambiente aberto e no ambiente protegido; os tratamentos apresentaram uma média de 0,46%. Carvalho et al (2005) encontraram valores de acidez titulável variando de 0,38% a 0,40%, próximos aos encontrados no presente trabalho. Ferrara et al. (2007), ao fazerem aplicação foliar de ácidos húmicos em uvas 'Itália', observaram que concentrações de 20mg.L⁻¹ induziram uma diminuição da acidez titulável dos frutos, contrastando com o efeito dos ácidos húmicos no presente trabalho. Já Yildirim (2007) afirma que o tratamento com os ácidos húmicos na concentração de 20ml.L⁻¹ não teve qualquer efeito sobre a acidez do tomate. De acordo com os resultados obtidos, os fatores que poderiam estar influenciando o percentual de ácido cítrico são atribuídos à concentração iônica da solução nutritiva e à diminuição da radiação solar, visto que o cultivo realizado em ambiente protegido afeta o metabolismo de fotoassimilados.

4.4 pH

Os valores de pH foram afetados significativamente apenas pelas doses de ácidos húmicos. O resultado da regressão apresentou resposta ascendente até a dose de 14,90 L. ha⁻¹ de ácidos húmicos e, em seguida, resposta descendente até a dosagem de 56,67 L. ha⁻¹, ocorrendo, posteriormente, elevação dos valores até 80L. ha⁻¹ de ácidos húmicos (Figura 6).

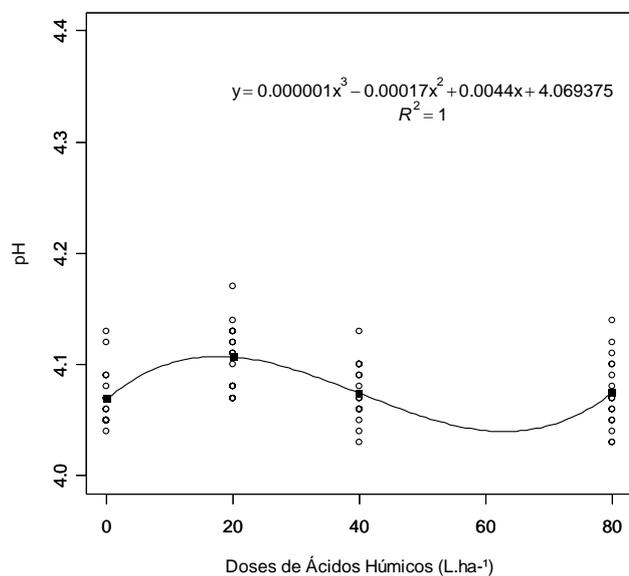


FIGURA 6 Representação gráfica da curva e da equação de regressão dos valores médios de pH de tomates, em função das doses de ácidos húmicos.

De acordo com Yildirim (2007), a aplicação foliar ou no solo de ácidos húmicos, na concentração de 20 mg.L⁻¹, não foi capaz de promover qualquer alteração nos valores de pH de tomates. Carvalho et al. (2005) encontraram valores de pH entre 4,11, para a cultivar Andréa e 4,43 para a cultivar Carmen. Fontes et al. (2004), trabalhando com tomates cultivados em substrato no campo e em ambiente protegido, não observaram diferença nos valores de pH, encontrando valor médio de 4,0. A aplicação foliar de ácidos húmicos em uvas “Itália” não produziu qualquer efeito nos valores de pH dos frutos (Ferrara et al., 2007), diferindo dos resultados encontrados no presente trabalho.

A resposta das plantas aos ácidos húmicos está na dependência da matéria-prima original e, principalmente, da espécie vegetal que está sendo aplicada. Matérias-primas orgânicas diversas apresentam, em sua composição,

ácidos húmicos e fúlvicos diferentes, bem como distintas concentrações destes ácidos húmicos e fúlvicos (Brun, 1993).

4.5 Relação sólidos solúveis/acidez titulável

No presente trabalho, observou-se que a relação SS/AT não foi influenciada pelas doses de ácidos húmicos, pelos substratos orgânicos nem pela relação ácidos húmicos e substratos orgânicos. Os frutos apresentaram valor médio de 12,10 para a relação SS/AT.

Stevens et al. (1977) observaram que frutos de tomateiro que ganharam a preferência de consumidores foram os que apresentaram relação de sólidos solúveis e acidez titulável entre 13,0 e 15,0, porém, com teores mais elevados, tanto para açúcares quanto de ácidos. Caliman et al. (2008) observaram que os frutos do tomateiro cultivados em campo apresentaram maior relação SS/AT, quando comparados aos frutos cultivados em ambiente protegido, apresentando as respectivas médias de 16,82 e 12,07. Abdel-Mawgoud et al. (2007) encontraram maiores valores de SS em frutos do tomateiro, quando estes receberam a aplicação foliar de ácidos húmicos na dose de $75\text{g}\cdot 100\text{L}^{-1}$ do produto comercial, indicando uma relação positiva com o teor de assimilados produzidos pela planta.

De acordo com Nannipieri et al. (1993), um dos efeitos da ação dos ácidos húmicos no metabolismo da plantas é o aumento da fotossíntese. Com isso ocorrerá maior taxa de assimilados nas folhas e, conseqüentemente, maior exportação para os frutos, aumentando o teor de SS. No entanto, no presente estudo não foi observada a ação dos ácidos húmicos na relação SS/AT.

O balanço entre acidez e açúcares é extremamente importante, do ponto de vista sensorial, visto que esses compostos são os principais responsáveis pelo sabor característico do tomate. A relação sólidos solúveis/acidez titulável é comumente utilizada como parâmetro de comparação entre frutos de diferentes

origens ou cultivares e essa relação pode ser influenciada pelo clima, pela cultivar e por práticas culturais (Sadler & Murphy, 1998).

Os ácidos húmicos apresentam diferentes ações de acordo com a matéria-prima original e os estudos realizados anteriormente podem ter sido feitos com matérias potencialmente mais ricas em ácidos húmicos, além do que aplicações de um produto mais concentrado em substâncias húmicas.

4.6 Açúcares solúveis totais

O conteúdo de açúcares solúveis totais dos frutos do tomateiro cultivar Vênus foi influenciado significativamente pela interação ácidos húmicos x substratos orgânicos.

Os teores de açúcares solúveis totais dos frutos cultivados no S3 decresceram com o aumento na dosagem de ácidos húmicos (Figura 7). Efeito inverso foi obtido nos frutos cultivados no S1, S2 e S4, apresentando um leve aumento nos teores de açúcares com a aplicação crescente de ácidos (Figura 7).

Nannipieri et al. (1993) afirmam que as substâncias húmicas são capazes de promover um aumento da fotossíntese e, conseqüentemente, maior produção de fotoassimilados e maior assimilação pelos frutos. Mato et al. (1972) afirmam haver associação entre enzimas e substâncias húmicas e o resultado desta associação leva ao estímulo da síntese de enzimas como a invertase. Esta síntese poderá estar contribuindo para uma maior porcentagem de açúcares totais do presente estudo.

O menor valor médio de açúcares solúveis totais foi encontrado em frutos cultivados no S1 e sem a aplicação de ácidos húmicos (1,53%) (Figura 7).

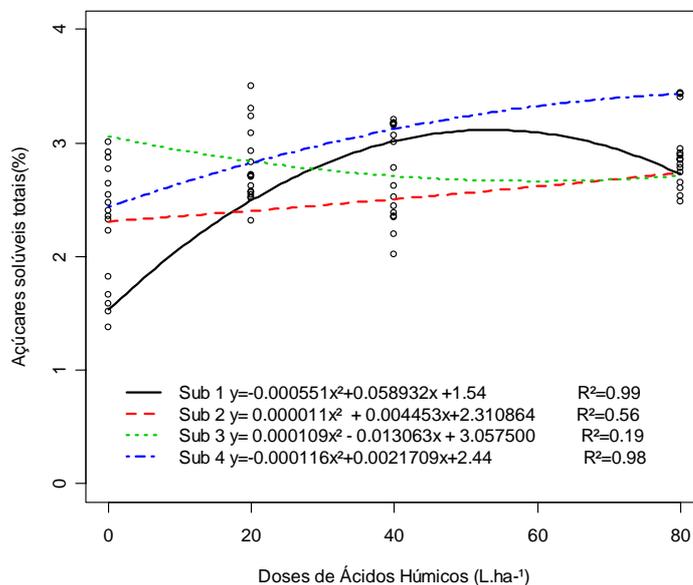


FIGURA 7 Representação gráfica da curva e da equação de regressão dos valores médios de açúcares solúveis totais (%), em função das doses de ácidos húmicos e dos diferentes substratos orgânicos. Sub1= fibra de coco; Sub2 = fibra de coco + casca de café carbonizada 1/3 (v/v); Sub3 = fibra de coco + casca de café carbonizada 2/3 (v/v); e Sub4 = casca de café carbonizada.

Filgueiras (1996) encontrou valores variando de 2,01% a 2,56%, entre homozigotos Flora Dade, “alcobaça” e seus híbridos heterozigotos no estágio de maturação maduro. Vilas Boas (1998), ao estudar três pares de híbridos isogênicos, encontrou média de 2,47%, valor próximo ao encontrado no presente estudo.

A presença de concentrações adequadas de açúcares solúveis e ácidos orgânicos determina o desenvolvimento do sabor do fruto e afeta diretamente a qualidade do produto. Hobson & Davies (1971) afirmam que as cultivares comerciais de tomate têm entre 1,5% e 4,5% de açúcares na matéria fresca, isto é, cerca de 65% dos sólidos solúveis totais. Dentre os fatores ambientais, Davies

& Hobson (1981) dizem que é provável que a luz tenha o efeito mais acentuado sobre a concentração de açúcares em tomates e que o leve sombreamento causado pelas folhas pode interferir nos seus teores.

4.7 Coloração

Um dos atributos que influenciam na aceitação dos tomates pelo consumidor consiste na sua coloração. De acordo com os resultados, não houve ação dos ácidos húmicos, dos diferentes substratos e nem da interação ácidos húmicos e substratos orgânicos nas variáveis a^* e L^* e na quantidade de β caroteno dos frutos do tomateiro cultivar Vênus. López Camelo & Gómez (2004) afirmam que o amadurecimento dos frutos do tomateiro é acompanhado por uma coloração mais escura, ou seja, apresenta decréscimo do valor L^* .

Os teores de licopeno do tomate cultivar Vênus foram significativamente influenciados pela interação doses de ácidos húmicos e substratos orgânicos (S2 e S3).

De acordo com os resultados da análise de regressão da interação entre os fatores, a equação que se ajustou melhor para o teor de licopeno do tomate cultivado em substrato orgânico e com aplicação de ácidos húmicos foi a quadrática (Figura 8).

Pelo gráfico da Figura 8 é possível observar que os tomates cultivados no S2 apresentaram uma ascendência nos teores de licopeno com aplicação de doses crescentes de ácidos húmicos. No entanto, os frutos cultivados no S3 apresentaram queda na pigmentação dos frutos quando estes receberam aplicação de ácidos húmicos superior a $39,92 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$. Observa-se que o S2, com uma aplicação de $80 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$, promoveu maior pigmentação nos frutos, registrando média de $873,29 \mu\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ (Figura 8).

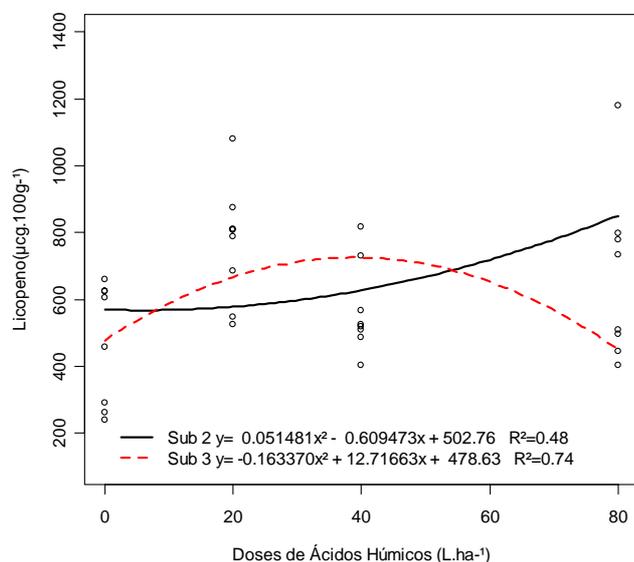


FIGURA 8 Representação gráfica da curva e da equação de regressão dos valores médios de Licopeno, em função das doses de ácidos húmicos e dos diferentes substratos orgânicos. Sub 2 = fibra de coco + casca de café carbonizada 1/3 (v/v) - Sub 3 = fibra de coco + casca de café carbonizada 2/3 (v/v).

Segundo Maccarthy et al. (1990), está estabelecido que as substâncias húmicas promovem maior absorção de macro e microelementos, dentre os quais se destaca o potássio. O potássio assume importante papel para a cultura do tomate, considerando sua atuação na síntese de carotenoides, principalmente o licopeno (Johjima, 1994). Tal evento poderia estar contribuindo com o aumento de licopeno observado no presente estudo, com uma aplicação de ácidos húmicos.

Vilas Boas et al. (1998), ao estudarem híbridos isogênicos de tomates, encontraram valores de licopeno variando de 572,50 a 750, 50 $\mu\text{g}.100^{-1}\text{g}$.

Filgueiras (1996) encontrou teores de licopeno para a cultivar Flora Dade, no estágio vermelho maduro de $450 \mu\text{g} \cdot 100^{-1}\text{g}$ de polpa.

4.8 Firmeza

A firmeza dos tomates cultivar Vênus foi significativamente influenciada pela interação entre as doses de ácidos húmicos e os substratos orgânicos S1 e S3.

De acordo com os resultados, observa-se que o S1 apresenta aumento quadrático ascendente na sua firmeza, quando recebe doses crescentes de ácidos húmicos. Já o S3 apresentou redução quadrática descendente quando foi feita a aplicação crescente de doses de ácidos húmicos (Figura 9).

Essa divergência na resposta à aplicação dos ácidos húmicos possivelmente se deve à interação dos grupos funcionais hidroxilas e carbonilas presentes nos ácidos húmicos com o substrato.

O substrato constituído pela fibra de coco, apresenta maior capacidade de retenção e disponibilidade de água quando comparado com a casca de café carbonizada. Portanto, maior disponibilização de água facilita o transporte unidirecional de Ca pelo xilema, via corrente transpiratória, das raízes para a parte aérea (Alvarenga, 2004). Este cálcio poderá estar contribuindo para a manutenção da estrutura celular, conferindo ao fruto maior firmeza.

Um dos fatores que afetam a firmeza da polpa é a quantidade de potássio disponível para a planta. O potássio é responsável pela manutenção da consistência dos tecidos e do maior tempo de conservação pós-colheita dos mesmos (Wilcox, 1964). De acordo com Maccharthy et al. (1990), dentre as ações dos ácidos húmicos no metabolismo das plantas destaca-se o aumento da absorção de K, o que poderia estar contribuindo para o aumento da firmeza dos frutos com a aplicação de ácidos húmicos e cultivados no S1.

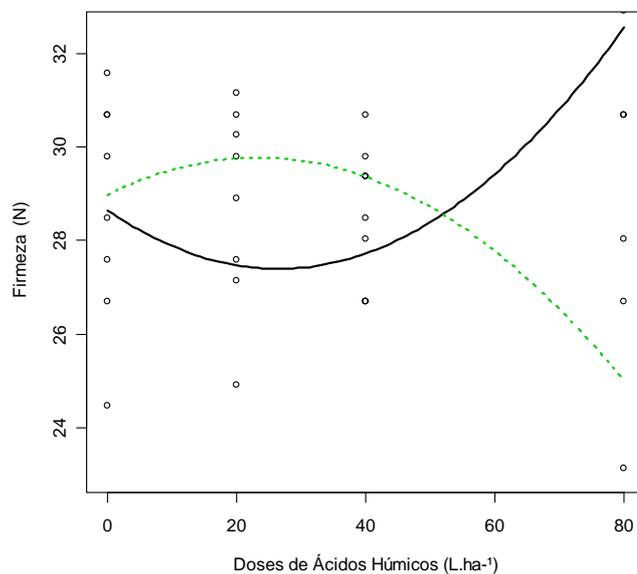


FIGURA 9 Representação gráfica da curva e da equação de regressão dos valores médios de firmeza (N), em função das doses de ácidos húmicos e dos diferentes substratos orgânicos. Sub1= fibra de coco; Sub3 = fibra de coco + casca de café carbonizada 2/3 (v/v).

Segundo Zaller (2006), os ácidos húmicos extraídos de vermicompostagem e aplicados nas folhas de tomateiros apresentaram comportamentos distintos de acordo com a cultivar. Observou-se que a cv. M apresentou maior firmeza quando recebeu a aplicação dos ácidos húmicos. No entanto, a cv. RR, quando recebeu aplicação dos ácidos húmicos, apresentou redução de sua firmeza.

Carvalho et al. (2005) encontraram valores de firmeza variando de 8,89N, para a cv. Débora Max, a 12,75N, para a cv. Diana. Maiores valores foram obtidos por Brackman et al. (2007) que encontraram média de 24N para os tomates parcialmente maduros e 19N para os tomates maduros.

A firmeza é um dos mais importantes atributos da qualidade de frutos de tomate para consumo *in natura* e para o cultivo industrial. De acordo com Ahrens & Huber (1990), esta é uma característica de conservação pós-colheita essencial durante o transporte e a comercialização dos frutos, também relacionada com a capacidade de armazenamento ou vida útil pós-colheita.

4.9 Porcentagem de solubilização péctica

Quanto à porcentagem de solubilização das pectinas, observou-se que esta foi influenciada significativamente pela interação entre ácidos húmicos e substratos orgânicos.

Conforme os resultados apresentados, as equações que se ajustaram melhor para a variável porcentagem de solubilização dos frutos do tomateiro cultivados em diferentes substratos orgânicos e submetidos à aplicação de ácidos húmicos foi a quadrática (Figura 10). Pelas curvas é possível observar que houve redução nos percentuais médios de solubilização, com a aplicação de ácidos húmicos, superior a $36,40 \text{ L.ha}^{-1}$, para o S1, S2 e S4. No entanto, o S3 aumentou os percentuais médios de solubilização com doses de ácidos húmicos superiores a $45,64 \text{ L.ha}^{-1}$ (Figura 10).

Obtiveram-se maiores valores médios da porcentagem de solubilização (51,32%) nos frutos cultivados no S2 e com a aplicação de 40 L.ha^{-1} . Já os menores valores médios de porcentagem de solubilização (23,96%) foram obtidos nos frutos cultivados no S4, com a aplicação de 40 L.ha^{-1} (Figura 10).

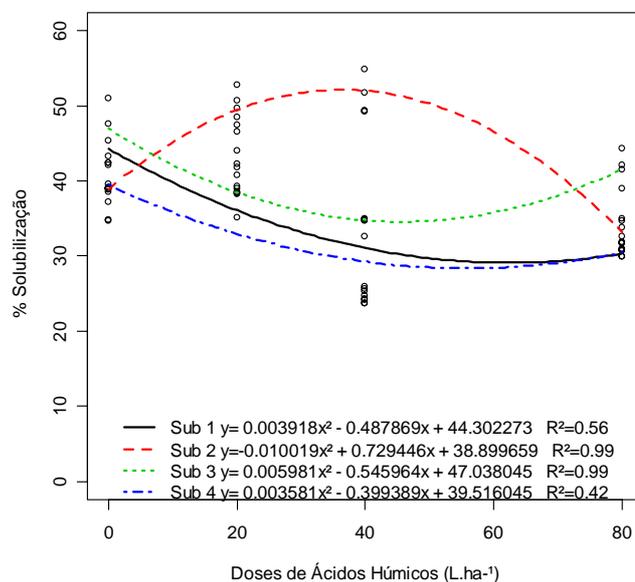


FIGURA 10 Representação gráfica da curva e da equação de regressão dos valores médios de solubilização (%), em função das doses de ácidos húmicos e dos diferentes substratos orgânicos. Sub1= fibra de coco; Sub2 = fibra de coco + casca de café carbonizada 1/3 (v/v); Sub3 = fibra de coco + casca de café carbonizada 2/3 (v/v); e Sub4 = casca de café carbonizada.

Macêdo & Alvarenga (2005) encontraram valores de porcentagem de solubilização variando de 22,50% a 31,82%, enquanto Resende et al. (2004) observaram valores entre 21,52% e 48,09% de solubilização.

A firmeza dos frutos cultivados no S1 e S3 ,com a aplicação de doses crescentes de ácidos húmicos, associou-se positivamente com os teores de pectina solúvel e porcentagem de solubilização. Observou-se que, com o aumento na concentração de ácidos húmicos, aqueles frutos que apresentaram maior porcentagem de solubilização e maior conteúdo de pectina solúvel apresentaram menor firmeza, reafirmando a relação existente entre solubilização das substâncias pécnicas e redução na textura do fruto.

4.10 Atividade enzimática

4.10.1 Pectinametilesterase

A atividade da enzima pectinametilesterase foi influenciada significativamente pela interação entre ácidos húmicos e diferentes substratos orgânicos.

As equações que melhor se ajustaram às variações dos teores de PME foram a quadrática, para o S2, S3 e S4 e a cúbica, para os substratos S1 (Figura 11).

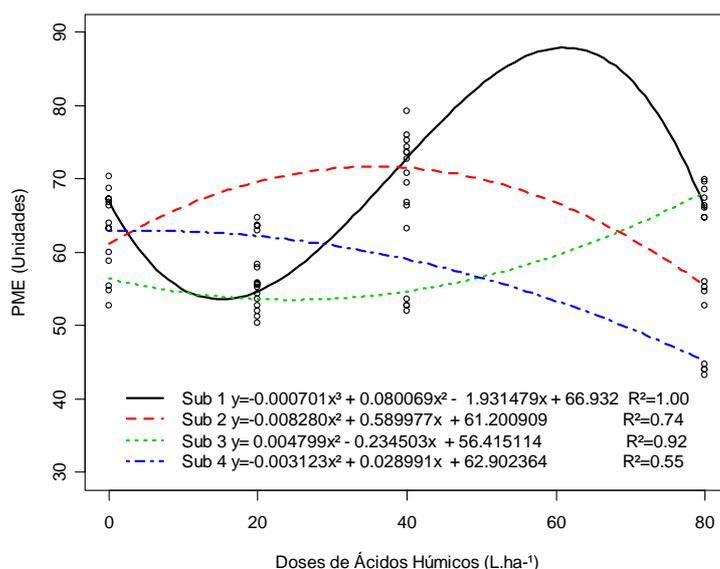


FIGURA 11 Representação gráfica da curva e da equação de regressão dos valores médios de PME (unidades), em função das doses de ácidos húmicos e dos diferentes substratos orgânicos. Sub1= fibra de coco; Sub2 = fibra de coco + casca de café carbonizada 1/3 (v/v); Sub3 = fibra de coco + casca de café carbonizada 2/3 (v/v); e Sub4 = casca de café carbonizada.

Pelo gráfico da Figura 11 é possível observar que os frutos cultivados no S2 e S4 apresentaram redução nos valores de PME com a aplicação crescente de ácidos húmicos; já aqueles cultivados no S3 apresentaram ascensão de seus valores com a aplicação dos ácidos húmicos. Frutos cultivados no S1 apresentaram comportamento descrito pela equação cúbica, em que se observou que uma dose superior a $15,02\text{L}\cdot\text{ha}^{-1}$ aumentou a atividade da PME e uma dose superior a $61,24\text{L}\cdot\text{ha}^{-1}$ provocou redução nos valores da atividade enzimática (Figura 11). Diante do exposto, observa-se que doses de ácidos húmicos de $80\text{L}\cdot\text{ha}^{-1}$ foram capazes de reduzir a atividade enzimática média dos frutos cultivados em S1, S2 e S4

Façanha et al. (2002) afirmam que os ácidos húmicos de massa aparentemente elevada (pelo menos maior que 14 kDa), isolados de vermicomposto, promoveram estímulos sobre a atividade de hidrólise e transporte de H^+ das H^+ -ATPases de MP isoladas de raízes de plantas mono e dicotiledôneas. O mesmo autor observou aumento na síntese de H^+ -ATPase, induzido por ácidos húmicos e postularam um mecanismo pós-transcricional via ativação de genes Mha1 e Mha2, da mesma forma como as auxinas disparam a síntese das H^+ -ATPases de MP.

Provavelmente essa redução na atividade enzimática da PME está relacionado com o aumento no conteúdo de açúcares com a aplicação crescente de ácidos húmicos, visto que, de acordo com Jiang et al. (2003), substâncias tais como sacarose, maltose e glicose agem por meio de inibição não competitiva aos sítios de ligação da PME.

A maior atividade da enzima foi encontrada quando os frutos foram cultivados no S2 e receberam a aplicação de $40\text{L}\cdot\text{ha}^{-1}$ de ácidos húmicos. Já a menor média da atividade enzimática ($44,00\ \mu\text{mol}^{-1}\text{g}^{-1}\text{min}$) foi obtida quando os frutos foram cultivados no S4 e receberam a aplicação de $80\text{L}\cdot\text{ha}^{-1}$ (Figura 11).

Filgueiras (1996), ao trabalhar com híbridos de tomate heterozigotos no loco “*alcobaça*” encontrou valores da atividade da PME oscilando entre 9,42 $\mu\text{mol/g/min}$, para frutos no estágio “breaker” a 71,66 $\mu\text{mol}^{-1}\text{g}^{-1}\text{min}$, para os frutos vermelho maduro. Já Vilas Boas et al. (2000) observaram média de 36,40 $\mu\text{mol}^{-1}\text{g}^{-1}\text{min}$. Segundo Resende et al. (2004), durante o amadurecimento de tomates do grupo multilocular, há um aumento da atividade enzimática de PME do estágio verde maduro para o “breaker”, no entanto, a atividade enzimática volta a níveis normais após este estágio.

Abu-Sarra & Abu-Goukh (1992) afirmam que a PME catalisa a desesterificação dos resíduos de galacturonosil presentes no polímero homogalacturonano de ácido galacturônico, no qual o grupo carboxílico se encontra metilesterificado, atuando nos finais redutores e no interior das cadeias pécticas com alto grau de esterificação, reduzindo seu peso.

De acordo com Ali (2004), a importância da PME no amaciamento dos frutos é ampliada quando se considera que essa enzima pode contribuir, direta ou indiretamente, para a ação de outras, ao criar um ambiente iônico adequado ou, possivelmente, ao modificar a porosidade da parede celular, favorecendo, dessa forma, o acesso de outras enzimas aos seus substratos potenciais.

4.10.2 Poligalacturonase

A atividade da enzima poligalacturonase nos frutos do tomateiro cv. Vênus foi influenciada significativamente pela interação entre os ácidos húmicos e os diferentes substratos orgânicos.

Conforme os resultados obtidos, observa-se que as equações que melhor se ajustaram à atividade da poligalacturonase dos frutos do tomateiro cultivar Vênus foram a quadrática, para o substrato S1, S3 e S4 e a cúbica, para o S2 (Figura 12).

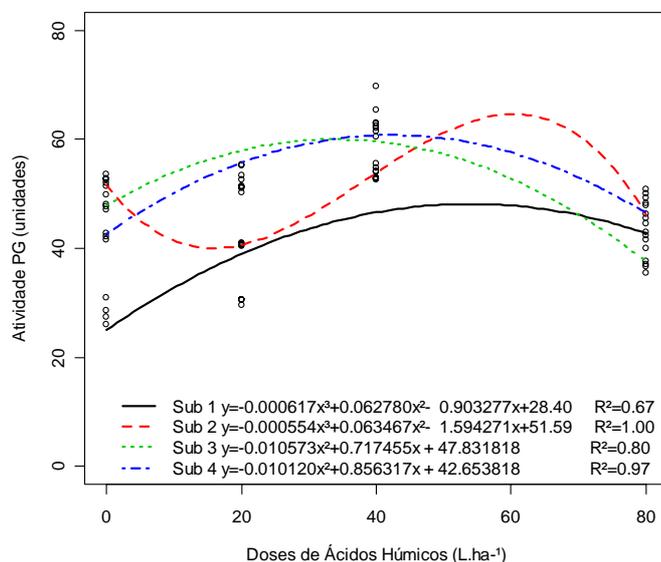


FIGURA 12 Representação gráfica da curva e da equação de regressão dos valores médios de PG (unidades), em função das doses de ácidos húmicos e dos diferentes substratos orgânicos. Sub1= fibra de coco; Sub2 = fibra de coco + casca de café carbonizada 1/3 (v/v); Sub3 = fibra de coco + casca de café carbonizada 2/3 (v/v); e Sub4 = casca de café carbonizada.

Os frutos cultivados no S1, S3 e S4 apresentaram redução da atividade enzimática quando receberam dosagens superiores a 54 L.ha⁻¹ de ácidos húmicos. Esta redução na atividade enzimática da poligalacturonase pode ser atribuído a uma menor desesterificação dos ácidos galacturônicos pela ação da PME, visto que a PG só catalisa a hidrólise das ligações α 1 \rightarrow 4 do ácido galacturônico quando desesterificados (Fischer & Bennett, 1991).

O S2 apresentou comportamento distinto dos demais substratos, visto que há um aumento nos valores da atividade enzimática com a aplicação de doses superiores a 7,46 L.ha⁻¹ e posterior redução da atividade enzimática com doses superiores a 69,75 L.ha⁻¹ (Figura 12). É possível observar que doses de

ácidos húmicos de 80L.ha⁻¹ foram capazes de reduzir a atividade da poligalacturonase dos frutos, independentemente do substrato utilizado no cultivo.

Observa-se que a menor atividade da enzima foi obtida nos tomates cultivados no S1 sem a aplicação dos ácidos húmicos, apresentando valores médios de 28,24 unidades, enquanto a maior atividade enzimática foi encontrada nos tomates cultivados no S3, com a aplicação de 40L.ha⁻¹ de ácidos húmicos, com valor médio de 64,64 unidades (Figura 12).

De acordo com Almeida & Huber (1999), a atividade da poligalacturonase é dependente da condição ambiente do apoplasto do pericarpo dos frutos. Os mesmos autores afirmam que, durante o amadurecimento do tomate, o pH diminui e os níveis de alguns íons aumentam, principalmente o K⁺, no apoplasto, podendo interferir diretamente na atividade das enzimas responsáveis pela degradação da parede celular. Em frutos no estágio de maturidade 1, o apoplasto apresenta pH de 6,7 e 13 mM de K⁺, enquanto frutos totalmente maduros apresentam pH de 4,4 e 37 mM de K⁺. A máxima atividade da poligalacturonase observada experimentalmente foi medida em condições de pH de 4,5 e 100 mM de K⁺ (Chun & Huber, 1998).

Filgueiras (1996) encontrou, para os tomates híbridos heterozigotos no loco “*alcobaça*”, variação na atividade da PG de 1,60 a 70,01 unidades durante o amadurecimento. Vilas Boas et al. (2000), também trabalhando com híbridos de tomate heterozigotos no loco “*alcobaça*”, obtiveram variação de 0,14 a 26,53 unidades.

Entretanto, para o maior entendimento do efeito dos ácidos húmicos e dos substratos orgânicos na ação da PG seriam necessários mais estudos, visto que esta enzima ocorre em uma variedade de isoenzimas, com tempos e substratos específicos de atuação.

4.11 Hemicelulose

Os teores de hemicelulose foram influenciados significativamente apenas pelas doses de ácidos húmicos. Conforme os resultados apresentados, a equação que melhor se ajusta para os teores de hemicelulose nas diferentes doses de ácidos húmicos é a quadrática (Figura 13).

Observa-se, pelo gráfico da Figura 13, que o percentual médio de hemicelulose sofre um declínio com um aumento crescente de ácidos húmicos, a partir da dose de 19,83 L.ha⁻¹. Uma das possíveis causas da redução nos valores médios de hemiceluloses pode ser devido a um aumento das enzimas responsáveis pela degradação hemicelulósica, tais como endo-glucanases, como a (1→4)-β-glucanases e a β-galactosidase com atividade de β-galactanase.

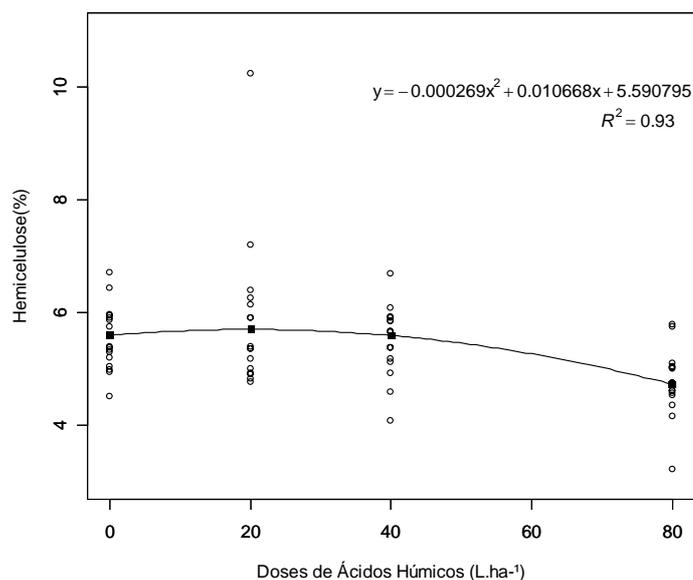


FIGURA 13 Representação gráfica da curva e da equação de regressão dos valores médios de hemicelulose de tomates, em função das doses de ácidos húmicos.

Vilas Boas (1998) encontrou média de 7,84% de hemicelulose, em tomates heterozigotos no loco “*alcobaça*”, valor superior ao encontrado no presente trabalho (5,39%, em média).

As hemiceluloses são polissacarídeos flexíveis constituídos por açúcares neutros que, caracteristicamente, ligam-se à superfície da celulose e interagem com as substâncias pécticas (Taiz & Zeiger, 2004). De acordo com Fischer & Bennet (1991), além de oferecer proteção à estrutura da celulose, as moléculas de hemicelulose podem também formar ligações entre fibrilas adjacentes. Os mesmos autores afirmam que as mudanças na estrutura hemicelulósica associadas ao amadurecimento são importantes na determinação das mudanças texturais dos frutos, embora as bases bioquímicas do *turnover* hemicelulósico ainda não estejam caracterizadas.

4.12 Celulose

O percentual de celulose nos tomates da cultivar Vênus foi influenciado significativamente apenas pelas doses de ácidos húmicos. De acordo com os resultados obtidos, a equação que justifica a variação dos teores de celulose em função das doses de ácidos húmicos foi a quadrática (Figura 14). Por meio da equação, observa-se que o percentual de celulose aumenta até a dose de 22,27L.ha⁻¹ de ácidos húmicos e, a partir dessa dosagem, observa-se uma queda nos valores da celulose (Figura 14).

Esta queda no valor de celulose coincide com a queda nos valores de hemicelulose quando os tomates receberam a aplicação de doses de ácidos húmicos superior a 22,27L.ha⁻¹. Tal acontecimento pode ser explicado pelo fato das fibrilas de celulose serem unidas por pontes de hidrogênio responsáveis pela interação da celulose com a hemicelulose (Fry, 1986).

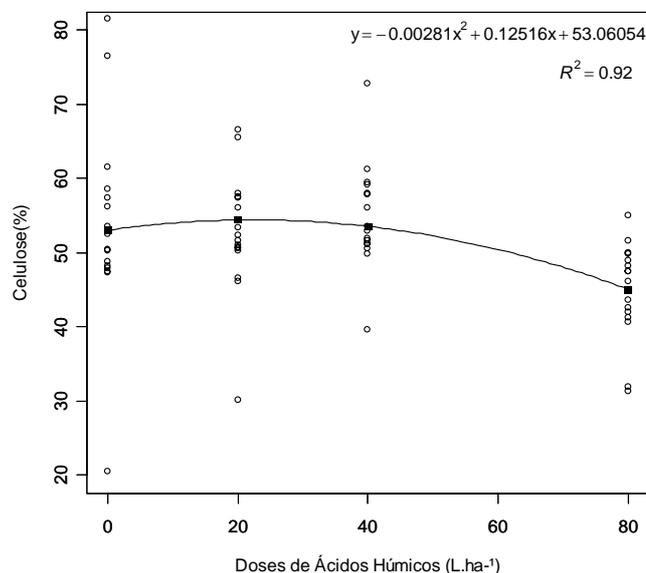


FIGURA 14 Representação gráfica da curva e da equação de regressão dos valores médios de celulose de tomates, em função das doses de ácidos húmicos.

De acordo com Saad et al. (1979), a degradação de compostos celulósicos envolve a ação hidrolítica de várias enzimas que catalisam a quebra das ligações glicosídicas β (1→4) entre resíduos de D-glucose da molécula de celulose ou de seus derivados solúveis. Isso requer um complexo celulolítico envolvendo as enzimas celulase, endoglucanase, exoglucosidase e β -glucosidase. Babbit et al. (1973) propuseram que, possivelmente, o amaciamento de frutos se inicie pela ação de celulases no entrelaçamento das microfibrilas, possibilitando que outras enzimas, inclusive a PG, tenham acesso a seus substratos. Vilas Boas (1998) encontrou média de 33,41% de celulose nos frutos no estágio de maturação vermelho. No presente estudo, a média de celulose encontrada foi de 51,54%.

4.13 Poliuronídeos

O teor de poliuronídeos dos tomates cultivar Vênus foi influenciado significativamente apenas pelas doses de ácidos húmicos. Observou-se que a equação que melhor se ajusta aos valores de poliuronídeos de tomates em função das doses crescentes de ácidos húmicos é a quadrática (Figura 15).

De acordo com os resultados obtidos, houve um aumento no percentual médio de poliuronídeos com a aplicação de doses crescentes de ácidos húmicos.

A redução da firmeza dos frutos que geralmente acompanha o amadurecimento é consequência, principalmente, de modificações no metabolismo dos carboidratos que compõem a parede celular, resultando em modificações na sua estrutura.

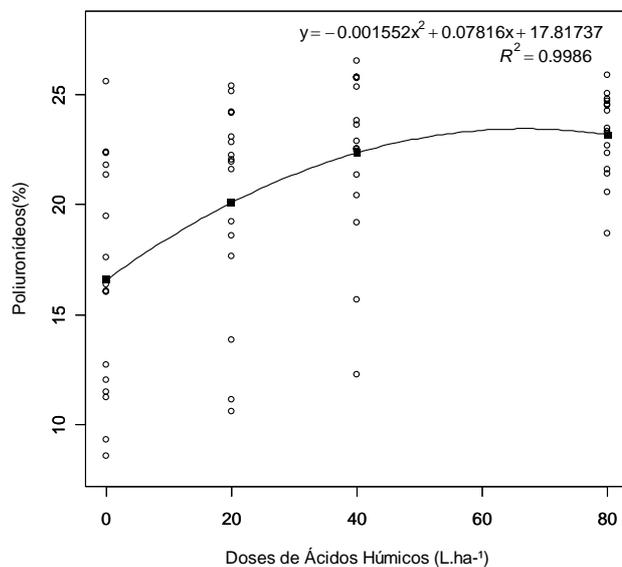


FIGURA 15 Representação gráfica da curva e da equação de regressão dos valores médios de poliuronídeos (%) de tomates, em função das doses de ácidos húmicos.

As alterações mais evidentes na composição de paredes celulares são as perdas de polímeros de ácidos urônicos e os resíduos de açúcares neutros não celulósicos (Pressey & Avants, 1982).

O valor médio de poliuronídeos do presente trabalho foi de 20,56%, inferior ao encontrado por Vilas Boas et al. (1998), ao estudar tomates heterozigotos no loco "alcobaça".

4.14 Açúcares neutros

De acordo com o perfil cromatográfico dos açúcares neutros da parede celular, observa-se que a glicose foi o açúcar predominante em todos os tratamentos, seguida por ramnose, manose, galactose, fucose e arabinose. A xilose não foi determinada devido à falta do padrão. No entanto, esta deve estar presente nas amostras.

Vilas Boas (1998) encontrou a xilose como açúcar predominante no tomate vermelho, seguido pela glicose, manose, galactose, arabinose, ramnose e fucose.

Arabinose e galactose são componentes, principalmente de polissacarídeos pécticos, no entanto, xilose, glicose e manose são constituintes principais da fração hemicelulósica.

Observou-se que os frutos cultivados no S2 e com a aplicação de 20 e 40L.ha⁻¹ foram os que apresentaram maiores quantidades de açúcares neutros (Tabela 4), o que contribui positivamente para a manutenção da estrutura da parede celular. As regiões ramificadas, constituídas por açúcares neutros, possibilitam a ligação entre pectina e hemicelulose (Redgwell & Fischer, 2002).

Filgueira (1996), ao trabalhar com híbridos heterozigotos no loco "alcobaça", relatou alto coeficiente de correlação entre arabinose, galactose e ácido galacturônico ligado à parede, evidenciando a importância dos dois açúcares neutros para a integridade dos poliuronídeos.

TABELA 4 Valores médios de açúcares neutros da fração da parede celular de tomates submetidos à aplicação de ácidos húmicos e cultivados em diferentes substratos orgânicos.

| Dose X substrato | Açúcares neutros (g.100g ⁻¹ PC) | | | | | |
|------------------|--|---------|--------|-----------|--------|-----------|
| | Glicose | Ramnose | Manose | Galactose | Fucose | Arabinose |
| A0S1 | 7,12 | 2,99 | 1,44 | 1,00 | 0,67 | 0,54 |
| A0S2 | 6,44 | 2,93 | 1,41 | 1,04 | 0,65 | 0,50 |
| A0S3 | 2,23 | 3,34 | 3,85 | 1,78 | 0,89 | 0,57 |
| A0S4 | 6,07 | 2,72 | 1,32 | 0,85 | 0,56 | 0,42 |
| A20S1 | 4,91 | 2,86 | 1,62 | 1,84 | 0,80 | 0,74 |
| A20S2 | 9,07 | 3,14 | 1,90 | 2,07 | 0,81 | 0,83 |
| A20S3 | 6,63 | 2,66 | 1,74 | 1,22 | 0,78 | 0,54 |
| A20S4 | 4,49 | 2,95 | 1,56 | 1,50 | 0,77 | 0,70 |
| A40S1 | 4,06 | 2,80 | 1,27 | 1,51 | 0,68 | 0,52 |
| A40S2 | 10,41 | 5,46 | 3,75 | 2,71 | 1,32 | 1,54 |
| A40S3 | 2,94 | 2,69 | 1,17 | 1,18 | 0,59 | 0,44 |
| A40S4 | 1,79 | 2,41 | 0,56 | 0,51 | 0,35 | 0,13 |
| A80S1 | 3,60 | 2,69 | 1,26 | 1,03 | 0,62 | 0,42 |
| A80S2 | 6,92 | 5,35 | 2,56 | 1,91 | 0,82 | 0,81 |
| A80S3 | 2,86 | 2,63 | 1,04 | 0,91 | 0,51 | 0,41 |
| A80S4 | 6,42 | 3,21 | 2,55 | 2,08 | 1,06 | 0,96 |

A= Doses de ácidos húmicos nas concentrações de 0, 20, 40 e 80 L.ha⁻¹.

S= substratos orgânicos (S1=fibra de coco; S2 = fibra de coco + carvão de casca de café 1/3 (v/v); S3 = fibra de coco + carvão de casca de café 2/3 (v/v); e S4 = carvão de casca de café.

Foi verificado aumento nos teores de ramnose e galactose nos frutos cultivados no S3 sem a aplicação de ácidos húmicos e nos frutos cultivados no S2 com aplicação de 20 e 40L.ha⁻¹ de ácidos húmicos (Tabela 4). De acordo com Brett & Waldron (1990), frutos que apresentam aumento nos teores de ramnose e galactose sugerem que as cadeias principais dos polímeros pécnicos tornaram-se mais ramificadas. Tais regiões ramificadas possibilitam a ligação entre pectinas e hemiceluloses e dificultam o acesso da poligalacturonase à molécula pécnica (Mangas et al., 1992). No entanto, de acordo com Kim et al. (1987), o aumento de galactose livre no pericarpo de tomates estimula a síntese de novo

de ACC-sintase e, conseqüentemente, a produção de etileno. Esta produção de etileno pode estar contribuindo para um aumento da atividade da poligalacturonase, conseqüentemente contribuindo para a redução da textura dos frutos. Foi observada maior atividade da enzima poligalacturonase nos frutos cultivados no S2 e com a aplicação de $40\text{L}\cdot\text{ha}^{-1}$ de ácidos húmicos (Figura 12).

Frutos cultivados no S4 e com a aplicação de $40\text{L}\cdot\text{ha}^{-1}$ apresentaram menor teor de açúcares neutros, possivelmente devido a um aumento da atividade enzimática da poligalacturonase, visto que, de acordo com Fischer et al. (1994), as perdas de açúcares neutros da parede celular são indicativos de um elevado grau de despolimerização e solubilização das substâncias pécticas (Tabela 4).

4.15 Cálcio ligado

O cálcio foi influenciado significativamente pela interação doses de ácidos húmicos e substratos orgânicos, quando cultivados no S3.

A equação que melhor se ajustou para representar o percentual de cálcio ligado dos tomates cultivados no S3 foi a cúbica (Figura 16).

Pelo gráfico da Figura 16 é possível observar que uma dose de ácidos húmicos superior a $16,45\text{L}\cdot\text{ha}^{-1}$ promoveu aumento do percentual médio de cálcio e uma dosagem superior a $60,89\text{L}\cdot\text{ha}^{-1}$ reduziu o percentual médio de cálcio ligado. Esse aumento nos teores de cálcio pode ser atribuído à capacidade de disponibilização de cálcio pelos ácidos húmicos (Vaughan & Malcolm, 1985) até determinado nível. Com a adição da casca de café carbonizada, ocorreu um aumento da condutividade elétrica (Tabela 2), o que poderá favorecer uma inibição competitiva do Ca com K ou Mg pelo mesmo sítio na membrana plasmática, reduzindo a translocação de Ca para os frutos.

A média do teor de cálcio ligado encontrada no presente estudo foi de 0,60%.

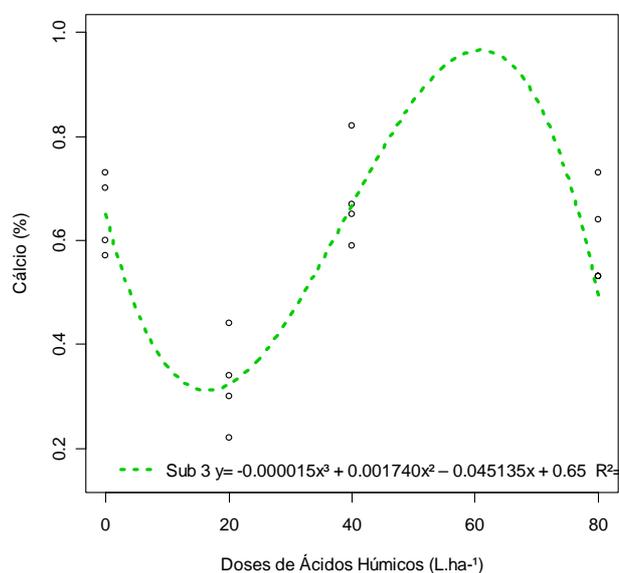


FIGURA 16 Representação gráfica da curva e da equação de regressão dos valores médios de cálcio ligado (%), em função das doses de ácidos húmicos e do substrato de cultivo. Sub3 = fibra de coco + casca de café carbonizada 2/3 (v/v).

McMurchie et al. (1972) descreveram que o cálcio tem sido reconhecido como um importante fator no desencadear da maturação de frutos e que, em frutos de tomateiro, o cálcio total do pericarpo mantém-se constante ao longo do desenvolvimento, verificando-se, no entanto, um decréscimo na razão cálcio ligado/cálcio livre à medida que o amadurecimento se aproxima. Os mesmos autores afirmam que frutos de mutantes de tomate nos quais esta razão e o teor total de cálcio aumentam acentuadamente durante o desenvolvimento, nunca amadurecem.

Burns & Pressey (1987) observaram um aumento no teor de cálcio ligado durante a maturação de tomate, sugerindo para o íon um papel na retenção de polímeros pécticos na estrutura da parede celular em função da maior rigidez conferida ao tecido vegetal. No presente estudo, observou-se que

frutos cultivados no S3 com aplicação de $40\text{L}\cdot\text{ha}^{-1}$ apresentaram menor porcentagem de solubilização e maior percentual de Ca ligado, podendo ser um indicativo de que o cálcio está contribuindo para reduzir a solubilização das substâncias pécnicas do tomateiro cultivar Vênus.

De acordo com os mesmos autores o cálcio encontra-se, normalmente, na parede celular, formando ligações entre resíduos de ácido galacturônico, o que é responsável pela união de cadeias pécnicas adjacentes. O complexo cálcio-pectina atua como um cimento, fornecendo firmeza ao tecido. De acordo com os mesmos autores, a presença de cálcio em adição à insolubilidade do material pécnico inibe a degradação dos tecidos pela poligalacturonase (Burns & Pressey, 1987).

5 CONCLUSÕES

A fibra de coco apresenta resultados significativamente superiores aos dos demais substratos, com relação à produção de frutos grandes, produção total e comercial.

Os ácidos húmicos não interferiram nos atributos de qualidade, sólidos solúveis totais, acidez titulável, relação SS/ATT, valores de L* e a* e teores de betacaroteno.

Aplicações de ácidos húmicos de 80 L.ha⁻¹ promoveram redução na atividade da pectinametilesterase, poligalacturonase, concentração de cálcio ligado e concentração de poliuronídeos.

Doses crescentes de ácidos húmicos reduziram os teores de celulose e hemicelulose.

Frutos cultivados na fibra de coco apresentaram aumento na sua firmeza e redução da porcentagem de solubilização com a aplicação de doses crescentes de ácidos húmicos.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Fazem-se necessários novos estudos com a aplicação de ácidos húmicos nas diversas culturas, visando avaliar seu potencial efeito na estrutura da parede celular e, assim, servir como base de dados para que se possa comparar os resultados e confirmar sua ação. Essas informações serão importantes para o sistema de produção do tomateiro, tendo em vista a melhoria da produtividade e, especialmente, oferecendo ao consumidor um produto com maior vida útil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEL-MAWGOUD, A.M.R.; EL-GREADLY, N.H.M.; HELMY, Y.I.; SINGER, S.M. Responses of tomato plants to different rates of humic-based fertilize and NPK fertilization. **Journal of Applied Sciences Research**, Cairo, v.3, n.2, p.169-174, Apr. 2007.

ABU-SARRA, A.F.; ABU-GOUKH, A.A. Changes in pectinesterase, poligalacturonase and cellulose activity during mango fruit ripening. **Journal of Horticultural Science**, Alexandria, v.67, n.4, p.561-568, Aug. 1992.

AHRENS, M.J.; HUBER, D.J. Physiology and firmness determination of ripening tomato fruit. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.78, n.1, p.8-14, Apr. 1990.

ALEXANDER, L.; GRIERSON, D. Ethylene biosynthesis and action in tomato: a model for climacteric fruit ripening. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v.53, n.377, p.2039-2055, Oct. 2002.

ALI, Z.M.; CHIN, L.H.; LAZAN, H. A comparative study on wall degrading enzymes, pectin modifications and softening during ripening of selected tropical fruits. **Plant Science**, Limerick, v.167, n.2, p.317-327, Aug. 2004.

ALMEIDA, C.; BRANYIK, T.; MORADAS-FERREIRA, P.; TEIXEIRA, J. Use of two different carriers in a packed bed reactor for endopolygalacturonase production by a yeast strain. **Process Biochemistry**, London, v.40, n.5, p.1937-1942, Oct. 2005.

ALMEIDA, D.P.F.; HUBER, D.J. Apoplastic pH and inorganic ion levels in tomato fruit: a potential means for regulation of cell wall metabolism during ripening. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.105, n.3, p.506-512, Jan. 1999.

ALVARENGA, M.A.R. **Tomate**: produção em campo, casa-de-vegetação e em hidroponia. Lavras: UFLA, 2004. 400p.

ANALITICAL OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS. **Official methods of analysis**. 17.ed. Maryland, [s.n.], 1992. 1054p.

ANDERSSON, R.E.; WESTERLUND, P.A. Cell-wall polysaccharides: structural, chemical, and analytical aspects. In: ELIASSON, A.C. **Carbohydrates in food**. Boca Raton: CRC, 2006. p.129-166.

ANDREUCETTI, C.; FERREIRA, M.D.; TAVARES, M. Perfil dos compradores de tomate de mesa em supermercados da região de Campinas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.1, p.148-153, mar./abr. 2005.

ANDRIOLO, J.L. **Fisiologia das culturas protegidas**. Santa Maria: UFSM, 1999. 142p.

ASSIS, S.A.; FERREIRA, B.S.; FERNANDES, P.; TREVISAN, H.C.; CABRAL, J.M.S.; OLIVEIRA, O.M.M.F. Gelatin immobilized pectinmethylesterase for production of low methoxyl pectin. **Food Chemical**, Oxford, v.86, n.3, p.333-337, July 2004.

BABBIT, J.K.; POWERS, M.J.; PATTERSON, M.E. Effects of growth regulators on cellulase, polygalacturonase, respiration, color and texture of ripening tomatoes. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.98, n.1, p.77-81, Feb. 1973.

BAUMANN, M.J.; EKLOF, J.M.; MICHEL, G.; KALLAS, M.A.; TEERI, T.T.; CZJZEK, M.; BRUMER, H. Structural evidence for the evolution of xyloglucanase activity from xyloglucan endo-transglycosylases: biological Implications for cell wall metabolism. **The Plant Cell**, Rockville, v.19, n.6, p.1947-1963, June 2007.

BITTER, T.; MUIR, H.M.A. A modified uronic acid carbazole reaction. **Analytical Biochemistry**, New York, v.34, n.4, p.330-334, Oct. 1962.

BRACKMANN, C.; STEFFENS, C.A.; ANDRIOLO, J.L.; PINTO, J.A.V. Armazenamento de tomate cultivar "Cronus" em função do estágio de maturação e da temperatura. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.5, p.1295-1300, set./out. 2007.

BRETT, C.; WALDRON, K. **Physiology and biochemistry of plant cell wall**. London: Hyman, 1990. 194p.

BRUN, G. **Pouvoir complexant des matieres humiques effets sur l'alimentation minerale des vegetaux**. 1993. 139f. These (Douctorat in Traitement des Matieres Premieres Vegetales)-Institut National Polytechnique de Toulouse, Toulouse.

BUESCHER, R.W.; FURMANSKI, R.J. Role of pectinesterase and polygalacturonase in the formation of wooliness in peaches. **Journal of Food Science**, Chicago, v.43, n.1, p.18-22, 1978.

BURNS, J.K.; PRESSEY, R. Ca²⁺ in cell walls of ripening tomato and peach. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.112, n.5, p.783-787, Oct. 1987.

CALIMAN, F.R.B.; SILVA, D.J.H.; MARTINS, C.J.L.; MOREIRA, G.R.; STRINGHETA, P.C.; MARIN, B.G. **Acidez, °brix e sabor de frutos de diferentes genótipos de tomateiro produzidos em ambiente protegido e no campo**. Disponível em: <<http://200.210.234.180/HORTA/Download/Biblioteca/olfg4152c.pdf>>. Acesso em: 6 mar. 2008.

CANELLAS, L.P.; OLIVARES, F.L.; OKOROKOVA-FAÇANHA, A.L.; FAÇANHA, A.R. Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H⁺-ATPase activity in maize roots. **Plant Physiology**, Washington, v.130, n.4, p.1951-1957, Dec. 2002.

CANELLAS, L.P.; SANTOS, G.A. Humosfera: tratado preliminary sobre a química das substâncias húmicas. In: ZANDONADI, D.B.; MÉDICI, L.O.; PERES, L.E.P.; OLIVARES, F.L.; FAÇANHA, A.R. (Ed.). **Bioatividade de substâncias húmicas: ação sobre o desenvolvimento e metabolismo das plantas**. Campos dos Goytacazes: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 2005. cap.10, p.224-243.

CARPITA, N.; McCANN, M. The cell wall. In: BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. (Ed.). **Biochemistry & molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. chap.2, p.52-108.

CARRIJO, O.A.; VIDAL, M.C.; REIS, N.V.B.; SOUZA, R.B.; MAKISHIMA, N. Produtividade do tomateiro em diferentes substratos e modelos de casas de vegetação. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.1, p.5-9, jan./fev. 2004.

CARVALHO, L.A.; ARRUDA, M.C.; JACOMINO, A.P.; MELO, P.C.T. Caracterização físico-química de híbridos de tomate de crescimento indeterminado em função do espaçamento e número de ramos por planta. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.11, n.3, p.295-298, jul./set. 2005.

CASTELLANE, P.D.; ARAÚJO, J.A.C. **Cultivo sem solo**: hidroponia. Jaboticabal: Funep, 1995. 43p.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.D. **Pós-colheita de frutas e hortaliças**: fisiologia e manuseio. 2.ed. Lavras: UFLA/FAEPE, 2005. 785p.

CHUN, J.P.; HUBER, D.J. Polygalacturonasemediated solubilization and depolymerization of pectic polymers in tomato fruit cell walls: regulation by pH and ionic conditions. **Plant Physiology**, Washington, v.117, n.4, p.1293-1299, Apr. 1998.

COSGROVE, D.J. Expansive growth of plant cell walls. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v.38, n.2, p.109-124, Apr. 2000.

DAVID, P.P.; NELSON, P.V.; SANDERS, D.C. A humic acid improves growth of tomato seedling in solution culture. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.17, n.1, p.173-184, Jan. 1994.

DAVIES, J.N.; HOBSON, G.E. The constituents of tomato fruit: the influence of environment, nutrition and genotype. **CRC Critical Reviews in food Science and Nutrition**, Cleveland, v.15, n.3, p.205-208, June 1981.

DELLAPENNA, D.; LASHBROOK, C.C.; TOENJES, K.; GIOVANNONI, J.J.; FISCHER, R.L.; BENNETT, A.B. Polygalacturonase isozymes and pectin depolymerization in transgenic rin tomato fruit. **Plant Physiology**, Washington, v.94, n.4, p.1882-1886, Aug. 1990.

DISCHE, Z. Color reaction of carbohydrates. In: WHISTLER, R.L.; WOLFRAN, M.L. (Ed.). **Methods in carbohydrates chemistry**. New York: Academic, 1962. v.1, p.477-512.

FABRI EG, C.; SALA, F.C.; MINAMI, K. Caracterização física e química de diferentes substratos. In: BARBOSA, J.G.; MARTINEZ, H.E.P.; PEDROSA, M.W.; SEDIYAMA, M.A.N. (Ed.). **Nutrição e adubação de plantas cultivadas em substratos**. Viçosa, MG: UFV, 2004. p.318-330.

FAÇANHA, A.R.; FAÇANHA, A.L.O.; OLIVARES, F.L.; GURIDI, F.; SANTOS, G.A.; VELLOSO, A.C.X.; RUMJANEK, V.M.; BRASIL, F.; SCHRIPEMA, J.; BRAZ-FILHO, R.; OLIVEIRA, M.A.; CANELLAS, L.P. Bioatividade de ácidos húmicos: efeito sobre o desenvolvimento radicular e sobre a bomba de prótons da membrana plasmática. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.9, p.1301-1310, set. 2002.

FERRARA, G.; PACÍFICO, A.; SIMEONE, P.; FERRARA, E. **Preliminary study on the effects of foliar applications of humic acids on 'italia' table grape**. 2007. Disponível em: <www.oiv2007.hu/documents/viticulture/140_ferrara_et_al_xxx_oiv_proceedings.pdf>. Acesso em: 15 fev. 2009.

FILGUEIRA, F.A.R. **Solanáceas**: agrotecnologia moderna na produção de tomate, batata, pimentão, pimenta, berinjela e jiló. Viçosa, MG: UFV, 2003. 333p.

FILGUEIRAS, H.A.C. **Bioquímica do amadurecimento de tomates híbridos heterozigotos no loco 'alcobaça'**. 1996. 118f. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

FISCHER, M.; ARRIGONI, E.; AMADO, R. Changes in the pectic substance of apples during development and postharvest ripening. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v.25, n.3, p.167-175, Mar. 1994.

FISCHER, R.L.; BENNET, A.B. Role of cell wall hydrolases in fruit ripening. **Annual Review of Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.42, p.675-710, 1991.

FONTES, P.C.R.; LOURES, J.L.; GALVÃO, J.C.; CARDOSO, A.A.; MANTOVANI, E.C. Produção e qualidade do tomate produzido em substrato, no campo e em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.3, p.614-619, maio/jun. 2004.

FONTES, P.C.R.; SILVA, D.J.H. **Produção de tomate de mesa**. Viçosa, MG: Aprenda Fácil, 2002. 197p.

FRY, S.C. Cross-linking of matrix polymers in the growing cell walls of angiosperms. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.37, p.165-186, 1986.

GIOVANNONI, J.J. Genetic regulation of fruit development and ripening. **The Plant Cell**, Rockville, v.16, n.6, p.170-180, Mar. 2004.

GOULÃO, L.F.; SANTOS, J.; SOUSA, I.; OLIVEIRA, C.M. Patterns of enzymatic activity of cell wall-modifying enzymes during growth and ripening of apples. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.43, n.3, p.307-318, Mar. 2007.

HAYES, M.H.B.; MACCARTHY, P.; MALCOLM, R.L.; SWIFT, R.S. Structures of humic substances, the emergence of forms. In: HAYES, M.H.B.; MACCARTHY, P.; MALCOLM, R.L.; SWIFT, R.S. (Ed.). **Humic substances II: in search of structures**. Chichester: Wiley, 1989. p.689-733.

HEWITT, J.D.; DINAR, M.; STEVENS, M.A. Sink strength of fruits of two tomato genotypes differing in total fruit solids content. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.107, n.5, p.896-900, Oct. 1982.

HOBSON, G.E.; DAVIES, J.N. The tomato. In: HULME, A.C. (Ed.). **The biochemistry of fruits and their products**. London: Academic, 1971. v.2, chap.13, p.437-482.

HOBSON, G.E.; GRIERSON, D. Tomato. In: SEYMOUR, G.B.; TAYLOR, J.E.; TUCKER, G.A. (Ed.). **Biochemistry of fruit ripening**. London: Chapman & Hall, 1993. chap.14, p.405-442.

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

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas, métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3.ed. São Paulo, 1985. v.1, 533p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Levantamento sistemático da produção**. Disponível em: <www.cnph.embrapa.br/paginas/hortaliças-em-numeros/situacao-tomate-brasil-regioes-2007.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2009.

JACKMAN, R.L.; STANLEY, D.W. Perspectives in the textural evaluation of plant foods. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v.6, n.6, p.187-194, June 1995.

JAYANI, S.R.; SAXENA, S.; GUPTA, R. Microbial pectinolytic enzymes: a review. **Process Biochemistry**, Oxford, v.40, n.9, p.2931-2944, Sept. 2005.

JEN, J.J.; ROBINSON, M.L.P. Pectinolytic enzymes in sweet bell peppers (*Capsicum annuum L.*). **Journal of Food Science**, Chicago, v.49, n.4, p.1045-1087, Mar./Apr. 1984.

JIANG, C.M.; WU, M.C.; WU, C.L.; CHANG, H.M. Pectinesterase and Polygalacturonase activities and textural properties of rubbery papaya (*Carica papaya* Linn.). **Journal of Food Science**, Chicago, v.68, n.5, p.1590-1594, Oct. 2003.

JOHJIMA, T. Carotene synthesis and coloring tomato of various genotypic lines. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Kioto, v.63, n.1, p.109-114, Feb. 1994.

KASHYAP, D.R.; CHANDRA, S.; KAUL, A.; TEWARI, R. Production, purification and characterization of pectinase from a *Bacillus* sp. DT7. **World Journal Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v.16, n.3, p.277-282, June 2000.

KIM, J.; GROSS, K.C.; SOLOMOS, T. Characterization of the stimulation of ethylene production by galactose in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) fruit. **Plant Physiology**, Baltimore, v.85, n.3, p.804-807, Nov. 1987.

LAZAN, H.; SYU-YIH, N.; GOH, L.Y.; ALI, Z.M. Papaya α -galactosidase/galactanase isoforms in differential cell wall hydrolysis and fruit softening during ripening. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v.42, n.11, p.847-853, Dec. 2004.

LOFGREN, C.; HERMANSSON, A.M. Synergistic rheological behaviour of mixed HM/LM pectins gel. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v.21, n.3, p.480-486, May 2007.

LOPEZ CAMELO, A.F.; GOMEZ, P.A. Comparison of color indexes for tomato ripening. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.3, p.534-537, maio/jun. 2004.

MACCARTHY, P.; MALCOLM, R.L.; CLAPP, C.E.; BLOOM, P.R. An introduction to soil humic substances. In: MACCARTHY, P. (Ed.). **Humic substances in soil crop sciences**: selected readings. Madison: SSSA, 1990. p.1-12.

MACÊDO, L.S.; ALVARENGA, M.A.R. Efeitos de lâminas de água e fertirrigação potássica sobre o crescimento, produção e qualidade do tomate em ambiente protegido. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.29, n.2, p.296-304, mar./abr. 2005.

MANGAS, J.J.; DAPENA, E.; RODRIGUEZ, M.S.; MORENO, J.; GUTIÉRREZ, M.D.; BIANCO, D. Changes in pectic fractions during ripening of cider apples. **HortScience**, Alexandria, v.27, n.4, p.328-330, Abr. 1992.

MANRIQUE, G.D.; LAJOLO, F.M. Cell-wall polysaccharide modifications during postharvest ripening of papaya fruit (*Carica papaya*). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.33, n.1, p.11-26, July 2004.

MARTINEZ, P.F. Manejo de substratos para horticultura. In: ENCONTRO NACIONAL DE SUBSTRATOS PARA PLANTAS. CARACTERIZAÇÃO, MANEJO E QUALIDADE DE SUBSTRATOS PARA PRODUÇÃO DE PLANTAS, 2002, Campinas, SP. **Anais...** Campinas: IAC, 2002. p.53-76. (Documentos IAC, 70).

MATO, M.C.; OLMEDO, M.G.; MÉNDEZ, J. Inhibition of indolacetic acid-oxidase by soil humic acids fractionated on sephadex. **Soil Biology Biochemistry**, Quebec, v.4, n.2, p.475-478, Apr. 1972.

McCREADY, P.M.; McCOMB, E.A. Extration and determination of total pectic material. **Analytical Chemistry**, Washington, v.24, n.12, p.1586-1588, Dec. 1952.

McMURCHIE, E.J.; McGLASSON, W.B.; GAKS, I.L. Treatment of fruits with propylene gives information about the biogenesis of ethylene. **Nature**, London, v.237, n.5352, p.235-236, May 1972.

MITCHAM, E.J.; McDONALD, R.E. Cell wall modification during ripening of 'Keitt' and 'Tommy Atkins' mango fruit. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.117, n.6, p.919-924, Dec. 1992.

NAGATA, M.; YAMASHITA, I. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. **Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi**, Tokio, v.39, n.10, p.925-928, Oct. 1992.

NAIKA, S.; JEUDE, J.; GOFAU, M.; HILMI, M.; DAM, B. **A cultura do tomate: produção, processamento e comercialização**. Wageningen: CTA, 2006. 104p.

NANNIPIERI, P.; GREGO, S.; DELL'AGNOLA, G.; NARDI, S. Proprieta biochimiche e fisiologiche della sostanza organica. In: NANNIPIERI, P. (Ed.). **Ciclo della sostanza organica nel suolo: aspetti agronomici, chimici, ecologici, ecologici & selvicolturali**. Bologna: Patron, 1993. p.67-78.

NELSON, N. A photometric adaptation os Somogyi method for determination of glicose. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.135, n.1, p.136-175, Jan. 1944.

NOGUERA, P.; ABAD, M.; NOGUERA, V.; PURCHADES, R.; MAQUIERA, A. Coconut coir waste, a new and viable ecologically-friendly peat substitute. **Acta Horticulturae**, The Hague, v.517, n.34, p.279-286, Mar. 2000. Disponível em: <http://www.actahort.org/books/517/517_34.htm>. Acesso em: 12 fev. 2009.

NOTHNAGEL, A.L.; NOTHNAGEL, E.A. Primary cell wall structure in the evolution of land plants. **Journal of Integrative Plant Biology**, Beijing, v.49, n.8, p.1271-1278, Aug. 2007.

NUNES, M.U.C. **Produção de mudas de hortaliças com o uso da plasticultura e do pó de coco**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2000. 29p. (Circular técnica da Embrapa Tabuleiros Costeiros, 13).

OLIVEIRA, A.M.C. **Eficiência do sistema *pot in pot* na conservação de pimentão e tomate**. 2006. 83p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

PINTO, P.A.C.; CARVALHO, A.S. Eficiência agrônômica de ácidos húmicos e fúlvicos da leonardita aplicados na cultura de videira (*Vitis vinifera L.*) Itália. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS DO SOLO: ALICERCE DOS SISTEMAS DE PRODUÇÃO, 39., 2003, Ribeirão Preto. **Resumos...** Ribeirão Preto: USP, 2003. p.57-58.

PRASANNA, V.; PRABHA, T.N.; THARANATHAN, R.N. Fruit ripening phenomena: an overview. **CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Cleveland, v.47, n.1, p.1-19, Feb. 2007.

PRESSEY, R.; AVANTS, J.K. Solubilization of cell walls by tomato polygalacturonases: effects of pectinesterases. **Journal of Food Biochemistry**, Trumbull, v.1, n.6, p.57-74, Dec. 1982.

RAYLE, D.L.; CLELAND, R.E. The acid growth theory of auxin-induced cell elongation is alive and well. **Plant Physiology**, Washington, v.99, n.4, p.1271-1274, Apr. 1992.

- REDGWELL, R.R.; FISCHER, M. Fruit texture, cell wall metabolism and consumer perception. In: KNEE, M. **Fruit quality and its biological basis**. Sheffield: Sheffield Academic, 2002. p.46-75.
- RESENDE, J.M.; CHITARRA, M.I.; MALUF, W.R.; CHITARRA, A.B.; SAGGIN JUNIOR, O.J. Atividade de enzimas pectinametilesterase e poligalacturonase durante o amadurecimento de tomates do grupo multilocular. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.2, p.206-201, mar./abr. 2004.
- ROCHA, M.C.; SILVA, A.L.B.; ALMEIDA, A.; COLLARD, F.H. Efeito do uso de biofertilizante Agrobio sobre as características físico-químicas na pós-colheita do maracujá amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa* Deg.) no município de Taubaté. **Revista Biociências**, Taubaté, v.7, n.2, p.1-7, 2001.
- SAAD, F.A.; BACHA, M.A.; ABO-HASSAN, A.A. Preliminary studies on fruit characteristics of four fig cultivars grow at Riyadh, Saudi Arabia. **Journal of the College of Agriculture**, Riyadh, v.1, n.4, p.97-103, June 1979.
- SADLER, G.D.; MURPHY, P.A. PH and titratable acidity. In: NIELSEN, S.S. **Food analysis**. 2.ed. New York: Aspen, 1998. p.99-117.
- SAKAI, T.; SAKAMOTO, T.; HALLAERT, J.; VANDAMME, E. Pectin, pectinase and protopectinase: production, properties, and applications. **Advances in Applied Microbiology**, London, v.39, n.6, p.213, Mar. 1993.
- SANSAVINI, S. Current and future trends in European fruit research. **Hortscience**, Alexandria, v.31, n.1, p.18-24, Jan. 1996.
- SANTOS, G.A.; CAMARGO, F.A.O. **Fundamentos da matéria orgânica do solo**. Porto alegre: Genesis, 1999. 491p.
- SANTOS JUNIOR, A.M.; MALUF, W.R.; FARIA, M.V.; LIMA, L.C.O.; CAMPOS, K.P.; LIMA, H.C.; ARAÚJO, F.M.M. Comportamento pós-colheita das características químicas, bioquímicas e físicas de frutos de tomateiros heterozigotos nos locos *alcobaça* e *ripenin inhibitor*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n.4, p.749-757, maio/jun. 2003.
- SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ, 1974. 56p.

SEYMOUR, G.B.; MANNING, K.; ERIKSSON, E.M.; POPOVICH, A.H.; KING, G.J. Genetic identification and genomic organization of factors affecting fruit texture. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.53, n.377, p.2065-2071, Oct. 2002.

SHACKEL, K.A.; GREVE, L.C.; LABAVITCH, J.M.; AHMAD, H. Cell turgor changes associated with ripening in tomato pericarp tissue. **Plant Physiology**, Baltimore, v.97, n.2, p.814-816, Apr. 1991.

SHARIF, M.; KHATTAK, R.A.; SARIN, M.S. Effect of different levels of lignitic coal derived humic acid on growth of maize plants. **Communication in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.33, n.19/20, p.3567-3580, June 2002.

SHEWFELT, R.L.; THAI, C.N.; DAVIS, J.W. Prediction of changes in color of tomatoes during ripening at different constant temperatures. **Journal of Food Science**, Chicago, v.53, n.5, p.1433-1437, Oct. 1988.

SILVA, J.B.C.; GIORDANO, L.B. **Tomate para processamento industrial**. Brasília, DF: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia/Embrapa Hortaliças, 2000. 168p.

SILVEIRA, E.B.; RODRIGUES, V.J.L.B.; GOMES, A.M.A.; MARIANO, R.L.R.; MESQUITA, J.C.P. Pó de coco como substrato para produção de mudas de tomateiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.20, n.2, p.211-216, jun. 2002.

SONDERGAARD, T.E.; SCHULZ, A.; PALMGREN, M.G. Energization of transport processes in plants: roles of the plasma membrane H⁺-ATPase. **Plant Physiology**, Washington, v.136, n.1, p.2475-2482, Sept. 2004.

SPOSITO, G. **Chemistry of soil**. New York: Oxford University, 1989. 277p.

STEVENS, M.A.; KADER, A.A.; ALBRIGHT-HOLTON, M.; ALGAZI, M. Genotypic variation for *flavor* and composition in fresh market tomatoes. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.102, n.5, p.680-689, 1977.

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

THYBO, A.K.; EDELENBOS, M.; CHRISTENSEN, L.P.; SORENSEN, J.N.; THORUPKRISTENSEN, K. Effect of organic growing systems on sensory quality and chemical composition of tomatoes. **LWT-Food Science and Technology**, London, v.39, n.8, p.835-843, Oct. 2006.

VASCONCELOS, A.C.F. **Uso de bioestimulantes nas culturas de milho e de soja**. 2006. 111p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas)-Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba.

VAUGHAN, D.; MALCOLM, R.E.; ORD, B.G. Influence of humic substances on biochemical processes in plants. In: VAUGHAN, D.; MALCOLM, R.E. (Ed.). **Soil organic matter and biological activity**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1985. p.77-108.

VAVRINA, C.S.; ARENAS, M.; CORNELL, J.A.; HANLON, E.A.; HOCHMUTH, G.J. Coconut husk and processing effects on chemical and physical properties of coconut coir as an alternative to peat in media for tomato transplant production. **Hort Science**, Alexandria, v.37, n.2, p.309-312, Apr. 2002.

VAVRINA, C.S.; ARMBRESTER, K.; ARENAS, M.; PENA, M. **Coconut coir as an alternative to peat media for vegetable transplant production**: SSWFREC station report-VEG. 96.7. Disponível em: <http://www.imok.ufl.edu/veghort/pubs/sta_rpts/967.pdf>. Acesso em: 10 fev. 2009.

VILAS BOAS, E.V.B. **Maturação pós-colheita de híbridos de tomate heterozigotos no loco alcobaça**. 1998. 105p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

VILAS BOAS, E.V.B.; CHITARRA, A.B.; MALUF, W.R.; CHITARRA, M.I.F. Modificações texturais de tomates heterozigotos no loco alcobaça. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n. 7, p.1447-1453, July. 2000.

VINCKEN, J.P.; SCHOLS, H.A.; OOMEN, R.; MCCANN, M.C.; ULVSKOV, P.; VORAGEN, A.G.J.; VISSER, R.G.F. If homogalacturonan were a side chain of rhamnogalacturonan: I., implications for cell wall architecture. **Plant Physiology**, Washington, v.132, n.4, p.1781-1789, Aug. 2003.

WAKABAYASHI, K. Changes in cell wall polysaccharides during fruit ripening. **Journal of Plant Research**, Tokyo, v.113, n.1111, p.231-237, Sept. 2000.

WARNER, J.; ZHANG, T.Q.; HAO, X. Effects of nitrogen fertilization on fruit yield and quality of processing tomatoes. **Journal of Plant Science**, Ottawa, v.84, n.8, p.865-871, Aug. 2004.

WILCOX, G.E. Effect of potassium on tomato growth and production. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.85, n.6, p.484-489, Mar. 1964.

WILLATS, W.G.T.; KNOX, J.P.; MIKKELSEN, J.D. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v.17, n.3, p.97-104, Mar. 2006.

YAPO, B.N.; ROBERT, C.; ETIENNE, I.; WATHELET, B.; PAQUOT, M. Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts. **Food Chemistry**, Essex, v.100, n.4, p.1356-1364, Apr. 2007.

YASHODA, H.M.; PRABHA, T.N.; THARANATHAN, R.N. Mango ripening: chemical and structural characterization of pectic and hemicellulosic polysaccharides. **Carbohydrate Research**, Amsterdam, v.340, n.7, p.1335-1342, May 2005.

YILDIRIM, E. Foliar and soil fertilization of humic acid affect productivity and quality of tomato. **Acta Agriculturae Scandinavica**, London, v.57, n.2, p.182-186, Mar. 2007.

ZALLER, J.G. Foliar spraying of vermicompostextracts: effects on fruit quality and indications of late-blight suppression of field-grown tomatoes. **Biological Agriculture and Horticulture**, Bicester, v.24, n.2, p.165-180, Aug. 2006.

ZANDONADI, D.B.; FAÇANHA, A.; CANELLAS, L.P. Auxin inhibitors impair humic acids activity on plasmalema proton pumps and maize root development. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR, 24., 2005, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia: SBBq, 2005. 1 CD-ROM.